HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM

HỘI SINH LÝ HỌC THỰC VẬT

HỘI THẢO KHOA HỌC SINH LÝ THỰC VẬT TOÀN QUỐC

SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO

(Lần thứ 2 năm 2017)

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

HỘI CÁC NGÀNH SINH HỌC VIỆT NAM
HỘI SINH LÝ HỌC THỰC VẬT

HỘI THẢO KHOA HỌC
SINH LÝ THỰC VẬT TOÀN QUỐC

SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO

(Lần thứ 2 năm 2017)

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

Ban biên tập:

GS. TS. NGND. Nguyễn Quang Thạch

PGS. TS. Mai Thành Phụng

TS. Nguyễn Đăng Nghĩa

TS. Dương Hoa Xô

ThS. NCS. Vũ Thị Quyền

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU viii

Phần 1: BÀI THAM LUẬN/TỔNG QUAN 1

1. Một số kết quả nghiên cứu sinh lý thực vật ứng dụng trong lĩnh vực trồng trọt công nghệ cao 3
GS. NGND. Nguyễn Quang Thạch

2. Ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống cây trồng 16
Dương Tấn Nhựt

3. Những vấn đề về công nghệ cao trong nông nghiệp 28
GS. Nguyễn Thơ

4. Phân bón và chế phẩm sinh học phục vụ nông nghiệp công nghệ cao và an toàn thực phẩm 31
TS. Nguyễn Đăng Nghĩa & PGS.TS. Mai Thành Phụng

5. Các nghiên cứu về sinh lý thực vật phục vụ công tác chọn tạo giống cây trồng (rau, hoa, cây dược liệu) tại Thành phố Hồ Chí Minh 41
Dương Hoa Xô

6. Ứng dụng quy luật 2 xanh 2 vàng để chăm sóc, bón phân cho ruộng lúa năng suất cao 48
PGS.TS. Mai Thành Phụng

Phần 2. BÀI BÁO KHOA HỌC 51

1. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến sự giảm kích thước hạt nhãn Tiêu da bò (*Dimocarpus longan* Lour.) 53
Bùi Thị Mỹ Hồng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Lìu Vĩnh Hưng, Nguyễn Hoàng Minh

2. Ảnh hưởng tương tác của 3 nguyên tố dinh dưỡng (P, Ca và B) và 3 chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp và AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia 12 tháng tuổi 61
Vũ Thị Quyền, Nguyễn Đăng Nghĩa và Dương Công Kiên

3. Ảnh hưởng của NaCl tới sinh trưởng, hàm lượng diệp lục, nước liên kết và proline Ở bốn giống ngô có khả năng chịu mặn khác nhau 69
Điêu Thị Mai Hoa, Nguyễn Thị Kim Nhung

4. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc từ đèn led đến khả năng tái sinh và bảo tồn *in-vitro* cây lúa hoang (*Oryza rufipogon* L.) 78
Đinh Cát Điềm, Bùi Minh Trí

5. Khảo sát khả năng tạo chồi *in vitro* cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) 85
Hồ Thị Cẩm Nguyên, Nguyễn Huỳnh Minh Trang, Huỳnh Văn Hiếu, Nguyễn Thị Nhã

6. Xây dựng quy trình nuôi cấy *in vitro* lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo) trên môi trường hữu cơ chứa phân trùn quế (*Perionyx excavatus)* kết hợp bột sắn dây (*Pueraria thomsoni)* 93
Hoàng Thị Hằng, Nguyễn Huỳnh Trâm Anh, Đỗ Tấn Phát, Đoàn Thị Tuyết Lê

7. Ảnh hưởng của liều lượng bón kali đến năng suất và chất lượng hai giống khoai lang tím (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long 100
Lê Văn Hòa, Phạm Thị Phương Thảo, Phan Hữu Nghĩa, Lê Thị Hoàng Yến, Trà Võ Quốc Lâm, Hà Thị Như Ngọc và Lê Anh Duy

8. Nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* cây hoa Cẩm chướng Tundra 109
Lê Văn Tường Huân, Lương Hữu Phúc

9. Xác định chế độ bổ sung kali phù hợp đối với cây sả trong điều kiện đất nhiễm mặn 115
Nguyễn Thị Lạc, Nguyễn Khánh Duy, Lê Trường Giang, Bùi Minh Trí

10. Điều tra thực trạng sản xuất cây sen *(Nelumbo nucifera* Gaertn*)* ở tỉnh Thừa Thiên Huế 121
Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Hoàng Thị Kim Hồng, Võ Thị Mai Hương

11. Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl trong điều kiện *in vitro* ở các giống chuối già đang được trồng phổ biến tại Việt Nam 131
Nguyễn Thị Xuân Trang, Trần Trọng Tuấn, Huỳnh Hữu Đức, Đỗ Đăng Giáp

12. Phát hiện đồng thời virus gây hại trên khoai tây (*Potato virus* X, *Potato virus* Y) và cà chua (*Tomato mosaic virus*), bằng kỹ thuật RT-PCR đa mồi 143
Nguyễn Thị Hồng Trâm, Phạm Văn Hiếu, Dương Hoa Xô, Nguyễn Xuân Dũng

13. Nghiên cứu nồng độ NaCl gây mặn, phân nhóm theo khả năng chịu mặn và động thái enzyme amilase, protease ở hạt nảy mầm của các giống đậu tương chịu mặn khác nhau..... 152
Nguyễn Thị Thao, Nguyễn Văn Mã, Trần Khánh Vân

14. Nghiên cứu sự phát sinh phôi sinh dưỡng ở sâm Cau (*Curculigo orchiodes* Gaertn)..... 162
Nguyễn Văn Long, Đinh Thị Sáu, Nguyễn Thị Thanh Thảo, Nguyễn Thanh Tài, Dương Hoa Xô, Nguyễn Xuân Dũng

15. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đỏ - xanh dương và cường độ chiếu sáng từ đèn Led đơn sắc đến sự hình thành và phát triển của chồi và rễ lan *Dendrobium mini* 170
Nguyễn Văn Vinh, Nguyễn Quỳnh Như Anh, Bùi Minh Trí

16. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đỏ - xanh dương và cường độ chiếu sáng từ đèn Led đơn sắc đến sự hình thành và phát triển hạt lan *Dendrobium mini*..... 177
Nguyễn Văn Vinh, Bùi văn Lệ, Bùi Minh Trí

17. Ảnh hưởng của đèn chiếu sáng đến điều khiển ra hoa cho cây thanh long (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. and Rose)..... 184
Ngô Minh Dũng, Nguyễn Quang Thạch

18. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB-101 và phân đạm bón đến năng suất hành lá (*Allium cepa* var. *aggregatum*) tại Ninh Thuận..... 190
Phạm Thị Minh Tâm, Lê Thị Tuyết Trinh

19. Nghiên cứu hiệu quả bón silicate kali qua lá trên cây dưa lưới (*Cucumis melo* L.) và cây cà chua (*Licopersicum esculentum* Mill.) trồng trong nhà màng..... 196
Trần Thị Tường Linh, Huỳnh Đức Tài & cộng tác viên

20. Ảnh hưởng của tỷ lệ và cường độ ánh sáng đơn sắc từ đèn Led đến khả năng hình thành và phát triển chồi *in vitro* cây gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Sgreng.)..... 202
Trần Nguyên Chất, Phạm Đức Toàn, Bùi Minh Trí

21. Ảnh hưởng của tỷ lệ đèn Led đỏ - Led xanh dương đến các giai đoạn phát triển của cây đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) *in vitro*..... 209
Trịnh Việt Nga, Phạm Thị Minh Tâm, Triệu Thị Bích, Bùi Minh Trí

22. Nghiên cứu nguyên nhân gây ra bệnh xơ đen trên mít Chiang rai (*Artocapus heterophyllus* Lam.) và bước đầu đề ra biện pháp khắc phục 218
Lê Văn Bé, Nguyễn Thành Nhân, Trương Hoàng Ninh, Nguyễn Xuân Linh

23. Ảnh hưởng của nồng độ BA, IBA và NAA đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ (*Polycias fruticosa* (L.) Harms.)..... 226
Trịnh Việt Nga, Phạm Thị Minh Tâm, Ngô Thị Anh Khôi, Nguyễn Hữu Hổ

24. Ảnh hưởng của che phủ đất và liều lượng phân hữu cơ đến sinh trưởng cây sả và năng suất tinh dầu sả Java (*Cymbopogon winterianus* Jawitt) tại Gia Lai 235
Phạm Thị Minh Tâm, Đào Duy Hiệp, Phạm Anh Cường, Trần Thi, Võ Thị Thu Oanh

25. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với sự sinh trưởng và năng suất lúa (*Oryza Sativa.* L) trên đất xám trồng trong chậu 244
Trần Thị Tường Linh, Nguyễn Kim Thi, Lê Nguyễn Tường Vi

26. Vai trò của dầu neem (neem oil) và dấm gỗ (wood vinegar) trong việc phòng trừ sâu bệnh hại rau trồng hữu cơ 256
Vũ Thị Quyền, Trần Thị Hải Yến, Võ Lý Thu Thảo

Phần 3. BÀI BÁO TÓM TẮT 265

1. Lựa chọn, thiết kế, thử nghiệm và ứng dụng một số mồi nhằm khuếch đại các vùng trình tự tiềm năng để nhận diện các loài lan hài (*Paphiopedilum*) Việt Nam 267
Đặng Văn Khải, Nguyễn Thị Nhã, Vũ Thị Huyền Trang

2. Ảnh hưởng của dịch chiết nấm men và peptone lên sự sinh trưởng của cây lan Gấm (*Anoectochilus roxburghii*) *in vitro* *268*
Đỗ Đức Thăng, Lê Đức Tuấn, Bùi Minh Trí, Nguyễn Thị Huyền Trang, Trần Trọng Tuấn, Đỗ Đăng Giáp

3. Tăng cường khả năng chịu mặn của lúa OM4900 giai đoạn mạ bằng calcium silicate 269
Khúc Ngọc Vy và Phạm Phước Nhẫn

4. Ảnh hưởng của nồng độ naphthalene acetic acid, benzyl adenine và tuổi cây đến khả năng nảy chồi, sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* White 5N 270
Lê Thị Thu Hằng, Bùi Minh Trí, Hà Thị Loan

5. Nghiên cứu tách dòng, biểu hiện và tinh sạch protein erf8 từ cây *Arabidopsis thaliana* trong vi khuẩn *Escherichia coli* *271*
Nguyễn Thanh Huyền, Nguyễn Thị Thúy Hạnh, Nguyễn Huy Thuần, Nguyễn Xuân Cảnh

6. Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị DNA barcode để xác định loài lan Thạch học tía (*Dendrobium officinale*) 272
Nguyễn Trường Giang, Dương Hoa Xô, Huỳnh Hữu Đức

7. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến sự phát sinh callus từ bao phấn mướp đắng (*Momordica charantia* L.) *in vitro* *273*
Nguyễn Minh Lý, Võ Châu Tuấn, Nguyễn Thị Như Thảo

8. Ảnh hưởng của phân bón NPK đến chỉ tiêu sinh hóa của lá và năng suất, phẩm chất quả của giống bí đao chanh F1 TN61 (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) 274
Nguyễn Thị Y Thanh, Võ Minh Thứ, Hồ Đắc An

9. Nuôi cấy phôi dừa sáp bằng phương pháp *in vitro* *275*
Nguyễn Thị Tường Vi, Nguyễn Thị Anh, Nguyễn Lê Thảo Tâm

10. Đánh giá đa dạng di truyền các giống mai vàng (*Ochna integerrima*) bằng chỉ thị RAPD 276
Phan Minh Đạt, Nguyễn Thị Nhã

11. Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ che sáng và phân bón đến sinh trưởng, năng suất cây sâm đá (*Curcuma sp.*) trồng tại Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk 277
Phan Văn Tân, Nguyễn Hữu Khải

12. Ảnh hưởng của NaCl đến khả năng nảy mầm, sinh trưởng và một số chỉ tiêu hóa sinh 5 dòng/giống lúa 278
Phùng Thị Hải Huyền, Điêu Thị Mai Hoa

13. Nghiên cứu ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh sông Gianh và chế phẩm DHL2 đến một số chỉ số sinh lý - hóa sinh ở cải ngồng *(Brassica chinensis var.parachinensis)*..... 279
Trần Khánh Vân, Đào Thị Hường, Lê Hải Đăng

14. Ảnh hưởng của vi khuẩn lam *Nostoc calcicola* HN9 đối với stress "ôxy hóa" ở cây đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczekcv. ĐX208)..... 280
Sulinet Sing Bun Huong, Trần Ngọc Toàn, Nguyễn Đình San, Mai Văn Chung

15. Hoạt độ enzyme nội sinh và hàm lượng một số yếu tố dinh dưỡng trong giai đoạn nảy mầm sớm của vừng đen Campuchia và vừng trắng V6 (*Sesamum indicum)* 281
Trần Thị Thúy, Nguyễn Phúc Đạt, Trần Thị Thanh Huyền

16. Nhân giống cây đậu núi (*Plukenetia volubilis* L.) bằng kỹ thuật nuôi cấy chồi đỉnh..... 282
Đỗ Tiến Vinh, Mai Thị Phương Hoa, Trần Văn Minh, Nguyễn Quang Thạch

17. Nhân nhanh chồi cây hồng môn (*Anthurium andreanum* 'Tropical') thông qua nuôi cấy PLB 283
Dương Tấn Nhựt, Phạm Thị Sương, Trần Tiểu Hằng, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, Nguyễn Bá Nam

18. Tạo dòng và xác định trình tự gen mã hóa ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rubisco) ở cây *Mesembryanthemum crystallinum* (ice plant)..... 284
Hoàng Thị Kim Hồng, Võ thị Mai Hương, Nguyễn Thị Quỳnh Trang, Nguyễn Thị Tường Vy, Đặng Thành Long

19. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên khả năng nhân chồi và tạo rễ cây thương lục (*Phytolacca americana* L.) 285
Lê Thị Thúy, Đặng Thị Kim Thúy

20. Ảnh hưởng của molypđen (Mo) đến khả năng chịu hạn của một số giống đậu cô ve ở giai đoạn cây con 286
Lê Văn Trọng

21. Khảo sát đặc điểm nông học của một số dòng lúa nếp được chọn tạo theo hướng cứng cây chống đỗ ngã phục vụ cho sản xuất..... 287
Nguyễn Thị Thuở, Võ Công Thành và Lê Văn Hòa

22. Ứng dụng DNA barcode trong định danh cây tỏi ở Tỉnh Hà Giang và bước đầu khảo sát khả năng tái sinh cây tỏi thông qua mô sẹo từ lát cắt phôi..... 288
Nguyễn Khắc Hưng, Nguyễn Thị Loan, Vũ Thị Mỵ, Phạm Bích Ngọc

23. Đánh giá khả năng hữu thụ của 20 tổ hợp lai của lan *Dendrobium mini*..... 289
Nguyễn Văn Vinh, Trần Hồng Anh, Bùi Minh Trí, Bùi Văn Lệ

24. Hiện tượng mất màu xanh của lá rau mồng tơi (*Basella alba* L.) trồng thủy canh và biện pháp khắc phục bằng bổ sung Fe-EDTA 290
Nguyễn Thị Huyền, Đoàn Văn Tú, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Quang Thạch

25. Ảnh hưởng salicylic acid tiền xử lý hạt giống đến khả năng nảy mầm và một số đặc điểm cấu trúc lá dưa chuột trong điều kiện hạn..... 291
Nguyễn Thị Phương Dung, Phạm Tuấn Anh, Đoàn Thị Giang, Trần Anh Tuấn

26. Ảnh hưởng của naphthalene acetic acid (NAA) đến chất lượng cành giâm cây bông trang đỏ (*Ixora chinensis* L.) và cây dâm bụt kép hồng (*Hibiscusrosa-sinenis* L.)..... 292
Phạm Thị Phương Thảo và Lê Văn Hòa, Lâm Thị Muội, Nguyễn Thị Kim Ngân

27. Một số biến đổi sinh hóa theo tuổi phát triển và thành phần dinh dưỡng của quả chanh leo tím (*Passiflora edulis* Sims) trồng tại Nho Quan - Ninh Bình 293
Trần Thị Thanh Huyền, Lê Thị Thủy, Lê Thị Hồng Giang

28. Cảm ứng tạo mô sẹo từ lá và nuôi cấy huyền phù tế bào cây bá bệnh (*Eurycoma longifolia*) 294
Trần Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Thu Hằng, Ngô Nhứt Đẳng, Trịnh Thị Hương, Nguyễn Thị Dược, Đặng Thị Kim Thúy, Nguyễn Thị Huyền Trang, Đỗ Đăng Giáp

29. Ảnh hưởng của công thức phân bón lên sinh trưởng và năng suất đậu tương Hè Thu trồng trên đất Gia Lâm - Hà Nội 295
Vũ Tiến Dũng, Vũ Đình Chính

30. Ảnh hưởng của thiếu nước ở các thời kì sinh trưởng tới hàm lượng prolin, sự sinh trưởng, năng suất và phẩm chất đậu Hà Lan 296
Vương Thị Thu Thủy, Nguyễn Văn Mã

Phần 4. PHỤ LỤC 297

1. Sản phẩm Biotech ứng dụng trong nông nghiệp công nghệ cao 299
Bạch Thanh Ẩn - Biotech

2. Phân sinh học WEHG – giải pháp cải tạo đất và canh tác hữu cơ 302
Mai Thành Phụng, Võ Thanh Phong

3. Giấm gỗ sinh học – Sản phẩm thiên nhiên kì diệu 306
BIFFA

Lời nói đầu

"Sinh lý thực vật là cơ sở của trồng trọt hợp lý", câu nói đó của nhà Sinh lý thực vật nổi tiếng người Nga Timiriazev cách đây gần hai thế kỷ vẫn luôn đúng trong mọi thời đại. Tất cả các biện pháp kỹ thuật trồng trọt đang được áp dụng đều được xây dựng trên cơ sở các kết quả nghiên cứu về sinh lý thực vật. Các nhà Sinh lý thực vật tiền bối của Việt nam như cố GS Bùi Huy Đáp, cố GS Đào Thế Tuấn đều là những nhà khoa học nông nghiệp kiệt xuất có những đóng góp to lớn cho sự phát triển khoa học và sản xuất nông nghiệp Việt Nam. Trên mỗi chặng đường phát triển của nông nghiệp nước nhà, các nhà sinh lý thực vật đều có mặt và có những đề xuất mang tính đột phá: Ra đời vụ lúa xuân, thâm canh lúa dựa trên cơ sở sinh lý của ruộng lúa năng suất cao, ra đời vụ đông... Và giờ đây, trong thời đại nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao chúng ta lại có các công trình nghiên cứu mới, đề xuất hàng loạt kỹ thuật mới như nhân giống in vitro cây trồng, công nghệ Hydroponic, Aquaponic, Công nghệ điều khiển cây trồng qua dinh dưỡng và ánh sáng, công nghệ hữu cơ thế hệ mới….

Nhằm tập hợp và phát triển hoạt động của Hội Sinh Lý Thực Vật trong giai đoạn mới – giai đoạn phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao, nông nghiệp sinh thái, hữu cơ bền vững, nông nghiệp ứng phó với sự biến đổi khí hậu, Ban chấp hành Hội SLTV đã quyết định tổ chức Hội Nghị Khoa học toàn quốc lần thứ hai với tiêu đề: Sinh lý thực vật ứng dụng trong nông nghiệp công nghệ cao. Ban tổ chức đã nhận được sự hưởng ứng đông đảo các nhà khoa học trong và ngoài nước, các trường Đại học, Học viện, Viện nghiên cứu, các cơ quan quản lý và đặc biệt của nhiều doanh nghiệp hoạt động trong lĩnh vực khoa học cây trồng.

Cuốn kỷ yếu khoa học của hội nghị trình bày các kết quả nghiên cứu mới nhất về sinh lý thực vật của các nhà nghiên cứu tham gia hội nghị. Các đề tài đều nhằm phục vụ cho sự phát triển một nền nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao, các biện pháp phát triển nông nghiệp bền vững và ứng phó với sự biến đổi khí hậu.

Ban biên tập và nhóm thư ký đã làm việc rất tận tình, khẩn trương nhưng do thời gian và trình độ còn hạn chế, cuốn sách không tránh khỏi một số khiếm khuyết. Kính mong các bạn đọc lượng thứ.

Xin chân thành cảm ơn.

TP Hồ Chí Minh ngày 02 tháng 12 năm 2017

T/M Ban Tổ Chức

Chủ tịch Hội SLTV Việt Nam

GS. TS. NGND. Nguyễn Quang Thạch

PHẦN 1

BÀI THAM LUẬN / TỔNG QUAN

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG LĨNH VỰC TRỒNG TRỌT CÔNG NGHỆ CAO

GS. NGND. Nguyễn Quang Thạch
Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam (VNUA),
Trường Đại Học Nguyễn Tất Thành (NTTU)

I. GIỚI THIỆU CHUNG

Việt Nam là một nước nông nghiệp, có đến 70% dân số lao động trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, sản xuất nông nghiệp đóng góp vào tỷ trọng kinh tế quốc gia chỉ khoảng 22% GDP (World Factbook, 2013).

Trong những năm gần đây, thực hiện theo chủ trương "Chuyển đổi cây trồng trên đất trồng lúa giai đoạn 2014 – 2020" của Bộ NN & PTNT (Số: 3367/QĐ-BNN-TT) nhằm chuyển đổi khoảng 260 nghìn ha đất trồng lúa sang cây trồng khác, trong đó có 51 nghìn ha rau, hoa giai đoạn 2014 – 2015 và tiếp tục chuyển đổi 510 nghìn ha đất trồng lúa (116 nghìn ha rau, hoa) giai đoạn 2016 - 2020, kết quả đạt được đã mang lại những tín hiệu đáng mừng cho ngành Nông nghiệp Việt Nam.

Bảng 1. Giá trị xuất khẩu một số hàng hóa của Việt Nam giai đoạn 2011 – 2015 (tỷ USD)

Năm	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Lúa gạo	3,66	3,67 (+ 0,4% so với 2011)	2,92 (-20,4% so với 2012)	2,935 (+0,4% so với 2013)	2,799 (-4,6% so với 2014)	2,17 (-22,4% so với 2015)
Rau quả	0,62	0,83 (+ 32,8% so với 2011)	1,07 (+29,8% so với 2012)	1,489 (+38,7% so với 2013)	1,839 (+23,5% so với 2014)	2,5 (+33,6% so với 2015)
Cao su	3,23	2,86 (- 11,6% so với 2011)	2,49 (-13,1% so với 2012)	1,780 (-28,4% so với 2013)	1,531 (-14,0% so với 2014)	1,67 (+9,2% so với 2015)
Cà phê	2,75	3,67 (+ 33,4% so với 2011)	2,72 (-26% so với 2012)	3,557 (+30,9% so với 2013)	2,671 (-24,9% so với 2014)	3,34 (+24,9% so với 2015)

Niên giám thống kê hải quan về hàng hóa xuất nhập khẩu Việt Nam của Tổng cục Hải quan Việt Nam
Báo cáo xuất nhập khẩu Việt Nam của Cục xuất nhập khẩu - Bộ Công thương

Có thể thấy rằng, rau, quả và hoa là những mặt hàng có giá trị cao với tiềm năng lớn trong ngành nông nghiệp. Dự báo năm 2018 giá trị xuất khẩu rau – hoa – quả đạt 3,67 tỷ USD và sẽ vượt mốc 10 tỷ/năm trước năm 2025 (Nguyễn Thiện Nhân - Báo NNVN, ngày 17.11. 2017).

Như vậy, việc áp dụng công nghệ tiên tiến mới vào sản xuất đặc biệt trên đối tượng rau – hoa – quả là hướng đi quan trọng cho sự phát triển của nền nông nghiệp Việt Nam. Để có được những giải pháp kỹ thuật chính xác, những công nghệ tiến tiến áp dụng trong nông nghiệp công nghệ cao phải nắm vững Sinh lý thực vật vì "SLTV là cơ sở của trồng trọt hợp lý" - điều mà Nhà SLTV vĩ đại Timiriazev đã nói cách đây gần 2 thế kỷ.

II. MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU MỚI VỀ SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG PHÁT TRIỂN NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO

1. Công nghệ nhân giống nuôi cấy mô kết hợp tẩy sạch virus

Trong các ứng dụng của CNSH nông nghiệp ở Việt Nam, công nghệ nhân giống *in vitro* là lĩnh vực phát triển rõ nét và rộng rãi nhất, thu được nhiều thành tựu cụ thể, đóng góp tích cực vào sự phát triển kinh tế- xã hội.

Hiện cả nước ta có trên 100 phòng thí nghiệm nuôi cấy mô (Lâm Đồng đã có tới trên 50 xưởng sản xuất cây giống bằng nuôi cấy mô do các doanh nghiệp tự đầu tư). Trong đó Cty Rừng hoa Đà Lạt là một trong 3 công ty đầu tiên của cả nước được Bộ NN&PTNT cấp giấy chứng nhận Doanh nghiệp nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao. Công ty xây dựng 2 phòng thí nghiệm rộng 5.000m^2 cùng nhiều trang thiết bị hiện đại với công suất sản xuất 24 triệu cây giống/năm; hệ thống vườn ươm diện tích 0,5 ha, sản xuất 400.000 cây con/tháng, trong đó có khu nhà kính 3.000 m^2 theo công nghệ châu Âu trị giá 7 tỷ đồng.

Một số hình ảnh nuôi cấy mô

Cho tới nay chúng ta đã xây dựng được quy trình nhân giống cho hầu hết các loại cây có thể nhân giống vô tính: Cây hoa cảnh, cây ăn quả, cây lâm nghiệp, cây dược liệu.

Đã sản xuất được một số lượng lớn cây giống. Đến hết năm 2013, đã sản xuất được gần 30 triệu cây giống bạch đàn, keo bằng công nghệ mô, hom; 2,5 triệu cây giống hoa cúc, 200.000 cây giống hoa hồng môn, 150.000 cây giống hoa đồng tiền và 200.000 củ giống hoa lily, lay-ơn; 2 triệu củ giống khoai tây sạch bệnh, 500.000 cây giống hoa lan, 1,3 triệu cây giống, cành cắm chướng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô và giâm ngọn.... (Báo cáo tổng kết chương trình KH&CN trọng điểm cấp nhà nước giai đoạn 2006-2010).

Đã tạo một tập quán mới về sử dụng cây giống nuôi cấy mô trong sản xuất như một loại cây giống có nhiều ưu việt.

Mặc dù đã thu được những kết quả đáng khích lệ, lĩnh vực nghiên cứu phát triển công nghệ nhân giống ở VN còn bộc lộ một số tồn tại.

- Chưa làm chủ được trên một số đối tượng có nhu cầu thị trường lớn (VD: hàng năm VN vẫn phải nhập hàng triệu cây giống Lan Hồ điệp, 100 triệu củ giống hoa ly, 500 triệu cành Dendrobium, chưa hoàn thiện quy trình ra cây giống *in vitro* Sâm Ngọc Linh…)

- Chưa kiểm tra mức độ sạch bệnh của vật liệu đưa vào nhân giống vô tính. Sẽ là tội lỗi khi nhân nhanh với tốc độ không hạn chế những vật liệu mang mầm bệnh, đặc biệt là bệnh virus.
- Việc phân bổ đề tài và đầu tư cơ sở vật chất cho hướng nghiên cứu công nghệ nhân nhanh còn chưa được coi trọng như công nghệ sinh học phân tử. Vấn đề này cần được rút kinh nghiệm trong thời gian tới.

2. Công nghệ khí canh – Đổi mới sáng tạo công nghệ trong nhân giống cây trồng

Công nghệ khí canh là một đổi mới sáng tạo công nghệ trong nhân giống cây trồng với nhiều ưu điểm: môi trường hoàn toàn sạch bệnh, chu trình khép kín từ trồng đến thu hoạch, có thể điều khiển bán tự động, điều khiển được sinh trưởng phát triển của cây thông qua điều khiển môi trường nuôi trồng, tăng hệ số nhân, tăng năng suất cây trồng, giảm chi phí về nước, giảm chi phí về phân bón, giảm chi phí về thuốc bảo vệ thực vật (hầu như không sử dụng).

Nhóm nghiên cứu Viện Sinh học Nông nghiệp – Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Viện Sinh học Tất Thành – ĐH Nguyễn Tất Thành đã và đang triển khai các nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật khí canh trong nhân giống, tạo củ và tạo sinh khối cây trồng. Công nghệ này đặc biệt thành công trong nhân giống khoai tây sạch bệnh. Từ kết quả nghiên cứu về dung dịch dinh dưỡng, gây "sốc" sinh lý (pH, dinh dưỡng, nhiệt độ), kỹ thuật khí canh hoàn toàn giúp chủ động trong điều khiển sự hình thành tia củ và tạo củ khoai tây.

Ngoài ra, ứng dụng kỹ thuật khí canh trong nhân giống cây dược liệu và nghiên cứu ảnh hưởng của dinh dưỡng (hàm lượng nitơ), kích thước hạt phun và nhiệt độ đến sự hình thành sinh khối rễ cũng đã đạt được những kết quả tích cực. Một số cây dược liệu điển hình đã được nghiên cứu và cho kết quả như đinh lăng, dây thìa canh, hoàng liên gai và húng chanh,...

Cây đinh lăng lá nhỏ sau 8 tuần tuổi

Rễ cây đinh lăng lá nhỏ sau 8 tuần tuổi.

Đối chứng tạo sinh khối rễ cây hoàng liên gai trồng bằng địa canh so với khí canh ở cùng một độ tuổi sau cùng một khoảng thời gian 1 năm sau trồng

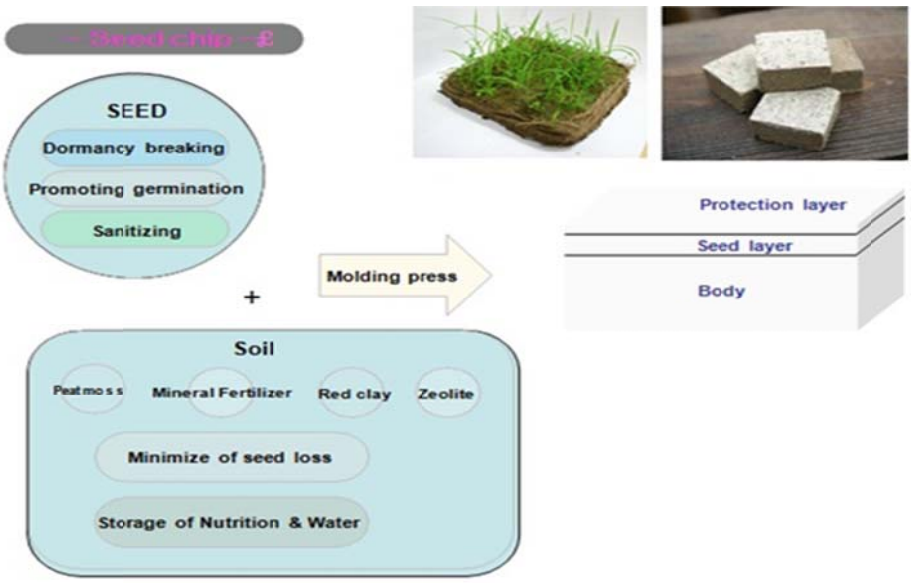
Cây dây thìa canh trồng trên hệ thống khí canh sau 3 tháng trồng

3. Công nghệ nhân giống Seed chip

Để khắc phục tỷ lệ nảy mầm và sống của hạt giống nhiều cây quan trọng: nhân sâm, phong lan,…đã ra đời công nghệ Seed chip.

Nhóm nghiên cứu của Viện Sinh học Nông nghiệp – Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Viện Sinh thái tài nguyên sinh vật thuộc Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam đang phối hợp nghiên cứu công nghệ ra cây sâm Ngọc Linh theo kỹ thuật này.

Seed chip là một loại giá thể sản xuất từ những vật liệu thân thiện với môi trường như than bùn, xơ dừa, rêu… có cấu tạo đặc hiệu cho loài bao gồm đầy đủ chất thúc đẩy sự nảy mầm và chất dinh dưỡng, độ ẩm… giúp cây con phát triển trong giai đoạn đầu tiên.



Cấu tạo của Seed chip

Seed chip có cấu tạo gồm 3 lớp. Lớp trên cùng có tác dụng bảo vệ hạt, tránh bị các loài côn trùng hoặc động vật. Hạt được đặt ở lớp thứ 2, lớp dưới cùng chứa các chất dinh dưỡng đủ đảm bảo cho cây con phát triển.

Dây chuyền sản xuất Seed chip

Nguyên lý thiết kế Seed chip là dựa vào thông tin về đặc điểm sinh lý, sinh thái, đặc điểm nảy mầm của hạt, từ đó thiết kế Seed chip đặc hiệu cho loài đó mang tối ưu các điều kiện nảy mầm cho hạt. Hạt giống được đặt trên bề mặt Seed chip, với các điều kiện tối ưu đảm bảo cho hạt giống nảy

mầm và cây con phát triển. Do được cấu tạo từ những vật liệu hữu cơ thân thiện với môi trường, Seed chip sau đó sẽ tự phân huỷ thành chất dinh dưỡng trong đất sau khi hạt nảy mầm và phát triển thành cây con.

Hạt được gieo trên seed chip và phát triển thành cây con trong phòng thí nghiệm và ngoài điều kiện tự nhiên

4. Công nghệ sản xuất rau thủy canh (Hydroponics) – Một số kết quả nghiên cứu về dinh dưỡng thủy canh

Thủy canh (trồng cây trong dung dịch - hydroponics) là một giải pháp ngày càng phổ biến trong nông nghiệp hiện đại.

Việc đa dạng cây trồng thủy canh là vấn đề cần quan tâm để đáp ứng nhu cầu thị trường rau an toàn ngày càng lớn hiện nay. Tuy nhiên, với đặc thù riêng của thủy canh, những giống cây trồng đất có thể sinh trưởng, phát triển và cho năng suất cao, hương vị quen với người tiêu dùng còn chưa nhiều. Ngoài ra, các dung dịch dinh dưỡng đang sử dụng hiện nay đều dựa trên công thức dinh dưỡng Hoagland nhưng vẫn chưa đáp ứng đầy đủ nhu cầu của một số nhóm cây trồng (mồng tơi, rau cải: cải xanh, cải bẹ dưa,…) nên cây sinh trưởng kém và không có giá trị thương mại. Vì vậy, việc nghiên cứu và pha chế dung dịch dinh dưỡng chuẩn hóa quốc tế, cân đối giữa các nguyên tố thiết yếu và tối ưu cho sự sinh trưởng, phát triển của từng loại cây trồng là rất cần thiết. Mặt khác, việc duy trì pH, nhiệt độ dung dịch và lựa chọn dạng chất của các nguyên tố thiết yếu để pha chế dung dịch dinh dưỡng cũng rất quan trọng. Bởi ở mỗi pH khác nhau, khả năng hấp thu của cây trồng và % tính hữu hiệu của mỗi chất dinh dưỡng là khác nhau. Điển hình như hiện tượng mất màu xanh của lá cây mồng tơi trồng thủy canh dung dịch Hoagland do thiếu sắt.

Cây trồng hấp thu sắt chủ yếu ở dạng Fe^{2+}. Trong dung dịch pH cao (> 6,5), sắt kém di động, dễ bị oxi hóa thành Fe^{3+} do đó rễ cây không hấp thu được dẫn đến sự thiếu hụt sắt trong cây trồng.

Trong thủy canh, sắt được sử dụng ở dạng chelate nhằm giữ ổn định với 3 dạng thường dùng là: EDTA, DTPA và EDDHA.

+ Với EDTA: ở pH > 6,5 chỉ 1/2 lượng sắt là hữu hiệu, pH > 7 chỉ còn một ít sắt có tác dụng.

+ Với DTPA: sắt trở nên vô hiệu ở pH > 7,5.

+ Với EDDHA: sắt có thể ổn định tới pH = 11, tuy nhiên sắt ở dạng này rất đắt.

Nghiên cứu bổ sung 80mg Fe-EDTA/l dung dịch trồng đã hoàn toàn khắc phục được hiện tượng mất màu xanh của lá cây mồng tơi trồng thủy canh.

5. Một số kết quả nghiên cứu về chiếu sáng bổ sung trong nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao

Ánh sáng là yếu tố quyết định đến sự sống, sinh trưởng, phát triển hình thành năng suất và phẩm chất của cây trồng. Thông qua sự thay đổi chế độ chiếu sáng chúng ta có thể làm thay đổi sự sinh trưởng, phát triển của cây, điều khiển sự phát sinh hình thái, sự ra hoa, năng suất và phẩm chất cây trồng.

5.1. Ánh sáng trong nuôi cấy mô

Hiện nay ở Việt Nam có hàng trăm phòng thí nghiệm nuôi cấy mô để sản xuất cây giống bao gồm cây hoa cảnh, cây lâm nghiệp, cây nông nghiệp. Vấn đề rất bức xúc của lĩnh vực nhân giống bằng nuôi cấy mô là chi phí về năng lượng. Năng lượng phục vụ cho quá trình thắp sáng chiếm đến 65% và làm mát chiếm đến 25% tổng năng lượng của một quy trình nhân giống. Việc chế tạo đèn phát ra những tia sáng phù hợp với phổ hấp phụ của diệp lục sẽ nâng cao hiệu quả sử dụng ánh sáng của cây và làm giảm chi phí năng lượng nhưng vẫn đảm bảo được sự sinh trưởng, phát triển và hệ số nhân của cây được nhân giống.

Từ ý tưởng của các nhà Sinh lý thực vật Viện SHNN HVNNVN và Viện Sinh học Nông nghiệp Đại học Nguyễn Tất Thành đã ra đời đề tài : "***Nghiên cứu thiết kế, chế tạo hệ thống chiếu sáng chuyên dụng và xây dựng qui trình sử dụng hệ thống chiếu sáng chuyên dụng trong công nghiệp nhân giống và điều khiển ra hoa một số loại cây trồng với qui mô công nghiệp***" thuộc Chương trình Đổi mới Công nghệ Quốc gia đến 2020. Đề tài có sự phối hợp rất hiệu quả với Trường Đại Học Bách Khoa Hà nội và Công Ty Bóng đèn Phích nước Rạng Đông. Kết quả đề tài, riêng đề tài nhánh của nhóm SLTV đã có được 3 TBKT, công bố khoa học. Đáng chú ý là kết quả ứng dụng của đề tài trong sự nghiệp phát triển NNCNC. Kết quả đề tài đã chế tạo ra đèn có nguồn sáng với phổ thích hợp cho cây nuôi cấy mô, năng lượng tiêu tốn giảm được khoảng 60%. Ngoài ra, việc chế tạo ra các balat điện tử thay thế cho balat sắt từ đã giảm tổn hao nhiệt điện trên balat từ 13w xuống

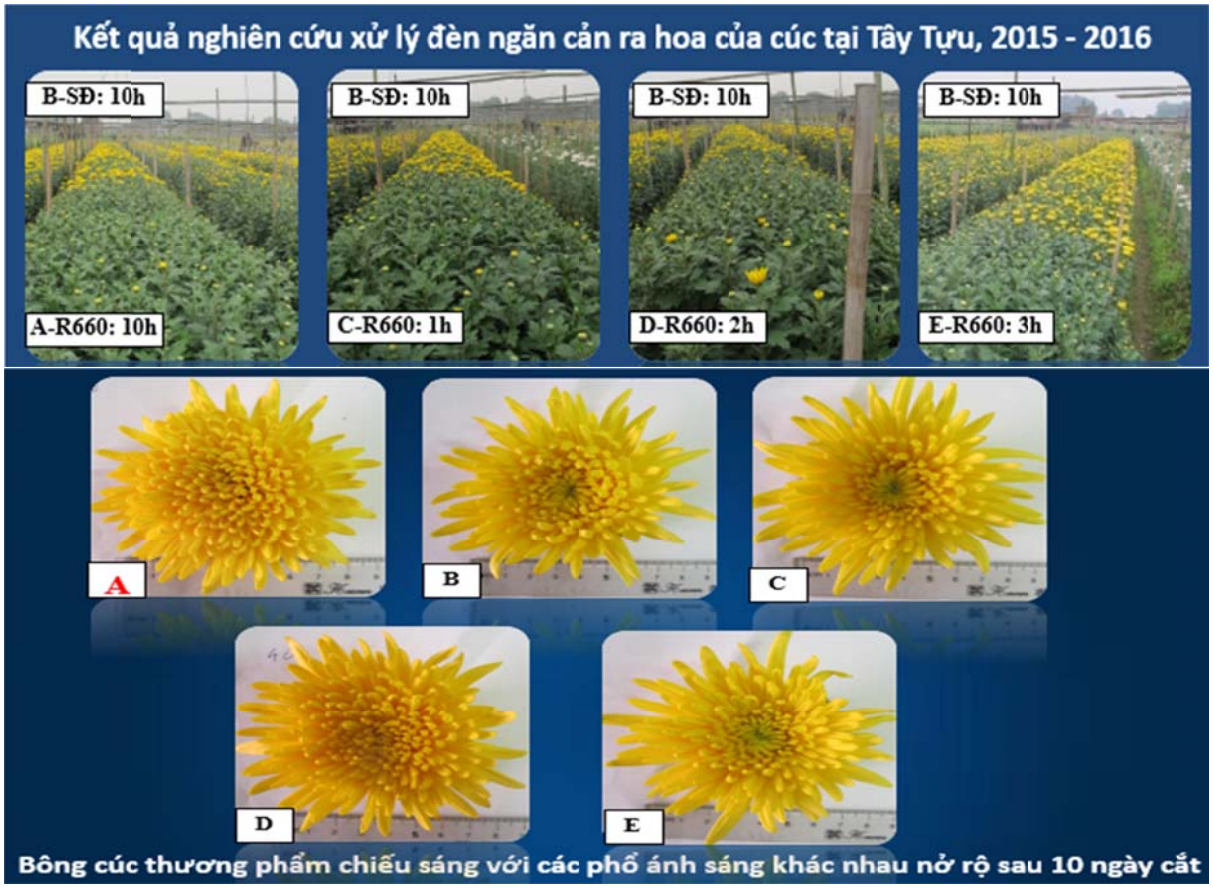
còn 3w, giảm được năng lượng làm mát bằng điều hòa nhiệt độ. Thiết kế chao chụp đèn cũng giúp tập trung bức xạ tối đa vào đối tượng cần chiếu sáng, tạo độ đồng đều chiếu sáng cao đạt 70-75%. Đề tài cũng chế tạo ra hai loại đèn compact chuyên dụng trong điều khiển ra hoa thanh long và hoa cúc mang hiệu quả cao cho người sản xuất

5.2. Ánh sáng trong điều khiển sự ra hoa

* Cây hoa cúc

Diện tích trồng hoa cúc ở Việt Nam ước tính khoảng 7.000 ha, bởi cúc là một loài hoa đẹp, được người tiêu dùng rất ưa chuộng đặc biệt là vào dịp Tết. Tuy nhiên, cây hoa cúc là cây ngày ngắn tức là cây dễ dàng ra hoa khi trồng trong vụ đông. Điều này gây ra những khó khăn cho cả việc nhân giống lẫn sản xuất hoa cúc thương phẩm. Cây giống vừa trồng xuống chưa kịp sinh trưởng đủ chiều cao đã gặp điều kiện thích hợp cho ra hoa. Cây sẽ cho cành hoa không đủ tiêu chuẩn thương mại. Chính vì thế trong sản xuất hoa cúc, người dân thường phải chiếu đèn cho cả cây dùng để lấy ngọn nhân giống cũng như cây trồng để lấy hoa thương phẩm.

Trên cơ sở thực tiễn và khoa học về học thuyết phytochrome, việc chế tạo ra loại đèn CFL NN-R có phổ ánh sáng mới hoàn toàn phù hợp cho điều khiển ra hoa có thể làm tăng hiệu quả nhân giống, thời gian cắt ngọn làm cành giâm giảm từ 10 ngày xuống 7 ngày. Trong sản xuất hoa thương phẩm sử dụng đèn CFLNN-R có thể giảm được 50-85% thời gian chiếu sáng, tiết kiệm trên 80% điện năng mà năng suất và phẩm chất hoa không thay đổi.



* Cây thanh long

Thanh long là cây ăn quả xuất khẩu quan trọng hàng đầu của Việt Nam hiện nay. Giá trị xuất

khẩu thanh long năm 2015 chiếm tới 60% tổng kim ngạch xuất khẩu của ngành cây ăn quả (526,836/914,446 USD). Trong sản xuất thanh long vấn đề nổi bật là xử lý ánh sáng để điều khiển thanh long ra quả trái vụ. Thanh long là cây chỉ ra hoa trong điều kiện ngày dài (đêm ngắn). Trong điều kiện của Việt Nam từ tháng 3 đến tháng 8 thời gian chiếu sáng trong ngày lớn hơn 12 tiếng (ngày dài) là phù hợp cho sự ra hoa của cây. Nhưng từ tháng 9 đến tháng 2 thời gian chiếu sáng trong ngày ngắn hơn 12 tiếng (ngày ngắn) cây không thể ra hoa được. Muốn xử lý ra hoa phải dùng biện pháp chiếu sáng trong đêm. Thời gian chiếu sáng thường kéo dài 11 tiếng với thanh long ruột trắng và 8 tiếng với thanh long ruột đỏ. Bóng đèn thông dụng là bóng đèn sợi đốt 60W, mỗi ha cần 1.000-1.200 bóng. Lượng điện năng tiêu thụ ở các tỉnh trồng thanh long như Bình Thuận, Tiền Giang là rất lớn. Trên cơ sở khoa học của học thuyết phytochrome, việc chế tạo ra loại đèn CFL NN-R có phổ ánh sáng mới hoàn toàn phù hợp cho điều khiển ra hoa đã được ứng dụng thành công ở nhiều vùng sản xuất thanh long: Bình Thuận, Tây Ninh, Tiền Giang, Long An. Sử dụng đèn mới đã tiết kiệm được từ 40-66% điện năng và tăng hiệu quả kinh tế từ 26.928.000 đến 29.920.000 đồng/ha/2 đợt thắp đèn.

* Cây mè Hàn Quốc

Rau mè Hàn Quốc hay còn được gọi là tía tô xanh hay tía tô Hàn Quốc, là một loài tía tô thuộc họ bạc hà. Đây là cây trồng hàng năm có giá trị cao cả về mặt dinh dưỡng, dược liệu và thương mại.

Lá rất giàu chất xơ và khoáng chất dinh dưỡng như canxi, sắt, kali, và các vitamin A, vitamin C và riboflavin. Lá được sử dụng như một loại rau gia vị hoặc thảo mộc cho rất nhiều món ăn Hàn Quốc và Nhật Bản (Shin and Hyo-Sun, 1997).

Hạt rau mè Hàn Quốc cũng giàu chất xơ và dinh dưỡng như canxi, sắt, niacin, protein và thiamine. Dầu hạt rau mè Hàn Quốc được dùng làm salad và để nấu nướng bởi mùi vị đặc biệt của nó. So với các loại dầu thực vật khác, dầu hạt mè Hàn Quốc là loại dầu thực vật chứa hàm lượng omega-3 cao nhất khoảng 54-64% và acid béo omega-6 khoảng 14%. Tỷ lệ omega-6 : omega-3 này được xem là có lợi cho sức khoẻ con người và hữu ích trong việc phòng ngừa các bệnh khác nhau như rối loạn tim mạch, ung thư, bệnh Crohn, hen, dị ứng, kháng vi trùng, viêm khớp và thấp khớp…

Đây là loại rau rất được ưa chuộng tại các thị trường lớn và khó tính như Hàn Quốc, Nhật Bản, Hoa Kỳ,… Tại cửa hàng thực phẩm ở Ames - Iowa, một bó lá rau mè tươi có giá $ 6.53/kg vào tháng 8 năm 1991.

Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng tới sinh trưởng và sự ra hoa của cây mè Hàn Quốc trồng thủy canh

Cây mè Hàn Quốc ra hoa trong điều kiện chiếu sáng 11 giờ

Chính vì vậy, ứng dụng chiếu sáng bổ sung nhằm ngăn cản sự ra hoa vốn làm giảm sinh trưởng và năng suất của cây mè Hàn Quốc trồng vụ đông là nghiên cứu có tính ứng dụng thực tiễn cao. Kết quả cho thấy khi kéo dài thời gian chiếu sáng trong ngày với 14 giờ sáng/10 giờ tối hoặc 10 giờ sáng + 1 giờ ngắt đêm cây mè Hàn Quốc hoàn toàn không ra hoa. Trong khi chiếu sáng 11 giờ sáng/13 giờ tối (quang chu kỳ ngày ngắn), cây sẽ ra nụ sau 32 ngày và sau đó nở hoa. Hơn nữa, năng suất thực thu của lá cây mè được chiếu sáng với chu kì 14h tối/10h sáng cao gấp 1,67 lần so với 11 giờ chiếu sáng.

5.3. Ánh sáng trong sản xuất rau thủy canh

Ánh sáng mặt trời là sự hợp lại của các ánh sáng đơn sắc: đỏ, da cam, vàng, lục, lam, chàm, tím (có bước sóng từ khoảng 390-750 nm). Trong khi đó, diệp lục của cây chỉ hấp thụ ánh sáng ở 2 vùng chủ yếu là vùng ánh sáng xanh lơ (Blue ~ 430nm) và vùng ánh sáng đỏ (Red ~ 660nm) để quang hợp. Như vậy, việc chế tạo đèn phát ra những tia sáng phù hợp với phổ hấp thụ của diệp lục sẽ nâng cao hiệu quả sử dụng ánh sáng của cây và làm giảm năng lượng lãng phí phát ra ngoài bước sóng mà cây cần.

Đèn LED với ưu điểm vượt trội và lợi thế lớn nhất là có thể chọn lựa mức quang phổ phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển cây trồng, qua đó giúp gia tăng năng suất cây trồng tối đa, cải thiện chất lượng nông sản.

Qua nhiều nghiên cứu thử nghiệm đã chế tạo thành công đèn LED có phổ ánh sáng xanh lam (Blue) và ánh sáng đỏ (Red) với tỷ lệ thích hợp có khả năng làm tăng năng suất rau lên 300% so với ánh sáng tự nhiên.

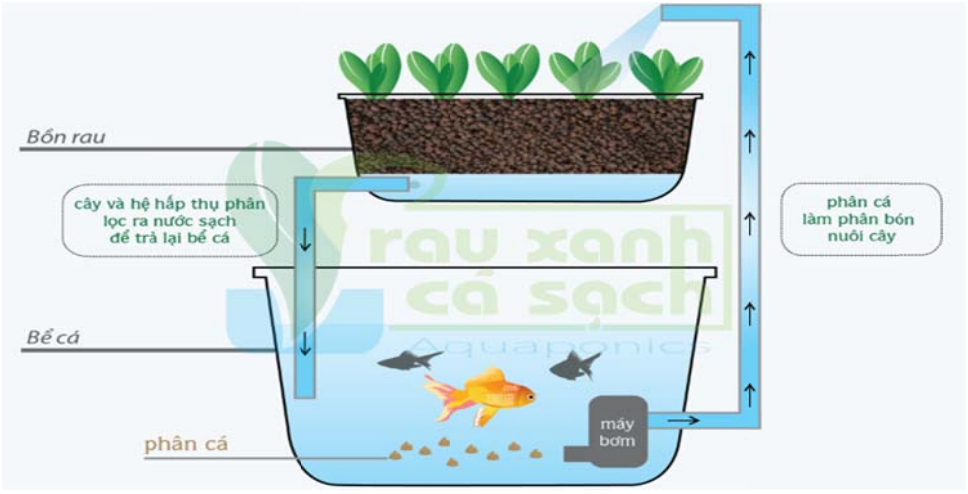
Ảnh hưởng của chất lượng ánh sáng đèn LED đến rau mè Hàn Quốc trồng thủy canh

Các ánh sáng đèn LED khác nhau trong trồng rau mè Hàn Quốc thủy canh

6. Aquaponics – Công nghệ sản xuất rau sạch hữu cơ bằng phương pháp thủy canh kết hợp nuôi cá trong chu trình khép kín quy mô lớn

Aquaponics: là thuật ngữ (ra đời 1970) kết hợp giữa Aquaculture (nuôi trồng thủy sản) và Hydroponics (thủy canh).

Aquaponics là sự kết hợp nuôi cá và trồng cây trong một hệ thống nuôi trồng thủy sản tuần hoàn.



Mô hình Aquaponics cơ bản quy mô nhỏ.

Hệ thống kết hợp này tăng cường sản lượng thủy sản đồng thời sản xuất ra thêm sản phẩm thứ hai là cây trồng. Giúp giải quyết vấn đề loại bỏ chất thải trong nuôi trồng thủy sản và sử dụng nước dư thừa trong nông nghiệp truyền thống, các vấn đề của cỏ dại, tưới nước, bón phân. Aquaponics trở thành hệ thống canh tác mới và đầy tiềm năng trong tương lai. Trên thế giới nhiều nước đã nghiên cứu và ứng dụng thành công Aquaponic để sản xuất rau và cá sạch, hữu cơ như: Úc, Mỹ, Nhật... Trong khi đó ở Việt Nam, phương pháp này còn rất mới mẻ.

Nguyên tắc vận hành của hệ thống Aquaponic: Tôm cá, cây trồng phát triển một cách tự nhiên nhờ vào sự tận dụng lợi ích của nhau.

• Aquaponics sử dụng chất thải từ cá nhờ sự chuyển hóa từ các loài vi sinh vật thành chất dinh dưỡng cần thiết và đầy đủ cho sự phát triển của cây.

• Ngược lại, thay vì phải xử lý rồi xả nước từ nuôi cá ra môi trường, Aquaponics sử dụng cây trồng để làm sạch nước và trả lại cho bể cá. Nước này có thể được tái sử dụng vô thời hạn và chỉ cần bổ sung thêm do bay hơi.

Áp dụng công nghệ kết nối mô hình "sông trong ao" (nuôi cá tập trung ở quy mô lớn theo công nghệ của Hoa Kỳ) với hệ thống thủy canh không chỉ cho sản lượng cá cao đạt 15-20 tấn/ô (5x25m), cung cấp một lượng lớn chất thải (thức ăn thừa và phân cá) sử dụng chế biến phân hữu cơ tự nhiên mà còn có thể sản xuất rau hữu cơ ở quy mô lớn.

Mô hình nuôi cá " sông trong ao"

Hệ thống sản xuất rau kết hợp nuôi cá thâm canh quy mô lớn

III. THAY CHO LỜI KẾT

Từ những kết quả đạt được có thể khẳng định phát triển trồng trọt ứng dụng công nghệ cao là xu hướng tất yếu của Nông nghiệp Việt Nam. Nhưng cũng có thể nói: KHÔNG THỂ CÓ TRỒNG TRỌT CÔNG NGHỆ CAO MÀ KHÔNG CÓ SINH LÝ THỰC VẬT. Chỉ có thể xây dựng được các giải pháp công nghệ tiên tiến cho cây trồng khi có được cơ sở sinh lý thực vật sâu sắc. Không thể có

công nghệ trồng cây trong dung dịch, trồng cây hữu cơ khi không có nghiên cứu về dinh dưỡng khoáng. Không thể có công nghệ Plant factory, công nghệ đèn LED khi không có hiểu biết về ánh sáng và quang hợp, không thể có công nghệ điều khiển ra hoa khi không nắm vững học thuyết Phytocrom… Thời kỳ nghiên cứu và ứng dụng sinh lý thực vật cho nông nghiệp công nghệ cao đang nở rộ. Những người làm công tác giảng dạy, nghiên cứu sinh lý thực vật hãy cùng nhau sát cánh sáng tạo ra những công nghệ mới, kỹ thuật mới. Chúng tôi cũng kêu gọi các nhà doanh nghiệp hãy tin tưởng vào các nhà khoa học Việt Nam, giao cho họ nhiệm vụ, hãy tạo điều kiện và đón chờ những thành công của các nhà sinh lý thực vật Việt Nam.

ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG

Dương Tấn Nhựt
Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Trên thế giới hiện nay, Công nghệ Sinh học (CNSH) đang là một ngành khoa học trọng điểm, là thế mạnh của nhiều quốc gia trên thế giới. Không chỉ phục vụ cho nền kinh tế, công nghiệp và nông nghiệp, CNSH còn đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra các chế phẩm y học phục vụ công tác bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Trong khuôn khổ của bài tham luận này, chúng tôi chưa có điều kiện để trình bày lại tất cả các công trình khoa học mà bản thân đã nghiên cứu; tuy nhiên, chúng tôi sẽ cố gắng chuyển tải những công trình khoa học tiêu biểu đã có ảnh hưởng trong lĩnh vực CNSH thực vật. Với 55 công trình về hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào (TCL), 25 công trình về hệ thống ánh sáng đơn sắc (LED) và 220 công trình về các phương pháp và hệ thống mới trong CNSH thực vật đăng tải trên các tạp chí quốc tế và trong nước. Rất nhiều công trình nghiên cứu của tôi đã được sử dụng trong nghiên cứu, giảng dạy và ứng dụng vào thực tế sản xuất nông nghiệp tại Việt Nam cũng như nhiều nơi trên thế giới.

Từ khóa: Công nghệ sinh học thực vật, lớp mỏng tế bào, ánh sáng đơn sắc

1. MỞ ĐẦU

Những năm gần đây, Tây Nguyên nói chung cũng như Lâm Đồng nói riêng đã nỗ lực ứng dụng CNSH trong một số lĩnh vực sản xuất, đặc biệt là nông nghiệp, góp phần phát triển kinh tế và xã hội của địa phương. Trong đó, phải kể đến việc ứng dụng CNSH trong chọn tạo và sản xuất cây giống. Hiện nay, Lâm Đồng có khoảng 60 cơ sở nuôi cấy mô và cung cấp cho thị trường trên 30 triệu cây giống cấy mô mỗi năm với các loại như lan, salem, khoai tây, dâu tây, cúc, cẩm chướng, đồng tiền,… Đây là nguồn giống cây ban đầu phục vụ cho các vườn ươm tiếp tục nhân giống sản xuất. Một số cơ sở đã hợp đồng xuất khẩu cây giống nuôi cấy mô ra nước ngoài như Công ty CNSH Rừng Hoa Đà Lạt, Công ty CNSH Bảo Nông, Vườn ươm PH… với số lượng khoảng 10 triệu cây giống *in vitro* mỗi năm.

Bên cạnh đó, ứng dụng CNSH trong lưu giữ nguồn gen các giống rau, hoa đã góp phần bảo tồn đa dạng sinh học cho các nguồn gen, làm phong phú thêm nguồn vật liệu lai tạo giống mới hoặc tái sản xuất. Việc kết hợp giữa CNSH truyền thống và CNSH hiện đại trong tạo giống cây trồng mới nhằm rút ngắn thời gian, sớm đưa các giống mới vào sản xuất cũng là một thành công của việc ứng dụng CNSH tại Lâm Đồng cũng như Tây Nguyên.

Bài tham luận này được trình bày bao gồm các phần về nghiên cứu và ứng dụng CNSH trong nhân giống và chọn tạo giống thực vật trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau trong hơn 25 năm qua của nhóm tác giả.

2. NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO GIỐNG SÂM NGỌC LINH

Nhân sâm (*Panax ginseng*) là một vị thuốc quý của y học cổ truyền mà các tác dụng dược lý như: tăng lực, tăng trí nhớ, bảo vệ cơ thể chống stress, bảo vệ và tác động lên hệ miễn dịch giúp chống viêm, bảo vệ tế bào chống lão hóa, tăng sức đề kháng cho cơ thể,… đã được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước nghiên cứu và chứng minh. Sâm Ngọc Linh, một loài sâm đặc hữu của Việt Nam (*Panax vietnamenesis* Ha *et* Grushv.) là loại dược liệu cực kỳ quý hiếm, chỉ mọc ở vùng núi cao thuộc một số ít huyện của 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam trong sơn hệ Ngọc Linh (có đỉnh cao

2.598 m). Cùng với sự phát triển của khoa học và xã hội, cây thuốc này đã được truyền bá rất rộng rãi, từ đó, giá trị về mặt kinh tế cũng đã được nâng lên rất cao. Chặt phá rừng bừa bãi, săn lùng các cây sâm tự nhiên đã khiến cây sâm không còn chỗ để lưu trú, chính vì vậy cây sâm Ngọc Linh đã sớm cạn kiệt và đứng trước nguy cơ tuyệt chủng sau ngày được phát hiện (1973). Sâm Ngọc Linh được xếp đầu bảng trong Sách đỏ thực vật Việt Nam (1994).

Dưới sự phát triển của Công nghệ sinh học hiện đại, nhân giống *in vitro* được áp dụng thành công trên đối tượng sâm Ngọc Linh nhằm tạo nguồn cây giống chất lượng phục vụ cho công tác bảo tồn và phát triển loài cây này (Hình 1). Trong hơn 20 năm qua, thông qua việc thực hiện thành công các đề tài cấp Nhà nước, cấp Bộ, cấp Viện Hàn lâm như: "Nghiên cứu nhân giống vô tính và sản xuất sinh khối rễ cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.)" (Bộ Khoa học và Công nghệ); "Hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào trong nghiên cứu chương trình phát sinh hình thái và bảo tồn cây sâm Ngọc Linh" (Quỹ Khoa học và Công nghệ Quốc gia, Bộ Khoa học và Công nghệ); "Ứng dụng hệ thống chiếu sáng đơn sắc (LED) trong nghiên cứu nhân nhanh cây Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.)" (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) với số lượng lớn phục vụ nhu cầu nhân giống của hai tỉnh Kon Tum và Quảng Nam, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Dương Tấn Nhựt, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) đã công bố hơn 40 công trình khoa học trong và ngoài nước về sâm Ngọc Linh. Những thành tựu nổi bật trong những nghiên cứu này là nhóm tác giả đã áp dụng những phương pháp mới, hiện đại trong nhân giống vô tính loài cây này, đó là áp dụng phương pháp hệ thống lớp mỏng tế bào (TCL), phát sinh phôi vô tính sâm Ngọc Linh, ứng dụng thành công hệ thống chiếu sáng đơn sắc (LED) trong các giai đoạn sinh trưởng phát triển của loài cây này. Chính vì thế, nhóm tác giả đã nghiên cứu thành công và xây dựng được quy trình nhân giống vô tính cây sâm Ngọc Linh, tạo ra nguồn cây giống chất lượng chứa đầy đủ các dược tính như cây ngoài tự nhiên. Bên cạnh đó, hơn 20.000 cây sâm vô tính này đã được đưa về trồng thử nghiệm thành công ở vùng núi Ngọc Linh và hiện sinh trưởng và phát triển rất tốt. Những kết quả ban đầu cho thấy hơn 85% số cây con sinh trưởng và phát triển tốt ngoài tự nhiên; bên cạnh đó, sau 8 tháng trồng đã có 35% cây sâm hình thành củ (dái củ). Ngoài ra, quá trình sinh trưởng và phát triển của cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* vượt xa hơn nhiều so với cây sâm Ngọc Linh trồng bằng hạt (cây tự nhiên từ khi gieo hạt đến lúc hình thành dái củ mất ít nhất 2 năm). Hơn nữa, khi phân tích hoạt tính của những cây này cho thấy, chúng có đầy đủ hợp chất saponin ở thân, củ, rễ,… Hiện nay, đã có những cây sâm *in vitro* trồng ngoài tự nhiên được 3 năm tuổi, 5 năm tuổi, 8 năm tuổi và 10 năm tuổi.

Hình 1. Vườn sâm Ngọc Linh và cây sâm ra hoa có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro*.

Không dừng lại ở đó, trong những năm gần đây, nhóm tác giả đã thực hiện đề tài: "Nghiên cứu chuyển gen tạo rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.) làm vật liệu cho nuôi cấy bioreactor" (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn) để thực hiện nuôi cấy sinh khối sâm *in vitro* trong các hệ thống bioreactor nhằm tạo ra nguồn vật liệu sâm ban đầu nhanh chóng, chứa đầy đủ dược chất. Kết quả của đề tài đã thu nhận được 20 dòng rễ tơ chuyển gen sâm Ngọc Linh cho sự sinh trưởng tốt chứa đầy đủ hợp chất. Qua kết quả phân tích dư lượng chất điều hòa sinh trưởng thực vật chúng tôi nhận thấy trong sinh khối chồi và sinh khối rễ sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* chưa phát hiện có dư lượng chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Các nghiên cứu đã đánh giá tác dụng dược lý của cao rễ sâm lên khả năng tăng lực của chuột, kết quả thu nhận được cho thấy chuột khi uống cao rễ sâm Ngọc Linh chuyển gen sau 7 ngày thì làm tăng thời gian bơi so với lô đối chứng là uống nước cất, điều đó thể hiện tác dụng tăng lực của rễ sâm chuyển gen.

3. ĐÈN LED (LIGHT-EMITTING DIODE) - NGUỒN SÁNG NHÂN TẠO TRONG NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT

Ánh sáng là nhân tố quan trọng điều hòa sự sinh trưởng và phát triển của thực vật. Thực vật sử dụng ánh sáng như nguồn năng lượng để tổng hợp các hợp chất hữu cơ qua quá trình quang hợp, hay sử dụng ánh sáng như nguồn thông tin cho các chương trình quang chu kỳ, quang hướng động và quang phát sinh hình thái. Những đáp ứng này phụ thuộc vào cường độ, chất lượng ánh sáng (bước sóng), thời gian chiếu sáng và quang kỳ chiếu sáng. Vì vậy, có thể sử dụng ánh sáng nhân tạo để kiểm soát sự sinh trưởng và phát triển thực vật trong nhà kính và trong *in vitro*. Nhìn chung, đèn huỳnh quang là nguồn chiếu sáng chính trong nhân giống vô tính thực vật. Tuy nhiên, nguồn sáng này phát ra bước sóng từ 350 đến 750 nm, trong đó, có nhiều bước sóng không có lợi cho sự sinh trưởng của thực vật. Ngoài ra, đèn huỳnh quang còn tỏa nhiệt trong quá trình thắp sáng nên cần một lượng điện năng để làm mát phòng nuôi cấy. Đèn LED đã được chứng minh như nguồn sáng hiệu quả cho các phòng thí nghiệm nghiên cứu cây trồng hoặc các hệ thống hỗ trợ tái sinh sinh học. Sử dụng đèn LED có thể chọn được bước sóng phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển của thực vật, qua đó có thể nâng cao năng suất sinh học một cách tối đa. Đã có một số lượng lớn các nghiên cứu ứng dụng chiếu sáng LED trên thực vật. Các nghiên cứu tập trung đến sinh lý, sinh hóa cây trồng như kéo dài thân, tái sinh chồi bên, chồi bất định, hình thành phôi vô tính, tổng hợp các hợp chất thứ cấp dưới hệ thống chiếu sáng LED.

Vai trò của ánh sáng đơn sắc trong vi nhân giống đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới. Ở Việt Nam thì nguồn sáng này chưa được chú trọng. Từ năm 2002 đến nay, Dương Tấn Nhựt và đồng tác giả đã ứng dụng thành công hệ thống phát sáng LED trên một số loại cây trồng như Cúc, Sâm Ngọc Linh, Thu hải đường,… Những cây trồng nuôi cấy dưới hệ thống đèn LED không những sự sinh trưởng và phát triển tốt ở điều kiện *in vitro*, mà còn cả ở điều kiện *ex vitro*. Những nghiên cứu về giải phẫu học, quang hợp cũng chứng minh rằng những cây nuôi cấy dưới hệ thống LED thì tốt hơn khi so sánh với hệ thống chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang (Dương Tấn Nhựt, 2010).

Lê Thế Biên và đồng tác giả (2013) đã cho thấy chồi Thu hải đường tái sinh từ lớp mỏng tế bào tốt nhất dưới tỉ lệ 80% LED đỏ kết hợp với 20% LED xanh. Trong khi đó, dưới điều kiện 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh cho hiệu quả trong quá trình tái sinh chồi từ lá và lớp mỏng tế bào từ thân của cây Cúc (Nguyễn Bá Nam *et al*., 2012). Hoàng Văn Cương và đồng tác giả (2012) đã khảo sát sự sinh trưởng và tích lũy các hợp chất saponin dưới 6 điều kiện chiếu sáng khác nhau: 100% ánh sáng xanh, 100% ánh sáng đỏ, ánh sáng xanh và ánh sáng đỏ kết hợp với tỉ lệ 50:50, 30:70, 20:80; ánh sáng huỳnh quang được sử dụng làm đối chứng. Ngoài những nghiên cứu tái sinh và tích lũy hợp chất thứ cấp, sự sinh trưởng và phát triển dưới ánh sáng LED đỏ và xanh cũng được thực hiện. Dương Tấn Nhựt và Nguyễn Bá Nam (2009) chỉ ra rằng, chồi Cúc phát triển tốt nhất dưới điều kiện chiếu sáng 90% ánh sáng LED đỏ kết hợp với 10% ánh sáng LED xanh và cho khối lượng tươi

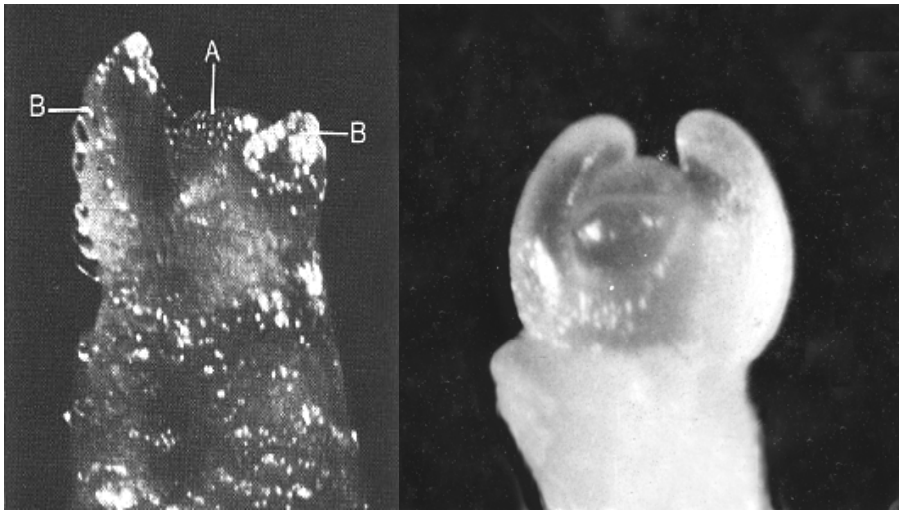
và số lá lớn nhất so với các điều kiện chiếu sáng còn lại. Nguyễn Thanh Sang và đồng tác giả (2014) đã nghiên cứu tác động của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến sự nhân chồi; sinh trưởng, phát triển và tổng hợp chlorophyll a và b của cây Cúc *in vitro*. Các đốt thân và các chồi đỉnh cúc được nuôi cấy dưới các điều kiện chiếu sáng khác nhau bao gồm LED đỏ, LED xanh, LED vàng, LED xanh lá cây, LED trắng và LED đỏ kết hợp với LED xanh theo nhiều tỷ lệ khác nhau (10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 và 90:10). Đèn LED đã được sử dụng trong phòng thí nghiệm từ rất sớm tuy nhiên việc ứng dụng ở giai đoạn vườn ươm còn rất hạn chế. Năm 2014, Nguyễn Bá Nam và đồng tác giả đã sử dụng đèn LED để bổ sung chiếu sáng vào ban đêm để nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng và phát triển của các giống Cúc "Đóa vàng", "Sapphire" và "Kim cương" được trồng trong nhà kính. Đèn compact 3U được sử dụng làm nghiệm thức đối chứng. Kết quả cho thấy, tỉ lệ 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc giống Sapphire và Kim cương, trong khi đó, tỉ lệ 60% LED đỏ kết hợp với 40% LED xanh phù hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc giống Đóa vàng. Tuy nhiên, đây chỉ là bước đầu trong việc ứng dụng LED ở điều kiện đồng ruộng, cần có nhiều nghiên cứu để chứng minh hiệu quả của hệ thống chiếu sáng LED trong nông nghiệp. Gần đây, Hoàng Thanh Tùng và cộng sự (2016) đã nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ và sự thay đổi giai đoạn chiếu sáng giữa LED đỏ và LED xanh lên quá trình sinh trưởng và phát triển của cây cúc (*Chrysanthemum morifolium* Ramat. cv. "Jimba") *in vitro*. Ngoài ra, hệ thống chiếu sáng LED với nhiều tỷ lệ khác nhau kết hợp giữa đèn LED xanh và LED đỏ đã được chúng tôi thiết kế để nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng lên sự sinh trưởng và phát triển của một số loại cây trồng (Hình 2).

Hình 2. Hệ thống chiếu sáng LED.

4. TẠO CÂY SẠCH BỆNH BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY ĐỈNH SINH TRƯỞNG

Giáo sư Nguyễn Văn Uyển là người có công rất lớn trong việc mang kỹ thuật nuôi cấy mô, tế bào thực vật ứng dụng tại Đà Lạt. Đối tượng nghiên cứu đầu tiên là cây Khoai tây. Bằng kỹ thuật nuôi cấy đỉnh sinh trưởng và phương pháp cutting ở giai đoạn vườn ươm trong nghiên cứu nhân giống cây Khoai tây, kỹ thuật này đã ghi một "dấu ấn" trong công tác giống cây trồng tại Việt Nam. Kế tiếp là những giống cây trồng khác như: Cúc, Dâu tây, Cẩm chướng, Cam,… được nghiên cứu và đã đạt được những thành công nhất định trong công tác phục tráng tạo giống có năng suất cao và phẩm chất tốt. Hiện tại, thành phố Đà Lạt có hơn 60 phòng thí nghiệm chuyên cung cấp các giống rau, hoa, cây ăn trái, cây rừng, cây dược liệu,… đây là vùng đất rất phù hợp cho công nghệ nuôi cấy mô và tế bào thực vật.

Nghiên cứu tạo giống sạch bệnh thông qua nuôi cấy đỉnh sinh trưởng là một kỹ thuật không thể thiếu được tại các phòng thí nghiệm nêu trên. Hy vọng rằng, những thông tin nêu trên sẽ mang lại cho các nhà nghiên cứu một kỹ thuật nhân giống hiệu quả, tạo cây sạch bệnh góp phần nâng cao năng suất, phẩm chất giống cây trồng cũng như những phương pháp chẩn đoán bệnh virus trên cây trồng.



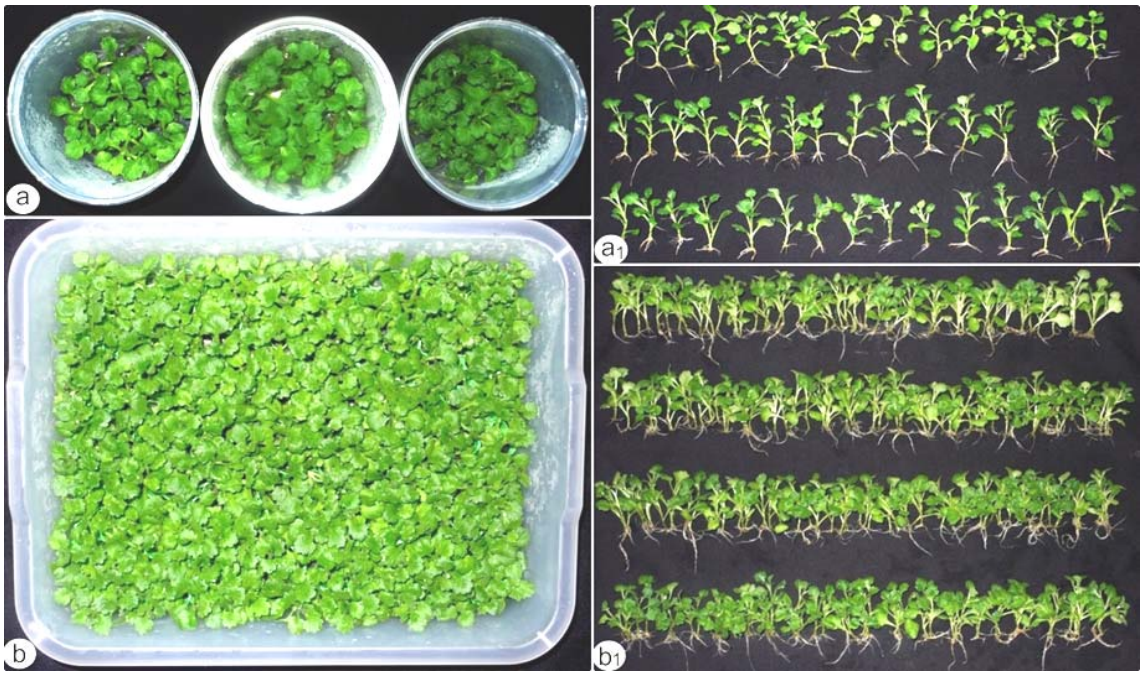
Hình 3. Đỉnh sinh trưởng của cây Khoai tây với mô phân sinh có đường kính khoảng 0,1 mm (A) và hai sơ khởi lá (B).

5. VI THỦY CANH – PHƯƠNG PHÁP MỚI TRONG NHÂN GIỐNG THỰC VẬT

Vi thủy canh là một phương pháp kết hợp giữa vi nhân giống và thủy canh, có thể khắc phục một số nhược điểm của các phương pháp nuôi cấy truyền thống như ít nhiễm khuẩn, giảm nhân công lao động và nguyên vật liệu,… Một số nghiên cứu trước đây của Hahn và cộng sự (1996, 1998, 2000) cũng chỉ ra rằng cây vi thủy canh phát triển tốt hơn so với phương pháp vi nhân giống thể hiện ở các chỉ tiêu trọng lượng tươi, khô, số lá. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã sử dụng kỹ thuật lớp mỏng dinh dưỡng cho hệ thống vi thủy canh trên giá thể trơ là rockwool, dung dịch dinh dưỡng được hoàn lưu nhờ vào một máy bơm nhỏ. Tuy nhiên, những nghiên cứu này mới chỉ dừng lại ở quy mô phòng thí nghiệm, chưa đưa ra sản xuất thương mại.

Nghiên cứu của Hoàng Thanh Tùng và cộng sự (2012) chỉ ra rằng các chồi Cúc sau 2 tuần nuôi cấy trong hộp nhựa tròn có nắp gắn 1 màng thoáng khí Millipore, các chồi cúc với mật độ 15 đoạn chồi/hộp, tiền xử lý với indolebutyric acid (IBA) nồng độ 500 ppm cho kết quả tốt về sự sinh trưởng và phát triển của cây. Hệ thống vi thủy canh cải tiến với hộp nhựa hình chữ nhật (có kích thước đáy 20 cm × 28 cm, kích thước miệng 25 cm × 32 cm, cao 7,5 cm, chứa 800 ml môi trường,

giá thể là các ống film nylon, nắp đậy là các màng film nylon có 20 lỗ thoáng khí đường kính 2 cm) có thể sản xuất 300 chồi/hộp (Hình 4). Hệ thống vi thủy canh đơn giản hơn phương pháp nhân giống truyền thống, có thể rút ngắn bớt giai đoạn trong quy trình nhân giống bằng việc kết hợp giai đoạn ra rễ với giai đoạn thuần dưỡng *ex vitro* thành giai đoạn ra rễ *in vitro*. Phương pháp này không sử dụng đường, agar trong quá trình nuôi cấy. Cây giống phát triển ở hệ thống này có thể dễ dàng vận chuyển đi các vùng lân cận hoặc xuất khẩu.

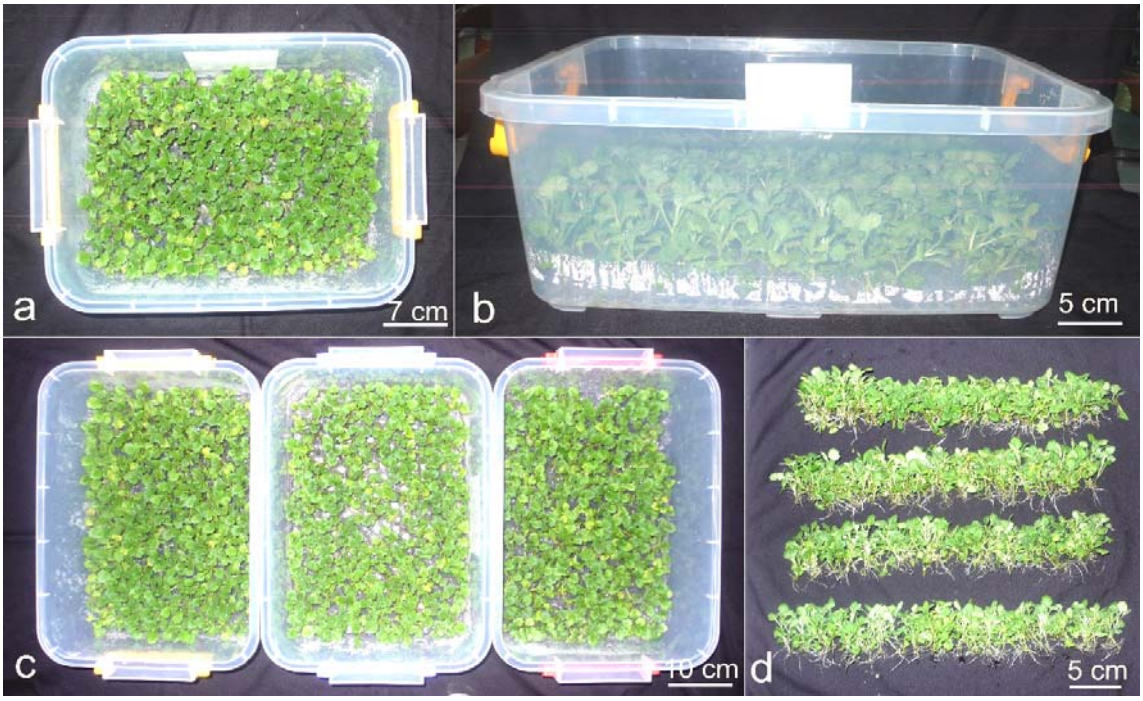


Hình 4. Hệ thống vi thủy canh hộp nhựa tròn và hình chữ nhật nhỏ.

Trong nghiên cứu của Hoang Thanh Tung và cộng sự (2016), vai trò của ánh sáng LED trong hệ thống vi thủy canh cũng được nghiên cứu, kết quả chỉ ra rằng khi tăng tỉ lệ kết hợp LED xanh dương và LED đỏ thì chỉ số diệp lục của lá cũng tăng theo và đạt tối ưu khi kết hợp với tỉ lệ 30% LED xanh dương và 70% LED đỏ và giảm dần khi tăng tỉ lệ chiếu sáng LED xanh. Cũng ở điều kiện chiếu sáng này, hàm lượng chlorophyll a, chlorophyll b cao hơn các điều kiện chiếu sáng và tỉ lệ kết hợp LED xanh và LED đỏ khác nhau. Do hệ thống này là một hệ thống mở *ex vitro* nên cây sẽ thích ứng tốt hơn khi chuyển ra đồng ruộng so với cây *in vitro*. Bên cạnh đó, cây trong hệ thống vi thủy canh có thể đóng gói trong các hộp nhựa đựng mứt. Vì vậy, hệ thống này có thể cung cấp được nguồn cây giống có chất lượng cao hơn, giá thành thấp hơn cũng như có tỉ lệ sống sót cao hơn khi chuyển cây ra vườn ươm. Đây là một hệ thống mới, do đó chưa có nhiều nghiên cứu trên nhiều đối tượng với các hệ thống khác nhau. Theo xu hướng hiện nay, hệ thống này được nghiên cứu cải tiến theo hai xu hướng, một là hiện đại hóa với các thiết bị kiểm soát môi trường chặt chẽ với các thiết bị hiện đại nhằm điều khiển được môi trường và đưa về điều kiện tối thích cho sự phát triển của cây, hai là các nghiên cứu nhằm đơn giản hóa cách thực hiện với các thiết bị, vật liệu đơn giản, rẻ tiền nhưng vẫn đảm bảo được sự phát triển tốt của cây nhằm hạ giá thành sản phẩm và nâng cao chất lượng cây giống.

Tác động của hạt nano bạc lên vấn đề nhiễm khuẩn trong quá trình nuôi cấy, sự tăng trưởng của cây nuôi cấy trong hệ thống vi thủy canh và thích nghi của cây trồng ở giai đoạn vườn ươm cũng được nghiên cứu bởi Hoàng Thanh Tùng và cộng sự (2016). Trong nghiên cứu này, bổ sung 7,5 ppm nano bạc vào môi trường nuôi cấy vi thủy canh cho thấy gia tăng sự tăng trưởng của cây

Cúc là cao hơn so với các nồng độ khác sau 2 tuần nuôi cấy. Kết quả định danh và định lượng hàm lượng vi sinh vật trong môi trường nuôi cấy vi thủy canh bằng 4 phương pháp thử (định lượng cho vi khuẩn là phương pháp Bergey, ISO 16266 và NHS-F15; định lượng cho nấm là phương pháp ISO 21527-1). Tất cả các phương pháp cho thấy ở nồng độ 7,5 ppm nano bạc thì làm giảm hàm lượng vi sinh vật của 8 loài vi khuẩn (*Corynebacterium* sp., *Enterobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Agrobacterium* sp., *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp. và *Bacillus* sp.) và 3 loài nấm mốc (*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. và *Alterneria* sp.). Khi chuyển ra giai đoạn vườn ươm sau 4 tuần, sự tăng trưởng của cây cúc ở nồng độ nano bạc này tốt hơn so với các nồng độ khác. Đối với mô hình vi thủy canh hộp nhựa hình chữ nhật (Hình 6) có diện tích lớn hơn so với hộp nhựa tròn (Hình 5) nên sẽ thu nhận số lượng các đoạn cây lớn hơn.



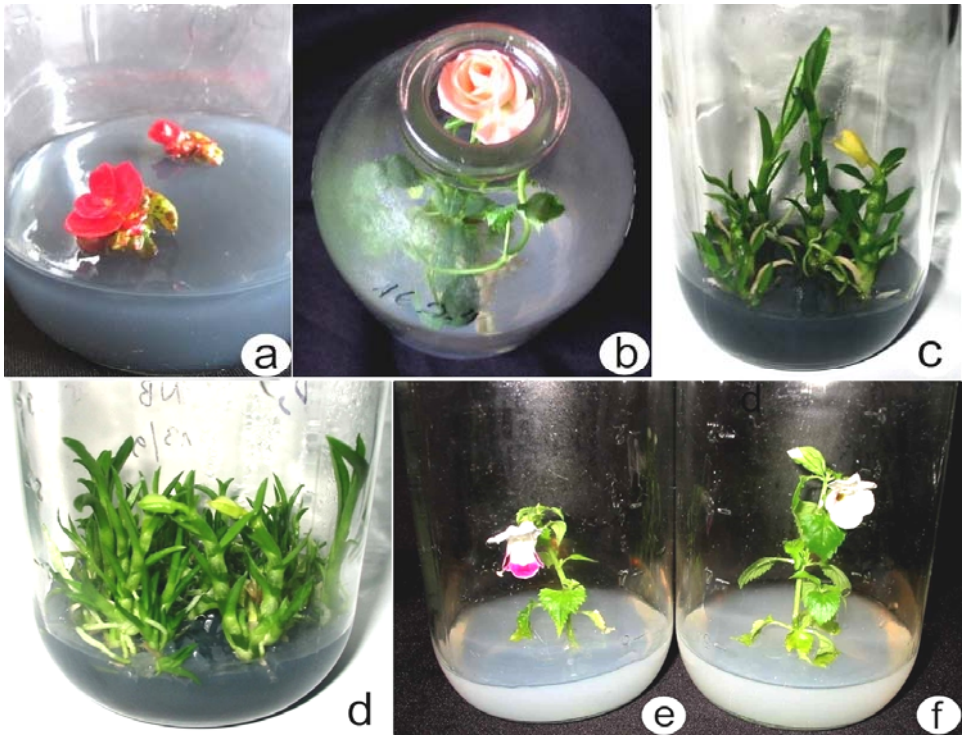
Hình 5. Hệ thống vi thủy canh hộp nhựa hình chữ nhật.

6. RA HOA TRONG ỐNG NGHIỆM

Trong các nghiên cứu về thực vật việc nghiên cứu về sinh lý được xem là rất quan trọng với mục đích trả lời những câu hỏi tại sao? khi nào? và như thế nào mà thực vật lại như thế? Khi các nhà khoa học nghiên cứu, tìm tòi câu trả lời cho những câu hỏi này chính là đi tìm những nguyên lý, cơ chế của tự nhiên. Điều này rất có ý nghĩa, vì khi nắm vững được những nguyên lý, cơ chế này chúng ta sẽ có sự lựa chọn phù hợp khi tác động vào thực vật với những mục đích xác định. Hệ thống nuôi cấy mô một lần nữa tỏ ra là một công cụ hữu ích, hỗ trợ đắc lực cho các nhà nghiên cứu về sinh lý thực vật trên con đường chinh phục những bí ẩn của tự nhiên. Một trong những bí ẩn đã tồn tại rất lâu và luôn lôi cuốn sự tò mò của các nhà khoa học đó là "cơ chế của sự nở hoa ở thực vật". Cơ chế này lại được đưa ra nghiên cứu, xem xét dưới một góc độ mới, góc độ *in vitro*, bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Dường như dưới góc độ này, các nhà nghiên cứu đã tìm ra được rất nhiều điều mới mẻ của sự phát sinh hình thái thực vật. Các thí nghiệm khảo sát về sự nở hoa của thực vật trong ống nghiệm đem đến cho chúng ta hết điều bất ngờ này đến điều bất ngờ khác. Ưu điểm của các nghiên cứu nở hoa trong ống nghiệm là có thể cô lập được những cơ quan riêng biệt của thực vật và sử dụng các mô đó đặt trong điều kiện tác động của các yếu tố kích thích nở hoa, tránh được sự tác động của các

chất được sản sinh *in vivo* từ lá và rễ (Nitsch, 1972; de Fossard, 1974). Do vậy, chúng ta sẽ có những kết luận chính xác hơn về cơ chế nở hoa của thực vật.

Tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo Giống cây trồng - Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên đã thành công trong việc ra hoa trong ống nghiệm nhằm nghiên cứu chọn tạo giống hoa trên một số đối tượng như cây Thu hải đường, cây hoa Hồng, cây *Denrobium*, cây Torenia (Hình 7).



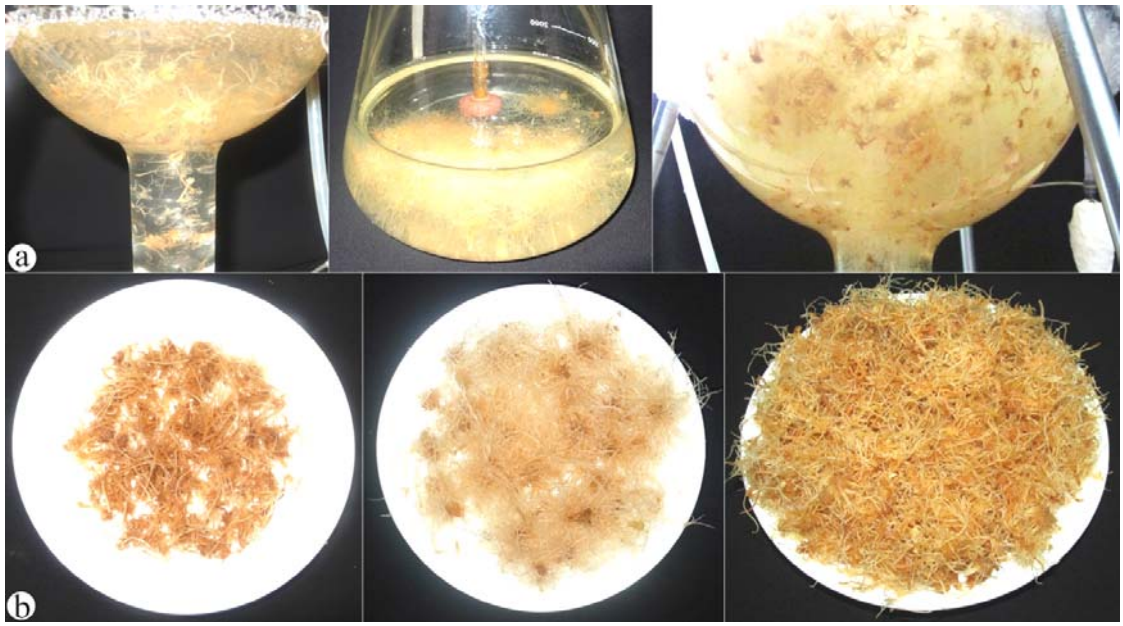
Hình 7. Ra hoa trong ống nghiệm. **a:** cây Thu hải đường; **b:** cây Hoa hồng; **c, d:** cây *Denrobium*; **e, f:** cây Torenia.

7. BIOREACTOR TRONG NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC THỰC VẬT

Kể từ đầu năm 2004, Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng thuộc Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên bắt đầu tiến hành ứng dụng hệ thống bioreactor vào nghiên cứu và phục vụ công tác nhân giống một số loại cây trồng và bước đầu cũng đã thu được một số kết quả đáng ghi nhận. Các kết quả này đã và đang được công bố trên các tạp chí chuyên ngành trong và ngoài nước. Đầu tiên, là kết quả nghiên cứu nhân giống nhanh trên đối tượng cây hoa Thu hải đường (*Begonia tuberous*) bằng hệ thống bioreactor air-lift. Cụ thể, mẫu cấy cây Thu hải đường sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường nhân chồi (MS + 0,2 mg/l BA và 0,2 mg/l NAA) cho sự tăng sinh khối ở nuôi cấy agar là 6 lần, nuôi cấy lỏng tĩnh là 6,5 lần, nuôi cấy lỏng lắc là 23 lần, còn trong nuôi cấy bằng bioreactor cho sự tăng sinh khối lên đến 42 lần (Dương Tấn Nhựt *et al*., 2005). Từ đó rút ngắn được thời gian nhân giống loài hoa này. Bên cạnh đó, với sự nỗ lực sáng tạo, các nghiên cứu viên trong phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng cũng đã chế tạo thành công một hệ thống bioreactor dạng air-lift bằng những vật liệu có sẵn trong nước. Chi phí cho một hệ thống bioreactor tự chế chỉ bằng 1/16 giá thành so với một hệ thống nhập từ Hàn Quốc và cũng cho kết quả nhân giống tương đương.

Đối với hệ thống ngập chìm tạm thời (temporary immersion system), bước đầu, Viện cũng đã chế tạo thành công và đã ứng dụng hệ thống này vào nhân giống nhanh loài hoa African violet. Kết quả cho thấy hệ thống ngập chìm tạm thời cho hiệu quả nhân chồi và tăng sinh khối chồi cây hoa

African violet cao hơn so với phương pháp nhân giống truyền thống. Cụ thể là số chồi tăng 4,61 lần và sinh khối tăng 23,17 lần. Hệ thống này cũng đã áp dụng thành công trên đối tượng cây Lan hồ điệp. Cũng trên cơ sở của các nghiên cứu nhiều năm trước đây tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên trên đối tượng các loài cây dược liệu quý hiếm như Thông đỏ, sâm Ngọc Linh (Hình 8), Hà thủ ô, Lan gấm,... Viện đã và đang tiến hành nghiên cứu nuôi cấy huyền phù và nhân sinh khối các loài cây dược liệu này bằng hệ thống bioreactor nhằm hướng đến việc chiết xuất các hoạt chất sinh học tại Việt Nam trong một tương lai gần.



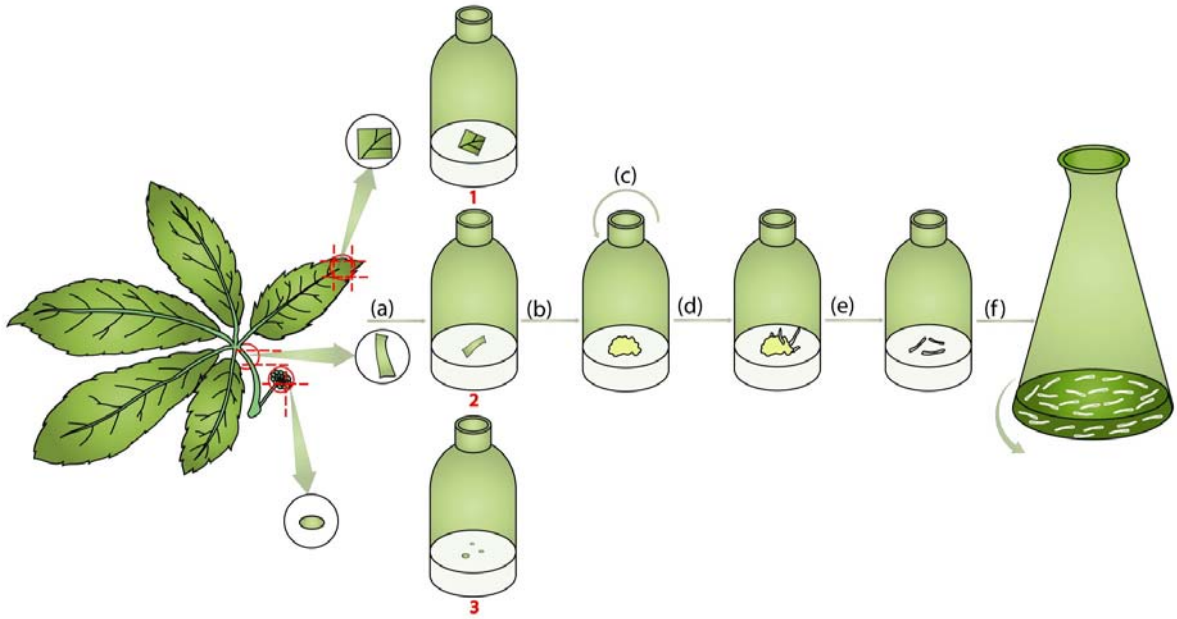
Hình 8. Rễ tóc sâm Ngọc Linh nuôi cấy trong các hệ thống nuôi cấy bioreactor.

8. KỸ THUẬT NUÔI CẤY LỚP MỎNG TẾ BÀO TRONG NGHIÊN CỨU MỘT SỐ LOẠI CÂY TRỒNG KHÓ NHÂN GIỐNG

Hệ thống TCL (Thin Cell Layer) chứa những mẫu cấy có kích thước nhỏ được cắt ra từ các cơ quan thực vật khác nhau (chồi, lá, rễ, cụm hoa, đế hoa hoặc các cơ quan của hoa, lá mầm, trụ trên hay trụ dưới lá mầm, vùng chồi đỉnh hoặc phôi). Chúng được cắt theo chiều dọc - được gọi là lTCL hoặc ngược lại, theo chiều ngang - được gọi là tTCL và lần đầu tiên được mô tả bởi K. Trần Thanh Vân (1973). Phương pháp TCL vượt qua các giới hạn đối với sự tái sinh trên thực vật và những ứng dụng của nó trong chuyển gen thực vật. Kỹ thuật này có tiềm năng tạo phôi và cơ quan cao trong hệ thống TCL trên cây *Petunia*, Củ cải đường, hoa Hướng dương và một số loài cây khác được xem như là những cây khó tái sinh *in vitro* như một số loài rau, đậu: *Psophocarpus tetragonolobus*, *Soja biloxi*, *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*,…; một số loài cây thân gỗ hai lá mầm: *Hardwickia binata* Roxb, *Paulownia*, *Pinus radiate*, *Sequoiadendron giganeum*, *Sequoia sempervirens*, *Vitis*,…; một số loài cây thân gỗ một lá mầm: *Bambusa glaucscens*, *Cocos nucifera*,…; một số loại cây thân thảo một lá mầm: *Digitaria giganteum*, *Phalaenopsis amabilis*, *Paphiopedilum auroreum*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare*,… Ngoài ra, hệ thống TCL được sử dụng như là một mô hình thành công để phân tích quá trình biệt hóa dựa trên những marker phân tử và sinh hóa.

Tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Dương Tấn Nhựt cũng là người đi tiên phong trong ứng dụng kỹ thuật TCL trong nghiên cứu kỹ thuật này trên một số đối tượng cây trồng khó nhân giống bằng phương pháp vi nhân giống thông thường. Duong Tan Nhut *et al*. (2005) đã nghiên cứu ảnh hưởng của Thidiazuron cảm ứng sự tạo chồi hiệu quả cao từ lát

cắt ngang lớp mỏng tế bào cuống lá Thu hải đường (*Begonia tuberous*). Sự phát sinh phôi vô tính và tái sinh chồi trực tiếp của cây Lúa (*Oryza sativa* L.) bằng phương pháp nuôi cấy lớp mỏng tế bào mô phân sinh đỉnh cũng được mô tả bởi Duong Tan Nhut *et al*. (2000). Bên cạnh đó, nhóm tác giả cũng đã thành công trong nghiên cứu sự phát sinh phôi vô tính thông qua nuôi cấy TCL cây Thuốc lá, cây Hoa chuông, cây Lay ơn, cây Lily, cây Sâm Ngọc Linh (Hình 9) và một số cây trồng có giá trị khác.

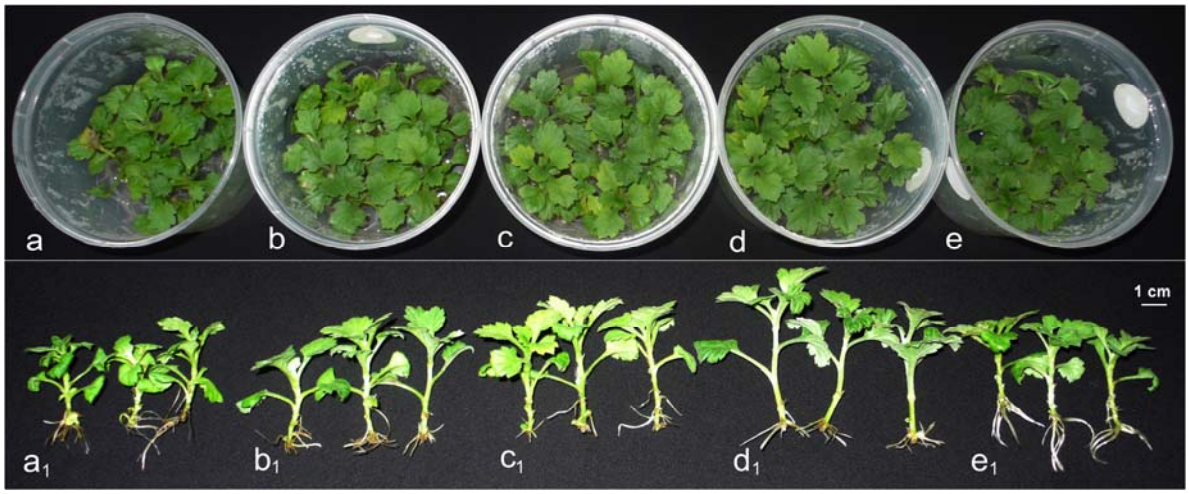


Hình 9. Sơ đồ phát sinh hình thái cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.). **a:** nuôi cấy lớp mỏng tế bào – TCL (lá, cuống dọc, cuống ngang; **b:** nuôi cấy tạo mô sẹo; **c:** mô sẹo; **d:** phát sinh hình thái; **e:** tái sinh chồi; **f:** nuôi cấy lỏng lắc.

9. NANO KIM LOẠI – TIỀM NĂNG TRONG NGHIÊN CỨU VÀ CẢI THIỆN CHẤT LƯỢNG GIỐNG CÂY TRỒNG

Mặc dù công nghệ nano đã được nghiên cứu và đi vào ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực kinh tế, xã hội và đời sống với rất nhiều ưu điểm và lợi ích. Tuy nhiên, nuôi cấy mô tế bào thực vật – một ngành tuy non trẻ nhưng gắn liền với rất nhiều hoạt động đời sống, kinh tế – lại chưa được quan tâm nghiên cứu, ứng dụng kết hợp với công nghệ này. Dưới sự hỗ trợ kinh phí của đề tài "*Nghiên cứu tác động của hạt nano kim loại lên khả năng tái sinh, sinh trưởng, phát triển và tích lũy hoạt chất trong quá trình nhân giống vô tính một số cây trồng có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam" thuộc Hợp phần IV: "Nghiên cứu cơ chế tác động và đánh giá an toàn sinh học của các chế phẩm nano được nghiên cứu trong dự án", mã số: VAST.TĐ.NANO.04/15-18"*, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Dương Tấn Nhựt (2014 đến nay) đã tập trung đi vào khảo sát, đánh giá tác động của một số hạt nano kim loại bao gồm nano kim loại sắt, bạc,... lên các vấn đề cụ thể đang gặp phải trong quá trình nuôi cấy *in vitro* ở một số loại cây trồng có giá trị kinh tế cao như: nghiên cứu sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc (*Chrysanthemum* sp.) *in vitro* trên môi trường có sử dụng nano sắt (Dương Tấn Nhựt và cộng sự, 2014), đánh giá tác động của nano bạc trong việc cải tiến chất lượng cây hoa Hồng (*Rosa* sp.) nuôi cấy *in vitro* (Dương Tấn Nhựt và cộng sự, 2015), nâng cao khả năng làm giảm một số vi sinh vật gây nhiễm trong môi trường nuôi cấy vi thủy canh (Hình 10) và biểu hiện của cây trồng ở giai đoạn đồng ruộng (Hoàng Thanh Tùng và cộng sự, 2016), cải thiện chất lượng môi trường nuôi cấy (Dương Tấn Nhựt và cộng sự, 2017), tăng khả năng ra rễ và giải quyết những vấn đề liên quan đến các hiện tượng sinh lý (Đỗ Thị Hiền và cộng sự, 2017) ở thực vật nhằm hướng tới nâng cao chất lượng các sản phẩm nuôi cấy *in vitro*. Đồng thời, hướng nghiên cứu tiếp theo của

nhóm tác giả là đánh giá vai trò của một số hạt nano kim loại trong sinh tổng hợp các hoạt chất thứ cấp cũng dư lượng các nano kim loại trong sản phẩm nuôi cấy *in vitro*.



Hình 10. Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng tăng trưởng của cây Cúc trong hệ thống vi thủy canh sau 2 tuần nuôi cấy. **a**, **a**$_1$: không bổ sung nano bạc; **b**, **b**$_1$: bổ sung 2,5 ppm nano bạc; **c**, **c**$_1$: bổ sung 5 ppm nano bạc; **d**, **d**$_1$: bổ sung 7,5 ppm nano bạc; **e**, **e**$_1$: bổ sung 10 ppm nano bạc.

10. KẾT LUẬN

Bài viết này cung cấp một đánh giá tổng quát các nghiên cứu về công nghệ sinh học thực vật do chính nhóm tác giả thực hiện. Thông qua những kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi hy vọng rằng những kết quả này có thể ứng dụng trong thực tiễn sản xuất, là tài liệu khoa học có giá trị trong nghiên cứu và giảng dạy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đề tài nhánh cấp nhà nước: KC-04-19 "Nghiên cứu áp dụng công nghệ phôi vô tính, hạt nhân tạo trong nhân nhanh cây hoa Lily và Hồng môn", thực hiện từ năm 2002-2005.

- Đề tài nghiên cứu cơ bản cấp nhà nước: 8.2 "Kỹ thuật nuôi cấy lớp mỏng tế bào và hệ thống nuôi cấy bioreactor trong nhân giống nhanh cây hoa Thu hải đường (*Begonia tuberous*) – một loài hoa có giá trị kinh tế", thực hiện từ 1/2005-12/2006.

- Đề tài cấp Sở Khoa học & Công nghệ Tp. HCM: "Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy bằng Bioreactor trong nhân giống cây hoa Lily", thực hiện từ 10/2004-10/2006.

- Đề tài nghiên cứu Trung Tâm Hỗ Trợ Phát Triển Châu Á: "Nghiên cứu nuôi cấy tế bào đơn cây Thông đỏ (*Taxus wallichiana*) – một loài dược liệu quí chữa trị ung thư", thực hiện từ 1/2006-7/2007.

- Dự án sản xuất thử nghiệm cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam: Sản xuất thử nghiệm nhân giống *in vitro* cây Địa lan (*Cymbidium* spp.) phục vụ cho công tác trồng hoa chậu và cắt cành tại Đà Lạt – Lâm Đồng, thực hiện từ 4/2006-12/2009.

- Dự án sản xuất thử nghiệm cấp Sở Khoa học & Công nghệ Tp. HCM: Hoàn thiện qui trình nhân giống và cung cấp cây giống dâu tây (*Fragaria vesca* L.) sạch bệnh, số lượng lớn cho các vùng trồng dâu tây tại tỉnh Lâm Đồng, thực hiện từ 2006-2011.

- Đề tài cấp Sở Khoa học & Công nghệ tỉnh Lâm Đồng: Nghiên cứu qui trình tạo phôi vô tính và nhân nhanh cây lan Hồ điệp (*Phalaenopsis* spp.), thực hiện từ 2006-2009.

- Đề tài nhà nước: Nghiên cứu nhân giống vô tính và sản xuất sinh khối rễ cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grush.), thực hiện từ 2/2008-2/2011.

- Đề tài NAFOSTED: Hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào trong nghiên cứu chương trình phát sinh hình thái và bảo tồn cây sâm Ngọc Linh, thực hiện 2009-2011.

- Đề tài nhà nước: Nghiên cứu chuyển gen tạo rễ tóc Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) làm vật liệu cho nuôi cấy bioreactor, thực hiện 2012-2016.

- Dự án sản xuất thử nghiệm cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam: Ứng dụng hệ thống chiếu sáng đơn sắc (LED) trong nghiên cứu nhân nhanh cây Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) với số lượng lớn phục vụ nhu cầu nhân giống của tỉnh Quảng Nam, thực hiện 2012-2015.

- Đề tài NAFOSTED: Hệ thống chiếu sáng đơn sắc – nguồn sáng nhân tạo cho nghiên cứu tái sinh và nhân giống một số loại cây trồng nuôi cấy in vitro, 2013-2014.

- Đề tài nhánh chương trình Tây Nguyên 3: Nghiên cứu công nghệ chiếu sáng LED phục vụ nông nghiệp Tây Nguyên, 2014-2015.

- Đề tài NAFOSTED: Nghiên cứu một số kỹ thuật mới trong vi nhân giống và chọn tạo giống lan Hài (*Paphiopedilum* sp.), 5/2016-5/2018.

- Đề tài nhánh Dự án khoa học công nghệ trọng điểm: Nghiên cứu ứng dụng công nghệ Nano trong nông nghiệp: Nghiên cứu tác động của các hạt nano kim loại lên khả năng tái sinh, sinh trưởng, phát triển và tích lũy hoạt chất trong quá trình nhân giống vô tính một số cây trồng có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam, 2016-2018.

Đề tài cấp cơ sở (Phân Viện Sinh học tại Đà Lạt, Viện Sinh học Tây Nguyên, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên) và 2 đề tài cấp Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia (nay là Viện Hàn Lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam).

NHỮNG VẤN ĐỀ VỀ CÔNG NGHỆ CAO TRONG NÔNG NGHIỆP

GS. Nguyễn Thơ

Những năm gần đây, nước ta đã xuất hiện một số mô hình sản xuất tiên tiến, có tính chất công nghệ cao trong nông nghiệp dưới nhiều hình thức sản xuất. Tuy nhiên thế nào là nông nghiệp công nghệ cao, tổ chức như thế nào là hợp lý vẫn đang còn nhiều ý kiến khác nhau. Để khuyến khích sản xuất, Chính phủ có chủ trương dành gói tín dụng 100 nghìn tỷ đồng cho phát triển nông nghiệp công nghệ cao theo Nghị quyết 30/NQ-CP ngày 7/3/2017 và Ngân hàng Nhà nước Việt Nam (NHNN) đã ban hành Quyết định số 813/QĐ-NHNN ngày 24/4/2017 về chương trình cho vay khuyến khích phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao, nông nghiệp sạch, nhưng việc xác định thế nào là công nghệ cao để vận dụng chính sách thì chưa rõ ràng. Trước tình hình đó, ngân hàng đang gặp khó khăn trong thực thi chủ trương của Chính phủ. Sau đây là một số suy nghĩ xin trao đổi để tham khảo.

1. NHỮNG TỒN TẠI CỦA NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

Từ sau khi đất nước bước vào Đổi mới đến nay, nền nông nghiệp nước ta có nhiều phát triển quan trọng, tuy nhiên hiện vẫn còn nhiều điểm tồn tại:

- Hàm lượng công nghệ, mức độ cơ giới hóa trong sản xuất còn quá thấp, cho nên năng suất lao động trong nông nghiệp còn rất thấp, giá thành nông sản cao, năng lực cạnh tranh của nông sản hạn chế, ngay trên thị trường nội địa.
- Việc sản xuất thâm canh chủ yếu dựa vào hóa học đã làm cho môi trường đất, nước ngày càng thoái hóa, ô nhiễm, dịch hại ngày càng nặng nề, khó phòng trị. Dư lượng hóa chất trong nông sản cao, thiếu an toàn, giá trị hàng hóa thấp, môi trường bị ô nhiễm, sản xuất nông nghiệp thiếu bền vững. Hơn thế nữa, hiện tượng biến đổi khí hậu toàn cầu đang ảnh hưởng ngày một nặng đến sản xuất nông nghiệp.

Việt Nam cần có công nghệ cao để giảm thiểu những tồn tại, góp phần phát triển sản xuất nông nghiệp của từng địa phương được bền vững và tăng hiệu quả kinh tế.

2. NHỮNG TIÊU CHÍ CẦN CÓ CỦA CÔNG NGHỆ CAO TRONG NÔNG NGHIỆP.

Theo chúng tôi trong điều kiện phát triển nông nghiệp của từng địa phương, công nghệ cao cần hội tụ đủ một số tiêu chí như sau:

1/ Trước tiên công nghệ đó phải có hàm lượng chất xám cao hơn so với mặt bằng kỹ thuật sản xuất hiện tại của nơi áp dụng.

2/ Công nghệ phải phù hợp với điều kiện tự nhiên, mục tiêu sản xuất và điều kiện xã hội của địa phương nơi áp dụng.

3/ Sản xuất bằng kỹ thuật công nghệ cao, sản phẩm làm ra có chất lượng tốt và giá thành thấp hơn so với kỹ thuật hiện có, an toàn, đáp ứng được thị trường khó tính và có hiệu quả kinh tế cao.

Từ đó, việc lựa chọn công nghệ là rất hệ trọng, tốt nhất nên chọn công nghệ xuất phát từ yêu cầu sản xuất trọng điểm của vùng. Mục đích cuối cùng của việc ứng dụng công nghệ cao là sản xuất của địa phương được phát triển. Công nghệ đó phải có sức lan tỏa, thực sự có hiệu quả kinh tế. Như vậy, công nghệ cao trong nông nghiệp là rất đa dạng, không chỉ gò bó vào một số thể loại hình công nghệ nhất định nào đó.

Theo kinh nghiệm của một số cơ sở, trước khi chọn một công nghệ để sản xuất, phải điều nghiên trước công nghệ đó phù hợp với đối tượng sản xuất của địa phương mình, và có thị trường. Tính toán có hiệu quả kinh tế hay không để quyết định phương án đầu tư công nghệ cho phù hợp.

3. Ý KIẾN TRAO ĐỔI VỀ CHỌN CÔNG NGHỆ CAO TRONG NÔNG NGHIỆP

3.1. Công nghệ nhà kính (nhà màng), nhà lưới

Hiện nay các địa phương đang nói nhiều về công nghệ cao sản xuất trong nhà kính nhà lưới. Đây là một công nghệ tốt, công nghệ nhà kính là công nghệ đặc thù ở xứ lạnh, hoặc những vùng có nhiệt độ thấp. Công nghệ này phù hợp với cây rau, hoa. Ở nước ta rất phù hợp cho vùng cao nguyên như Đà Lạt và những vùng núi cao ở các tỉnh phía Bắc. Công nghệ này có thể sử dụng được nhưng không thật phù hợp với vùng đồng bằng ở nước ta vì có khí hậu nhiệt đới ẩm. Ngay như vùng đồng bằng Bắc Bộ là vùng khí hậu nhiệt đới có mùa đông lạnh, nhà kính nhà lưới rất thích hợp trồng rau cho mùa đông, còn mùa hè nóng bức không thể nào thích hợp được.

- Nhiều năm qua một số cơ sở đã nhập khẩu nhà lưới tự động của Israel, nơi có điều kiện khí hậu lục địa khô về áp dụng nguyên xi ở ta, là nơi có điều kiện nhiệt đới ẩm, là hoàn toàn không phù hợp. Mặt dầu kỹ thuật trông có vẻ hiện đại. nhưng sản phẩm rau hoa quả sản xuất ra có giá thành rất cao, không có thị trường tiêu thụ. Đó là những bài học quá đắt giá.

Vì vậy, theo chúng tôi, nhà kính nhà lưới không phải là công nghệ đặc thù, có tính phổ biến và hiệu quả kinh tế cao ở nước ta.

3.2. Nên tổ chức sản xuất và áp dụng công nghệ một cách đồng bộ

- Nhiều doanh nghiệp công nghệ sau thu hoạch như chế biến đóng gói, xử lý cấp đông, chiếu xạ, xử lý nhiệt nông sản bằng công nghệ khá hiện đại, nhưng thiếu đầu tư và quản lý sản xuất đồng ruộng, nên sản phẩm rau hoa quả, hồ tiêu, hạt điều có chất lượng kém, hàm lượng nitrate cao do bón quá nhiều phân đạm hoá học, dư lượng thuốc BVTV quá ngưỡng cho phép vì lạm dụng thuốc hoá học. Hơn thế nửa những sản phẩm này không có nguồn gốc xuất xứ của nguyên liệu (các doanh nghiệp chỉ mua nguyên liệu trôi nổi qua thương lái), không thể gọi sản phẩm công nghệ cao được.

- Hiện nay tại Tp Đà Lạt có mô hình nhà lưới có thể trồng rau phù hợp trong điều kiện nhiệt độ thấp, rau hoa quả phát triển tốt trong nhà màng, nhà lưới được quanh năm, hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, nhiều nơi chưa nghiên cứu hoàn chỉnh biện pháp quản lý dịch hại (IPM), sao cho phù hợp với quần thể sâu bệnh hại phát sinh trong nhà lưới. Có trường hợp trong nhà lưới vẫn phải phun thuốc BVTV quá nhiều, dư lượng hóa chất trong rau hoa cao, làm mất ý nghĩa bảo vệ của nhà lưới. Vì vậy, kỹ thuật nhà kính như trên là chưa thể hoàn chỉnh được.

- Ngành chế biến hạt điều ở nước ta đã có công nghệ khá tốt, nhưng việc tổ chức sản xuất điều còn quản canh là chính, năng suất quá thấp. Ngành điều chủ yếu phải nhập nguyên liệu thô từ các nước, chế biến rồi tái xuất là chính.

Vì thế cho nên việc áp dụng công nghệ cao trong nông nghiệp phải nghiên cứu, quản lý và áp dụng công nghệ theo chuỗi, sao cho sản phẩm cuối cùng đáp ứng được mọi thị trường và có hiệu quả kinh tế.

4. TỔ CHỨC, QUẢN LÝ SẢN XUẤT CÔNG NGHỆ CAO TRONG NÔNG NGHIỆP

Hiện nay trong nước đang có nhiều mô hình nông nghiệp công nghệ cao:

- Mô hình khu quản lý công nghệ tập trung, như khu nông nghiệp công nghệ cao của thành phố Hồ Chí Minh. Nhằm thu hút những doanh nghiệp có công nghệ tiêu biểu tập trung vào khu quản lý tập trung để kinh doanh; Kết hợp với nghiên cứu khoa học; Huấn luyện đào tạo, chuyển giao công nghệ. Khu công nghệ cao của thành phố còn có nhiệm vụ liên kết với các cơ quan khoa học, trong

và ngoài nước, liên hệ với các tỉnh để chuyển giao công nghệ. Đây là một mô hình có nhiều tham vọng trong công nghệ. Tuy nhiên cái khó của mô hình này là: Nhà Nước đầu tư khá tốn kém để xây dựng cơ sở hạ tầng và chi phí cho đội ngũ quản lý, nhưng hiệu quả của nó như thế nào vẫn còn thời gian để thử thách và đánh giá.

- Mô hình các doanh nghiệp có công nghệ cao, là những trang trại nuôi trồng, nhà máy sơ chế, chế biến đóng gói nông sản. Những doanh nghiệp tư nhân trong và ngoài nước đó hoạt động độc lập, Nhà Nước không hề có sự đầu tư và can thiệp nào. Nhiều mô hình doanh nghiệp nói trên có công nghệ rất cao trong các nghề trồng rau, hoa, công nghệ cấp đông, chế biến rau quả, hạt điều, sơ chế lúa gạo xuất khẩu, nhà máy chiếu xạ trái cây, xử lý nhiệt trừ ruồi đục quả, sơ chế hồ tiêu sạch tự động để xuất khẩu sang các thị trường khó tính. Các doanh nghiệp nông nghiệp công nghệ cao của loại hình này cũng đã hoạt động trong thời gian dài có hiệu quả, có sức lan tỏa nhất định trong sản xuất. Đối với những mô hình công nghệ cao nói trên thường rất đa dạng, đạt hiệu quả rất cao, Nhà Nước gần như không phải đầu tư tốn kém.

Một trong những vấn đề quan trong các mô hình công nghệ là sự lan tỏa của công nghệ đó trong sản xuất, sự lan tỏa là sức sống của công nghệ. Để công nghệ có thể lan tỏa cần có mấy điều kiện:

+ Công nghệ được thể hiện trong những lĩnh vực sản xuất trọng điểm của địa phương.

+ Công nghệ đó được thường xuyên có mối liên hệ với nông dân trong vùng để trao đổi, học hỏi, rút kinh nghiệm, tạo điều kiện cho công nghệ lan tỏa vào sản xuất. Đồng thời cũng có điều kiện để điều chỉnh công nghệ cho phù hợp với sản xuất.

Để cho công nghệ cao hoạt động được tốt, có sức lan tỏa mạnh, thực sự hữu ích cho sản xuất cho cả nước và khu vực, ngoài sự năng động của các doanh nghiệp, Nhà nước trung ương và chính quyền địa phương cần có định hướng và tổ chức chăm lo cho việc phát triển công nghệ đúng hướng.

Sau một số năm hoạt động, cần phải đúc kết rút kinh nghiệm xem mô hình công nghệ cao nào là phù hợp nhất cho từng địa phương. Hy vọng những công nghệ cao thực sự góp phần giải quyết những vấn đề về năng suất lao động, nâng cao giá trị hàng hóa, khắc phục sự thoái hóa và ô nhiễm môi trường nông nghiệp và thích ứng với biến đổi khí hậu.

PHÂN BÓN VÀ CHẾ PHẨM SINH HỌC PHỤC VỤ NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO VÀ AN TOÀN THỰC PHẨM

TS. Nguyễn Đăng Nghĩa & PGS.TS. Mai Thành Phụng

A. HIỆN TRẠNG SỬ DỤNG PHÂN BÓN Ở VIỆT NAM

Vấn đề sản xuất cung ứng và sử dụng phân bón tại Việt Nam hiện tại cho thấy: có hơn **1.000** cơ sở sản xuất ra gần **20.000** chủng loại phân bón khác nhau (Thống kê theo danh mục của Bộ NN-PTNT vào tháng 10-2017); trong đó khoảng **1.700** loại phân hỗn hợp N-P-K. So với năm 2000, chỉ có trên 100 doanh nghiệp và cơ sở đầu mối sản xuất phân bón và lúc đó mới chỉ có 1420 chủng loại (Nguyễn Văn Bộ, Phạm Quang Hà, 2002).

Bảng 1. Các loại phân bón hiện đang phổ biến tại Việt Nam

Loại phân	**Số loại**		
	2002	**2007**	**2010**
Phân đơn	17	17	17
Phân NPK	**1.084**	**1.500**	**1.700**
Hữu cơ-Khoáng	79	90	150
Vi sinh vật-Sinh học	20	40	50
Trung lượng, vi lượng	60	80	90
Khác	160	200	130

Để đảm bảo an ninh lương thực, mỗi quốc gia có thể áp dụng một hoặc nhiều biện pháp sau đây: *(i) Tăng diện tích thông qua khai hoang các vùng đất mới; (ii) Tăng vụ và (iii) Thâm canh (giống mới, bón phân, quản lý sâu bệnh và áp dụng các biện pháp thuỷ nông thích hợp).* Tuy nhiên với Việt Nam, đất sản xuất nông nghiệp nói chung và đất sản xuất cây lương thực cây thực phẩm nói riêng không những không tăng mà còn đang giảm đi nhanh chóng cả về số lượng và chất lượng. Trong giai đoạn năm 2000 - 2007, diện tích đất trồng lúa đã giảm đi 361.935 ha. Còn theo báo cáo của các địa phương, từ 2004 đến 2009 thì 29 ngàn dự án đã thu hồi gần 750.000 ha, trong đó trên 80% là đất nông nghiệp.

Việc mở rộng diện tích canh tác gần như là không thể, cả nước hiện chỉ còn 327 ngàn ha đất bằng chưa sử dụng, song phần lớn lại nằm vùng ven biển, hoặc nhiễm mặn hoặc là cồn cát nên khai thác cho nông nghiệp rất khó khăn. Việc tăng vụ cũng không khả thi, nhiều nơi đã trồng 2-3 vụ lúa/năm; một số vùng trồng rau màu đã đạt 4-5 vụ/năm. Hệ số sử dụng đất đã tăng từ 1,49 năm 1990 lên 1,92 năm *2007 (Theo niêm giám thống kê, 2010).* Do vậy, giải pháp gần như duy nhất để tăng sản lượng chỉ có thể là tăng năng suất thông qua thâm canh, mà trước hết là sử dụng phân bón. Nếu chúng ta cứ tiếp tục sử dụng phân bón hóa học như hiện nay thì nguy cơ làm thoái hóa đất, mất cân đối dinh dưỡng trong đất, giảm năng suất chất lượng nông sản, ô nhiễm môi trường đất nông nghiệp và tầng nước ngầm sẽ không ngừng tăng tới mức trầm trọng và đáng ***"báo động đỏ".*** Đặc biệt, với kỹ thuật canh tác nông nghiệp hiện tại sẽ làm gia tăng ***"hiệu ứng nhà kính"*** và tác động vô cùng xấu đến biến đổi khí hậu.

Một ví dụ về một trong những loại khí nhà kính (KNK) đó là: Ôxít nitơ (N_2O) là KNK quan trọng thứ ba sau CO_2 và CH_4, đã tăng từ **270 ppbV năm 1750 lến 319 ppbV năm 2005**. Một đơn vị khối lượng N_2O phát thải vào khí quyển có GWP *(Global Warming Potential - GWP)* gấp **310 lần 1**

đơn vị khối lượng CO_2 *(tính cho chu kỳ 100 năm)*. Nguồn N_2O chủ yếu hiện nay là do đốt các loại rơm rạ, chất thải thực vật, sử dụng phân hóa học, sản xuất các chất hóa học, phá rừng. Đất canh tác được bón phân là một nguồn phát thải N_2O đáng chú ý, chiếm 13% đến 28% lượng N_2O phát thải toàn cầu hàng năm. N_2O phát thải từ đất canh tác xuất hiện nhiều nhất vào các thời kỳ sau khi bón phân, sau khi mưa, sau thu hoạch cây trồng, và sau khi vùi phân chuồng.

Ở Việt Nam, kết quả kiểm kê quốc gia KNK năm 2000 cho thấy tổng lượng khí phát thải năm 2000 là **150.899,7 nghìn tấn CO_2eq**, trong đó nông nghiệp là nguồn phát thải lớn nhất với 65.090,7 nghìn tấn CO_2eq, chiếm **43,1%;** tiếp theo là năng lượng với 52.773,5 nghìn tấn CO_2eq, chiếm 35%; từ LULUCF (sử dụng đất, thay đổi sử dụng đất và lâm nghiệp) là 15.104,7 nghìn tấn CO_2eq, chiếm 10%; từ các quá trình công nghiệp là 10.005,7 nghìn tấn CO_2eq, chiếm 6,6%; từ chất thải là 7.925,2 nghìn tấn CO_2eq, chiếm 5,3%. Dự báo phát thải KNK ở Việt Nam được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Dự báo phát thải KNK của Việt Nam, Triệu tấn CO_2eq

Lĩnh vực	Năm 2010	Năm 2020	Năm 2030
Năng lượng	113,1	251,0	470,8
Nông nghiệp	65,8	69,5	72,0
LULUCF	-9,7	-20,1	-27,9
Tổng	169,2	300,4	515,8

Nguồn: Bộ Tài nguyên và Môi trường (2010).

Ở một khía cạnh khác, hiệu suất sử dụng phân bón ở Việt Nam hiện nay rất thấp, đạm mới chỉ đạt 30-45%, lân 20-30%, kali 40-50%. Hàng năm, một khối lượng lớn phân bón đã được đưa vào đất nhưng không được cây trồng sử dụng, gây lãng phí: urê 1,8 triệu tấn, supe lân 2,07 triệu tấn, kali 344 nghìn tấn (số liệu năm 2009). Trong đó, một phần bị rửa trôi hoặc thấm sâu gây ô nhiễm nguồn nước. Theo số liệu quan trắc của Tổng cục Môi trường (2009) ở một số khu vực sông cho thấy hàm lượng NH_4^+, NO_3^- và PO_4^{3-} vượt 1,5-2 lần so với tiêu chuẩn cho phép. Trong 30-50% mẫu nước ngầm lấy ở Hà Nội, Hải Phòng, Nam Định… hàm lượng các chất này cũng vượt ngưỡng. Việc dư thừa đạm và lân trong nước uống hoặc thức ăn đều có tác hại đối với sức khoẻ con người. Thừa đạm gây chứng giảm *hemoglobin* trong máu (hội chứng da xanh ở trẻ em) và nguy cơ gây ung thư; trong khi đó thừa phosphore sẽ làm giảm khả năng hấp thu can xi, gây nguy cơ loãng xương. Hiện nay, các nước đang phát triển có xu hướng sử dụng ngày càng tăng lượng phân bón hóa học NPK, Việt Nam cũng nằm trong xu thế này. Tuy nhiên, việc dùng quá nhiều phân đạm (N) tới mức lạm dụng đã làm tăng dần sự mất cân đối các dưỡng chất trong đất ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng nông sản. Đồng thời dùng lượng N quá cao sẽ gây khó khăn trong việc bảo quản nông sản cũng như tích lũy hàm lượng NO^-_3 trong rau và các loại cây thực phẩm sẽ là nguy cơ đe dọa sức khỏe vật nuôi và con người. Ngoài ra, theo các nhà khoa học thì khí N_2 gây hiệu ứng nhà kính lớn hơn khí CO_2 gấp 300 lần. Trong sản xuất nông nghiệp, một lượng đáng kể N bị thất thoát vào không khí khi bón đạm ure hoặc sulphate amon (SA), gây lãng phí và gia tăng hiệu ứng nhà kính. Đây là một trong những nguyên nhân gây ra hậu quả của biến đổi khí hậu. Chỉ tính riêng trong lĩnh vực nông nghiệp Việt Nam thì mỗi năm lượng N thất thoát xấp xỉ 1,0 triệu tấn *(tính chung cho cả 2 quá trình trực di xuống nước ngầm và bốc hơi vào khí quyển)*. ***Một khối lượng N tự do rất đáng lo ngại cho An toàn thực phẩm, sức khỏe cộng đồng và môi trường nông thôn Việt Nam?***

Như vậy cho thấy, trong sản xuất nông nghiệp rất cần phải có một cuộc cách mạng về sản xuất và sử dụng những loại phân bón thế hệ mới có tính năng, tác dụng và hiệu quả nhằm hạn chế những tác hại kể trên.

B. MỘT SỐ LOẠI PHÂN BÓN THẾ HỆ MỚI ỨNG DỤNG CNC PHỤC VỤ SẢN XUẤT NÔNG NGHIỆP

Phân bón hóa học vẫn là một trong những vật tư quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Tuy nhiên, hiệu suất sử dụng phân bón còn rất thấp, lượng phân bón mất đi trong quá trình sử dụng là rất lớn gây lãng phí và ảnh hưởng đến môi trường sống. Trong nỗ lực tăng cao hiệu lực sử dụng của các loại phân bón, người ta đã dùng nhiều cách để sản xuất ra các loại phân bón mới. Thuật ngữ **phân bón thế hệ mới** ***(new generation fertilizer hay next generation fertilizer)*** đang ngày càng được nhiều nhà nghiên cứu và sản xuất sử dụng phổ biến. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có một khái niệm đầy đủ về phân bón thế hệ mới mà chỉ nêu một tiêu chí chung cho phân bón dạng này: Phân bón thế hệ mới sẽ làm tăng hiệu quả và năng suất của sản xuất nông nghiệp, đồng thời bảo tồn nguồn tài nguyên thiên nhiên và bảo vệ môi trường (nguồn www.ifdc.org).

Hiện nay, một số quốc gia có nền nông nghiệp tiên tiến như Mỹ, Ý, Tây Ban Nha, Nhật Bản, Ấn Độ, Đài Loan… đã nghiên cứu và sản xuất một số loại phân bón thế hệ mới được xếp theo nhóm như sau:

- Nhóm phân bón được sản xuất theo công nghệ nano
- Nhóm phân bón được sản xuất theo công nghệ vi sinh & enzym.
- Nhóm phân bón vô cơ được sản xuất theo công nghệ mới
- Nhóm phân bón được khai thác và chế biến từ nguyên liệu hữu cơ thiên nhiên
- Nhóm phân bón sinh học chức năng có hoạt lực cao.

Chính nhờ các nhóm, loại phân bón thế hệ mới với các tính năng và hiệu lực hữu ích đã góp phần giảm lượng sử dụng các loại phân hóa học, tăng chất lượng nông sản, bảo tồn độ phì đất và hạn chế ô nhiễm đất nông nghiệp, ô nhiễm nguồn nước ngầm và hệ thống sông ngòi.

1. Nhóm phân bón được sản xuất theo công nghệ Nano.

* Khái niệm về công nghệ Nano:

Công nghệ Nano là để chỉ lĩnh vực khoa học và công nghệ mà đối tượng nghiên cứu cũng như thao tác của nó có kích thước và dung sai trong dải từ 0,1nm tới 100nm. Với công nghệ này, cho phép chế tạo các thiết bị mới dựa trên các tính chất vật lý quen biết của nguyên tử và phân tử. Những thiết bị chế tạo bằng công nghệ NANO có các đặc tính siêu việt như nhỏ hơn, nhanh hơn, bền hơn hoặc thêm nhiều đặc tính hoàn toàn mới so với các thiết bị được chế tạo trên nền tảng công nghệ hiện nay. Công nghệ Nano xử lý các phân tử và nguyên tử có kích thước được đo bằng nano-mét [một phần tỉ mét hoặc $1/10^n$ (với n = 9)]. Khi chuyển sang kích cỡ nano, một kim loại có thể có những tính chất và chức năng mới hoặc có thể được tăng cường các tính năng vốn có để đạt tới và thâm nhập được vào các khu vực khác nhau. Vật liệu nano có kích thước đủ nhỏ để có thể đi sâu vào các cơ quan mà không làm ảnh hưởng đến chức năng của chúng, ví dụ: kích thước của virus từ 20-500 nm, tế bào từ 10-100µm, protein từ 5-50 nm, gen có 2 nm chiều rộng và 10-100 nm chiều dài. Nhiều vật liệu khi kích thước được thu nhỏ xuống dưới 100nm sẽ bắt đầu thể hiện hàng loạt tính chất độc đáo trên cơ sở tuân theo luật của các lực cơ lượng tử mà lực này chỉ xuất hiện ở mức độ nguyên tử. (khác lực VanderWaals). Như vậy, các hạt nano nhỏ dưới 100 nm (đặc biệt là khi dưới 50nm) không tuôn theo đầy đủ luật cơ cổ điển mà sẽ theo luật cơ lượng tử. Sự gia tăng bề mặt ở cấp độ hàng triệu lần đến tỷ lần khi vật chất thu nhỏ từ mức vĩ mô, trung mô (m, cm, mm, µm) đến cấp nanomét làm thay đổi lý tính, quang tính, từ tính và các đặc tính nhiệt động học của vật chất đó. Sản xuất phân bón theo công nghệ Nano là một công nghệ khá mới đã được áp dụng tại một số quốc gia phát triển như Đức, Thụy Sĩ, Nhật, Mỹ. Trong qui trình công nghệ đã sản xuất ra những loại phân bón có kích cỡ rất nhỏ từ 100-

500 nm, những loại phân này đã có nhiều tính năng vượt trội so với chính hiệu lực của nó khi chưa xử lý. Khả năng hấp thu qua lá & qua hệ thống rễ được tăng mạnh do vậy khi sử dụng phân bón theo CN Nano vừa có hiệu lực Nông học, Hiệu quả kinh tế, lại bảo đảm không gây tồn dư và tổn hại đến môi trường. Hiện tại, công nghệ Nano sản xuất phân bón mới dừng ở một số loại phân bón vi lượng và một số chất hữu cơ có hoạt tính sinh học cao (Rong Biển; Chitosan).

Nghiên cứu chế tạo và ứng dụng vật liệu Nano hydroxit lớp kép (Layered Double Hydroxides - **LDHs)** trong sản xuất phân bón và trong nông nghiệp là rất cần thiết. LDHs là một trong những vật liệu Nano công nghệ cao có triển vọng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau và đang được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu. Loại vật liệu này có thể chế tạo từ muối kim loại, có độ tinh khiết cao, an toàn cho sức khỏe và chi phí hợp lý. Về cấu trúc, LHDs tương tự như khoáng brucite trong tự nhiên, bao gồm 2 phiến hydroxit kim loại mang điện dương được cân bằng bởi các anion và nước nằm xen giữa. LDHs có công thức hóa học như sau:

$$[M_{(1-x)}^{II}M_x^{III}(OH)_2]^{x+}(A^{n-})_{x/n}.mH_2O$$

Trong đó: + M^{II} là ion kim loại hóa trị 2 như Mg, Ca, Ni, Zn...;

+ M^{III} là ion kim loại hóa trị 3 như Al, Fe, Cr, Mn...; và

+ A^{n-} là anion, có thể là anion vô cơ như CO_3^{2-}, SO_4^{2-}, PO_4^{3-}, NO_3^-, ClO_4^-, $Fe(CN)_6^{4-}$… hoặc anion hữu cơ như acid oxalic, acid acylat...

Tính chất của LDHs rất đa dạng, phụ thuộc vào loại và tỷ lệ phân tử của các cation ở phiến hydroxit, bản chất của anion nằm xen giữa 2 phiến và phụ thuộc vào điều kiện chế tạo. Đặc tính quan trọng nhất của LDHs là chúng có diện tích bề mặt và dung tích hấp thu anion lớn (2-3 meq/g), bền với nhiệt; lực liên kết của anion xen giữa tương đối yếu nên chúng có khả năng vượt trội trong việc hấp phụ các anion vô cơ và hữu cơ (Evans và Slade, 2006). Vật liệu này có ưu thế hơn hẳn so với phức hợp zeolit-NH_4, cũng là dạng phân bón nhả chậm đang được sử dụng khá phổ biến, là hàm lượng N cao hơn nhiều lần.

Vì vậy, LDHs được sử dụng rộng rãi trong việc xử lý nguồn nước bị ô nhiễm các anion độc hại như asen, nitrat, phophat, anion hữu cơ, thuốc bảo vệ thực vật...; dùng làm chất phụ gia chống cháy trong ngành công nghiệp chất dẻo; vật liệu chiết quang trong công nghệ sản xuất kính; làm chất mang để sản xuất thuốc chống ung thư... Gần đây loại vật liệu này được nghiên cứu để làm chất mang cho phân bón Nano nhả chậm (đạm, lân) và thuốc bảo vệ thực vật thân thiện với môi trường (Li và Duan, 2006). Ở một khía cạnh khác, hiệu suất sử dụng phân bón ở Việt Nam hiện nay rất thấp, đạm mới chỉ đạt 30-45%, lân 20-30%, kali 40-50%. Hàng năm, một khối lượng lớn phân bón vào đất nhưng không được cây trồng sử dụng, gây lãng phí: urê 1,8 triệu tấn, supe lân 2,07 triệu tấn, kali 344 nghìn tấn (Trương Hợp Tác, 2009). Trong đó, một phần bị rửa trôi hoặc thấm sâu gây ô nhiễm nguồn nước. Theo số liệu quan trắc của Tổng cục Môi trường (2009) ở một số khu vực sông cho thấy hàm lượng NH_4^+, NO_3^- và PO_4^{3-} vượt 1,5-2 lần so với tiêu chuẩn cho phép. Trong 30-50% mẫu nước ngầm lấy ở Hà Nội, Hải Phòng, Nam Định… hàm lượng các chất này cũng vượt ngưỡng. Việc dư thừa đạm và lân trong nước uống hoặc thức ăn đều có tác hại đối với sức khoẻ con người. Thừa đạm gây chứng giảm hemoglobin trong máu (hội chứng da xanh ở trẻ em) và nguy cơ gây ung thư; trong khi đó thừa phospho sẽ làm giảm khả năng hấp thu can xi, gây nguy cơ loãng xương.

Endophyte Nano là chế phẩm sinh học công nghệ Nano thế hệ mới. **Endophyte Nano** là sản phẩm hoàn toàn sạch, không gây độc hại cho người và động vật. **Endophyte Nano** đã nhận được nhiều giải thưởng từ các tổ chức quốc tế, đặc biệt sản phẩm đã nhận được chứng chỉ về tiêu chuẩn EU Organic Standard (phân bón hữu cơ) do Thụy Sỹ cấp. **Endophyte Nano** được cấp phép lưu hành tự do tại Ukraine và đã được Bộ Nông Nghiệp Việt Nam cấp Hợp quy số: 1059 TB-CCTTBVTV ngày 13/07/2017. Chế phẩm Endophyte Nano rất hiệu quả trong việc xử lý giống. Việc xử lý giống

bằng Endophyte Nano sẽ kích hoạt sự phát triển của nấm Endophyte ngay từ khi còn trong hạt giống giúp cho cây có bộ rễ rất khỏe mạnh ngay sau khi được gieo trồng xuống đất, tiếp theo đó là sự phát triển mạnh của thân lá một cách tự nhiên. Thân lá phát triển sẽ giúp cây có quá trình quang hợp tổng hợp các chất Lipid và đường. Nấm Endophyte hấp thụ hoạt chất đường này, mặt khác chính hoạt chất đường này lại thu hút được thêm rất nhiều vi khuẩn nội và ngoại sinh (Endobacter, Ekzobacter) đến xung quanh vùng rễ, tạo ra một môi trường sống cộng sinh rất có lợi cho cây. Trong đó có chủng vi khuẩn có chức năng cố định được đạm, một số khác thì có khả năng phân hủy các phân bón nằm trong đất từ dạng khó hấp thụ thành dạng dễ hấp thụ cho cây, một số khác thì cung cấp trực tiếp các hoạt chất sinh trưởng cho cây. Tất cả các vi khuẩn này đều có vòng đời rất ngắn (khoảng 15-20 phút), vì thế chỉ trong một khoảng thời gian ngắn sẽ có một lượng lớn xác vi khuẩn quanh vùng rễ và chính các xác vi khuẩn này đã tạo ra một lớp mùn trong đất giúp cho đất được tơi xốp. Nấm Endophyte là loại nấm định cư siêu nhỏ có lợi cho cây trồng, thường có trong hầu hết các loại thực vật. Nấm Endophyte có tính chất hỗ sinh mạnh mẽ với thực vật và các vi sinh vật.

Nói tóm lại: việc sử dụng tiết kiệm phân bón nhưng vẫn đảm bảo năng suất và chất lượng nông sản, đảm bảo hiệu quả kinh tế và bảo vệ môi trường thông qua việc tăng hiệu quả sử dụng phân bón là việc làm cần thiết. Chính vì thế công nghệ sản xuất **phân bón Nano** là một dạng ***công nghệ cao ứng dụng trong nông nghiệp***.

2. Nhóm phân bón được sản xuất theo công nghệ vi sinh & enzym

- Muốn khai thác có hiệu quả tiềm năng dinh dưỡng của đất trồng nông nghiệp nhằm hạn chế dần việc bón bổ sung những loại phân hóa học hay các loại khoáng vô cơ khác và hạn chế tối đa những ảnh hưởng không tốt đến biến đổi khí hậu mà do chính quá trình sản xuất nông nghiệp gây ra. Các nhà khoa học trong lĩnh vực trồng trọt đã nghiên cứu và cho ra đời một số công nghệ vi sinh và công nghệ enzym để phát huy vai trò của các hệ vi sinh có sẵn trong đất trồng cũng như một số chủng vi sinh có chức năng mới nhằm chuyển hóa các hợp chất khó tan & khó tiêu trong môi trường thành những dinh dưỡng mà hệ rễ của cây trồng dễ hấp thu hơn hoặc chính các chủng vi sinh mới đưa vào có chức năng cố định nguồn đạm (N2) từ khí trời, sản sinh ra các enzym, các chất điều hòa sinh trưởng thực vật có tác dụng kích thích cho các phản ứng sinh lý-sinh hóa. Mặt khác, một số chủng vi sinh còn có vai trò đối kháng với các loài vi sinh có hại (gây bệnh cho cây), ức chế hoặc tiêu diệt những loại vi sinh vật này giúp cây phát triển tốt hơn. Có thể ví dụ một số loại vi sinh có lợi đã được đưa vào công nghệ sản xuất phân bón như: Vi sinh vật cố định đạm (*Rhizobium, Bradyrhizobium*), vi sinh vật cố định nitơ tự do (*A. chroococcum, P. tinctorius*), vi sinh vật phân giải lân (*Pseudomonas sp, Achromobacter sp, A. polymixa*), vi sinh vật kích thích sinh trưởng (*E. cloaceae, A. radiobacter, A. bejerinckii, E. Aerogenes*), vi sinh vật đối kháng vi khuẩn, nấm bệnh (*B. subtilis, Pseudomonas sp, Bacillus sp).* Ngoài ra còn có một số chủng vi sinh vat có lợi khác như: *Bacillus licheniformis, Bacillus subtilis, Lactobacillus acidophilus, Pseudomonas putida, Saccharomyces cerevisiace.* Các vi sinh vật trong đất, đặc biệt là vi sinh vật vùng rễ có vai trò đặc biệt quan trọng với cây trồng, chúng tạo thành mối quan hệ hữu cơ, gắn bó trong một thể thống nhất. Quá trình mặn hóa, phèn hóa hiện đang làm giảm rõ rệt số lượng vi sinh vật trong đất, đặc biệt là các nhóm vi sinh vật có ích như cố định nitơ, phân giải hữu cơ, phân giải lân, sinh các chất kích thích sinh trưởng thực vật… và gián tiếp gây giảm năng suất cây trồng, nhất là cây lúa. Như vậy cần phải bổ sung lại những nhóm vi sinh vậ có ích này thông qua các loại phân bón vi sinh vật chức năng. Trong 2 thập kỷ qua, chúng ta đã nghiên cứu và đưa vào sản xuất một số loại phân bón vi sinh vật. Những loại phân bón này được chứng minh là có hiệu quả trên một số loại đất, với một số cây trồng tại các vùng sinh thái khác nhau. Tuy nhiên đến thời điểm này chúng ta chưa có bất cứ một loại phân bón nói chung nào, nhất là phân bón vi sinh sử dụng chuyên dùng cho cây lúa tại các vùng đất phèn hoặc đất mặn. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về giống lúa chịu mặn và chịu phèn đã thu được kết quả bước đầu (như giống lúa chịu mặn CTUS, OM6377…) nhưng những nghiên cứu về phân bón, nhất

là phân bón vi sinh vật thì chưa. Để tạo ra sự đồng bộ (giống, phân bón, kỹ thuật, thủy lợi) thì việc nghiên cứu, phát triển những loại phân bón mới, nhất là phân bón vi sinh chuyên dùng cho cây lúa tại các vùng đất phèn, đất mặn là nhu cầu thiết yếu hiện nay. Nghiên cứu sản xuất phân bón vi sinh chuyên dùng sử dụng cho cây lúa tại các vùng đất mặn, đất phèn. Việt Nam có khoảng 3 triệu hecta (ha) đất ở các vùng đồng bằng bị nhiễm mặn và nhiễm phèn, chiếm khoảng 31,8 % diện tích đất sản xuất nông nghiệp (9,4 triệu ha, 2008) trong đó đất phèn có khoảng gần hai triệu ha và đất mặn có khoảng hơn một triệu ha. Cả 2 nhóm đất này đang có xu thế ngày càng bị phèn hóa hoặc mặn hóa hơn dẫn đến suy giảm năng suất cây trồng, đặc biệt là cây lúa. Chính vì vậy việc khai thác sử dụng chúng một cách có hiệu quả phục vụ sản xuất lúa ngày càng trở nên cấp bách và có ý nghĩa quan trọng đối với nền kinh tế quốc dân.

- Hiện nay, một số công ty sản xuất phân bón (Công ty EVL-Canada) đã ứng dụng công nghệ bọc (áo hạt) chế phẩm vi sinh trực tiếp vào các hạt phân NPK mà vẫn không ảnh hưởng tới sức sống và mật số của các vi sinh vật trong chế phẩm. Công nghệ này đã góp phần nâng cao hiệu lực của phân khoáng và tiết kiệm lượng phân bón vào nhờ vai trò của kỹ thuật áo hạt (Ví dụ chế phẩm áo hạt của Cong ty EVL-Canada có các thành vi sinh vật chính như: *Bacillus licheniformis; Bacillus subtilis; Lactobacillus acidophilus; Pseudomonas putida; Saccharomyces cerevisiace).*

3. Nhóm phân bón sinh học chức năng có hoạt lực cao

- Một trong những công nghệ khá mới là sản xuất phân hữu cơ sinh học có hoạt lực cao từ than sinh học (Biochar). Gần đây người ta sử dụng than sinh học (Biochar) bón vào đất để cải thiện dinh dưỡng dễ tiêu cho cây trồng, tăng khả năng giữ dinh dưỡng, giữ nước và cải tạo cấu trúc đất, tăng khả năng cố định carbon trong môi trường (Đã có dự án áp dụng rất hiệu quả tại một số quốc gia của Châu Phi). Theo Tryon (1948) thì khi bón than sinh học độ no bazơ tăng đến tận 10 lần, CEC thì tăng đến 3 lần nhờ được bổ sung thêm các nguyên tố kiềm K, Ca, Mg vào dung dịch đất, tăng pH đất và tăng dinh dưỡng dễ tiêu cho cây trồng trong đất. Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng kể cả lượng TSH nhỏ bón vào đất thì cũng tăng một cách đáng kể lượng cation kiềm trong đất, kể cả lượng đạm tổng số và lân dễ tiêu cũng tăng hơn so với đối chứng. Than sinh học không những cải thiện hàm lượng dinh dưỡng dễ tiêu mà còn tăng cả khả năng giữ dinh dưỡng và nước trong đất do các yếu tố này được hấp thụ vào trong các khe hở của than sinh học. Tác dụng của than sinh học (biochar) đã được khẳng định ở khía cạnh cải thiện tính chất đất và bảo vệ môi trường. Sử dụng than sinh học trong nông nghiệp tăng khả năng giữ nước và dinh dưỡng cho đất, cung cấp các nguyên tố có lợi cho quá trình phát triển và trưởng thành của cây, tạo điều kiện tối ưu cho sự phát triển của các các vi khuẩn có lợi phát triển. Than sinh học còn là kho dự trữ cacbon trong đất không cho phát thải ra môi trường gây hiệu ứng khí nhà kính. Lợi dụng các đặc tính có lợi trên của than sinh học, chúng tôi sẽ tiến hành sản xuất than sinh học từ phế phụ phẩm nông nghiệp và bổ sung thêm dinh dưỡng khoáng để tạo thành một dạng phân bón mới có hiệu quả sử dụng cao và thân thiện với môi trường. Một số nguồn nguyên liệu được lựa chọn phù hợp cho sản xuất than sinh học là: Bã mía sau ép nước, vỏ trấu, mụn xơ dừa, mùn cưa, dăm gỗ tạp, lá cao su và vỏ cà phê là những loại vật liệu giàu hữu cơ lại có một sản lượng khá lớn và ổn định theo mùa vụ hàng năm. Đặc biệt, vỏ trấu và mụn xơ dừa rất dồi dào và tập trung ở khu vực Đồng bằng Sông Cửu Long, còn vỏ cà phê thì lại tập trung nhiều ở vùng Đông Nam Bộ và khu vực Tây Nguyên. Nếu sử dụng các nguồn nguyên liệu này làm than sinh học thì vừa khai thác hiệu quả nguồn phụ phẩm rẻ tiền, có chất lượng lại vừa góp phần hạn chế ô nhiễm môi trường, giảm ảnh hưởng của hiệu ứng nhà kính do quá trình đốt các loại phụ phẩm này. Nguồn than sinh học khi được chế biến thành những chủng loại phân bón mới lại góp phần giảm thiểu ô nhiễm do quá lạm dụng phân hóa học vừa cải thiện độ dinh dưỡng của đất nông nghiệp. Khi chúng ta có nguồn than sinh học (Biochar) thì có thể sử dụng trực tiếp bón vào đất, sử dụng trực tiếp như một loại giá thể trồng rau sạch, trồng phong lan và cây kiểng hoặc sử dụng phối trộn để sản xuất các chủng loại phân

hữu cơ vi sinh, hữu cơ khoáng và hữu cơ chất lượng cao phục vụ cho sản xuất nông nghiệp theo hướng GAP hay Nông nghiệp hữu cơ.

4. Nhóm phân đạm (N) sản xuất theo công nghệ mới.

Để nâng cao hiệu lực của phân đạm (N), tiết kiệm vật tư đầu vào trong đầu tư sản xuất, đồng thời hạn chế tác hại của "Hiệu ứng nhà kính" do bón phân đạm gây ra thì các nhà khoa học đã thành công và đưa ra một số công nghệ trong sản xuất phân đạm như:

1. Ure (SA) + Agrotain
2. Ure (SA) + NEB - 26
3. Ure (SA) + Oil Neem
4. Urê (SA) + Silicon
5. Urê (SA) + Zeolite
6. Urê (SA) + Microelement (TE).
7. Ure (SA) + Vi sinh vật chức năng.
8. Ure (SA) + HC (AH, AF, Nano.Organic)

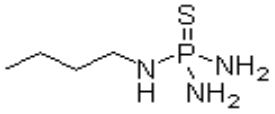
4.1. Phân đạm vàng (Ure 46 A^+):

- Công ty CP phân bón Bình Điền đã ứng dụng công nghệ mới để sản xuất phân đạm hạt vàng 46 A+ bằng chế phẩm N-(n-Butyl) Thiophosphoric triamide (NBTP). Chính hoạt chất có tên thương mại Agrotain sẽ ức chế men Urease phân hủy đạm bằng chất N-(n-Butyl) Thiophosphoric triamide. Cơ sở khoa học của công nghệ sẽ được minh họa bằng sơ đồ sau:

Tên của hoạt chất: **:** *N-(n-Butyl) thiophosphoric triamide;*

Công thức hóa học: $C_4H1_4N_3P$

Công thức cấu tạo:



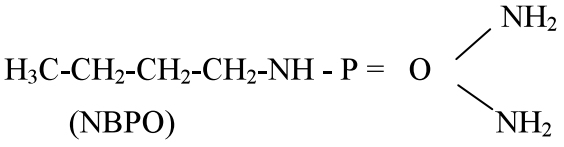
Cơ chế tác động của: _N-(n-butyl) thiophosphric triamide:

$$CO(NH_2)_2 + H_2O \xrightarrow[\text{Urease}]{} (NH_4)_2CO_3 \text{ (}\textit{Ammonium Carbonate}\text{)}$$

N-(n-butyl) thiophosphric triamide ức chế enzyme Urease làm chậm quá trình bay hơi bằng cách ngăn chặn enzyme này.

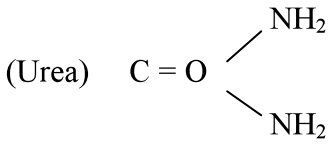
$$C_4H_9NH(_{NH2})2PS + [O] \rightarrow C_4H_9NH(NH_2)_2PO$$

(NBPT) (NBPO)



(NBPO)

Dạng hoạt động:



- Chính nhờ áp dụng công nghệ mới mà sản phẩm phân đạm hạt vàng **46A**$^{+}$ của công ty CP phân bón Bình Điền đã góp phần tiết kiệm từ 25-30 % lượng phân đạm sử dụng.

4.2. Phân đạm xanh: Năm 2006, công ty Agmor (Mỹ) đã giới thiệu chế phẩm NEB 26 vào Việt Nam. Đây là một chế phẩm dạng lỏng, giàu chất hữu cơ (gần 25%) và các nguyên tố trung, vi lượng. Tác dụng của NEB 26 dựa trên nguyên tắc cung cấp vào đất các chất dinh dưỡng và các chất cần thiết khác để tạo điều kiện cho sự phát triển về số lượng và tăng cường hoạt động của vi sinh vật đất, thúc đẩy sinh trưởng và phát triển của cây trồng. NEB 26 tác động gián tiếp đến sự phát triển của vi sinh vật đất (tăng 300% số lượng vi sinh vật trong đất), do đó giúp tăng cường phân giải chất hữu cơ, xác động thực vật trong đất thành các chất dinh dưỡng dễ tiêu và các nguyên tố trung vi lượng cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng, kích thích hệ rễ cây trồng phát triển. NEB 26 thúc đẩy hoạt động của các vi sinh vật cố định nitơ từ khí trời thành dinh dưỡng đạm cho cây trồng nhờ đó tiết kiệm được phân đạm mà vẫn làm tăng năng suất. NEB 26 làm tăng khả năng cộng sinh của nấm với rễ cây và do đó làm tăng khả năng hút nước và chất dinh dưỡng, đặc biệt trong trong điều kiện khô hạn và thiếu dinh dưỡng. Sử dụng NEB 26 làm tăng hiệu quả sử dụng phân lân và phân kali, cải thiện kết cấu đất. NEB 26 được khuyến cáo sử dụng bằng cách trộn với phân đạm, dùng để bón lót và bón thúc. Kết quả thử nghiệm cho thấy khi dùng với lượng 750-1.000 ml NEB 26 trên 1 ha gieo trồng và giảm 25-30% lượng phân đạm theo khuyến cáo, sai khác về năng suất không đáng kể so với việc bón đầy đủ 100% lượng đạm. Từ cơ sở này, Công ty TNHH Nông nghiệp Quốc tế Cánh Đồng Vàng đã chế thử và sản xuất thành công phân bón Đạm Xanh, là dạng phân đạm kết hợp giữa ure và NEB 26 với tỷ lệ phối trộn thích hợp. Phân Đạm Xanh ở dạng viên màu xanh, có mùi hơi hăng, kết hợp được ưu điểm của NEB 26 vào ure, làm tăng hiệu suất sử dụng đạm và tiết kiệm được lượng đạm cần bón, nhờ đó giúp nông dân giảm chi phí và tăng hiệu quả kinh tế. Sản phẩm đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT Việt Nam cho phép khảo nghiệm và đã được đưa vào Danh mục phân bón được phép sản xuất, kinh doanh và sử dụng tại Việt Nam từ năm 2011.

4.3. Urê (SA) + Oil NEEM: Đây là một sản phẩm phân đạm thế hệ mới nhờ công nghệ áp dụng chế phẩm dầu Neem (Oil Neem) bọc bao quanh hạt ure hoặc hạt phân SA. Hoạt chất Aradizachtine có trong dầu Neem sẽ ức chế men Ureasa hoạt động, nhờ đó mà quá trình chuyển hóa từ N-NH2 sang các dạng trung gian để cuối cùng tạo thành khí N2 bay vào không khí. Ngoài ra, trong dầu Neem còn chứa rất nhiều các hoạt chất khác góp phần hạn chế sự tấn công của một số loại côn trùng và vi sinh vật hại rễ cây, nhờ vậy mà cây được bón dạng đạm có phối chế với dầu Neem sẽ có bộ rễ phát triển mạnh hơn, hấp thu dinh dưỡng khỏe hơn. Các cơ chế tác dụng trên đã góp phần nâng cao hiệu lực của phân đạm, giảm thất thoát và có thể tiết kiệm lượng đạm bón vào từ 25-30 %. Ngoài ra, phân đạm phối chế dầu Neem cũng đóng vai trò giảm thiểu tác động vào "Hiệu ứng nhà kính"-nguyên nhân gây biến đổi khí hậu toàn cầu.

- Công nghệ sử dụng chế phẩm dầu Neem trong sản xuất phân đạm thế hệ mới đã được Ấn độ nghiên cứu, ứng dụng rộng rãi. Tại Việt Nam, Tập đoàn quốc tế Năm Sao đã áp dụng công nghệ dầu Neem để sản xuất phân đạm sinh học nhằm ứng rộng có hiệu quả vào sản xuất nông nghiệp của Việt Nam. Sản phẩm đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT Việt Nam cho phép khảo nghiệm và đã được đưa vào Danh mục phân bón được phép sản xuất, kinh doanh và sử dụng tại Việt Nam từ năm 2010.

4.4. Một số công nghệ khác trong sản xuất phân đạm thế hệ mới:

- Một số nhà khoa học Nhật Bản, Autralia. Thái Lan và Việt Nam đã nghiên cứu phối chế phân đạm (Ure, SA) với một số loại bột quặng tự nhiên như Silicon, Zeolite để sản xuất phân đạm chậm tan. Các sản phẩm này dựa trên cơ chế liên kết hóa học mà nhờ đó làm giảm tốc độ tan của phân đạm, giảm sự mất đạm do trực di và do chuyển hóa để thành NH_3 hoặc N2 bay hơi vào khí quyển. Công nghệ này cũng góp phần tiết kiệm lượng đạm bón vào từ 20-30%.

- Một số quốc gia cũng đã thành công với công nghệ phối chế các nguyên tố dinh dưỡng vi lượng vào trong hạt phân đạm (hạt ure hoặc SA). Công nghệ này chủ yếu dựa vào hệ thống tháp cao, làm mềm lỏng hạt ure và phun xịt dung dịch đậm đặc có chứa vi lượng TE và sau đó hạt phân lại được làm lạnh để trở về trạng thái ban đầu. Sản phẩm phân đạm phối chế vi lượng (*Ure + Microelement*) . Chính dạng phân đạm mới này đã góp phân nâng cao hiệu lực nông học và hiệu quả kinh tế.

5. Một số loại phân bón thế hệ mới được áp dụng cho QTKT công nghệ cao

- Để phù hợp với các phương pháp canh tác rau trong nhà màng (Thủy canh, khí canh, trồng cây trên giá thể) rất cần những loại phân bón phù hợp theo từng phương pháp: Nếu trồng theo phương pháp thuỷ canh thì phải có những phân bón, hoá chất dễ tan, cây dễ hấp thu qua hệ rễ. Nếu trồng để có sản phẩm chất lượng cao thì các dinh dưỡng cũng phải có các thành phần aminoacid, các loại vitamin và các nguyên tố dinh dưỡng trung, vi lượng, siêu vi lượng (nguyên tố dinh dưỡng đất hiếm).

- Để trồng trên các giá thể thì cần áp dụng các chế phẩm giữ ẩm (chất AMS-1; Vinagama), các loại phân bón chậm tan (Osmocote; Nutricote…); các loại phân hòa tan ứng dụng theo hệ thống tưới nhỏ giọt (Fertigation). Ngoài ra cũng cần những loại phân bón lá theo công nghệ Nano, công nghệ sinh học, công nghệ vi sinh để hỗ trợ nhằm nâng cao năng suất, chất lượng sản phẩm.

- Để gia tăng hiệu quả của phương pháp bón phân qua lá và nâng cao hiệu lực của những loại phân bón hay các chế phẩm bón qua hệ thống lá các nhà sản xuất đã đưa thêm những thành phần phụ trợ vào sản phẩm của mình. Những chất phụ trợ này có thể là: Chất phụ ích (làm ướt, kết dính, phân bố đều, chất phụ thấm ...); Chất kích thích và điều hoà tăng trưởng; Acid Humic ; Các amino acid; Chất kích thích sinh học; Chất chiết xuất từ rong biển, tảo; Chất thay thế các hợp chất chelate (phức hợp hoặc hữu cơ); Dạng thức vật lý (tinh thể, huyền phù...). Đặc biệt, gần đây chất Chitosan và Oligochitosan được ứng dụng khá nhiều để sản xuất các loại phân bón đa chức năng (có tác dụng hạn chế sâu bệnh). Các thí nghiệm thực tế cho thấy chitosan có khả năng ức chế hoạt động của một số loại vi khuẩn như E.Coli. Một số dẫn xuất của Chitosan diệt được một số loại nấm hại dâu tây, cà rốt, đậu và có tác dụng tốt trong bảo quản các loại rau quả có vỏ cứng bên ngoài. Có thể bảo quản các loại thực phẩm tươi sống, đông lạnh khi bao gói chúng bằng các màng mỏng dễ phân hủy sinh học và thân môi trường. Thông thường người ta hay dùng màng PE để bao gói các loại thực phẩm khô. Nếu dùng PE để bao gói các thực phẩm tươi sống thì có nhiều bất lợi do không khống chế được độ ẩm và độ thoáng không khí (oxy) cho thực phẩm. Trong khi bảo quản, các thực phẩm tươi sống vẫn "thở", nếu dùng bao gói bằng PE thì mức cung cấp oxy bị hạn chế, nước sẽ bị ngưng đọng tạo môi trường cho nấm mốc phát triển. Màng bao bọc bằng chitin và chitosan sẽ giải quyết được các vấn đề trên. Trong thực tế người ta đã dùng màng chitosan để đựng và bảo quản các loại rau quả như đào, dưa chuột, đậu, bưởi... Màng chitosan cũng khá dai, khó xé rách, có độ bền tương đương với một số chất dẻo vẫn được dùng làm bao gói. Cái này đã sản xuất thử. Một ứng dụng nữa của chitosan là làm chậm lại quá trình bị thâm của rau quả. Rau quả sau khi thu hoạch sẽ dần dần bị thâm, làm giảm chất lượng và giá trị. Rau quả bị thâm là do quá trình lên men tạo ra các sản phẩm polyme hóa của oquinon. Nhờ bao gói bằng màng chitosan mà ức chế được hoạt tính oxy hóa của các polyphenol, làm thành phần của anthocyamin, flavonoid và tổng lượng các hợp chất phenol ít biến đổi, giữ cho rau quả tươi lâu hơn.

- Ngoài ra, các nhà khoa học phân bón cũng đưa vào sản phẩm phân bón một nguyên tố trung lượng đa chức năng, đó là nguyên tố dinh dưỡng Silic (Si). Vai trò và hiệu lực của Silic thể hiện như sau: Tăng cường hệ thống miễn dịch cho cây, giúp cây tăng trưởng nhanh, khỏe mạnh; Tăng cường sức đề kháng cho cây chống lại các loại côn trùng gây hại như: sâu, rầy, nấm mốc; Tăng năng suất cây trồng, đặc biệt cây lúa rất cần silica hơn các loại chất dinh dưỡng cơ bản khác như N P K. Chất silica sẽ giúp thân lúa khỏe mạnh, cứng cáp, chịu ngập và chịu gió tốt. Có khả năng kháng lại một số loại sinh vật và côn trùng gây hại như: rầy và ốc bươu vàng.

Như vậy, để ứng dụng những loại phân bón vào qui trình kỹ thuật công nghệ cao trong sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam cần chú trọng sản xuất những loại phân:

- Phân NPK + TE có hàm lượng cao (dạng phức hợp 1 hạt).

- Các loại phân bón chuyên dùng (phù hợp với tính chất đất, chủng loại cây trồng, phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của từng thời kỳ).

- Các loại phân bón chức năng (Dinh dưỡng, điều hòa sinh trưởng, bảo vệ thực vật, tăng chất lượng nông sản, tạo thực phẩm chức năng).

- Các loại phân hữu cơ sinh học, hữu cơ vi sinh, hữu cơ khoáng cao cấp.

- Các loại phân vi lượng hỗn hợp.

- Các loại phân bón thế hệ mới có tính năng, hiệu quả cao và bảo vệ môi trường (Thân thiện với môi trường).

CÁC NGHIÊN CỨU VỀ SINH LÝ THỰC VẬT PHỤC VỤ CÔNG TÁC CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG (RAU, HOA, CÂY DƯỢC LIỆU) TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Dương Hoa Xô
Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh

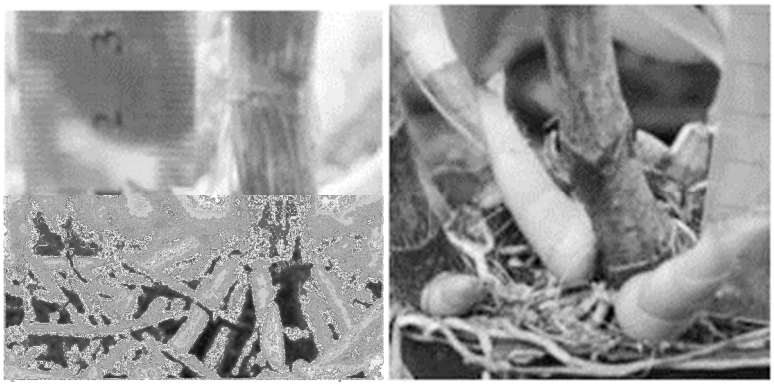
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thành phố Hồ Chí Minh là một trung tâm khoa học công nghệ quan trọng của cả nước, là nơi tập trung dân số với mật độ cao và diện tích đất dành cho nông nghiệp rất ít. Việc chuyển đổi cơ cấu cây trồng cùng với ứng dụng công nghệ cao nhằm nâng cao năng suất thu hoạch trên một đơn vị diện tích từ lâu đã được xác định là một hướng đi chiến lược của Thành phố trong lĩnh vực nông nghiệp. Trong những năm qua Thành phố luôn coi trọng và đã ban hành nhiều chính sách, chương trình ưu tiên cho vấn đề phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao, đặc biệt là trong lĩnh vực chọn tạo giống cây trồng, vật nuôi. Việc thành lập Trung tâm Công nghệ sinh học với mục tiêu phát triển trở thành Trung tâm nghiên cứu về công nghệ sinh học hiện đại, đạt tầm khu vực là một trong những minh chứng cụ tể cho chiến lược phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao của Thành phố.

Trong xu thế này, hiện tại Thành phố đang triển khai đồng loạt nhiều biện pháp khác nhau để hướng tới trở thành Trung tâm giống cây trồng vật của Việt Nam cũng như của khu vực. Do đó, hơn bao giờ hết, việc đẩy mạnh các nghiên cứu nền tản liên quan đến sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, đặc biệt nhất là sinh lý thực vật, để hỗ trợ cho công tác chọn tạo giống hiện đang trở nên rất cần thiết và nhận được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trong lĩnh vực này.

2. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ SINH LÝ THỰC VẬT PHỤC VỤ CHO CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG

2.1. Nghiên cứu ứng dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong kích thích tăng trưởng và nhân giống cây trồng (tập trung cho cây hoa)

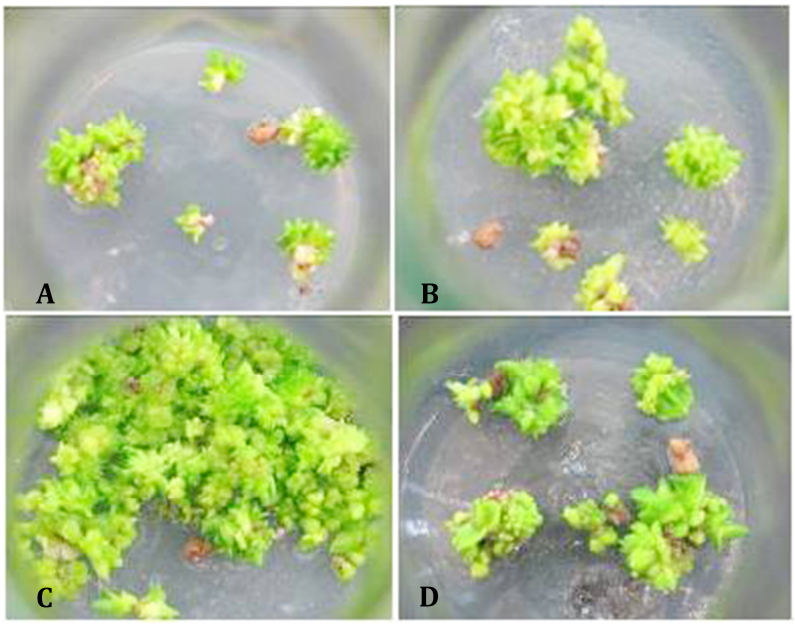


Hình 1. Ảnh hưởng của NAA và BA đến thời điểm xuất hiện chồi của lan *D.*White 5N tại thời điểm 35 ngày sau xử lý chất điều hòa sinh trưởng.
1. Đối chứng, 2. NAA 10mg/L + BA 120 mg/L.

Sự phát triển của cây trồng cũng như thực vật nói chung chịu sự kiểm soát của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Việc sử dụng hợp lý các chất điều hòa sinh trưởng có thể giúp điều chỉnh sự phát triển của cây trồng theo hướng có lợi cho mục đích chọn tạo giống. Với đối tượng cây hoa,

hướng nghiên cứu đã được triển khai phổ biến về vấn đề này có thể kể đến đó là sử dụng chất điều hòa sinh trưởng để kích thích tạo chồi, rễ và khả năng ra hoa của cây trong điều kiện *ex vitro* hoặc thiết lập các quy trình nhân giống *in vtro*. Trong hướng nghiên cứu kích thích tạo chồi, rễ và khả năng ra hoa, kết quả nghiên cứu trên lan *Dendrobium* White 5N đã cho thấy NAA và BA có ảnh hưởng đến sự nảy chồi của cây ở độ tuổi 21 tháng sau cấy mô. Vệc phun phối hợp NAA 10mg/Lvà BA 120 mg/Lgiúp nâng cao tỷ lệ nảy chồi và rút ngắn thời điểm xuất hiện chồi; các chồi được tạo ra có khả năng tăng trưởng nhanh, và cho hoa sớm hơn; số lượng phát hoa nhiều hơn so với đối chứng.

Với hướng nghiên cứu thiết lập quy trình nhân giống *in vitro*, đã có nhiều quy trình nhân giống được tạo ra trên các loài hoa lan khác nhau thuộc các nhóm lan như *Dendrobium*, *Mokara*, *Phalaenopsis* và nhiều loại hoa khác. Trong hầu hết các quy trình này, hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật tương đối phổ biến là BA và NAA đã được sử dụng với nồng độ thay đổi tùy theo từng đối tượng cụ thể để tối ưu hóa hiệu quả của các giai đoạn trong quy trình nhân giống. NAA 1,0 mg/L và BA 0,5 mg/L đã được sử dụng trong môi trường nuôi cấy để tăng sinh PLBs lan *Mokara* Chaopraya sunset. Sự tăng sinh PLBs có nguồn gốc từ lát cắt mỏng mô thân của lan *Dendrobium* Sonia cũng đã được thực hiện thành công trên môi trường có bổ sung NAA 1,0 mg/L và BA 0,3 mg/L. Các kết quả nghiên cứu này cho thấy chất điều hòa sinh trưởng cũng như các kiến thức về sinh lý hực vật hiện đã và đang được ứng dụng mạnh mẽ vào công tác nghiên cứu chọn tạo giống cây trồng.



Hình 2. Sự tăng sinh PLBs của lan *Dendrobium* Sonia trên môi trường MS bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BA và NAA ở các nồng độ khác nhau sau 10 tuần nuôi cấy.

A: MS; B: MS+0,1 mg/l BA+1,0 mg/l NAA; C: MS+0,3 mg/l BA+1,0 mg/l NAA; D: MS+0,5 mg/l BA+1,0 mg/l NAA

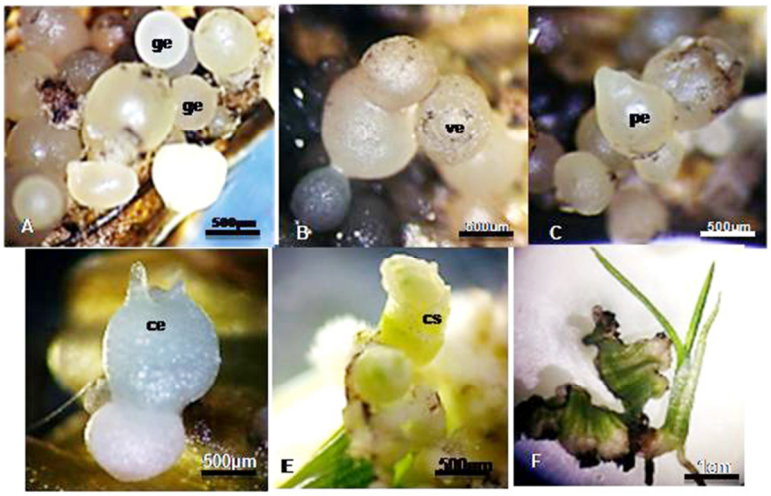
2.2. Nghiên cứu sự phát sinh phôi sinh dưỡng phục vụ cho công tác vi nhân giống

Phát sinh phôi sinh dưỡng được xem là một cách tiếp cận hiệu quả cho nhân giống *in vitro* các loại cây trồng. Việc nghiên cứu phát sinh phôi thành công sẽ giúp nâng cao gấp bội hiệu quả nhân giống *in vitro*, cải thiện về độ đồng nhất cũng như chất lượng của cây giống. Quá trình phát sinh phôi sinh dưỡng (PLB) đã được áp dụng thành công trên các loại hoa lan *Dendronium*, *Mokara*, *Phalaenopsis* và cây dược liệu như Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaetn). Trong hầu hết các trường

hợp, sự phát sinh phôi đều được thực hiện thành công với hai loại mô cấy phổ biến đó là mô lá và mô thân với sự hiện diện của chất điều hòa sinh trưởng Auxin (NAA, 2,4-D) và Cytokinin (BA). Trong đó, NAA 1,0 mg/L và BA 0,5 mg/L đã được sử dụng thành công cho mục đích tạo PLBs từ lát cắt mỏng mô thân của lan *Dendrobium* Sonia. Sự tái sinh PLBs từ mô cấy phát hoa lan Mokara cũng đã đạt được trên môi trường có bổ sung BA 2,5 mg/L và NAA 0,5 mg/L.

Hình 3. Sự hình thành PLBs từ lát cắt mỏng đoạn thân *Dendrobium* Sonia trên môi trường MS bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BA 0,5 mg/L và NAA 1,0 mg/L

Với Sâm cau, quá trình tái sinh phôi hoàn chỉnh từ mô lá cũng đã được thực hiện thành công trên môi trường có bổ sung 2,4-D 0,5 mg/L và BA 2,0 mg/L. Kết quả quan sát hình thái cho thấy sự hình thành phôi sinh dưỡng ở Sâm cau trải qua các giai đoạn phôi cầu (sau 3 tuần), phôi kim tự tháp (sau 5 tuần), phôi hình núi lửa (sau 6 tuần) trước khi phát triển thành cây con hoàn chỉnh. Sự thành công trong nghiên cứu phát sinh phôi là một trong những kết quả có ý nghĩa quan trọng đối với vấn đề chọn tạo giống cây trồng. Bởi lẽ ngoài việc có thể ứng dụng cho vi nhân giống, hệ thống tái sinh phôi vô tính còn giữ một vai trò then chốt trong các nghiên cứu tạo giống cây trồng bằng phương pháp chuyển gen.

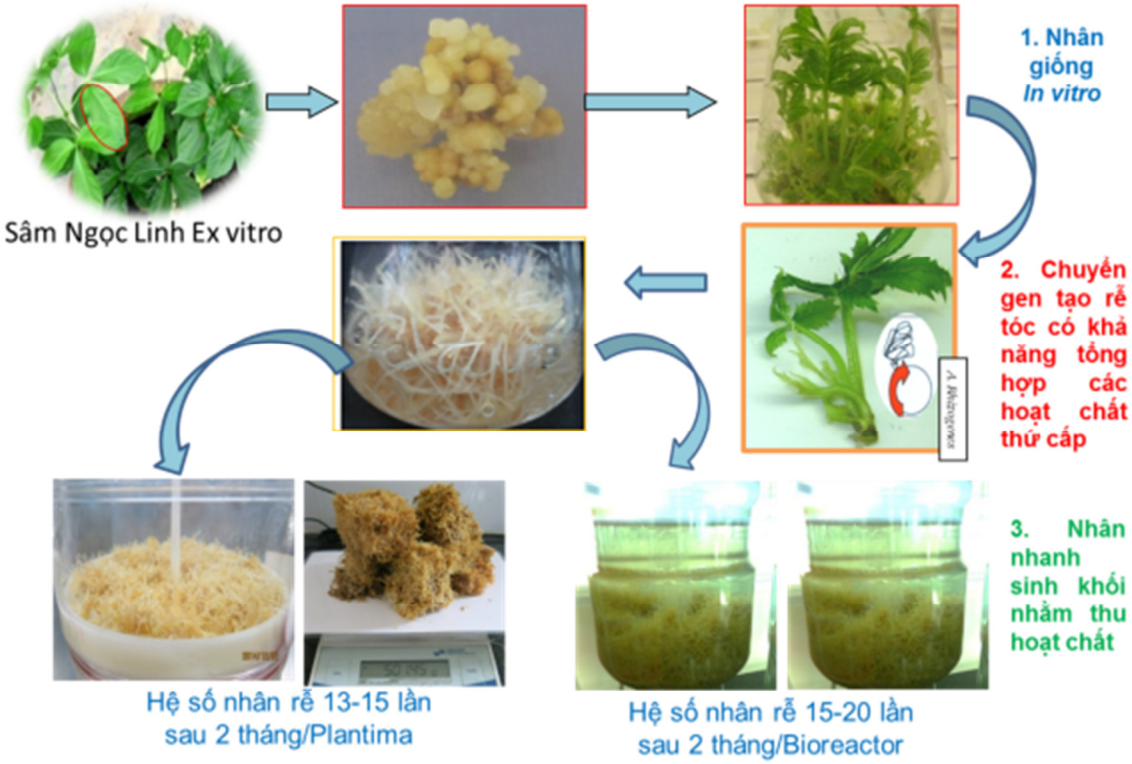


Hình 4. Các giai đoạn phát triển của phôi sinh dưỡng Sâm cau.
A: phôi cầu (ge); B: phôi núi lửa (ve); C: phôi kim tự tháp (pe); D: phôi hình thành phát thể lá (ce); E,F: giai đoạn phôi phát triển và kéo dài thành chồi

2.3. Nghiên cứu thu nhận sinh khối sâm Ngọc Linh bằng phương pháp chuyển gen tạo rễ tóc

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một loài thực vật hữu của Việt Nam. Đây là một loại dược liệu quý hiếm, có nhiều giá trị thiết thực trong y học, tuy nhiên lại có khả năng tăng trưởng rất chậm và khả năng thích nghi rất hạn chế, điều này khiến cho vấn đề thu nhận sinh khối rễ sâm tự nhiên rất hạn chế. Một giải pháp khả thi cho vấn đề thu nhận sinh khối rễ đó là chuyển gen tạo rễ tóc. Quá trình chuyển gen (rol) được thực hiện thông qua việc lây nhiễm (sử dụng phương pháp

tiêm) vi khuẩn *Agrobacterium rhizogene* vào cây sâm nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*. Kết quả đã xây dựng thành công quy trình chuyển gen tạo rễ tóc sâm Ngọc Linh (Hình 5); từ đó đã tạo ra được được 350 dòng rễ sâm chuyển gen, trong đó có 31 dòng có khả năng tái sinh tốt. Sự hiện diện của gen mục tiêu (gen *rolC*) trong tế bào rễ chuyển gen đã được xác định bằng phương pháp PCR. Quy trình nhân sinh khối rễ sâm có thể đạt được mức gia tăng gấp 2,4 lần sau 3 tháng nuôi cấy trên môi trường thích hợp.Việc nghiên cứu thành công quy trình tạo rễ tóc sâm Ngọc Linh bằng công nghệ chuyển gen là một trong những một kết quả nổi bật, đã mở ra nhiều hướng nghiên cứu và ứng dụng mới liên quan đến vấn đề khai thác hiệu quả loài dược liệu vô cùng quý giá này.

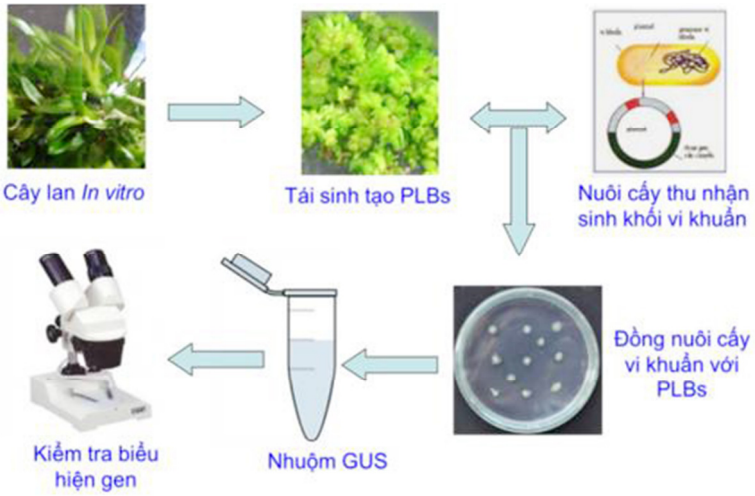


Hình 5. Quy trình chuyển gen tạo rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*)

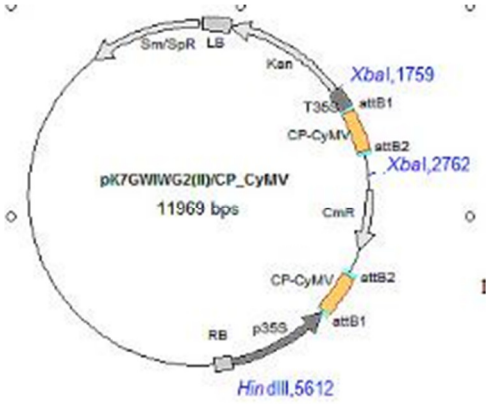
2.4. Nghiên tạo tính kháng virus cho hoa lan thông qua việc ứng dụng công nghệ chuyển gen RNAi

Kỹ thuật chuyển gen RNAi lần đầu tiên đã được áp dụng Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp.HCM để tạo giống hoa lan (*Dendrobium*) có khả năng kháng virus khảm vàng (*Cymbidium mosaic virus*). Nghiên cứu được thực hiện trên lan *Dendrobium* Sonia, sử dụng phương pháp chuyển gen bằng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*, bao gồm 4 công đoạn chính: Xây dựng quy trình chuyển gen vào PLBs (Protocorm like bodies) bằng vi khuẩn *A. tumefaciens*; thiết kế vector chuyển gen RNAi từ gen mã hóa cho protein vỏ (CP) của virus; tạo mô lan (PLBs) mang cấu trúc gen cần bằng cách lây nhiễm với vi khuẩn; thu nhận cây lan hoàn chỉnh và đánh giá khả năng kháng virus trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Kết quả đã xây dựng thành công quy trình chuyển gen vào PLBs của lan *Dendrobium* Sonia bằng vi khuẩn *A. tumefaciens* với hiệu quả chuyển gen đạt trên 70% (Hình 6). Các vector RNAi mang cấu trúc gen CP của virus khảm vàng cũng đã được thiết kế thành công để phục vụ cho chuyển gen (Hình 7). Cấu trúc gen mục tiêu đã được chuyển thành công vào tế bào vi khuẩn *A. tumefaciens* chủng C58 để phục vụ cho chuyển gen. Sau cùng, đã tạo được mô lan (PLBs) mang cấu trúc gen chuyển (Hình 8) và cây lan *in vitro* đủ tiêu chuẩn cho đánh giá khả năng kháng virus. Thông qua lây nhiễm virus nhân tạo trong điều kiện *in vitro,* đã chọn được các dòng

lan có khả năng kháng virus. Theo đó, các cây lan không chuyển gen bị tổn thương (hoại tử lá) và chết khi lây nhiễm virus trong khi các cây lan được chuyển gen vẫn phát triển bình thường (Hình 9). Mặc dù đây chỉ là những kết quả bước đầu và cần nhiều nỗ lực nghiên cứu tiếp theo để có thể tạo ra được giống lan kháng virus hoàn chỉnh, tuy nhiên có thể nói đây là một trong những bước tiến quan trọng trong chiến lược áp dụng công nghệ gen để chọn giống hoa lan kháng virus.

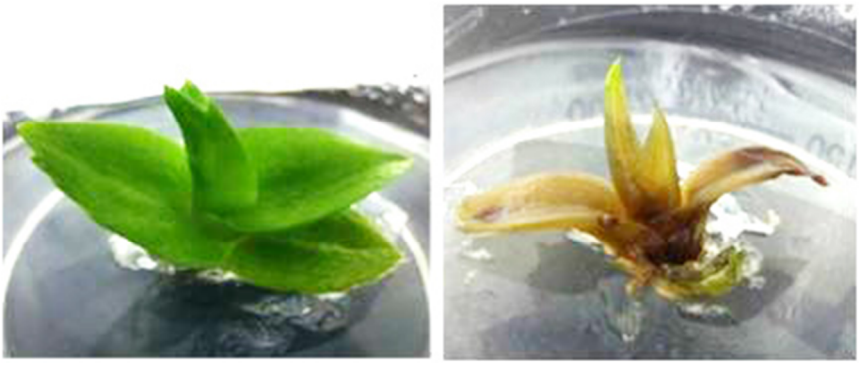


Hình 6. Quy trình chuyển gen vào PLBs của lan *Dendrobium* Sonia bằng vi khuẩn *A. tumefaciens*



Hình 7. Cấu trúc vector chuyển gen RNAi-CP

Hình 8. PLBs mang gen chuyển



Hình 9. Khả năng kháng virus của cây lan *Dendrobium* Sonia trong điều kiện *in vitro*
A. Cây chuyển gen; B. Cây không chuyển gen

2.5. Một số nghiên cứu khác liên quan đến chọn giống hoa, rau và cây dược liệu

Ngoài những nghiên cứu kể trên, một số các nghiên cứu khác liên quan đến vấn đề chọn tạo giống cây trồng cũng đã và đang triển khai, bao gồm nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử để nhận diện và chọn lọc nguồn giống chất lượng cao phục vụ cho sản xuất; nghiên cứu nuôi cấy đơn bội để tạo dòng thuần phục vụ cho công tác chọn tạo giống ra. Một số các nghiên cứu trên các đối tượng cụ thể có thể kể đến như sau: "Xây dựng cơ sở dữ liệu trình tự DNA cho một số loài Lan rừng Việt Nam dựa trên marker phân tử DNA barcode"; "Nghiên cứu mối liên hệ giữa hình thái, di truyền và hàm lượng saponin ở cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* L.)"; "Nghiên cứu nuôi cấy bao phấn cây ớt ngọt (*Capsicum annuum* L.) để tạo dòng thuần phục vụ công tác lai tạo giống mới".

Kết quả bước đầu đã sàn lọc được các trình tự mồi (primer) tương ứng với các DNA barcode) phù hợp cho việc nhận diện các loài lan rừng bằng kỹ thuật DNA barcode cũng như đã sàn lọc được các trình tự mồi phù hợp cho việc đánh giá sự khác biệt di truyền giữa các loài Đinh lăng bằng kỹ thuật ISSR. Các phôi sinh dưỡng có nguồn gốc từ bao phấn ớt ngọt cũng được thu nhận để phục vụ cho các giai đoạn nghiên cứu tiếp theo.

3. ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU TRONG THỜI GIAN TỚI

Việc ứng dụng các nghiên cứu về sinh lý thực vật trong chọn tạo giống cây trồng là một trong những yếu tố quan trọng giúp đẩy nhanh tiến trình tạo ra các giống cây trồng mới phục vụ cho sản xuất. Sinh lý thực vật từ lâu đã được áp dụng rộng rãi cho nghiên cứu chọn giống cây trồng ở nhiều nước trên thế giới. Việc áp dụng sinh lý thực vật trong chọn giống cây trồng ở Việt Nam mặc dù đã được triển khai trong những năm gần đây, tuy nhiên vẫn thật còn tản mác, chưa thật sự tập trung và hệ thống hóa. Do đó, cần có những chính sách khuyến khích và tạo điều kiện mạnh mẽ hơn nữa cho việc nghiên cứu ứng dụng sinh lý thực vật để thúc đẩy nhanh hơn nữa quá trình chọn tạo các giống cây trồng mới phục vụ cho sản xuất. Theo đó, một số hướng nghiên cứu cần được quan tâm có thể kể đến như sau:

- Nghiên cứu xây dựng và hoàn thiện hệ thống tái sinh cho các loại cây trồng mục tiêu để làm tiền đề cho công tác chọn tạo giống cây trồng mới bằng các công nghệ hiện đại.

- Nghiên cứu khả năng đáp ứng của cây trồng với các điều kiện bất lợi của môi trường để từ đó tìm ra giải pháp phù hợp cho việc nâng cao khả năng chống chịu của cây trồng trong hoàn cảnh biến đổi khí hậu.

- Nghiên cứu mối tương tác giữa cây trồng và các tác nhân gây bệnh (nấm, vi khẩn, virus) để tìm ra giải pháp ngăn chặn hoặc tạo ra giống có khả năng kháng bệnh.

- Tăng cường các nghiên cứu về sinh lý thực vật ở mức phân tử nhằm thích ứng với xu thế phát triển hiện nay của thế giới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Dũng, Dương Hoa Xô, Chu Hoàng Hà, 2014. Tối ưu hóa sự chuyển nạp gen qua trung gian vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* ở lan *Dendrobium* Sonia. Tạp chí sinh học, 36 (1se), tr. 257-265.
2. Nguyễn Xuân Dũng, Dương Hoa Xô, Nguyễn Thị Thanh Thảo, Chu Hoàng Hà, 2015. Nghiên cứu chuyển gen RNAi qua trung gian *Agrobacterium tumefaciens* vào *Dendrobium* Sonia để tạo giống kháng virus khảm vàng. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 13(2), tr. 264-271.
3. Nguyễn Xuân Dũng, Nguyễn Phúc Trường, Nguyễn Thị Ngọc Thảo, Nguyễn Quốc Bình, Dương Hoa Xô, 2011. Ứng dụng kỹ thuật RT-PCR phát hiện virus gây bệnh trên lan và xây dựng quy trình nhân giống hoa lan sạch virus. Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc khu vực Phía Nam lần II.

4. Nguyễn Xuân Dũng, Phạm Văn Hiểu, Dương Hoa Xô, 2014. Tạo dòng và biểu hiện gen mã hóa protein vỏ (cp) của virus khảm vàng (*cymbidium mosaic virus - CyM*V) gây bệnh trên hoa lan. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, 7(53), tr. 124-132.
5. Lý Nguyễn Phước Điềm, Nguyễn Xuân Dũng, Dương Hoa Xô, 2017. Nghiên cứu chuyển gen vào lan Mokara qua trung gian vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Tạp chí Khoa học công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, 6(79), tr.8-13.
6. Hà Thị Loan, Dương Hoa Xô, 2017. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống Platima. Tạp chí Khoa học công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, 6(79), tr.45-49.
7. Hà Thị Loan, Dương Hoa Xô, Nguyễn Quốc Bình, Nguyễn Hoàng Quân, Vũ Thị Đào, Nathalie Pawlicki-Jullian, Eric Gontier, 2014. Nghiên cứu tạo rễ tóc Sâm Ngọc Linh *Panax vietnamsis* bằng phương pháp chuyển gen rol nhờ vi khuẩn *Agrobacterium rhizogenes*. Tạp chí Sinh học, 36 (1se), tr.293-299.
8. Loan Thi Ha, Nathalie Pawlicki-Jullian, Michelle Pillon- Lequart, Michele Boitel-Conti, Hoa Xo Duong, Eric Gontier, 2016. Hairy root cultures of Panax vietnamensis, a promising approach for the production of ocotillo-type ginsenosides. Plant cell tiss organ cult, 126(1), pp.93-103.
9. Dương Hoa Xô, Hà Thị Loan, Phan Diễm Quỳnh, Nguyễn Hoàng Quân, Võ Thanh Huy, 2011, Nghiên cứu tạo chồi và protocorm *Dendrobium primulinum* Lindley bằng kỹ thuật nhân giống *in vitro*. Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc khu vực Phía Nam lần II.

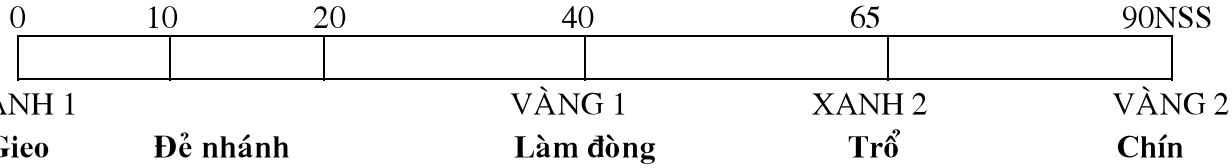
ỨNG DỤNG QUY LUẬT 2 XANH 2 VÀNG ĐỂ CHĂM SÓC, BÓN PHÂN CHO RUỘNG LÚA NĂNG SUẤT CAO

PGS. TS. Mai Thành Phụng

Hỏi: Quy luật 2 xanh, 2 vàng: cách so sánh, nhận biết và ứng dụng trong thâm canh lúa?

Trả lời: Cây lúa không phải là cây Rau ăn lá, Rau thì cần xanh liên tục tức cần nhiều đạm để cho năng suất cao; trái lại cây lúa phần cần thu hoạch chính là hạt (chứ không phải là rơm), nếu không điều chỉnh bón phân cân đối, hợp lý nhất là bón thừa đạm vào cuối vụ (lúc lúa làm đòng trở đi) lúa sẽ giữ màu xanh liên tục sẽ dẫn đến mất cân đối (chỉ phát triển thân lá, bông hạt kém, nhiều sâu bệnh).

Do vậy, một ruộng lúa muốn đạt năng suất cao thì bà con nông dân phải hiểu rõ quy luật 2 xanh, 2 vàng để điều khiển đúng quy luật. Xin giải thích như sau:



- XANH 1: Lúc bắt đầu gieo: rất cần chuẩn bị mặt bằng đồng ruộng tốt, chất lượng giống tốt, ngâm ủ nảy mầm trên 90% khi gieo xuống cây lúa sẵn sàng mọc trong điều kiện thuận lợi nhất để có màu xanh ngay khi ra lá đầu tiên gọi là XANH 1. Nếu vì lý do gì sau khi gieo xong, cây lúa không mọc nổi, thiếu nước, thiếu phân, bị sâu bệnh tấn công lá bị vàng, cây không mọc nổi là trái với quy luật.

Cần giữ màu xanh của lúa trong giai đoạn XANH 1 cho đến cuối thời kỳ đẻ nhánh hữu hiệu (từ lúc gieo cho đến khoảng 30 ngày sau khi gieo).

Một số biện pháp kỹ thuật cần lưu ý:

- Làm đất kỷ, làm rảnh thoát nước

- Chọn giống phù hợp với vùng sinh thái: cứng cây, chịu phèn, năng suất cao, phẩm chất tốt

- Sử dụng giống xác nhận, áp dụng canh tác theo 1 Phải, 5 Giảm (gieo sạ thưa 80kg/ha)

- Chú ý xử lý hạt giống băng kích kháng (chế phẩm sinh học) để tăng sức nảy mầm của hạt giống

- Bón phân cho lúa theo khuyến cáo sau:

0/ Bón lót: phân lân, phân hữu cơ, hữu cơ vi sinh Rất cần thiết giúp cho cây lúa khỏe ngay từ đầu, hạn chế ngộ độc phèn, ra rễ mạnh, đẻ chồi sớm. Trên đất phèn hay đất chua nên bón lót bằng phân lân nung chảy (Văn Điển hay Ninh Bình): 100-200kg/ha hoặc phân Đầu Trâu mặn phèn: 100-200kg/ha là rất tốt.

Công thức phân bón cho lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long

80-100N + 30-60 P_2O_5+ 30-60 K_2O

1/ Đợt 1: 7 - 10 ngày sau sạ:

- Nên bón phân đợt 1 sớm nhằm giúp cây lúa phát triển tốt ngay từ đầu.

- Bón Urea + Lân, nếu cần thiết bón thêm Kali (15-30K_2O trên đất xám, cát, giồng)

Lượng bón 30-40%N + 50% P_2O_5 (nếu đã bón lót lân thì đợt này bón 25% P_2O_5)

Chú ý:

- Tới ngày bón phân, ruộng chưa có nước, không bón được. Để tránh cây lúa bị mất sức, chúng ta phun phân bón lá. Sau đó có nước, ta bón phân bình thường.

2/ Đợt 2: 18 - 22 ngày sau sạ:

- Bón Urea + Lân (DAP) *Lượng bón 30-40%N + 50% P_2O_5* (nếu đã bón lót lân thì đợt này bón 25% P_2O_5)

- Giai đoạn cây ra chồi hữu hiệu (điều chỉnh mật độ chồi hữu hiệu để đảm bảo số bông trên m^2 sau này)

- Giai đoạn điều chỉnh độ đồng đều của ruộng lúa. (bón vá áo những chỗ lúa xấu).

- Đối với ruộng sạ mật độ thấp hoặc giống nẩy chồi kém, chúng ta sử dụng thuốc kích thích phun ngay sau khi bón phân để làm gia tăng số chồi hữu hiệu. Thuốc sử dụng có thể là Atonik pha 10cc cho bình 16 lít mỗi công 1.000 m^2 phun 2 bình (lưu ý khi phun thuốc kích thích, ruộng phải có nước, phân bón và khi phun phải giữ đúng nồng độ của thuốc. Nếu phun quá liều, sẽ làm phản tác dụng) hoặc các loại kích kháng: Comcat, Humate, Plasti, Hydrophos, Super humic…

Rút nước giữa vụ là biện pháp kỹ thuật quan trọng, rút cạn nước cho đến khi đất khô nứt như dấu chân chim càng tốt. Tùy theo giống lúa dài ngày hay ngắn ngày, giống nẩy chồi kém hay giống nẩy chồi mạnh mà chúng ta có thể rút nước trong khoảng 25 – 30 ngày sau sạ (cho đến khi bón phân đón đòng) nhằm:

- Hạn chế chồi vô hiệu mọc, giúp cây lúa tập trung dinh dưỡng nuôi chồi hữu hiệu.

- Hạn chế lá ủ ở giai đoạn sau, cây lúa được thông thoáng ít bị sâu bệnh gây hại.

- Giúp cây lúa phát triển tốt bộ rễ, rễ ăn sâu hơn, hút nhiều dinh dưỡng nuôi bông, cây lúa cứng cáp hơn tránh đổ ngã ở giai đoạn sau.

- Tiêu các chất độc đã sản sinh trong môi trường yếm khí do đất bị ngập nước lâu ngày.

Chú ý: Sâu đục thân, sâu phao, sâu cuốn lá, bệnh đạo ôn.

- VÀNG 1: Cần áp dụng mọi biện pháp cho cây lúa chuyển sang màu vàng tranh lúc chuẩn bị đón đòng là rất cần thiết. Nếu ruộng lúa nào không chuyển sang màu vàng tranh trước lúc đón đòng là sai quy luật VÀNG 1, cây sẽ phát triển thân lá, về sau nhiều sâu bệnh, bông hạt kém, lốp đổ.

Biện pháp tích cực để tác động cho cây lúa chuyển sang VÀNG 1 là:

- Bón phân đợt 2 sớm (18-22NSS), không đợi cấy dặm xong mới bón. Tác dụng của việc bón phân đợt 2 chủ yếu để nuôi những nhánh đã đẻ trước đó (chủ yếu là 2 ngạnh trê) đủ dinh dưỡng, khỏe, mập, mạnh để sẵn sàng trở thành những chồi cho bông về sau. Các nhánh đẻ muộn về sau, do bón phân đợt 2 sớm nên ruộng lúa sẽ hết phân lúc các nhánh phụ này có dưới 3 lá sẽ tự chết. Điều này tạo thành ruộng lúa ít có lá ủ (lá chưn), thông thoáng, các nhánh chính thì khỏe, mập, mạnh về sau sẽ cho bông dài, nhiều hạt (bông cái có trên 100 hạt và 2 ngạnh trê có từ 40-60 hạt).

- Nên cắt nước (rút nước giữa vụ) lúc ruộng lúa đã đẻ kín hàng (từ 30-40 NSS) với mục đích là hạn chế các nhánh đẻ vô hiệu, làm cho đất thông thoáng, rễ lúa đủ oxy hô hấp, giảm bớt các độc chất trong môi trường ngập nước, cây lúa cứng lại, ít sâu bệnh, chuyển sang làm đòng hết sức thuận lợi.

- Màu sắc của lá lúa sẽ từ màu xanh đậm (30NSS) sẽ lợt dần (chuyển sang mu xanh lợt 35NSS) cho đến khi chuyển sang màu vàng tranh (khoảng 40-45 ngày sau sạ)→ lc ny ruộng la cĩ MU VNG tức VNG 1.

- XANH 2:

Quan sát ruộng lúa khi có trên 2/3 đã chuyển sang màu vàng tranh (khoảng từ 40-45 ngày đối với các giống lúa có thời gian sinh trưởng 90-95 ngày) lúc này lúa bắt đầu có tim đèn (có đụng đụng đất) thì nên đưa nước vào và bón phân đón đòng theo kỹ thuật "Không ngày, Không số"

3/ Đợt 3: khoảng 40 - 50 ngày sau sạ (tùy TGST của giống, nhiệt độ và dinh dưỡng ruộng lúa)

Áp dụng theo nguyên tắc không ngày không số.

Không ngày: Ngày bón phân đón đòng không phải do nhà khoa học quyết định, không phải do chủ ruộng quyết định mà phải do ruộng lúa quyết định. Sau khi chúng ta rút nước giữa vụ (từ 30-40 ngày sau sạ), lúa sẽ chuyển màu từ xanh đậm sang xanh lợt và sang màu vàng tranh, chờ cho đến khi có ít nhất 2/3 miếng ruộng chuyển sang màu vàng tranh, bóc đòng lúa kiểm tra thấy có tim đèn nhú ra khoảng 1-3mm thì cho nước vào và bón phân đợt 3. ***Ngày bón phân dứt khoát phải chờ khi lúa có tim đèn nhú ra từ 1-3mm.*** *(ngày lúa có tim đèn tùy thời gian sinh trưởng của giống, nhiệt độ (mùa, vụ, vùng miền) và dinh dưỡng ruộng lúa)*

Không số: tức là không quyết định bón bao nhiêu mà phải tùy vào màu sắc của đám ruộng.

Chỗ lúa chuyển vàng: bón 50kg Urê + 50 kg KCl/ha

Chỗ lúa xanh lợt: bón 30kg Urê + 50 kg KCl/ha

Chỗ lúa xanh đậm (lúa tốt, chỗ trũng, chỗ gần nhà, tàng cây che bóng..): hoàn toàn không bón đạm chỉ bón 50-70 kg KCl/ha

Ở giai đoạn này chúng ta có thể sử dụng thuốc kích thích sinh trưởng phun ngay khi bón phân đợt 3, giúp cây lúa hút dinh dưỡng mạnh hơn và bảo đảm được số hạt chắc trên bông.

Nếu bón phân đúng kỹ thuật khi cây lúa trổ phải có màu xanh (đặc biệt là 3 lá trên cùng phải xanh bền, xanh lâu mới tạo được năng suất cao) gọi là XANH 2. Nếu vì lý do gì, từ khi lúa đã trổ - chín sữa bị vàng là trái với quy luật. Các biện pháp chính để giữ cho 3 lá trên cùng xanh là:

- Không sạ quá dày lá sẽ che cớm lẫn nhau.

- Bón phân cân đối, tránh thừa đạm, thừa lân vào cuối vụ.

- Nước đầy đủ (từ làm đòng - chín sáp), phòng trừ sâu bệnh tốt, kịp thời.

- Lúc lúa cong trái me (72-75 ngày sau sạ) nếu 3 lá trên cùng bị vàng, có thể bón rước hạt khoảng 20kg Urê/ha hoặc có thể phun xịt phân bón lá (Comcat, Lacasoto, HK 7-5-44, Humate…) để giữ lá xanh lâu, giảm lép cậy, tăng số hạt chắc/bông.

- VÀNG 2: Cần tháo nước trước lúc thu hoạch để thúc đẩy quá trình chín của ruộng lúa: tạo điều kiện cho lúa chuyển sang **VÀNG 2** Tùy theo địa hình, nếu ruộng lúa có địa hình cao, dễ mất nước chỉ cần tháo nước trước 5-7 ngày; ruộng bình thường cần tháo nước trước 7-10 ngày, ruộng có địa hình trũng, lầy thụt cần tháo nước trước 15-20 ngày nhìn chung cần đảm bảo ruộng khô ráo để máy móc để dàng lm việc lc thu hoạch.

PHẦN 2

BÀI BÁO KHOA HỌC

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT ĐẾN SỰ GIẢM KÍCH THƯỚC HẠT NHÃN TIÊU DA BÒ (*Dimocarpus longan* Lour.)

Bùi Thị Mỹ Hồng[1], Nguyễn Thị Thanh Tâm[2], Lìu Vĩnh Hưng[1], Nguyễn Hoàng Minh[1]
[1] Trường Đại học Mở TP. HCM
[2] Trường Đại học Sư phạm TP. HCM
Email: hong.btm@ou.edu.vn

TÓM TẮT

Nhãn là một trong những loại cây ăn trái được trồng phổ biến ở miền nam Việt Nam. Chất điều hòa sinh trưởng thực vật được sử dụng nhằm cải thiện phẩm chất và năng suất nhãn Tiêu da bò. Thí nghiệm được thực hiện với mục đích khảo sát ảnh hưởng của NAA, IAA và GA_3 phun ở các nồng độ khác nhau đến kích thước hạt trong trái và năng suất cây nhãn Tiêu da bò. Thí nghiệm bố trí trên vườn tại tỉnh Tiền Giang từ tháng 9/2013 đến tháng 7/2014. Thí nghiệm bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 7 nghiệm thức và lặp lại 3 lần. Kết quả cho thấy IAA ở nồng độ 100 mg/L hoặc 200 mg/L khi phun qua lá tại thời điểm 3 – 4 tuần sau đậu trái trên cây nhãn 6 năm tuổi đã làm giảm kích thước hạt và cải thiện phần cơm trái so với đối chứng.

Từ khóa: Chất điều hòa sinh trưởng, kích thước hạt, nhãn, Tiêu da bò, *Dimocarpus longan* Lour.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc chuyển đổi nhanh từ các giống nhãn có phẩm chất kém như giống nhãn Long sang giống nhãn có phẩm chất cao như nhãn Tiêu da bò đã được các nhà vườn tiến hành từ nhiều năm qua. Phương pháp sử dụng *mắt ghép* là giống nhãn Tiêu da bò lên *gốc ghép* là gốc nhãn Long (giống cũ hạt to, cơm mỏng). Sau đó, các mắt ghép hay nhánh chiết nhãn Tiêu da bò từ những vườn này lại tiếp tục được nhân nhánh ra những vườn khác. Đây có thể là một trong những nguyên nhân dẫn đến giảm chất lượng trái như phần cơm (thịt) trái mỏng hơn, hạt trong trái lớn hơn. Khuyết điểm này đã có ảnh hưởng đến phẩm chất trái nhãn Tiêu da bò hiện nay, đặc biệt là những vườn nhãn Tiêu da bò được trồng ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long, do đó việc tiến hành nghiên cứu để khắc phục hiện tượng này là rất cần thiết [2]. Theo Mai Trần Ngọc Tiếng (1999) [6], khi xử lý tạo trái nhãn hạt tiêu đã ghi nhận trong quá trình thực hiện chương trình tạo phôi, có thụ tinh kép, có sự phát triển phôi nhưng không phân hóa hoàn chỉnh thành phôi nguyên vẹn ở ngày 30. Vì phôi được cô lập trong hạt, bao bởi 2 lớp vỏ cứng không chịu sự kiểm soát của ngoại yếu tố nên chỉ có chất điều hòa sinh trưởng mới điều khiển chương trình tạo phôi một cách nhịp điệu và cân xứng giữa các cơ quan. Do đó, đề tài "Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến sự giảm kích thước hạt nhãn Tiêu da bò" được thực hiện nhằm xác định chất điều hòa sinh trưởng thực vật ngoại sinh và nồng độ thích hợp làm giảm kích thước của hạt, tăng tỷ lệ phần ăn được trong trái.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây nhãn Tiêu da bò, gốc ghép nhãn Long, mắt ghép là giống nhãn Tiêu da bò được 6 năm tuổi. Mô hình được bố trí tại xã Long Hưng, huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Trái nhãn Tiêu da bò ở các giai đoạn khác nhau.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Theo dõi sự tăng trưởng trái nhãn Tiêu da bò ngoài tự nhiên

- Chọn ngẫu nhiên 10 cây trong vườn. Mỗi cây, chọn 8 phát hoa ở 4 hướng khác nhau để theo dõi sự ra hoa, nở hoa và đậu trái. Sự đậu trái được ghi nhận bắt đầu từ khi hoa cái nở hoàn toàn là ngày thứ 0. Sau đó mỗi 7 ngày, hái ngẫu nhiên 30 trái/cây để phân tích các chỉ tiêu:

- Trọng lượng trái/chùm (g): sau khi hái trái trên cây đem ngay đến phòng thí nghiệm, tách riêng phần cuống và trái, sau đó cân phần trái. Cân trọng lượng của 30 trái để tính trọng lượng trung bình của một trái ở mỗi lần lặp lại.

- Đường kính trái (cm): đo bằng thước kẹp tại vị trí lớn nhất.

- Độ dày của cơm trái (mm): đo bằng thước kẹp điện tử.

- Đường kính hạt (mm): sau khi cân trọng lượng trái sẽ tách đôi trái, dùng thước kẹp điện tử đo bề rộng của hạt.

- Trọng lượng vỏ, trọng lượng hạt (g): sau khi đo đường kính hạt và độ dày cơm trái sẽ đem tách riêng vỏ, cơm trái và hạt đem cân riêng.

- Tỷ lệ cơm trái/trái (%) = trọng lượng trái - (trọng lượng vỏ + trọng lượng hạt)/trọng lượng trái x 100.

2.2.2. Ly trích và đo hoạt tính các chất điều hòa sinh trưởng thực vật ở các giai đoạn phát triển của trái

Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong trái nhãn Tiêu da bò (trái non ở các giai đoạn khác nhau) được dùng làm vật liệu để ly trích và đo hoạt tính các chất điều hòa sinh trưởng thực vật auxin, cytokinin, gibberellin được xác định thông qua sinh trắc nghiệm [5], [7]. Phân ly các chất ly trích bằng phương pháp sắc ký trên bản mỏng silica gel F_{254} (20x20 cm) trong hệ dung môi di chuyển (Isopropanol : Amon hydroxyd : H_2O = 10 : 1 : 1 (v/v), nhiệt độ 30 - 32^oC).

Hoạt tính auxin (IAA) được đo bằng sinh trắc nghiệm khúc cắt diệp tiêu lúa (*Oryza sativa* L.). Hoạt tính auxin tỷ lệ thuận với sự khác biệt chiều dài khúc cắt diệp tiêu so với dung dịch chuẩn IAA tinh khiết 1 mg/L.

Hoạt tính gibberellin được đo bằng sinh trắc nghiệm trụ hạ diệp cây mầm xà lách (*Lactuca sativa* L.). Hoạt tính gibberellin tỷ lệ thuận với sự khác biệt chiều dài trụ hạ diệp so với chất chuẩn (dung dịch 10 mg/L) sau 72 giờ chiếu sáng.

Hoạt tính cytokinin (zeatin) được đo bằng sinh trắc nghiệm tử diệp dưa leo (*Cucumis sativus* L.). Hoạt tính cytokinin tỷ lệ thuận với sự khác biệt trọng lượng tươi của các tử diệp so với chất chuẩn (dung dịch zeatin 1 mg/L) sau 48 giờ chiếu sáng.

2.2.3. Thí nghiệm. Khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến sự giảm kích thước hạt nhãn Tiêu da bò

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 7 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại là 1 cây (Hình 1).

Bảng 1. Các nghiệm thức trong thí nghiệm và thời điểm xử lý

STT	Nghiệm thức	Thời điểm xử lý
1	Đối chứng (phun nước)	- Thời điểm phun: bắt đầu vào giai đoạn 3 tuần sau đậu trái (Hình 2). - Phun ướt đều tán lá và trái non với liều lượng 10 lít dung dịch phun trên 5 cây/lần phun. Phun vào sáng sớm, khô ráo. - Phun 2 lần: o Lần 1: 3 tuần sau khi hoa nở hoàn toàn [6] o Lần 2: 7 ngày sau khi phun lần 1
2	NAA 100 mg/l	
3	NAA 200 mg/	
4	IAA 100 mg/l	
5	IAA 200 mg/l	
6	GA_3 100 mg/l	
7	GA_3 200 mg/l	

Hình 1. Vườn nhãn Tiêu da bò được tiến hành bố trí thí nghiệm

Hình 2. Trái ở thời điểm xử lý (3 tuần sau đậu trái)

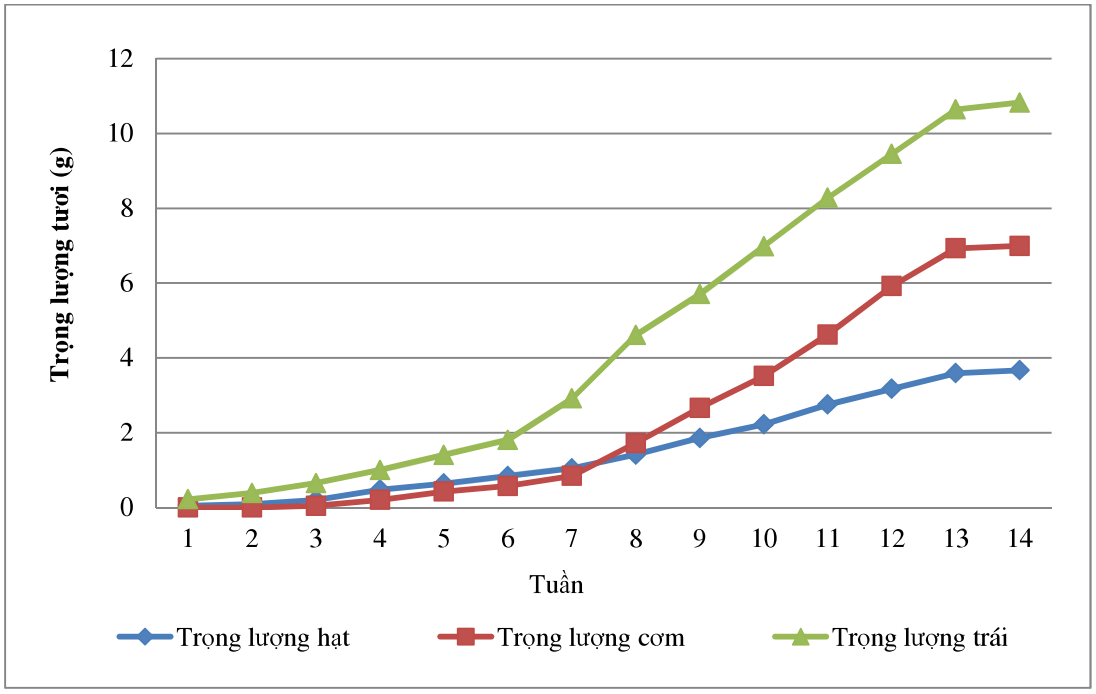
Các chỉ tiêu theo dõi: Trên mỗi cây chọn ngẫu nhiên 4 chùm trái cố định ở 4 hướng. Khi thu hoạch theo dõi các chỉ tiêu số chùm trái/cây; số trái/chùm; trọng lượng trái (g); đường kính trái (cm); độ dày của cơm trái (mm); đường kính hạt (mm); tỷ lệ cơm/trái (%); hàm lượng đường trong trái (độ Brix); hoạt tính các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong trái trước khi xử lý và sau khi thu hoạch. Năng suất thực tế của cả cây (kg/cây).

Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Excel để tính giá trị trung bình các chỉ tiêu về sự tăng trưởng trái. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics plus 3.0. Phân tích phương sai ANOVA để tìm sự khác biệt giữa các nghiệm thức. So sánh các giá trị trung bình qua phép thử DUNCAN.

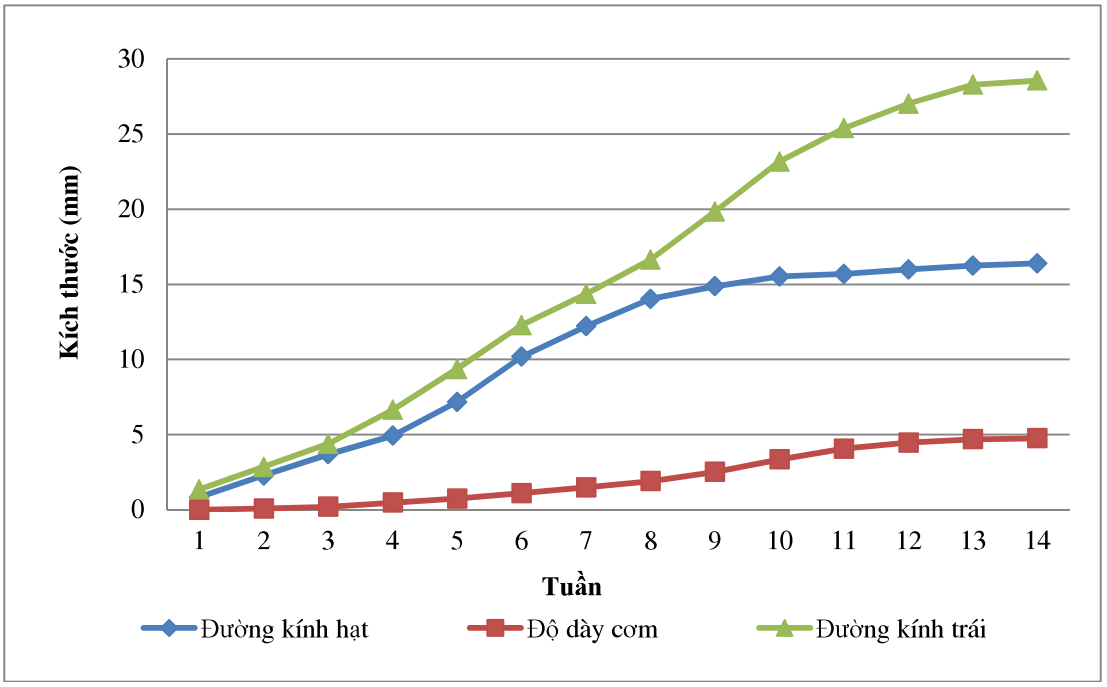
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát sự tăng trưởng của trái nhãn Tiêu da bò ngoài tự nhiên

Cây nhãn Tiêu da bò từ khi xử lý ra hoa đến lúc thu hoạch khoảng 5 tháng. Giai đoạn từ khi đậu trái (ngày 0) đến khi thu hoạch khoảng 90 ngày (14 tuần). Trái phát triển theo hình chữ S đơn giản (Hình 3, 4). Từ khi đậu trái đến tuần thứ 2 chưa có sự hình thành cơm trái. Tuần thứ 3 và tuần thứ 4 bắt đầu xuất hiện cơm trái nhưng chỉ một lớp mỏng chưa bao kín hạt. Từ tuần thứ 5 đến tuần thứ 8 cơm phát triển chậm. Bắt đầu từ sau tuần thứ 8 cho đến tuần thứ 14 cơm trái sẽ phát triển nhanh do giai đoạn này hạt đã phát triển tối đa và bắt đầu ngưng phát triển.



Hình 3. Sự tăng trưởng về trọng lượng các thành phần trong trái nhãn Tiêu da bò



Hình 4. Sự tăng trưởng về kích thước các thành phần trong trái nhãn Tiêu da bò

Đường kính hạt phát triển chậm từ tuần thứ 1 đến tuần thứ 4 (Hình 4). Từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 8 đường kính hạt phát triển rất nhanh. Từ tuần thứ 9 đến tuần thứ 13 đường kính hạt phát triển chậm lại và ngưng phát triển ở tuần 13 và tuần thứ 14. Trọng lượng hạt tăng chậm trong các tuần đầu, sau đó tăng nhanh từ tuần thứ 3 đến tuần thứ 11. Hạt bắt đầu gia tăng trọng lượng chậm từ tuần thứ thứ 11 trong khi đó cơm trái vẫn tiếp tục phát triển nhanh. Kết quả này tương tự với ghi nhận khi nghiên cứu trên cây nhãn Xuồng cơm vàng của [1]. Sau khi thụ tinh, trái bắt đầu tăng trưởng và phát triển. Trái tăng trưởng chậm trong khoảng 4 - 5 tuần đầu kể từ khi hoa nở. Từ tuần thứ 6 đến tuần

thứ 11 sau khi đậu trái là giai đoạn trái tăng trưởng nhanh, và trái đạt đến mức bão hòa ở tuần thứ 12 và 13 sau khi đậu trái.

3.2. Khảo sát hoạt tính các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong trái nhãn Tiêu da bò trước khi xử lý chất điều hòa sinh trưởng thực vật ngoại sinh

Hoạt tính auxin và cytokinin cao ở trong trái 1 tuần tuổi (tương ứng 2,063 mg/l và 0,394 mg/l) và giảm dần ở trái 3 tuần tuổi (tương ứng 0,938 mg/l và 0,075 mg/l). Hoạt tính gibberellin trong trái non rất thấp và gần như không có sự biến đổi nhiều giữa các tuần (Bảng 2).

Bảng 2. Hoạt tính các chất điều hòa sinh trưởng thực vật nội sinh trong trái trước khi xử lý

STT	Nghiệm thức	Hoạt tính (mg/l)		
		Auxin	Gibberellin	Cytokinin
1	**1 tuần**	2,063 a	0,002 b	0,394 a
2	**2 tuần**	1,375 ab	0,005 b	0,187 a
3	**3 tuần**	0,938 b	0,029 a	0,075 a
CV (%)		1,77	2,37	8,19

Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự không khác biệt nhau ở mức 0,05 qua phép thử Duncan.

Xử lý auxin ngoại sinh (IAA, NAA) trong giai đoạn 3 tuần tuổi làm tăng tỷ lệ auxin/cytokinin tác dụng làm giảm kích thước hạt [6]. Theo Vũ Văn Vụ (2008) [8], trong điều kiện tự nhiên, auxin cần thiết cho sự tăng trưởng trái có nguồn gốc từ ống phấn, noãn đã thụ tinh và phôi. Tuy nhiên auxin trong hạt phấn không đủ để kích thích hình thành và lớn lên nhanh chóng của trái mà quá trình này được điều chỉnh bằng một hệ phức hormone sản sinh từ phôi, sau đó từ hạt.

Hạt đang tăng trưởng chứa phôi là nguồn đặc biệt giàu auxin, gibberellin và cytokinin và hoạt động như một trung tâm huy động các chất biến dưỡng từ lá về hạt, giúp sự tăng trưởng hạt và các mô trái xung quanh. Do đó, sự thay đổi các chất điều hòa sinh trưởng thực vật có ảnh hưởng lớn tới sự tăng trưởng trái. Sự tăng trưởng về kích thước của trái là do sự dãn nở của các tế bào do auxin được sản sinh trong hạt đóng vai trò kiểm soát. Lượng auxin sản sinh trong hạt càng nhiều thì trái tăng trưởng nhanh phù hợp với ghi nhận của Bùi Trang Việt (2000) [3]. Sự hiện diện của auxin, gibberellin và cytokinin ở các giai đoạn 1, 2, 4 tuần tuổi, đặc biệt hoạt tính gibberellin đạt cao nhất ở trái 4 tuần tuổi, làm trái phát triển nhanh chủ yếu nhờ sự kéo dài tế bào [4].

3.3. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến kích thước, năng suất và phẩm chất trái nhãn Tiêu da bò

3.3.1. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến đường kính trái, đường kính hạt, độ dày cơm và tỷ lệ phần ăn được

Đường kính và chiều cao trái nhãn Tiêu da bò của các nghiệm thức trong thí nghiệm không có sự khác biệt qua thống kê giữa các nghiệm thức (Bảng 3). Như vậy, các nghiệm thức xử lý trong thí nghiệm không làm ảnh hưởng đến đường kính và chiều cao của trái khi thu hoạch và tương đương với nghiệm thức đối chứng chỉ phun nước.

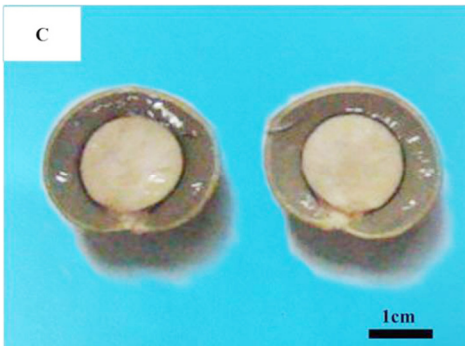
Có sự khác biệt qua thống kê về chỉ tiêu đường kính hạt giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm (Bảng 3). Nghiệm thức xử lý IAA 200 mg/l có đường kính hạt là nhỏ nhất (13,39 mm) (Hình 6), tiếp theo là nghiệm thức xử lý IAA 100 mg/l có đường kính 13,91 mm (Hình 5) đây là chỉ tiêu mong muốn khi tiến hành đề tài. Hai nghiệm thức trên có đường kính hạt nhỏ hơn nghiệm thức đối chứng là nghiệm thức có đường kính hạt lớn nhất (14,98 mm) (Hình 3). Đường kính hạt của các nghiệm thức còn lại không có sự khác biệt với nghiệm thức đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến đường kính trái và hạt, độ dày cơm trái và tỷ lệ phần ăn được

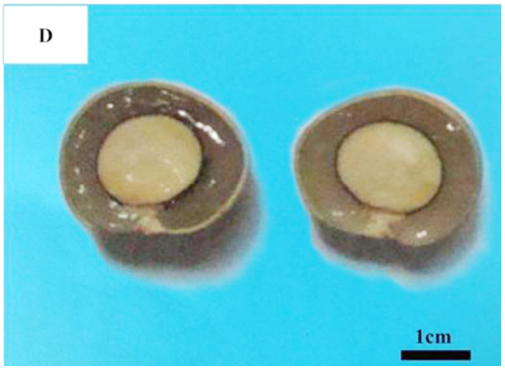
STT	Nghiệm thức	Đường kính trái (mm)	Đường kính hạt (mm)	Độ dày cơm (mm)	Tỷ lệ cơm/trái (%)
1	Phun nước (ĐC)	25,78 a	14,98 c	3,980 c	60,20 c
2	NAA 100 mg/l	24,98 a	14,36 abc	4,179 bc	61,80 bc
3	NAA 200 mg/l	25,63 a	14,66 bc	4,173 bc	60,80 bc
4	IAA 100 mg/l	25,86 a	13,91 ab	4,277 ab	64,72 ab
5	IAA 200 mg/l	26,02 a	13,39 a	4,524 a	67,20 a
6	GA_3 100 mg/l	25,83 a	14,67 bc	4,069 bc	60,21 c
7	GA_3 200 mg/l	25,90 a	14,00 abc	4,261 ab	63,00 abc
	CV (%)	5,39	4,22	3,38	3,96

Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự không khác biệt nhau ở mức 0,05 qua phép thử Duncan.

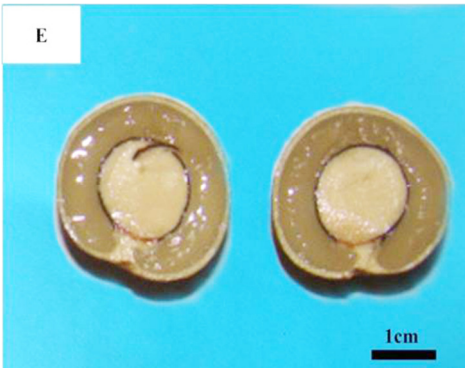
Hình 3. Đường kính hạt nhãn Tiêu da bò ở nghiệm thức A: phun nước (ĐC) khi thu hoạch



Hình 4. Đường kính hạt nhãn Tiêu da bò ở nghiệm thức C: phun NAA 200 mg/l khi thu hoạch



Hình 5. Đường kính hạt nhãn Tiêu da bò ở nghiệm thức D: phun IAA 100 mg/l khi thu hoạch



Hình 6. Đường kính hạt nhãn Tiêu da bò ở nghiệm thức E: phun IAA 200 mg/l khi thu hoạch

Xử lý IAA ở các nồng độ 100 mg/l và 200 mg/l đã làm giảm kích thước hạt nhãn Tiêu da bò, điều này chứng tỏ xử lý auxin ngoại sinh làm tăng tỷ lệ auxin/cytokinin trong hạt và làm giảm kích thước hạt. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Mai Trần Ngọc Tiếng (1999) [6] tạo trái nhãn "hạt tiêu": trái nhãn thuộc nhóm Hiển Hoa Bí Tử, nghĩa là hạt giấu kín trong trái, nên phải suy ra rằng lý do của tai nạn chỉ có nguồn nội tại thôi vì ngoại tại nếu có phải tác động qua trung gian

của bầu noãn chứ không trực tiếp trên phôi. Thông thường hình thái khác biệt là do các chất điều hòa sinh trưởng điều khiển có thứ tự, các thay đổi đó không hoạt động bình thường hay không tôn trọng tỷ lệ hài hòa của trái thường. Ở giai đoạn phôi, chỉ còn hai chất điều hòa sinh trưởng quan trọng là cytokinin để giúp phân bào và auxin để giúp kéo dài tế bào. Tỷ lệ auxin/cytokinin trong hạt ở giai đoạn mới đậu trái cho tới trái vừa xanh bằng 6, còn tỷ lệ này trong trái hạt tiêu bằng 20. Xử lý auxin cao gấp đôi lượng bình thường trong trái hạt tiêu sẽ tạo trái lép. Chọn thời điểm nào mà tế bào hạt trái nhạy cảm với nồng độ đó thì đạt được trái hạt tiêu.

Độ dày cơm và tỷ lệ phần ăn được trong trái có sự khác biệt có ý nghĩa qua thống kê giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm (Bảng 3). Nghiệm thức xử lý IAA 200 mg/l có độ dày cơm trái cao nhất (4,524 mm) (Hình 6) so với đối chứng (3,98 mm) thấp nhất (Hình 3).

Đường kính trái không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức thí nghiệm trong khi đường kính hạt của nghiệm thức phun IAA 200 mg/l nhỏ nhất do đó độ dày cơm trái sẽ cao. Như vậy, nghiệm thức phun IAA 200 mg/l đã làm tăng độ dày của cơm trái nhãn Tiêu da bò. Nghiệm thức IAA 200 mg/l có tỷ lệ cơm/trái (67,20%) cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại và so với tỷ lệ cơm/trái ở đối chứng phun nước (60,20%), tiếp theo là nghiệm thức IAA 100 mg/l (64,72%) và nghiệm thức phun nước có tỷ lệ cơm/trái thấp nhất (60,20 mm) (Bảng 3).

3.3.2. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến năng suất nhãn Tiêu da bò

Không có sự khác biệt qua thống kê về số trái trên chùm, trọng lượng trái và năng suất cây (Bảng 4). Thời điểm xử lý các chất điều hòa sinh trưởng thực vật số lượng chùm trái trên cây đã ổn định, trái đã đậu được 2 - 3 tuần nên không có sự khác biệt. Trọng lượng trái không có sự khác biệt giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm. Như vậy, tuy phần cơm trái tăng lên, hạt nhỏ lại ở nghiệm thức xử lý IAA 100 hay 200 mg/l nhưng không làm khác biệt trọng lượng trái. Điều này tương ứng với đường kính trái bên ngoài không khác biệt ở các nghiệm thức và đối chứng.

Như vậy khi xử lý các chất điều hòa sinh trưởng thực vật NAA, IAA và GA_3, ở nồng độ 100 mg/L hoặc 200 mg/L IAA đã làm giảm kích thước hạt trong trái, làm tăng phần cơm trái cải thiện phẩm chất trái nhưng vẫn duy trì năng suất cây.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực tế của cây

STT	Nghiệm thức	Số trái/chùm	Trọng lượng trái (g)	Năng suất (kg/cây)
1	Phun nước (ĐC)	45,13 a	9,66 a	52,33 a
2	NAA 100 mg/l	47,76 a	9,16 a	52,83 a
3	NAA 200 mg/l	51,23 a	9,16 a	53,50 a
4	IAA 100 mg/l	46,43 a	9,66 a	53,66 a
5	IAA 200 mg/l	50,13 a	9,66 a	56,16 a
6	GA_3 100 mg/l	48,93 a	9,33 a	56,83 a
7	GA_3 200 mg/l	54,06 a	9,50 a	52,16 a
	CV (%)	19,37	14,75	5,59

Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự không khác biệt nhau ở mức 0,05 qua phép thử Duncan

4. KẾT LUẬN

Cây nhãn Tiêu da bò trong tự nhiên từ khi đậu trái đến lúc thu hoạch được khoảng 14 tuần. Trái nhãn tăng trưởng theo đường cong hình chữ S đơn giản: ở giai đoạn đầu, trái hạt phát triển chậm, sau đó là sự phát triển rất nhanh của phần cơm trái. Nghiệm thức xử lý IAA 200 mg/l và IAA

100 mg/l đã làm giảm đường kính hạt trong trái đồng thời làm tăng độ dày cơm, tăng tỷ lệ phần cơm ăn được trong trái so với đối chứng phun nước và vẫn duy trì năng suất cây.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Thị Mỹ Hồng (2010), *Kiểm soát hiện tượng rụng trái nhãn Xuồng cơm vàng (Dimocarpus longan* Lour.), Luận án Tiến sĩ ngành Sinh học trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh.

2. Bùi Thị Mỹ Hồng, Đoàn Thị Cẩm Hồng, Nguyễn Minh Châu (2009), *Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến sự giảm kích thước hạt nhãn Xuồng cơm vàng (Dimocarpus longan* Lour.), Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, số 9.

3. Bùi Trang Việt (2000), *Sinh lý thực vật đại cương*, Phần II: Phát triển. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh, tr 78 - 187.

4. Lalit M.S. (2002). Plant growth and development Hormones and Environment, Elssevier Science (USA), p. 413-427.

5. Mai Trần Ngọc Tiếng (1999), *Tạo trái nhãn hạt tiêu*, Sở Khoa học Công nghệ và Môi trường tỉnh Đồng Tháp.

6. Nguyễn Du Sanh, Phan Ngô Hoàng, Đỗ Thường Kiệt, Võ Thị Bạch Mai, Trịnh Cẩm Tú (2013), *Thực tập chuyên ngành sinh lý thực vật*, Nxb Đại học Quốc Gia Tp. Hồ Chí Minh, tr. 57-66.

7. Lê Thị Trung (2003), *Tìm hiểu và áp dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật để kiểm soát hiện tượng rụng trái non xoài* (*Mangifera indica* L.), Luận án Tiến sĩ ngành Sinh học trường Đại học khoa học tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh.

8. Vũ Văn Vụ (2008), *Sinh lý học thực vật*, Nhà xuất bản Giáo dục, tr. 260 - 300.

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATIORS ON DECREASING SEED SIZE OF LONGAN *cv.* TIEU DA BO (*Dimocarpus longan* Lour.)

SUMMARY

The longan tree is one of the fruit trees most cultivated in the South Vietnam. Plant growth regulators were used for the quality and yield improvement of *cv.* "Tieu da bo" tree. The aim of this study was to examine the effect of naphthalene acetic acid (NAA), indol - 3 - acetic acid (IAA) and gibberelic acid (GA_3) on seed size of fruit and yield of Tieu da bo longan. Field experiment was carried out at Tien Giang province, from September 2013 to July 2014. The experiment was laid out in completely randomized block design with seven treatments, three replicates. Results showed that IAA at concentration of 100 mg/L or 200 mg/L was sprayed on leaves at 3 - 4 weeks after fruit setting to 6-year-old longan trees, gave the result in decreasing seed size and *improving flesh* of "Tieu da bo" longan fruit compared to control.

Keywords: Growth regulators, longan, seed size, Tieu da bo (*Dimocarpus longan* Lour.)

ẢNH HƯỞNG TƯƠNG TÁC CỦA 3 NGUYÊN TỐ DINH DƯỠNG (P, Ca và B) VÀ 3 CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT (Cyt, Ntp và AbA) ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ RA HOA CỦA LAN *Dendrobium Sonia* 12 THÁNG TUỔI

Vũ Thị Quyền[1], Nguyễn Đăng Nghĩa[2] và Dương Công Kiên[3]
[1]Trung tâm Nghiên cứu và Dịch vụ Sinh vật cảnh
[2] Trung tâm Nghiên cứu và Tư vấn Nông nghiệp Nhiệt đới
[3] Trường Đại học Tự nhiên TP.Hồ Chí Minh
Email: vuquyen.seed@gmail.com

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng hỗ tương của hỗn hợp 3 nguyên tố dinh dưỡng (P, Ca và B) và 3 chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp, AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia 12 tháng tuổi ở vườn sản xuất đã chỉ ra rằng: Tổ hợp (TH) 3 nguyên tố dinh dưỡng và 3 chất ĐHSTTV áp dụng cho lan 12 tháng tuổi ở vườn sản xuất luôn cho kết quả cao nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu là TH1 (P+Ca+B+Cyt+Ntp+B) = (1250+70+40)+(20+15+3) và TH2 (P+Ca+B+Cyt+Ntp+B) = (1250+70+50)+(20+15+3).

Kết quả áp dụng phân bón phân nền cùng tổ hợp (DD+ĐH) và số lần phun cho lan *Dendrobium* Sonia 12 tháng tuổi đã tìm ra nghiệm thức cho kết quả cao nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu: Số giả hành mới (2,2 cái), chiều dài giả hành (37,0 cm), đường kính giả hành (1,18 cm), số lá/giả hành (7,3 cái), số phát hoa/chậu (2,2 cái), chiều dài phát hoa (51,7 cm) và số hoa/phát hoa (12,3 cái). Kết quả này đã đáp ứng được yêu cầu sản xuất kinh doanh hoa lan công nghiệp và nghiệm thức tối ưu được tìm ra là: [(P_{1250}+Ca_{70}+B_{40}) + (Cyt_{20}+Ntp_{15}+AbA_3) + Ph-8] .

Từ khóa: nguyên tố dinh dưỡng (NTDD, Phốt pho - P, Canxi - Ca, Bo - B), chất điều hòa sinh trưởng thực vật (ĐHSTTV, Cytokinin – Cyt, Nitrophenol – Ntp, Axít absisic – AbA), Dendrobium sonia (D.sonia), giả hành mới (GHM), chiều dài giả hành, phát hoa, hoa.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong tự nhiên, phong lan (lan) hấp thụ chất dinh dưỡng từ nước mưa, sương và hơi nước thông qua hệ rễ. Rễ lan được bao phủ một lớp mô xốp dầy, cấu tạo bởi các tế bào lớn, chứa đầy không khí, rất dễ hút nước. Các loài lan mọc ở nơi khô cằn có nhiều lớp mô xốp, vách tế bào dày hơn và được che khuất bởi giả hành hay lá. Một số loài có cấu trúc giả hành phát triển, trở thành các cơ quan lưu trữ dinh dưỡng và nước. Khi được bón phân với nồng độ thích hợp, lan cho hoa đều và đẹp hơn, giai đoạn trưởng thành sớm hơn và gia tăng đáng kể về khả năng kháng sâu bệnh (Hew và cs, 1984).

Quá trình nghiên cứu về thành phần dinh dưỡng của lá *Cattleya*, Erickson (1957) đã ghi nhận ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng có sự truyền tải mạnh mẽ chất dinh dưỡng (N, P, K, Ca, Mg, B) từ lá già sang mô của lá non. Ngoài ra, Rodrigues (2005) cũng chỉ ra một thực tế là thiếu Ca, B và một số nguyên tố vi lượng trong cây sẽ làm cho hệ rễ của lan bị suy yếu, cây sinh trưởng chậm và dễ bị nhiễm bệnh.

Trên thị trường hoa lan hiện nay, thị hiếu người tiêu dùng thường tập trung ở một số tiêu chuẩn như hoa to đều, phát hoa dài, số lượng hoa/phát hoa nhiều, màu sắc hoa tươi sáng và bền; trong khi giá thể trồng lan hầu hết lại ở dạng trơ; do đó việc bổ sung chế độ dinh dưỡng cân bằng cho lan càng trở nên cần thiết. Ở mỗi giai đoạn sinh trưởng khác nhau, yêu cầu cung cấp dưỡng chất

cho lan cũng khác nhau ở cả loại phân bón, liều lượng bón, cách thức và kỹ thuật bón. Bên cạnh đó, cây lan cũng rất cần có các chất điều hòa sinh trưởng thực vật, ở giai đoạn cây con để kích thích ra rễ và giai đoạn trưởng thành thì kích thích ra hoa.

Trên thế giới, các nghiên cứu về sinh lý ra hoa của lan vẫn chưa được biết một cách đầy đủ (Lopez và cs, 2005), do đó việc nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố tác động đến sự ra hoa ở lan là cần thiết và mang ý nghĩa thiết thực. Ở nước ta, mặc dù đã có một số nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón và chất điều hòa sinh trưởng đối với nhóm lan *Dendrobium*, tuy nhiên ảnh hưởng của chúng đối với sự ra hoa của lan vẫn chưa hoàn toàn được sáng tỏ. Từ tất cả các vấn đề nêu trên, đề tài nghiên cứu *"Ảnh hưởng của 3 nguyên tố dinh dưỡng (P, Ca, B) và 3 chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp, AbA) đến quá trình sinh trưởng và ra hoa của lan Dendrobium* Sonia *12 tháng tuổi ở giai đoạn sản xuất"* được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng hỗ tương của hỗn hợp 3 nguyên tố dinh dưỡng (P, Ca và B) và 3 chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp, AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan, góp phần hoàn thiện qui trình kỹ thuật bón phân cho loài cây này.

2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu trên hoa lan *Dendrobium* Sonia 9 tháng và 12 tháng tuổi được trồng trong chậu nhựa cứng, giá thể gồm 50% xơ dừa + 50% than củi.

Các thí nghiệm đều được thực hiện tại Vườn Lan Thủ Thiêm, P. An Lợi Đông, Quận 2, TP.Hồ Chí Minh. Vườn ươm thiết kế theo dạng lưới che 60% ánh sáng phần mái, phủ lưới kín hông hướng Tây và 3 hướng còn lại hở 1/2 hở hông. Hệ thống tưới phun tự động theo tiêu chuẩn kỹ thuật của Netafilm. Thời gian thực hiện đề tài: từ tháng 01/2014 đến tháng 05/2014.

2.2. Nội dung nghiên cứu

(1) Xác định hiệu lực tương hỗ của hỗn hợp nguyên tố dinh dưỡng (P, B và Ca) và chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp và AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia 12 tháng tuổi.

(2) Đánh giá hiệu lực của số lần phun tổ hợp 3 chất dinh dưỡng (P, Ca và B) và 3 chất điều hòa sinh trưởng thực vật (Cyt, Ntp và AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia12 tháng tuổi.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nguyên tắc chung

- Đề tài có 2 thí nghiệm, các thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (Randomized Complete Block Design - RCBD). Mỗi thí nghiệm có 8 nghiệm thức. Số lần lặp lại của mỗi nghiệm thức là 4.

- Phân bón nền: (i) Phân hữu cơ bón gốc dạng túi lưới 7 gram/túi (HT-11: CHC = 35%; axít humic = 3%, N = 5%, P_2O_5 = 5%, K_2O = 5%, SiO_2 = 5%, MgO = 3%) được đặt trên giá thể cho cả lan 9 và 12 tháng tuổi, mỗi cây đặt một túi lưới, đặt cách gốc 2-3 cm. Định kỳ 60 ngày bón 1 lần. (ii) Phân bón lá (NPK 20-20-20): Pha 8 ml với 1 lít nước để phun lên lá. Định mức phun là 4 lít dung dịch đã pha phun/100 m^2 bề mặt lá, định kỳ 7 ngày phun 1 lần.

- Tổ hợp của 3 nguyên tố dinh dưỡng (P+Ca+B) kí hiệu "DD" và 3 chất ĐHSTTV (Cyt, Ntp và AbA) kí hiệu là "ĐH": DD1 = $P_{1250ppm}$+Ca_{70}+B_{40}; DD2= $P_{1250ppm}$+Ca_{70}+B_{50} và DD3 = $P_{1250ppm}$+Ca_{90}+B_{40}; ĐH1=Cty_{20}ppm+Ntp_{15}ppm+AbA_{3ppm}; ĐH2=Cty_{20}ppm+Ntp_{19}ppm+AbA_{3ppm}; ĐH1=Cty_{25}ppm+Ntp_{15}ppm+AbA_{3ppm}.

- Thu thập số liệu (30 ngày/ lần). Chỉ tiêu đo đếm: Số giả hành/chậu (cái), đường kính giả hành (cm), chiều dài giả hành (cm), số phát hoa (cái), chiều dài phát hoa (cm) và số hoa/ phát hoa.

Số liệu được tổng hợp và xử lý bằng phần mền Excel và SPSS 15.0.

2.3.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1*:* Đánh giá hiệu lực tương hỗ của hỗn hợp 3 NTDD (P, Ca và B) và 3 chất ĐHSTTV (Cyt, Ntp và AbA) đến sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia.

Thí nghiệm gồm 9 nghiệm thức: NT1 ($DD_1ĐH_1$), NT2 ($DD_1ĐH_2$), NT3 ($DD_1ĐH_3$), NT4 ($DD_2ĐH_1$), NT5 ($DD_2ĐH_2$), NT6 ($DD_2ĐH_3$), NT7 ($DD_3ĐH_1$), NT8 ($DD_3ĐH_2$), NT9 ($DD_3ĐH_3$). Tổng số đơn vị thí nghiệm là 36 (4 lần lặp lại).

Thí nghiệm 2. So sánh hiệu lực của số lần phun tổ hợp [(P-Ca-B) + (Cyt- Ntp-ABA)] đối với sinh trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* Sonia.

Hai nghiệm thức tốt nhất từ thí nghiệm 1 được chọn để làm ở thí nghiệm 2, ký hiệu là Opt1 và Opt2. Xác định 4 chế độ phun khác nhau: (i) Chế độ phun 4 lần/vụ (ký hiệu: Ph-4), (ii) Chế độ phun 6 lần/vụ (ký hiệu: Ph-6), (iii) Chế độ phun 8 lần/vụ (ký hiệu: Ph-8), (iv) Chế độ phun 10 lần/vụ (ký hiệu: Ph-10).

Thực hiện thí nghiệm 2 nhân tố (tổ hợp DD+ĐH và chế độ phun), tổ hợp DD+ĐH có 2 mức và chế độ phun có 4 mức, tổng cộng có 8 nghiệm thức ứng với từng tổ hợp DD+ĐH và chế độ phun là: NT1 (Opt1 Ph_4), NT2 (Opt1 Ph_6), NT3 (Opt1 Ph_8), NT4 (Opt1 Ph_{10}), NT5 (Opt2Ph_4), NT6 (Opt2Ph_6), NT7 (Opt2Ph_8), NT8 (Opt2Ph_{10}). Mỗi nghiệm thức có 4 lần lặp lại, tổng cộng có 24 đơn vị thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tổ hợp 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV đến sinh trưởng và ra hoa của lan *D.*Sonia 12 tháng tuổi

Ở lan 12 tháng tuổi (bảng 1), việc phun hỗn hợp DD và ĐH có ảnh hưởng tích cực đến sinh trưởng của cây. Theo đó, tất cả các nghiệm thức thí nghiệm đều cho sinh trưởng tốt và đạt độ đồng đều cao: Số giả hành mới cao nhất đạt 1,2 cái lần lượt ở các nghiệm thức DD1, DD3 và ĐH2; tuy nhiên, chúng chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại (các nghiệm thức còn lại cùng có 1,1 GHM).Tương tự, chỉ tiêu chiều dài giả hành đạt bình quân 36,1 – 36,9 cm và chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm.

Bảng 1. Ảnh hưởng tương tác của tổ hợp 3 NTDD và tổ hợp 3 chất ĐHSTTV đến sinh trưởng và ra hoa của lan *D.*Sonia 12 tháng tuổi

Nhân tố	Nghiệm thức	GHM	CDgh	Số PH	CDPH	Số hoa
DD (A)	DD1	1,2	36,6	2,1	49,3	11,0
	DD2	1,1	36,7	2,2	49,7	11,2
	DD3	1,2	36,2	2,0	48,5	10,7
ĐH (B)	ĐH1	1,1	36,9	2,2	49,9	11,4a
	ĐH2	1,2	36,4	2,1	49,1	10,8b
	ĐH3	1,1	36,1	2,0	49,2	10,7b
F(A)		ns	ns	ns	ns	ns
F(B)		ns	ns	ns	ns	*
F(AxB)		ns	ns	*	*	*
CV (%)		18,1	1,8	29,3	1,3	5,4

Với cùng nguyên tố dinh dưỡng, trong cùng một cột, các số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (*) và ns là khác biệt không ý nghĩa.

Số phát hoa bình quân đạt cao nhất ở các nghiệm thức phun riêng rẽ từng tổ hợp DD và ĐH là 2,2 (DD2 và ĐH1), cao hơn nhưng không có sự khác biệt thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, các nghiệm thức tương tác giữa tổ hợp DD x ĐH lại có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê; cụ thể, các nghiệm thức có số phát hoa bình quân cao nhất là 2,3 thuộc về 3 nghiệm thức DD1 x ĐH1, DD2 x ĐH1 và DD2 x ĐH2, cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Tương tự, chiều dài phát hoa tuy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nghiệm thức xử lý riêng rẽ từng tổ hợp DD và ĐH, nhưng khi áp dụng tổ hợp chúng với nhau thì đã có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê: Chiều dài phát hoa trung bình dài nhất là 50,5 cm (DD2 + ĐH1), kế đến là các nghiệm thức DD1 + ĐH1 (50,3 cm), DD2 + ĐH2 (50,0 cm) và DD1 + ĐH3 (49,9 cm). Mặc dù giữa 3 nghiệm thức này không có sự khác biệt nào về mặt thống kê nhưng chúng lại khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với các nghiệm thức còn lại (bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng tương tác của tổ hợp 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV đến số phát hoa, chiều dài phát hoa và số hoa của lan *D.*Sonia 12 tháng tuổi

Nghiệm thức	Số PH	CDPH	Số hoa
DD1 x ĐH1	2,3a	50,3a	11,5a
DD1 x ĐH2	2,0b	48,8b	10,5c
DD1 x ĐH3	2,0b	49,9ab	11,0bc
DD2 x ĐH1	2,3a	50,5a	11,8a
DD2 x ĐH2	2,3a	50,0a	11,3ab
DD2 x ĐH3	2,0b	48,7b	10,5c
DD3 x ĐH1	2,0b	48,8b	11,0bc
DD3 x ĐH2	2,0b	48,4b	10,8bc
DD3 x ĐH3	2,0b	48,4b	10,5c
F(AxB)	*	*	*
CV(%)	29,3	1,3	5,4

Kết quả về số hoa/phát hoa (bảng 2) ở các nghiệm thức xử lý tổ hợp chất DD khá đồng đều, bình quân 10,7 – 11,2 hoa/phát hoa và chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các nghiệm thức. Nhưng ở tổ hợp chất ĐHSTTV đã có sự khác biệt thống kê có ý nghĩa ở mức 5% giữa nghiệm thức có số hoa cao nhất là ĐH1 (11,4 hoa) và 2 nghiệm thức còn lại. Đồng thời, kết quả về sự tương tác DD x ĐH về chỉ tiêu số hoa/phát hoa (bảng 3.42) cũng chỉ ra số hoa bình quân cao nhất là 11,8 và 11,5 hoa thuộc về 2 nghiệm thức DD2 x ĐH1 và DD1 x ĐH1, cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với các nghiệm thức còn lại. Đối chiếu với kết quả thí nghiệm tổ hợp riêng 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV thì thấy kết quả này cao hơn rõ rệt (10,0 và 11,0 so với 11,75).

Khi xem xét kết quả nghiên cứu độ bền hoa cắt cành và hoa chậu (bảng 3) cho thấy: Chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nghiệm thức xử lý tổ hợp DD + ĐH, nhưng giữa chúng lại khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với đối chứng. Kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận 2 nghiệm thức luôn cho kết quả cao nhất ở cả độ bền hoa cắt cành và hoa chậu là DD1+ ĐH1 và DD2 + ĐH1; theo đó, độ bền hoa cao hơn đối chứng 10 ngày (hoa cắt cành) và 20 ngày (hoa chậu).

Tóm lại, kết quả thí nghiệm về xử lý tổ hợp 3 nguyên tố dinh dưỡng và 3 chất ĐHSTTV cho lan 12 tháng tuổi ở vườn sản xuất đã chỉ ra 2 nghiệm thức luôn cho kết quả cao nhất ở tất cả các chỉ

tiêu nghiên cứu được chọn để đưa vào thực hiện ở thí nghiệm 2 gồm: Opt1(TH1): (1250+70+40)+(20+15+3) và Opt2 (TH2):(1250+70+50)+(20+15+3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV đến độ bền hoa *D.*Sonia 12 tháng tuổi

Nghiệm thức	Lan 12 tháng	
	Hoa cắt cành (ngày)	Hoa chậu (ngày)
ĐC	16,7c	33,7b
DD1 + ĐH1	27,0ab	54,0a
DD1 + ĐH2	26,3abc	52,7ab
DD1 + ĐH3	27,3ab	52,7ab
DD2 + ĐH1	28,3a	54,3a
DD2 + ĐH2	27,3ab	53,3ab
DD2 + ĐH3	26,7ab	52,7ab
DD3 + ĐH1	26,7ab	53,0ab
DD3 + ĐH2	26,3abc	52,3ab
DD3 + ĐH3	26,3abc	52,7ab
F	**	**
CV(%)	2,7	2,1

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (**).

3.2. Đánh giá hiệu lực của số lần phun hỗn hợp 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV đối với sinh trưởng và ra hoa của lan *D.*Sonia 12 tháng tuổi

Với 4 chế độ phun khác nhau/vụ, thí nghiệm 10 sẽ bao gồm 8 nghiệm thức:

$NT_{1(TH1+ Ph4)}$ = (1250 +70+40) + (20+15+3) + Ph-4;

$NT_{2(TH1+ Ph6)}$= (1250 +70+40) + (20+15+3) + Ph-6;

$NT_{3(TH1+ Ph8)}$= (1250 +70+40) + (20+15+3) + Ph-8;

$NT_{4(TH1+ Ph10)}$= (1250+70+40) + (20+15+3)+Ph-10;

$NT_{5(TH2+ Ph4)}$ = (1250 +70+50) +(20+15+3)+ Ph-4;

$NT_{6(TH2 + Ph6)}$= (1250 +70+50) +(20+15+3)+ Ph-6;

$NT_{7(TH2 + Ph8)}$=(1250 +70+50) +(20+15+3)+ Ph-8;

$NT_{8(TH2+ Ph10)}$= (1250 +70+50) +(20+15+3)+ Ph-10.

Kết quả sau 60 ngày theo dõi (bảng 4) cho thấy:

+ Các chỉ tiêu về số giả hành mới, chiều dài giả hành, tỷ lệ ra hoa, số phát hoa, chiều dài phát hoa và số hoa/phát hoa đều chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 2 nghiệm thức TH1 và TH2. Tuy nhiên, các nghiệm thức số lần phun (Ph) đã có sự sai khác ở một số chỉ tiêu nghiên cứu, cụ thể: Số GHM đạt cao nhất là 1,9 – 2,0 (ở nghiệm thức Ph8 và Ph10), cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý ngĩa 1% so với 2 nghiệm thức còn lại.

+ Chiều dài giả hành sinh trưởng khá đồng đều và không có sự khác biệt thống kê nào giữa các nghiệm thức thí nghiệm, bình quân từ 36,5 – 36,7 cm.

+ Tỷ lệ ra phát hoa bình quân cao nhất là 91,3 % (ở nghiệm thức Ph10), không khác biệt với nghiệm thức đứng thứ nhì 87,1% (ở nghiệm thức Ph8) nhưng giữa 2 nghiệm thức này lại cao hơn và khác biệt thống kê so với các nghiệm thức còn lại ở mức ý nghĩa 1%; tỷ lệ ra phát hoa thấp nhất là 63,3% ở nghiệm thức Ph4. Đồng thời các nghiệm thức tổ hợp DD+ĐH và số lần phun cũng cho kết quả tương tác thuận về tỷ lệ ra hoa ở mức ý nghĩa 1%.

+ Chiều dài phát hoa bình quân đạt 51,7 cm ở nghiệm thức Ph10, cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại; chiều dài phát hoa thấp nhất là 48,3 cm ở nghiệm thức Ph4. Bên cạnh, sự hỗ tương giữa tổ hợp (DD+ĐH) và số lần phun (Ph) cũng cho kết quả khác biệt có ý nghĩa thống kê về chiều dài phát hoa ở mức 5% và được ghi nhận là có sự tương tác thuận giữa tổ hợp DD + ĐH và số lần phun.

+ Số hoa/phát hoa bình quân ở các nghiệm thức TH1 và TH2 đạt cao và khá đều nhau (11,0 và 11,2); trong khi nghiệm thức Ph10 có số hoa bình quân cao nhất là 11,3; kế đến là Ph8 với 11,0 hoa. Cả 2 nghiệm thức này đều cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức Ph6 (10,4 hoa) và Ph4 (9,7 hoa). Ngoài ra, các nghiệm thức tương tác TH x Ph ở chỉ tiêu số hoa cũng cho kết quả tương tác thuận ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 4. Hiệu lực của số lần phun hỗn hợp 3 NTDD và 3 chất ĐHSTTV đến sinh trưởng và ra hoa của lan *D.Sonia* 12 tháng tuổi

Nhân tố	Nghiệm thức	GHM	CDgh	TL ra PH	Số PH	CDPH	Số hoa
TH (A)	TH1	1,8	46,7	78,3	2,1	49,3	11,0
	TH2	1,8	46,5	80,5	2,2	49,7	11,2
Ph (B)	Ph4	1,5c	36,5	63,3c	1,4c	48,3c	9,7c
	Ph6	1,7b	36,7	76,4b	1,8b	50,0b	10,4b
	Ph8	1,9a	36,7	87,1ab	2,0ab	50,0b	11,0ab
	Ph10	2,0a	36,7	91,3a	2,1a	51,7a	11,3a
F(A)		ns	ns	ns	ns	ns	ns
F(B)		**	ns	**	**	**	**
F(AxB)		ns	ns	**	*	*	*
CV (%)		13,1	0,8	37,5	20,1	4,5	17,2

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (**), 5% (*) và ns là khác biệt không ý nghĩa.

Tổng hợp kết quả thí nghiệm và đối chiếu với các chi phí đầu vào của quá trình canh tác, nghiệm thức $NT3_{(TH1 + Ph8)}$ = [(1250 +70+40) + (20+15+3) + Ph-8] được đánh giá là tối ưu ở thí nghiệm này.

4. KẾT LUẬN

- Tổ hợp (TH) 3 nguyên tố dinh dưỡng và 3 chất ĐHSTTV áp dụng cho lan 12 tháng tuổi ở vườn sản xuất luôn cho kết quả cao nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu là:

TH1= (1250+70+40)+(20+15+3) và **TH2** = (1250+70+50)+(20+15+3).

- Kết quả áp dụng phân bón phân nền cùng tổ hợp (DD+ĐH) cho lan *Dendrobium* Sonia 12 tháng tuổi đã tìm ra nghiệm thức cho kết quả cao nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu với các chỉ tiêu: Số giả hành mới (2,2), chiều dài giả hành (37,0 cm), đường kính giả hành (1,18 cm), số lá/giả hành (7,3), số phát hoa/chậu (2,2), chiều dài phát hoa (51,7 cm) và số hoa/phát hoa (12,3). Kết quả này đã đáp ứng được yêu cầu sản xuất kinh doanh hoa lan công nghiệp và nghiệm thức tối ưu được tìm ra là: $[(P_{1250}+Ca_{70}+B_{40}) + (Cyt_{20}+Ntp_{15}+AbA_3) + Ph\text{-}8]$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bichsel Rebecca Gayle (2006), *Determining the nutritional requirements for optimizing flowering of the nobile Dendrobium as a potted orchid*, MSc. thesis, Texas A&M University.
2. Bichsel R. G., Starman T. W., and Wang Y. T. (2008), "Nitrogen, phosphorus, and potassium requirements for optimizing growth and flowering of the *Dendrobium nobile* as a potted orchid", *Sicence Horticulture*, (2) 328-332.
3. CBI (2007), *The cut flower and foliage market in the EU*, CBI market survey report, 1-20.
4. Chen W. S., Chang H. W., Chen W. H., and Lin Y. S. (1997), "Gibberellic acid and cytokinin affect *Phalaenopsis* flower morphology at high temperature", *Sicence Horticulture*, (32), 1069-1073.
5. Chou C. C., Chen W. S., Huang K. L., Yu H. C., and Liao L. J. (2000), "Changes in cytokinin levels of *Phalaenopsis* leaves at high temperature", *Plant Physiology and Biochemistry,* (38), 309-314.
6. Cheamuangphan A., Panmanee C., and Tanusuchat R. (2013), *Value chain analysis orchid cut flower business in Chieng Mai,* Business and Information, July 7-9.
7. Cronquist A. J. (1988), *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, Texas A&M University.
8. Department of Agricultural Extension (2015), *Statistics of Cut-Flowers and Orchid Production*, Ministry of Agriculture and Cooperatives: Bangkok, Thailand
9. Erickson, L.C. (1957), *Respiration and photosynthesis in Cattleya roots,* American Orchid Society Bulletin 26: 401-402.
10. Evans, L. T. (1975), *The physiological: basic of crop yield in crop physiology*, Some case histories, ed. L. T. Evans, Cambridge Press, London, 327-550.
11. Fanfani Alberto and Walter Rossi (1988), *Simon & Schuster's Guide to Orchids*, New York: Simon & Schuster.
12. FAO (2016), *Report: Cut flower production in Asia,* Regional Official for Asia and Pacific, Bangkok, Thailand.
13. Gladkova, V. N. (1982), "The family of orchids - Orchidaceae", *Life of Plant. 6*, Moscow, Russian, 248-275.
14. Goh C. J., and Yang A .L. (1978), "Effects of growth regulators and decapitation on flowering of *Dendrobium* orchid hybrids", *Plant Science Letters*, (12), 287 – 292.
15. Hew C.S. and Yong J. W. H. (2004), *The physiology of tropical orchids in relation to the industry*, World Scientific, 2nd edition, Singapore.
16. Leonid V.A. and Anna L.A. (2013), *Updated check list of the orchids of Vietnam*, Vietnam National University Publising House, Hanoi, p.102.
17. Matsumoto Tracie K. (2006), "Gibberellic acid and benzyladenine promote early flowering and vegetative growth of *Miltoniopsis* orchid hybrids", *Hort Science,* (41), 131-135.
18. Rodrigues D.T. (2005), *Nutrição e fertilização de orquídeas in vitro e em vasos. Viçosa, MG,* Universidade Federal de Viçosa, 13-35.
19. Wang Y. T. (1996), "Effects of six fertilizers and vegetative growth and flowering of *Phalaenopsis* orchids". *HortScience*, (65),191-197.
20. Trần Hợp (1998), *Phong lan Việt Nam*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
21. Dương Công Kiên (1993), *Những điều cần biết về hoa lan và thị trường tiêu thụ.* Trường Đại học Tự nhiên TP. Hồ Chí Minh.
22. Dương Công Kiên (2006), *Nuôi cấy mô thực vật (III).* Nxb Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP. Hồ Chí Minh.

23. Hoàng Xuân Lam (2014), *Nghiên cứu khả năng sinh trưởng, phát triển và biện pháp kỹ thuật nhằm tăng năng suất, chất lượng một số giống hoa phong lan nhập nội (Cattleya, Dendrobium và Oncidium) cho miền Bắc Việt Nam*, Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.

24. Nguyễn Xuân Linh (2002), *Kỹ thuật trồng hoa cây cảnh,* Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, 91-109.

25. Vũ Thị Quyền, Lê Tường Bình và Nguyễn Đăng Nghĩa (2011), "Nghiên cứu ảnh hưởng hỗ tương của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trên một số nền phân bón đối với sự sinh trưởng và phát triển của lan *D.sonia"*, *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, (13), 42-46.

26. Đỗ thị Lịch Sa (2012), *Ảnh hưởng của nồng độ BA (6-benzyladenine) và quy trình bón phân đến quá trình ra hoa của D.sonia*, Luận văn thạc sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông lâm TP. Hồ Chí Minh.

27. Lê Văn Tri (1997), *Hỏi đáp về các chế phẩm điều hòa sinh trưởng thực vật tăng năng suất cây trồng*, Nxb Nông nghiệp,TP. Hồ Chí Minh.

28. Trịnh Cẩm Tú, Bùi Trang Việt (2006), "Vai trò của chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong sự phát triển của phát ho*a D.* Sonia". *Tạp chí Khoa học Kĩ thuật Nông Lâm nghiệp*,(1),24 – 28.

29. Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch và Trần Văn Phẩm (2000), *Sinh lý thực vật*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.

30. Vũ Văn Vụ (1999), *Sinh lý thực vật ứng dụng*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.

31. Dương Hoa Xô và Nguyễn Đăng Nghĩa (2008), *Nghiên cứu ứng dụng một số biện pháp kĩ thuật mới để phát triển mô hình sản xuất hai nhóm hoa lan Dendrobium và Mokara*, Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh.

32. Vũ Văn Yến (1996), *Trồng lan sau ống nghiệm: Nhóm lan nhiệt đới và cận nhiệt đới,* Nxb Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh.

EFFECTS OF INTERACTIONS BETWEEN 3 NUTRITIONAL ELEMENTS (P, Ca and B) AND 3 PLANT GROWTH REGULATORS (Cyt, Ntp, ABA) ON THE GROWTH AND BLOOM FLOWERS OF *Dendrobium* Sonia 12 MONTHS

ABSTRACT

The result of the study on the effects of a mixture of three nutrient elements (P, Ca and B) and three plant growth regulators (Cyt, Ntp, AbA) on growth and flowering of *Dendrobium* Sonia 12 month old in the production garden has shown that: The combination of 3 nutritional elements and 3 plant growth regulators which applied to *Dendrobium* Sonia 12 months old in the production garden always showed the highest results in all research indicators TH1 (P + Ca + B + Cyt + Ntp + B) = (1250 + 70 + 40) + (20 + 15 + 3) and TH2 =(1250+70+50) + (20 + 15 + 3).

The results of fertilizer applied in combination with (DD+ĐH) and number of sprays for *Dendrobium* Sonia orchid 12 month old showed the highest results in all research indicators: Number of new pseudobulls (2,2 cm), length of pseudorabies (37.0 cm), pseudorange diameter (1.18 cm), number of leaves / pseudobulb (7.3), number of flowers / flower length (51.7 cm) and flower number (12.3 flowers). This result satisfies the requirements of commercial orchid production and the optimal treatment is found is [(P1250 + Ca70 + B40) + (Cyt20 + Ntp15 + AbA3 + Ph-8].

Keywords: Nutrients (Phosphorus - P, Calcium - Ca, Bo - B), plant growth regulators (Cytokinin - Cyt, Nitrophenol - Ntp, Absiclic acid - AbA), *Dendrobium sonia (D.sonia),* new pseudobulb, pseudobulb length, flowering, inflorescence.

ẢNH HƯỞNG CỦA NACl TỚI SINH TRƯỞNG, HÀM LƯỢNG DIỆP LỤC, NƯỚC LIÊN KẾT VÀ PROLINE Ở BỐN GIỐNG NGÔ CÓ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN KHÁC NHAU

Điêu Thị Mai Hoa*, Nguyễn Thị Kim Nhung
Đại học sư phạm Hà Nội
**Email: hoadtm@hnue.edu.vn*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng chịu mặn của bốn giống ngô LVN17, LVN092, LVN146 và LVN885 thông qua sự biến đổi hình thái lá. Đánh giá các chỉ tiêu liên quan đến tính chịu mặn bao gồm: sinh trưởng, hàm lượng diệp lục tổng số, diệp lục liên kết, nước liên kết và proline trong lá cây trồng trong điều kiện mặn so với điều kiện thường. Kết quả nghiên cứu cho thấy, giống LVN092 có khả năng chịu mặn khá, LVN885 chịu mặn trung bình, LVN17 và LVN146 mẫn cảm với mặn. Sau 10 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn, hàm lượng diệp lục tổng số và diệp lục liên kết trong lá cây của giống chịu mặn bị giảm ít hơn trị số này các giống mẫn cảm với mặn. Đặc biệt là, ở nồng độ NaCl 75 và 100 mM hàm lượng diệp lục liên kết trong lá giống chịu mặn cao hơn hẳn giống mẫn cảm mặn. Hàm lượng nước liên kết trong lá tăng lên khi cây ngô sinh trưởng ở điều kiện mặn. Những giống có khả năng chịu mặn có hàm lượng nước liên kết trong lá cao hơn so với giống mẫn cảm với mặn. Giống chịu mặn trung bình LVN885 có hàm lượng nước liên kết trong lá so với đối chứng tăng mạnh nhất ở công thức NaCl 50 mM, sau đó trị số này giảm dần ở các công thức NaCl 75 và 100 mM. Cả 4 giống đều có lượng nước liên kết so với đối chứng suy giảm ở công thức NaCl 100 mM. Hàm lượng proline ở lá ngô tăng mạnh khi cây bị mặn, nhưng không có sự tương quan giữa sự tích lũy proline trong lá với khả năng chịu mặn của các giống ngô nghiên cứu. Ngoại trừ giống LVN146, ba giống còn lại có hàm lượng proline trong lá tăng tỷ lệ thuận với sự tăng độ mặn trong các công thức NaCl 50, 75 và 100 mM.

Từ khóa: diệp lục, proline, sinh khối, tính chịu mặn, *Zea mays*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngô (*Zea mays* L.) là cây ngũ cốc có vai trò đặc biệt quan trọng. Theo thống kê của Cục Xúc tiến thương mại (2016) [1], ở Việt Nam, sản lượng ngô năm 2016 ước tính đạt 5,98 triệu tấn nhưng tổng lượng tiêu thụ ước tính lên tới 11,74 triệu tấn. Điều đó cho thấy, nhu cầu sử dụng ngô nước ta rất lớn. Trước tình hình biến đổi khí hậu như hiện nay, trong đó có hạn hán và xâm nhập mặn ngày càng ở mức độ nghiêm trọng, việc thay đổi cơ cấu cây trồng ở những vùng nhiễm mặn hoặc nguy cơ nhiễm mặn là cần thiết, mở rộng diện tích cây trồng cạn có khả năng chịu mặn tốt trong đó có cây ngô có ý nghĩa thực tế rất quan trọng.

Nghiên cứu đánh giá khả năng chịu mặn của ngô có thể thực hiện ở giai đoạn nảy mầm, giai đoạn cây con hoặc giai đoạn ra hoa… các chỉ tiêu như khả năng nảy mầm của hạt, sinh trưởng của mầm đã được sử dụng làm tiêu chí để đánh giá, phân loại khả năng chịu mặn (Khodarahmpour *et al*, 2012) [2], Hoque *et al*. 2015) [3]. Trong một nghiên cứu khác của Abd El-Ghady *et al.* (2015) [4] thực hiện ở giai đoạn cây con lại sử dụng các thông số chiều cao cây, diện tích lá, hàm lượng diệp lục a và b khi nghiên cứu ảnh hưởng của mặn đến cây ngô. Một số enzyme chống oxy hóa như catalase, peroxidase được đề cập đến như là những chỉ tiêu hóa sinh trong đánh giá đáp ứng của ngô với điều kiện mặn (Saddique *et al.* 2016) [5]. Những biến đổi về hình thái lá, các chỉ tiêu như khối lượng khô của thân, rễ, chiều cao cây, hoạt độ nitrate reductase và phosphoenolpyruvate carboxylase

đều là những tiêu chí quan trọng được sử dụng trong nghiên cứu tác động của mặn đến cây ngô (Faustino *et al.* 2000) [6].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng chịu mặn của 4 giống ngô, so sánh các chỉ tiêu hàm lượng diệp lục, nước liên kết, amino acid proline trong lá cây khi bị nhiễm mặn giữa các giống chịu mặn và mẫn cảm với mặn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng 4 giống ngô lai do Viện nghiên cứu ngô cung cấp: LVN17, LVN146, LVN092 và LVN885, các giống này đều được công nhận là giống quốc gia, xong chưa được nghiên cứu về khả năng chịu mặn. Giống LVN17 có năng suất 10 – 12 tấn/ha, chịu hạn, chịu rét, chống đổ tốt, ít sâu bệnh; LVN146 có năng suất 8 – 12 tấn/ha, bắp to, cùi nhỏ, chịu hạn tốt, kháng bệnh, thích nghi rộng; LVN092 có năng suất 8 – 12 tấn/ha, chịu hạn tốt, bắp to, khả năng thích ứng rộng và LVN885 có năng suất 7 – 10 tấn/ha, chịu hạn tốt, kháng bệnh, thích nghi rộng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm trồng cây trong chậu: Sử dụng tấm xốp đục lỗ, mặt tiếp xúc với dung dịch có bịt lưới để hạt không bị rơi xuống, đặt tấm xốp vừa vào khay nhựa kích thước 20 x 30 x 50 (cm). Lựa chọn hạt giống tốt, đem ngâm trong nước cất nhiệt độ khoảng 45^{o}C, trong 24 giờ trước khi gieo. Mỗi ô trong tấm xốp gieo một hạt. Cho vào mỗi khay nhựa chứa 2,5 lít dung dịch Knop với công thức không chứa NaCl (đối chứng, ĐC) hoặc chứa NaCl ở các nồng độ 50, 75 hoặc 100 mM. Các khay đã trồng cây đem đặt trong điều kiện tự nhiên, nơi có ánh sáng chiếu đồng đều (Hình 1), dung dịch dinh dưỡng được thay sau mỗi ba ngày.

Khối lượng khô và chiều cao cây: Sau khi gieo 15 ngày thì thu mẫu, chiều cao cây được đo bằng thước mm, đo từ cổ rễ đến đỉnh ngọn. Sấy mẫu cây ngô ở nhiệt độ 105^{o}C đến khi khối lượng không đổi, cân mẫu bằng cân phân tích.

Hình 1. Bố trí thí nghiệm trồng cây ngô trong khay nhựa

Đánh giá khả năng chịu mặn theo Faustino et al. (2000) [6]: Sử dụng NaCl 75 mM pha trong dung dịch dinh dưỡng Knop, hình thái lá được quan sát ở thời điểm 15 ngày sau khi gieo hạt. Thí nghiệm lặp lại 3 lần, 35 cây/1 lần nhắc lại. Thang đánh giá khả năng chịu mặn của ngô theo Faustio *et al*. được trình bày ở bảng 1.

Các chỉ tiêu sinh lý và hóa sinh: Thu mẫu lá và xác định các chỉ tiêu này ở thời điểm 10 ngày sau khi gieo hạt. Hàm lượng diệp lục tổng số và diệp lục liên kết bằng phương pháp so màu, tính

theo phương trình Wetstein, được mô tả theo Nguyễn Duy Minh và Nguyễn Như Khanh (1982) [7]. Xác định hàm lượng proline theo phương pháp của Bates theo mô tả của Nguyễn Văn Mã và cs (2013) [8]. Xác định hàm lượng nước liên kết bằng cách ngâm mẫu lá trong dung dịch saccharose 30%, theo mô tả của Nguyễn Văn Mã và cs (2013) [8].

Bảng 1. Thang đánh giá khả năng chịu mặn ở giai đoạn cây con (Faustio *et al,* 2000)

Điểm	Mô tả	Mức chống chịu
1	Không thấy các tổn thương, cây khỏe mạnh không còi cọc hoặc héo	Chống chịu tốt
2	Các lá già bị cuộn lại	Chống chịu khá
3	Ngọn và mép lá già bị hoại tử hoặc úa	Chống chịu trung bình
4	Lá già bị hoại tử hoặc úa	Tương đối mẫn cảm
5	Sinh trưởng chậm, úa hoặc hoại tử cả lá già và lá non, một số cây chết	Mẫn cảm

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá khả năng chịu mặn của ngô theo hình thái lá

Sau 15 ngày trồng cây trong điều kiện mặn, tiến hành đánh giá khả năng chịu mặn của các giống thông qua cho điểm cấp độ hại dựa vào sự thay đổi hình thái lá ở Bảng 1. Bảng 2 ghi lại kết quả theo dõi ở công thức có nồng độ muối NaCl 75 mM với những biến đổi rõ rệt về đặc điểm hình thái lá giữa các giống thí nghiệm.

Bảng 2. Khả năng chịu mặn của các giống ngô sau 15 ngày trồng trong dung dịch NaCl 75 mM

Giống	Kết quả đánh giá
LVN17	Mẫn cảm
LVN092	Chịu mặn khá
LVN146	Mẫn cảm
LVN885	Chịu mặn trung bình

Quan sát thực nghiệm cho thấy, cây thuộc giống LVN146 và LVN17 tăng trưởng chậm, lá úa hoặc cuộn lại ở lá già và cả một số lá non, lá hoại tử trên diện rộng, một số cây chết. Giống LVN092 ít bị ảnh hưởng nhất, triệu chứng quan sát được chủ yếu là các lá già bị cuộn lại. Giống LVN885 cũng có triệu trứng cuộn lá, mép lá bị héo, vết hoại tử quan sát thấy ở một số ngọn lá (Hình 2).

3.2. Sinh trưởng của cây ngô trong điều kiện mặn

Khối lượng khô của cây ngô

Bảng 3 cho thấy, sau thời gian gây mặn 15 ngày ở công thức NaCl 50 Mm, có sự suy giảm sinh khối khô của cây so với đối chứng ở ba giống LVN092, LVN146 và LVN885. Ở các công thức NaCl 75 và 100 mM, % khối lượng khô của cây so với đối chứng ở hai giống LVN17 và LVN146 thấp hơn hai giống còn lại. Giống LVN092 sinh trưởng tốt nhất, sinh khối khô của cây đạt 73,4% so với đối chứng ở công thức NaCl 100 mM. Kết quả này cũng phù hợp với phân loại khả năng chịu mặn như đã trình bày ở Bảng 2.

Trong nghiên cứu của Faustino *et al.* (2000) [6], khi so sánh một số chỉ tiêu sinh trưởng của của 4 giống ngô Pi 11, Pi 21, Pi 31 và SMCE 21-28, sau 14 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn (nồng độ NaCl 100 mM) cho kết quả khối lượng khô thân và rễ suy giảm 33 – 45 % ở hai giống chịu mặn (Pi 21 và Pi 31), và suy giảm tới 70 % ở hai giống mẫn cảm mặn (Pi 11 và SMCE 21-28).

Bảng 3. Khối lượng khô của cây ngô sau 15 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn (g/cây)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75 mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	0,417[a] ±0,014	0,372[a] ±0,013	**89,2**	0,304[a*] ±0,006	**72,9**	0,254[b*] ±0,005	**60,9**
LVN092	0,418[a] ±0,022	0,364[a*] ±0,013	**86,9**	0,341[b*] ±0,007	**81,4**	0,317[c*] ±0,080	**73,4**
LVN146	0,403[a] ±0,021	0,343[a*] ±0,013	**85,2**	0,299[a*] ±0,010	**74,1**	0,213[a*] ±0,016	**52,9**
LVN885	0,399[a] ±0,011	0,350[a*] ±0,013	**87,7**	0,338[b*] ±0,007	**84,8**	0,283[b*] ±0,008	**70,9**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC (P < 0,05).

Hình 2. Hình thái lá của 4 giống ngô sau 15 ngày sinh trưởng trong NaCl 75 mM

Chiều cao cây ngô

Ở công thức NaCl 75 mM, chiều cao cây của các giống giảm mạnh, mạnh nhất ở giống LVN146, chỉ còn 65,0% so với đối chứng. Các giống còn lại có mức độ suy giảm chiều cao tương

đương nhau, đạt 72,2 – 76,0% so với đối chứng. Sinh trưởng chiều cao cây của tất cả bốn giống nghiên cứu bị ảnh hưởng nghiêm trọng khi trồng trong dung dịch có nồng độ NaCl 100 mM, mặc dù vậy cây giống LVN092 vẫn duy trì sinh trưởng chiều cao cây tốt hơn rõ rệt so với cây giống LVN17 và LVN146.

Bảng 4. Chiều cao cây ngô sau 15 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn (cm/cây)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75 mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	$34,93^{ab}$ ±1,27	$31,50^{b}$ ±0,99	**90,2**	$26,11^{b*}$ ±1,18	**74,7**	$19,13^{a*}$ ±0,91	**54,8**
LVN092	$37,17^{ab}$ ±1,96	$31,37^{b*}$ ±0,84	**84,4**	$26,83^{b*}$ ±0,96	**72,2**	$24,11^{b*}$ ±0,81	**64,9**
LVN146	$32,57^{a}$ ±1,16	$26,23^{a*}$ ±1,07	**80,6**	$21,17^{a*}$ ±1,01	**65,0**	$17,80^{a*}$ ±1,06	**54,7**
LVN885	$40,10^{b}$ ±2,05	$38,80^{c}$ ±1,59	**96,8**	$30,47^{b*}$ ±1,19	**76,0**	$23,28^{b*}$ ±1,17	**58,1**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC (P < 0,05).

Trong nghiên cứu của Faustino *et al*. (2000), sau 14 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn với nồng độ NaCl 100 mM, chiều cao cây hai giống chịu mặn (Pi 21 và Pi 31) giảm 67,1 – 79,99%, hai giống mẫn cảm mặn (Pi 11 và SMCE 21-28) giảm tới 50% so với đối chứng [6].

3.3. Hàm lượng diệp lục trong lá

Hàm lượng diệp lục tổng số

Hàm lượng diệp lục có ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động quang hợp và khả năng tích lũy chất khô của cây, hàm lượng diệp lục cao và hoạt động bền vững là điều kiện cần thiết cho quang hợp đạt hiệu quả tốt. Trong kết quả ở bảng 5, vào thời điểm 10 ngày khi cây được trồng trong dung dịch có nồng độ NaCl 50 mM, hàm lượng diệp lục tổng số trong lá của các giống LVN092 và LVN885 ít suy giảm hơn so với hai giống mẫn cảm mặn. Hàm lượng diệp lục trong lá cây giống LVN17 tiếp tục suy giảm mạnh ở các công thức có nồng độ NaCl cao hơn. Ở dung dịch có nồng độ NaCl 100 mM, hàm lượng diệp lục của cả cây giống chịu mặn khá và chịu mặn trung bình đều bị ảnh hưởng mạnh.

Bảng 5. Ảnh hưởng của mặn đến hàm lượng diệp lục tổng số trong lá (mg/g lá tươi)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75 mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	$2,853^{b}$ ±0,099	$2,206^{ab*}$ ±0,109	**77,3**	$1,822^{a*}$ ±0,014	**63,8**	$1,781^{b*}$ ±0,016	**62,4**
LVN092	$2,635^{ab}$ ±0,059	$2,307^{b*}$ ±0,049	**87,6**	$2,014^{b*}$ ±0,056	**76,4**	$1,807^{b*}$ ±0,031	**68,6**
LVN146	$2,472^{a}$ ±0,047	$1,934^{a*}$ ±0,033	**78,3**	$1,869^{a*}$ ±0,014	**75,6**	$1,645^{a*}$ ±0,033	**66,6**
LVN885	$2,699^{ab}$ ±0,116	$2,480^{b}$ ±0,076	**91,9**	$2,005^{b*}$ ±0,030	**74,3**	$1,796^{b*}$ ±0,022	**66,5**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC (P < 0,05).

Nghiên cứu ảnh hưởng của mặn đến hai giống ngô ở các nồng độ NaCl 100, 200, 300, 400 mM của Cha-um và Kirdmanee (2009) [9] cho thấy, hàm lượng diệp lục tổng số của lá cây hai giống ngô Saccharata và Ceratina ở công thức NaCl 100 mM chỉ đạt 72% so với đối chứng. Nghiên cứu ở loài cây khác khi bị mặn cũng cho thấy, hàm lượng diệp lục tổng số giảm nhanh ở nồng độ NaCl 50 mM, chẳng hạn hàm lượng diệp lục tổng số của đại mạch (*Hordeum vulgare*) chỉ đạt 75% so với đối chứng (Movafegh *et al.,* 2012) [10].

Hàm lượng diệp lục liên kết

Kết quả xác định hàm lượng diệp lục liên kết trong lá ngô được trình bày ở bảng 6. Ở công thức NaCl 50 mM, hàm lượng diệp lục liên kết trong lá cây của các giống nghiên cứu còn duy trì ở mức cao (88,6-93,1% so với đối chứng). Ở công thức NaCl 75 và 100 mM, sự suy giảm hàm lượng diệp lục liên kết trong lá cây thể hiện rõ rệt, nhưng giống LVN885 và LVN092 bị ảnh hưởng ít hơn hai giống mẫn cảm LVN17 và LVN146.

Bảng 6. Ảnh hưởng của mặn đến hàm lượng diệp lục liên kết trong lá (mg/g lá tươi)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75 mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	0,659^{a} ±0,016	0,608^{a} ±0,031	**92,4**	0,508^{a*} ±0,013	**77,1**	0,435^{a*} ±0,012	**66,0**
LVN092	0,661^{a} ±0,022	0,616^{a} ±0,025	**93,1**	0,556^{b*} ±0,008	**84,1**	0,491^{b*} ±0,013	**74,3**
LVN146	0,648^{a} ±0,014	0,573^{a} ±0,029	**88,6**	0,507^{a*} ±0,011	**78,4**	0,428^{a*} ±0,017	**66,0**
LVN885	0,667^{a} ±0,025	0,592^{a*} ±0,023	**88,8**	0,554^{b*} ±0,009	**83,2**	0,506^{b*} ±0,014	**76,0**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC ($P < 0,05$).

Trong một nghiên cứu khác về cây lạc (*Arachis hypogea*) của Nguyễn Tấn Lê và Vũ Đình Ngàn (2010) [11], các tác giả cũng xác định được tỷ lệ diệp lục liên kết ở lá cây lạc giống lạc giấy Đồng Nai, sinh trưởng trong điều kiện nóng hạn (tại Đà Nẵng) đạt 75,43%, khi bón bổ sung $CaCl_2$ và/hoặc tổ hợp các nguyên tố vi lượng (Mn, Cu, B) tỷ lệ diệp lục liên kết có thể tăng thêm 14,21 – 18,08%.

3.4. Hàm lượng nước liên kết

Nước liên kết giúp duy trì sự ổn định của hệ thống keo nguyên sinh chất, có ý nghĩa quan trọng đối với tính chống chịu của cây, hàm lượng nước liên kết tăng lên là một phản ứng tích cực trong điều kiện bất lợi, nguyên nhân tăng hàm lượng nước liên kết có liên quan đến việc tế bào tăng cường tổng hợp một số chất hữu cơ ưa nước như proline, glycine betain, protein LEA (Late Embryogenesis Abudent)… để giữ nước của tế bào và đồng thời duy trì áp suất thẩm thấu (Nguyễn Văn Mã, 2015) [12].

Sự khác biệt về hàm lượng nước liên kết trong lá giữa các giống thể hiện rõ rệt ngay ở công thức NaCl 50 mM, hàm lượng nước liên kết trong lá đạt 129,9% và 131,6% so với đối chứng ở hai giống LVN092 và LVN885, cao hơn so với hai giống LVN17 và LVN146. Hàm lượng nước liên kết trong lá cây các giống nghiên cứu sinh trưởng trong điều kiện NaCl 75 mM, vẫn duy trì ở mức cao 118,9 – 131,9% so với đối chứng.

Bảng 7. Ảnh hưởng của mặn đến hàm lượng nước liên kết trong lá (%)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75 mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	29,00^{ab} ±1,05	34,05^{a*} ±1,00	**117,4**	36,48^{b*} ±1,09	**125,8**	32,40^{a} ±0,74	**111,7**
LVN092	30,83^{ab} ±0,98	40,03^{b*} ±1,26	**129,9**	40,65^{b*} ±1,55	**131,9**	37,50^{b*} ±1,03	**121,7**
LVN146	26,95^{a} ±1,04	31,53^{a*} ±1,13	**117,0**	32,05^{a*} ±0,73	**118,9**	29,35^{a} ±1,08	**108,9**
LVN885	31,85^{b} ±1,01	41,90^{b*} ±1,28	**131,6**	38,72^{b*} ±1,09	**121,6**	36,90^{b*} ±0,85	**115,9**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC (P < 0,05).

Nghiên cứu của Gao *et al.* (2016) [13] với dòng ngô chịu mặn TL1317 và dòng mẫn cảm mặn SL1303, các cây ngô 3 lá được trồng trong dung dịch NaCl 150 mM. Kết quả cho thấy, sau 5 ngày gây mặn hàm lượng nước liên kết trong lá ở giống SL1030 là 20%, giống TL1317 là 90%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, giống chịu mặn khá LVN092 có hàm lượng nước liên kết tới 121,7% so với đối chứng ở công thức NaCl 100 mM.

3.5. Hàm lượng proline trong lá

Proline là amino acid có tính ưa nước, tham gia điều chỉnh áp suất thẩm thấu của tế bào, bảo vệ màng và chống lại ảnh hưởng bất lợi của sự tập trung cao các ion vô cơ. Sự tích lũy proline là một đáp ứng hóa sinh quan trọng khi cây gặp điều kiện cung cấp nước khó khăn, đặc biệt là stress muối (Nguyễn Văn Mã, 2015) [12]. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, khi cây ngô sinh trưởng trong điều kiện mặn, hàm lượng proline trong lá tăng mạnh so với khi sinh trưởng trong điều kiện thường (Bảng 8). Ở công thức NaCl 50 mM, % hàm lượng proline so với đối chứng của tất cả các giống đều tăng, sau đó tiếp tục tăng ở công thức NaCl 75 mM. Ở Công thức NaCl 100 mM, ngoại trừ giống LVN146 có xu hướng giảm, ba giống còn lại có hàm lượng proline tiếp tục tăng so với đối chứng đạt mức 174,3 – 181,6%.

Bảng 8. Ảnh hưởng của mặn đến hàm lượng proline trong lá ngô (µg/g lá tươi)

Giống	ĐC	NaCl 50 mM	% ĐC	NaCl 75mM	% ĐC	NaCl 100 mM	% ĐC
LVN17	1,487^{a}± 0,059	2,223^{a*}± 0,080	**149,5**	2,325^{a*}± 0,093	**156,4**	2,663^{b*}± 0,087	**179,1**
LVN092	1,923^{b}± 0,055	3,138^{b*}± 0,158	**163,2**	3,607^{c*}± 0,126	**187,6**	3,493^{c*}± 0,108	**181,6**
LVN146	1,553^{a}± 0,068	2,479^{a*}± 0,076	**159,6**	2,731^{b*}± 0,099	**175,9**	2,313^{a*}± 0,083	**148,9**
LVN885	2,242^{c}± 0,087	3,211^{b*}± 0,104	**143,2**	3,941^{c*}± 0,072	**175,8**	3,908^{d*}± 0,070	**174,3**

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái (a, b, c…) giống nhau thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, dấu (*) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa công thức TN và ĐC (P < 0,05).

Kết quả nghiên cứu của Cha-Um và Kirdmanee (2009) [9] cho thấy, dưới ảnh hưởng của mặn, hàm lượng proline trong lá hai giống ngô nghiên cứu có xu hướng tăng tỷ lệ thuận với độ mặn, ở nồng độ NaCl 400 mM, giống Saccharata có hàm lượng proline trong lá đạt 367% so với đối chứng, giống Ceratina có hàm lượng proline trong lá đạt 286% so với đối chứng.

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 8 cho thấy, mặc dù ở tất cả các công thức gây mặn, hàm lượng proline trong lá ngô đều tăng rõ rệt, tuy nhiên sự tăng hàm lượng proline không thể hiện tương quan với khả năng chịu mặn của các giống ngô nghiên cứu.

4. KẾT LUẬN

Dựa vào sự thay đổi hình thái lá của bốn giống ngô khi sinh trưởng trong điều kiện mặn, đánh giá được giống LVN092 có khả năng chịu mặn khá, LVN885 chịu mặn trung bình, LVN17 và LVN146 mẫn cảm với mặn. Sinh khối khô và chiều cao cây của hai giống chịu mặn cao hơn rõ rệt so với hai giống mẫn cảm mặn.

Ở các giống chịu mặn, sau 10 ngày sinh trưởng trong điều kiện mặn với nồng độ NaCl khác nhau, hàm lượng diệp lục tổng số, diệp lục liên kết ít bị suy giảm hơn so với ở các giống mẫn cảm với mặn. Đặc biệt là, ở nồng độ NaCl 75 và 100 mM hàm lượng diệp lục liên kết trong lá giống chịu mặn cao hơn hẳn giống mẫn cảm mặn.

Hàm lượng nước liên kết trong lá tăng lên khi cây ngô sinh trưởng trong điều kiện mặn. Những giống có khả năng chịu mặn LVN092 và LVN885 có hàm lượng nước liên kết cao hơn những giống mẫn cảm mặn LVN146 và LVN17. Giống chịu mặn trung bình LVN885 có hàm lượng nước liên kết trong lá so với đối chứng tăng mạnh nhất ở công thức NaCl 50 mM, sau đó trị số này giảm dần ở các công thức NaCl 75 và 100 mM. Cả 4 giống đều có lượng nước liên kết so với đối chứng suy giảm ở công thức NaCl 100 mM.

Hàm lượng proline ở lá ngô tăng mạnh khi cây bị trồng trong điều kiện mặn, tuy nhiên không thấy có sự tương quan giữa mức độ tích lũy proline trong lá với khả năng chịu mặn của các giống ngô nghiên cứu. Ngoại trừ giống LVN146, ba giống còn lại có hàm lượng proline trong lá tăng tỷ lệ thuận với sự tăng độ mặn trong các công thức NaCl 50, 75 và 100 mM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục xúc tiến thương mại (2016), *Tình hình sản xuất mặt hàng ngô của Việt Nam năm 2016 và dự báo năm 2017*, http://www.vietrade.gov.vn.
2. Khodarahmpour Z., Ifar M., Motamedi M., (2012), "Effects of NaCl salinity on maize (*Zea mays* L.) at germination and early seadling stage", *African J. of Biol.* Vol 11(2), pp. 298-304.
3. Hoque M. M., Jun. Z., Guoying W. (2015), "Evaluation of salinity tolerance in maize genotypes at seedling stage", *J. BioSci. Biotechnol*, Vol. 4(1), pp. 39-49.
4. Abd El-Ghady TM., Masrahi YS. Mohamed A., Al A., Alawlaqui MM., Nadeem IE., (2015), "Maize (Zea mays L.) growth and metabolic dynamics with plant growth promoting Rhizobacteria under salt stress", *J. Plant Pathol Microb*., Vol 6(9), pp. 1-9.
5. Saddique Z., Javeria S., Khalid H., Farooq A., (2016), "Effect of salt stress on growth and antoxidant enzymes in two cultivars of maize (*Zea mays* L.). *Park. J. Bot*. Vol 48(4), pp. 1361-1370.
6. Faustino F. C., Garcia R. N., Agtarap M. L.,Tecson-Mendoza E. M., Herman Lips S. (2000), "Salt tolerance in Corn: Growth Responses, Ion Accumulation, Nitrate Reductase and PEP-Carboxylase Activities", *Crop Science Society of Philippines*, Vol. 25(1), pp. 17-26.
7. Nguyễn Duy Minh, Nguyễn Như Khanh (1982), *Thực hành sinh lý học thực vật*, Nxb Giáo dục, Hà Nội, tr.115-152.

8. Nguyễn Văn Mã, La Việt Hồng, Ong Xuân Phong (2013), *Phương pháp nghiên cứu sinh lý học thực vật*, Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, tr. 94-97.

9. Cha-Um S., Kirdmanee C. (2009), "Effect of salt stress on proline accumulation photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars", *Pak. J. Bot,* Vol.41(1), pp. 87-98.

10. Movafegh S., Jadid R.R., Kiabi S. (2012), "Effect of salinity stress on chlorophyll content, proline, water soluble carbohydrate, germination, growth and dry weight of three seedling barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars", *Journal of stress Physiology & Biochemistry,* 8(4), 157-168.

11. Nguyễn Tấn Lê, Vũ Đình Ngàn (2010), "Nghiên cứu đời sống của cây lạc (*Arachis hypogea* L.) trong điều kiện nóng hạn ở vụ hè tại Đà Nẵng, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng, 5(40), tr.117-124

12. Nguyễn Văn Mã (2015), Sinh lý chống chịu điều kiện môi trường bất lợi của thực vật, Nxb Đại học quốc gia Hà Nội, 361 trang.

13. Gao Y., Lu Y, Wu M., Liang E.,Li Y., Zhang D.,Yin Z,Renb X.,Dai Y., Deng D., Chen J., (2016), "Ability to Remove Na^+ and Retain K^+ Correlates with Salt Tolerance in Two Maize Inbred Lines Seedlings", Front Plant Sci. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5110517/

EFFECT OF NACL ON GROWTH AND CONTENT OF CHLOROPHYLLS, BINDING CHLOROPHYLL CONTENT, RELATIVE ASSOCIATED-WATER AND PROLINE IN FOUR MAIZE CULTIVARS DIFFERING SALT TOLERANCE ABILITIES

SUMMARY

In this study, we assessed salinity tolerance of four maize varieties LVN17, LVN092, LVN146 and LVN885 through leaf morphology. To assess the variability of salinity tolerance parameters, including total chlorophyll content, binding chlorophyll, relative water content and proline content in maize. As a result, LVN092 was relatively tolerant to salinity, LVN885 was moderately tolerant, LVN17 and LVN146 were sensitive to salinity. After 10 days growing in NaCl solution, total chlorophyll content in leaves, binding chlorophyll content in leaves was less affected than saline sensitive varieties. In particular, at concentrations of 75 and 100 mM NaCl, the associated - chlorophyll content in leaf of the salinity-tolerant seedlings was higher than those of the sensitive varieties. Relative water content in the leaves increased when maize was grown in saline solution, the better tolerant varieties had higher relative water content in leaves. The moderately tolerant LVN885 had the highest relative water content in leaves compared with the control when growing in 50 mM NaCl solution, which was then reduced in the NaCl 75 and 100 mM formulations. Four varieties had the water relative content in leaves decreased when growing in NaCl 100 mM solution. Proline content in maize leaves increased sharply when maize were grown in salt stress condition, but the rule was not recorded in salt tolerant varieties and sensitive varieties. Except for LVN146, the other three varieties showed increasing proline content in the leaves in proportion to the salinity increase from 50, 75 and 100 mM NaCl.

Key words: biomass, chlorophyll, proline, salt tolerance, *Zea mays.*

ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG ĐƠN SẮC TỪ ĐÈN LED ĐẾN KHẢ NĂNG TÁI SINH VÀ BẢO TỒN *IN-VITRO* CÂY LÚA HOANG (*Oryza rufipogon* L.)

Đinh Cát Điềm, Bùi Minh Trí
Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông lâm Tp. HCM.
Email: buiminhtri@gmail.com

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của các cường độ và tỷ lệ ánh sáng đơn sắc bằng đèn LED đến khả năng tái sinh và bảo tồn *in vitro* lúa hoang (*Oryza rufipogon* L.). Thí nghiệm được tiến hành với ba tỷ lệ ánh sáng đơn sắc (100% LED đỏ, 50% LED đỏ: 50% LED xanh dương, 75% LED đỏ: 25% LED xanh dương) và bốn cường độ chiếu sáng (200, 400, 600 và 800 lux). Thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại. Một nghiệm thức sử dụng đèn huỳnh quang ở cường độ chiếu sáng 2.000 lux được sử dụng làm đối chứng. Kết quả cho thấy việc sử dụng đèn LED với hai màu đỏ và xanh dương cây lúa vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường trong suốt quá trình nuôi cấy. Tỷ lệ 50% đèn LED đỏ kết hợp 50% đèn LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 600 lux cho khả năng tái sinh chồi bất định tốt nhất. Từ kết quả của nghiên cứu này cho phép tái sinh *in vitro* cây lúa hoang được hiệu quả hơn và giúp tiết kiệm điện năng lớn nếu bảo tồn *in vitro* trong thời gian lâu dài.

Key words: *Oryza rufipogon* L., lúa hoang, nuôi cấy mô, phát sinh hình thái, bảo tồn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự sinh trưởng và phát triển của thực vật phụ thuộc vào nguồn năng lượng của ánh sáng. Qua quá trình quang hợp, cây đã biến đổi năng lượng ánh sáng thành hóa năng cung cấp cho toàn bộ sự sống trên trái đất. Thông qua sự thay đổi chế độ chiếu sáng cho cây trồng, chúng ta có thể làm thay đổi không chỉ khả năng quang hợp của thực vật mà còn ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của cây, điều khiển sự phát sinh hình thái, sự ra hoa, năng suất và phẩm chất của cây. Trong các tiến bộ khoa học gần đây, nguồn chiếu sáng đơn sắc từ đèn LED (Light Emitting Diode) cung cấp nhiều cơ hội để các nhà nghiên cứu có thể tìm hiểu được phản ứng ánh sáng của thực vật ở các chế độ chiếu sáng khác nhau. LED có những giá trị rất đặc trưng bao gồm độ bền và tuổi thọ cao, thể tích nhỏ, ít tỏa nhiệt, ít tiêu tốn điện năng, đặc biệt là vùng quang phổ hẹp có thể kiểm soát được, độ dài sóng thích hợp tạo hiệu quả quang hợp tối đa cho cây trồng. Với các ưu điểm trên, ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đem lại hiệu quả tích cực cho sự phát triển cây trồng và góp phần tiết kiệm điện năng, giảm bớt chi phí chiếu sáng tại các phòng thí nghiệm nuôi cấy mô.

Tái sinh *in vitro* là một yếu tố cơ bản cực kỳ quan trọng trong nuôi cấy mô và chuyển gene. Có rất nhiều nghiên cứu về tái sinh cây lúa *in vitro* dưới các ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật, môi trường nuôi cấy, nhiệt độ và loại mẫu cấy. Tuy nhiên, chưa có các công trình nghiên cứu nào về ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến quá trình này. Việc khảo sát vai trò của ánh sáng đơn sắc sẽ góp phần vào sự điều khiển phát sinh hình thái trong nhân giống tái sinh cây lúa. Đề tài tập trung nghiên cứu khả năng tái sinh đối với giống lúa hoang, một loài mà cho đến nay vẫn chưa được nghiên cứu khả năng tái sinh *in vitro* một cách chi tiết và góp phần vào việc thiết lập một qui trình bảo tồn *in vitro* phù hợp và rẻ tiền đối với loài hoang dại này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đề tài nghiên cứu được thực hiện trên giống lúa (*Oryza rufipogon* L.) trong bộ sưu tập giống

bảo tồn tại Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường - Đại học Nông lâm tp.HCM. Môi trường nuôi cấy cơ bản dùng trong thí nghiệm là môi trường MS.

Các mẫu cấy *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường và được đặt dưới các tỷ lệ ánh sáng đơn sắc với cường độ chiếu sáng khác nhau của đèn LED. Thời gian chiếu sáng: 16 giờ/ngày. Ba tỷ lệ ánh sáng đơn sắc bao gồm: R1(100% đèn LED đỏ - ký hiệu Đ), R2 (50% đèn LED đỏ: 50% đèn LED xanh dương - ký hiệu X) và R3 (75% đèn LED đỏ: 25% đèn LED xanh dương). Bốn mức cường độ chiếu sáng gồm: I1 (200 lux), I2 (400 lux), I3 (600 lux) và I4 (800 lux). Thí nghiệm bao gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 3 bình nuôi cấy, mỗi bình cấy 5 mẫu. Một nghiệm thức đối chứng riêng biệt được nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang ở cường độ chiếu sáng là 2.000 lux dùng để so sánh với các nghiệm thức được chiếu sáng bằng đèn LED.

Ánh sáng bên ngoài và ánh sáng giữa các nghiệm thức đèn LED sẽ được ngăn cách hoàn toàn bằng những tấm màng nhựa màu đen. Đèn chiếu sáng được sử dụng trong thí nghiệm là đèn LED đỏ có bước sóng 650 nm và đèn LED xanh dương có bước sóng 450 nm. Cường độ chiếu sáng của đèn LED và đèn huỳnh quang dùng trong thí nghiệm được đo bằng máy đo cường độ ánh sáng (Lux kế).

Các hạt lúa giống được bóc vỏ, rửa sạch trong nước máy nhiều lần. Sau đó, hạt được đem vào tủ cấy vô trùng và lắc với 100 ml cồn 70% trong 1 phút. Rửa lại bằng nước cất vô trùng và lắc mẫu trong 100 ml dung dịch nước Javel thương phẩm ở nồng độ 50% trong 30 phút. Cuối cùng các hạt được rửa thật sạch 3 lần trong nước cất vô trùng. Các hạt lúa giống vô trùng được sử dụng cho các thí nghiệm.

Hạt nảy mầm được cắt lấy đoạn thân dài khoảng 1 mm và cấy vào môi trường MS có bổ sung BA đạt nồng độ 0,5 mg/L (Puhan and Siddiq, 2013). Hàm lượng diệp lục tố trong mẫu được xác định theo phương pháp Arnon (1949) và tiến hành đo mật độ quang của từng ống nghiệm ở 2 bước sóng 645 nm (OD_{645}) và 663 nm (OD_{663}). Công thức tính hàm lượng diệp lục tố a và b:

Hàm lượng diệp lục tố (mg/g lá) = $[(12,7 \times OD_{663}) - (2,69 \times OD_{645})] \times 10/A + [(22,9 \times OD_{645}) - (4,68 \times OD_{663})] \times 10/A$.

A: trọng lượng 25 mg mẫu lá.

OD_{663}: mật độ quang đo ở bước sóng 663 nm.

OD_{645}: mật độ quang đo ở bước sóng 645 nm.

Số liệu thu thập sẽ được xử lý bằng phần mềm Exel 2007 và phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ & THẢO LUẬN

Sau 4 tuần nuôi cấy, sự ảnh hưởng của các tỷ lệ ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng (CĐCS) khác nhau đến sự hình thành chồi của mẫu cấy lúa hoang được trình bày trong bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy tỷ lệ hình thành chồi lúa hoang giữa các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê và có sự tương tác giữa tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng. Nghiệm thức R1I2 (100Đ, 400 lux), R2I3 (50Đ:50X, 600 lux) và R3I4 (75Đ:25X, 800 lux) cho tỷ lệ mẫu hình thành chồi cao hơn so với các nghiệm thức khác, lần lượt là R1I2 (58,83%), R2I3 (67,39%) và R3I4 (55,84%). Cả ba mô hình về tỷ lệ ánh sáng đều cho kết quả tái sinh được chồi bất định giống lúa hoang. Ở tỷ lệ 100% LED đỏ, tỷ lệ tái sinh chồi tăng cao ở 400 lux sau đó giảm dần khi cường độ chiếu sáng càng mạnh (600 lux – 800 lux). Tỷ lệ 50% LED đỏ:50% LED xanh dương, tỷ lệ tái sinh tăng khi đạt mức chiếu sáng ở 600 lux. Đối với tỷ lệ 75% LED đỏ:25% LED xanh dương, tỷ lệ tái sinh chồi tăng cao khi được chiếu sáng ở cường độ 800 lux. Nhìn chung, xu hướng giảm ánh sáng đỏ và kết hợp với ánh sáng xanh dương thì khả năng tái sinh chồi sẽ

cao hơn. Thực hiện kiểm tra t – test giữa nghiệm thức đối chứng đèn huỳnh quang và nghiệm thức R2I3 thì kết quả là có sự khác biệt. Tỷ lệ hình thành chồi của nghiệm thức đối chứng (51,85%) thấp hơn có ý nghĩa về mặt thống kê so với nghiệm thức R2I3 (67,39%).

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến tỷ lệ hình thành chồi (%) lúa hoang

Tỷ lệ ánh sáng (yếu tố R)	Cường độ chiếu sáng (yếu tố I)				Trung bình tỷ lệ ánh sáng
	I1 (200 lux)	I2 (400 lux)	I3 (600 lux)	I4 (800 lux)	
R1 (100Đ)	$40,92^{cd}$	$58,83^{ab}$	$51,84^{bc}$	$34,93^{de}$	$31,13^{B}$
R2 (50Đ:50X)	$34,90^{de}$	$18,98^{f}$	$67,39^{a}$	$33,70^{de}$	$38,72^{A}$
R3 (75Đ:25X)	$40,09^{cd}$	$26,72^{ef}$	$51,87^{bc}$	$55,84^{ab}$	$43,63^{A}$
Trung bình CĐCS	$38,64^{B}$	$34,84^{B}$	$57,03^{A}$	$41,49^{B}$	
$F_R = 17,62^{*}$	$F_I = 7,01^{*}$	$F_{RI} = 17,00^{**}$	CV = 9,02%		

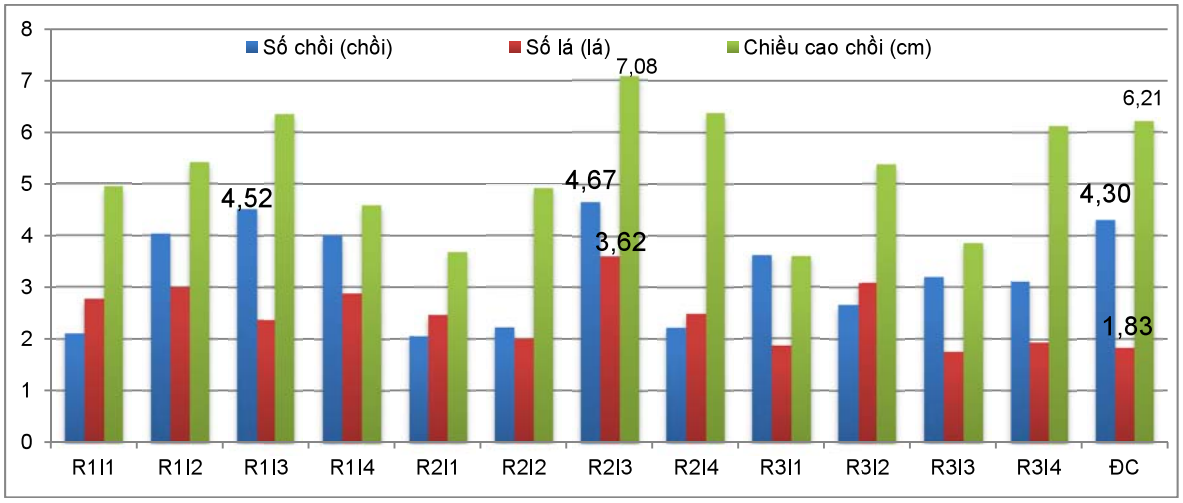
*Số liệu tỷ lệ hình thành chồi (%) được chuyển đổi theo công thức acrsin(√x) trong quá trình thống kê. Những chữ cái khác nhau (a,b,c,...) biểu diễn sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt ở mức xác suất $P < 0,01$, *: khác biệt ở mức xác suất $P < 0,05$.*

Về khả năng hình thái chồi, nghiệm thức R2I3 cho cụm chồi dày, lá xanh đậm, chồi khỏe gần tương đương với đối chứng đèn huỳnh quang còn R1I2 và R3I4 cho chồi thưa, lá xanh nhạt, chồi yếu (bảng 3.2, hình 3.1). Khi chồi hấp thu được đúng mức quang phổ và cường độ chiếu sáng thì chồi phát triển tốt, khỏe, lá xanh đậm do tổng hợp được nhiều diệp lục tố (Goins *et al.,* 1997). Các nghiệm thức cho chồi yếu, lá xanh nhạt có thể do tỷ lệ ánh sáng chưa phù hợp hoặc chưa hấp thu đúng cường độ chiếu sáng nên khả năng quang hợp giảm dẫn đến sự kém phát triển của chồi.

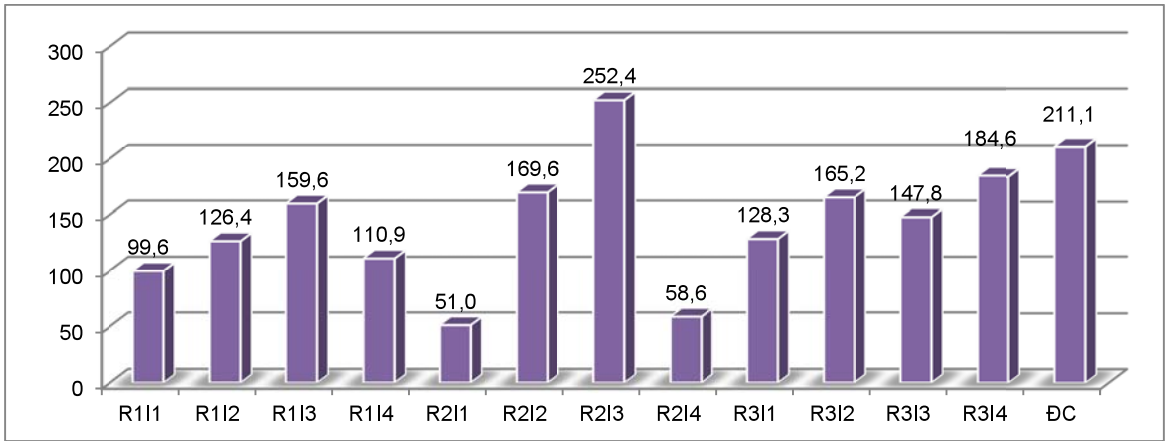
Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến đặc điểm phát sinh hình thái chồi lúa hoang

STT	NT	Tỷ lệ ánh sáng	CĐCS (lux)	Đặc điểm hình thái
1	**R1I1**	100Đ	200	Chồi thưa, lá xanh nhạt, cây khỏe
2	**R1I2**	100Đ	400	Chồi thấp, lá xanh nhạt, chồi yếu
3	**R1I3**	100Đ	600	Cụm chồi dày, xanh, chồi khỏe
4	**R1I4**	100Đ	800	Cụm chồi xanh nhạt, thưa, chồi yếu
5	**R2I1**	50Đ:50X	200	Chồi thấp, yếu, lá xanh nhạt
6	**R2I2**	50Đ:50X	400	Chồi thưa, cao, yếu, lá xanh nhạt
7	**R2I3**	50Đ:50X	600	Cụm chồi dày, khỏe, cao, lá xanh đậm
8	**R2I4**	50Đ:50X	800	Chồi thưa, thấp, hơi yếu, lá xanh nhạt
9	**R3I1**	75Đ:25X	200	Chồi cao, lá xanh nhạt, chồi khỏe
10	**R3I2**	75Đ:25X	400	Cụm chồi xanh tốt, thấp
11	**R3I3**	75Đ:25X	600	Chồi thấp, lá xanh nhạt, chồi hơi yếu
12	**R3I4**	75Đ:25X	800	Chồi thưa, cao, xanh nhạt, chồi yếu
13	**ĐC**	100HQ	2000	Cụm chồi dày, lá xanh tốt, chồi khỏe

Hình 1. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến hình thái chồi bất định lúa hoang sau 4 tuần nuôi cấy



Hình 2. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến số chồi, số lá, chiều cao chồi lúa hoang sau 4 tuần nuôi cấy.



Hình 3. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến khối lượng tươi (mg) chồi lúa hoang sau 4 tuần nuôi cấy.

Từ kết quả thí nghiệm trên cho thấy, nghiệm thức R2I3 (50Đ:50X, 600 lux) cho số chồi (4,67 chồi), chiều cao chồi (7,08 cm), số lá (3,67 lá) và trọng lượng tươi chồi (252,4 mg) cao hơn đối chứng và các nghiệm thức còn lại (hình 3.2, 3.3). Trong đó, nghiệm thức R1I3 (100Đ, 600 lux) cho số chồi (4,52 chồi) không có khác biệt về mặt thống kê so với nghiệm thức R2I3. Điều này chứng tỏ ở cường độ ánh sáng 600 lux giúp cho sự gia tăng số chồi bất định ở giống lúa hoang. Mặc dù nghiệm thức R1I3 cho số chồi gần bằng R2I3 nhưng cho số lá (2,38 lá) thấp hơn R2I3 (3,67 lá) nên

trọng lượng tươi của R1I3 (159,6 mg) thấp hơn so với R2I3 (252,4 mg). Nghiệm thức R1I3 cho số chồi (4,52 chồi) cao hơn đối chứng (4,30 chồi) nhưng trọng lượng tươi của R1I3 (159,6 g) thấp hơn so với đối chứng (211,1 mg) do nghiệm thức đối chứng tạo chồi khỏe hơn R1I3. Nghiệm thức đối chứng đèn huỳnh quang cho số chồi (4,30 chồi) gấp 2,35 lần số lá (1,83 lá) còn với nghiệm thức R2I3 số chồi (4,67 chồi) gấp 1,29 lần số lá (3,67 lá). Điều này có thể do sự tác động của ánh sáng đơn sắc kích thích gia tăng số chồi dẫn đến lá nhiều hơn. Kết quả này trái ngược với kết quả thí nghiệm tái sinh chồi trực tiếp trên cây cát tường dưới tỷ lệ 70% LED đỏ: 30% LED xanh dương cho số chồi cao nhất tuy nhiên lại không làm gia tăng số lá so với các tỷ lệ chiếu sáng khác (Nguyễn Hải Sơn, 2010).

Hàm lượng diệp lục tố trong lá được dùng để đánh giá khả năng quang hợp của chồi. Qua bảng 3.3, hàm lượng diệp lục tố nghiệm thức R2I3 (12,78 mg/g lá) và R2I4 (12,28 mg/g lá) cao hơn các nghiệm thức khác. Sự gia tăng hàm lượng chất diệp lục làm tăng khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây cho rằng sự kết hợp giữa ánh sáng của 50% LED đỏ và 50% LED xanh dương làm tăng khả năng sinh trưởng, phát triển và gia tăng tốc độ quang hợp của cây *Rehmannia glutinose* nuôi cấy *in vitro*; trong khi đó, cây con nuôi cấy dưới hệ thống LED xanh hoặc LED đỏ có tốc độ quang hợp rất thấp (Haln *et al.,* 2000). Mặc dù nghiệm thức R1I2 (100Đ, 400 lux) có số chồi (4,04 chồi), số lá (3,00 lá), chiều cao chồi (5,42 cm), trọng lượng tươi (126,4 mg) là tương đối cao tuy nhiên lại cho hàm lượng diệp lục tố thấp nhất (1,66 mg/g lá) do có thể tỷ lệ ánh sáng đơn sắc và cường độ chiếu sáng chưa đủ để diệp lục hấp thụ tối đa cho quang hợp. Nghiệm thức đối chứng đèn huỳnh quang cho hàm lượng diệp lục tố (10,95 mg/g lá) cũng tương đối cao nhưng vẫn thấp hơn so với nghiệm thức R2I3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đến hàm lượng diệp lục tố (mg/g lá) lúa hoang

Tỷ lệ ánh sáng (yếu tố R)	Cường độ chiếu sáng (yếu tố I)				Trung bình tỷ lệ ánh sáng
	I1 (200 lux)	I2 (400 lux)	I3 (600 lux)	I4 (800 lux)	
R1 (100Đ)	$2,50^{ef}$	$1,66^{f}$	$3,28^{e}$	$6,99^{c}$	$3,60^{B}$
R2 (50Đ:50X)	$5,06^{d}$	$5,03^{d}$	$12,78^{a}$	$12,28^{a}$	$8,79^{A}$
R3 (75Đ:25X)	$8,01^{b}$	$6,74^{c}$	$5,63^{d}$	$8,39^{b}$	$7,19^{A}$
Trung bình CĐCS	$5,19^{C}$	$4,47^{C}$	$7,06^{B}$	$9,39^{A}$	
F_R = 49,61**	F_I = 80,18**	F_{RI} = 106,88**	CV = 6,12 %		

Những chữ cái khác nhau (a,b,c,…) biểu diễn sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất $P < 0,01$ (**).

4. THẢO LUẬN

Các tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đã có ảnh hưởng đến quá trình phát sinh hình thái và khả năng tái sinh của giống lúa hoang nuôi cấy *in vitro*. Trong sự hình thành chồi trực tiếp từ mẫu thân của cây lúa *in vitro* một tuần tuổi thích hợp với tỷ lệ 50% đèn LED đỏ kết hợp với 50% đèn LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 600 lux. Dưới tỷ lệ và cường độ ánh sáng này, cây con tái sinh có các chồi khỏe mạnh, chiều cao chồi tương đối cao, số lá nhiều, trọng lượng tươi tăng và lá có màu xanh đậm do tổng hợp được nhiều diệp lục tố. Như vậy, cường độ chiếu sáng 600 lux của đèn LED xanh kết hợp với đèn LED đỏ và độ dài bước sóng đặc trưng của chúng làm cho hệ thống đèn mới này mang lại nhiều thuận lợi trong quá trình tái sinh chồi trực tiếp. Trên một số loài thực vật khác, sự tái sinh chồi trực tiếp cây thanh hao (*Artemisia annua* L.) lại thích hợp ở tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp với 25% LED xanh dương và cường độ chiếu

sáng 400 lux (Dương Thị Mỹ Thu, 2012). Sự tái sinh chồi trực tiếp từ mẫu lá và gián tiếp từ lớp mỏng tế bào thân cây cúc (*Chrysanthemum morifolium Ramat.* cv. "Jimba") tốt nhất khi được chiếu sáng với tỷ lệ ánh sáng 70% LED đỏ kết hợp với 30% LED xanh dương (Nguyễn Bá Nam và cs., 2012). Trong sự hình thành chồi bất định và cây con của các cây Torenia, cát tường, dâu tây và địa lan thích hợp với sự kết hợp giữa hai nguồn ánh sáng đỏ và xanh với tỷ lệ 70% LED đỏ và 30% LED xanh dương. Thông thường, thực vật dưới ánh sáng đỏ sẽ được đáp ứng bằng cách phân hóa lục lạp, kéo dài thân, còn ánh sáng xanh dương sẽ được đáp ứng bằng cách sinh tổng hợp các sắc tố và tác động ức chế kéo dài thân (Nguyễn Hải Sơn, 2010; Dương Tấn Nhựt, 2010). Việc xác định được chế độ chiếu sáng tối ưu sử dụng đèn LED cho giống lúa hoang sẽ mang lại giá trị đáng kể trong nghiên cứu chọn tạo giống cũng như giảm chi phí rất lớn cho công tác bảo tồn *in vitro* lâu dài.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Qua thí nghiệm về khả năng tái sinh giống lúa hoang invitro cho thấy khi sử dụng đèn LED với hai màu đỏ và xanh dương cây vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường trong suốt quá trình nuôi cấy. Tỷ lệ 50% đèn LED đỏ kết hợp 50% đèn LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 600 lux cho khả năng tái sinh chồi bất định tốt nhất. Tuy nhiên sẽ cần có các nghiên cứu sâu hơn nữa về sự biến động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật trong thân cấy lúa hoang trong điều kiện chiếu sáng bằng đèn LED nhằm xác định chi tiết hơn con đường điều hòa quá trình phát sinh hình thái ở cây lúa hoang. Cũng cần tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc từ đèn LED và ánh sáng tự nhiên đến sự phát triển của cây lúa *in vitro* sau khi đưa ra ngoài nhà kính và đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Giedre S., Ausra B., Akvile U., Gintare S., Pavelas D. (2010), The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries, Zemdirbyste Agriculture.97(2): 99 – 104.
2. Goins G.D., Yorio N.C., Sanwo M.M., Brown C.S. (1997), Photomorphogenesis, photosynthesis and seed yield of wheat plants grown under red light emitting diodes with and without supplemental blue lighting, Journal Experience Bot. 48:1407 – 1413.
3. Khattak A.M., Simon P. (2004), Light quality and temparature effects on *Antirrhinum* growth and development, Journal Zhejiang Univ. 6:119 – 124.
4. Nhut D.T., Takamura T., Goi M., Watanabe H., Satao M., Tanaka M. (2000), The effect of various blue to red ratios for LED irradiation system on the *in vitro* growth of *Phalaenopsis* plantlets, Journal of Japan Society for Horticultural Science, pp. 216 – 218.
5. Nhut D.T., Takamura T., Watanabe H., Okamoto K., Tanaka M. (2003), Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light emitting diodes (LEDs), Plant Cell Tissue and Organ Culture, 73:43 – 52.
6. Tamulaitis G., Duchovskis P., Bliznikas Z., Breiv˙e K., Ulinskait˙e R., Brazaityte˙ A., Novic˘kovas A. and Z˘ukauskas A (2005), High power light emitting diode based facility for plant cultivation, Journal of physics: Applied physics.
7. Tripathi K. K, Govila O.P, Ranjini Warrier, Vibha Ahuja (2011), Biology of *Oryza sativa* L. (Rice), Series of crop speccific biology documents, 63 pp.

INFLUENCE OF MONOCHROMATIC LIGHT FROM LIGHT EMITTING DIODES (LED) ON REGENERATION AND INVITRO CONSERVATION OF WILD RICE (*Oryza rufipogon* L.)

SUMMARY

The aim of this study was to examine the influence of light intensity and ratio of LED light on regeneration and invitro conservation of wild rice (*Oryza rufipogon* L.). The experiment included three illumination regimes of monochromatic lighting (100% red LED, 50% red LED: 50% blue LED, 75% red LED: 25% blue LED) and at four intensities (200, 400, 600, 800 lux). The experiment was conducted with three replications. Temperature was controlled in range between 22-25^{o}C. The results indicated that the ratio of 50% red LED combined with 50% blue LED at an intensity of 600 lux was the best lighting regime for adventitious shoot regeneration of the wild rice. It was suggested that the light regime with specific monochromic light ratio and intensity could improve regeneration efficiency and reducing cost for invitro conservation of the wild rice.

Key words: *Oryza rufipogon* L., light emitting diodes, morphogenesis, shoot regeneration, conservation.

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG TẠO CHỒI *IN VITRO* CÂY MAI VÀNG (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.)

Hồ Thị Cẩm Nguyên, Nguyễn Huỳnh Minh Trang, Huỳnh Văn Hiếu, Nguyễn Thị Nhã*
Khoa Nông nghiệp Công nghệ Cao và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.
Email: nguyenthinha78@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm khảo sát khả năng tạo chồi *in vitro* cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) từ vật liệu đoạn cành non và chồi mang đỉnh sinh trưởng. Để tạo vật liệu nghiên cứu *in vitro* ban đầu, mẫu mai vàng thực sinh được kết hợp khử trùng bằng dung dịch sodium hypochlorite (NaClO) 1,25% trong 20 phút, sau đó lắc mẫu với dung dịch calcium hypochlorite ($Ca(ClO)_2$) 8g/l trong 10 phút, đạt tỷ lệ mẫu sống 100%, mẫu vô trùng 91,7%. Khi sử dụng môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l benzyl adenine (BA) + 0,5 mg/l α – naphtalen acetic acid (NAA), chồi phát sinh từ vật liệu đoạn thân đạt số chồi và chiều cao chồi cao nhất, cụ thể 3,2 chồi và cao 2,3 cm. Ở bước khảo sát khả năng tạo đa chồi *in vitro* cây mai vàng, kết quả tốt nhất ghi nhận được trên môi trường MS có bổ sung 2 mg/l kinetin + 4 mg/l BA, số chồi và số lá đạt được tương ứng là 3,4 chồi và 4,3 lá. Nghiên cứu cũng cho thấy khi nuôi cấy trên môi trường ½ MS, chồi mai *in vitro* sinh trưởng và phát triển tốt hơn so với MS, đạt 2,9 chồi, chiều cao chồi 3,4 cm và 3,9 lá/mẫu. Bước đầu nghiên cứu cho thấy cây mai vàng có khả năng cảm ứng tạo chồi và nhân chồi *in vitro*, có thể tiếp tục các nghiên cứu khác để hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây mai vàng.

Từ khóa: kinetin, mai vàng, nhân giống *in vitro, Ochna integerrima.*

1. MỞ ĐẦU

Tại Việt Nam, mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) là một loại cây biểu tượng của mùa xuân, tượng trưng cho sự thanh cao, phú quý, nên nhu cầu chơi mai trong ngày Tết rất cao, các cây mai đẹp được ưa chuộng cho dù giá thành rất đắt. Mai vàng trở thành một loại cây thương phẩm có giá trị kinh tế cao. Tại TP. Hồ Chí Minh, mai vàng là loại cây cảnh mang lại giá trị kinh tế cao nhất cho các nhà vườn, là loại cây chiếm tỷ lệ lớn nhất trong diện tích trồng hoa, cây cảnh Tết. Cho đến 03/2006, diện tích sản xuất mai vàng tại TP. HCM là 223,44 ha, chiếm 47,35% diện tích trồng hoa, cây kiểng Tết với trên 250.000 chậu mai, giá trị sản xuất mai vàng đạt 108,71 tỉ đồng, chiếm 77,13% tổng giá trị sản xuất hoa, cây kiểng (Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 03/2006). Tết 2014, địa bàn TP. HCM có khoảng 1,3 triệu chậu mai, tương đương với 790 tỉ đồng, tăng 30% so với cùng kì năm 2013 (Thời báo Kinh tế Sài Gòn, 02/2014). Thống kê cuối năm 2015, diện tích trồng mai vàng là 366 ha, chiếm 38% diện tích sản xuất hoa kiểng Tết với khoảng 617.000 chậu mai (Báo Đồng Tháp, 02/2016). Những năm gần đây, bên cạnh thú chơi hoa đào truyền thống ngày Tết, người dân miền Bắc cũng có xu hướng quan tâm đến mai vàng, rất nhiều mai vàng miền Nam được chuyển ra Bắc nhưng gặp không ít khó khăn trong công tác quản lý và bảo quản hoa, chi phí vận chuyển cao mà vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu của người chơi mai. Bên cạnh đó, một số loại mai trở nên quý hiếm, có nguy cơ tiệt chủng tiêu biểu như mai vàng Yên Tử, do bị khai thác bừa bãi quá mức. Ngoài làm cảnh, mai vàng còn được sử dụng làm dược liệu, thực phẩm, lấy gỗ,…

Mai vàng là cây thân gỗ, sinh trưởng và phát triển khá chậm, chủ yếu được nhân giống bằng các phương pháp truyền thống (gieo hạt, cắt cành, giâm cành,…), tuy nhiên vẫn chưa đáp ứng đủ nhu cầu thị trường. Hiện nay để khắc phục được các bất lợi về điều kiện tự nhiên trong trồng trọt

cũng như nhân nhanh số lượng lớn cây trồng, phương pháp nuôi cấy mô, tế bào thực vật đang ngày một phổ biến, tạo ra số lượng lớn cây trồng sạch bệnh, đồng nhất về chất lượng trong thời gian rất ngắn. Tuy nhiên, các nghiên cứu tái sinh cây mai vàng bằng phương pháp nuôi cấy mô phần lớn chỉ được thực hiện ở các nước phát triển mạnh về khoa học kỹ thuật như Trung Quốc, Ấn Độ,… nhưng số lượng nghiên cứu không nhiều. Các nhà khoa học Ấn Độ đã thành công tạo chồi cây mai tứ quý (*Ochna serrulata*) *in vitro*, tối ưu nhất trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung 2,0 mg/l benzyl adenine (BA) và 0,25 mg/l indol-3-butyric acid (IBA); và nuôi cấy chồi trên môi trường MS bổ sung 2% sucrose + 1,0 mg/l IBA cho rễ hình thành nhiều và phát triển mạnh nhất (M. K.Goel et al, 2008). Ở Trung Quốc, nghiên cứu tiến hành với đối tượng mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.)) nhằm tạo chồi và phôi soma từ vật liệu lá và chồi *in vitro*; kết quả cho thấy sử dụng thidiazuron (TDZ) nồng độ cao (10 – 15 µM) cảm ứng phát sinh cả chồi bất định và phôi soma từ mô *in vitro*; khi sử dụng TDZ ở nồng độ thấp (5 µM) hoặc BA (5 – 15 µM) chỉ làm phát sinh chồi bất định; nghiên cứu cũng thành công trong việc tạo rễ *in vitro*, với môi trường MS bổ sung 0,5α – naphtalen acetic acid (NAA) + 8 µM IBA + 0,1% than hoạt tính sau 1 tháng (G. Ma *et al.,* 2010). Tại Việt Nam, Trường Đại học Cần Thơ cũng đã thành công trong việc nhân giống mai vàng *in vitro* nhằm phục vụ nghiên cứu và ứng dụng trong lai tạo giống; nghiên cứu sử dụng vật liệu là thân và chồi ngọn cây mai 4 tuần tuổi để vô mẫu, kết quả tạo chồi mai *in vitro* với môi trường MS bổ sung BA (4 mg/l) cho số chồi cao nhất, tạo rễ trên môi trường ½ MS bổ sung NAA (6 mg/l) cho rễ hình thành nhiều và phát triển bình thường (Mai Vũ Duy và Lâm Ngọc Phương, 2012). Qua các nghiên cứu cho thấy việc nhân giống *in vitro* mai vàng là có khả năng, nhưng phạm vi của các nghiên cứu này cũng chỉ trong phòng thí nghiệm chưa được đưa ra sản xuất đại trà và thương mại hóa, do vậy cần thực hiện thêm các nghiên cứu, khảo sát về đề tài vi nhân giống mai vàng để có thể tìm ra quy trình nhân giống thích hợp và có tính khả thi nhất. Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành với mục tiêu tạo được chồi mai vàng *in vitro*, khảo sát khả năng tạo đa chồi để nhân số lượng chồi và xác định môi trường cho chồi sinh trưởng phát triển tốt nhất. Từ đó làm tiền đề để hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây mai vàng, có thể đưa ra sản xuất đại trà phục vụ cho nhu cầu thị trường và phục vụ công tác bảo tồn các loài mai quý hiếm, có nguy cơ tiệt chủng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian: từ tháng 02 đến tháng 08 năm 2017.

Địa điểm: phòng thí nghiệm Sinh học phân tử Thực vật, Khoa Nông nghiệp Công nghệ cao và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Đoạn cành có chứa mắt ngủ, không quá non hoặc quá già và chồi ngọn cành, mang đỉnh sinh trưởng của cây mai vàng tại TP. Hồ Chí Minh. Mẫu cành mai phát triển tốt, không bị sâu bệnh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khử trùng mẫu cấy

Các đoạn thân chứa mắt ngủ và chồi ngọn được cắt bỏ lá. Sau đó, mẫu cấy được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút. Tiếp theo, mẫu được xử lý với dung dịch sodium hypochlorite (NaClO) nồng độ từ 1 – 1,5% trong thời gian từ 10 – 20 phút, sau khi rửa mẫu 3 lần với nước cất, tiếp tục xử lý với dung dịch calcium hypochlorite ($Ca(ClO)_2$) 8 g/l trong thời gian 5 – 15 phút.

Đoạn thân sau khi khử trùng được cắt ngắn thành các đốt nhỏ dài 1 – 2 cm, mỗi đốt mang 1 mắt ngủ. Mẫu được cấy vào môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar, pH môi trường 5,8 – 6.

Phương pháp tái sinh chồi in vitro từ mẫu cấy

Các mẫu thu được sau khi khử trùng, còn sống (mẫu không bị héo đi và không chuyển sang màu thâm đen), không bị nhiễm vi sinh vật (VSV), được chuyển sang nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + tỷ lệ nồng độ các tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) gồm 0,5 mg/l NAA và 0,5 – 1,5 mg/l BA nhằm cảm ứng tạo chồi từ mẫu cấy ban đầu. Chồi *in vitro* phát sinh từ các mẫu cấy trong thí nghiệm được dùng làm vật liệu nghiên cứu cho thí nghiệm tạo đa chồi mai vàng và thí nghiệm xác định môi trường khoáng thích hợp cho chồi mai vàng sinh trưởng, phát triển.

Phương pháp tạo đa chồi cây mai vàng in vitro

Sử dụng môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + tỷ lệ nồng độ các tổ hợp chất ĐHST gồm 2 – 4 mg/l kinetin và 0 – 4 mg/l BA để kích thích tạo đa chồi từ mẫu cấy, nhằm nhân nhanh số lượng chồi mai vàng *in vitro*.

Phương pháp xác định môi trường thích hợp cho chồi mai vàng in vitro sinh trưởng và phát triển

Khảo sát khả năng sinh trưởng và phát triển của mẫu chồi trên 2 môi trường MS và ½ MS (giảm một nửa khối lượng thành phần đa lượng), có bổ sung 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar.

Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Tất cả các môi trường nuôi cấy dùng trong nghiên cứu được điều chỉnh pH 5,8 – 6, khử trùng ở 121^0C, 1 atm trong 20 phút. Các mẫu thí nghiệm được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2^0C, thời gian chiếu sáng 12 giờ, cường độ chiếu sáng 1.500 lux.

Đối với thí nghiệm khảo sát khả năng khử trùng mẫu cấy ban đầu, mỗi nghiệm thức dùng 10 chai thủy tinh chứa 10 ml/chai môi trường nuôi cấy, mỗi chai thủy tinh chỉ cấy một mẫu. Kết quả được ghi nhận sau 10 ngày nuôi cấy.

Đối với các thí nghiệm khảo sát khả năng phát sinh chồi, tạo đa chồi *in vitro* và khảo sát môi trường dinh dưỡng thích hợp cho chồi *in vitro* cây mai vàng sinh trưởng, phát triển; tất cả các chỉ tiêu đo đạc được thực hiện trên 5 mẫu của cùng 1 nghiệm thức và tính trung bình. Kết quả được ghi nhận tại thời điểm 8 tuần sau khi cấy mẫu vào môi trường thí nghiệm.

Các chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ mẫu sống vô trùng (TLMSVT):

$$TLMSVT\ (\%) = \frac{Số\ mẫu\ sống\ không\ bị\ nhiễm\ VSV * 100}{Tổng\ số\ mẫu\ cấy}$$

- Tỷ lệ mẫu sống nhiễm VSV (TLMSNVSV):

$$TLMSNVSV\ (\%) = \frac{Số\ mẫu\ sống\ bị\ nhiễm\ VSV * 100}{Tổng\ số\ mẫu\ cấy}$$

- Tỷ lệ mẫu chết (TLMC):

$$TLMC\ (\%) = \frac{Số\ mẫu\ bị\ chết * 100}{Tổng\ số\ mẫu\ cấy}$$

- Số lượng chồi (chồi): số chồi sinh ra của cùng một mẫu

- Chiều cao chồi (cm): đo từ điểm cuối của thân chồi đến đỉnh chồi

- Số lượng lá (lá): số lá của một mẫu

Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên đơn hoặc đa yếu tố. Số liệu thí nghiệm được thu thập và tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Office Excel và phân tích thống kê theo ANOVA và trắc nghiệm phân hạng LSD (Leasst Significant Difference Test) bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát nồng độ dung dịch NaClO, dung dịch $Ca(ClO)_2$ và thời gian khử trùng mẫu mai vàng thực sinh

Bảng 1. Tỷ lệ mẫu sống vô trùng thu được khi khử trùng mẫu lần lượt với 2 dung dịch Na-hypo và Ca-hypo ở các mức nồng độ và thời gian xử lý mẫu khác nhau

Nồng độ NaClO (%)	Thời gian xử lý NaClO (phút)	Thời gian xử lý $Ca(ClO)_2$ 8 g/l (phút)	TLMSVT (%)	TLMNVSV (%)	TLMC (%)
1	10	5	$56,4^{i}$	24,3	19,3
1	15	5	$69,6^{g}$	18,7	11,4
1	20	5	$74,3^{e}$	15,2	10,5
1,25	10	10	$81,2^{d}$	13,6	5,2
1,25	15	10	$86,3^{b}$	7,9	5,8
1,25	**20**	**10**	$\mathbf{91,7^{a}}$	0	8,3
1,5	10	15	$81,7^{c}$	0	18,3
1,5	15	15	$72,6^{f}$	0	27,4
1,5	20	15	$57,6^{h}$	0	42,4
CV (%)			***0,3***		
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$			***0,5***		

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Việc kết hợp xử lý kép với 2 dung dịch khử trùng NaClO và $Ca(ClO)_2$ cho hiệu quả khử trùng mẫu cao, tỷ lệ mẫu sống vô trùng dao động trong khoảng 56,4 – 91,7%; đạt được nghiệm thức có 100% mẫu không bị nhiễm VSV. Tuy nhiên, việc tăng nồng độ chất khử trùng NaClO ảnh hưởng tiêu cực đến mẫu không bị nhiễm VSV, làm giảm tỷ lệ mẫu sống. Tỷ lệ mẫu bị chết lên đến 42,4% khi xử lý với dung dịch NaClO 1,5% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 8 g/l trong 15 phút. Do đó kết quả tốt nhất được ghi nhận khi sử dụng dung dịch NaClO 1,25% và $Ca(ClO)_2$ 8 g/l với thời gian xử lý lần lượt là 20 và 10 phút, đạt 100% mẫu không bị nhiễm VSV, trong đó có đến 91,7% mẫu sống vô trùng.

So với sử dụng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% để khử trùng mẫu mai vàng thực sinh tại Trường Đại học Cần Thơ (Mai Vũ Duy và Lâm Ngọc Phương, 2012), việc sử dụng dung dịch khử trùng NaClO và $Ca(ClO)_2$ vẫn cho hiệu quả khử trùng cao, vừa đơn giản, tiết kiệm chi phí, vừa an toàn cho sức khỏe và môi trường.

3.2. Khảo sát sự ảnh hưởng của một số chất ĐHST đến khả năng phát sinh chồi mai vàng *in vitro*

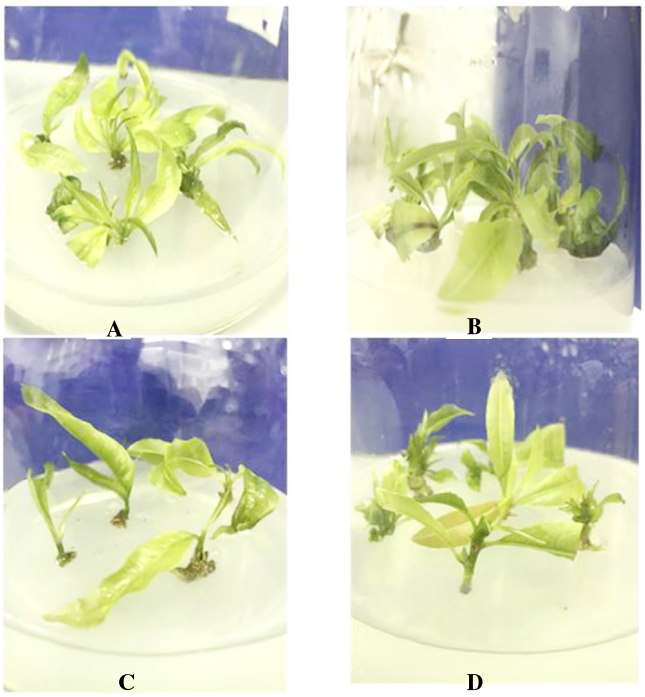
Khi phối hợp cùng với auxin thì cytokinin sẽ kích thích sự phân chia tế bào và điều khiển sự phát sinh hình thái. Chất ĐHST BA là loạicytokinin có hiệu quả cao trong việc cảm ứng tạo chồi ở nhiều loài thực vật, kết hợp với NAA (α – naphtalen acetic acid) là một chất trong nhóm auxin, được nghiên cứu thích hợp sử dụng trong nuôi cấy chồi (Nguyễn Đức Lượng và Lê thị Thủy Tiên, 2002). Điều này được thể hiện qua kết quả thí nghiệm, tất cả các nghiệm thức với các nồng độ khác nhau

của BA và NAA đều có khả năng phát sinh chồi, nồng độ BA càng cao khả năng phát sinh chồi càng nhiều (Bảng 2). Nghiệm thức có kết quả tốt nhất là mẫu đoạn thân nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l NAA, đạt số lượng 3,2 chồi và chiều cao chồi 2,4 cm. So sánh với kết quả của Mai Vũ Duy và Lâm Ngọc Phương, (2012), hệ số nhân chồi trong nghiên cứu này đạt cao hơn (3,2 so với 2,3), từ đó chứng minh được việc sử dụng kết hợp 2 loại chất ĐHST BA và NAA cho kết quả tốt hơn so với chỉ sử dụng BA.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chất ĐHST BA và NAA đến khả năng phát sinh chồi mai vàng *in vitro*

Mẫu	Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)	Số lượng chồi	Chiều cao chồi (cm)
Đoạn thân	0,5	0,5	$1,6^{c}$	$1,7^{c}$
	1	0,5	$2,4^{b}$	$2,1^{b}$
	1,5	**0,5**	**$3,2^{a}$**	**$2,4^{a}$**
Chồi ngọn	0,5	0,5	$1,1^{d}$	$1,3^{d}$
	1	0,5	$1,6^{c}$	$1,6^{c}$
	1,5	0,5	$2,3^{b}$	$1,8^{c}$
CV (%)			***8,9***	***4,9***
$LSD_{0,05}$			***0,5***	***0,2***

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê

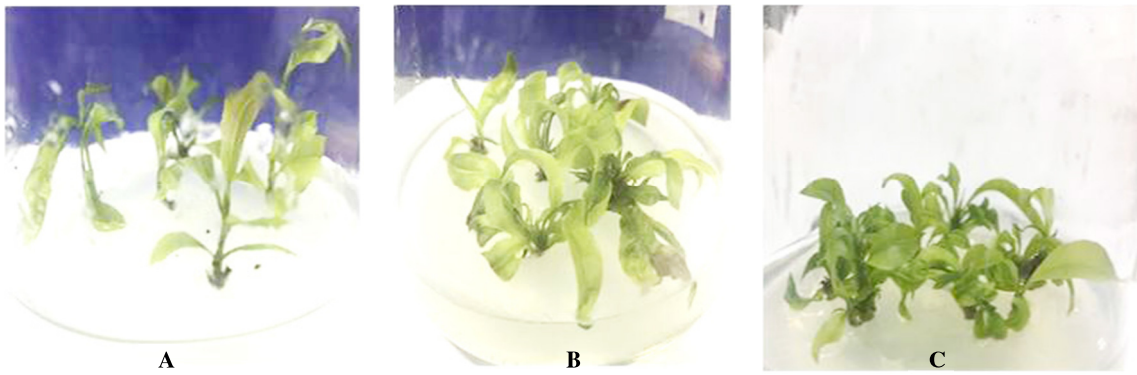


Hình 1. Phát sinh chồi cây mai vàng *in vitro*
(A) chồi ngọn, nồng độ BA (0,5 mg/l) + NAA (0,5 mg/l)
(B) chồi ngọn, nồng độ BA (1,5 mg/l) + NAA (0,5 mg/l)
(C) đoạn thân, nồng độ BA (0,5 mg/l) + NAA (0,5 mg/l)
(D) đoạn thân, nồng độ BA (1,5 mg/l) + NAA (0,5 mg/l)

Với mẫu ban đầu là đoạn thân, số lượng chồi phát sinh và chiều cao chồi nhìn chung cao hơn so với sử dụng mẫu ban đầu là chồi ngọn. Với cây thân gỗ, thân cây phát triển mạnh, phân nhiều

chồi từ nách lá; bên cạnh đó, sự có mặt của nhóm chất auxin NAA tương tác với nhóm chất cytokinin BA làm yếu hiện tượng ưu thế ngọn, làm phân cành nhiều. Vì thế chồi ở đoạn thân phát sinh nhiều và cao hơn so với chồi phát sinh từ chồi ngọn.

3.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của một số tổ hợp chất ĐHST đến khả năng tạo đa chồi mai vàng *in vitro*



Hình 2. Ảnh hưởng của chất ĐHST BA và kinetin đến khả năng tạo đa chồi mai vàng *in vitro*
(A) nồng độ kinetin (2 mg/l), (B) nồng độ kinetin (2 mg/l) + BA (4 mg/l),
(C) nồng độ kinetin (4 mg/l) + BA (4 mg/l)

Khi chồi được cô lập trên môi trường dinh dưỡng, dưới tác động của cytokinin nồng độ cao, kích thích các chồi bên từ các nách lá phát triển, từ đó tăng số lượng chồi của mẫu. Vai trò của cytokinin trong trường hợp này là hạn chế ưu thế ngọn để cho các chồi bên phát triển (Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên, 2002). Do đó, tất cả các nghiệm thức đều có khả năng tạo đa chồi khi kết hợp 2 loại cytokinin kinetin và BA với nồng độ tương đối cao (2 – 4 mg/l). Số lượng chồi tăng khi tăng nồng độ cytokinin (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất ĐHST BA và kinetin đến khả năng tạo đa chồi mai vàng *in vitro*

Nồng độ kinetin (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Số lượng chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lượng lá (lá)
2	0	$1,7^{d}$	**$2,4^{a}$**	$2,8^{e}$
2	2	$2,1^{d}$	$2,1^{b}$	$3,5^{cd}$
2	**4**	**$3,4^{ab}$**	$1,7^{c}$	**$4,3^{ab}$**
4	0	$2,7^{c}$	$1,8^{c}$	$3,8^{bc}$
4	2	$3,3^{b}$	$1,5^{d}$	$3,1^{de}$
4	4	**$3,9^{a}$**	$1,2^{e}$	**$4,6^{a}$**
CV (%)		***7,6***	***5,1***	***5,6***
$LSD_{0,05}$		***0,5***	***0,2***	***0,5***

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Số lượng chồi và lá cao nhất đạt được ở cả 2 nghiệm thức: nồng độ kinetin (4mg/l) + BA (4mg/l) và nồng độ kinetin (2mg/l) + BA (4 mg/l). Đối với nuôi cấy chồi *in vitro*, kinetin không được dùng phổ biến như BA, dù vậy, kết quả Bảng 3 cho thấy nồng độ kinetin có ảnh hưởng đến chồi mai vàng, và khi dùng kinetin kết hợp với BA, đạt được hệ số nhân chồi cao hơn so với khi sử dụng BA kết hợp NAA ở thí nghiệm khảo sát sự phát sinh chồi (3,9 so với 3,2). Kết quả cũng được thể hiện qua Hình 2.

Vì cytokinin làm giảm hiện tượng ưu thế ngọn, nên mẫu có khả năng tạo chồi nhiều thì chiều cao chồi thấp, kết quả được thể hiện cụ thể qua Bảng 3, khi sử dụng cytokinin với hàm lượng thấp nhất (2 mg/l kinetin) đạt chiều cao chồi cao nhất (2,4 cm) và khi sử dụng với hàm lượng cao nhất (4 mg/l kinetin + 4 mg/l BA), chiều cao chồi chỉ đạt 1,2 cm.

Bên cạnh đó, chất điều hòa sinh trưởng kinetin có giá thành khá cao, khó mua được. Thế nên việc sử dụng nồng độ kinetin ít sẽ tiết kiệm chi phí. Vì vậy, việc sử dụng môi trường bổ sung nồng độ kinetin (2mg/l) kết hợp nồng độ BA (4mg/l) để tạo đa chồi cho cây mai vàng *in vitro* là thích hợp nhất.

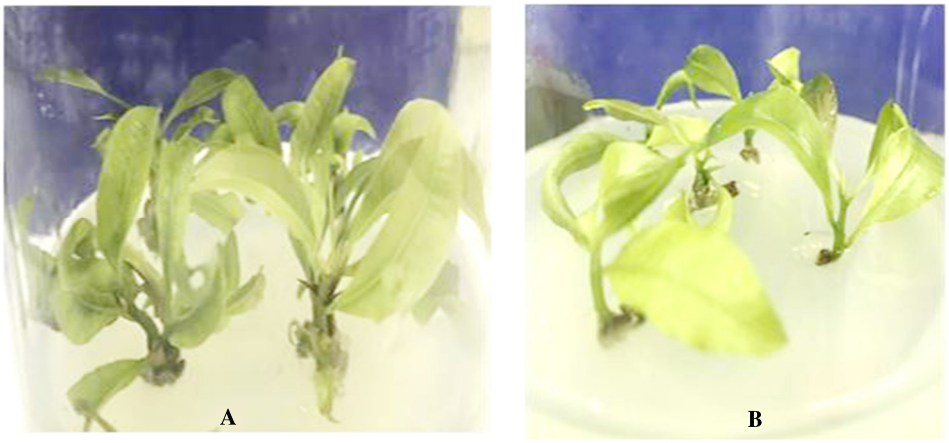
3.4. Khảo sát môi trường thích hợp cho chồi mai vàng *in vitro* sinh trưởng, phát triển

Nuôi cấy chồi mai trên môi trường ½ MS, giảm một nửa khối lượng thành phần khoáng đa lượng cho số lượng chồi và chiều cao chồi cao hơn so với dùng môi trường MS (Bảng 4). Nghiên cứu đã chỉ ra được chồi mai vàng không thích hợp nuôi cấy trên môi trường quá giàu dinh dưỡng, cụ thể là khoáng đa lượng, điều này đúng với nghiên cứu ở nhiều loại cây thân gỗ khác.

Bảng 4. Ảnh hưởng của môi trường khoáng đến khả năng phát sinh chồi mai vàng *in vitro*

Khoáng đa lượng	Số lượng chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lượng lá (lá)
½ MS	**2,5^{a}**	**3,4^{a}**	**3,9^{a}**
MS	1,7^{b}	2,4^{b}	3,3^{b}
CV (%)	***3,9***	***2,9***	***3,6***
$LSD_{0,05}$	***0,3***	***0,3***	***0,5***

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê



Hình 3. Khả năng sinh trưởng phát triển cây mai Vàng *in vitro* trong môi trường (A) 1/2 MS và (B) MS

4. KẾT LUẬN

- Nồng độ dung dịch NaClO sử dụng là 1,25% lắc trong thời gian 20 phút, sau đó lắc trong dung dịch $Ca(ClO)_2$ (8 g/l) trong thời gian 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống 91,7%.
- Đoạn thân nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung nồng độ BA (1,5 mg/l) + NAA (0,5 mg/l) kích thích phát sinh nhiều chồi hơn (3 chồi/mẫu) so với chồi ngọn (2 chồi/mẫu).
- Môi trường khoáng ½ MS giúp chồi mai vàng *in vitro* sinh trưởng và phát triển tốt hơn môi trường khoáng MS.

- Tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng kinetin (2 mg/l) kết hợp với BA (4 mg/l) thích hợp cho việc tạo đa chồi ở cây mai vàng *in vitro* (4 chồi/mẫu).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ NTTU trong đề tài mã số 2017.01.57

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo Đồng Tháp (02/2016). Hoa kiểng Tết: Giá tại vườn không tăng nhiều. Đồng Tháp.
2. M. K. Goel, V. Malik, S. Kumar and C. M. Govil (2008). *In vitro* Microproppagation in *Ochna Serrulata*. Advances in Plant Sciences, 21(1) pp. 19 – 21.
3. Mai Vũ Duy, Lâm Ngọc Phương (2012). Hiệu quả của các chất điều hòa sinh trưởng BA, NAA và IBA trên sự tạo chồi và rễ cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) *in vitro*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 24a tr. 70 – 77.
4. G. Ma, J. Lu, J. T. Silva, X. Zhang and J. Zhao (2010). Shoot organogenesis and somatic embryo genesis from leaf and shoot explants of *Ochna integerrima* (Lour). Plant Cell Tiss Organ Cult, 104: pp. 157 - 162.
5. Nguyễn Đức Lượng, Lê Thị Thuỷ Tiên (2002). Công nghệ tế bào. Nhà xuất bản Đại Học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
6. Sở Nông Nghiệp Và Phát Triển Nông Thôn (03/2006). Tình hình sản xuất hoa, cây kiểng phục vụ Tết Nguyên đán Bính Tuất ở thành phố Hồ Chí Minh. TP. Hồ Chí Minh.
7. Thời báo Kinh tế Sài Gòn (02/2014). Giá trị hoa kiểng tết của TP. HCM vượt 1.500 tỉ đồng. TP. Hồ Chí Minh.

INVESTIGATION OF THE *IN VITRO* SHOOT PROLIFERATION of *Ochna integerrima* (Lour.) Merr.

SUMMARY

This study was conducted to investigate the *in vitro* shoot proliferation of *Ochna integerrima* (Lour.) Merr., using stem segments and shoot buds. The plant materials were disinfected with solution of sodium hypochlorite (NaClO) 1.25% in 20 minutes, then treated with solution of calcium hypochlorite ($Ca(ClO)_2$) 8 g/l in 10 minutes (100% concentration of survival sample and 91.7% concentration of sterilized sample). On medium containing 1.5 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA, shoots proliferated from stem segments have the best count and height of shoot (3.2 of shoots and 2.3 cm of height). Using medium contain 2 mg/l kinetin + 4 mg/l BA have the best result to propagate *O. Integerrima's*. shoots (3.4 of shoots and 4.3 of leaves/sample). When shoots were cultured on ½ MS, shoots growed and developed better than cultured on MS (2.9 of shoots, 3.4 cm of height and 3.9 leaves/sample). This study show that *O. integerrima*'s shoots could proliferated and propagated *in vitro*, and an efficient protocol of *O. integerrima* propagation could be established.

Keywords: kinetin, *Ochna integerrima* (Lour.) Merr, *in vitro* propagation.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH NUÔI CẤY *IN VITRO* LAN THẠCH HỘC TÍA (*Dendrobium officinale* kimura *et* migo) TRÊN MÔI TRƯỜNG HỮU CƠ CHỨA PHÂN TRÙN QUẾ (*Perionyx excavatus*) KẾT HỢP BỘT SẮN DÂY (*Pueraria thomsoni*)

***Hoàng Thị Hằng, Nguyễn Huỳnh Trâm Anh, Đỗ Tấn Phát, Đoàn Thị Tuyết Lê*[*1]**
Khoa Kỹ Thuật Hóa Học và Môi Trường
Trường Đại Học Lạc Hồng
Email: hoanghanggldl@gmail.com, nhta8595@gmail.com, tanphat.sh91@gmail.com, tuyetledt@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình nuôi cấy *in vitro* lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo) trên môi trường hữu cơ chứa phân trùn quế, kết hợp với bột sắn dây kích thích sự tái sinh chồi và tạo rễ lan Thạch hộc tía, góp phần làm hạ giá thành sản xuất mà vẫn đảm bảo cây giống có thể phát triển bình thường, đồng thời đưa giống cây sạch vào trong nghiên cứu tách chiết các hợp chất có giá trị dược liệu đảm bảo an toàn sức khỏe cho người sử dụng. 0,2g protocorm lan Thạch hộc tía được sử dụng cho thí nghiệm xác định hàm lượng phân trùn quế (TQ) làm môi trường nền, sử dụng các chồi lan Thạch hộc tía cao 1,5cm và 2,5cm đối với thí nghiệm ra chồi và rễ trên môi trường bổ sung các hàm lượng sắn dây (SD) khác nhau. Kết quả cho thấy hàm lượng phân TQ thích hợp làm môi trường nền cơ bản là 5%/l TQ + 8 g/l agar + 20 g/l glucose thu được khối lượng tươi protocorm là 0,58 g/1 bình cấy. Môi trường thích hợp để nhân nhanh thể chồi 5%/l TQ + 10g/l SD + 8 g/l agar + 20 g/l glucose cho hệ số nhân chồi là 2,67 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình 0,93 cm/chồi. Ở thí nghiệm ra rễ với chiều dài rễ là 3,78 cm/mẫu và số rễ hình thành là 5,33 rễ/mẫu đạt cao nhất trên môi trường 5%/l TQ + 5 g/l SD + 8 g/l agar + 20 g/l glucose sau 8 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: Bột sắn dây, *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo*;* phân trùn quế, *in vitro.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan Thạch hộc tía hay còn gọi là Lan *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo đứng đầu trong sách Thần Nông, công trình dược học đầu tiên của Trung Hoa cổ đại về các cây thuốc quý, được xếp đầu trong chín loại thuốc quý [1] mang lại lợi ích sức khỏe cho con người. Hiện nay, nhu cầu tiêu thụ các sản phẩm từ Lan thạch hộc tía ngày càng tăng [4] nên việc sản xuất Lan Thạch hộc tía và các dược chất của loài cây này trên quy mô lớn là điều cần thiết. Vì thế những nghiên cứu về điều kiện dinh dưỡng để trồng Lan thạch hộc nói chung và môi trường hữu cơ để nhân giống *in vitro* cho loài lan này nói riêng cần được quan tâm.

Trong đất, phân trùn quế nhờ chứa nhiều loại dinh dưỡng khác nhau, tạo môi trường canh tác tốt, giúp cây dễ hấp thụ chất dinh dưỡng và khỏe mạnh hơn, khả năng chống chịu tốt và lớn nhanh. Trong phân trùn quế có chứa đầy đủ các thành phần khoáng giúp cây phát triển như: B, Ca, Cu, Fe, K_2O, Mg, Mn, Mo, P_2O_5, S, Zn, Acid Fulvic, Acid Humic, Cl^-, độ ẩm, N, chất hữu cơ [10].

Hơn nữa, bột sắn dây từ lâu được biết đến như loại sản phẩm có giá trị thực và dược phẩm cao, thành phần tinh bột sắn dây nhìn chung khá phù hợp về mặt dinh dưỡng đối với nhu cầu của cây

[1] *Tác giả liên hệ: Đoàn Thị Tuyết Lê. Khoa Kỹ thuật Hóa học và Môi trường, trường đại học Lạc Hồng. Số 10 đường Huỳnh Văn Nghệ, phường Bửu Long, thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Điện thoại: 0918697967. Email: tuyetledt@gmail.com

nuôi cấy *in vitro* như Ca, Fe, P... [2]. Năm 2015, Phạm Thị Lệ Huyền đã khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung tinh bột sắn dây đến sinh trưởng, phát triển và đặc điểm kiểu hình của lan *Dendrobium in vitro*. Kết quả cho thấy việc bổ sung các tỷ lệ khác nhau của tinh bột sắn dây có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của lan *Dendrobium* trong điều kiện *in vitro* [8].

Hiện nay, các công trình nghiên cứu trong nước và ngoài nước thường sử dụng một số môi trường cơ bản có thành phần là vô cơ như môi trường Murashige – Skoog (MS) được Murashige và Skoog công bố năm 1962 [6], môi trường B5 được Gramborg và cộng sự tìm ra năm 1968 [6]. Tuy nhiên, việc sử dụng thành phần giàu dinh dưỡng như phân trùn quế và tinh bột sắn dây trong nuôi cấy mô tế bào thực vật đến nay vẫn chưa được nghiên cứu . Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng quy trình nhân giống hoàn chỉnh nuôi cấy *in vitro* lan Thạch hộc tía trên môi trường hoàn toàn hữu cơ gồm phân trùn quế và bột sắn dây nhằm thu được lượng sinh khối cao với chi phí thấp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Mẫu Lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo) do Phòng thí nghiệm công nghệ tế bào thực vật, trung tâm Nghiên cứu Khoa học và Ứng dụng, Trường Đại học Lạc Hồng cung cấp. Phân trùn quế sử dụng do công ty cổ phần Trùn Quế Củ Chi cung cấp. Glucose được cung cấp bởi công ty cổ phần đường Biên Hòa. Bột sắn dây thương hiệu: KENTARY.

Môi trường thí nghiệm đều được chỉ về pH = 5.6. Môi trường được hấp khử trùng 15 phút ở nhiệt độ 121^{o}C, 1atm. Điều kiện nuôi cấy trong tất cả các thí nghiệm là giống nhau, nhiệt độ phòng nuôi cấy được ổn định ở 26 ± 2^{o}C, và chiếu sáng với đèn huỳnh quang, ánh sáng trắng cường độ 1.800 – 2.000 lux. Thời gian chiếu sáng 16 giờ/ ngày, độ ẩm không khí 70 - 80%.

2.2. Phương pháp

Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng phân trùn quế lên sự thay đổi khối lượng tươi protocorm lan Thạch hộc tía

Vật liệu sử dụng là protocorm lan Thạch hộc tía, 0,2g protocorm lan Thạch hộc tía được cấy vào môi trường nuôi cấy có hàm lượng phân trùn quế theo tỷ lệ: 5%/l, 10%/l, 20%/l, 30%/l, 40%/l, 50%/l, bổ sung 20 g/l glucose + 8,0 g/l agar. Sau 4 tuần nuôi cấy tiến hành lấy số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là khối lượng mẫu/1 bình.

Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng sắn dây lên sự nhân chồi của lan Thạch hộc tía

Vật liệu sử dụng là chồi lan Thạch hộc tía từ thí nghiệm trên với số lượng 3 mẫu cấy/1 bình. Các chồi dài 1,5cm của mẫu lan Thạch hộc tía được cấy chuyền vào môi trường 5% TQ + 20g/l glucose + 8,0g/l agar và bổ sung hàm lượng sắn dây theo các tỷ lệ: 0g/l, 5g/l, 10g/l, 20g/l, 30g/l, 40g/l, 50g/l. Sau 8 tuần nuôi cấy sẽ tiến hành lấy số liệu. Chỉ tiêu theo dõi là chiều dài chồi (cm), số chồi/cây, màu sắc chồi.

Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng sắn dây lên sự ra rễ của lan Thạch hộc tía

Vật liệu sử dụng là bình chồi ở thí nghiệm khảo sát môi trường tạo chồi có bổ sung bột sắn dây, số lượng là 3 mẫu/1 bình. Các chồi dài 2,5cm của mẫu Lan thạch hộc tía được cấy chuyền vào môi trường 5%/l TQ + 20g/l glucose + 8,0g/l agar và bổ sung hàm lượng sắn dây theo các tỷ lệ: 0g/l, 5g/l, 10g/l, 20g/l, 30g/l, 40g/l, 50g/l, sau 8 tuần nuôi cấy sẽ tiến hành lấy số liệu. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ chồi tạo rễ/1bình (%), số rễ/1 chồi, chiều dài rễ (cm).

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Stagraphics và Microsoft excel 2010.

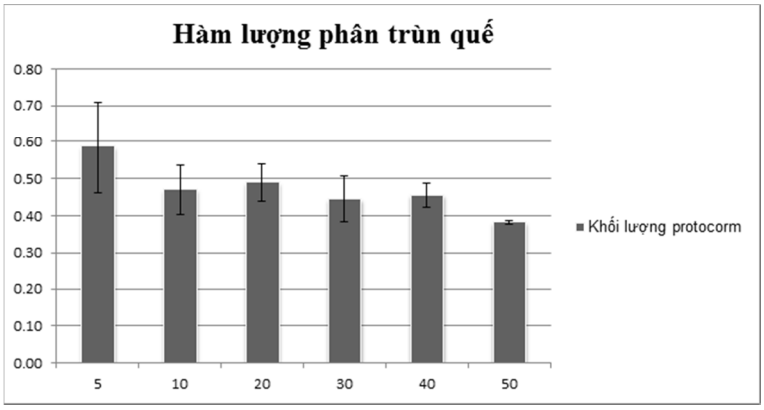
3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng phân trùn quế lên sự thay đổi khối lượng tươi của lan Thạch hộc tía

Kết quả khảo sát sự thay đổi khối lượng tươi của lan Thạch hộc tía được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1: Ảnh hưởng của hàm lượng phân trùn quế lên sự thay đổi khối lượng tươi của lan Thạch hộc tía

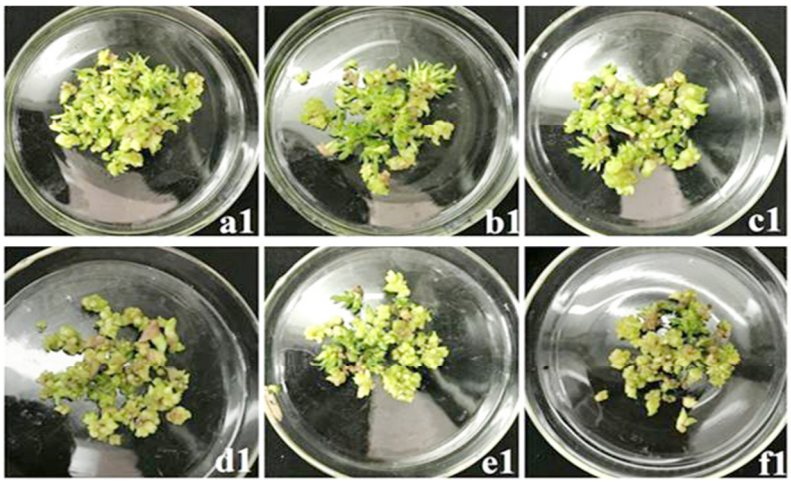
Hàm lượng phân trùn quế (%/l)	Khối lượng mẫu ban đầu (g)	Khối lượng protocorm (g)	Đặc điểm protocorm
5	0,2	0,59 ± 0,12	Xanh, mập
10		0,47 ± 0,07	Xanh, ốm
20		0,49 ± 0,05	Xanh nhạt, mập
30		0,44 ± 0,06	Vàng xanh, ốm
40		0,46 ± 0,03	Vàng xanh, ốm
50		0,38 ± 0,00	Vàng xanh, ốm



Hình 1. Ảnh hưởng của hàm lượng phân trùn quế lên sự thay đổi khối lượng tươi của lan Thạch hộc tía

Theo bảng 1, hình 1 và hình 2, sau 4 tuần nuôi cấy cho thấy các nghiệm thức được nuôi cấy trên môi trường phân trùn quế đạt tỷ lệ sống sót 100%, các mẫu cấy có sự khác biệt về mặt thống kê *P<0.05 khi thay đổi hàm lượng phân trùn quế. Mẫu cấy trên môi trường phân trùn quế 5%/l cho khối lượng tươi gia tăng cao nhất đạt 0,59 g/bình tăng 2,95 lần so với khối lượng mẫu cấy ban đầu, đặc điểm protocorm thu nhận khả quan các cụm protocorm mập và xanh. Để lý giải cho kết quả này thì theo Nguyễn Kim Thanh [5] các nguyên tố N, S, P, Ca làm tăng đường kính mạch rây. N, P, S, Mg làm tăng hoạt động quang hợp ngoài ra K và B có chức năng điều chỉnh dòng vận chuyển chất hữu cơ, việc kết hợp các thành phần này giúp cho cây phát triển tốt và đạt năng suất cao. So sánh với các hàm lượng khoáng này trong bảng phân tích hàm lượng phân trùn quế [10] thì có thể thấy rằng phân trùn quế có đầy đủ các chất cần thiết để cây trồng phát triển tốt. Khi tăng hàm lượng phân trùn quế từ 10 – 50%/l thì khối lượng tươi của mẫu cấy giảm, khối lượng tươi gia tăng thấp nhất khi sử dụng phân trùn quế hàm lượng 50% là 0,38 g/bình, đồng thời đặc điểm protocorm thu nhận có màu vàng xanh và các cụm protocorm không mập điều này có thể giải thích do hàm lượng phân trùn quế

quá cao, môi trường có độ cứng cao và độ ẩm thấp dẫn đến việc hạn chế sự hấp thu các chất khoáng. Vậy hàm lượng phân trùn quế được sử dụng làm môi trường nền trong nuôi cấy *in vitro* lan Thạch hộc tía là TQ 5%/l + 8,0 g/l agar + 20 g/l glucose.



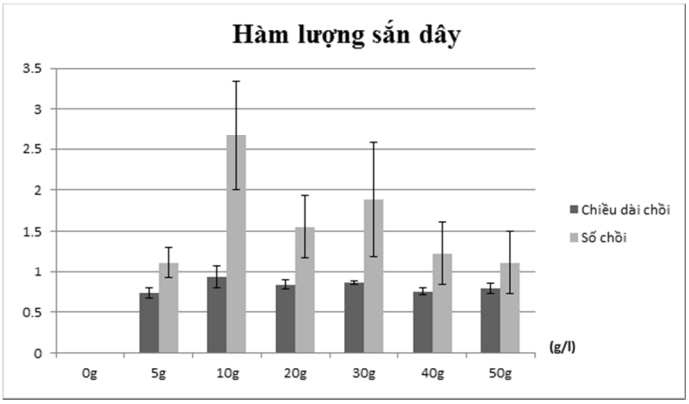
Hình 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng phân trùn quế lên sự thay đổi khối lượng tươi protocorm lan Thạch hộc tía: **a1.** 5%/l TQ, **b1.** 10% TQ, **c1.** 20%/l TQ, **d1.** 30%/l TQ, **e1.** 40%/l TQ, **f1.** 50%/l TQ

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng sắn dây lên sự nhân chồi của lan Thạch hộc tía

Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 3 và hình 4.

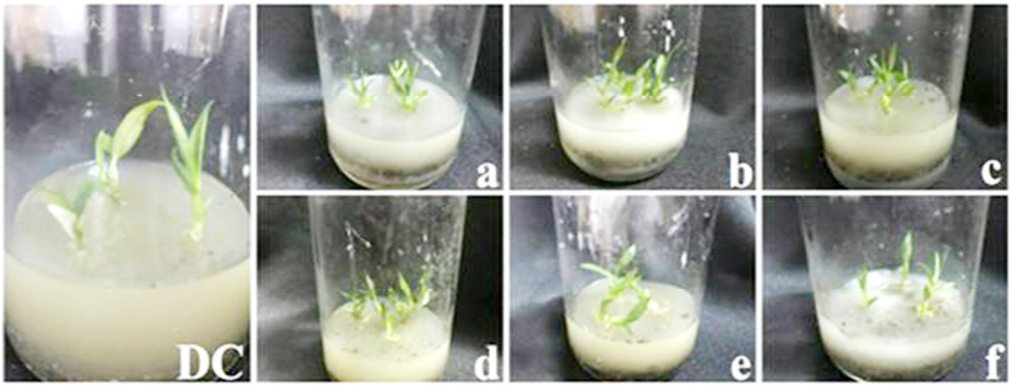
Bảng 2. Ảnh hưởng của các hàm lượng sắn dây lên sự nhân chồi lan Thạch hộc tía

Hàm lượng sắn dây (g/l)	Chiều dài chồi (cm)	Số chồi (chồi)	Màu sắc chồi
0	0	0	
5	0,73 ± 0,06	1,11 ± 0,19	Xanh đậm
10	0,94 ± 0,14	2,67 ± 0,67	Xanh đậm
20	0,84 ± 0,06	1,56 ± 0,38	Xanh đậm
30	0,86 ± 0,02	1,89 ± 0,69	Xanh đậm
40	0,75 ± 0,04	1,22 ± 0,38	Xanh đậm
50	0,79 ± 0,06	1,11 ± 0,38	Xanh đậm



Hình 3. Ảnh hưởng của các hàm lượng sắn dây lên sự nhân chồi của lan Thạch hộc tía

Từ kết quả ở bảng 2 và hình 3 cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê *P<0,05 đối với các nghiệm thức sử dụng hàm lượng bột sắn dây khác nhau, các mẫu cấy trên môi trường cho kết quả cao nhất ở hàm lượng bổ sung 10 g/l SD có tổng số chồi trung bình 2,67 chồi/mẫu với chiều dài chồi trung bình 0,93 cm/chồi, đạt ít nhất ở nghiệm thức sử dụng hàm lượng bột sắn dây 50 g/l bột SD có tổng số chồi trung bình là 1,1 chồi/cây với chiều dài chồi trung bình là 0,73cm/chồi, hệ số nhân chồi ở thí nghiệm đối chứng (ĐC) không xảy ra. Điều này cho thấy rằng thành phần dinh dưỡng trong sắn dây như Fe, P và Ca [2] có khả năng nhân chồi kết hợp trên môi trường nền phân TQ trong quá trình nhân giống lan Thạch hộc tía. Như vậy kết quả cho thấy sử dụng hàm lượng bột SD 10 g/l + 5%/l TQ + 8,0 g/l agar + 20 g/l glucose đem lại hiệu quả cao trong việc nhân nhanh chồi lan Thạch hộc tía.



Hình 4. Kết quả khảo sát hàm lượng sắn dây lên sự nhân chồi của lan Thạch hộc tía trên môi trường cơ bản chứa phân trùn quế; **dc.** 0 g/l SD, **a.** 5 g/l SD, **b.**10 g/l SD, **c.** 20 g/l SD, **d.** 30 g/l SD, **e.** 40 g/l SD, **f.** 50 g/l SD

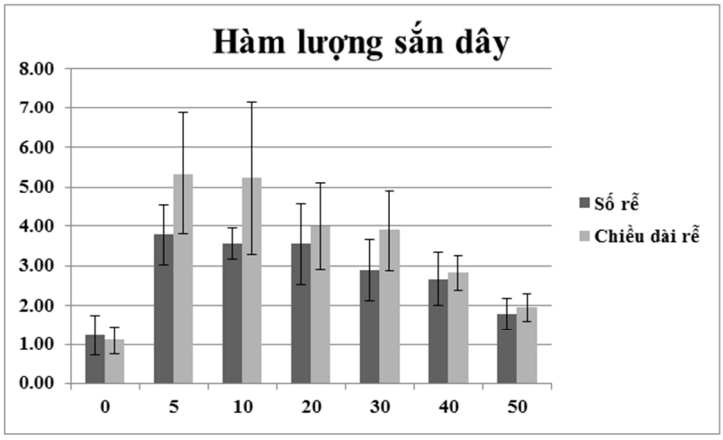
Kết quả khảo sát ảnh hưởng hàm lượng sắn dây lên sự ra rễ của lan Thạch hộc tía

Kết quả được trình bày ở bảng 3, hình 5 và hình 6.

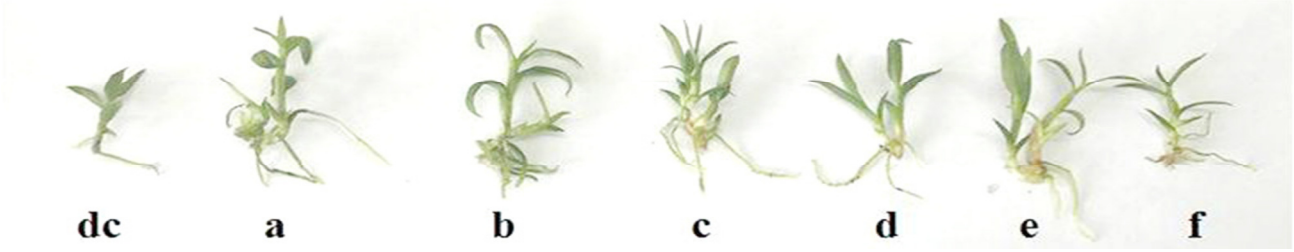
Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng sắn dây lên sự ra rễ của lan Thạch hộc tía

Hàm lượng sắn dây (g/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ (rễ)
0	100%	1,11 ± 0,35	1,22 ± 0,51
5		3,78 ± 1,53	5,33 ± 0,77
10		3,56 ± 1,95	5,22 ± 0,38
20		3,56 ± 1,09	4,00 ± 1,02
30		2,89 ± 1,02	3,89 ± 0,77
40		2,67 ± 0,44	2,82 ± 0,67
50		1,78 ± 0,35	1,94 ± 0,38

Từ kết quả bảng 3 và hình 5 và hình 6 cho thấy sau 8 tuần nuôi cấy thì môi trường có bổ sung hàm lượng sắn dây là 5 g/l cho kết quả cao nhất với tỷ lệ tạo rễ là 100%, chiều dài rễ là 3,78 cm/cây và số rễ hình thành là 5,33 rễ/cây, cao hơn so với các hàm lượng sắn dây 0 g/l, 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l, 50 g/l. Kết quả trên cho thấy thành phần dinh dưỡng trong sắn dây như Fe, P và Ca [2] có khả năng cho ra rễ kết hợp trên môi trường nền phân TQ trong quá trình nhân giống lan Thạch hộc tía, kết quả có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê *P<0.05 đối với các nghiệm thức sử dụng hàm lượng bột sắn dây khác nhau. Như vậy sử dụng hàm lượng bột SD 5g/l + 5%/l TQ + 8,0 g/l agar + 20 g/l glucose đem lại hiệu quả cao trong việc cho ra rễ từ chồi lan Thạch hộc tía.



Hình 5: Ảnh hưởng của hàm lượng sắn dây lên sự ra rễ của lan Thạch hộc tía



Hình 6. Kết quả khảo sát hàm lượng sắn dây lên sự ra rễ của lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo) trên môi trường cơ bản chứa phân trùn quế; **dc**. 0g/l SD, **a.** 5g/l SD, **b.** 10g/l SD, **c.** 20 g/l SD, **d.** 30g/l SD, **e.** 40g/l SD, **f.** 50g/l SD

4. KẾT LUẬN

Môi trường có bổ sung phân TQ thích hợp làm môi trường nền cơ bản cho lan Thạch hộc tía là 5%/l TQ + 8 g/l agar + 20 g/l glucose, thu được khối lượng tươi protocorm là 0,58 g/1 bình cấy.

Môi trường thích hợp để nhân nhanh thể chồi 5%/l TQ + 10 g/l SD + 8 g/l agar + 20 g/l glucose cho hệ số nhân chồi là 2,67 chồi/cây với chiều cao chồi trung bình 0,93 cm/chồi

Môi trường tạo rễ là 5%/l TQ + 5 g/l SD + 8 g/l agar + 20 g/l glucose cho kết quả cao với chiều dài rễ đạt 3,78 cm/cây và số rễ hình thành là 5,33 rễ/cây

Quy trình nuôi cấy *in vitro* Lan thạch hộc tía trên môi trường hữu cơ chứa phân trùn quế kết hợp với bột sắn dây như sau: protocorm Lan thạch hộc được cấy trên môi trường nền cơ bản, sau đó cấy chuyền chồi tạo được qua môi trường nhân chồi rồi tiếp tục cấy chuyền sang môi trường tạo rễ với thành phần môi trường như trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thanh Thuận (2015), Giá trị dược liệu của cây lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale*), Tạp chí Đại học Thủ Dầu Một, (6).

2. Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam, Nhà xuất Bản Y Học, 2007, tr.44

3. Bartsch H., Ohshima H., Pignatelli B. (1988), Inhibitors of endogenous nitrosation: mechanisms and

implications in human cancer prevention. *Mutation Research,* 202,307-324.

4. Ding G., Zhang D.Z., Ding X.Y., Zhou Q., Zhang, W.C., Li X.X (2008), Genetic variation and conservation of the endangered Chinese endemic herb *Dendrobium officinale* based on SRAP analysis.Plant Syst, Evol. 276, 149–156.

5. Hoàng Minh Tấn (2006), Giáo trình sinh lý thực vật, Nhà xuất bản Giáo Dục, tr.125-127.

6. Ngô Xuân Bình, Nuôi Cấy Mô Tế Bào Thực Vật Cơ sở lý luận và ứng dụng, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, tr.45 – 47.

7. Nguyễn Thị Sơn, Từ Bích Thủy, Đặng Thị Nhàn, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga, Nguyễn Quang Thạch (2014), Nhân giống *in vitro* lan *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo (Thạch hộc thiết bì), Tạp chí Khoa học và Phát triển, tập 12, (8), tr. 1274-1282.

8. Phạm Thị Lệ Huyền (2015), *Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung tinh bột Sắn dây đến sinh trưởng, phát triển và đặc điểm kiểu hình của lan Dendrobium in vitro.* khóa luận tốt nghiệp kỹ sư công nghệ sinh học. Trường Đại Học Nông Lâm TP HCM

9. Phan Thị Thu Hằng (2008), Nghiên cứu hàm lượng Nitrat và kim loại nặng trong đất, nước, rau và một số biện pháp nhằm hạn chế sự tích lũy của chúng trong rau tại Thái Nguyên, Đại học Thái Nguyên.

10. Thành phần hóa học phân Trùn Quế công ty cổ phần TRÙN QUẾ CỦ CHI 15/04/2017 thử nghiệm tại TRUNG TÂM DỊCH VỤ PHÂN TÍCH THÍ NGHIỆM TP.HCM

SET UP THE PROCESS OF *IN VITRO* CULTURING OF *Dendrobium officinale* kimura *et* MIGO ON ORGANIC MEDIA CONTAINED *Perionyx excavatus* COMBINED *Pueraria thomsoni*

ABSTRACT

Experiment on the complete *in vitro* culturing of *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo on basic vermicompost medium and Kudzu starch rates to stimulate shoot regeneration and root of *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo, to contribute to decrease cost of seedling but they are still growing normally. Simultaneously, bringing clean seedling into extract studies of compounds which have medicinal value. In this study, 0.2g protocorm has been used for vercompost content dertermination research as basic medium. Use of *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo shoots which have 1.5cm and 2.5cm height for shoot's test and root's test add different Kudzu starch rates contents. The result showed that protocorn *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo was the best on 5%/l vermicompost medium with 8g/l agar with 20g/l glucose got result 0,58g/flask. Capability of *in vitro* shoot multiplication was *the highest* (2.67shoots/sample, 0.93cm in shoot length each) on vermicompost medium with 5%/l vermicompost medium with 10g/l Kudzu starch rates with 8g/l agar with 20g/l glucose. After 8 weeks, the highest frequency of roots (5.33 roots/sample) was observed in the 5%/l vermicompost medium with 10g/l Kudzu starch rates with 8g/l agar with 20 g/l glucose.

Keywords: *Dendrobium officinale* Kimura *et* Migo*;Penionyx excavates, Pueraria thomsoni, in vitro*

ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU LƯỢNG BÓN KALI ĐẾN NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG HAI GIỐNG KHOAI LANG TÍM (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) TẠI HUYỆN BÌNH TÂN, TỈNH VĨNH LONG

Lê Văn Hòa[1*], Phạm Thị Phương Thảo[1], Phan Hữu Nghĩa[1], Lê Thị Hoàng Yến[1], Trà Võ Quốc Lâm[2], Hà Thị Như Ngọc[2] và Lê Anh Duy[2]

[1] Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ;

[2] Sinh viên Trường Đại học Cần Thơ

** Email: lvhoa@ctu.edu.vn*

TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định hiệu quả của các liều lượng bón kali đến năng suất và chất lượng của hai giống khoai lang tím (KLT) (*Ipomoe batatas* (L.) Lam.) tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên, hai nhân tố, ba lần lawjp lại, các nghiệm thức là tổ hợp của năm liều lượng bón phân kali khác nhau (0, 100, 150, 200 và 250 kg K_2O/ha) trên hai giống khoai lang tím HL491 (Việt Nam) và giống khoai lang tím Lord (Nhật). Kết quả cho thấy, việc bổ sung kali từ liều lượng từ 100 kg K_2O/ha đã làm tăng năng suất tổng và năng suất thương phẩm của hai giống khoai lang tím. Sử dụng kali từ 200 đến 250 kg K_2O/ha đã giúp gia tăng hàm lượng đường tổng số, anthocyanin và flavonoid của cả hai giống KLT nhưng không làm thay đổi hàm lượng chất khô và tinh bột. Khi bón phân NPK ở liều lượng 100-80-250 kg/ha cho giống HL 491 và NPK 100-80-200 kg/ha cho giống KLT Lord giúp gia tăng lợi nhuận so với một số nghiệm thức còn lại.

Từ khóa: chất lượng củ, khoai lang tím, năng suất củ, phân kali.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai lang (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) là cây lương thực được sử dụng với vai trò là rau lẫn lương thực quan trọng (Parle-Milind và Monika, 2015). Tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), diện tích canh tác khoai lang tím ngày càng tăng nhanh do giá trị kinh tế cao so với một số loại nông sản khác, đặc biệt vùng chuyên canh khoai lang tím tại huyện Bình Tân – tỉnh Vĩnh Long có diện tích lớn nhất vùng ĐBSCL (Niên giám thống kê, 2013). Tuy là vùng sản xuất chuyên canh nhưng nông dân canh tác khoai lang tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long chủ yếu dựa vào kinh nghiệm nên năng suất không ổn định và chất lượng khoai chưa cao do nông dân sử dụng phân bón cho khoai lang chưa phù hợp và cân đối (Nguyễn Xuân Lai, 2011; Lê Thị Thanh Hiền, 2014). Phân kali đóng vai trò quan trọng trong việc gia tăng số củ, năng suất và chất lượng một số loại cây trồng cho củ như khoai lang, khoai mì, khoai tây... (Degras, 2003; Trehan, 2007; Nguyễn Viết Hưng *và cs.*, 2010). Nhu cầu kali của các giống khoai lang không giống nhau, cung cấp lượng phân kali cho khoai lang với liều lượng trên 120 - 160 kg K/ha đã giúp tăng chiều dài dây, số nhánh, số lá/dây, khối lượng khô và khối lượng tươi của củ khi thu hoạch gấp 7 đến 8 lần so với không bổ sung kali (Uwah *et al*., 2013); đồng thời, liều lượng bổ sung kali cũng thay đổi tùy theo giống cũng như đặc tính canh tác của từng vùng, miền (Degras, 2003; Nguyễn Viết Hưng *và cs.*, 2010). Theo Lê Thị Thanh Hiền *và cs.* (2015, 2016), phân kali đóng vai trò quan trọng trong việc gia tăng năng suất khoai lang và bổ sung kali ở liều lượng 200 kg K_2O/ha giúp giống khoai lang tím Nhật tại địa phương đạt năng suất 30,7 tấn/ha. Hiện nay, bên cạnh việc đa dạng hóa các giống khoai lang tím có hàm lượng tinh bột và anthocyanin cao thì việc nghiên cứu điều kiện phân bón cụ thể nhằm nâng cao năng suất cũng như chất lượng của từng giống khoai lang cần được quan tâm (Phạm Thị Phương Thảo *và cs.*, 2016). Vì vậy, đề tài được thực hiện nhằm nghiên cứu ảnh hưởng của liều lượng kali đến năng suất và chất

lượng và lợi nhuận của hai giống khoai lang tím được tuyển chọn từ bộ sưu tập giống khoai lang tím phù hợp cho điều kiện huyện Bình Tân, tĩnh Vĩnh Long.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương tiện

Thí nghiệm được bố trí trên đất phù sa ven sông (pH: 6,30; Chất hữu cơ 2,39%; 0,155% N; 0,102% P_2O_5; 0,174 meq/100 g Kali trao đổi và 7,75 meq/100 g Calcium trao đổi) tại ấp Thành Nghĩa, xã Thành Lợi, huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long và phòng thí nghiệm nghiệm Bộ môn Sinh lý Sinh Hóa, Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ từ tháng 11/2015 - tháng 05/2016

- Đối tượng khảo sát: hai giống khoai lang tím (giống KLT Nhật HL491 phổ biến được trồng ở Vĩnh Long, có nguồn gốc Nhật Bản do Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc nhập nội năm 1994 và được trồng nhiều tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long từ năm 2002) và giống KLT Lord có nguồn gốc từ Nhật được sưu tập và nhân giống tại ruộng thí nghiệm từ năm 2014. Các giống khoai lang tím đã được khảo sát có thời gian xuống củ khoảng 35-45 ngày; thời gian thu hoạch đạt năng suất trên 10 t/ha khoảng 147 ngày sau khi trồng.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên, thừa số hai nhân tố gồm: nhân tố (A) là 5 mức độ bổ sung phân kali: 0 kg K_2O/ha, 100 kg K_2O/ha, 150 kg K_2O/ha, 200 kg K_2O/ha, 250 kg K_2O/ha. Tất cả nghiệm thức điều được bổ sung 100 kg N/ha và 80 kg P_2O_5/ha. Phân bón sử dụng: KCl (phân kali sử dụng có chứa 60% K_2O), DAP (18-46-0), Urea (có chứa 46% N); nhân tố (B) là hai giống KLT: giống KLT HL491 và KLT Lord.

Thí nghiệm có 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 lô thí nghiệm, tương ứng với 30 đơn vị thí nghiệm (5 mức độ phân bón, 2 giống khoai, 3 lần lặp lại). Mỗi đơn vị thí nghiệm có diện tích 5 m^2 (chiều rộng 1 m: luống 0,7 m, rãnh 0,3 m; chiều dài: 5 m). Chọn dây giống khỏe mạnh, không sâu bệnh, dài 25 – 30 cm, có 6 – 8 mắt, lóng ngắn. Đặt hom chỗ mát 1 – 2 ngày (sau khi cắt). Khi trồng, đặt hom nằm ngang và sâu khoảng 10 cm, 2/3 hom được chôn sâu. Đặt 3 hàng hom trên một luống, nối tiếp nhau với mật độ 150.000 hom/ha. Phân bón được bổ sung vào các thời điểm 7 ngày sau khi trồng (SKT), 15-20 ngày SKT, 50-55 ngày SKT, 70-75 ngày SKT, 90-95 ngày SKT. Lượng nước tưới đảm bảo đất đủ ẩm, tưới bằng vòi phun, cắt dây khoai lang (khoảng 50 cm) ở thời điểm khoảng 40 và 70 ngày SKT hạn chế phát triển thân lá để tập trung dinh dưỡng vào tạo củ. Khoai lang được thu hoạch ở thời điểm 150 ngày sau khi trồng. Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng (số liệu không trình bày), các chỉ tiêu năng suất và chất lượng được đánh giá theo Bảng 1.

Bảng 1. Các chỉ tiêu theo dõi ở thời điểm thu hoạch và sau thu hoạch (STH)

TT	Chỉ tiêu	Phương pháp và dụng cụ phân tích
1	Khối lượng dây/m^2	Cân tổng khối lượng thân lá/m^2
2	Số củ thương phẩm/m^2	Đếm số củ củ thương phẩm/m^2 (củ có khối lượng lớn hơn 50 g).
3	Năng suất	Cân khối lượng toàn bộ củ/m^2. Quy năng suất về đơn vị tấn/ha
4	Năng suất thương phẩm	Cân toàn bộ số củ thương phẩm/m^2, quy về tấn/ha.
5	Độ Brix	Cân 1 g mẫu thêm 1 ml nước cất, lọc qua giấy lọc, đo trên máy đo độ Brix Milwaukee Refractometer
6	Hàm lượng đường tổng số	Theo phương pháp Dubois *et al.* (1956)
7	Hàm lượng tinh bột	Theo phương pháp Dubois *et al.* (1956)
8	Hàm lượng anthocyanin (mg CGE/ 100 g khô)	Theo phương pháp pH vi sai (Steed và Truong, 2008). Quy chuẩn theo nồng độ Cyanidin-3-glycoside equivalent (CGE).
9	Hàm lượng flavonoid (µg quercetin/mL)	Theo phương pháp Mohammed *et al.* (2015)
10	Hàm lượng chất khô thịt củ (%)	Cân 10 g thịt củ, sấy ở 55^oC đến khối lượng không đổi.

Xử lý số liệu bằng chương trình SPSS 21.0, phân tích phương sai, so sánh các giá trị trung bình bằng phép thử DUNCAN ở mức ý nghĩa 5% hoặc 1%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của liều lượng phân kali lên các chỉ tiêu năng suất của hai giống khoai lang tím

Kết quả nghiên cứu cho thấy, bổ sung kali giúp gia tăng khối lượng dây ở thời điểm thu hoạch (Bảng 2). Việc gia tăng chiều dài dây, số lá và số nhánh trên dây (số liệu không trình bày) đã góp phần làm gia tăng khối lượng dây ở thời điểm thu hoạch. Kết quả phù hợp với nhận định của một số tác giả về vai trò của phân kali trong việc gia tăng sinh khối và các chỉ tiêu sinh trưởng của nhiều loại cây trồng (Njoku *et al.*, 2001; CFAITC, 2009).

Bảng 2. Khối lượng dây (kg/m^2) tại thời điểm thu hoạch

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Giống (B)		TB phân bón (A)
	KLT HL491	KLT Lord	
100-80-0	1,65	1,17	1,41 c
100-80-100	2,01	2,01	2,01 a
100-80-150	1,70	1,65	1,67 b
100-80-200	1,99	2,00	1,99 a
100-80-250	1,96	2,06	2,01 a
TB giống (B)	1,86	1,78	
F (A)	**		
F (B)	ns		
F (A*B)	ns		
CV (%)	9,20		

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%; ns: không khác biệt.*

Năng suất thương phẩm và năng suất tổng của cả hai giống khoai lang đều gia tăng khi được bổ sung kali từ liều lượng 100 kg K_2O trở lên (Bảng 3 và Bảng 4). Khi xét tương tác về ảnh hưởng của liều lượng phân bón đến năng suất củ thương phẩm của hai giống KLT cho thấy, bổ sung K_2O ở liều lượng 150, 200 và 250 kg/ha giúp giống KLT HL 491 đạt năng suất cao nhất, gần gấp đôi so với nghiệm thức đối chứng. Trong khi đó, đối với giống KLT Lord, năng suất thương phẩm cao nhất được ghi nhận khi bổ sung K_2O ở liều lượng 200 và 250 kg K_2O/ha (Bảng 3).

Bảng 3. Năng suất củ thương phẩm (tấn/ha) của hai giống KLT

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Giống (B)		TB phân bón (A)
	KLT HL491	KLT Lord	
100-80-0	11,2 e	12,4 e	11,8 c
100-80-100	19,4 bc	17,5 cd	18,5 b
100-80-150	23,8 a	17,2 d	20,5 ab
100-80-200	20,2 ab	24,9 a	22,6 ab
100-80-250	24,1 a	22,7 ab	23,4 a
TB giống (B)	19,7	18,9	
F (A)	**		
F (B)	ns		
F (A*B)	**		
CV (%)	12,7		

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%; ns: không khác biệt.*

Kết quả thí nghiệm cho thấy, năng suất tổng của hai giống khoai lang tím không khác biệt qua phân tích thống kê (Bảng 4). Tổng năng suất củ của hai giống khoai lang tím khi bổ sung K_2O ở nồng độ 250 kg/ha có năng suất (31,1 tấn/ha) cao nhất, khác biệt so với nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức còn lại (Bảng 4). Tuy nhiên, khi xét sự tương tác giữa giống và các nghiệm thức bổ sung kali với các liều lượng khác nhau cho thấy, giống KLT HL 491 đạt năng suất tổng cao nhất khi bổ sung 150 và 250 kg K_2O/ha và giống KLT Lord đạt năng suất tổng cao nhất (30 tấn/ha) khi bổ sung 200 kg K_2O/ha, tuy nhiên không khác biệt với nghiệm thức bổ sung kali ở liều lượng cao hơn.

Bảng 4. Năng suất tổng (tấn/ha) của hai giống KLT tại thời điểm thu hoạch

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Giống (B)		TB phân bón (A)
	KLT HL491	KLT Lord	
100-80-0	14,4 e	16,9 de	15,6 c
100-80-100	23,9 bc	23,5 bc	23,7 b
100-80-150	30,8 a	21,7 cd	26,3 b
100-80-200	25,5 b	30,0 a	27,8 ab
100-80-250	32,6 a	29,7 ab	31,1 a
TB giống (B)	25,4	24,4	
F (A)	**		
F (B)	ns		
F (A*B)	*		
CV (%)	12,4		

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; ** và *: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% và 5%; ns: không khác biệt.*

Theo Adhikary và Karki (2006) và El-Baky *et al*. (2010), việc bổ sung kali đóng vai trò quan trọng trong việc gia tăng sự hấp thu đạm, thúc đẩy quá trình chuyển hóa các sản phẩm quang hợp thành tinh bột trong củ giúp cải thiện năng suất khoai lang. Ngoài ra, phân kali có tác dụng đẩy mạnh quá trình hoạt động của rễ và tượng tầng, đẩy mạnh khả năng quang hợp, hình thành và vận chuyển hydrat carbon về rễ (Adhikary và Karki, 2006; Nguyễn Viết Hưng *và cs.*, 2010; Liu *et al*., 2013). Thiếu kali sẽ làm củ khoai chậm lớn, ít củ, tỷ lệ tinh bột giảm, tỷ lệ xơ tăng (Trịnh Xuân Ngọ và Đinh Thế Lộc, 2004). Kết quả này phù hợp với nhận định của Lê Thị Thanh Hiền *và cs.* (2016) về hiệu quả của phân kali trong việc gia tăng tỷ lệ năng suất củ thương phẩm so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung kali.

3.2. Ảnh hưởng của liều lượng phân kali lên chất lượng của hai giống khoai lang tím

Theo kết quả Bảng 5, giống KLT Lord có các chỉ tiêu chất lượng về độ Brix, hàm lượng chất khô và hàm lượng đường tổng số cao hơn giống KLT HL 491 nhưng không khác biệt với giống KLT HL491 về hàm lượng đường tổng số. Các chỉ tiêu về độ Brix, hàm lượng chất khô và hàm lượng đường tổng số của hai giống KLT khi được bón kali với liều lượng từ 150 kg K_2O/ha có xu hướng cao hơn đối chứng nhưng không khác biệt qua phân tích thống kê. Tuy nhiên, hàm lượng đường tổng số của các nghiệm thức bổ sung 150, 200 và 250 kg K_2O/ha cho kết quả cao (trên 78 mg/g TLT), khác biệt với mức ý nghĩa 5% so với đối chứng và nghiệm thức bổ sung 100 kg K_2O/ha. Theo George *et al.* (2002), khi bổ sung kali ở dạng K_2SO_4 (54% K_2O) với liều lượng từ 0 – 600 kg/ha cho thấy việc gia tăng liều lượng bón kali đã đóng vai trò quan trọng trong việc gia tăng độ Brix, hàm lượng chất khô và một số đặc tính phẩm chất củ khoai lang, đồng thời mức độ thể hiện của các giống cũng khác nhau đối với từng liều lượng kali. Bổ sung kali giúp làm gia tăng hàm lượng chất khô và đường tổng số cũng được ghi nhận qua nghiên cứu của El-Baky *et al.* (2010) và Uwah *et al.* (2013).

Bảng 5. So sánh sự khác biệt về độ Brix (%), hàm lượng chất khô (%), hàm lượng đường tinh bột (mg/g TLT) và hàm lượng tổng số (mg/g TLT) giữa các mức độ phân bón và giữa hai giống KLT tại thời điểm thu hoạch

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Độ Brix	Hàm lượng chất khô	Hàm lượng tinh bột	Đường tổng số
100-80-0	3,17	34,8	276,1	72,1 c
100-80-100	3,13	35,6	290,2	74,6 bc
100-80-150	3,60	36,2	293,6	78,8 ab
100-80-200	3,25	35,5	311,8	80,9 a
100-80-250	3,48	38,1	293,9	82,4 a
TB giống (B)				
KLT HL491	3,17 b	33,2 b	270,1 b	76,7
KLT Tím Lord	3,48 a	38,9 a	316,0 a	78,8
F (A)	ns	ns	ns	*
F (B)	*	**	**	ns
F (A*B)	ns	ns	ns	ns
CV (%)	12,5	8,19	7,23	6,54

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; ** và *: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% và 5%; ns: không khác biệt.*

Hàm lượng anthocyanin có sự khác biệt giữa 2 giống KLT ở mức ý nghĩa 1%, giống khoai lang tím HL491 cho hàm lượng anthocyanin (24,2 mg/100 g TLT) cao hơn giống KLT Lord (15,0 mg/100 g TLT). Việc bổ sung kali với liều lượng cao khoảng 200 đến 250 kg K_2O/ha có xu hướng làm tăng hàm lượng anthocyanin của giống KLT HL491 so với đối chứng (Bảng 6). Hàm lượng anthocyanin trong thịt củ của giống tím HL 491 khi được bổ sung K_2O ở nồng độ 250 kg/ha có hàm lượng anthocyanin cao nhất (31,3 mg/100 g TLT), khác biệt so với các nghiệm thức còn lại trong cùng giống và cao hơn gấp đôi so với nghiệm thức không bổ sung kali của giống KLT Lord. Tương tự chỉ tiêu anthocyanin, kết quả Bảng 7 cho thấy hàm lượng flavonoid của giống HL491 cao hơn giống KLT Lord. Việc bổ sung kali có liều lượng cao cũng làm tăng hàm lượng flavonoid, trong đó nghiệm thức bổ sung K_2O 150, 200 và 250 kg/ha có hàm lượng flavonoid trên 146 (µg quercetin/mL) cao hơn nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, không có sự tương tác giữa các liều lượng bổ sung kali và hai giống.

Bảng 6. Hàm lượng anthocyanin (mg/100 g TLT) trong thịt củ KLT

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Giống (B)		TB phân bón (A)
	KLT HL491	KLT Lord	
100-80-0	21,0 c	13,2 d	17,1 c
100-80-100	20,4 c	15,0 d	17,7 c
100-80-150	22,9 bc	14,6 d	18,8 bc
100-80-200	25,4 b	16,0 d	20,7 a
100-80-250	31,3 a	16,1 d	23,7 a
TB giống (B)	24,2 a	15,0 b	
F (A)	**		
F (B)	**		
F (A*B)	**		
CV (%)	8,61		

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%.*

Đối với các giống khoai lang tím, hàm lượng anthocyanin đóng vai trò quan trọng quyết định màu sắc của thịt củ (Truong *et al.*, 2012). Theo nghiên cứu của Terahara *et al.* (2004) và Truong *et al.* (2012), thịt củ khoai lang tím có chứa nhiều anthocyanin, là hợp chất màu tự nhiên có vai trò chống oxy hóa, giúp hỗ trợ chữa bệnh ung thư, viêm, lão hóa, tăng sức đề kháng cho cơ thể... Các giống khoai lang tím khác nhau có sự khác biệt về hàm lượng anthocyanin trong thịt củ và sự thay đổi hàm lượng anthocyanin có thể do sự thay đổi của các yếu tố môi trường, chẳng hạn như: ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm, đó là điều bất lợi cho sinh tổng hợp anthocyanin trong giai đoạn thu hoạch (Oki *et al.*, 2003; Truong *et al.*, 2012). Hàm lượng anthocyanin khảo sát trong thịt củ khoai lang tím Nhật không chênh lệch lớn so với kết quả khảo sát về anthocyanin trong một số giống khoai lang tím tại Nhật (Montilla *et al.,* 2011) và Bangladesh (Ahmed *et al.,* 2010).

Bảng 7. Hàm lượng flavonoid (µg quercetin/mL) trong thịt củ KLT

Phân bón (N-P_2O_5-K_2O) (A)	Giống (B)		TB phân bón (A)
	KLT HL491	KLT Lord	
100-80-0	165,8	85,8	125,8 b
100-80-100	158,0	88,3	123,2 b
100-80-150	178,0	114,6	146,3 a
100-80-200	177,9	115,7	146,8 a
100-80-250	191,2	114,8	153,0 a
TB giống (B)	174,2 a	103,9 b	
F (A)	**		
F (B)	**		
F (A*B)	ns		
CV (%)	8,52		

*Ghi chú: Những số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%, ns: không khác biệt.*

3.3. Ảnh hưởng của việc bổ sung phân kali đến lợi nhuận thu được của hai giống khoai lang tím

Chi phí sản xuất là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến lợi nhuận của người nông dân, với số tiền thương lái thu mua KLT thương phẩm với giá 10.000 đồng/kg và giá thu mua KLT không thương phẩm là 3.000 đồng/kg sau khi trừ các chi phí chung và chi phí phân bón đã được hạch toán cho diện tích 1 ha khoảng 115,39 triệu/ha thì lợi nhuận lý thuyết nông dân thu được sau khi canh tác cũng khác nhau đối với từng giống (Bảng 8 và Bảng 9). Trong đó, giống KLT HL491 có lợi nhuận đạt được trên 100 triệu/ha khi bổ sung phân kali từ 150 kg K_2O, đạt cao nhất là khi bổ sung 250 kg K_2O/ha. Đối với giống KLT Lord, bổ sung 200 kg K_2O/ha đã giúp người nông dân đạt được lợi nhuận cao nhất (146,58 triệu/ha).

Bảng 8. Hạch toán lợi nhuận thu được đối với giống KLT HL491

Nghiệm thức phân bón	Quy đổi KCl (kg)	Năng suất TP (tấn/ha)	Năng suất không TP (tấn/ha)	Số tiền thu được (triệu đồng)	Chi phí phân KCl (triệu đồng)	Chi phí chung (triệu đồng)	Lợi nhuận thu được (triệu đồng)
Đối chứng	0	11,20	3,2	121,6	0	115,39	6,21
K_2O 100 kg/ha	167	19,40	4,5	207,5	1,17	115,39	90,94
K_2O 150 kg/ha	250	23,80	7	259	1,75	115,39	141,86
K_2O 200 kg/ha	333	20,20	5,3	217,9	2,33	115,39	102,51
K_2O 250 kg/ha	417	24,10	7,7	264,1	2,92	115,39	145,79

Giá nông sản và phân bón được tham khảo tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long vào tháng 4/2017

Bảng 9. Hạch toán lợi nhuận thu được đối với giống KLT Lord

Nghiệm thức phân bón	Quy đổi KCl (kg)	Năng suất TP (tấn/ha)	Năng suất không TP (tấn/ha)	Số tiền thu được (triệu đồng)	Chi phí phân bón KCl (triệu đồng)	Chi phí chung (triệu đồng)	Lợi nhuận thu được (triệu đồng)
Đối chứng	0	12,4	4,5	133	0	115,39	17,61
K_2O 100 kg/ha	167	17,5	6	193	1,17	115,39	76,44
K_2O 150 kg/ha	250	17,2	4,5	185,5	1,75	115,39	68,36
K_2O 200 kg/ha	333	24,9	5,1	264,3	2,33	115,39	146,58
K_2O 250 kg/ha	417	22,7	7	248	2,92	115,39	129,69

Giá nông sản và phân bón được tham khảo tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long vào tháng 4/2017

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Hai giống KLT có năng suất tương đương nhau trong thí nghiệm. Giống khoai lang tím HL491 có hàm lượng anthocyanin và flavonoid cao hơn giống khoai lang tím Lord nhưng có độ Brix, hàm lượng tinh bột và chất khô thấp hơn.

- Bổ sung kali từ liều lượng từ 100 kg K_2O/ha đã làm gia tăng khối lượng dây, tăng năng suất tổng và năng suất thương phẩm của hai giống khoai lang tím. Về chỉ tiêu chất lượng, bổ sung kali với liều lượng cao (200 và 250 kg K_2O/ha) đã làm tăng hàm lượng đường tổng số và anthocyanin của hai giống khoai lang tím.

- Khi bón phân NPK ở liều lượng 100-80-250 kg/ha cho giống KLT HL 491 và NPK 100-80-200 kg/ha cho giống KLT Lord giúp gia tăng lợi nhuận so với một số nghiệm thức còn lại.

4.2. Đề nghị

- Bổ sung kali 250 kg K_2O/ha đối với giống KLT HL491 và bổ sung từ 200 kg K_2O/ha đối với giống KLT Lord để nâng cao năng suất và phẩm chất của hai giống KLT.

- Tùy mục đích sử dụng mà lựa chọn giống KLT phù hợp: nếu cần sử dụng liên quan đến hàm lượng anthocyanin hay flavonoid thì nên sử dụng giống KLT HL491 còn nếu mục đích sử dụng cần nhiều tinh bột hay hàm lượng chất khô thì sử dụng giống Lord.

- Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung kali ở các vùng sinh thái khác nhau và trên các giống khác nhau trước khi đưa vào ứng dụng đại trà.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adhikary B.H. and K.B. Karki (2006). Effect of potassium on potato tuber production in acid soils of Malepatan, Pokhara. Nepal Agricultural Research Journal, 7: 42-48.

2. Ahmed M., Sorifa A.M. and J.B. Eun (2010). Effect of pretreatments and drying temperatures on sweet potato flour. International Journal of Food Science and Technology, 45: 726-732.

3. California Foundation for Agriculture in the Classroom (CFAITC) (2009). Plant nutrients – Potassium information. Natural Resources Fact Sheet 2.

4. Coombs J., Hind G., Leegood R.C., Tieszen L.L. and A. Vonshak (1985). Analytical techniques. In: Coombs J, Hall DO, Long SP, Scurlock JM, editors. Techniques in bioproductivity and photosynthesis. Oxford: Pergamon Press. pp. 219-228

5. Degras L. (1998). Sweet potato. The tropical agriculturalist. Oxford: Macmillan Publishers Ltd., 124 p.

6. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. and F. Smith (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry, 28(3): 350-356.

7. El-Baky A., He M.M., Ahmed A.A., El-Nemr M.A. and M.F. Zaki (2010). Effect of potassium fertilizer and foliar zinc application on yield and quality of sweet potato. Research Journal of Agriculture & Biological Sciences, 6(4): 386.

8. George M.S., Lu G. and W. Zhou (2002). Genotypic variation for potassium uptake and utilization efficiency in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). Field Crops Research, 77(1): 7-15.

9. Lê Thị Thanh Hiền (2014). Điều tra kỹ thuật canh tác và khảo sát dinh dưỡng kali, canxi trên khoai lang (*Ipomoea batatas* L.) tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số (4): 14-23.

10. Lê Thị Thanh Hiền, Lê Vĩnh Thúc và Nguyễn Bảo Vệ (2016). Ảnh hưởng của liều lượng kali bón kết hợp với đạm đến chất lượng khoai lang tím Nhật ở tỉnh Vĩnh Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ.* Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học: 42: 38-47.

11. Lê Thị Thanh Hiền, Lê Vĩnh Thúc, Trương Thị Minh Tâm và Nguyễn Bảo Vệ (2015). Ảnh hưởng của liều lượng kali bón đến sinh trưởng và năng suất khoai lang tím nhật (*Ipomoea batatas* Lam.) trên đất phèn ở huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long. Tạp chí Khoa học và Phát triển 2015, tập 13, số 4: 517-525.

12. Liu H., C. Shi, H. Zhang, Z. Wang Z. and S. Chai (2013). Effect of potassium on yield, photosynthate distribution, enzymes' activity and ABA content in storage roots of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.). Australian Journal Crop Sciences, 7(6): 735-743.

13. Mohammed S. and F.A. Manan (2015). Analysis of total phenolics, tannins and flavonoid from Moringa oleifera seed extract. Journal of Chemical and Pharmaceutacal Research, 7(1): 132-135.

14. Montilla E.C., Hillebrand S. and P. Winterhalter (2011). Anthocyanins in purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties. Fruit, vegatable, Cereal science and Biotechnology in Global Science Books. pp. 19-24.

15. Nguyễn Viết Hưng, Đinh Thế Lộc, Dương Văn Sơn và Nguyễn Thế Hùng (2010). Giáo trình cây khoai lang. NXB Nông Nghiệp.

16. Nguyễn Xuân Lai (2011). Nghiên cứu xây dựng quy trình thâm canh tổng hợp cây khoai lang vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo tổng kết kết quả thực hiện đề tài thuộc dự án khoa học công nghệ nông nghiệp vốn vay ADB. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

17. Niên giám thống kê Việt Nam năm 2013, https://gso.gov.vn/default.aspx?tabid=717. Truy cập ngày 10/11/2014.

18. Njoku J.C., Okpara D.A., and J.E. Asiegbu (2001). Growth and yield response of sweet potato to inorganic nitrogen and potassium in a tropical Ultisol. Nigerian Agricultual Journal, 32: 30-41.

19. Oki T., Osame M., Masuda M., Kobayashi M., Furuta S., Nishiba Y., Kumagai T., Sato T. and I. Suda (2003). Simple and rapid spectrophotometric method for selecting purple-fleshed sweetpotato cultivars with a high radicalscavenging activity. Breeding Science, 52: 101-107.

20. Parle-Milind and Monika (2015). Sweet potato as a super food. International Journal Research Ayurveda & Phramacy, 6(4): 557-562.

21. Phạm Thị Phương Thảo, Lê Văn Hòa, Phạm Phước Nhẫn, Phan Hữu Nghĩa, Lê Thị Hoàng Yến và Trần Thị Tuyết Trinh, 2016. Ảnh hưởng của mật độ trồng và bổ sung canxi, silic đến năng suất và chất lượng củ khoai lang tím Nhật (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Tạp chí KH Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 6(67): 59-64.

22. Purseglove J.W. (1974). Tropical Crops: Dicotyledons, Longman Groups Ltd; LonDon, pp. 80-81.

23. Steed L.E. and V.D. Truong (2008). Anthocyanin content, antioxidant activity, and selected physical properties of flowable purple-fleshed sweetpotato Purees. Journal of Food Science, 73: 215–221.

24. Terahara N., Konczak I., Ono H., Yoshimoto M. and O. Yamakewa (2004). Characterization of acylated anthocyanins in callus induced from storage root of purple-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). Journal Biomed Biotechnoly, 5: 279-286.

25. Trehan S.P. (2007). Efficiency of potassium utilization from soil as influenced by different potato cultivars in the absence and presence of green manure (*Sesbania aculeate*). Advanced in Horticultural Sciences, 21(3): 156-164.

26. Trịnh Xuân Ngọ và Đinh Thế Lộc (2004). Cây có củ và kĩ thuật thâm canh quyển 1 Cây Khoai Lang. NXB Lao động xã hội. 103 trang.

27. Truong Z.H., Thompson R.L., Yencho G.C. and K.V. Pecota (2012). Pressurized liquid extraction and quantification of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato genotypes. Journal of Food Composition and Analysis, 26(1-2): 96-103.

28. Uwah D.F., Undie U.L., John N.M. and G.O. Ukoh (2013). Growth and yield response of improved Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) varieties to different rates of potassium fertilizer in Calabar, Nigeria. Journal of Agricultural Science, 5(7): 61-69.

EFFECT OF DIFFERENT RATES OF POTASSIUM FERTILIZER ON GROWTH AND YIELD OF TWO PURPLE SWEET POTATO VARIETIES (Ipomoea batatas (L.) Lam.) AT BINH TAN DISTRICT, VINH LONG PROVINCE

ABSTRACT

Potassium is one of the most important nutrients in the production of some tuberous crops. The study was conducted to investigate the effects of different levels of potassium fertilizers (K_2O) applications on the yield and quality of of two varieties of purple sweet potatoes (PSP) (Ipomoea batatas (L.) Lam.) at Binh Tan District, Vinh Long Province. The experiment layout was randomized completely block design, in factorial arrangement with three replications. Two purple sweet potato varieties used in the experiment were HL491 from Vietnam and PSP Lord which was imported from Japan. Five rates of K_2O (0, 100, 150, 200, 250 kg K_2O/ha) combined with 100 kg N/ha - 80 kg P_2O_5 were applied. The results showed that all of the potassium applications from 100 kg K_2O/ha could increase the total yield and marketable yield of two PSP varieties. The highest K_2O dose from 200 to 250 kg K_2O/ha recorded the highest quality contents of total sugar, anthocyanin and flavonoid except the dry weight and starch content in comparison with other low doses. Potassium fertilizer application at 250 kg K_2O/ha for HL491 variety and at 200 kg K_2O/ha for PSP Lord variety combined with 100 kg N/ha - 80 kg P_2O_5/ha appeared appropriate for optimum profits.

Key words**:** potassium, Purple sweet potato, tuberous quality, tuberous yield.

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH *IN VITRO* CÂY HOA CẨM CHƯỚNG TUNDRA

Lê Văn Tường Huân*, Lương Hữu Phúc
Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế
Email: tuonghuanle@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* cây hoa cẩm chướng Tundra đã được thực hiện. Nghiên cứu tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách cây hoa cẩm chướng Tundra được thực hiện trên môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog, 1962) có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung Kinetin ở các nồng độ khác nhau. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy môi trường có bổ sung 3 mg/L Kinetin là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi từ đỉnh chồi và môi trường có bổ sung 2 mg/L Kinetin là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi từ đoạn thân mang chồi nách. Trong các môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung α-naphthaleneacetic acid (NAA) ở các nồng độ khác nhau nghiên cứu, môi trường có bổ sung 0,8 mg/L NAA là môi trường thích hợp nhất để tạo rễ cho chồi *in vitro*. Các kết quả này có thể sử dụng để nhân giống vô tính *in vitro* cây hoa cẩm chướng Tundra.

Từ khóa: cây hoa cẩm chướng Tundra, cụm chồi, đỉnh chồi, đoạn thân mang chồi nách, nhân giống vô tính *in vitro*, tạo rễ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trồng hoa và chơi hoa là một nhu cầu không thể thiếu của con người. Việc nhân giống những cây hoa đẹp, có giá trị bằng các phương pháp truyền thống đã được con người tiến hành từ lâu. Khi kỹ thuật nuôi cấy mô ra đời, nhân giống hoa *in vitro* phát triển mạnh mẽ. Nhiều loại hoa đã được nhân giống thành công, đem lại giá trị kinh tế cao như hoa lan, hoa hồng, hoa cúc, hoa cẩm chướng, hoa lily...

Hoa cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus* L.) thuộc họ cẩm chướng Caryophylaceae là một trong bốn loại hoa cắt cành có giá trị hàng đầu trên thị trường hoa thế giới và Việt Nam. Đây là một loài hoa đẹp, sang trọng, mang nhiều màu sắc. Hoa cẩm chướng được trồng như một loài hoa cắt cành hay để làm cây cảnh trong vườn, công viên [4,6,7].

Ở nước ta, hoa cẩm chướng được trồng chủ yếu ở Đà Lạt, ngoài ra còn có ở Hà Nội, Đăk Lăk… Tuy nhiên, việc sản xuất vẫn còn khá khó khăn, vấn đề cung ứng giống cho sản xuất còn hạn chế. Một phần giống cẩm chướng phải nhập từ nước ngoài với giá thành cao.

Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* ở cây hoa cẩm chướng Tundra, một giống hoa cẩm chướng ngoại nhập, có giá trị kinh tế cao nhằm có thể tạo được một số lượng lớn cây con đồng nhất trong một thời gian ngắn phục vụ cho nhu cầu sản xuất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu sử dụng trong các thí nghiệm là đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách tách từ các chồi *in vitro* có nguồn gốc từ nuôi cấy đoạn thân mang chồi nách của cây ngoài tự nhiên trên môi trường Murashige - Skoog (MS) [5].

2.2. Phương pháp nghiên cứu.

2.2.1. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Môi trường cơ bản dùng để nuôi cấy là môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau tùy theo mục đích của từng thí nghiệm.

Các thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2^0 C, cường độ ánh sáng 2.000 – 3.000 lux và thời gian chiếu sáng là 16 giờ/ngày.

2.2.2. Nghiên cứu tạo cụm chồi in vitro từ đỉnh chồi

Đỉnh chồi (khoảng 1 cm) được tách và cấy lên môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung Kinetin (Kin) với các nồng độ 0-5 mg/L để thăm dò khả năng tạo chồi của mẫu. Số liệu nghiên cứu được thu sau 6 tuần nuôi cấy. Mỗi môi trường nuôi cấy 24 mẫu.

2.2.3. Nghiên cứu tạo cụm chồi in vitro từ đoạn thân mang chồi nách

Đoạn thân mang chồi nách (khoảng 1 cm) được tách và cấy lên môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung Kinetin với các nồng độ 0-5 mg/L để thăm dò khả năng tạo chồi của mẫu. Số liệu nghiên cứu được thu sau 6 tuần nuôi cấy. Mỗi môi trường nuôi cấy 24 mẫu.

2.2.4. Nghiên cứu tạo rễ cho chồi in vitro

Các chồi (khoảng 1 cm) tách từ cụm chồi *in vitro* được cấy lên môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung α – naphthaleneacetic acid (NAA) với các nồng độ 0-3,2 mg/L để thăm dò khả năng tạo rễ. Số liệu nghiên cứu được thu sau 4 tuần nuôi cấy. Mỗi môi trường nuôi cấy 24 mẫu.

2.2.5. Xử lý thống kê

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính trung bình mẫu và phân tích Duncan's test (P<0,05).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Các đỉnh chồi của cây cẩm chướng được cấy lên môi trường có bổ sung Kin với các nồng độ khác nhau. Kết quả sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của Kin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Nồng độ Kin (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)
0	100	$1,83^{d}$	$4,47^{a}$
0,5	100	$2,86^{c}$	$4,18^{ab}$
1,0	100	$3,00^{bc}$	$4,16^{ab}$
2,0	100	$3,62^{ab}$	$3,70^{b}$
3,0	100	$4,10^{a}$	$2,93^{c}$
4,0	100	$3,63^{ab}$	$2,05^{d}$
5,0	100	$3,54^{abc}$	$1,90^{d}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với p < 0,05 (Duncan's test).

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở tất cả các môi trường đều có sự hình thành chồi. Sau 5 ngày nuôi cấy, trên tất cả các môi trường đều có sự nảy chồi. Tuy nhiên, ở các môi trường có nồng độ Kin

khác nhau thì khả năng tạo chồi là khác nhau. Ngoài ra, quan sát thấy ở môi trường MS cơ bản không có bổ sung Kin và môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kin cũng có sự tạo rễ.

Ở môi trường MS cơ bản không có bổ sung Kin, số chồi tạo thành trung bình trên mẫu cấy thấp nhất trong các môi trường nhưng chiều cao trung bình của chồi là cao nhất. Chồi xanh, hơi mảnh.

Ở môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kin, khả năng tạo chồi tăng lên. Chồi phát triển khá, xanh và cao.

Ở môi trường có bổ sung 1 mg/L Kin, chồi phát triển khá, xanh và to.

Ở môi trường có bổ sung 2 mg/L Kin, số lượng chồi tạo thành trung bình trên mẫu cấy tiếp tục tăng. Chồi phát triển tốt, xanh, to và đều.

Môi trường có bổ sung 3 mg/L Kin cho khả năng tạo cụm chồi tốt nhất, số chồi trung bình tạo thành nhiều nhất (4,10 chồi/mẫu cấy). Chồi phát triển rất tốt, xanh, to, và đều (Hình 1).

Khả năng tạo chồi giảm ở các môi trường có bổ sung 4 mg/L và 5 mg/L Kin. Xuất hiện một số chồi bất thường (bị thủy tinh hóa).

Như vậy, môi trường có bổ sung 3 mg/L Kin là môi trường tốt nhất để tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi.

Hình 1. Tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi trên môi trường có bổ sung 3 mg/L Kin sau 6 tuần nuôi cấy

3.2. Nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách

Các đoạn thân mang chồi nách của cây cẩm chướng Tundra được cấy lên môi trường có bổ sung Kin với các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi. Kết quả sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của Kin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách

Nồng độ Kin (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)
0	100	$1,67^{c}$	$2,88^{c}$
0,5	100	$2,37^{ab}$	$2,99^{bc}$
1,0	100	$2,39^{ab}$	$3,67^{ab}$
2,0	100	$2,71^{a}$	$3,78^{a}$
3,0	100	$2,39^{ab}$	$4,00^{a}$
4,0	100	$2,17^{b}$	$2,84^{c}$
5,0	100	$2,10^{b}$	$2,22^{c}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $P < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở tất cả các môi trường đều có sự hình thành chồi. Sau 5 ngày nuôi cấy, trên tất cả các môi trường đều có sự nảy chồi. Tuy nhiên, ở các môi trường có nồng độ Kin khác nhau thì khả năng tạo chồi là khác nhau. Ngoài ra, quan sát thấy ở môi trường MS cơ bản không có bổ sung Kin và môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kin cũng có sự tạo rễ.

Ở môi trường MS không có bổ sung Kin khả năng tạo chồi kém, số chồi tạo thành trung bình trên mẫu cấy thấp nhất trong các môi trường. Chồi phát triển ở mức trung bình, xanh, hơi mảnh.

Ở môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kin, khả năng tạo chồi tăng lên. Chồi xanh, phát triển khá.

Ở môi trường có bổ sung 1 mg/L Kin, khả năng tạo chồi tiếp tục tăng. Chồi phát triển tốt, xanh, to.

Môi trường có bổ sung 2 mg/L Kin cho khả năng tạo cụm chồi tốt nhất, số chồi tạo thành trung bình nhiều nhất (2,71 chồi/mẫu cấy). Chồi phát triển rất tốt, xanh, to, cao và đều (Hình 2).

Ở môi trường có bổ sung 3 mg/L Kin, khả năng tạo chồi bắt đầu giảm. Chồi phát triển tốt, xanh, to và cao.

Khả năng tạo chồi tiếp tục giảm ở các môi trường có bổ sung 4 mg/L và 5 mg/L Kin. Số chồi trung bình tạo thành và chiều cao trung bình của chồi ở hai môi trường này đều giảm. Xuất hiện một số chồi bất thường (bị thủy tinh hóa).

Như vậy, môi trường có bổ sung 2 mg/L Kin là môi trường tốt nhất để tạo cụm chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách.

Hình 2. Tạo cụm chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách trên môi trường có bổ sung 2 mg/L kinetin sau 6 tuần nuôi cấy

3.3. Nghiên cứu tạo rễ cho chồi *in vitro*

Các chồi *in vitro* của cây cẩm chướng được tách từ các cụm chồi và cấy lên môi trường cơ bản MS có bổ sung NAA với các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*. Kết quả sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của NAA lên khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ chồi tạo rễ (%)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao chồi (cm)
0	100	$5,08^{b}$	$0,62^{b}$	$4,31^{ab}$
0,1	100	$5,17^{b}$	$1,45^{a}$	$4,39^{ab}$
0,2	100	$5,69^{b}$	$1,58^{a}$	$4,61^{ab}$
0,4	100	$6,76^{ab}$	$1,66^{a}$	$5,07^{a}$
0,8	100	$8,26^{a}$	$1,57^{a}$	$4,42^{ab}$
1,6	100	$6,37^{b}$	$1,53^{a}$	$3,56^{bc}$
3,2	100	$5,46^{b}$	$1,37^{a}$	$2,91^{c}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $P < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở tất cả các môi trường đều có sự tạo rễ. Các môi trường có bổ sung NAA đã kích thích sự hình thành rễ. Tuy nhiên, ở các môi trường có nồng độ NAA khác nhau thì khả năng tạo rễ khác nhau.

Ở môi trường không bổ sung NAA, khả năng tạo rễ thấp nhất, rễ ngắn, ít rễ phụ. Chồi phát triển khá.

Ở môi trường có bổ sung 0,1 mg/L NAA, khả năng tạo rễ bắt đầu tăng. Rễ to hơn, ít rễ phụ. Chồi phát triển tốt.

Ở môi trường bổ sung 0,2 mg/L NAA, rễ có nhiều rễ phụ. Chồi phát triển tốt.

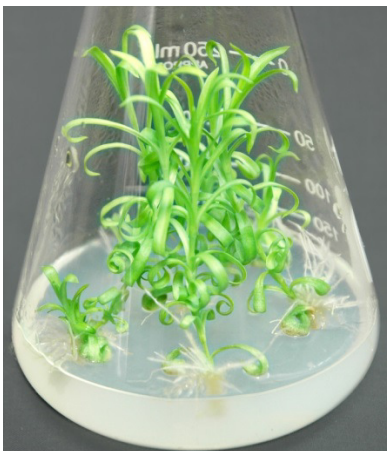
Ở môi trường có bổ sung 0,4 mg/L NAA, khả năng tạo rễ tiếp tục tăng. Rễ có nhiều rễ phụ. Chồi cao nhất.

Môi trường có bổ sung 0,8 mg/L NAA cho khả năng tạo rễ tốt nhất. Số rễ trung bình tạo thành là 8,26 rễ/chồi, chiều dài trung bình là 1,57 cm. Rễ to, nhiều rễ phụ. Chồi phát triển tốt, đều (Hình 3).

Ở môi trường có bổ sung 1,6 mg/L NAA, khả năng tạo rễ bắt đầu giảm. Số lượng rễ trung bình giảm. Rễ to và ít rễ phụ. Chiều cao chồi giảm.

Ở môi trường có bổ sung 3,2 mg/L NAA, khả năng tạo rễ tiếp tục giảm. Khả năng sinh trưởng của chồi cũng giảm, chồi phát triển chậm, có hiện tượng lá vàng và bị xoăn. Theo chúng tôi, có lẽ nồng độ NAA cao đã ức chế khả năng phát triển của rễ và chồi.

Như vậy, môi trường có bổ sung 0,8 mg/L NAA là môi trường tốt nhất để tạo rễ cho chồi *in vitro*.



Hình 3. Sự tạo rễ của chồi *in vitro* trên môi trường có bổ sung 0,8 mg/L NAA sau 4 tuần nuôi cấy

4. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng Kinetin khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả tạo cụm chồi *in vitro* ở cây hoa cẩm chướng Tundra từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách tốt. Nồng độ Kinetin thích hợp là khác nhau tùy loại mô cấy. Danial *et al*. [3] khi nghiên cứu nhân dòng hoa cẩm chướng cũng nhận thấy kinetin kích thích tạo chồi. Lê Đức Thảo và cộng sự [2] cũng cho thấy Kinetin kết hợp với BAP có khả năng kích thích tạo chồi *in vitro* ở giống hoa cẩm chướng SP1. Môi trường tạo rễ cho chồi *in vitro* tốt nhất ở cây cẩm chướng SP1 là ½ MS có bổ sung 0,2 mg/L NAA [2]. Nguyễn Thị Lý Anh và cộng sự [1] trong nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý Ethylmethane Sulphonate *in vitro* đối với cây cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus* L.) cũng đã sử dụng môi trường tạo rễ là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở cây hoa cẩm chướng Tundra cho thấy chồi *in vitro* tạo rễ tốt nhất trên môi trường MS có bổ sung 0,8 mg/L NAA.

5. KẾT LUẬN

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu thu được, rút ra các kết luận sau:

- Trong các môi trường nghiên cứu, môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 3 mg/L Kin là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi.

- Trong các môi trường nghiên cứu, môi trường cơ bản MS có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 2 mg/L Kin là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách.

- Trong các môi trường nghiên cứu, môi trường có bổ sung 0,8 mg/L NAA là môi trường tốt nhất cho tạo rễ của chồi *in vitro*.

Các kết quả này có thể sử dụng để nhân giống vô tính *in vitro* cây hoa cẩm chướng Tundra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Lý Anh, Lê Hải Hà và Vũ Hoàng Hiệp (2009). Ảnh hưởng của xử lý Ethylmethane Sulphonate *in vitro* đối với cây cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus* L.). Tạp chí Khoa học và Phát triển, 7 (2): 130-136.

2. Lê Đức Thảo, Nguyễn Hoàng Kim Lý và Hoàng Ngọc Thuận (2008). Nghiên cứu qui trình nhân giống hoa cẩm chướng SP1 (*Dianthus caryophyllus Topaz*). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 1: 86-90.

3. Danial G.H., Yousif A.N. and Omar M.S. (2009). Clonal propagation of *Dianthus caryophyllus* L. through tissue culture. Journal of Dohuk University, 12(1): 91-95.

4. Galbally J. and Galbally E. (1997). Carnations and pinks for garden and greenhouse, Timber Press, Portland, Oregon, USA, p. 1-310.

5. Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15: 473-497.

6. Omid K. (2008). Induction of embryogenic callus and plant regeneration in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Online Journal of Biological Sciences, 8 (4): 68-72.

7. Sato S., Katoh N., Yoshida H., Iwa S. and Hagimori M. (2000). Production of doubled haploid plants of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) by pseudofertilized ovule culture. Scientia Horticulturae, 83: 301-310.

STUDY ON *IN VITRO* PROPAGATION OF CARNATION TUNDRA

SUMMARY

Study on *in vitro* propagation of carnation Tundra was carried out. *In vitro* shoot production from shoot tips and nodal segments of carnation Tundra was examined on MS medium (Murashige and Skoog, 1962) containing 2% sucrose, 0.8% agar and supplemented with different concentrations of Kinetin. The MS medium supplemented with 3 mg/L Kinetin was the best for multiple shoot formation from shoot tips. The MS medium supplemented with 2 mg/L Kinetin was the best for multiple shoot formation from nodal segments. Among MS media containing 2% sucrose, 0.8% agar and supplemented with different concentrations of α-naphthaleneacetic acid (NAA), the medium supplemented with 0,8 mg/L NAA was found to be optimal for rooting of *in vitro* shoots. These results could be used for *in vitro* propagation of carnation Tundra.

Keywords: carnation Tundra, in vitro propagation, multiple shoot, nodal segment, rooting, shoot tip.

XÁC ĐỊNH CHẾ ĐỘ BỔ SUNG KALI PHÙ HỢP ĐỐI VỚI CÂY SẢ TRONG ĐIỀU KIỆN ĐẤT NHIỄM MẶN

Nguyễn Thị Lạc, Nguyễn Khánh Duy, Lê Trường Giang, Bùi Minh Trí*
Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh
** Email: buiminhtri@gmail.com*

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được mức cung cấp kali phù hợp đối với sự sinh trưởng năng suất của cây sả tại vùng đất nhiễm mặn huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang. Việc xác định liều lượng kali phù hợp được tiến hành trên một thí nghiệm hai yếu tố, bố trí theo kiểu lô phụ với 25 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Năm mức phân kali thí nghiệm là 0 kg K_2O/ha (ĐC), 30 kg K_2O/ha, 60 kg K_2O/ha, 90 kg K_2O/ha, 120 kg K_2O/ha. Các mức kali được kết hợp với bốn mức phân đạm là 40 kgN/ha, 80 kgN/ha, 120 kgN/ha và 160 kgN/ha. Kết quả thu được cho thấy mức phân kali 60 kg K_2O/ha kết hợp với mức phân đạm 120 kg N/ha cho các chỉ tiêu sinh trưởng và hàm lượng chlorophyll cũng như năng suất cao nhất (159.5 kg/ô thí nghiệm), vượt 32% so với nghiệm thức không sử dụng kali. Ở mức phân bón này các chỉ tiêu tiêu biểu vượt trội bao gồm: số nhánh đạt 53 nhánh/bụi; khối lượng trung bình mỗi nhánh đạt 15,8 g/nhánh; chiều cao thân đạt 140,1 cm; đường kính thân đạt 1,77 cm; chiều dài lá đạt 83cm; chiều rộng lá đạt 1,28 cm. Qua kết quả này cho thấy cung cấp kali là hết sức hữu hiệu giúp cải thiện khả năng chống chịu và năng suất trong vùng đất nhiễm mặn tại Tân Phú Đông-Tiền Giang.

Từ khóa: *Cymbopogon citratu,* kali, phân bón, nhiễm mặn, năng suất.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sả (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) là cây có tinh dầu được sử dụng rộng rãi trong chế biến món ăn hàng ngày, trong công nghệ thực phẩm cũng như y học cổ truyền. Cây sả có công dụng làm thực phẩm, chữa bệnh. Tinh dầu sả hiện nay còn được sử dụng rộng rãi trong kỹ nghệ làm đẹp như các sản phẩm dưỡng da, hỗ trợ giảm cân, làm mượt tóc. Trong những năm gần đây, cây sả trở thành đối tượng được chú ý phát triển trong việc chuyển đổi cơ cấu cây trồng tại huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang. Tân Phú Đông là khu vực có diện tích canh tác sả lớn nhất tại các tỉnh phía Nam, tuy nhiên do vị trí thuộc vùng duyên hải nên đất khu vực này bị nhiễm mặn và độ mặn thay đổi tùy theo các tháng trong năm. Kali không những là một nguyên tố đóng vai trò quan trọng đối với cây trồng trong điều kiện bình thường mà còn được biết đến với vai trò tạo sự đối kháng với các ion sodium (natri) trong điều kiện mặn, qua đó giúp tế bào thực vật nói chung trong đó bao gồm cây sả vượt qua khó khăn do muối mặn gây ra (Dagar và cs, 2013; Oladele và cs. 2008; Yaday, 2006). Tại khu vực Tân Phú Đông, Tiền Giang, mặc dù là khu vực nhiễm mặn nhưng người trồng sả khu vực này chưa hề có thói quen cung cấp kali cho cây sả do đó năng suất thu hoạch còn hạn chế. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định liều lượng kali phù hợp cho vùng đất nhiễm mặn tại Tân Phú Đông tỉnh Tiền Giang.

2. VẬT LIỆU PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Giống sả sử dụng trong nghiên cứu thuốc nhóm giống sả chanh (*Cymbopogon citratus*) được trồng phổ biến ở huyện Tân Phú Đông. Khu vực ruộng thí nghiệm có độ mặn 2/1000. Dòng sả nghiên cứu là dòng sả đã được thu thập, phục tráng, đánh giá tại Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh trên cơ sở giống trồng phổ biến tại Tân Phú Đông. Cây sả giống là cây 7 tháng tuổi, chiều cao trên 1 m, đường kính (phần rộng nhất của mỗi nhánh) đạt từ 1,5 - 2 cm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu lô phụ với 25 nghiệm thức và thực hiện với 3 lần lặp lại. Các mức phân kali thí nghiệm

(dạng KCl chứa 61% K_2O) bao gồm: 0, 30, 60, 90 & 120 kg K_2O/ha. Các mức phân đạm (dạng ure chứa 46%N) bón bao gồm: 0, 40, 80, 120 & 120 kg N/ha. Khoảng cách giữa các ô trong cùng lần lặp lại là 0,5 m; khoảng cách ở giữa ô thí nghiệm có đào rãnh ngăn cách rộng 25 cm, sâu 40 cm để hạn chế sự di chuyển phân bón giữa các ô thí nghiệm. Khoảng cách giữa các khối thí nghiệm là 1 m. Kali được bón thành 4 lần vào các thời điểm 30 ngày sau trồng (NST), 60 NST, 90 NST và 120 NST. Các chỉ tiêu theo dõi được đo đếm định kỳ 2 tuần/lần. Chỉ số diệp lục tố (Chlorophyll Content Index-CCI) được xác định trực tiếp bằng thiết bị CCM-200 (OptiSiences-USA). Các kết quả ghi nhận đã được phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng Duncan bằng phần mềm SAS 9.1.

KẾT QUẢ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng các liều lượng Kali đến sự sinh trưởng của cây sả trong điều kiện đất nhiễm mặn và lượng bón đạm khác nhau.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các liều lượng kali đến chiều cao cây sả ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
	0	40	80	120	160	
0	$118,5^{j}$	$125,1^{f-j}$	$124,9^{f-j}$	$123,9^{g-j}$	$129,5^{e-h}$	$124,4^{D}$
30	$119,1^{ij}$	$125,5^{g-j}$	$127,3^{e-g}$	$131,7^{c-f}$	$131,2^{d-g}$	$126,9^{CD}$
60	$124,3^{f-j}$	$122,9^{hij}$	$123,7^{f-j}$	$140,1^{ab}$	$133,8^{b-e}$	$129,0^{BC}$
90	$123,3^{g-j}$	$124,7^{f-j}$	$130,3^{e-h}$	$137,9^{abd}$	$140,8^{ab}$	$131,4^{AB}$
120	$126,6^{g-j}$	$129,5^{e-g}$	$129,1^{e-g}$	$142,4^{a}$	$138,7^{abc}$	$133,3^{A}$
TB N	$122,3^{B}$	$125,5^{B}$	$127,1^{B}$	$135,2^{A}$	$134,8^{A}$	
CV (%)= 3,2 , F_N= 28,67**, F_K= 11,07**, F_{KxN}= 1,91*						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.05,**: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Qua bảng 1 cho thấy sự khác biệt về chiều cao cây sả giữa các nghiệm thức rất có ý nghĩa ở thời điểm 18 tuần sau khi trồng. Từ kết quả trên cho thấy mức phân kali 90-120 kg K_2O/ha cho kết quả tốt nhất (131,4 & 133,3 cm) đối với chiều cao cây sả. Xét về sự tương tác giữa việc bón kali với các mức phân đạm khác nhau ho thấy chiều cao cây khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa với các nghiệm thức. Từ kết quả trên cho thấy sự kết hợp giữa mức phân đạm 60 kg K_2O/ha với mức phân kali 120 kg K_2O/ha cho kết quả tốt và hiệu quả nhất đối với sự gia tăng chiều cao cây sả.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các liều lượng kali đến kích thước lá và hàm lượng chlorophyll ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

	Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
		0	40	80	120	160	
Chiều dài lá	**0**	$76,6^{h-m}$	$79,3^{f-m}$	$78,7^{i-m}$	$81,2^{c-j}$	$81,4^{c-j}$	$80,0^{B}$
	30	$77,1^{lmn}$	$79,7^{f-l}$	$79,8^{e-l}$	$83,8^{abc}$	$82,5^{b-f}$	$80,6^{AB}$
	60	$75,1^{n}$	$77,2^{k-m}$	$76,5^{mn}$	$83,0^{b-e}$	$83,2^{a-d}$	$79,0^{B}$
	90	$79,0^{h-m}$	$81,7^{b-i}$	$81,7^{b-i}$	$82,2^{b-h}$	$84,7^{ab}$	$81,9^{A}$
	120	$78,3^{j-m}$	$82,3^{b-g}$	$80,4^{d-k}$	$86,1^{a}$	$83,7^{abc}$	$82,2^{A}$
	TB N	$77,8^{B}$	$80,1^{AB}$	$79,4^{B}$	$83,3^{A}$	$83,1^{A}$	
CV (%)= 2,1, F_N= 12,57**, F_K= 9,42**, F_{KxN}= 1,95*							

	Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
		0	40	80	120	160	
Chiều rộng lá	**0**	$1,13^{f}$	$1,16^{def}$	$1,23^{abc}$	$1,23^{abc}$	$1,24^{ab}$	$1,20^{AB}$
	30	$1,16^{def}$	$1,14^{ef}$	$1,19^{b-f}$	$1,21^{a-d}$	$1,20^{b-e}$	$1,18^{B}$
	60	$1,19^{b-f}$	$1,19^{b-f}$	$1,17^{c-f}$	$1,28^{a}$	$1,28^{a}$	$1,22^{A}$
	90	$1,14^{ef}$	$1,17^{c-f}$	$1,18^{b-f}$	$1,24^{ab}$	$1,21^{b-e}$	$1,19^{B}$
	120	$1,19^{b-f}$	$1,19^{b-f}$	$1,17^{b-f}$	$1,28^{a}$	$1,20^{b-e}$	$1,21^{AB}$
	TB N	$1,16^{C}$	$1,17^{C}$	$1,19^{BC}$	$1,25^{A}$	$1,23^{AB}$	
	CV (%)= 2,32, F_N= 5,73*, F_K= 4,90**, F_{KxN}= 2,63**						
Hàm lượng Chlorophyll	**0**	$20,8^{e-h}$	$22,5^{c-g}$	$23,3^{abc}$	$22,0^{d-h}$	$22,3^{b-e}$	$21,5^{B}$
	30	$21,1^{f-h}$	$20,9^{e-h}$	$22,9^{c-f}$	$22,7^{c-g}$	$23,0^{c-f}$	$22,6^{AB}$
	60	$20,6^{h}$	$22,8^{c-f}$	$22,1^{d-h}$	$20,6^{gh}$	$23,9^{a-d}$	$23,0^{AB}$
	90	$21,7^{e-h}$	$22,7^{c-g}$	$23,0^{c-f}$	$23,9^{a-d}$	$22,6^{c-g}$	$22,9^{AB}$
	120	$22,7^{c-f}$	$23,5^{b-e}$	$22,8^{c-f}$	$25,1^{ab}$	$25,3^{a}$	$23,9^{A}$
	TB N	$21,5^{B}$	$22,6^{AB}$	$23,0^{A}$	$22,9^{A}$	$23,4^{A}$	
	CV (%)= 4,2, F_N= 5,03*, F_K= 8,03**, F_{KxN}= 2,45*						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.05,**: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Qua kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy sự tăng trưởng chiều dài lá giữa các nghiệm thức rất khác nhau. Tác động của phân kali lên chiều dài lá sả khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Nhìn chung, mức phân kali 90kgK_2O cho chiều dài lá dài nhất. Nếu tính tới sự kết hợp với lượng phân đạm cung cấp thì công thức bón kali 120 kg K_2O/ha với 120 kgN/ha cho chiều dài lá sả dài nhất.

Về sự tác động của dinh dưỡng kali lên chiều rộng lá sả ở thời điểm 18 tuần sau khi trồng thì mức phân kali 60 kg K_2O cho chiều rộng lá lớn nhất 1,22 cm. Sự kết hợp giữa mức phân kali 60 kg K_2O/ha vói 120 kg N/ha cho bề rộng phiến lá rộng nhất.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các mức phân kali đến số nhánh cây sả ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
	0	40	80	120	160	
0	$35,5^{l}$	$43,6^{ijk}$	$47,3^{e-j}$	$47,6^{d-j}$	$49,3^{b-g}$	$44,7^{C}$
30	$37,8^{l}$	$44,7^{h-k}$	$51,7^{a-d}$	$53,0^{ab}$	$48,5^{c-g}$	$47,1^{B}$
60	$41,6^{k}$	$44,9^{h-k}$	$47,9^{d-i}$	$50,9^{a-e}$	$53,5^{ab}$	$47,7^{AB}$
90	$43,4^{jk}$	$45,2^{g-i}$	$49,7^{a-f}$	$51,6^{a-d}$	$52,4^{abc}$	$48,5^{AB}$
120	$45,4^{f-k}$	$47,2^{e-j}$	$50,7^{a-e}$	$52,8^{abc}$	$53,9^{a}$	$50,0^{A}$
TB N	$40,7^{D}$	$45,1^{C}$	$49,4^{B}$	$51,2^{AB}$	$51,5^{A}$	
CV (%)= 4,9, F_N= 123,21**, F_K= 11,14**, F_{KxN}=1,92*						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.05,**: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Tác động của phân kali lên sự hàm lượng Chlorophyll trong lá sả khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các mức có bón kali. Tuy nhiên việc bón kali đã cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng không bón kali. Nếu xem xét sự kết hợp giữa dinh dưỡng kali bổ sung với các mức

phân đạm bón thì mức 90 K_2O kết hợp 120 kg N/ha giúp lá có lượng sắc tố quang hợp cao và hiệu quả nhất, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các mức bón đạm và kali cao hơn.

Tác động của yếu tố phân kali lên số nhánh sả/bụi khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 18 tuần sau khi trồng. Kết quả trình bày ở bảng trên cho thấy mức phân kali 60-120 kg K_2O/ha cho gia tăng số nhanh lớn nhất (47,7-50 nhánh/bụi) đối với số nhánh sả thí nghiệm. Tuy nhiên so sánh giữa ba mức 60, 90 và 120 kg K_2O/ha thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Xét theo sự tương tác giữa các mức phân kali với các mức phân đạm khác nhau thì mức 30 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kg N/ha cho kết quả tốt và hiệu nhất, khác biệt không có ý nghĩa so với các mức phân bón cao hơn.

Bảng 4. Ảnh hưởng các mức phân kali đến khối lượng trung bình nhánh sả (g/nhánh) trồng tại huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
	0	40	80	120	160	
0	$9,3^{hi}$	$8,8^{i}$	$11,6^{g}$	$11,6^{g}$	$12,5^{fg}$	$10,8^{B}$
30	$11,0^{gh}$	$13,7^{ef}$	$16,9^{abc}$	$15,8^{a-d}$	$16,6^{abc}$	$14,8^{A}$
60	$14,2^{def}$	$12,7^{fg}$	$15,2^{b-e}$	$15,9^{cde}$	$16,8^{abc}$	$14,8^{A}$
90	$15,1^{b-e}$	$17,1^{ab}$	$15,1^{b-e}$	$12,6^{fg}$	$16,8^{abc}$	$15,3^{A}$
120	$12,8^{fg}$	$15,9^{a-d}$	$14,4^{def}$	$17,8^{a}$	$16,0^{a-d}$	$15,4^{A}$
TB N	$12,5^{C}$	$13,6^{BC}$	$14,7^{AB}$	$14,5^{AB}$	$15,8^{A}$	
CV (%)= 5,7, F_N= 15,97**, F_K= 86,84**, F_{KxN}= 11,66**						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Tác động của yếu tố phân kali lên khối lượng nhánh sả trung bình khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 18 tuần sau khi trồng. Kết quả trình bày ở Bảng 4 cho thấy mức phân kali 30-120 kg K_2O/ha đều cho khối lượng trung bình nhánh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (dao động từ 14,8-15,4 g/nhánh). Tuy nhiên so sánh giữa bốn mức 30, 60, 90 và 120 kg K_2O/ha thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Xét theo sự tương tác giữa các mức phân kali với các mức phân đạm khác nhau thì mức 30 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kg N/ha cho kết quả tốt và hiệu nhất, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các mức đầu tư phân bón cao hơn.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các mức kali thí nghiệm đến đường kính thân cây sả ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
	0	40	80	120	160	
0	$1,50^{i}$	$1,56^{g-i}$	$1,56^{g-i}$	$1,69^{b-e}$	$1,63^{e-g}$	$1,59^{BC}$
30	$1,53^{h-i}$	$1,58^{f-i}$	$1,54^{i-g}$	$1,58^{f-i}$	$1,67^{c-f}$	$1,58^{C}$
60	$1,56^{i-g}$	$1,62^{e-g}$	$1,57^{f-i}$	$1,77^{ab}$	$1,69^{b-e}$	$1,64^{AB}$
90	$1,55^{i-g}$	$1,59^{e-i}$	$1,63^{e-g}$	$1,80^{a}$	$1,73^{a-d}$	$1,66^{A}$
120	$1,55^{i-g}$	$1,64^{d-g}$	$1,57^{f-i}$	$1,74^{abc}$	$1,60^{e-i}$	$1,62^{ABC}$
TB N	$1,54^{D}$	$1,60^{C}$	$1,58^{CD}$	$1,71^{A}$	$1,66^{B}$	
CV (%)= 3,2, F_N= 71,35**, F_K= 6,56**, F_{KxN}= 1,96*						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.05, **: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Tác động của các mức phân kali lên đường kính thân cây sả được thể hiện ở Bảng 5. So sánh các kết quả ghi nhận cho thấy mức phân kali 60-90 kg K_2O/ha cho kết quả tốt nhất (1,64 & 1,660 cm) đối với đường kính thân sả thí nghiệm. Sự khác biệt giữa hai mức phân kali này không có ý nghĩa về mặt thống kê. Xét theo sự tương tác giữa các mức phân kali với các liều lượng phân đạm cho thấy đường kính thân cây khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa với các nghiệm thức. Mức phân kali 60 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kh N/ha cho kết quả tốt và hiệu quả nhất đối với đường kính thân sả trong điều kiện thí nghiệm.

Ảnh hưởng các liều lượng kali đến năng suất cây trồng trong điều kiện đất nhiễm mặn và được bón với các lượng phân đạm khác nhau

Bảng 6. Ảnh hưởng năm mức phân kali đến năng suất thực thu cây sả ở thời điểm trước thu hoạch (18 tuần sau khi trồng)

	Lượng phân kali (kg K_2O/ha)	Lượng phân đạm (kg N/ha)					TB K
		0	**40**	**80**	**120**	**160**	
Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	0	$15,9^{i}$	$17,9^{i}$	$24,4^{gh}$	$24,7^{gh}$	$27,2^{efg}$	$22,0^{C}$
	30	$19,1^{hi}$	$27,0^{efg}$	$37,5^{abc}$	$29,2^{d-g}$	$34,7^{a-d}$	$29,5^{B}$
	60	$26,0^{fg}$	$25,3^{g}$	$31,6^{c-f}$	$32,7^{b-e}$	$38,5^{ab}$	$30,8^{B}$
	90	$28,6^{d-g}$	$33,3^{b-e}$	$32,6^{b-e}$	$37,0^{abc}$	$37,5^{abc}$	$33,8^{A}$
	120	$25,7^{fg}$	$32,4^{b-e}$	$31,7^{c-f}$	$40,0^{a}$	$37,0^{abc}$	$33,4^{A}$
	TB N	$23,1^{D}$	$27,2^{C}$	$31,6^{B}$	$32,7^{AB}$	$35,0^{A}$	
	CV (%)= 8,3, F_N= 55,25**, F_K= 54,47**, F_{KxN}= 4,09**						
		0	40	80	120	160	
Năng suất thực thu (kg/20m^2)	**0**	$102,6^{l}$	$108,7^{jkl}$	$105,7^{jkl}$	$103,3^{kl}$	$106,8^{jkl}$	$105,4^{C}$
	30	$119,7^{h-k}$	$116,3^{i-l}$	$122,0^{g-j}$	$137,3^{d-g}$	$158,7^{ab}$	$130,8^{B}$
	60	$120,4^{hij}$	$142,3^{c-f}$	$154,5^{abc}$	$159,5^{ab}$	$151,1^{bcd}$	$145,6^{A}$
	90	$112,0^{jkl}$	$119,3^{h-l}$	$148,8^{b-e}$	$159,5^{ab}$	$169,8^{a}$	$141,9^{A}$
	120	$114,4^{i-l}$	$119,3^{h-l}$	$134,8^{e-h}$	$163,3^{ab}$	$155,7^{abc}$	$139,6^{A}$
	TB N	$113,8^{D}$	$123,3^{C}$	$133,2^{B}$	$144,6^{A}$	$148,4^{A}$	
	CV (%)= 5,0** ; F_N= 54,89** ; F_K= 87,69** ; F_{KxN}= 9,04**						

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt ở mức ý nghĩa α = 0.01.*

Xét về tác động của các mức phân kali năng suất lý thuyết (Bảng 6) cho thấy mức phân kali 90 cho trung bình năng suất lý thuyết cao nhất (33,8 tấn/ha). Nếu xét tới sự tương tác giữa các mức phân kali với các liều lượng phân đạm thì năng suất lý thuyết giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê. Mức phân kali 90 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kg N/ha cho năng suất cao nhất (37 tấn/ha).

Xét về tác động của các mức phân kali năng suất thực thu cho thấy ba mức phân kali 60 kg K_2O cho trung bình năng suất thực thu cao nhất (145,6kg/ô thí nghiệm). Nếu xét tới sự tương tác giữa các mức phân kali với các liều lượng phân đạm thì năng suất thực thu giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất ý nghĩa về mặt thống kê. Mức phân kali 60 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kg N/ha cho năng suất thực thu cao nhất (159,5 kg/ô thí nghiệm), vượt 32% so với đối chứng không bón kali. Kết quả về năng suất này có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Munsi *et al.* (1985).

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ các kết quả đã thu nhận được từ quá trình nghiên cứu cho thấy kali 60 kg K_2O/ha kết hợp với 120 kg N/ha cho năng suất thu hoạch cao nhất, vượt 32% so với đối chứng không bón kali; ở mức phân bón này, khả năng sinh trưởng trong điều kiện nhiễm mặn đã được cải thiện, các chỉ sinh trưởng về số nhánh, chiều cao thân, đường kính thân, chỉ số diệp lục tốc đều cao hơn rõ rệt so với các nghiệm thức không có sử dụng kali. Việc tăng cường bón kali là cần thiết cho vùng đất nhiễm mặn như tại khu vực huyện Tân Phú Đông-Tiền Giang, mức đầu tư 60kg K_2O/ha vưa đem lại năng suất và hiệu quả kinh tế cao cho việc canh tác sả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Oladele AT., Adesanya SA., Omobuwajo AT., 2008. *Effects of two inorganic fertilizers on volatile oil and biomass yields of Cymbopogon citratus (dc) stapf., in ileife, Nigeria*. Nig. J. Nat. Prod. and Med. Vol. 12: 10-12
2. Prakasa Rao, Munnu Singh and Ganesha Rao, 1985. *Effect of plant spacing and application of nitrogen fertilizer on herb and essential oil yields of palmarosa (Cymbopogon martini Stapf. var. motia)*. The Journal of Agricultural Science Vol. 104: 67-70
3. Dagar J., Tomar O., Minhas P., Mukesh Kumar, 2013. *Lemongrass (Cymbopogon flexuosus) productivity as affected by salinity of irrigation water, planting method and fertilizer doses on degraded calcareous soil in a semi-arid region of northwest India.* Indian Journal of Agricultural Sciences 83(7):734-738
4. Kakaraparthi Pandu Sastry, Rajput Dharmendra Kuma, Arigari Niranjan Kumar, *2013. Response of Java citronella (Cymbopogon winterianus jowitt) to sulphur fertilization in the semi arid tropical region in India.* Scientific Journal of Crop Science, Vol 2, No 6.
5. Munsi P.S., Mukherjee S.K., 1985. *Response of Java citronella (Cymbopogon winterianus jowitt.) to harvesting intervals with different nitrogen levels.* Journal of Agricultural Science and Research- Vol. 7, Issue 3, Jun 1985: 29-36
6. Nirobiyah Nitangsam 2012. *Monoghraphs of Cymbopogon nardus (L.) Rendle anh Citronella oil*. Prince of Songkla University Publishing
7. Yaday P.K; Singh R.K; Sing S.N; Sing R.P, 2006. *Effect of chemical fertilizer and FYM on yield of lemon grass* (*Cymbopogon flexuous*) *and soil properties*.

EVALUATING THE EFFICIENCY OF POTASSIUM APPLICATION RATES ON SALINITY TOLERANCE AND YIELD OF LEMONGRASS

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the appropriate level of potassium for the growth of lemongrass grown on salinity soil in Tan Phu Dong district, Tien Giang province. Determination of appropriate potassium doses was carried out on a two-factorial experiment, arranged in Split-Plot Design with 25 treatments, 3 replications. The potassium application rates were: 0 kg K_2O / ha (the control), 30 kg K_2O / ha, 60 kg K_2O / ha, 90 kg K_2O / ha and 120 kg K_2O / ha. Potassium levels were applied with four doses of nitrogen fertilizer: 40 kg N / ha, 80 kg N / ha, 120 kg N / ha and 160 kg N / ha. The results showed that potassium at rate of 60 kg K_2O / ha combined with 120 kg N / ha gave highest yield (159.5 kg / plot), 32% higher than non-potassium treatment. At this level of fertilizer, the number of branches reached 53 branches/plant; average weight of each branch was 15.8 g/branch; plant height was 140.1 cm; the stem diameter reached 1.77 cm; leaf length reached 83cm; leaf width reached 1.28 cm. This result shows that potassium application was highly effective in improving productivity of lemongrass grown on salinity soils in Tan Phu Dong-Tien Giang.

Keywords: *Cymbopogon citratus,* potassium, fertilizers, salinity, yield.

ĐIỀU TRA THỰC TRẠNG SẢN XUẤT CÂY SEN *(Nelumbo nucifera* Gaertn*)* Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Thị Quỳnh Trang[1], Hoàng Thị Kim Hồng[2], Võ Thị Mai Hương[2]
[2]Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế
[1]Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Huế
Email [2]: hkhong@hueuni.edu.vn

TÓM TẮT

Các giống sen địa phương ở Huế rất nổi tiếng nhờ vẻ đẹp quyến rũ của sắc hoa, kết hợp cùng hương vị và chất lượng đặc biệt của củ và hạt nên đã trở thành một sản phẩm du lịch mang thương hiệu "sen Huế", rất được du khách ưa chuộng. Tuy nhiên, gần đây do tình trạng ô nhiễm nguồn nước ở các ao, hồ nên các giống sen này đang suy giảm một cách nghiêm trọng và đứng trước nguy cơ mất giống theo thời gian. Do vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành điều tra và đánh giá thực trạng sản xuất sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế, làm cơ sở cho việc phục hồi, khai thác và phát triển các giống sen địa phương ở Huế. Kết quả điều tra cho thấy tổng diện tích trồng sen trong toàn tỉnh là 341,12 ha, ở huyện Phong Điền có diện tích trồng sen lớn nhất với 196,70 ha, chiếm 57,66% diện tích trồng sen toàn tỉnh, tiếp theo lần lượt là các huyện Phú Vang, Hương Trà, thành phố Huế và Phú Lộc. Huyện Hương Thủy có diện tích trồng sen thấp nhất với 0,15 ha, chiếm 0,04%. Toàn tỉnh có 6 giống sen khác nhau đang được trồng, trong đó có 5 giống sen địa phương với nhiều đặc tính quý như sen hồng Phú Mộng, sen hồng Gia Long, sen đỏ Vinh Thanh, sen trắng Tịnh Tâm vẫn còn được trồng rãi rác ở các hồ thuộc khu vực nội thành, thành phố Huế, cho sản phẩm rất đa dạng, được nhiều người ưa chuộng và có giá thành cao. Giống sen cao sản có nguồn gốc từ Đồng Tháp là giống được trồng phổ biến ở các hồ và trên đồng ruộng ở các vùng điều tra, chiếm 68,61% về diện tích, sản phẩm tiêu thụ từ giống này chủ yếu là hạt nhưng hạt sen cao sản thường có giá thành thấp hơn nhiều so với hạt sen của các giống địa phương.

Từ khóa: diện tích trồng sen, hạt sen, sen địa phương, sen cao sản.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sen *(Nelumbo nucifera* Gaertn*)* là loại cây thủy sinh đa niên được trồng nhiều nơi trên thế giới, đặc biệt là Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam… (Guo, 2009; Goel *et al.,* 2001). Trong những năm gần đây, sen là đối tượng được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu ở nhiều lĩnh vực khác nhau (Tian *et al.,* 2007; Mukherjee *et al.,* 2009; Pal *et al.,* 2015). Cây sen có nhiều giá trị quan trọng trong cuộc sống của con người như làm cảnh, làm thực phẩm và làm thuốc (Nguyen, 2001; Nguyễn Phước Tuyển, 2007). Hầu hết các bộ phận của cây đều được sử dụng trong đó hạt, ngó và củ sen thường được dùng để chế biến thành nhiều món ăn ngon và bổ dưỡng, tâm sen dùng làm trà, lá sen dùng để gói… đặc biệt hoa sen có vai trò to lớn trong văn hóa của người Việt (Sridhar *et al.,* 2007; Hoàng Thị Nga và cộng sự, 2012).

Đối với tỉnh Thừa Thiên Huế, sen không đơn thuần chỉ có giá trị về mặt kinh tế mà chúng còn có ý nghĩa rất lớn về mặt tinh thần. Hoa sen được sử dụng như một biểu tượng trang trí trong các dịp rằm, trong các dịp lễ hội lớn đặc biệt trong lễ hội Festival ở Huế... Hiện nay, do nhiều nguyên nhân như phương thức tự để giống, lối canh tác theo kinh nghiệm dân gian, sản xuất manh mún, tự phát, thiếu quy hoạch tổng thể và diện tích trồng sen có xu hướng giảm dần do quỹ đất nông nghiệp ngày càng hạn hẹp. Đồng thời, do tác động của thời tiết khắc nghiệt và môi trường nước ô nhiễm nên các giống sen Huế trong đó có giống sen trắng - một loại sen có ý nghĩa sâu sắc gắn liền với hệ thống ao hồ các khu di tích Huế - đã giảm nhiều về số lượng lẫn chủng loại (Lê Công Sơn, 2008). Trong nhiều năm liền, tại các ao, hồ thuộc khu vực nội thành, thành phố Huế sen phát triển kém, thậm chí

nhiều hồ, sen trồng không mọc. Thay vào đó, các chủng loại thủy thực vật mới được đưa vào trồng với số lượng lớn, lấn át những chủng loại nguyên bản, chẳng hạn như loài rau muống, sen cao sản…Điều đó, phần nào đã phá vỡ tính lịch sử của hệ thống ao hồ, ảnh hưởng đến cảnh quan môi trường, giảm thu nhập của người dân, chưa đảm bảo những giá trị, ý nghĩa vốn có của cây sen. Theo Lê Công Sơn (2008) thì nguyên nhân làm cho sen Huế kém phát triển còn các biện pháp canh tác của người trồng sen đang sử dụng chưa phù hợp, các hồ trồng sen có tầng đáy hồ kém dinh dưỡng, lớp bùn đáy lâu ngày không được xử lý đảo đáy, tạo mặt bằng, các loại đá, giải hạ có đường kính lớn quá nhiều và các biện pháp bón phân chưa cân đối hợp lý. Ngoài ra, do mật độ dân số sống quanh các hồ sen ngày càng tăng cũng làm gia tăng lượng rác thải đổ ra lòng hồ và làm tăng mức độ ô nhiễm nguồn nước ở các hồ trồng sen.

Trước thực trạng nói trên, sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Thừa Thiên Huế có chủ trương tìm kiếm và khôi phục các giống sen địa phương mang thương hiệu của Huế. Trong khuôn khổ của bài báo này, chúng tôi trình bày một số kết quả ban đầu trong quá trình điều tra thực trạng sản xuất các loại sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế năm 2017, nhằm cung cấp các dữ liệu mới, có tính cập nhật, làm cơ sở khoa học cho việc định hướng phục hồi, bảo tồn, khai thác và phát triển các giống sen địa phương có giá trị kinh tế ở tỉnh Thừa Thiên Huế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các giống sen địa phương và giống sen cao sản hiện được trồng ở tỉnh Thừa Thiên Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Địa bàn nghiên cứu:

- Địa điểm điều tra đối với người khai thác là các hộ dân chuyên trồng sen như:

+ Khu vực các hồ bên trong Đại Nội, thành phố Huế.

+ Khu vực các hồ bên ngoài Đại Nội, thành phố Huế.

+ Khu vực các hồ phụ cận bao gồm thị xã Hương Trà, huyện Phú Lộc, Phú Vang, Phong Điền, Hương Thủy.

- Địa điểm điều tra đối với nhà quản lý các vùng trồng sen sau đây:

+ Đội tôn tạo cảnh quan thuộc Trung tâm bảo tồn di tích cố đô Huế

+ Ủy ban nhân dân thị xã Hương Trà, huyện Phú Lộc, Phú Vang và Phong Điền, Hương Thủy.

+ Trung tâm khuyến nông thị xã Hương Trà, huyện Phú Lộc, Phú Vang và Phong Điền, Hương Thủy.

Phương pháp thu thập số liệu thứ cấp: Số liệu này được tổng hợp, thu thập và phân tích dựa trên các tài liệu, báo cáo tổng kết hàng năm về kết quả thực hiện nhiệm vụ phát triển kinh tế - xã hội tại các điểm nghiên cứu. Đồng thời tham khảo số liệu trên sách báo, các trang web và các báo cáo khoa học có liên quan.

Phương pháp thu thập số liệu sơ cấp: được tiến hành bằng phương pháp phỏng vấn trực tiếp người nông dân dựa trên các thông tin yêu cầu trong phiếu điều tra đã được xây dựng. Đối tượng phỏng vấn chủ yếu là người dân trực tiếp trồng sen và các tiểu thương tại các địa điểm nghiên cứu. Ngoài ra còn tiến hành quan sát thực tế và khảo sát tại các điểm trồng và tiêu thụ sản phẩm cây sen.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần các giống sen ở Huế

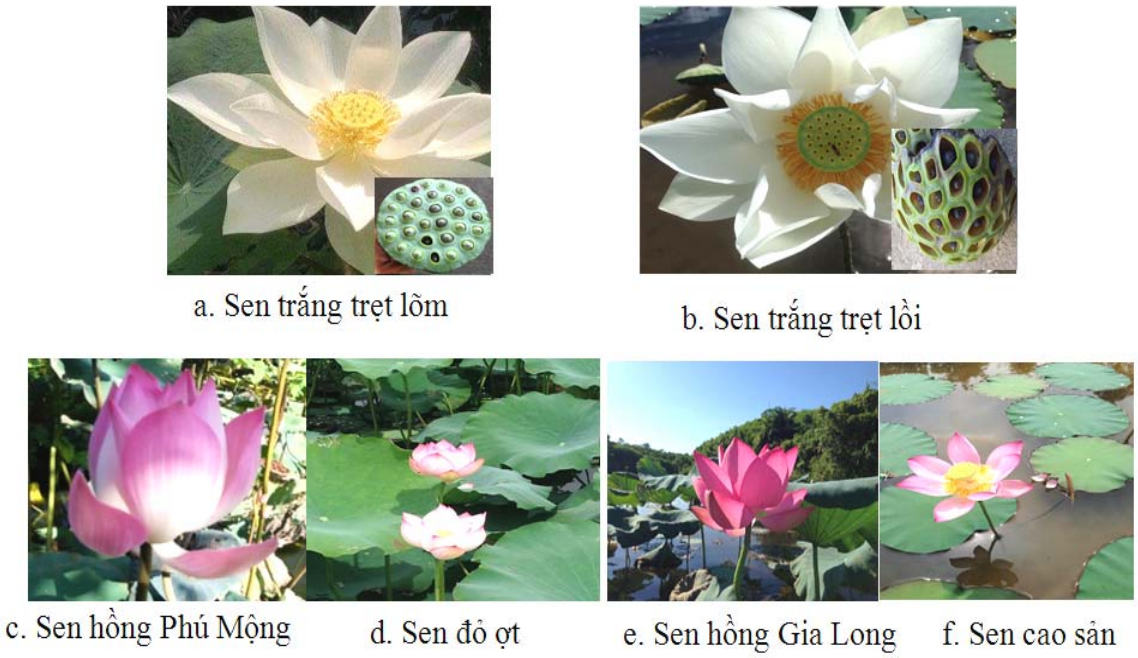
Qua quá trình điều tra, khảo sát, thu thập và xử liệu số liệu từ nguồn số liệu sơ cấp và thứ cấp về các giống sen đang được trồng tại các khu vực nội thành và ngoại thành tỉnh Thừa Thiên Huế, chúng tôi thiết lập danh mục các giống sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế như đã trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Danh mục các giống sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế

STT	Giống	Nguồn gốc
1	Sen trắng trẹt lồi	Giống địa phương (sen Huế*)
2	Sen trắng trẹt lõm	Giống địa phương (sen Huế)
3	Sen hồng Phú Mộng	Giống địa phương (sen Huế)
4	Sen hồng Gia Long	Giống địa phương (sen Huế)
5	Sen đỏ ợt	Giống địa phương (sen Huế)
6	Sen cao sản	Đồng Tháp

*Chú thích: *: sen Huế là những giống sen có nguồn gốc tại các địa phương ở Huế*

Kết quả từ bảng 1 cho thấy toàn tỉnh Thừa Thiên Huế có 6 giống sen đang được trồng tại các khu vực điều tra thuộc thành phố Huế và các huyện (Hương Trà, Phú lộc, Phú Vang, Hương Thủy, Phong Điền). Trong 6 giống sen này có 5 giống sen có nguồn gốc tại địa phương đó là sen trắng trẹt lõm, sen trắng trẹt lồi, sen hồng Phú Mộng, sen Hồng Gia Long và sen đỏ ợt Vinh Thanh và một giống sen cao sản, là giống sen có nguồn gốc ở Đồng Tháp - là loại sen chuyên cho hạt, có hiệu quả cao về kinh tế nên được người dân ở các tỉnh thành Đà Nẵng, Quảng Nam, Quảng Trị và Thừa Thiên Huế đem về trồng và ngày càng mở rộng diện tích, lấn át các loài sen bản địa. Tên giống của cây sen trong sản xuất khá phong phú và thường được người dân địa phương đặt cho dựa vào các đặc điểm hình thái dễ nhận biết của giống hay nguồn gốc xuất xứ của chúng (Hình 1).



Hình 1. Hình thái các giống sen địa phương và sen Cao sản ở Thừa Thiên Huế

3.2. Sự phân bố các giống sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế

Tiến hành khảo sát sự phân bố và diện tích trồng các giống sen địa phương và sen cao sản ở tỉnh Thừa Thiên Huế, chúng tôi thu được kết quả như đã trình bày ở bảng 2 và hình 2.

Kết quả điều tra từ bảng 2 cho thấy các giống sen ở Thừa Thiên Huế phân bố không đều, bốn giống sen địa phương là giống sen trắng trẹt lõm, sen trắng trẹt lồi, sen hồng Gia Long, sen Hồng Phú Mộng chủ yếu được trồng tập trung ở các hồ thuộc khu vực Đại Nội và khu vực nội thành thành phố Huế và lăng Gia Long, bởi đây là khu vực gắn liền với quần thể di tích của tỉnh Thừa Thiên Huế. Việc trồng sen ở đây, không chỉ đem lại các giá trị kinh tế mà còn gắn liền với giá trị văn hóa, di sản của Huế.

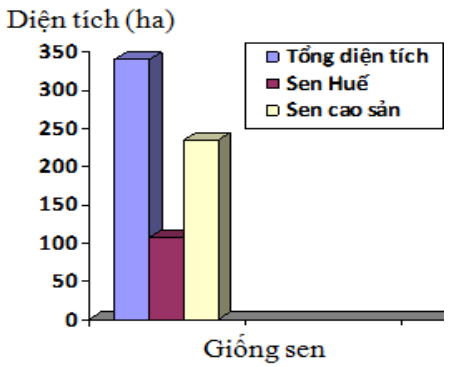
Ngoài ra, bốn loại sen này còn được trồng ở một số lăng tẩm ngoài khu vực Đại Nội như lăng Minh Mạng, lăng Thiệu Trị, hồ Điện... Hai giống sen trắng bao gồm sen trắng trẹt đĩa lõm và sen trắng trẹt đĩa lồi chỉ được trồng chủ yếu tại khu vực nội thành của thành phố Huế, đặc biệt là sen trắng được trồng rất nhiều ở các hồ thuộc Đại Nội, cửa Đông Ba, hồ Tịnh Tâm... Đây là loại sen rất nổi tiếng vì chúng có màu trắng tinh khiết (Hình 2F), hương thơm, hạt bở, vị ngọt nhẹ và loại sen này được xem là "món quà xứ Huế" cho những người dân Huế xa nhà, xa quê hương. Sen trắng trẹt lồi và sen trắng trẹt lõm còn được tìm thấy ở các hồ thuộc khu vực Hương Trà, trong đó tập trung chủ yếu ở lăng Gia Long. Sen hồng Phú Mộng cũng được tìm thấy trồng rãi rác trong các vùng thuộc địa bàn thành phố Huế và huyện Phong Điền. Giống sen đỏ ợt (còn được gọi là sen đỏ Vinh Thanh) được trồng chủ yếu ở hai khu vực là Hương Thủy và Phú Vang, ngoài giống sen đỏ ợt, hai khu vực này không trồng thêm giống sen nào khác. Trong khi đó giống sen cao sản được trồng phổ biến khắp nơi ở cả 5 khu vực nghiên cứu, đặc biệt là tại các huyện ngoại thành thành phố Huế như Phong Điền, Hương Trà và Phú Lộc, trong đó ở Phú Lộc là nơi chỉ chuyên trồng sen cao sản và không trồng bất cứ loại sen địa phương nào (Bảng 2).

Bảng 2. Sự phân bố và diện tích trồng sen của các khu vực điều tra ở Thừa Thiên Huế

STT	Khu vực điều tra	Tên nguồn gen	Diện tích (ha)	Tổng diện tích	Tỷ lệ (%)
1	Khu vực bên trong Đại Nội Huế (2 giống)	Sen trắng trẹt lõm	4,49	4,57	1,34
		Sen cao sản	0,08		
2	Thành phố Huế (ngoài khu vực Đại Nội) (5 giống)	Sen trắng trẹt lõm	7,03	19,90	5,84
		Sen trắng trẹt lồi	0,05		
		Sen hồng Phú Mộng	0,05		
		Sen đỏ ợt	0,50		
		Sen cao sản	12,27		
3	Phong Điền (2 giống)	Sen hồng Phú Mộng	28,50	196,70	57,66
		Sen cao sản	168,20		
4	Hương Trà (4 giống)	Sen trắng trẹt lồi	0,13	41,60	12,20
		Sen trắng trẹt lõm	1,00		
		Sen hồng Gia Long	0,97		
		Sen cao sản	39,50		
5	Hương Thủy (1 giống)	Sen đỏ ợt (đỏ Vinh Thanh)	0,15	0,15	0,04
6	Phú Vang (1 giống)	Sen đỏ ợt	64,20	64,20	18,82
7	Phú Lộc (1 giống)	Sen cao sản	14,00	14,00	4,10
	Tổng diện tích toàn tỉnh		341,12	341,12	100

Hình 2. Hình ảnh một số hồ sen ở các khu vực điều tra thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế

Từ kết quả ở bảng 2, có thể thấy tổng diện tích trồng sen tại các điểm điều tra ở các địa bàn thuộc Thừa Thiên Huế là 341,12 ha. Trong đó, huyện Phong Điền có diện tích trồng sen lớn nhất với 196,70 ha chiếm 57,66% diện tích trồng sen toàn tỉnh, tiếp theo lần lượt là huyện Phú Vang, Hương Trà, thành phố Huế (bao gồm cả khu vực bên trong Đại Nội) và Phú Lộc. Huyện Hương Thủy có diện tích thấp nhất với 0,15 ha, chiếm 0,04%. Trong tất cả các giống sen hiện đang được trồng, diện tích các giống sen có nguồn gốc địa phương (sen trắng trẹt lõm, sen trắng trẹt lồi, sen hồng Phú Mộng, hồng Gia Long và Đỏ ợt) đạt 107,07 ha chủ yếu được trồng tại khu vực thành phố Huế, đặc biệt là khu vực Đại Nội và lăng Gia Long thuộc huyện Hương Trà. Trong khi đó sen cao sản có diện tích 234,05 ha chiếm 68,61% diện tích trồng sen toàn tỉnh và chủ yếu tập trung ở các vùng phụ cận như Phong Điền, Hương Trà, Phú Lộc (Biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Diện tích giống sen địa phương (sen Huế) và sen cao sản ở tỉnh Thừa Thiên Huế

Điều đáng quan tâm là hầu như tất cả các giống sen địa phương đều được trồng ở các hồ truyền thống, trong khi đó đối với giống sen cao sản thì chỉ một số ít được trồng ở các hồ thuộc thành phố Huế, đa phần chúng được trồng trên các cánh đồng ruộng thuộc khu vực phụ cận bao gồm thị xã Hương Trà, huyện Phú Lộc, Phú Vang, Phong Điền. Các ruộng này trước đây chuyên trồng

lúa, nay thế lúa bằng việc canh tác và trồng sen cao sản. Theo người dân ở các huyện Phong Điền và Hương Trà cho biết, sen cao sản rất dễ trồng, có khả năng chống chịu cao, thích nghi với lối canh tác trên đồng ruộng, đồng thời lại cho năng suất cao hơn các giống sen địa phương, do vậy trồng sen cao sản lấy hạt trên các cánh đồng trước đây trồng lúa sẽ có lãi gấp 2 - 3 lần so với trồng lúa trên cùng một diện tích. Bên cạnh đó, các trạm khuyến nông cũng khuyến khích và hỗ trợ kinh phí, kỹ thuật cho người dân tận dụng những diện tích mặt nước, ao hồ bỏ hoang sang trồng sen cao sản lấy hạt hoặc triển khai các mô hình trồng sen cao sản kết hợp với nuôi cá để tăng thêm nguồn thu nhập. Tất cả các yếu tố này dẫn đến hiện trạng tăng nhanh diện tích trồng sen cao sản ở Thừa Thiên Huế, sen cao sản dần dần lấn át các giống sen địa phương và chiếm lĩnh thị trường ở Huế.

3.3. Phương thức canh tác cây sen tại các điểm điều tra

Bảng 3. Phương thức canh tác cây sen tại các khu vực điều tra ở Thừa Thiên Huế

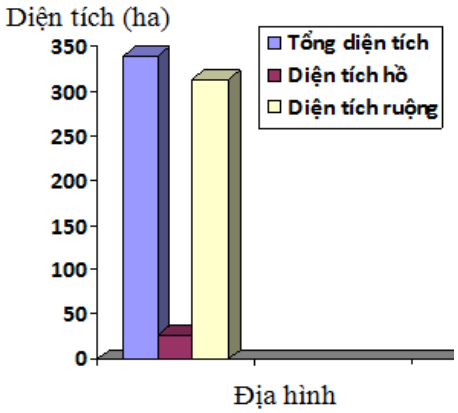
STT	Địa điểm	Vật liệu trồng sen	Từ năm thứ 2	Mô hình trồng sen	Loại địa hình trồng sen	Phân bón	Vệ sinh đồng ruộng	Thời gian trồng (âm lịch)
1	Đại Nội Huế	Cây giống	Trồng lại	Thuần loại, kết hợp nuôi cá	Hồ nước sâu, đất hỗn hợp	NPK tổng hợp	Có, vệ sinh lòng hồ, xử lý tầng đáy, đắp đập ngăn nước	Tháng 2 - 3
2	Thành phố Huế	Cây giống, củ sen giống	Mọc tự nhiên, Trồng bổ sung	Luân - xen canh, thuần loại, kết hợp nuôi cá, trồng trong chậu làm cảnh	Hồ nước sâu, ruộng sâu, đất hỗn hợp	Không	Không	Tháng 1 - 4
3	Phong Điền	Cây giống	Trồng mới	Luân - xen canh, kết hợp nuôi cá	Ruộng sâu, đất bùn	NPK tổng hợp	Có	Tháng 2 - 3
4	Hương Trà	Cây giống	Trồng mới	Kết hợp nuôi cá	Bàu làng, Hồ nước sâu, ruộng sâu, đất thịt	NPK tổng hợp	Có	Tháng 1 - 2
5	Phú Vang	củ giống, cây giống	Mọc tự nhiên, trồng bổ sung	Thuần loại, kết hợp nuôi cá	Ruộng cạn, đất cát	NPK tổng hợp	Có	Tháng 2 - 3
6	Phú Lộc	Cây giống	Trồng mới	Kết hợp nuôi cá	Ruộng sâu	NPK tổng hợp	Có, xử lý ốc	Tháng 2- 3

Kết quả điều tra về phương thức canh tác cây sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế được trình bày ở bảng 3. Kết quả từ bảng 3 cho thấy:

- *Về phương thức để giống:* người dân chủ yếu để giống cho vụ sau bằng 2 nguồn vật liệu chính là cây giống và củ giống. Từ năm thứ hai, tùy vào thực tế cây giống tại các hồ mà người dân có cách trồng khác nhau (Hình 3). Tại khu vực Đại Nội Huế thuộc thành phố Huế, các huyện Phong Điền, Hương Trà, Phú Lộc người dân trồng mới lại từ các nguồn giống mua tại Huế, Quảng Nam, Đà Nẵng, Quảng Trị, Đồng Tháp. Riêng khu vực Đại Nội, các giống sen được thu thập tại các điểm lưu trữ giống như Hồ Điện ở phường Thủy Biều ở thành phố Huế hay Văn Thánh ở Hương Trà. Khu vực Thành phố Huế, Phú Vang thì người dân bảo quản giống tại hồ dưới dạng củ sen và vào năm sau các củ sen này sẽ tự mọc lại thành cây mới, người dân sẽ tách cây con để trồng ở các vị trí trong hồ sao cho đảm bảo về mật độ, cho năng suất ổn định.

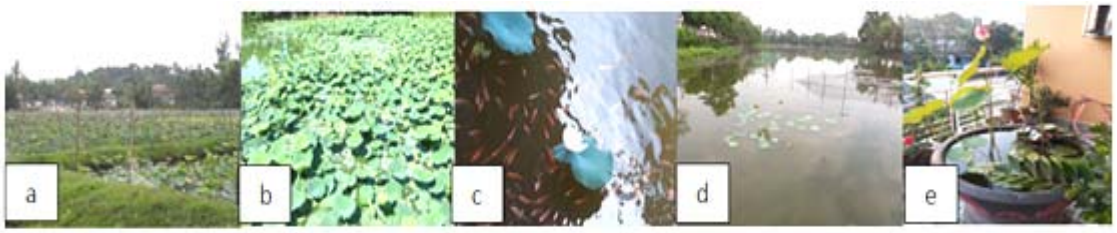
- *Về thời vụ trồng:* Đa số người dân trồng sen vào vụ xuân, bắt đầu từ giữa tháng 1 đến đầu tháng 4 âm lịch. Về phân bón, tại các hồ, bàu chuyên trồng sen thì người dân ít sử dụng phân bón vì do mực nước sâu, diện tích canh tác rộng. Tuy nhiên, tại các ruộng được cải tạo để trồng sen đặc biệt là giống sen cao sản chuyên cho hạt thì người dân sử dụng phân bón NPK (nitrogen, phosphorus, kali) tổng hợp và được chia làm 3 thời kỳ bón: trước lúc trồng, 1 tháng sau trồng và trước lúc ra hoa.

- *Về đặc điểm địa hình trồng sen:* đa số ở các khu vực điều tra, sen Huế đều được trồng trong các hồ nước sâu, các bàu chuyên trồng sen. Trong một vài năm gần đây, người dân mở rộng diện tích, cải tạo các ruộng sâu, ngập nước để trồng các loại sen cao sản chuyên cho hạt. Trong tổng số 341,12 ha ha trồng sen toàn tỉnh, diện tích sen trồng trên đất ruộng là 314,77 ha, đạt 92,28%. Loại địa hình này chủ yếu tập trung ở các huyện Phong Điền, Hương Trà, Phú Vang và Phú Lộc. Tại Khu vực Đại nội và thành phố Huế, sen được trồng chủ yếu trong các hồ chuyên trồng sen với diện tích 26,35 ha, đạt 7,72% (Biểu đồ 2). Đất trồng sen bao gồm các loại như đất hỗn hợp, đất thịt, đất cát tùy thuộc vào vị trí địa lý của từng vùng trồng sen.



Biểu đồ 2. Diện tích các loại địa hình trồng sen ở tỉnh Thừa Thiên Huế

- *Mô hình trồng sen:* theo kết quả điều tra, hiện nay ở tỉnh Thừa Thiên Huế có 3 mô hình chính: thuần loại, luân - xen canh, kết hợp nuôi cá. Riêng mô hình trồng sen kết hợp với nuôi cá là mô hình phổ biến ở các huyện Phong Điền, Hương Trà, Phú Lộc. Mô hình này đã góp phần tăng thêm thu nhập cho người trồng sen (Hình 3)



Hình 3. Mô hình và địa hình trồng sen

a. Sen trồng ruộng, thuần loại; b. Sen trồng hồ, thuần loại; c. Trồng sen kết hợp nuôi cá; d. xen canh, luân canh; e. Sen trồng làm cảnh

3.4. Các sản phẩm từ cây sen, năng suất và hiệu quả kinh tế

Kết quả điều tra về các sản phẩm từ cây sen, năng suất và hiệu quả kinh tế ở các giống địa phương (sen Huế) và giống sen cao sản được trình bày ở bảng 4 và bảng 5.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, các sản phẩm được khai thác bán ra thị trường từ cây sen ở các giống địa phương (sen Huế) rất đa dạng như hoa sen, trà lá sen, hạt sen, tâm sen, củ sen.... Có thể nói, không bộ phận nào của cây sen là không được sử dụng. Các giống sen Huế đều cho vẻ đẹp rất quyến rũ và hương vị rất đặc biệt mà các giống sen ở nơi khác không có được, kể cả sen Hà Nội hay Đồng Tháp. Hạt sen khi chín bở nhưng không nát, miết trên tay thì dẻo, ăn vào đến miệng chạm nhẹ đã tan vào trong miệng kèm theo hương thơm và vị rất đậm đà. Chính vì điều ấy đã giúp cho sen Huế được nhiều người ưa chuộng và có giá bán trên thị trường cao hơn so các giống sen khác.

Riêng đối với giống sen cao sản (Bảng 5), người dân ở Huế chỉ trồng để khai thác hạt, với giá thấp hơn nhiều so với sen Huế (35.000 - 40.000 đồng/1kg). Hoa sen cao sản cũng được dùng để bán

tuy nhiên ít được người dân ưa chuộng, do độ bền không cao và có giá bán thấp, dao động từ 20.000 - 25.000 đồng/10 hoa.

Bảng 4. Các sản phẩm từ cây sen địa phương (sen Huế) và thị trường tiêu thụ

Stt	Các sản phẩm từ cây sen	Giá bán (Việt Nam đồng)	Thời gian xuất hiện của sản phẩm	Địa điểm phổ biến tiêu thụ sản phẩm
1	Gương sen xanh	30.000 - 40.000/10 gương	3 tháng (4-7)	Điểm trồng sen
2	Hạt sen chè chưa bóc vỏ	50.000 - 60.000/1kg	3 tháng (4-7)	Nơi sản xuất - tiêu thụ
3	Hạt sen chè đã bóc vỏ	180.000 - 200.000/1kg	3 tháng (4-7)	Nơi sản xuất - tiêu thụ
4	Hạt sen khô	300.000 - 350.000/ 1kg	Quanh năm	Nơi sản xuất - tiêu thụ
5	Hoa sen	50.000 - 70.000/ 10 hoa	3 tháng (4-7)	Điểm trồng sen
6	Lá sen tươi	15.000 - 20.000/ 10 lá	4 tháng (4-8)	Điểm trồng sen
	Lá sen khô	300.000/1kg	Quanh năm	Nơi sản xuất - tiêu thụ
7	Củ sen	35.000 - 40.000/1kg	2 tháng (8-9)	Điểm trồng sen
8	Ngó sen	150.000 -180.000/1kg	3 tháng (4-7)	Điểm trồng sen
9	Tâm sen	250.000 -300.000đ/1kg	Quanh năm	Nơi sản xuất - tiêu thụ
10	Cuống lá	30.000 - 50.000/10 kg	3 tháng (6-9)	Cơ sở sản xuất đan lát ở Huế

Bảng 5. Các sản phẩm từ cây sen cao sản và thị trường tiêu thụ

STT	Các sản phẩm từ cây sen	Giá bán (Việt Nam đồng)	Thời gian xuất hiện của sản phẩm	Địa điểm phổ biến tiêu thụ sản phẩm
1	Hạt sen chè chưa bóc vỏ	35.000 - 40.000đ/1kg	3 tháng (4-7)	Nơi sản xuất - tiêu thụ
2	Hạt sen chè đã bóc vỏ	60.000 - 70.000đ/1kg	3 tháng (4-7)	Nơi sản xuất - tiêu thụ
3	Hoa sen	20.000 - 25.000 đ/ 10 hoa	3 tháng (4-7)	Điểm trồng sen

Thời gian xuất hiện các sản phẩm từ cây sen kéo dài từ 3 - 4 tháng hoặc quanh năm tùy vào từng loại sản phẩm (Hình 4). Chính điều này đã tạo ra nhiều cơ hội việc làm cho người dân trồng sen và các hộ, các cơ sở kinh doanh sen trên địa bàn Tỉnh Thừa Thiên Huế.

Hình 4. Các sản phẩm từ cây sen

a. Hạt sen chè chưa bóc vỏ; b. Củ sen; c. Gương sen chè; d. Hoa sen; e. Hạt sen chè bóc vỏ (sen tươi); f. Tâm (tim) sen; g. Hạt sen khô; h. Ngó sen

4. KẾT LUẬN

Kết quả điều tra cho thấy tỉnh Thừa Thiên Huế có 6 giống sen hiện được trồng, trong đó có 5 giống có nguồn gốc địa phương (sen Huế) và 1 giống sen cao sản có nguồn gốc từ Đồng Tháp. Các giống sen địa phương chủ yếu được trồng ở các hồ truyền thống chuyên trồng sen thuộc khu vực nội thành và ngoại thành của thành phố Huế và không có giống sen địa phương nào được trồng ở ruộng lúa. Trong khi đó, giống sen cao sản chỉ mới được trồng phổ biến trong những năm gần đây, nhưng chúng được trồng trên một diện tích khá rộng (234,05 ha chiếm 68,61% diện tích trồng sen toàn tỉnh Thừa Thiên Huế) và chúng được trồng cả ở trên hồ sen lẫn ngoài đồng ruộng. So với sen cao sản, thì các sản phẩm được khai thác bán ra thị trường của các giống sen địa phương ở Huế khá phong phú và có giá thành cao hơn. Tuy nhiên, trước tình hình ô nhiễm chung của các hồ sen hiện nay, sen Huế khó có thể duy trì và phát triển rộng, vì thế việc phục hồi các giống sen Huế và triển khai trồng thăm dò trên các đồng ruộng sẽ là một hướng nghiên cứu mới có tính khả thi đối với các giống sen địa phương ở Thừa Thiên Huế.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi nguồn kinh phí của đề tài cấp Tỉnh năm 2017-2019 do Sở Khoa học và Công nghệ Tỉnh Thừa Thiên Huế tài trợ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Thị Nga, Nguyễn Phùng Hà, Lê Văn Tú, Nguyễn Thị Thúy Hằng (2012). Kết quả điều tra và thu thập nguồn gen cây sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) ở Đồng bằng sông Hồng năm 2011- 2012. Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn, 126 - 130.

2. Lê Công Sơn (2008). Bảo tồn lưu giữ giống sen trắng phục vụ tôn tạo cảnh quan cho hồ Thái Dịch khu vực Đại Nội Huế, Trung tâm bảo tồn di tích Cố đô Huế, 35-47.

3. Nguyễn Phước Tuyển (2007). Kỹ thuật trồng Sen. Nxb Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.

4. Goel A., Sharma S and Sharga A. (2001). The conservation of the diversity of *Nelumbo* (Lotus) at the National Botanical Research Institute, Lucknow (India), Botanic Gardens Conservation International, 3(6): 1 - 4.

5. Guo H.B. (2009). Cultivation of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn. ssp. *nucifera*) and its utilization in China, Genetic Resources and Crop Evolution, 56(3), 323 - 330.

6. Nguyen Q. (2001). Lotus for export to Asia: An agronomic and physiological study. RIRDC Publication, 32: 1 - 50.

7. Mukherjee K., Mukherjee D., Maji A., Rai S. and Heinrich M. (2009). The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) - phytochemical and therapeutic profile. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 61: 407 - 422.

8. Pal I. and Dey P. (2015). A Review on Lotus (*Nelumbo nucifera)* Seed, International Journal of Science and Research, (4)7: 1659 - 1665.

9. Sridhar K.R. and Bhat R. (2007). Lotus - A potential nutraceutical source. Journal of Agricultural Technology, 3(1): 143 - 155.

10. Tian D., Tilt K., Woods F., Sibley J. and Dane F. (2006). Summary of development, introduction and marketing strategy to share Lotus in the Southeast United States. Proc. 13th Annual Conference Int. Plant Prop. Soc. Wakayama, Japan, 13: 24 - 26.

INVESTIGATION OF PRODUCTION STATUS OF LOTUS *(Nelumbo nucifera* Gaertn*)* IN THUA THIEN HUE PROVINCE

SUMMURY

The local lotus varieties in Hue are famous for their attractive beauty of flowers, combined with the special taste and quality of tubers and seeds, thus they hold a trademark name as "sen Hue" and very popular with tourists. However, recently due to the pollution of water resources in ponds and lakes, these lotus seeds are seriously degraded and stand in danger of losing their seeds over time. In this research, we investigated and evaluated the production status of lotus in Thua Thien Hue province as a basis for the exploitation and development of the value lotus species in Hue. The reserach results show that the total area of lotus planting in the whole province is 341.12 ha. In which, Phong Dien district is the largest area of lotus cultivation with 196.70 ha, occupying 57.66% of total lotus area, followed by the districts of Phu Vang, Huong Tra, Hue city and Phu Loc. Huong Thuy district has the smallest lotus cultivated area of 0.15 ha, occupying 0.04% of total lotus area in Thua Thien Hue province. There were six different lotus varieties being grown in the Thua Thien Hue province. Of which, there are 5 local lotus varieties with high qualities such as Phu Mong pink lotus, Gia Long pink lotus, Vinh Thanh red lotus, Tinh Tam white lotus (including bright white lotus and white lotus concave). Five these lotus varieties were mainly cultivated in Hue city and their products were very popular and diverse products (10 different products) with high price. Another lotus specie, named Cao san, comes from Dong Thap province was commonly cultivated in Thua Thien Hue and it occupied 68.61% of the lotus areas . The nuts yield of the Cao san lotus was much higher than those of five other lotus species, but the price of the lotus nuts was much lower than those of the local lotus species.

Keywords: area of lotus cultivation, lotus seed, local lotus, cao san lotus.

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG CHỊU MẶN MUỐI NaCl TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO* Ở CÁC GIỐNG CHUỐI GIÀ ĐANG ĐƯỢC TRỒNG PHỔ BIẾN TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Thị Xuân Trang[1], Trần Trọng Tuấn[1], Huỳnh Hữu Đức[2], Đỗ Đăng Giáp[*1]
*[1]Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn Lâm KH & CN Việt Nam, *dodanggiap@gmail.com*
[2]Trường Đại học Nông Lâm Thành Phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Chuối già *(Musa acuminata)* được xem là loại thực phẩm giàu chất dinh dưỡng. Chuối già là giống chuối có giá trị thương mại cao, thúc đẩy sản xuất chuối già xuất khẩu là vấn đề thời sự trong những năm gần đây. Tuy nhiên, với biến đổi khí hậu ngày một tăng, hiện tượng khô hạn, xâm thực mặn… đã làm mất diện tích đất trồng thuận lợi khá nhiều. Việc nghiên cứu và tạo ra giống chuối già chịu mặn là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi bước đầu khảo sát khả năng chịu mặn của các giống chuối già thương mại như Grand Nain (nhập nội), William (nhập nội) và Laba (Việt Nam). Kết quả nghiên cứu cho thấy, giống chuối già Laba và Grand Nain có tỷ lệ sống cao nhất 16,67 % ở môi trường muối NaCl 250 mM. Trọng lượng tươi, hàm lượng chlorophyll của cả 3 giống đều giảm dần khi tăng dần nồng độ muối trong môi trường nuôi cấy. Ở nồng độ muối 250 mM, trọng lượng tươi chuối già Laba là thấp nhất 0m05 g và hàm lượng chlorophyll thấp nhất ở giống chuối già William với 0,03 mg/g lá. Khi nồng độ muối NaCl 200 mM, hàm lượng proline của giống chuối già Grand Nain cao nhất với 0,67 µg/mg thân, lá. Và giống chuối Laba và William lần lượt là 0,29 µg/mg và 0,21 µg/mg.

Từ khóa: cây chuối già, Musa acuminata, chịu mặn, NaCl

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Môi trường đang ngày càng trở nên xấu hơn bởi tác động của con người làm hư hại tầng khí quyển, hiện tượng nóng lên của Trái Đất,… các thiên tai xảy ra ngày một tăng gây ảnh hưởng không nhỏ đến đời sống của người dân, trong đó không thể không nhắc đến hiện tượng xâm nhập mặn. Hiện tượng xâm nhập mặn sẽ càng lấn sâu vào đất liền làm ảnh hưởng đến đất trồng trọt của người dân.

Độ mặn cao sẽ làm ức chế sự hấp thụ nước, thay đổi khả năng đóng mở của khí khổng và làm thay đổi nguồn CO_2 hấp thụ vào tế bào lá cây… gây tổn thương mô tế bào thực vật (Bùi Trang Việt, 2016). Mặn làm quá trình trao đổi chất bị rối loạn dẫn đến sự tích lũy các chất trung gian độc hại như NH_3 và các chất khác. Mặn gây hư hại vi cấu trúc của tế bào, đặc biệt lục lạp và ti thể. Những thay đổi trong trao đổi chất thường dẫn đến sự gia tăng một số chất liên quan đến điều chỉnh áp suất thẩm thấu trong tế bào như: glycine, betaine, proline, ectoine hoặc polyol… Phản ứng chung nhất của cây đối với tác hại của mặn là kìm hãm sự sinh trưởng. Rất nhiều nghiên cứu đã kết luận: khi cây sinh trưởng trên một nền dung dịch muối mặn thì có sự giảm áp suất thẩm thấu của tất cả các tế bào của chúng để tránh được sự mất nước và chết. Bên cạnh đó mặn còn ảnh hưởng đến quá trình phosphat và phosphory hóa. Mặn đã gây hại cho các cơ chế kiểm tra sử dụng pin của tế bào, qua đó mà ảnh hưởng đến phosphoryl hóa và ảnh hưởng đến hàm lượng và sự sử dụng ATP trong tế bào (Negrao S. *et al.,* 2013). Ngoài ảnh hưởng tới các nhân tố sinh trưởng thì mặn còn ảnh hưởng lên sự vận chuyển vật chất trong cây như sự vận chuyển phloem: sự tích luỹ các sản phẩm quang hợp trong lá khi bị mặn, nói lên sự vận chuyển trong *libe* bị kìm hãm. Mặn ảnh hưởng lên trao đổi chất: mặn làm rối loạn trao đổi chất, đặc biệt là trao đổi protein. Mặn có thể làm chuyển hướng từ trao đổi CO_2 của axit hữu cơ sang tổng hợp axit amine nên cây bị mặn có khuynh hướng tích lũy amino acid và cả amit nữa... Điều thú vị là sự biến đổi carbon từ axit hữu cơ sang amino acid là con đường trao đổi chất thông thường của tảo biển. Cũng có thể các amino acid này có vai trò nào đó trong việc điều

chỉnh thẩm thấu. Người ta phát hiện ra rằng NaCl và Na_2SO_4 có tác dụng gây rối loạn trao đổi carbohydrate ở đỉnh rễ theo hướng giảm glucose hấp thụ, giảm sự đường phân và giảm hô hấp, dẫn đến giảm sinh trưởng của rễ (Trần Thị Phương Liên, 2010). Đất bị nhiễm mặn ảnh hưởng rất lớn đến sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng.

Chuối già *(Musa acuminata)* được xem là loại thực phẩm giàu chất dinh dưỡng rất cần thiết cho trẻ em, người cao tuổi và những người lao động thể lực nặng nhọc cần bồi dưỡng sức khỏe. Trong quả chuối có sự hiện diện của Banlec, một protein đặc biệt có khả năng ngăn cản sự xâm nhập của virut HIV vào cơ thể (Trần Thanh Hương, 2011). Chuối già là giống chuối có giá trị thương mại cao. Theo FAO, xuất khẩu chuối của cả thế giới đạt được trên 4,7 tỷ USD một năm đã đem lại nguồn thu nhập lớn cho nhiều nước. Việt Nam cũng là một trong những nước xuất khẩu chuối già, có những thời điểm lên đến hàng trăm tấn chuối trên một ngày. Một số giống chuối già thương mại thường được trồng phổ biến ở Việt Nam là: Grand Nain (nhập nội), William (nhập nội) và Laba (Việt Nam). Giống Grand Nain hay còn gọi là già lùn, cây cao 1,2 - 1,5m, cây mập, lá rộng bề ngang, nhưng ngắn hơn chiều dài so với lá chuối già cao, phẩm chất khá. Quả giống chuối già lùn có các đặc điểm như: có vị ngọt đậm, thơm và ngon, cuống quả chắc, vỏ quả dày. Chuối già Wiliam hay còn gọi là chuối già cao thuộc loại cây thảo, cao từ 5m đến 6m, sống lâu năm, thân cây tròn, mềm, thẳng, có bẹ lá. Trái nằm trên buồng, có từ 6-8 nải, mỗi nải khoảng 12 trái. Trái nhỏ, dài, mùi thơm. Khi chưa chín, vỏ vẫn màu xanh nhưng khi chín mùi thơm và vỏ thì màu vàng. Chuối Laba (chuối tiến vua) có buồng dài, quả chuối thon có hình dáng đẹp, dài và hơi cong, khi chín có vỏ mỏng, màu vàng tươi. Thịt quả có màu vàng sánh, dẻo, ngọt và có mùi thơm đặc trưng. Diện tích đất trồng trọt ngày một thu hẹp do hiện tượng xâm nhập mặn, thị trường chuối già xuất khẩu lại một tăng, rất cần những dòng chuối già có khả năng chịu mặn trồng trên đất bị xâm nhập mặn, nhằm tăng sản lượng chuối già đáp ứng nhu cầu chuối xuất khẩu hiện nay. Đã có những nghiên cứu thành công về chuối chịu mặn. Năm 2011, Upendra và cộng sự đã nghiên cứu về gene MusaDHN-1, khi gene này kích hoạt thì cây chuối có khả năng chống chịu lại các stress mặn, hạn hán và lạnh của môi trường bên ngoài. Năm 2012, Shareena Sreedharan và cộng sự đã phân tích vùng A20/AN1 có Stress Associated Proteins (SAP). SAP có liên quan đến các phản ứng stress trong thực vật. Các nghiên cứu về gene MusaSAP1 có liên quan đến khả năng chống chịu mặn trên cây chuối trong giai đoạn *in vitro* và *ex vitro*. Rustagi và cộng sự (2015) chuyển gene PCAMBIA-1301 thành công vào đỉnh sinh trưởng thông qua Agrobacterium EHA 105. Cây tái sinh từ chồi có thể sống trong môi trường chứa muối NaCl và mannitol. Trong bài này chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu về khả năng chịu mặn muối NaCl của các giống chuối già *(Musa acuminata)* có ở Việt Nam, sau đó sẽ so sánh khả năng chịu mặn muối NaCl của các giống chuối này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thực hiện từ tháng 1 năm 2017 đến tháng 6 năm 2017 tại phòng thí nghiệm tế bào thực vật – Viện Sinh học Nhiệt đới.

2.2. Vật liệu

Mẫu nuôi cấy ban đầu sử dụng là mô chồi chuối già *(Musa acuminata) in vitro* có tại Phòng Công nghệ tế bào thực vật – Viện Sinh học Nhiệt đới. Cụ thể là các giống chuối già thương mại: Grand Nain (nhập nội), William (nhập nội) và Laba (Việt Nam).

2.3. Bố trí thí nghiệm

2.3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già Laba *in vitro*

Các mô chồi chuối già Laba được cắt nhỏ và cấy vào môi trường MS có bổ sung 5mg/l BA;

0,5 mg/l IAA; 100 mg/l L-tyrosine và 100 mg/l adenine sulfate, nước dừa 20%, pH 5,8, đường 30gr/l và agar 8gr/l (Vũ Ngọc Phượng và cộng sự, 2009). Môi trường được bổ sung thêm muối NaCl (0; 50; 100; 150; 200; 250 mM) ở các nồng độ khác nhau. Ghi nhận ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau lên mẫu mô chồi chuối sau 3 tuần nuôi cấy

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu sống (%); trọng lượng tươi (g); hàm lượng Chlorophyll (µg/mg); hàm lượng proline (µg/mg); quan sát hình thái.

2.3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già Grain Nain *in vitro*

Các mô chồi chuối già *Grand Nain* được cắt nhỏ và cấy vào môi trường MS có bổ sung 5mg/l BA; 0,5 mg/l IAA; 100 mg/l L-tyrosine và 100 mg/l adenine sulfate, nước dừa 20%, pH 5,8, đường 30gr/l và agar 8gr/l (Vũ Ngọc Phượng và cộng sự, 2009). Môi trường được bổ sung thêm muối NaCl (0; 50; 100; 150; 200; 250 mM) ở các nồng độ khác nhau. Ghi nhận ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau lên mẫu mô chồi chuối sau 3 tuần nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu sống (%); trọng lượng tươi (g); hàm lượng Chlorophyll (mg/g); hàm lượng proline (µg/mg); quan sát hình thái.

2.3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già William *in vitro*

Các mô chồi chuối già *William* được cắt nhỏ và cấy vào môi trường MS có bổ sung 5mg/l BA; 0,5 mg/l IAA; 100 mg/l L-tyrosine và 100 mg/l adenine sulfate, nước dừa 20%, pH 5,8, đường 30gr/l và agar 8gr/l (Vũ Ngọc Phượng và cộng sự, 2009). Môi trường được bổ sung thêm muối NaCl (0; 50; 100; 150; 200; 250 mM) ở các nồng độ khác nhau. Ghi nhận ảnh hưởng của NaCl ở các nồng độ khác nhau lên mẫu mô chồi chuối sau 3 tuần nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu sống (%); trọng lượng tươi (g); hàm lượng Chlorophyll (mg/g); hàm lượng proline (µg/mg); quan sát hình thái.

2.4. Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ trung bình 25°C ± 2, thời gian chiếu sáng 14 h/ngày, cường độ chiếu sáng tương đương 50,64 ± 1,00 µmol.$m^{-2}s^{-1}$, độ ẩm trung bình 60% ± 5.

2.5. Phương pháp lấy số liệu

$$\text{Tỷ lệ mẫu sống (\%)} = \frac{\Sigma \text{ số mẫu sống}}{\Sigma \text{ số mẫu cấy}} \times 100 \quad \frac{\Sigma \text{ số mẫu sống}}{\Sigma \text{ số mẫu cấy}} \times 100$$

Trọng lượng tươi (g/mẫu cấy): được xác định bằng cách cân khối lượng tươi của mẫu.

Phương pháp xác định hàm lượng chlorophyll : Xác định hàm lượng diệp lục tố: đo hàm lượng diệp lục tố trong mẫu theo phương pháp Arnon (1949). Mỗi nghiệm thức lấy ra 3 mẫu. Mỗi mẫu cân 25 mg lá, cắt và nghiền nhuyễn. Cho mẫu lá vào ống nghiệm với 10 ml acetone 80%. Đậy kín ống nghiệm và đặt trong tối ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ. Sau 72 giờ, tiến hành đo mật độ quang của từng ống nghiệm ở 2 bước sóng 645 nm (OD_{645}) và 663 nm (OD_{663}) bằng máy đo quang phổ. Công thức tính hàm lượng diệp lục tố a và b:

Hàm lượng diệp lục tố (mg/g lá) = [(12,7 x OD_{663}) – (2,69 x OD_{645})] x 10/A + [(22,9 x OD_{645}) – (4,68 x OD_{663})] x 10/A.

A: trọng lượng 25 mg mẫu lá; OD_{663}: mật độ quang đo ở bước sóng 663 nm; OD_{645}: mật độ quang đo ở bước sóng 645 nm.

Phương pháp xác định hàm lượng proline mẫu

Hàm lượng proline của mẫu được xác định bằng phương pháp so màu (Bates và *et al.,* 1973). Quy trình được tiến hành theo các bước sau: cân 50 mg lá và thân vào ống eppi, cho vào mỗi ống 1 viên bi nghiền; nghiền với nitơ lỏng bằng máy nghiền; bổ sung 1,5 ml acid sulfosalicylic 3% (w/v), lắc đều ống lên xuống; ly tâm 7000 vòng/20 phút; thu 300 µl dịch nổi, bổ sung 600 µl axit sulfosalicylic 3% (w/v) (Tỷ lệ 1:2); thực hiện phản ứng màu: lấy 200µl dịch trong cho vào ống eppi, bổ sung 200 µl axit axetic và 200 µl dung dịch nynhidrin (0,1 g ninhydrin + 2,4 ml aceticacid + 1,6 ml phosphoric acid 6M), ủ phản ứng ở 100 độ C trong 1 giờ, sau đó dừng phản ứng bằng cách làm lạnh trong đá bào ít nhất 15 phút; bổ sung 400 µl toluence vào hỗn hợp phản ứng, lắc đều; thu 200 µl dịch nổi; bổ sung 800 µl toluence; đo độ hấp thụ với bước sóng 520 nm (A520); hàm lượng proline trong mẫu được tính toán bằng cách so sánh với đường chuẩn.

2.6. Phân tích và xử lý số liệu

Các thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu thí nghiệm đơn yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên. Số liệu thí nghiệm được thu thập tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), kết quả phân hạng theo Ducan bằng chương trình SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già Laba *in vitro*

Sau khoảng 7 ngày theo dõi, chúng tôi đã nhận thấy mẫu mô chồi Laba cấy vào các môi trường với các nồng độ muối NaCl khác nhau bắt đầu có sự thay đổi. Đã xuất hiện mẫu hóa đen và chết ở nồng độ muối NaCl 150, 200, 250 mM. Còn ở nghiệm thức đối chứng nồng độ muối NaCl là 0 mM thì mẫu vẫn phát triển bình thường. Và sau 3 tuần nuôi cấy, chúng tôi thu nhận được bảng số liệu sau:

Bảng 1. Ảnh hưởng của muối NaCl đến tỷ lệ sống (%) và trọng lượng tươi (g) mẫu chồi chuối già Laba *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Trọng lượng tươi (g)
0	100	1,05a
50	93,33	0,79b
100	86,67	0,42c
150	63,33	0,13d
200	46,67	0,08d
250	16,67	0,05d
CV(%)		19,94
ANOVA		**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Theo bảng số liệu trên, cho thấy tỷ lệ mẫu sống cao nhất là 100% ở nghiệm thức đối chứng với nồng độ muối NaCl là 0 mM. Khi tăng dần nồng độ muối NaCl từ 50 đến 250 mM thì tỷ lệ sống của mẫu cũng giảm dần. Ở nồng độ muối 250 mM thì tỷ lệ sống là thấp nhất với 16,67%. Khi độ mặn tăng cao sẽ làm ức chế sự hấp thụ nước, thay đổi khả năng đóng mở của khí khổng và làm thay đổi nguồn CO_2 hấp thụ vào tế bào lá cây… gây tổn thương mô tế bào thực vật, khi tổn thương mô quá nặng thì mẫu sẽ chết. Vì vậy, khi nồng độ muối càng cao thì tỷ lệ mẫu chết sẽ càng nhiều.

Kết quả sau 3 tuần nuôi cấy cho thấy (bảng 1), trọng lượng tươi của mẫu chồi chuối Laba có sự thay đổi rõ. Trọng lượng tươi giảm dần khi tăng nồng độ muối NaCl từ 0 đến 250 mM. Ở nghiệm thức không bổ sung muối NaCl có trọng lượng tươi là 1,05 g. Và nồng độ này giảm dần đến nồng độ muối NaCl 250mM thì trọng lượng tươi là thấp nhất 0,05 g. Stress muối sẽ làm giảm khả năng hấp thu nước của cây, điều này dẫn đến giảm tăng trưởng. Đây là hiệu ứng thẩm thấu nước của sự căng thẳng thâm hụt muối. Stress muối gây ức chế sự hấp thu dinh dưỡng từ môi trường nuôi cấy, áp suất thẩm thấu thay đổi. Các quá trình sinh hóa, tổng hợp nguồn dinh dưỡng bị thay đổi, dẫn đến quá trình tích lũy năng lượng, tích lũy nguồn cacbonhydrat giảm. Từ đó trọng tươi của mẫu cũng giảm theo (hình 1 giống Laba). Vì vậy, khi nồng độ muối càng tăng cao thì trọng lượng tươi của mẫu càng giảm rõ rệt.

Bảng 2. Ảnh hưởng của muối NaCl đến hàm lượng chlorophyll (mg/g) và hàm lượng proline (µg/mg) của mẫu chồi chuối già Laba *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Hàm lượng chlorophyll (mg/g)	Hàm lượng proline (µg/mg)
0	0,89a	0,17c
50	0,28b	0,24ab
100	0,13b	0,23abc
150	0,07b	0,23abc
200	0,06b	0,29a
250	0,05b	0,21bc
CV(%)	40,14	9,85
ANOVA	**	**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Theo như bảng 2, cho thấy hàm lượng chlorophyll của mẫu chồi chuối Laba *in vitro* giảm dần theo nồng độ muối NaCl. Ở nghiệm thức đối chứng có nồng độ muối NaCl bằng 0 mM thì hàm lượng chlorophyll là 0,89 mg/g lá, khi nồng độ muối tăng cao dần thì hàm lượng chlorophyll cũng giảm dần. Ở nồng độ muối NaCl 50mM có chlorophyll là 0,28 mg/g lá giảm khá nhiều so với nghiệm thức đối chứng không có muối NaCl. Ở các nồng độ muối NaCl từ 50 đến 250 mM thì hàm lượng chlorophyll dường như không có sự thay đổi. Khi môi trường bên ngoài có nồng độ muối cao, muối mặn gây hư hại vi cấu trúc của tế bào, đặc biệt lục lạp và ti thể. Cấu trúc lục lạp bị thay đổi sẽ ảnh hưởng đến quá trình quang hợp. Khi nồng độ muối tăng cao, áp suất thẩm thấu sẽ thay đổi, làm quá trình đóng mở của khí khổng thay đổi và quá trình hấp thu CO_2 vào lá cũng bị ảnh hưởng. Các chất phản ứng chứa oxi được sản xuất, các điện tử từ các chuỗi vận chuyển điện tử trong ty thể và lục lạp bị rò rĩ và phản ứng với oxi trong sự vắng mặt của chất nhận điện tử khác (Smirnoff, 1993; Mittler, 2002), từ đó quá trình quang hợp không diễn ra bình thường và hàm lượng chlorophyll giảm.

Sau 3 tuần nuôi cấy, hàm lượng proline của mẫu chồi chuối Laba có sự khác nhau rõ rệt ở các nghiệm thức với nồng độ muối NaCl khác nhau. Hàm lượng proline cao nhất ở nghiệm thức có nồng độ muối NaCl là 200 mM với 0,29 µg/mg thân lá, hàm lượng proline thấp nhất ở nghiệm thức không bổ sung muối NaCl với 0,17 µg/mg thân lá. Vậy hàm lượng proline có liên quan đến khả năng chịu mặn của mẫu. Khi nồng độ muối tăng cao, áp suất thẩm thấu sẽ thay đổi, các quá trình trao đổi chất hay sinh tổng hợp các chất cũng sẽ thay đổi theo, những thay đổi trong trao đổi chất thường dẫn đến sự gia tăng một số chất liên quan đến điều chỉnh áp suất thẩm thấu trong tế bào như: glycine, betaine và proline… từ đó làm tăng hàm lượng proline trong tế bào (Bùi Trang Việt, 2000). Bên cạnh đó, mặn có thể làm chuyển hướng từ trao đổi CO_2 của axit hữu cơ sang tổng hợp axit amine nên cây bị mặn có khuynh hướng tích lũy acid amine trong đó có proline. Khi cây bị mặn, hàm lượng proline

trong tế bào tăng lên, làm tăng áp suất thẩm thấu của tế bào, đồng thời nó còn bảo vệ màng tế bào (Abdel và et al., 2003). Nhờ vậy, tế bào chất ổn định và cấu trúc tế bào không bị hư hại giúp cây sống được trên môi trường mặn.

3.2. Thí nghiệm 2: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già Grand Nain *in vitro*

Sau khoảng 1 tuần nuôi cấy, ở nghiệm thức không có muối NaCl và nồng độ muối NaCl 50 mM cây vẫn phát triển bình thường, xanh tốt. Còn những nghiệm thức có nồng độ muối khá cao như 200 và 250 mM thì mẫu không có sự phát triển, mẫu bị đen nhiều, xuất hiện mẫu chết khá nhiều.

Bảng 3. Ảnh hưởng của muối NaCl đến tỷ lệ sống (%) và trọng lượng tươi (g) mẫu chuối già Grand Nain *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Trọng lượng tươi (g)
0	100	0,74a
50	96,67	0,77a
100	86,67	0,31b
150	70	0,17b
200	20	0,09b
250	16,67	0,06b
CV(%)		25,76
ANOVA		**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Bảng 3 thể hiện kết quả sau 3 tuần nuôi cấy mẫu chồi chuối Grand Nain *in vitro*, tỷ lệ mẫu sống giảm dần theo nồng độ muối tăng cao. Ở nghiệm thức đối chứng, môi trường không bổ sung muối, mẫu đạt tỷ lệ sống 100%. Khi nồng độ muối tăng dần từ 50 đến 250 mM thì tỷ lệ mẫu sống giảm dần xuống. Ở nồng độ muối NaCl 50 và 100 mM lần lượt có tỷ lệ sống là 96,67 % và 86,67%. Nhưng khi tăng nồng độ muối NaCl lên 250 mM thì tỷ lệ sống giảm khá thấp còn 16,67 %. Stress muối ảnh hưởng đến sinh lý thực vật của cây cũng như toàn bộ các tế bào do stress thẩm thấu và stress ion (Hasegawa *et al.,* 2000). Nồng độ muối cao sẽ dẫn đến lượng lớn tích lũy các chất độc hại trong lá làm mất nước giảm sức trương, làm cho các tế bào và mô lá bị chết (Marschner, 1995). Từ đó, stress muối gây tổn hại trực tiếp cho thực vật (Bùi Trang Việt, 2016). Khi nồng độ muối càng cao thì sự tổn thương tế bào càng lớn và gây chết mẫu.

Sau 3 tuần nuôi cấy, trọng lượng tươi của mẫu cũng có sự thay đổi (hình 1 giống Grand Nain). Môi trường không bổ sung muối NaCl và môi trường có nồng độ muối 50 mM có trọng lượng tươi lần lượt là 0,74g và 0,77g. Khi nồng độ muối tăng dần từ 50 đến 250 mM thì trọng lượng tươi cũng giảm theo. Nồng độ muối 100 mM có trọng lượng tươi là 0,31 giảm khá nhiều so với môi trường có nồng độ muối NaCl 50 mM. Theo Munns (2005), thực vật sẽ giảm tăng trưởng nhanh chóng khi tiếp xúc với độ mặn. Áp suất thẩm thấu giữa bên ngoài và bên trong cây thay đổi, làm giảm khả năng hấp thụ nước của cây, điều này làm giảm khả năng tăng trưởng. Khi nồng độ muối tăng cao, muối sẽ tích tụ trong các mô tăng trưởng và gây ức chế sự trưởng của tế bào và làm giảm sự tăng trưởng ở lá. Từ sự giảm tăng trưởng dẫn đến trọng lượng tươi của mẫu cũng giảm theo. Khi nồng độ muối 250 mM thì trọng lương tươi chỉ có 0,06g, dường như không có sự gia tăng trọng lượng. Từ nồng độ muối 100 đến 250 mM thì trọng lượng tươi không có sự thay đổi nhiều.

Bảng 4. Ảnh hưởng của muối NaCl đến hàm lượng chlorophyll (mg/g) và hàm lượng proline (µg/mg) mẫu chồi chuối già Grand Nain *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Hàm lượng chlorophyll (mg/g)	Hàm lượng proline (µg/mg)
0	1,27a	0,14e
50	1,2ab	0,15de
100	1,14bc	0,18d
150	1,13bc	0,22c
200	1,14bc	0,67a
250	1,08c	0,35b
CV(%)	2,42	4,04
ANOVA	**	**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Hàm lượng chlorophyll của mẫu chồi chuối già Grand Nain *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy thể hiện ở bảng 4. Hàm lượng chlorophyll có sự thay đổi so với các nghiệm thức với nồng độ muối NaCl khác nhau. Nghiệm thức không có muối NaCl có hàm lượng chlorophyll cao nhất là 1,27 mg/g lá, hàm lượng chlorophyll giảm dần khi nồng độ muối tăng cao. Các nghiệm thức từ 100 đến 200 mM thì không có sự thay đổi nhiều về hàm lượng chlorophyll. Khi nồng độ muối NaCl 250 mM thì mẫu có hàm lượng chlorophyll là thấp nhất 1,08 mg/g lá. Stress muối gây tích lũy lượng lớn các muối độc hại trong lá, làm cho các tế bào và mô lá bị chết. Hoạt động của các enzyme bị ảnh hưởng (Lacerda *et al.,* 2003) và quá trình quang hợp khó diễn ra bình thường. Muối còn gây tăng cường sự tích lũy NaCl trong lục lạp của thực vật làm giảm hoạt động của chuỗi truyền điện tử quang hợp (Kirst, 1989). Từ đây, quá trình quang hợp bị ảnh hưởng.

Cũng như hàm lượng chlorophyll thì hàm lượng proline của mẫu chồi chuối già Grand Nain *in vitro* cũng có sự thay đổi sau 3 tuần nuôi cấy. Số liệu thể hiện cụ thể ở bảng 4. Hàm lượng proline trong mẫu cao nhất là ở nghiệm thức có nồng độ muối 200 mM với 0,67 µg/mg mẫu. Ở nghiệm thức 250 mM muối NaCl thì hàm lượng proline giảm còn 0,35 µg/mg mẫu. Hàm lượng proline giảm dần khi nồng độ muối giảm dần. Hàm lượng proline thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng với 0,14 µg/mg mẫu. Proline là chất hữu cơ tham gia điều chỉnh thẩm thấu, bảo vệ các đại phân tử tế bào, lưu giữ cấu trúc nitơ, duy trì độ pH, giải độc cho các tế bào, và loại bỏ các gốc tự do trong điều kiện mặn (Mansour *et al.,* 2000). Nhờ có proline mà cây trồng sống được trong điều kiện mặn. Hàm lượng proline sẽ tích lũy cao trong các dòng mô chịu mặn.

3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát khả năng chịu mặn muối NaCl ở giống chuối già William *in vitro*

Sau 7 ngày nuôi cấy, mẫu ở nghiệm thức không có muối NaCl chồi vẫn phát triển bình thường, còn nghiệm thức có bổ sung 50 mM muối NaCl mẫu phát triển khá chậm so với nghiệm thức dối chứng, mẫu bị đen bên ngoài khá nhiều. Từ nghiệm thức có nồng độ muối 100 mM đến 250 mM mẫu phát triển rất chậm và mẫu bị đen nhiều, đã xuất hiện mẫu chết.

Sau 3 tuần nuôi cấy, tỷ lệ mẫu sống của chồi chuối già William *in vitro* thể hiện ở bảng 5. Nghiệm thức đối chứng không bổ sung muối có tỷ lệ sống là 100%. Tỷ lệ sống giảm dần từ nồng độ muối 50 đến 250 mM. Nồng độ muối 50 mM có tỷ lệ mẫu sống là 83,33 %. Tỷ lệ này giảm dần đến môi trường có nồng độ muối 250 mM thì tỷ lệ sống là 3,33 %, tỷ lệ sống thấp nhất. Khi nồng độ muối quá cao, sự tổn thương tế bào là rất lớn. Nguyên nhân gây tổn thương của tế bào có lẽ là do vận chuyển muối vượt quá khả năng của các tế bào để tạo thành ngăn muối trong không bào, sau đó sẽ nhanh chóng tăng lên trong tế bào chất và ức chế hoạt động của enzyme. Ngoài ra, nó có thể tích

tụ trong thành tế bào, làm tế bào mất nước (Munns, 2005). Và khi nồng độ Na^+ và Cl^- tích tụ quá nhiều trong thời gian dài với nồng độ cao thì cây sẽ úa vàng, các tế bào và mô lá đều bị hoại tử và chết (Gopal và Dube, 2003). Từ đó, tỷ lệ sống của cây giảm dần khi nồng độ muối tăng cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của muối NaCl đến tỷ lệ sống (%) và trọng lượng tươi (g) mẫu chuối già William *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Trọng lượng tươi (g)
0	100	1,33a
50	83,33	0,68b
100	33,33	0,21c
150	30	0,14c
200	13,33	0,09c
250	3,33	0,09c
CV(%)		16,26
ANOVA		**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Trọng lượng tươi của mẫu chuối già William *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy thể hiện ở bảng 5. Trọng lượng tươi có sự khác biệt so với các nghiệm thức có nồng độ muối khác nhau (hình 1 giống William). Nghiệm thức đối chứng không có muối NaCl có trọng lượng tươi là 1,33 g. Trọng lượng tươi giảm dần khi nồng độ muối tăng dần. Khi nồng độ muối tăng đến 250 mM thì trọng lượng tươi giảm còn 0,09 g. Ở nghiệm thức này dường như mẫu không có sự gia tăng trọng lượng. Có thể khi môi trường nuôi cấy có nồng độ muối quá cao, có sự tương tác của muối với các chất dinh dưỡng và khoáng gây mất cân bằng và thiếu hụt dinh dưỡng. Khi nồng độ muối tăng quá cao, trong các tế bào tích lũy quá nhiều ion Na^+ và Cl^- sẽ làm giảm sự hấp thụ các chất dinh dưỡng khác như K^+, Ca^{2+} , và Mn^{2+} (Karimi và *et al.,* 2005). Từ đây, quá các quá trình trao đổi chất, quá trình sinh tổng hợp các chất đều bị ảnh hưởng, nên không có sự tích lũy về năng lượng và cacbonhydrat nên mẫu không có sự gia tăng trọng lượng.

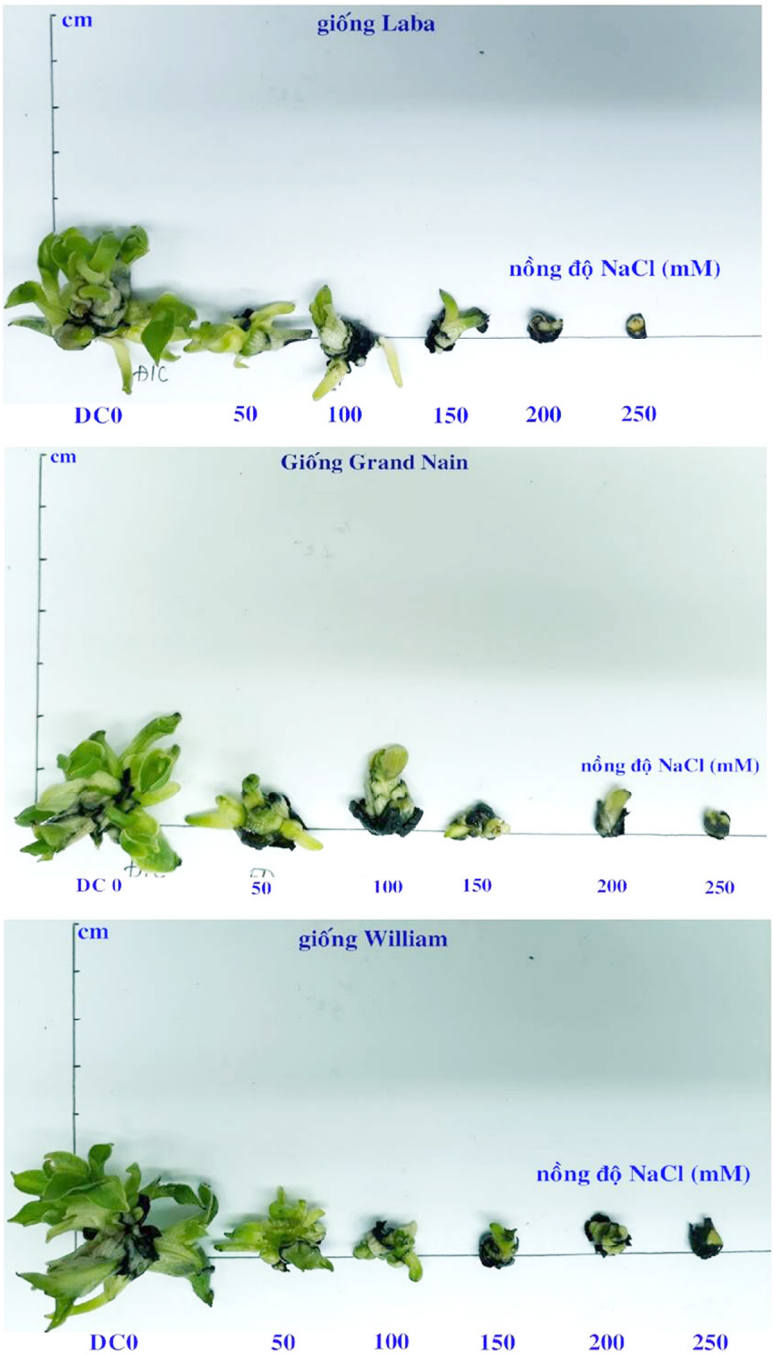
Bảng 6. Ảnh hưởng của muối NaCl đến hàm lượng chlorophyll (mg/g) và hàm lượng proline (µg/mg) của mẫu chồi chuối già William *in vitro*

Nồng độ NaCl (mM)	Hàm lượng chlorophyll (mg/g)	Hàm lượng proline (µg/mg)
0	1,65a	0,1c
50	0,26b	0,15b
100	0,18b	0,15b
150	0,06c	0,21a
200	0,09c	0,21a
250	0,03c	0,14b
CV(%)	9,74	6,91
ANOVA	**	**

*Ghi chú: Các giá trị trong bảng là giá trị trung bình, giá trị không cùng mẫu tự theo sau có sự khác biệt ý nghĩa thống kê "**": khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 0,01,"*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

Bảng 6, thể hiện hàm lượng chorophyll của mẫu chồi chuối già William *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy. Hàm lượng chlorophyll có sự khác biệt rõ giữa các nghiệm thức. Hàm lượng chlorophyll cao nhất ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung muối NaCl với hàm lượng là 1,65 mg/g lá. Ở

nghiệm thức này, quá trình quang hợp diễn ra bình thường. Khi tăng dần nồng độ muối NaCl lên thì hàm lượng chlorophyll giảm đáng kể. Nghiệm thức có nồng độ muối NaCl 50 mM có hàm lượng chlorophyll là 0,26 mg/g lá, giảm rất nhiều so với nghiệm thức đối chứng. Trong thực vật bậc cao, stress muối gây ức chế hoạt động giai đoạn II của quá trình quang hợp (Kao và *et al.,* 2003; Parida và et al, 2003). Vậy khi môi trường nuôi cấy có muối thì hàm lượng chlorophyll có sự thay đổi. Khi nồng độ muối tăng đến 250 mM thì hàm lượng chlorophyll còn rất thấp là 0,03 mg/g lá. Ngộ độc muối dẫn đến lá bị tổn thương, chết, quá trình quang hợp giảm (Munns, 2002) hoặc lá không còn chức năng quang hợp và hàm lượng chlorophyll là rất ít.



Hình 1. Hình thái mẫu cấy ở các giống khác nhau (Laba; Grand Nain; William) tương ứng với các nồng độ muối NaCl (0; 50; 100; 150; 200; 250 mM) khác nhau

Theo như bảng 6, hàm lượng proline của mẫu chồi chuối già William *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy có sự khác biệt so với các nghiệm thức. Hàm lượng proline cao nhất là 0,21 µg/mg đạt được ở nồng độ muối NaCl 200 mM. Khi nồng độ muối tăng lên 250 mM thì proline giảm còn 0,14 µg/mg. Hàm lượng proline thấp nhất là ở nghiệm thức không chứa muối với 0,1 µg/mg. Hàm lượng proline tăng dần theo nồng độ muối từ 0 đến 200 mM tăng tương ứng từ 0,1 đến 0,21 µg/mg mẫu. Theo Ghoulam (2001), để khắc phục stress mặn, cây tạo ra các cơ chế bảo vệ giúp nó thích nghi. Các cơ chế này bao gồm sự điều chỉnh thẩm thấu, đi cùng với sự tích lũy các chất tan như proline. Proline tăng cường khả năng chống chịu với muối của thực vật bằng cách bảo vệ hoạt động của hệ thống protein khỏi sự phá hủy của stress và điều hòa dương các protein bảo vệ. Khi nồng độ muối tăng cao, thì hàm lượng proline cũng tăng theo. Proline là một thành phần quan trọng trong sự đáp ứng với stress muối ở thực vật (Niramaya và *et al.,* 2016).

Theo như kết quả trên, chúng tôi nhận thấy rằng, giống chuối già Laba *in vitro* và chuối già Grand Nain *in vitro* đạt tỷ lệ sống cao nhất trên môi trường muối NaCl 250mM với 16,67%. Theo Maas và Grattan (1999), khả năng chịu mặn được đánh giá dựa trên tỷ lệ phần trăm cây còn sống. Vậy giống chuối già Laba và Grand Nain có khả năng chịu mặn cao hơn giống chuối già William. Trọng lượng tươi của cả 3 giống chuối này khi nồng độ muối 250 mM gần như nhau, dao động từ 0,05-0,09g giảm rất thấp so với mẫu đối chứng không có muối NaCl. Dường như không có tích lũy năng lượng. Khi nồng độ muối quá cao, hoạt động của enzyme và quá trình trao đổi chất bị ảnh hưởng, sự mất cân bằng ion và sự thiếu hụt dinh dưỡng (Lacerda và *et al.,* 2003) làm cả 3 giống chuối đều không có sự gia tăng trọng lượng tươi. Hàm lượng chlorophyll của cả 3 giống đều giảm dần khi tăng nồng độ muối, khi nồng độ muối 250mM thì giống chuối Grand Nain có hàm lượng chlorophyll cao nhất với 1,08 mg/g lá, còn giống Laba là 0,05 mg/g lá và William là 0,03 mg/g lá. Hàm lượng chlorophyll gần như là rất thấp. Vậy khi nồng độ muối tăng cao, giống chuối già Grand Nain vẫn có khả năng quang hợp tốt so với 2 giống còn lại. Khả năng chịu mặn còn dựa trên tỷ lệ giảm năng suất hoặc tăng trưởng (Maas, 1986). Khi hàm lượng chlorophyll thấp thì dường như cây sẽ không quang hợp và không có khả năng tăng trưởng. Giống chuối già Grand Nain có hàm lượng chlorophyll cao hơn và giống Grand Nain có khả năng chịu mặn. Việc đo hàm lượng proline thường được các nhà nghiên cứu ghi nhận như là một chỉ tiêu để đánh giá khả năng chống chịu mặn của mô. Hàm lượng proline của giống Grand Nain là cao nhất với 0,67 µg/mg thân lá khi nồng độ muối là 200 mM. Hai giống còn lại là Laba với 0,29 µg/mg thân lá, giống William là 0,21 µg/mg thân lá. Vậy giống Grand Nain có thể được xem là giống chuối có khả năng chịu mặn cao so với 2 giống còn lại là Laba và William. Theo Refaiy (2016), giống chuối Grand Nain có hàm lượng proline cao nhất ở nồng độ muối NaCl 1.000 ppm (1g NaCl/1 lít) là 5,4 mg/g thân lá. Và hàm lượng proline này là thấp so với hàm lượng proline 0,67 µg/mg thân lá với nồng độ muối NaCl là 200 mM (11,7 g NaCl/lít) trong nghiên cứu này.

4. KẾT LUẬN

Giống chuối già Laba, Grand Nain *in vitro* là hai giống chuối có tỷ lệ sống cao nhất 16,67% trên môi trường có nồng độ muối NaCl 250 mM. Giống chuối già William *in vitro* có tỷ lệ sống thấp 3,33% trên môi trường có nồng độ muối NaCl 250mM. Khi nồng độ muối tăng dần thì trọng lượng tươi, hàm lượng chlorophyll giảm dần. Khi nồng độ muối NaCl 250mM thì trọng lượng tươi giống William là cao nhất với 0,09g, hàm lượng chlorophyll cao nhất ở giống Grand Nain với 1,08 mg/g lá. Cả 3 giống chuối đều có hàm lượng proline cao nhất ở nồng đỗ muối NaCl 200 mM, nhưng hàm lượng poline cao nhất là ở giống Grand Nain với 0,67 µg/mg thân lá. Vậy khả năng chịu mặn của 3 giống chuối già Laba, Grand Nain, William là khác nhau. Giống chuối già Grand Nain *in vitro* là giống có khả năng chịu mặn tốt nhất. Nghiên cứu này là bước đầu cho những nghiên cứu về chọn lọc dòng cây chuối già (*Musa acuminata*) biến dị soma chịu mặn.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Phòng Thí nghiệm trọng điểm về Công nghệ tế bào thực vật (Viện Sinh học nhiệt đới) đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdel Hamid A. Khedr, Mohammad A. Abbas, Amal A. Abdel Wahid, W. Paul Quick, Gaber M. Abogadallah (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancratium maritimum* L. to salt-stress, *J Exp Bot* 54 (392): 2553-2562.
2. Arnon D. (1949). *Plant Physiology*, 24, pp. 1-15
3. Bùi Trang Việt (2000). *Sinh lý thực vật đại cương*. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM, 333 trang.
4. Bùi Trang Việt (2016). *Sinh lý thực vật đại cương*. NXB Đại học Quốc gia TP.HCM, 753 trang.
5. Bates, L., Waldren R., and Teare I. (1973).Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and soil*, 39 (1): 205-207.
6. Ghoulam, C., F. Ahmed, and F. Khalid (2001). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 47: 139–150.
7. Gopal R and B. K. Dube (2003). Influence of variable potassium on barley metabolism, *Ann. Agri. Res*., 24: 73-77
8. Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K. and H.J. Bohnert (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biol*., 51: 463-499
9. Kao W.Y., Tsai T.T. and C.N. Shih (2003). Photosynthetic gas exchange and chlorophyll a fluorescence of three wild soybean species in response to NaCl treatments. *Photosynthetica*, 41: 415-419
10. Karimi G., Ghorbanli M., Heidari H., Khavarinejad R. A. and M. H. Assareh (2005). The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in Kochia prostrate. *Biol. Plant.,* 49: 301-304
11. Kirst G.O. (1989). Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. Annu. Rev. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol*., 40: 21-53
12. Lacerda C.F., Cambraia J., Cano M.A.O., Ruiz H.A. and J.T. Prisco (2003). Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environ. Exp. Bot.,* 49:107-120
13. Mass E.V. (1986). Salt tolerance of plants. *Applied Agriculture Research*, 1: 12-26
14. Mass E.V. and S.R. Grattan (1999). Crop yields as affected by salinity. *InR.W.Skaggs and J.van Schilfgaarde (eds) Agricultural Drainage. Agron. Monograph 38. ASA, CSSA, SSA, Madison, WI* pp. 55-108.
15. Mansour M.M.F., Van Hasselt P.R. and P.J.C. Kuiper (2000). NaCl effects on root plasma membrane ATPase of salt tolerant wheat. *Biologia Plantarum*, 43: 61-66.
16. Marschner H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. *2nd ed.. Acad. Pr., San Diego.*
17. Mittler R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.,* 7: 405-410.
18. Munns R (2002). Comparative Physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.,* 25: 239-250.
19. Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.,* 167: 645-663.
20. Negrao S., Courtois B., Ahmadi N., Abreu I., Saibo N., Oliveira M. M., 2013. Recent updates on salinity stress in rice: From physiological to molecularresponses. *Plant Sciences* 30(4): 329-377.

21. Niramaya S. Muchate, Ganesh C. Nikalje, Nilima S. Rajurkar, P. Suprasanna, Tukaram D. Nikam, 2016. Plant Salt Stress: Adaptive Responses, ToleranceMechanism and Bioengineering for Salt Tolerance, *Bot. Rev*, 82:371–406.
22. Parida A.K., Das A.B. and B. Mittra (2003). Effects of NaCl stress on the structure, pigment complex composition, and photosynthetic activity of mangrove Bruguiera parviflora chloroplasts. *Photosynthetica*, 41: 191-200
23. Refaiy A., S. EL-Kosary, A.S. El-Khawaga and N.R. El-Sherbeny (2016). Effect of potassium humate on plant growth and chemical contents of banana plantle grown in vitro under salinity stress. *Middle East Journal of Agriculture* 5: 45-49.
24. Rustagi A., Jain S., Kumar D., Shekhar S., Jain M., Bhat V., and Sarin N.B., 2015. High efficiency transformation of banana [Musa acuminata L. cv. Matti (AA)] for enhanced tolerance to salt and drought stress through overexpression of a peanut salinity-induced pathogenesis-related class 10 protein. *Molecular biotechnology* 57: 27-35
25. Smirnoff N. (1993), The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.,* 125: 27-58.
26. Sreedharan S., Shekhawat, U.K.S. and Ganapathi, T.R., 2012. *MusaSAP1*, a A20/AN1 zinc finger gene from banana functions as a positive regulator in different stress responses. *Plant Molecular Biology* 80: 503-517.
27. Trần Thanh Hương (2011). Phân tích các biến đổi hình thái học và sinh lý học trong quá trình phát sinh cơ quan và phôi thể hệ ở một số giống chuối (*Musa* sp.). Luận án tiến sĩ sinh học, Đại học Quốc gia TP HCM.
28. Trần Thị Phương Liên (2010). *Protein và tính chống chịu ở thực vật*. NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ Hà Nội, 256 trang.
29. Upendra K. Singh Shekhawat., Lingam Srinivas and Thumballi R. Ganapathi., 2011. MusaDHN-1, a novel multiple stress-inducible SK3-type dehydrin gene, contributes affirmatively to drought- and salt-stress tolerance in banana. *Planta* 234: 915-932.
30. Vũ Ngọc Phượng, Hoàng Thị Phòng, Thái Xuân Du, Trịnh Mạnh Dũng (2009). Nhân giống *in vitro* cây chuối (*Cavendish sp*.) trên quy mô công nghiệp. Báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc năm 2009, tr. 319.

SURVEY SALT TOLERANCE OF NaCl IN *IN VITRO* CONDITIONS OF BANANA VARIETIES ARE POPULAR IN VIETNAM

SUMMARY

Cavendish banana *(Musa acuminata*) is a nutrient food and has high commercial value. Producing Cavendish banana for exporting has become a grave problem, recently years. Unfortunately, climate change has brought drought, salinization,… It has reduced growing area. Researching into creating a halophilic Cavendish banana is necessary. In this research, we initially invest the salt – stress resistant of 3 commercial bananas: Grand Nain (imported), William (imported) and Laba (domestic). In results, Laba and Grand Nain have high sevival rate (16.67%) when cultured in medium supplemented with NaCl 250 mM. Increasing salt in culture medium make fresh weight and chlorophyll content decrease. At NaCl 250mM, the worst of fresh weight is Laba (0.05g) and of chlorophyll content is William (0.03 mg/g leafs). At NaCl 200mM, Grand Nain's proline content is the best (0.67 µg/mg leafs and stems), Laba's is 0.29 µg/mg and William's is 0.21 µg/mg.

Keywords: *Musa spp.,* Musa acuminata, salt tolerance, NaCl.

PHÁT HIỆN ĐỒNG THỜI VIRUS GÂY HẠI TRÊN KHOAI TÂY (*Potato virus* X, *Potato virus* Y) VÀ CÀ CHUA (*Tomato mosaic virus*), BẰNG KỸ THUẬT RT-PCR ĐA MỒI

Nguyễn Thị Hồng Trâm, Phạm Văn Hiểu, Dương Hoa Xô, Nguyễn Xuân Dũng
Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh,
Email: nguyenxuandung294@gmail.com

TÓM TẮT

Potato virus X (PVX), *Potato virus Y* (PVY) và *Tomato mosaic virus* (ToMV) là những virus gây hại phổ biến trên khoai tây và cà chua. Hiện tại đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới về việc phát hiện riêng lẻ từng loại virus này trên cây trồng, tuy nhiên ít có nghiên cứu cụ thể nào phát hiện đồng thời 3 loại virus trong cùng một phản ứng. Trong nghiên cứu này, phản ứng RT-PCR đa mồi được thực hiện nhằm khuếch đại cùng lúc ba phân đoạn gen có kích thước 332 bp (*Potato virus X*), 469 bp (*Potato virus Y*) và 201 bp (*Tomato mosaic virus*) thuộc vùng gen mã hóa protein vỏ của virus. Các đoạn gen mục tiêu thu được sau khuếch đại được gắn vào vector nhân dòng pJET1.2/blunt và biến nạp vào tế bào vi khuẩn *E.coli* DH5α. Độ chính xác của đoạn gen khuếch đại được khẳng định thông qua giải trình tự. Kết quả cho thấy phản ứng RT-PCR đa mồi có thể phát hiện đồng thời ba loại virus với ngưỡng phát hiện đạt mức 10^5 bản sao/μL. Trình tự các đoạn gen khuếch đại có độ tương đồng cao (98%-99%) so với trình tự virus được công bố trên Ngân hàng Gen.

Từ khóa: Gene protein vỏ, *Tomato mosaic virus*, multiplex RT-PCR, *Potato virus X*, *Potato virus Y*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tomato mosaic virus (ToMV), *Potato virus X* (PVX) và *Potato virus Y* (PVY) là những virus gây hại phổ biến lần lượt trên cà chua và khoai tây; đây là hai trong số những loại cây rau chủ yếu của ngành trồng rau ở Việt Nam. Các virus gây ra sự khảm vàng, biến dạng lá, đốm vòng trên quả, làm giảm số lượng quả cũng như sự chết từng phần của cây [3], ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế của nghề trồng rau. Việc phát hiện virus dựa trên quan sát bằng mắt thường không chính xác vì các triệu chứng biểu hiện của virus trên cây thường không rõ ràng hoặc thậm chí không biểu hiện trong một số trường hợp. Điều này đã gây ra những khó khăn nhất định trong vấn đề nhận diện virus phục vụ cho tầm soát bệnh và các nghiên cứu liên quan đến việc đánh giá tính kháng virus của cây trồng.

Một số kỹ thuật đã được phát triển nhằm phát hiện chính xác sự hiện diện của virus. Trong đó, ELISA và PCR là hai kỹ thuật thường được sử dụng phổ biến hiện nay. Kỹ thuật ELISA mặc dù đơn giản, dễ sử dụng nhưng thường có độ nhạy thấp và tiêu tốn nhiều thời gian [2]. Trái lại, PCR (RT-PCR) là một phương pháp có độ nhạy cao, cho phép phát hiện nhanh, chính xác virus với lượng mẫu nhỏ trên lá và củ [4]. Ngoài ra, PCR còn có ưu điểm là có thể thực hiện phản ứng đa mồi (multiplex) để phát hiện đồng thời nhiều đoạn gen mục tiêu [6].

Đến nay, đã có nhiều nghiên cứu trong nước và ngoài nước về việc phát hiện các loại virus ToMV, PVX và PVY. Tuy nhiên, ít có nghiên cứu cụ thể nào phát hiện đồng thời ba loại virus trong cùng một phản ứng. Trong nghiên cứu này, phản ứng RT-PCR đa mồi phát hiện đồng thời ba loại virus PVX, PVY và ToMV đã được phát triển cho việc chẩn đoán virus gây bệnh trên khoai tây, cà chua cũng như các nghiên cứu đánh giá tính kháng virus của các loại cây này. Điểm nổi bật của nghiên cứu là áp dụng phản ứng RT-PCR một bước, sử dụng cùng lúc nhiều cặp mồi được thiết kế mới dựa trên thông tin trình tự được cập nhật, phương pháp tách chiết virus đơn giản, giúp tiết kiệm tối đa thời gian và chi phí nên có khả năng ứng dụng cao.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây khoai tây *in vitro* nhiễm virus PVX do Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.

Mẫu, khoai tây và cà chua có các triệu chứng nhiễm virus (PVX, PVY đối với khoai tây và ToMV đối với cà chua) được thu thập tại các vườn, chợ rau củ và đồng ruộng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập nguồn mẫu nhiễm virus

Cà chua và khoai tây có những triệu chứng như đốm vằn màu xanh hay vàng nhạt, lá xoăn, xuất hiện những vết hoại tử nhăn nheo giữa các gân lá, củ có vết bệnh màu nâu xám lan rộng được thu thập ngẫu nhiên tại các vườn, đồng ruộng, chợ rau củ tại các địa điểm như thành phố Hồ Chí Minh, Bình Dương, Tây Ninh, Long An và Lâm Đồng với số lượng 50 mẫu/loại virus. Đồng thời, các mẫu cà chua, khoai tây chưa biểu hiện triệu chứng rõ ràng cũng được thu thập.

2.2.2. Thiết kế cặp mồi đặc hiệu cho việc phát hiện virus

Các cặp mồi phát hiện virus được thiết kế dựa trên trình tự gen của virus bằng phần mềm Primer 3. Trong đó, mồi cho virus ToMV được thiết kế trên vùng gen mã hóa protein vỏ (CP), kích thước sản phẩm khuếch đại 201 bp, vị trí khuếch đại từ nt 129 - 323. Mồi cho hai virus còn lại cũng được thiết kế trên vùng gen mã hóa protein vỏ (CP), có kích thước sản phẩm khuếch đại 332 bp với vị trí khuếch đại từ nt 46 - 377 cho PVX và kích thước sản phẩm 469 bp, vị trí khuếch đại từ nt 163 - 630 cho PVY. Trình tự và các thông số liên quan được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Trình tự ba cặp mồi dùng trong phát hiện virus PVX, PVY và ToMV

Kí hiệu	Trình tự mồi	Tm (^{0}C)	Sản phẩm (bp)
	Mồi phát hiện virus PVX		
FPxCP	5’ - CGGATGGGGATTTCTTTAGT - 3’	50	332
RPxCP	5’ - GGCAGGTGGACTGTTGTTAG – 3’	54	
	Mồi phát hiện virus PVY		
FPyCP	5’ - AGAATGCCCAAAAGCAAGG - 3’	49	469
RPyCP	5’ - CTGGTGTTCGTGATGTGACC - 3’	54	
	Mồi phát hiện virus ToMV		
FTCP	5’ - CAGAGCACCGTCAGATTTCC – 3’	54	201
RTCP	5’ - AGACCGAATTGCAACCGTAG – 3’	52	

2.2.2. Ly trích RNA virus

Ly trích các mẫu lá và củ nhiễm virus được thực hiện theo phương pháp sucrose [1]: mẫu lá có khối lượng 25 - 50 mg được nghiền trong 100 µL dung dịch sucrose ở nhiệt độ phòng, sau đó bổ sung thêm 100 µL dung dịch sucrose; đun nóng ở nhiệt độ 100^{0}C trong 15 phút, tiếp theo làm lạnh trên đá 5 phút, sau cùng ly tâm ở 1.300 vòng/phút để loại bỏ cặn và thu phần dịch nổi. Dịch ly trích được lưu giữ ở -80^{0}C để dùng cho phản ứng RT-PCR.

2.2.3. Thiết lập phản ứng RT-PCR khuếch đại đoạn gen virus

Phản ứng RT-PCR đơn mồi được thực hiện với thể tích là 25 µL, bao gồm 5 µL My *Taq* buffer (5X), 0,2 µL My *taq* DNA polymerase (5U/µL), 0,25 µL Tetro reverse transcriptase

(10U/µL), 0,15 µL Ribosafe RNase inhibitor (40U/µL), 0,5 µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược cho từng loại virus, và 0,5 µL mẫu RNA (Ly trích từ khoai tây PVX - chứng dương) hoặc 0,5 µL H_2O cho trường hợp đối chứng âm; và một lượng H_2O đảm bảo cho thể tích phản ứng đạt 25 µL.

Chu trình nhiệt được thiết lập với một chu kỳ 50^0C/10 phút (tổng hợp cDNA); một chu kỳ 95^0C/5 phút; 35 chu kì 95^0C/15 giây, Ta^{0}C/ 30 giây, 72^0C/60 giây và một chu kì 72^0C/15 phút. Kết quả phản ứng được phân tích bằng điện di trên gel agarose 1,5%, nhuộm với Ethidium bromide (1ng/µL) 15 phút và quan sát sự hiện diện của băng DNA trên gel bằng máy đọc gel Geldoc.

Phản ứng đa mồi được thực hiện với hai hoặc ba cặp mồi trong cùng một phản ứng với tổng thể tích là 25µLvà các thành phần hóa chất tương tự như trường hợp phản ứng đơn mồi.

Nhiệt độ bắt cặp mồi (Ta) cho các phản ứng đơn mồi: 50^0C cho trường hợp PVX và PVY; 50^0C cho trường hợp ToMV; cho phản ứng đa mồi (PVX+PVY+T)MV): 50^0C.

2.2.4. Nhân dòng và kiểm tra trình tự đoạn gen sau khuếch đại

Đoạn gen mục tiêu được gắn vào vector nhân dòng bằng bộ Kit CloneJET^{TM} PCR Cloning Kit (Fermentas) và biến nạp vào tế bào khả biến *E.coli* DH5α (50 - 100 µL). Dịch nuôi cấy sau đó được cấy trải trên LB bổ sung 100 mg/L kháng sinh ampicillin, nuôi qua đêm (37^0C) và sàng lọc bằng PCR khuẩn lạc cặp mồi plasmid - pJET1.2. Dòng khuẩn lạc mang gen mục tiêu được nuôi tăng sinh khối qua đêm, tách chiết thu nhận plasmid và gởi mẫu giải trình tự.

2.2.5. Xác định độ nhạy của phản ứng khuếch đại

Để xác định độ nhạy của phản ứng, plasmid từ dòng vi khuẩn đã được tạo dòng được tách chiết và đo hàm lượng DNA và tính toán số lượng bản sao có được theo công thức:

$$\text{Số bản sao (copies)} = \frac{\text{Khối lượng DNA} * 6.022\text{x}10^{23}}{\text{Chiều dài đoạn gen} * 1\text{x}10^{9} * 650}$$

Trong đó khối lượng DNA tính bằng đơn vị ng và chiều dài đoạn gen tính bằng bp (Nguồn: URI Genomics & Sequencing Cente, http://cels.uri.edu/gsc/cndna.html).

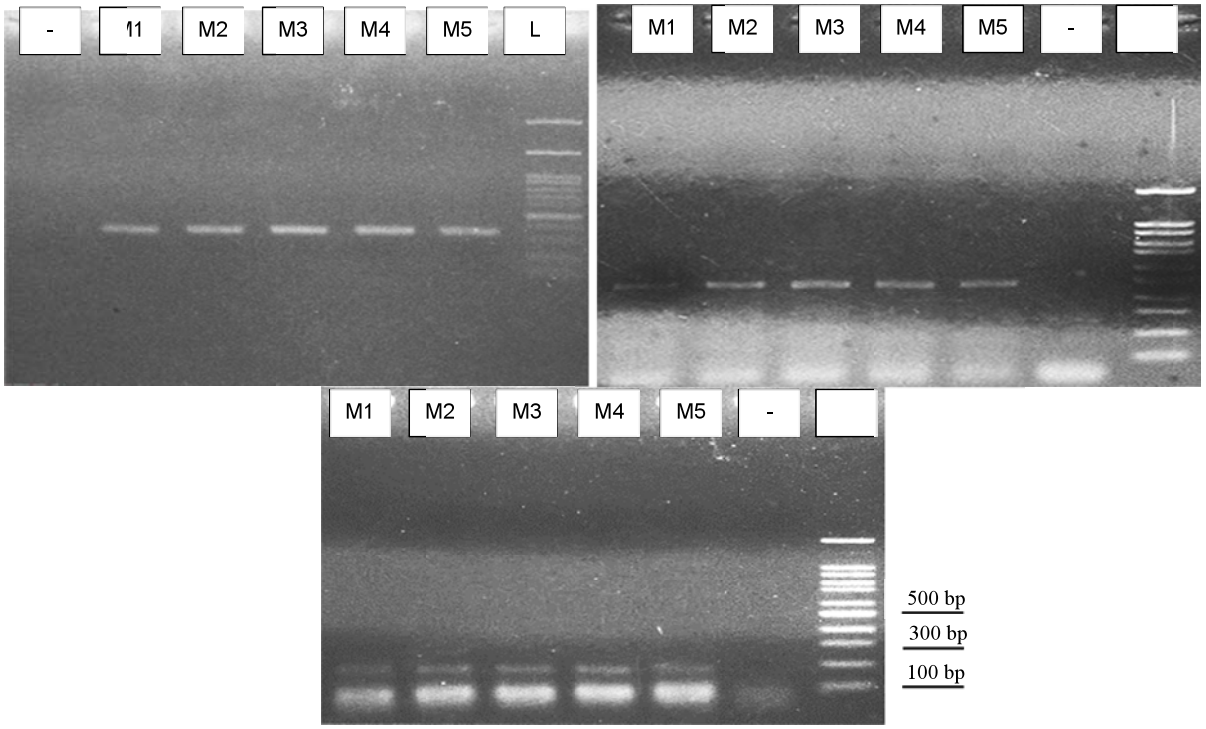
Độ nhạy của phản ứng sẽ được kiểm tra dựa trên việc thực hiện phản ứng với mẫu có số bản sao biết trước, đươc pha loãng thành các nồng độ khác nhau theo hệ số bậc 10 (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5},…). Xác định mẫu có nồng độ thấp nhất mà phản ứng có thể phát hiện được, từ đó tính ra số bản sao tương ứng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khuếch đại đoạn gen virus bằng phản ứng RT-PCR

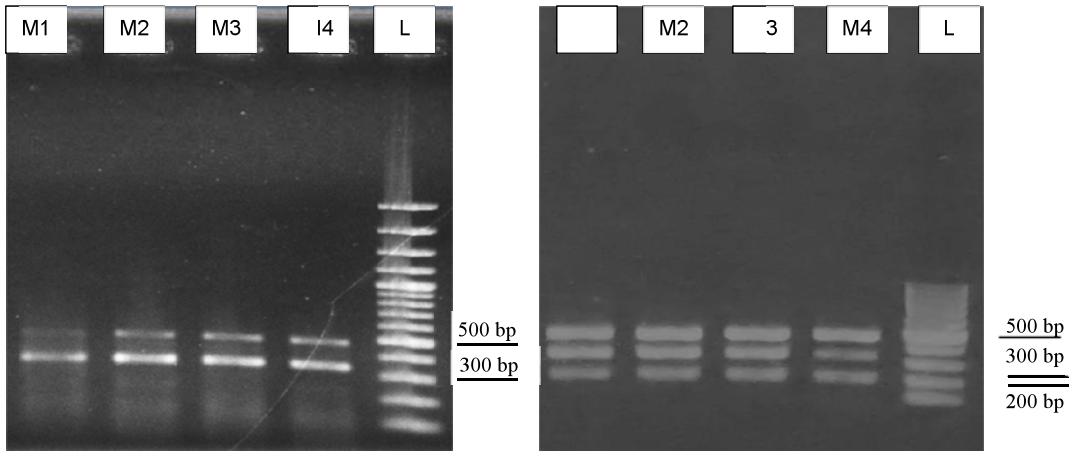
3.1.1. Khuếch đại gen bằng phản ứng đơn mồi

Kết quả điện di sản phẩm phản ứng RT-PCR trong ba trường hợp khuếch đại gen virus PVX, PVY và ToMV đều thu được phân đoạn DNA tương ứng với các trường hợp mẫu có chứa virus mục tiêu. Phân đoạn DNA thu được xuất hiện ở vị trí giữa hai vạch 300 bp và 400 bp với trường hợp PVX; ở gần vạch 500 bp và 200 bp tương ứng với trường hợp PVY và ToMV. Các phân đoạn DNA này hoàn toàn phù hợp với kích thước sản phẩm dự kiến lần lượt là 332 bp, 469 bp và 201 bp tương ứng cho PVX, PVY và ToMV (Hình 1). Kết quả này bước đầu cho thấy đã khuếch đại được đoạn gen của các virus mục tiêu như dự kiến.



Hình 1. Điện di sản phẩm của phản ứng RT-PCR phát hiện virus PVX (A); PVY (B) và ToMV (C). M1-5: Mẫu RNA virus, (-): chứng âm, L: Thang DNA

3.1.2. Khuếch đại gen bằng phản ứng đa mồi



Hình 2. Điện di sản phẩm phản ứng RT-PCR đa mồi phát hiện đồng thời hai virus PVX và PVY (A) và ba virus PVX, PVY và ToMV (B). M1-4: mẫu, L: Thang DNA

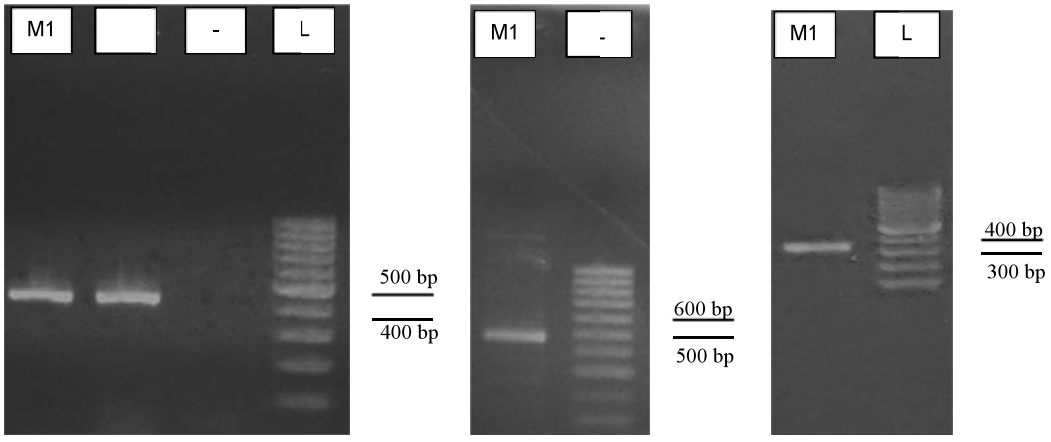
Tương tự với trường hợp phản ứng đơn mồi, kết quả điện di sản phẩm phản ứng đa mồi khuếch đại đồng thời gen của hai virus (PVX và PVY) hay ba virus (PVX, PVY và ToMV) đều thu được phân đoạn DNA tương ứng với các trường hợp mẫu có chứa virus mục tiêu. Trong đó, phản ứng khuếch đại đồng thời hai virus cho hai phân đoạn DNA, một ở vị trí giữa hai vạch 300 - 400 bp (PVX) và một ở vị trí gần vạch 500 bp (PVY); phản ứng khuếch đại đồng thời ba virus cho ba phân đoạn DNA, một ở vị trí gần phía trên vạch 200 bp (ToMV), một ở vị trí giữa hai vạch 300 - 400 bp (PVX), và một ở vị trí gần vạch 500 bp (PVY). Các phân đoạn DNA này đều có kích thước phù hợp

với sản phẩm dự kiến tương ứng cho các trường hợp PVX, PVY và ToMV đó là 332 bp, 469 bp và 201 bp (Hình 2). Kết quả này cho thấy phản ứng RT-PCR đa mồi đã được thực hiện thành công. Việc xây dựng thành công phản ứng RT-PCR đa mồi để phát hiện đồng thời nhiều loại virus khác nhau là một kết quả có ý nghĩa quan trọng đối với việc tầm soát bệnh do virus gây ra và nghiên cứu đánh giá tính kháng virus trên khoai tây và cà chua nói riêng cũng như cây trồng nói chung.

3.2. Nhân dòng và kiểm tra trình tự đoạn gen sau khuếch đại

pJET1.2/blunt là một vector nhân dòng dạng đầu bằng có vị trí nhân dòng đa vị cho phép chèn đoạn gen mục tiêu vào bằng cách cắt với các enzyme cắt hạn chế phù hợp. Theo lý thuyết nếu đoạn gen mục tiêu được chèn vào vector và quá trình biến nạp vào vi khuẩn thành công sẽ thu được khuẩn lạc phát triển được trên môi trường chọn lọc (chứa 100 mg/L ampicillin). Kết quả biến nạp đã thu được những khuẩn lạc trắng phát triển trên môi trường chọn lọc. Điều này cho thấy quá trình dòng hóa gen đã sơ bộ thành công.

Để xác định chắc chắn dòng vi khuẩn có mang gen mục tiêu, khuẩn lạc thu được trên môi trường chọn lọc sẽ được kiểm tra bằng phản ứng PCR với cặp mồi pJET1.2 được thiết kế để bắt cặp với trình tự ở hai đầu đoạn gen được chèn vào. Khoảng cách giữa hai mồi trên vector khoảng 118 bp. Do đó, sản phẩm khuếch đại thu được trong trường hợp khuẩn lạc có mang vector chứa gen mục tiêu sẽ có kích thước bằng kích thước gen cộng thêm 118 bp. Kết quả kiểm tra đã thu được phân đoạn DNA xuất hiện ở vị trí giữa hai vạch 400 bp và 500 bp với trường hợp khuẩn lạc PVX; ở vị trí giữa hai vạch 500 bp và 600 bp với trường hợp PVY; và ở vị trí giữa hai vạch 300 bp và 400 bp với trường hợp ToMV. Các phân đoạn DNA thu được trong ba trường hợp khuẩn lạc PVX, PVY và ToMV đều có kích thước phù hợp với kích thước sản phẩm dự kiến tương ứng cho từng trường hợp là 450 bp; 587 bp và 319 bp (Hình 3). Kết quả này cho thấy các dòng vi khuẩn đã được kiểm tra chắn chắn có mang gen mục tiêu đã được gắn vào vector.



Hình 3. Điện di sản phẩm PCR kiểm tra sự hiện diện gen mục tiêu trong các dòng vi khuẩn mang gen PVX (A), PVY (B) và ToMV (C) bằng cặp mồi pJET1.2. M1-2: mẫu, (-): Chứng âm, L: Thang DNA

Kết quả giải trình tự gen từ plasmid và so sánh trên Ngân hàng gen cho thấy các đoạn gen khuếch đại được đúng là gen của các virus mục tiêu, với độ tương đồng đạt 98% (đối với trường hợp PVX, PVY) và 99% (đối với trường hợp ToMV) so với các trình tự đã được công bố (Hình 4). Kết quả này cho thấy phản ứng RT-PCR đã khuếch đại đúng đoạn gen cũng như virus mục tiêu.

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
Potato virus X isolate PVX-Douglas Island coat protein (CP) gene, partial cds	573	573	33%	4e-161	98%	HQ541817.1
Potato virus X isolate PVX-Fairbanks4 coat protein (CP) gene, partial cds	573	573	33%	4e-161	98%	HQ541816.1
Potato virus X isolate 143-PVX coat protein (cp) gene, complete cds	573	573	33%	4e-161	98%	GU144358.1
Potato virus X isolate Sam-18-PVX coat protein (cp) gene, complete cds	573	573	33%	4e-161	98%	GU144349.1
Potato virus X isolate 136-PVX coat protein (cp) gene, complete cds	569	569	33%	5e-160	98%	GU144362.1

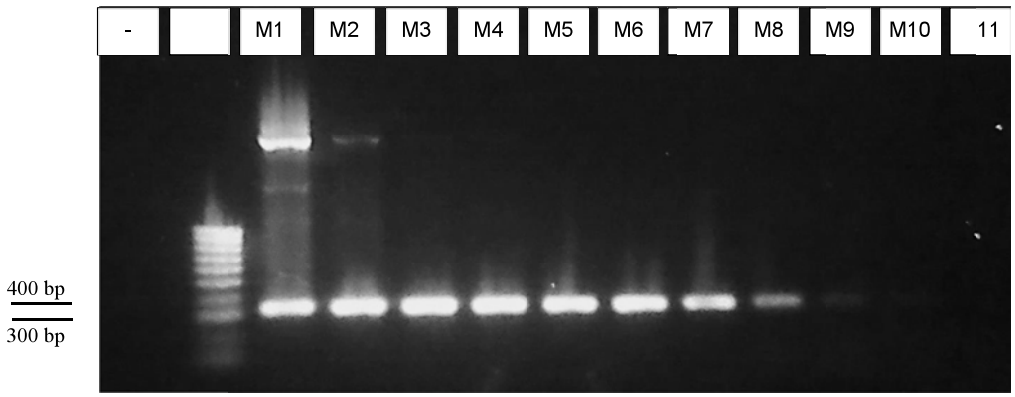
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Potato virus Y isolate LH9 coat protein gene, partial cds	684	684	54%	0.0	98%	KC296790.1
Potato virus Y isolate LH12 coat protein gene, partial cds	684	684	54%	0.0	98%	KC296789.1
Potato virus Y isolate CS9 nonfunctional coat protein gene, partial sequence	682	682	53%	0.0	98%	KC296867.1
Potato virus Y isolate CS36 coat protein gene, partial cds	682	682	53%	0.0	98%	KC296863.1
Potato virus Y isolate CS31 coat protein gene, partial cds	682	682	53%	0.0	98%	KC296862.1

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Tomato mosaic virus viral cRNA for coat and movement proteins (MP and CP genes), isolate AH8	368	368	26%	9e-98	99%	LN827937.1
Tomato mosaic virus viral cRNA for coat and movement proteins (MP and CP genes), isolate AH6	368	368	26%	9e-98	99%	LN827935.1
Tomato mosaic virus viral cRNA for coat and movement proteins (MP and CP genes), isolate AH5	368	368	26%	9e-98	99%	LN827934.1
Tomato mosaic virus viral cRNA for coat and movement proteins (MP and CP genes), isolate AH4	368	368	26%	9e-98	99%	LN827933.1
Tomato mosaic virus viral cRNA for coat and movement proteins (MP and CP genes), isolate AH1	368	368	26%	9e-98	99%	LN827930.1

Hình 4. Kết quả so sánh trình tự đoạn gen khuếch đại của PVX (A), PVY (B) và ToMV (C) với các trình tự được công bố trên Ngân hàng gen NCBI

3.3. Xác định độ nhạy của phản ứng

3.3.1. Độ nhạy của phản ứng đơn mồi

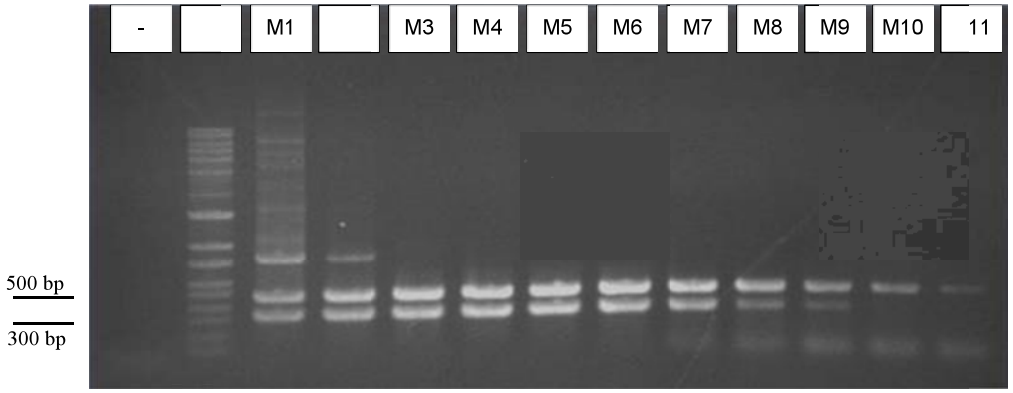


Hình 5. Điện di sản phẩm của phản ứng khuếch đại gen virus PVX ở các nồng độ mẫu (DNA plasmid) khác nhau. (-): Chứng âm, L: thang DNA, M1: Plasmid ban đầu, M2-11: Mẫu có nồng độ từ 10^{10} - 10^{1} (bản sao/µL), theo thứ tự pha loãng bậc 10

Phản ứng đơn mồi được thực hiện với virus PVX trên 10 mẫu có nồng độ virus từ 10^{10} đến 10^{1} bảnsao/µL, tương ứng ở mức 10 tỉ đến 10 bản sao/µL. Kết quả phản ứng đã thu được băng DNA ở vị trí giữa hai vạch 300 - 400 bp, phù hợp với kích thước sản phẩm dự kiến 332 bp. Sản phẩm khuếch đại hiện diện ở các mẫu có nồng độ từ 10^{10} đến 10^{2} bản sao/µL. Ở trường hợp mẫu có nồng độ 10^{1} bản sao/µL, không có sự xuất hiện sản phẩm (Hình 5). Như vậy, phản ứng PCR đơn mồi có thể phát hiện được gen virus ở mức 100 bản sao/µL.

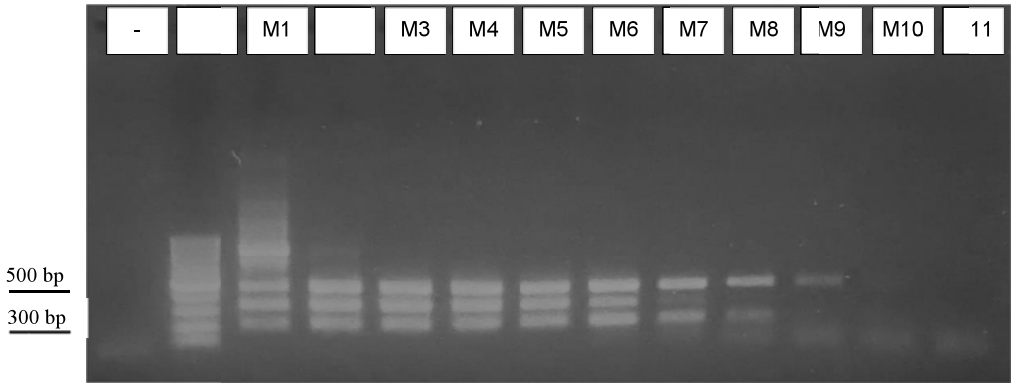
3.3.2. Độ nhạy của phản ứng đa mồi

Tương tự với trường hợp phản ứng đơn mồi, kết quả điện di sản phẩm phản ứng đa mồi khuếch đại đồng thời gen của hai virus (PVX và PVY) hay ba virus (PVX, PVY và ToMV) đều thu được phân đoạn DNA có kích thước phù hợp với sản phẩm dự kiến tương ứng cho các trường hợp PVX, PVY và ToMV đó là 332 bp, 469 bp và 201 bp. Với trường hợp phản ứng phát hiện đồng thời hai virus PVX và PVY, sản phẩm khuếch đại chỉ hiện diện đầy đủ cho cả hai loại virus ở các mẫu có nồng độ từ 10^{10} đến 10^{3} bản sao/µL (Hình 6).



Hình 6. Điện di sản phẩm của phản ứng khuếch đại đồng thời gen virus PVX và PVY ở các nồng độ mẫu (DNA plasmid) khác nhau. (-): Chứng âm, L: thang DNA, M1: Plasmid ban đầu, M2-11: Mẫu có nồng độ từ 10^{10} - 10^{1} (bản sao/µL), theo thứ tự pha loãng bậc 10

Với trường hợp phản ứng phát hiện đồng thời ba virus PVX, PVY và ToMV, sản phẩm khuếch đại chỉ hiện diện đầy đủ cho cả ba loại virus ở các mẫu có nồng độ từ 10^{10} đến10^{5} bản sao/µL (Hình 7).



Hình 7. Điện di sản phẩm của phản ứng phát hiện đồng thời 3 loại virus PVX, PVY và ToMV ở các nồng độ mẫu (DNA plasmid) khác nhau. (-): Chứng âm, L: thang DNA , M1: Plasmid ban đầu, M2-11: Mẫu có nồng độ từ 10^{10} - 10^{1} (bản sao/µL), theo thứ tự pha loãng bậc 10

Những kết quả này cho thấy phản ứng đa mồi có thể được thực hiện để phát hiện đồng thời hai hay ba loại virus với độ nhạy đạt mức 10^3 hay 10^5 bản sao/µL tương ứng cho từng trường hợp, thấp hơn so với phản ứng đơn mồi. Với độ nhạy thấp hơn các phản ứng đa mồi rõ ràng không phù hợp cho mục đích phát hiện virus trong một số trường hợp mẫu cần kiểm tra có nồng độ virus thấp. Tuy nhiên, trong thực tế, phần lớn cây trồng một khi đã bị nhiễm virus đều có chứa một lượng virus rất lớn do virus có tốc độ sao chép rất nhanh. Do đó, có thể sử dụng các phản ứng đa mồi với độ nhạy tương đối cho mục đích kiểm tra sàng lọc ban đầu. Việc sử dụng các phản ứng đa mồi có khả năng phát hiện đồng thời nhiều loại virus sẽ giúp làm giảm đáng kể chi phí và thời gian trong công tác tầm soát bệnh do virus gây ra cũng như nghiên cứu khả năng kháng virus của cây trồng. Vấn đề nghiên cứu phát triển các phản ứng đa mồi phục vụ cho việc phát hiện các loại virus gây hại cây trồng vẫn đang được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm. Phù hợp với xu hướng này, phản ứng đa mồi phát hiện đồng thời ba loại virus gây hại trên đu đủ đã được xây dựng thành công bởi Tuo và cộng sự (2014) [5].

4. KẾT LUẬN

Phản ứng RT-PCR sử dụng ba cặp mồi PxCP, PyCP và TCP có khả năng phát hiện đồng thời ba loại virus PVX, PVY và ToMV gây bệnh trên khoai tây và cà chua. Độ nhạy của phản ứng đạt mức 10^5 bản sao/ µL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Berendzen K, Searle I, Ravenscroft D, Koncz C, Batschauer A, Coupland G, Somssich IE, Ulker B (2005) A rapid and versatile combined DNA/RNA extraction protocol and its application to the annalysis of a novel DNA marker set polymorphic between Arabidopsis thailiana ecotypes Col-0 and Landsberg erecta. Plant Methods, 1 (4): 1-15.

2. Hu J.S., Ferreira S, Wang M (1993) Detection of *cymbidium mosaic virus, odontoglossum ringspot virus, tomato spotted wilt virus,* and *potyviruses* infecting orchids in Hawaii. Plant Disease, 77(5): 464-468.

3. Jones R, Kumar S, Mackie A (2003) *Potato virus* Y. 2p. Department of Agriculture Factsheeta.

4. Seoh ML, Sek-Man Wong, Lee Zhang (1998) Simultaneous TD: RT-PCR detection of *cymbidium mosaic potexvirus* and *odontoglossum ringspot* with a single pair of primers. Journal of Virological Methods. 72(2): 197-204.

5. Tuo D., Shen W., Yang Y., Yan P., Li X., Zhou P. (2014) Development and validation of a multiplex reverse transcription PCR assay for simultaneous detection of three papaya viruses. Viruses of Plants, Fungi and Protoza, *6* (10): 3893-3906.

6. Wieczorek P., and Stęplowska A.O. (2013) Multiplex RT-PCR reaction for simultaneous detection of *Tomato torrado virus* and *Penino mosaic virus*. *Journal of plant protection research*, 53(3):289-294.

MULTIPLEX RT-PCR TECHNIQUE FOR THE SIMULTANEOUS DETECTION OF *Tomato mosaic virus* INFECTING TOMATO AND *Potato virus* X, *Potato virus* Y INFECTING POTATO

SUMMURY

Tomato mosaic virus (ToMV) and *Potato virus X* (PVX), *Potato virus Y* (PVY) are the most prevalent RNA viruses infecting potato and tomato. At the present, there are lots of research in the world on detecting indivudeally these viruses in crops, however, there has been little specific research on simultaneously detecting three viruses together in the single- reaction. In this study, single-tube multiplex RT-PCR reaction was implemented for amplifying 201bp, 332bp and 469bp sizes, from the

coat protein gene (CP) of *Tomato mosaic virus*, *Potato virus X* and *Potato virus Y*. The amplified gene fragments were inserted into pJET1.2/blunt cloning vector and then transformed into *E.coli* DH5α. The accuracy of amplified genes was confirmed through DNA sequencing. The results showed that multiplex RT-PCR could detect three viruses simultaneously at a level of 10^5 copies/μL. The sequence of amplified gene fragments with the high homology of 98% to 99% compared to the published sequences on Genbank.

Key words: Coat protein gene (CP), multiplex RT-PCR, *Potato virus X*, *Potato virus Y*, *Tomato mosaic virus*.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ NaCl GÂY MẶN, PHÂN NHÓM THEO KHẢ NĂNG CHỊU MẶN VÀ ĐỘNG THÁI ENZYME AMILASE, PROTEASE Ở HẠT NẢY MẦM CỦA CÁC GIỐNG ĐẬU TƯƠNG CHỊU MẶN KHÁC NHAU

Nguyễn Thị Thao[1*], Nguyễn Văn Mã[2], Trần Khánh Vân[1]

*1. Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 2. Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, *E-mail:* nguyenthao210188@gmail.com

TÓM TẮT

Sự nảy mầm của hạt đậu tương rất mẫn cảm với stress môi trường, đặc biệt là stress mặn. Chúng tôi gieo hạt đậu tương (DT2008, DT2003, DT99) trong các nồng độ NaCl khác nhau để xác định tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm, khối lượng tươi của hạt nảy mầm làm căn cứ lựa chọn nồng độ gây mặn tiến hành thí nghiệm tiếp theo. Kết quả cho thấy, nồng độ NaCl 0,4% có ảnh hưởng rõ ràng nhất đến các chỉ tiêu sinh trưởng. Bên cạnh các chỉ tiêu sinh trưởng này, để có đầy đủ cơ sở khoa học phân nhóm khả năng chịu mặn của các giống đậu tương chúng tôi xác đinh hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương DT2008, DT2003, DT99 trong các nồng độ NaCl. Kết quả cho thấy giống DT2008 chịu mặn tốt nhất, sau đó là DT2003, chịu mặn kém nhất là DT99. Nghiên cứu tiếp theo là động thái hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương trong vòng 72 giờ xử lý NaCl 0,4%. Chúng tôi nhận thấy, hoạt độ protease của 3 giống đậu tương đều tăng ngay ở 8 giờ đầu gieo hạt nhưng thời điểm đạt giá trị cực đại khác nhau và mức độ tăng hoạt độ protease của giống DT2008 cao nhất, sau đó đến DT2003, cuối cùng là DT99.

Từ khóa: đậu tương, chịu mặn, enzyme protease, enzyme amilase, nảy mầm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là quốc gia chịu ảnh hưởng nặng nề của biến đổi khí hậu (BĐKH). Một trong những hậu quả nghiêm trọng nhất của BĐKH là diện tích đất nông nghiệp bị nhiễm mặn ở nước ta ngày càng tăng dẫn đến sản xuất nông nghiệp gặp nhiều khó khăn. Đặc biệt, cây đậu tương là một trong số các loại cây trồng được lựa chọn cho quy hoạch chuyển đổi cơ cấu sản xuất nông – lâm nghiệp, cả nước đến năm 2010 và tầm nhìn 2020, Quyết định 899/QĐ-Ttg Phê duyệt Đề án Tái cơ cấu ngành nông nghiệp theo hướng nâng cao giá trị gia tăng, bền vững của Thủ tướng Chính phủ và Quyết định 3367/QĐ-BNN-Phê duyệt Quy hoạch chuyển đổi cơ cấu cây trồng trên đất lúa giai đoạn 2014-2020 của Bộ Nông nghiệp và PTNT. Do đó nghiên cứu về đáp ứng của cây đậu tương trước những bất lợi của môi trường nhận được nhiều quan tâm từ các nhà khoa học.

Nhiều phương pháp đề ra với mục đích làm tăng khả năng chịu mặn của cây như rèn luyện hạt giống, sử dụng canxi, polyamin ngoại sinh… Đặc biệt, việc áp dụng công nghệ sinh học hiện đại như kỹ thuật sinh học phân tử để tạo ra giống cây trồng chuyển gen có khả năng chịu mặn là một trong những giải pháp được quan tâm nhất hiện nay [9]. Tuy nhiên, để thực hiện được các giải pháp nâng cao tính chịu mặn của cây đòi hỏi phải làm sáng tỏ các cơ chế chống chịu mặn của cây. Stress mặn tác động đến cây trồng trước hết là tạo ra áp lực thẩm thấu đối với tế bào, sau đó các ion muối xâm nhập gây độc cho tế bào, mất cân bằng dinh dưỡng, stress oxy hóa [1]... Vì vậy, vấn đề cấp bách để đảm bảo sự sống là tế bào buộc phải có cơ chế làm tăng áp suất thẩm thấu bên trong đủ lớn để tạo ra sức hút nước từ môi trường và khởi động các cơ chế giải độc ion trong tế bào. Theo Kim Thị Duyên và Nguyễn Văn Mã khi nghiên cứu về phản ứng của hạt đậu tương DT2008 trong dung dịch NaCl có áp suất thẩm thấu khác nhau cho thấy sự nảy mầm và sinh trưởng mầm của giống đậu tương DT2008 chịu ảnh hưởng rõ rệt của áp suất thẩm thấu do muối gây ra. Tác giả cũng chỉ ra mối

tương quan giữa hoạt độ của các enzyme thủy phân với sự tăng áp suất thẩm thấu của tế bào [3]. Các nghiên cứu trên đối tượng cây trồng khác nhau như lạc, đậu tương, đậu xanh, lúa... trong điều kiện thiếu nước cũng cho kết quả tương tự [6] [13]. Giai đoạn nảy mầm của đậu tương là một trong những giai đoạn cây rất mẫn cảm với điều kiện thiếu nước. Vì trong quá trình nảy mầm của hạt đậu tương, các nghiên cứu đã cho thấy rằng enzyme amilase và enzyme protease có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất giúp cho hạt chuyển từ trạng thái ngủ nghỉ sang trạng thái mới. Đặc biệt trong điều kiện stress môi trường (hạn, mặn…), hoạt động của hai enzyme này tạo sản phẩm làm thay đổi tính thấm của màng tế bào, từ đó làm tăng khả năng chống chịu hạn của cây. Vì vậy, chúng tôi nghiên cứu xác định nồng độ gây mặn và phân nhóm khả năng chịu mặn của các giống đậu tương DT2008, DT2003, DT99, từ đó làm cơ sở tiến hành thí nghiệm làm rõ động thái hoạt độ amilase, protease ở thời kì đầu trong quá trình nảy mầm của các giống đậu tương chịu mặn khác nhau.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Vật liệu nghiên cứu: các giống đậu tương DT2008, DT99, DT2003 do Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.

- Địa điểm nghiên cứu: phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh lý học Thực vật và Ứng dụng Trường Đại học Sư Phạm Hà Nội.

- Phương pháp bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Xác định nồng độ muối nghiên cứu và phân loại khả năng chịu mặn của các giống đậu tương ở giai đoạn nảy mầm thông qua một số chỉ tiêu sinh trưởng. Chúng tôi gieo hạt vào các khay nhựa (20cm x25cm) có lót giấy thấm gấp nếp. Mỗi giống đậu tương gieo 30 hạt/khay. Mỗi khay tương ứng với một nồng độ dung dịch muối NaCl từ 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8% và đối chứng 0%. Mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu sinh trưởng và hoạt độ enzyme amilase, protease được xác định ở ngày 2, 4, 6 gieo hạt:

- Xác định tỷ lệ nảy mầm của hạt (TLNM): Số hạt nảy mầm ở công thức thí nghiệm/ số hạt nảy mầm ở công thức đối chứng x 100%.
- Chiều dài mầm (cm): Dùng thước milimet đo chiều dài của mầm từ chóp rễ đến đỉnh chồi mầm.
- Khối lượng tươi của hạt nảy mầm (g): Rửa sạch hạt nảy mầm bằng nước cất, dùng giấy thấm thấm sạch nước, sau đó cân bằng cân phân tích.
- Xác định hoạt độ enzyme amilase, protease theo mô tả Nguyễn Văn Mã, và cộng sự (2013) [10].

Căn cứ vào tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm và khối lượng tươi hạt nảy mầm so với đối chứng, chúng tôi chọn nồng độ gây mặn có ảnh hưởng rõ đến sinh trưởng của mầm để thực hiện nghiên cứu tiếp theo. Tuy nhiên ở nồng độ gây mặn được chọn các chỉ tiêu sinh trưởng phải đạt từ 50% trở lên.

Phân nhóm chịu hạn của các giống đậu tương nghiên cứu bằng phần mềm NTSYSpc phiên bản 2.1 căn cứ vào tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm, khối lượng tươi hạt nảy mầm và hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương so với đối chứng.

Thí nghiệm 2: xác định hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương chịu mặn khác nhau ở nồng độ NaCl đã chọn từ thí nghiệm 1 trong 72 giờ gieo hạt mỗi lần xác định cách nhau 8 giờ. Hạt được gieo trong 2 khay có lót giấy thấm gấp nếp tương ứng với công thức đối chứng trong nước (ĐC) và công thức thí nghiệm trong dung dịch muối (TN). Mỗi giống đậu tương gieo 30 hạt/khay. Mỗi công thức được lặp lại 3 lần.

Số liệu được xử lý trên phần mềm Microsof Excel, và One – way ANOVA với kiểm định Tukey's-b ở mức ý nghĩa bằng 0,05 của phần mềm SPSS phiên bản 22.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định nồng độ gây mặn nghiên cứu và phân loại khả năng chịu mặn của các giống đậu tương

Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng số liệu 1, 2, 3:

Bảng 1. Tỷ lệ nảy mầm của các giống đậu tương ở các nồng độ gây mặn khác nhau

Đơn vị: %

Thời gian		Ngày 2			Ngày 4			Ngày 6		
Nồng độ	Giống	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99
ĐC	Số hạt nảy mầm	$26.7^{a} \pm 0.7$	$27.0^{a} \pm 0.6$	$27.3^{a} \pm 0.3$	$29.7^{a} \pm 0.3$	$30.0^{a} \pm 0.6$	$30.0^{a} \pm 0.0$	$30.0^{a} \pm 0.0$	$30.0^{a} \pm 0.0$	$30.0^{a} \pm 0.0$
0,1%	Số hạt nảy mầm	$21.0^{b} \pm 0.6$	$19.0^{b} \pm 1$	$19.0^{b} \pm 0.6$	$27.0^{b} \pm 0.6$	$25.0^{b} \pm 0.3$	$25.3^{b} \pm 0.7$	$27.7^{b} \pm 0.9$	$26.7^{b} \pm 0.9$	$26.7^{b} \pm 0.3$
	TLNM	79	70	70	91	83	84	92	89	89
0,2%	Số hạt nảy mầm	$18.3^{c} \pm 0.7$	$18.0^{b} \pm 0.6$	$18.3^{bc} \pm 0.3$	$23.7^{c} \pm 0.7$	$22.3^{c} \pm 0.3$	$22.3^{c} \pm 0.3$	$25.3^{c} \pm 0.3$	$23.7^{c} \pm 0.3$	$23.0^{c} \pm 1$
	TLNM	69	67	67	80	74	74	84	79	77
0,3%	Số hạt nảy mầm	$17.3^{c} \pm 0.3$	$17.0^{b} \pm 0.6$	$17.0^{cd} \pm 0.6$	$20.3^{d} \pm 0.3$	$20.3^{d} \pm 0.3$	$20.0^{d} \pm 0.6$	$21.7^{d} \pm 0.7$	$21^{d} \pm 0.6$	$20.3^{d} \pm 0.3$
	TLNM	65	63	62	69	68	67	72	70	68
0,4%	Số hạt nảy mầm	$16.3^{c} \pm 0.3$	$16.3^{b} \pm 0.7$	$15.7^{d} \pm 0.3$	$20.0^{d} \pm 0.6$	$19.7^{d} \pm 0.7$	$19.3^{d} \pm 0.3$	$21.0^{d} \pm 0.6$	$19.7^{d} \pm 0.3$	$19.3^{d} \pm 0.3$
	TLNM	61	60	57	67	66	64	70	66	64
0,5%	Số hạt nảy mầm	$12.3^{d} \pm 0.9$	$11.3^{c} \pm 0.3$	$12.0^{d} \pm 0.6$	$14.7^{e} \pm 0.9$	$13.3^{e} \pm 0.3$	$12.7^{e} \pm 0.3$	$16.0^{e} \pm 0.6$	$14.0^{e} \pm 0.6$	$13.3^{e} \pm 0.7$
	TLNM	46	42	44	49	44	42	53	47	44
0,6%	Số hạt nảy mầm	$12.0^{d} \pm 0.6$	$11.3^{c} \pm 0.7$	$11.3^{e} \pm 0.3$	$13.3^{ef} \pm 0.3$	$12.3^{ef} \pm 0.7$	$11.7^{ef} \pm 0.7$	$14.3^{ef} \pm 0.3$	$13.0^{ef} \pm 0.6$	$12.7^{e} \pm 0.7$
	TLNM	45	42	41	45	41	39	48	43	42
0,7%	Số hạt nảy mầm	$11.7^{d} \pm 0.3$	$10.7^{c} \pm 0.3$	$10.3^{e} \pm 0.3$	$12.0^{f} \pm 0.6$	$11.3^{ef} \pm 0.6$	$10.7^{f} \pm 0.3$	$13.0^{f} \pm 0.6$	$12.0^{ef} \pm 0.6$	$11.7^{e} \pm 0.3$
	TLNM	44	40	38	40	38	36	43	40	39
0,8%	Số hạt nảy mầm	$11.3^{d} \pm 0.3$	$10.0^{c} \pm 0.6$	$10.0^{e} \pm 0.6$	$11.7^{f} \pm 0.3$	$11.0^{f} \pm 0.6$	$10.3^{f} \pm 0.3$	$12.7^{f} \pm 0.3$	$11.3^{f} \pm 0.3$	$11.0^{e} \pm 0.6$
	TLNM	43	37	37	39	37	34	42	38	37

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Bảng 2. Chiều dài mầm các giống đậu tương ở các nồng độ gây mặn khác nhau

Đơn vị (cm)

Thời gian		Ngày 2			Ngày 4			Ngày 6		
Nồng độ	Giống	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99
ĐC	CDM	$4.8^{a} \pm 0.1$	$6.0^{a} \pm 0.2$	$5.5^{a} \pm 0.2$	$7.4^{a} \pm 0.1$	$8.5^{a} \pm 0.1$	$9.6^{a} \pm 0.1$	$9.2^{a} \pm 0.1$	$10.4^{a} \pm 0.4$	$11.4^{a} \pm 0.1$
0,1%	CDM	$4.1^{b} \pm 0.1$	$4.3^{b} \pm 0.1$	$4.2^{b} \pm 0.1$	$5.7^{b} \pm 0.1$	$6.1^{b} \pm 0.4$	$5.9^{b} \pm 0.1$	$7.4^{b} \pm 0.2$	$7.2^{b} \pm 0.0$	$7.7^{b} \pm 0.0$
	% so với ĐC	87	73	77	77	72	62	81	70	65
0,2%	CDM	$3.4^{c} \pm 0.2$	$3.6^{c} \pm 0.1$	$3.5^{c} \pm 0.1$	$5.5^{b} \pm 0.1$	$5.6^{b} \pm 0.2$	$5.6^{b} \pm 0.2$	$7.2^{bc} \pm 0.3$	$7.3^{b} \pm 0.2$	$7.4^{bc} \pm 0.1$
	% so với ĐC	71	61	63	75	66	58	78	69	67
0,3%	CDM	$3.1^{cd} \pm 0.2$	$2.9^{d} \pm 0.1$	$2.8^{d} \pm 0.1$	$5.2^{b} \pm 0.0$	$5.5^{b} \pm 0.1$	$5.6^{b} \pm 0.1$	$7.0^{bc} \pm 0.1$	$6.9^{b} \pm 0.1$	$7.1^{c} \pm 0.1$
	% so với ĐC	65	49	51	71	65	58	76	67	62
0,4%	CDM	$2.9^{de} \pm 0.0$	$2.8^{d} \pm 0.0$	$2.7^{de} \pm 0.1$	$4.5^{c} \pm 0.2$	$4.7^{c} \pm 0.0$	$4.8^{c} \pm 0.2$	$6.5^{c} \pm 0.2$	$6.7^{b} \pm 0.1$	$6.5^{d} \pm 0.1$
	% so với ĐC	61	47	49	62	55	50	71	65	57
0,5%	CDM	$2.6^{ef} \pm 0.1$	$2.5^{de} \pm 0.1$	$2.5^{de} \pm 0.1$	$3.7^{d} \pm 0.2$	$3.8^{d} \pm 0.2$	$3.8^{d} \pm 0.2$	$4.6^{d} \pm 0.1$	$4.8^{c} \pm 0.1$	$5.0^{e} \pm 0.1$
	% so với ĐC	55	42	45	50	45	40	50	46	44
0,6%	CDM	$2.5^{ef} \pm 0.1$	$2.3^{ef} \pm 0.1$	$2.2^{ef} \pm 0.1$	$3.5^{d} \pm 0.2$	$3.1^{de} \pm 0.2$	$3.2^{e} \pm 0.1$	$4.6^{d} \pm 0.1$	$3.9^{d} \pm 0.1$	$3.9^{f} \pm 0.1$
	% so với ĐC	52	38	40	48	37	33	50	38	35
0,7%	CDM	$2.5^{ef} \pm 0.1$	$2.2^{ef} \pm 0.0$	$1.9^{ef} \pm 0.0$	$3.6^{d} \pm 0.2$	$3.1^{de} \pm 0.1$	$2.3^{f} \pm 0.0$	$4.1^{de} \pm 0.1$	$3.3^{d} \pm 0.1$	$3.3^{g} \pm 0.1$
	% so với ĐC	53	37	34	49	37	24	45	32	29
0,8%	CDM	$2.2^{f} \pm 0.1$	$1.9^{f} \pm 0.1$	$1.7^{f} \pm 0.1$	$3.3^{d} \pm 0.1$	$2.9^{e} \pm 0.1$	$2.1^{f} \pm 0.1$	$3.6^{e} \pm 0.1$	$3.1^{d} \pm 0.1$	$2.3^{h} \pm 0.1$
	% so với ĐC	46	32	30	45	35	22	39	30	20

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f, g, h) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Bảng 3. Khối lượng tươi của hạt đậu tương nảy mầm ở các nồng độ gây mặn khác nhau (g)

Đơn vị: (g)

Thời gian		Ngày 2			Ngày 4			Ngày 6		
Nồng độ	Giống	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99
ĐC	KLM	$0.43^{a} \pm 0.01$	$0.46^{a} \pm 0.01$	$0.47^{a} \pm 0.01$	$0.72^{a} \pm 0.02$	$0.76^{a} \pm 0.01$	$0.73^{a} \pm 0.01$	$0.87^{a} \pm 0.01$	$0.87^{a} \pm 0.02$	$0.97^{a} \pm 0.00$
0,1%	KLM	$0.41^{ab} \pm 0.01$	$0.40^{b} \pm 0.01$	$0.39^{b} \pm 0.01$	$0.61^{b} \pm 0.03$	$0.56^{b} \pm 0.01$	$0.58^{b} \pm 0.04$	$0.82^{a} \pm 0.00$	$0.75^{b} \pm 0.04$	$0.77^{b} \pm 0.03$
	% so với ĐC	96	87	82	85	74	80	94	86	80
0,2%	KLM	$0.39^{ab} \pm 0.01$	$0.37^{bc} \pm 0.01$	$0.35^{c} \pm 0.01$	$0.56^{bc} \pm 0.01$	$0.53^{bc} \pm 0.01$	$0.55^{bc} \pm 0.01$	$0.75^{b} \pm 0.01$	$0.7^{bc} \pm 0.02$	$0.66^{c} \pm 0.04$
	% so với ĐC	91	82	74	78	69	75	85	80	69
0,3%	KLM	$0.38^{bc} \pm 0.01$	$0.35^{cd} \pm 0.01$	$0.32^{cd} \pm 0.01$	$0.53^{cd} \pm 0.01$	$0.5^{cd} \pm 0.01$	$0.51^{cd} \pm 0.01$	$0.68^{c} \pm 0.04$	$0.64^{cd} \pm 0.02$	$0.65^{cd} \pm 0.02$
	% so với ĐC	88	77	69	73	66	70	77	74	67
0,4%	KLM	$0.36^{bc} \pm 0.00$	$0.33^{de} \pm 0.01$	$0.31^{cd} \pm 0.01$	$0.51^{cde} \pm 0.02$	$0.49^{cde} \pm 0.01$	$0.49^{cde} \pm 0.01$	$0.64^{cd} \pm 0.02$	$0.63^{cd} \pm 0.02$	$0.63^{cd} \pm 0.01$
	% so với ĐC	85	72	67	70	64	67	73	73	66
0,5%	KLM	$0.34^{cd} \pm 0.01$	$0.31^{ef} \pm 0.01$	$0.29^{de} \pm 0.01$	$0.47^{def} \pm 0.0$	$0.46^{def} \pm 0.01$	$0.46^{def} \pm 0.01$	$0.59^{de} \pm 0.01$	$0.57^{de} \pm 0.01$	$0.57^{de} \pm 0.01$
	% so với ĐC	79	67	62	64	60	63	68	65	59
0,6%	KLM	$0.32^{d} \pm 0.00$	$0.29^{fg} \pm 0.0$	$0.27^{ef} \pm 0.01$	$0.46^{def} \pm 0.01$	$0.45^{efg} \pm 0.01$	$0.43^{ef} \pm 0.00$	$0.53^{ef} \pm 0.01$	$0.53^{e} \pm 0.01$	$0.54^{e} \pm 0.00$
	% so với ĐC	74	63	57	66	59	60	61	61	56
0,7%	KLM	$0.26^{e} \pm 0.01$	$0.25^{gh} \pm 0.01$	$0.25^{f} \pm 0.01$	$0.45^{ef} \pm 0.01$	$0.43^{fg} \pm 0.01$	$0.43^{ef} \pm 0.01$	$0.53^{ef} \pm 0.01$	$0.52^{e} \pm 0.01$	$0.51^{e} \pm 0.00$
	% so với ĐC	60	48	53	63	56	59	60	60	53
0,8%	KLM	$0.26^{e} \pm 0.01$	$0.22^{h} \pm 0.01$	$0.24^{f} \pm 0.01$	$0.43^{f} \pm 0.01$	$0.41^{g} \pm 0.01$	$0.41^{f} \pm 0.01$	$0.52^{f} \pm 0.00$	$0.51^{e} \pm 0.00$	$0.51^{e} \pm 0.01$
	% so với ĐC	61	55	50	59	54	57	59	58	52

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Kết quả thu được cho thấy: các nồng độ NaCl gây mặn làm giảm tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng của mầm đậu tương. Nồng độ gây mặn càng cao, thời gian gây mặn càng kéo dài thì chiều dài mầm và khối lượng tươi của mầm so với đối chứng của các giống đậu tương càng giảm. Ở nồng độ gây mặn cao từ 0,5% - 0,8%, sự hút nước của hạt đậu tương gặp khó khăn dẫn đến cản trở sự hoạt động của một loạt các enzyme trong hạt như: enzyme tham gia vào quá phân giải chất dự trữ cung cấp năng lượng cho sự nảy mầm của hạt, các enzyme tổng hợp chất mới kéo dài mầm cũng như các enzyme tổng hợp các chất tham gia vào cơ chế làm tăng áp suất thẩm thấu của tế bào như prolin, glyxinbetain... cũng bị cản trở. Mặt khác, khi hàm lượng ion muối ở môi trường tăng cao, sự vận chuyển ion Na^{+} từ môi trường vào tế bào qua kênh cation không chọn lọc (non-selective cation channels-NSCC) tăng. Lúc đó, lượng ion K^{+} trong tế bào giảm, do đó sự hoạt động của một loạt các enzyme do K^{+} hoạt hóa, đặc biệt sự gắn tARN vào ribosom do K^{+} thực hiện cũng bị cản trở[11]. Chính vì vậy, từ nồng độ 0,5 trở lên số hạt nảy mầm và chiều dài mầm của các giống đậu tương hầu hết đều thấp hơn 50% so với đối chứng. Ở nồng độ gây mặn từ 0,1%- 0,4%, tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm, khối lượng tươi của hạt nảy mầm cũng bị giảm so với đối chứng nhưng có thể do các cơ chế chống chịu mặn của các giống đậu tương vẫn hoạt động tốt nên các chỉ tiêu trên đều đạt trên 50% so với đối chứng. Căn cứ vào các chỉ tiêu sinh trưởng trên, chúng tôi thấy nồng độ NaCl 0,4% có ảnh hưởng rõ ràng đến tỷ lệ nảy mầm và các chỉ tiêu sinh trưởng của mầm và đảm bảo được tỷ lệ nảy mầm của các giống đậu tương đạt trên 50% có thể sử dụng để tiến hành nghiên cứu tiếp theo.

Các giống đậu tương có khả năng chịu mặn là phải có khả năng sinh trưởng và phát triển bình thường trong điều kiện mặn. Trong quá trình nảy mầm của hạt, đặc trưng nhất là tăng hoạt tính của các enzyme thủy phân phân giải polysacarit, protein và các hợp chất phức tạp khác thành các chất đơn giản dùng làm nguyên liệu cho quá trình tổng hợp chất mới cho sinh trưởng mầm. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan thuận của các enzyme thủy phân với áp suất thẩm thấu của tế bào trong điều kiện hạn, mặn thông qua các sản phẩm trung gian của quá trình thủy phân [5] [6] [8]. Vì vậy, bên cạnh các chỉ tiêu sinh trưởng để có thêm cơ sở khoa học phân nhóm khả năng chịu mặn của các giống đậu tương nghiên cứu ở giai đoạn nảy mầm, chúng tôi xác định hoạt độ enzyme amilase,

protease trong các nồng độ mặn khác nhau. Kết quả xác định hoạt độ amilase, protease được thể hiện trong bảng 4, bảng 5:

Bảng4. Hoạt độ enzyme amilase trong hạt đậu tương nảy mầm

Đơn vị: Đơn vị hoạt độ (ĐVHĐ)/mg

Thời gian		Ngày 2			Ngày 4			Ngày 6		
Nồng độ	Giống	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99
ĐC	0%	$0,63^{de} \pm 0,0$	$0,58^{b} \pm 0,02$	$0,55^{a} \pm 0,00$	$0,76^{c} \pm 0,01$	$0,76^{c} \pm 0,02$	$0,68^{c} \pm 0,02$	$0,54^{b} \pm 0.0$	$0,51^{e} \pm 0,01$	$0,51^{b} \pm 0,02$
0,1%	Hoạt độ enzym	$0,67^{cd} \pm 0,01$	$0,62^{ab} \pm 0,01$	$0,56^{a} \pm 0,04$	$0,8^{bc} \pm 0,01$	$0,84^{b} \pm 0,0$	$0,69^{c} \pm 0,00$	$0,63^{a} \pm 0,03$	$0,57^{d} \pm 0,02$	$0,56^{b} \pm 0,00$
	% so với ĐC	107	107	101	105	110	101	118	111	109
0,2%	Hoạt độ enzym	$0,74^{e} \pm 0,01$	$0,63^{a} \pm 0,0$	$0,52^{ab} \pm 0,02$	$0,81^{bc} \pm 0,02$	$0,95^{a} \pm 0,01$	$0,77^{b} \pm 0,02$	$0,61^{a} \pm 0,02$	0,64c ± 0,01	$0,64^{a} \pm 0,03$
	% so với ĐC	118	110	93	105	125	112	114	125	126
0,3%	Hoạt độ enzym	$0,89^{b} \pm 0,01$	$0,64^{a} \pm 0,01$	$0,49^{ab} \pm 0,03$	$0,86^{b} \pm 0,01$	$0,97^{a} \pm 0,01$	$0,83^{ab} \pm 0,02$	$0,64^{a} \pm 0,04$	$0,76^{b} \pm 0,02$	$0,5^{b} \pm 0,01$
	% so với ĐC	142	112	88	113	128	121	119	149	99
0,4%	Hoạt độ enzym	$1,03^{a} \pm 0,06$	$0,66^{a} \pm 0,02$	$0,44^{b} \pm 0,00$	$0,95^{a} \pm 0,03$	$1,0^{a} \pm 0,03$	$0,88^{a} \pm 0,04$	$0,65^{a} \pm 0,01$	$0,84^{a} \pm 0,01$	$0,56^{b} \pm 0,01$
	% so với ĐC	164	114	80	124	131	128	120	164	110
0,5%	Hoạt độ enzym	$0,64^{de} \pm 0,01$	$0,45^{c} \pm 0,01$	$0,34^{c} \pm 0,02$	$0,61^{d} \pm 0,01$	$0,65^{d} \pm 0,01$	$0,48^{d} \pm 0,01$	$0,35^{c} \pm 0,01$	$0,48^{e} \pm 0,03$	$0,36^{c} \pm 0,02$
	% so với ĐC	101	77	62	80	85	70	65	94	71
0,6%	Hoạt độ enzym	$0,55^{e} \pm 0,01$	$0,32^{d} \pm 0,02$	$0,2^{d} \pm 0,01$	$0,46^{e} \pm 0,02$	$0,22^{e} \pm 0,01$	$0,29^{e} \pm 0,01$	$0,31^{c} \pm 0,01$	$0,16^{f} \pm 0,01$	$0,18^{d} \pm 0,01$
	% so với ĐC	88	55	37	60	29	42	58	32	35
0,7%	Hoạt độ enzym	$0,47^{f} \pm 0,01$	$0,33^{d} \pm 0,01$	$0,16^{d} \pm 0,01$	$0,39^{f} \pm 0,01$	$0,21^{e} \pm 0,00$	$0,22^{f} \pm 0,01$	$0,15^{d} \pm 0,0$	$0,14^{fg} \pm 0,01$	$0,15^{de} \pm 0,01$
	% so với ĐC	74	57	29	51	28	32	29	27	29
0,8%	Hoạt độ enzym	$0,31^{g} \pm 0,01$	$0,26^{e} \pm 0,0$	$0,12^{d} \pm 0,01$	$0,36^{f} \pm 0,0$	$0,17^{e} \pm 0,01$	$0,14^{g} \pm 0,01$	$0,17^{d} \pm 0,0$	$0,1^{g} + 0,01$	$0,09^{e} \pm 0,00$
	% so với ĐC	49	46	21	47	22	21	32	19	18

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

Bảng 5. Hoạt độ enzyme protease trong hạt đậu tương nảy mầm

Đơn vị: Đơn vị hoạt độ (ĐVHĐ)/mg

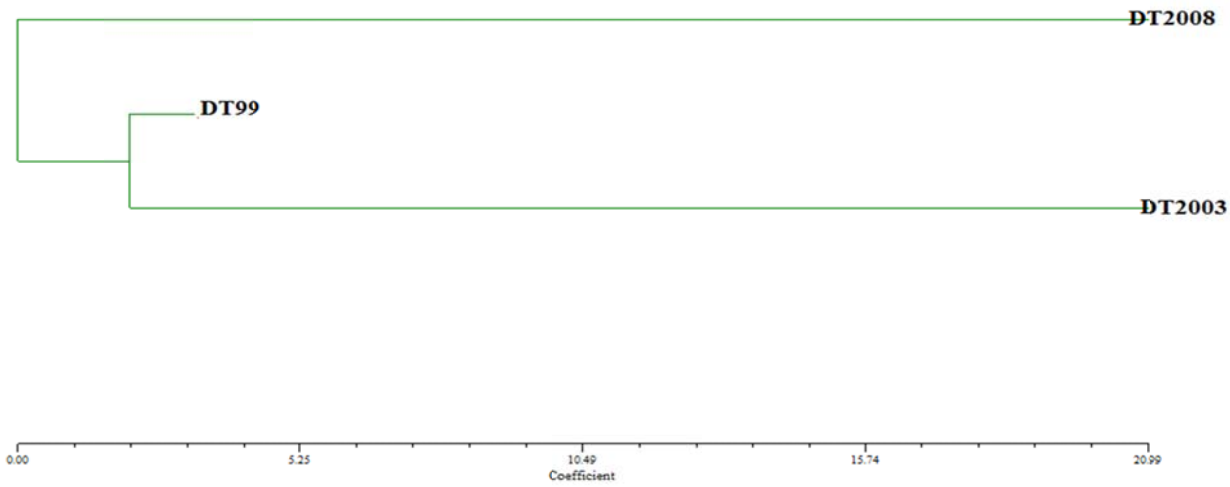
Thời gian		Ngày 2			Ngày 4			Ngày 6		
Nồng độ	Giống	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99	DT2008	DT2003	DT99
ĐC	0%	$3,10^{d} \pm 0,01$	$3,91^{c} \pm 0,14$	$3,61^{c} \pm 0,06$	$4,76^{c} \pm 0,04$	$5,66^{c} \pm 0,08$	$4,67^{d} \pm 0,08$	$4,85^{d} \pm 0,07$	$5,06^{cd} \pm 0,06$	$4,71^{cd} \pm 0,2$
0,1%	Hoạt độ enzym	$3,17^{d} \pm 0,03$	$4,00^{c} \pm 0,06$	$3,77^{bc} \pm 0,06$	$5,07^{c} \pm 0,08$	$4,73^{d} \pm 0,04$	$4,93^{cd} \pm 0,05$	$5,64^{c} \pm 0,08$	$5,19^{cd} \pm 0,05$	$5,22^{c} \pm 0,08$
	% so với ĐC	102	102	104	107	84	106	116	103	111
0,2%	Hoạt độ enzym	$3,81^{c} \pm 0,03$	$5,22^{a} \pm 0,0$	$4,82^{a} \pm 0,05$	$5,79^{b} \pm 0,08$	$5,04^{d} \pm 0,06$	$4,97^{c} \pm 0,07$	$6,25^{b} \pm 0,03$	$5,87^{bc} \pm 0,06$	$5,88^{b} \pm 0,01$
	% so với ĐC	123	134	133	122	89	106	129	116	125
0,3%	Hoạt độ enzym	$4,34^{b} \pm 0,03$	$4,31^{b} \pm 0,14$	$3,90^{b} \pm 0,05$	$6,93^{a} \pm 0,11$	$6,55^{a} \pm 0,09$	$7,03^{a} \pm 0,07$	$6,77^{a} \pm 0,12$	$6,78^{ab} \pm 0,57$	$6,66^{a} \pm 0,31$
	% so với ĐC	140	110	108	146	116	150	139	134	141
0,4%	Hoạt độ enzym	$4,62^{a} \pm 0,08$	$4,36^{b} \pm 0,06$	$4,73^{a} \pm 0,05$	$5,17^{c} \pm 0,08$	$6,00^{c} \pm 0,08$	$5,65^{b} \pm 0,08$	$5,88^{c} \pm 0,08$	$7,40^{a} \pm 0,21$	$6,45^{ab} \pm 0,07$
	% so với ĐC	149	112	131	107	106	121	121	146	137
0,5%	Hoạt độ enzym	$3,07^{d} \pm 0,01$	$2,86^{d} \pm 0,02$	$2,71^{e} \pm 0,05$	$3,86^{d} \pm 0,06$	$4,76^{d} \pm 0,12$	$4,69^{d} \pm 0,05$	$4,51^{e} \pm 0,08$	$4,52^{de} \pm 0,38$	$4,45^{de} \pm 0,21$
	% so với ĐC	99	73	75	81	84	100	93	89	94
0,6%	Hoạt độ enzym	$2,81^{e} \pm 0,05$	$2,31^{e} \pm 0,01$	$2,92^{d} \pm 0,03$	$3,76^{d} \pm 0,06$	$3,36^{f} \pm 0,04$	$3,29^{e} \pm 0,03$	$4,17^{f} \pm 0,02$	$3,91^{ef} \pm 0,04$	$3,92^{ef} \pm 0,01$
	% so với ĐC	91	59	81	81	59	70	86	77	83
0,7%	Hoạt độ enzym	2,78e ± 0,06	2,38e ± 0,02	$2,67^{e} \pm 0,03$	3,48e ± 0,07	$3,78^{e} \pm 0,06$	$3,11^{e} \pm 0,06$	$3,76^{g} \pm 0,06$	$3,46^{f} + 0,03$	$3,48^{fg} \pm 0,05$
	% so với ĐC	90	61	74	73	67	67	77	68	74
0,8%	Hoạt độ enzym	$2,85^{e} \pm 0,05$	$2,14^{e} \pm 0,04$	$2,30^{f} \pm 0,03$	$2,72^{f} \pm 0,08$	$3,16^{f} \pm 0,03$	$3,32^{e} \pm 0,05$	$3,24^{h} \pm 0,05$	$3,37^{f} \pm 0,04$	$3,14^{g} \pm 0,13$
	% so với ĐC	92	55	64	57	56	71	67	67	67

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f, g) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức α là 0,05 với độ tin cậy 95%.

Có thể nhận thấy: ở nồng độ gây mặn từ 0,1% - 0,4%, hoạt độ enzyme amilase, protease tăng lên còn hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương ở các nồng độ gây mặn cao từ 0,5% - 0,8% giảm nhiều so với đối chứng. Kết quả nghiên cứu này giúp giải thích được tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm, khối lượng mầm của các giống đậu tương ở các nồng độ gây mặn từ 0,1% -

0,4% cao hơn so với các nồng độ gây mặn từ 0,5% - 0,8%. Tuy nhiên, mức độ tăng hoặc giảm hoạt độ enzyme amilase, protease ở nồng độ gây mặn thấp và nồng độ gây mặn cao của các giống đậu tương nghiên cứu là khác nhau. Sự tăng hoạt độ enzyme amilase của giống DT2008, DT2003 có thời điểm tăng đạt đến 164% so với đối chứng. Trong khi đó ở giống DT99 hoạt độ amilase tăng cao nhất chỉ đạt tới 128%. Điều này chứng tỏ, sự tăng hoạt độ enzyme amilase, protease trong điều kiện mặn có thể phản ánh khả năng chịu mặn của từng giống.

Căn cứ vào tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm, khối lượng mầm, hoạt độ enzyme amilase, protease so với đối chứng của các giống đậu tương trong các nồng độ gây hạn khác nhau, sử dụng phần mềm NTSYSpc phiên bản 2.1, chúng tôi thu được dạng biểu đồ hình cây thể hiện khả năng chịu mặn của các giống đậu tương nghiên cứu:



Hình 1. Phân nhóm khả năng chịu hạn của các giống đậu tương nghiên cứu

Trên biểu đồ hình cây gồm 2 nhánh thể hiện mối tương quan về mặt di truyền khi xét về khả năng chịu mặn của các giống đậu tương cho thấy khả năng chịu mặn của các giống đậu tương từ cao đến thấp tương ứng DT2008, DT2003, DT99.

Từ kết quả hoạt độ enzyme amilase, protease thu được, chúng tôi còn nhận thấy: khả năng chịu mặn của các giống đậu tương không chỉ có mối tương quan với hoạt độ của amilase, protease trong điều kiện mặn mà còn liên quan đến thời điểm hai enzyme thủy phân này đạt giá trị cao nhất. Hoạt độ enzyme amilase, protease của giống DT2008 tăng cao nhất ngay ở 2 ngày gieo hạt trong khi hoạt độ enzyme amilase của giống DT2003 phải đến 4 ngày và giống DT99 là 6 ngày gieo hạt mới đạt giá trị cao nhất. Tuy nhiên trong quá trình nảy mầm kéo dài đến ngày thứ 6, có thể tinh bột và protein dự trữ trong hạt cạn kiệt nên hoạt độ enzyme amilase, protease trong công thức đối chứng bị giảm xuống dẫn đến hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương trong công thức nhiễm mặn cao hơn so với đối chứng. Vì vậy, chúng tôi cho rằng mối tương quan giữa hoạt độ protease, amilase với sự tăng áp suất thẩm thấu của tế bào trong những ngày đầu gieo hạt có thể sẽ phản ánh rõ hơn khả năng chống chịu của cây. Trước đây Titov và cộng sự (2006) cũng đã cho thấy tác động nhiệt ở mức trung bình và cao làm tăng khả năng chống chịu của cây ở thời kì đầu tác động, khi mà thực vật phối hợp được các cơ chế chống chịu đặc trưng và không đặc trưng có bản chất sinh lý và sinh hóa [12]. Đồng thời chúng tôi cũng nhận thấy, nồng độ NaCl 0,4% không chỉ tác động rõ ràng nhất đến các chỉ tiêu sinh trưởng mà còn tác động rõ ràng đến hoạt độ của các enzyme amilase, protease. Khi nồng độ muối gây mặn cao hơn 0,4%, hoạt độ enzyme amilase, protease bị giảm và không phản ánh được mối tương quan giữa chúng với khả năng chịu mặn của các giống đậu

tương. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục bố trí thí nghiệm theo dõi động thái của hai enzyme này trong vòng 72 giờ gieo hạt ở nồng độ NaCl 0,4%, các lần xác định hoạt độ cách nhau 8 giờ.

3.2. Động thái enzyme amilase trong hạt đậu tương nảy mầm

Amilase là enzyme xúc tác cho quá trình thủy phân tinh bột, glycogen, và các polyxacarit tương tự. Kết quả xác định hoạt độ enzyme amilase của các giống đậu tương nảy mầm được thể hiện trong bảng 6:

Bảng 6. Động thái enzyme amilase của các giống đậu tương trong 72 giờ xử lý mặn

Đơn vị: Đơn vị hoạt độ (ĐVHĐ)/mg

Giống	DT2008			DT2003			DT99		
Thời gian	ĐC	TN	% so với ĐC	ĐC	TN	% so với ĐC	ĐC	TN	% so với ĐC
8 giờ	$0,44^{f} \pm 0,02$	$0,63^{d} \pm 0,04$	144	$0,42^{d} \pm 0,01$	$0,48^{e} \pm 0,01$	115	$0,31^{e} \pm 0,01$	$0,3^{d} \pm 0,01$	99
16 giờ	$0,55^{e} \pm 0,01$	$1,23^{a} \pm 0,02$	224	$0,43^{d} \pm 0,02$	$0,52^{de} \pm 0,01$	119	$0,37^{e} \pm 0,01$	$0,36^{d} \pm 0,01$	97
24 giờ	$0,64^{d} \pm 0,02$	$1,18^{a} \pm 0,02$	183	$0,46^{d} \pm 0,01$	$0,53^{cde} \pm 0,01$	114	$0,49^{d} \pm 0,02$	$0,37^{d} \pm 0,02$	75
32 giờ	$0,66^{cd} \pm 0,00$	$1,03^{b} \pm 0,02$	157	$0,55^{c} \pm 0,01$	$0,62^{bcd} \pm 0,0$	114	$0,53^{cd} \pm 0,07$	$0,56^{c} \pm 0,02$	106
40 giờ	$0,74^{bc} \pm 0,04$	$0,98^{b} \pm 0,01$	133	$0,58^{c} \pm 0,01$	$0,64^{bc} \pm 0,01$	110	$0,6b^{cd} \pm 0,01$	$0,58^{c} \pm 0,01$	97
48 giờ	$0,73^{bcd} \pm 0,04$	$0,93^{bc} \pm 0,06$	127	$0,66^{b} \pm 0,01$	$0,68^{b} \pm 0,01$	103	$0,65^{bc} \pm 0,01$	$0,74^{b} \pm 0,04$	113
56 giờ	$0,81^{b} \pm 0,01$	$0,92^{bc} \pm 0,06$	114	$0,67^{b} \pm 0,02$	$0,72^{b} \pm 0,02$	108	$0,66^{bc} \pm 0,03$	$0,81^{ab} \pm 0,02$	124
64 giờ	$0,92^{a} \pm 0,01$	$0,87^{bc} \pm 0,04$	95	$0,71^{b} \pm 0,03$	$0,98^{a} \pm 0,08$	137	$0,73^{bc} \pm 0,02$	$0,82^{ab} \pm 0,01$	113
72 giờ	$0,78^{b} \pm 0,01$	$0,77^{cd} \pm 0,04$	99	$0,81^{a} \pm 0,02$	$0,94^{a} \pm 0,01$	116	$0,81^{a} \pm 0,03$	$0,89^{a} \pm 0,06$	109

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e, f) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức α là 0,05 với độ tin cậy 95%

Khi phân nhóm chịu mặn, giống DT2008 có khả năng chịu mặn tốt nhất sau đó đến giống DT2003 và cuối cùng là DT99. Kết quả về hoạt độ enzyme amilase của các giống đậu tương thu được cho thấy hoạt độ enzyme amilase của giống DT2008 tăng cao ngay từ 8 giờ gieo hạt nhưng đến 16 giờ mới đạt giá trị cực đại. Tương tự như vậy, hoạt độ enzyme amilase của giống DT2003 tăng so với đối chứng ngay từ 8 giờ gieo hạt, tuy nhiên đến 64 giờ gieo hạt hoạt độ enzyme amilase mới đạt giá trị cực đại và mức độ tăng hoạt độ amilase của giống DT2003 cũng ít hơn so với giống DT2008. Trong khi đó, hoạt độ enzyme amilase của giống DT99 trong 24 giờ đầu gieo hạt tăng không rõ ràng và đến 56 giờ gieo hạt hoạt độ enzyme amilase mới đạt giá trị cực đại. Như vậy trong giai đoạn đầu, thời gian để hoạt độ enzyme amilase của các giống đậu tương đạt giá trị cực đại là khác nhau. Điều này chứng tỏ trong điều kiện mặn, động thái hoạt độ enzyme amilase tăng càng nhanh và càng sớm thì khả năng chống chịu mặn của tế bào càng tốt. Vì sự tăng nhanh hoạt độ amilase phân giải chất dự trữ tinh bột là bước đầu cho sự khởi động các cơ chế chống chịu mặn của hạt nảy mầm. Hoạt độ enzyme amilase tăng lên phân giải amylose và amylopectin thành các dextrin mạch ngắn và maltose. Các sản phẩm trung gian do quá trình phân giải tinh bột tạo ra, có những chất tham gia ngay vào sự tăng áp suất thẩm của tế bào như các phân tử đường hòa tan, những chất khác đi vào các quá trình trao đổi chất khác làm nguyên liệu tổng hợp các chất tan tương thích cũng làm tăng khả năng điều chỉnh áp suất thẩm thấu của tế bào hoặc tham gia vào các chu trình chuyển hóa tạo năng lượng cung cấp cho quá trình tổng hợp chất mới và cung cấp năng lượng cho các kênh vận chuyển chủ động trên màng tế bào. Sự giảm hoạt độ enzyme amilase của giống DT2008 và giảm thấp hơn so với đối chứng sau 64 giờ, 72 giờ gieo hạt có thể do hàm lượng tinh bột dự trữ còn lại ngày càng ít. Nhìn chung ở hầu hết các giờ nghiên cứu, mức độ tăng hoạt độ enzyme amilase của giống DT2008 đều cao hơn so với DT2003 và DT99.

3.3. Động thái enzyme protease trong hạt đậu tương nảy mầm

Chất dự trữ chủ yếu trong hạt đậu tương là protein nên enzyme protease là enzyme hoạt động chủ đạo trong quá trình biến đổi hóa sinh của hạt nảy mầm. Kết quả xác định hoạt độ enzyme protease của các giống đậu tương trong điều kiện mặn được thể hiện trong bảng 7:

Bảng 7. Động thái enzyme protease của các giống đậu tương trong 72 giờ xử lý mặn

Đơn vị: Đơn vị hoạt độ (ĐVHĐ)/mg

Giống	DT2008			DT2003			DT99		
Thời gian	ĐC	TN	% so với ĐC	ĐC	TN	% so với ĐC	ĐC	TN	% so với ĐC
8 giờ	$3,41^{e} \pm 0,07$	$5,84^{c} \pm 0,09$	171	$3,76^{e} \pm 0,05$	$4,98^{d} \pm 0,06$	133	$3,87^{e} \pm 0,04$	$5,11^{e} \pm 0,07$	132
16 giờ	$3,44^{e} \pm 0,07$	$7,85^{a} \pm 0,13$	228	$4,41^{d} \pm 0,07$	$7,26^{b} \pm 0,08$	164	$4,08^{e} \pm 0,06$	$4,77^{e} \pm 0,02$	117
24 giờ	$3,49^{e} \pm 0,05$	$5,2^{d} \pm 0,12$	149	$4,35^{d} \pm 0,05$	$4,71^{d} \pm 0,1$	108	$4,78^{d} \pm 0,17$	$5,7^{d} \pm 0,09$	119
32 giờ	$3,77^{d} \pm 0,02$	$3,95^{e} \pm 0,14$	105	$4,6^{cd} \pm 0,07$	$4,95^{e} \pm 0,08$	108	$4,89^{cd} \pm 0,06$	$4,7^{e} \pm 0,04$	96
40 giờ	$3,78^{d} \pm 0,02$	$7,09^{b} \pm 0,13$	187	$4,75^{c} \pm 0,05$	$7,27^{b} \pm 0,09$	153	$5,25^{bcd} \pm 0,17$	$6,69^{c} \pm 0,1$	127
48 giờ	$3,90^{d} \pm 0,03$	$5,88^{c} \pm 0,09$	151	$5,04^{b} \pm 0,04$	$5,76^{c} \pm 0,04$	114	$5,37^{bc} \pm 0,16$	$4,65^{e} \pm 0,11$	87
56 giờ	$4,14^{c} \pm 0,05$	$4,95^{d} \pm 0,09$	119	$4,73^{c} \pm 0,05$	$5,09^{d} \pm 0,04$	108	$5,39^{bc} \pm 0,1$	$7,38^{b} \pm 0,21$	136
64 giờ	$4,64^{b} \pm 0,03$	$6,25^{c} \pm 0,08$	135	$5,88^{a} \pm 0,06$	$7,92^{a} \pm 0,03$	135	$5,63^{b} \pm 0,14$	$7,46^{b} \pm 0,12$	132
72 giờ	$5,29^{a} \pm 0,04$	$7,26^{b} \pm 0,08$	137	$6,1^{a} \pm 0,06$	$8,23^{a} \pm 0,18$	135	$6,41^{a} \pm 0,6$	$8,11^{a} \pm 0,03$	127

So sánh giữa công thức đối chứng và thí nghiệm, trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức α là 0,05 với độ tin cậy 95%.

Kết quả thí nghiệm cho thấy hoạt độ enzyme protease của cả ba giống đậu tương nghiên cứu cũng tăng nhanh ngay từ 8 giờ gieo hạt. Tuy nhiên, thời điểm hoạt độ enzyme protease của các giống đậu tương đạt giá trị cao nhất là khác nhau. Hoạt độ enzyme protease của giống DT2008 và DT2003 đạt giá trị cao nhất ở 16 giờ gieo hạt còn hoạt độ enzyme protease của giống DT99 phải đến 56 giờ gieo hạt mới đạt giá trị cao nhất. Nhìn chung, ở hầu hết các giờ nghiên cứu, hoạt độ protease của giống DT2008 so với đối chứng là tăng nhiều hơn so với giống DT2003 và DT99. Điều này chứng tỏ, sự tăng cao hoạt độ enzyme protease sớm cũng phản ánh khả năng chịu mặn của các giống đậu tương và kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Xiao-yan Xu [14]. Sản phẩm của quá trình phân giải protein là các axit amin hoặc các phân tử peptit ngắn. Một số axit amin có vai trò quan trọng điều chỉnh áp suất thẩm thấu của hạt nảy mầm như prolin,... [2] [4] còn các axit amin khác của quá trình phân giải đi vào quá trình tổng hợp protein mới. Các protein mới đó có thể là các enzyme chống oxy hóa hình thành cơ chế chống chịu đặc trưng ở thực vật. Như vậy, trong điều kiện mặn, hạt có thể nảy mầm và sinh trưởng là do có sự tác động tổng hợp của nhiều cơ chế chống chịu khác nhau [7].

4. KẾT LUẬN

- Nồng độ NaCl gây mặn làm giảm tỷ lệ nảy mầm, chiều dài mầm và khối lượng mầm của các giống đậu tương nghiên cứu. Nồng độ gây mặn càng cao thì sự sinh trưởng của mầm đậu tương càng giảm. Nồng độ NaCl 0,4% ảnh hưởng rõ rệt nhất đến quá trình sinh trưởng của mầm và được chọn để thực hiện nghiên cứu tiếp theo.

- Chúng tôi phân nhóm khả năng chịu mặn của các giống đậu tương trên cơ sở ảnh hưởng của NaCl tới các chỉ tiêu sinh trưởng, hoạt độ enzyme amilase, protease của các giống đậu tương nghiên cứu như sau: giống DT2008 có khả năng chịu mặn tốt nhất, sau đó đến DT2003 và chịu mặn yếu nhất là DT99.

- Trong điều kiện nhiễm mặn (NaCl 0,4%), động thái enzyme amilase của các giống đậu tương đều tăng ngay ở 8 giờ xử lý hạt. Giống DT2008 có sự khác biệt so với 2 giống DT2003, DT99 là

hoạt độ enzyme amilase tăng mạnh ở 8 giờ và đạt giá trị cực đại ở 16 giờ gieo hạt. Trong khi đó, hoạt độ amilase của giống DT2003 tăng ở 8 giờ nhưng phải đến 64 giờ mới đạt giá trị cực đại còn hoạt độ amilase của giống DT99 không tăng ở 8 giờ đầu và không tăng rõ rệt ở các giờ các tiếp theo cho đến khi đạt giá trị cực đại ở 56 giờ gieo hạt mới thể hiện sự sai khác rõ ràng. Nhìn chung trong 72 giờ đầu gieo hạt, NaCl làm tăng hoạt độ enzyme amilase ở giống DT2008 là cao nhất, sau đó đến DT2003 và cuối cùng là DT99.

- Động thái hoạt độ enzyme protease của cả 3 giống đậu tương đều tăng khá mạnh ở 8 giờ đầu. Hoạt độ protease của 2 giống DT2008, DT2003 đạt giá trị cực đại ở 16 giờ gieo hạt và chỉ có DT99 có hoạt độ protease đạt giá trị cực đại ở 56 giờ. Nhìn chung, trong 72 giờ đầu xử lý hạt bằng NaCl 0,4% làm tăng hoạt độ protease ở giống DT2008 nhiều hơn so với DT2003 và DT99.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bhaskar Gupta, Bingru Huang, (2014), Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization, Int J Genomics, 2014: 701596.
2. Cong-Rong Cheng, Klaus Oldach, Kolumbina Mrva, Daryl Mares, (2014), Analysis of high pI α-Amy-1 gene family members expressed in late maturity α-amylase in wheat (*Triticum aestivum* L.), Mol Breed, 33(3): 519–529.
3. Kim Thị Duyên, Nguyễn Văn Mã, (2011), Phản ứng của hạt đậu tương DT2008 nảy mầm trong điều kiện dung dịch NaCl có áp suất thẩm thấu khác nhau, Tạp chí khoa học, Đại học Sư phạm Hà Nội 2, số16, 109-116.
4. Eric P. Beers, Stanley H. Duke, (1990), Characterization of α-Amylase from Shoots and Cotyledons of Pea (*Pisum sativum* L.) Seedlings, Plant Physiol, 92(4): 1154–1163.
5. Đinh Thị Vĩnh Hà, Nguyễn Văn Mã, (2008), Sự biến đổi hoạt độ enzim protease, lipase và amylase của hạt đậu tương nảy mầm trong điều kiện thiếu nước, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, tập 46 (6): 51-58.
6. Điêu Thị Mai Hoa, Nguyễn Phương Thảo, Lê Thị Thanh Hiếu, (2011), Ảnh hưởng của áp suất thẩm thấu cao đến sự nảy mầm, hoạt tính enzymee α-amylase và tích lũy prolin của mầm đậu xanh (Vigna radiata), Tạp chí khoa học, Đại học Sư Phạm Hà Nội, Số 56,Ttr. 106 – 114.
7. Huang GT, Ma SL, Bai LP, Zhang L, Ma H, Jia P, Liu J, Zhong M, Guo ZF, (2012), Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants, Mol Biol Rep, 39(2): 969-87
8. Julia Krasensky, Claudia Jonak, (2012), Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks, J Exp Bot, 63 (4): 1593-1608
9. Kevin C. Lambirth , Adam M. Whaley , Ivory C. Blakley , Jessica A. Schlueter (2015), A Comparison of transgenic and wild type soybean seeds: analysis of transcriptome profiles using RNA-Seq, BMC Biotechnol, 15: 89
10. Nguyễn Văn Mã, La Việt Hồng, Ong Xuân Phong, Phương pháp nghiên cứu Sinh lý học Thực vật, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội (2013).
11. Munns R, Tester M, (2008), Mechanisms of salinity tolerance, Annu Rev Plant Biol, 59:651-81.
12. Titov A.F, T.V. Akimmova, V.V. Talanova, L.V. Topchiava, (2006), Plant resistance in the initial period of unfavourable temperatures effects, M.Nauka, 143pp.
13. Nguyễn Thị Tâm, Nguyễn Thu Giang, (2008), Đặc điểm phản ứng của các giống lạc L24, L23, L08, LTB, LCB, LBK trong điều kiện hạn sinh lý ở giai đoạn nảy mầm, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, số 2, 46
14. Xiao-yan Xu, Rui Fan, Rui Zheng, Chun-mei Li, De-yue Yu, (2011), Proteomic analysis of seed germination under salt stress in soybeans, J Zhejiang Univ Sci B, 12 (7): 507-517

STUDY ON CONCENTRATIONS OF STRESS NACL INDUCED AND DYNAMICS OF ENZYMEE AMYLASE, PROTEASE AT GERMINATION STAGE OF DIFFERENT SALINITY'S TOLERANCE SOYBEAN VARIETIES

ABSTRACT

Soybean at germination stage is very sensitive to the environment factors, especially salt stress. We carried-out the study on the effect of different NaCl concentration to the number of sprout grains, length of sprout, weight of sprout and activity of amylase, protease of soybean varieties (DT2008, DT2003, DT99). The results showed that NaCl (0,4% w/v) affected clearly to growth parameters and increased amylase activity, protease activity of soybean varieties. Based on the identification of growth and biochemical parameters, soybean varieties are classified as low to high salt tolerance: DT99, DT2003, DT2008, respectively. Then, we monitored the activity of amylase enzymee, protease of soybean cultivars within 72 hours of sowing. The results showed that amylase enzymee activity, protease clearly reflects the salt tolerance of soybean varieties studied.

Keywords: soybean, salinity tolerance, amylase, protease, germination.

NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT SINH PHÔI SINH DƯỠNG Ở SÂM CAU (*Curculigo orchiodes* Gaertn)

Nguyễn Văn Long, Đinh Thị Sáu, Nguyễn Thị Thanh Thảo, Nguyễn Thanh Tài, Dương Hoa Xô, Nguyễn Xuân Dũng
Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh
**Email: vanlongbt135@gmail.com*

TÓM TẮT

Sâm cau (*Curculigo orchiodes* Gaertn) là loài dược liệu quý, chứa nhiều hợp chất thứ cấp có giá trị y học. Quá trình phát sinh phôi sinh dưỡng có ý nghĩa quan trọng đối với việc phát triển hệ thống vi nhân giống và thu nhận sinh khối *in vitro* ở thực vật nói chung cũng như Sâm cau. Trong nghiên cứu này, sự phát sinh phôi sinh dưỡng ở Sâm cau được khảo sát từ mô lá *in vitro* dưới ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Kết quả nghiên cứu cho thấy, phôi sinh dưỡng ở Sâm cau được cảm ứng trực tiếp từ các tế bào lá nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 2 mg/l BA và 0,5 mg/l NAA. Các mẫu lá tạo phôi nuôi trong hệ thống ngập chìm tạm thời có thành phần môi trường MS bổ sung 2 mg/l BA thích hợp cho sự phát triển thành cây con hoàn chỉnh. Sự hình thành phôi sinh dưỡng ở Sâm cau trải qua các giai đoạn: phôi cầu, phôi kim tự tháp và phôi hình núi lửa trước khi phát triển thành cây con hoàn chỉnh. Kết quả này mở ra triển vọng mới cho vấn đề sản xuất cây giống sâm cau phục vụ cho nhu cầu sản xuất.

Từ khóa: Sâm cau, chất điều hòa sinh trưởng thực vật, sự phát sinh phôi sinh dưỡng, phôi cầu, phôi núi lửa, phôi kim tự tháp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm cau là cây dược liệu quý sống lâu năm, thích nghi trong điều kiện nắng trung bình, độ ẩm cao, sinh trưởng tốt trên vùng núi cao, có độ phì tương đối, đặc biệt là vùng núi đá vôi (Nguyễn Tiến Bân và cs, 2007). Sâm cau mang hàm lượng cao các thành phần thuộc họ phenol (Wang *et al.,* 2013). Ngoài ra, Sâm cau chứa các chất có hoạt tính sinh học giá trị, mang đặc trưng riêng như các hợp chất thuộc họ glucoside chlorophenolic (curculigin E, curculigin F, curculigin G, curculigin H, curculigin I) (Xu *et al.,* 1992), giàu acid benzoic 2,6-dimetoxy, curculigoside A, curculigoside B (Fu *et al.,* 2004), acid syringic và các hợp chất orcinol glucoside (Đỗ Tất Lợi và cs., 2014). Sâm cau chủ yếu được khai thác và sử dụng là thân rễ. Sâm cau có nhiều tác dụng dược lý như giảm đau, chống viêm, kích thích miễn dịch, tăng khả năng sinh tinh ở nam giới (Chauhan and Dixit, 2008), cải thiện và tăng cường sinh lý, bảo vệ gan, chống hen suyễn, chống dị ứng (Agrahari *et al.,* 2010; Venkatesh *et al.,* 2009). Bên cạnh đó, còn có tác dụng trong việc cải thiện trí nhớ (Wu et al., 2005), chống loãng xương (Cao *et al.*, 2008), phòng chống bệnh tiểu đường (Chauhan and Dixit, 2007), có tác dụng chống đột biến và ức chế sự phát triển của tế bào ung thư (Đỗ Tất Lợi và cs., 2014).

Tuy nhiên, thời gian sinh trưởng của cây Sâm Cau chậm, cùng với việc bị con người khai thác gần như cạn kiệt dẫn tới nguồn Sâm Cau trong tự nhiên còn lại rất ít và có nguy cơ bị tuyệt chủng (Nguyễn Tiến Bân và cs., 2007). Ngày nay, kĩ thuật nhân giống *in vitro* đã và đang được ứng dụng trên nhiều cây trồng khác nhau, đặc biệt là các loại cây thuốc quý với mục tiêu là bảo tồn nguồn gen cây dược liệu đặc hữu của Việt Nam và xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây dược liệu để phục vụ cho nhu cầu sử dụng các sản phẩm dược liệu từ thiên nhiên ngày càng đa dạng. Vì vậy, đề tài tiến hành nghiên cứu sự phát sinh phôi vô tính trên đối tượng nghiên cứu cây Sâm cau, làm tiền đề cho việc xây dựng quy trình nhân giống cây Sâm cau phục vụ cho nhu cầu sản xuất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu thí nghiệm

Lá cây Sâm cau *in vitro* 10 tuần tuổi từ thí nghiệm tăng trưởng chồi ngủ ở thân rễ – Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực vật, Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp. Hồ Chí Minh.

Môi trường dinh dưỡng: thành phần khoáng MS bổ sung đường sucrose (30 g/l), than hoạt tính (0,5 g/l), agar (8,0 g/l). Thành phần chất điều hòa sử dụng trong nghiên cứu chủ yếu là BA (6-benzylaminopurine), NAA (Naphthaleneacetic acid), 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid).

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Tạo phôi trực tiếp từ lá in vitro

Lá của cây sâm cau *in vitro* (cao khoảng 15 cm, có 4 - 6 lá) được cắt thành các mảnh có kích thước 1×1 cm. Các mảnh lá được cấy úp mặt trên các môi trường MS bổ sung 2,4-D 0,5 mg/l kết hợp với BA 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 2,5 mg/l.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 mẫu. Mẫu được đặt nuôi trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 2^{o}C, ẩm độ 55 ± 5%. Quan sát và ghi nhận tỷ lệ (%) số mẫu cảm ứng tạo phôi sau 6 tuần nuôi cấy và sự phát triển phôi sau 10 tuần nuôi cấy.

2.2.2. Tạo mô sẹo từ lá in vitro

Lá của cây sâm cau *in vitro* (cao khoảng 15 cm, có 4 - 6 lá) được sử dụng làm vật liệu cảm ứng tạo mô sẹo. Theo đó, các lá ở vị trí thứ 3, 4 và 5 tính từ ngọn được tách ra khỏi thân, cắt bỏ cuống và đầu lá; sau đó, cắt thành các mảnh nhỏ (kích thước khoảng 1×1 cm). Các mảnh lá được cấy úp mặt trên các môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/l kết hợp lần lượt với NAA ở các nồng độ 1,0; 2,0; 3,0 và 4,0 mg/l hoặc 2,4-D ở các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 mẫu. Mẫu được đặt nuôi trong điều kiện tối, nhiệt độ 25 ± 2^{o}C, ẩm độ 55 ± 5%. Quan sát và ghi nhận tỷ lệ (%) số mẫu cảm ứng tạo mô sẹo, hình thái (màu sắc, độ đặc) và sự sinh trưởng của mô sẹo sau 10 tuần nuôi cấy.

2.2.3. Tạo phôi sinh dưỡng từ mô sẹo

Các cụm mô sẹo có đường kính khoảng 1,0 cm được cấy trên môi trường MS có bổ sung 2,4-D 0,5 mg/l kết hợp với BA ở các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 và 2,5 mg/l.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 mẫu. Mẫu được đặt nuôi trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 2^{o}C, ẩm độ 55 ± 5%, cường độ ánh sáng 2.500 ± 500 lux và thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày. Quan sát và ghi nhận số chồi/mẫu sau 6 và 10 tuần nuôi cấy.

2.2.4. Phát triển cây con từ phôi trên hệ thống ngập chìm tạm thời

Mô sẹo cảm ứng tạo phôi 4 tuần tuổi được nuôi cấy trên môi trường MS lỏng bổ sung BA với các nồng độ 0,5; 1,0 và 2,0 mg/l trong hệ thống ngập chìm tạm thời (TIS) với các thông số được thiết lập bao gồm: thể tích môi trường 250 ml/bình, chu kỳ bơm 7 giờ/lần, thời gian ngập chìm 4 phút/lần bơm. Thí nghiệm được thực hiện tương tự đối với hệ thống nuôi cấy bán rắn (trên nền thạch agar 8 g/l môi trường).

Các bình nuôi cấy được đặt trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 5^{o}C, ẩm độ 55 ± 5%, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2.500 ± 500 lux. Các nghiệm thức bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lần 5 mẫu.

3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

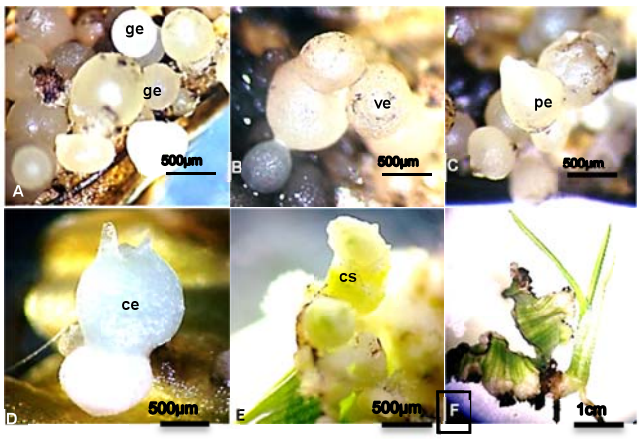
3.1. Tạo phôi trực tiếp từ lá *in vitro*

Sự phát sinh phôi sinh dưỡng cây Sâm cau mang đầy đủ đặc trưng sự phát sinh phôi của thực vật một lá mầm bao gồm: phôi hình cầu sau 3 tuần (Hình 1A), giai đoạn phôi núi lửa sau 5 tuần (Hình 1B) và giai đoạn phôi kim tự tháp sau 6 tuần (Hình 1C). Từ tuần thứ 7, các phôi kim tự tháp đi vào giai đoạn phôi trưởng thành, hình thành phát thể lá (Hình 1D) và kéo dài thành chồi trưởng thành ở tuần thứ 8 (Hình 1E).

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ BA và 2,4-D đến khả năng tái sinh chồi từ mẫu lá *in vitro*

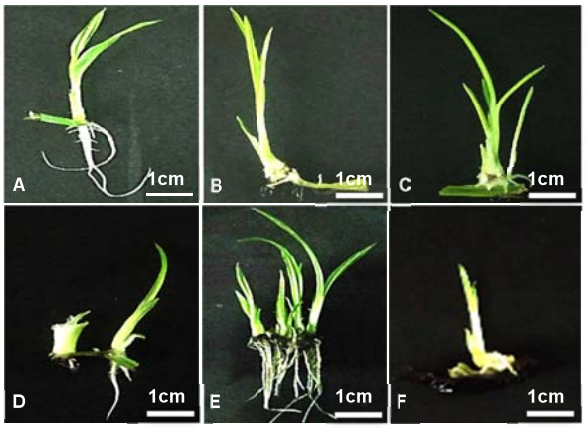
2,4-D (mg/l)	BA (mg/l)	Số phôi/mẫu (tuần 6)	Số chồi/mẫu (tuần 10)	Sinh trưởng
0,0	0,0	$4,40^{d} \pm 0,72$	$1,67^{b} \pm 0,12$	++
0,5	0,5	$7,46^{c} \pm 0,90$	$1,07^{bc} \pm 0,41$	+
	1,0	$10,13^{ab} \pm 0,51$	$1,80^{b} \pm 0,40$	++
	1,5	$9,47^{b} \pm 0,31$	$1,73^{b} \pm 0,12$	++
	2,0	$\mathbf{11,20^{a} \pm 1,55}$	$\mathbf{3,86^{a} \pm 1,13}$	+++
	2,5	$4,87^{d} \pm 1,29$	$0,53^{c} \pm 0,31$	+

** Các chữ các khau nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*
Ghi chú: +: Mức độ sinh trưởng của chồi



Hình 1. Các giai đoạn phát triển của phôi sinh dưỡng Sâm cau

Ghi chú: A: phôi cầu (ge); B: phôi núi lửa (ve); C: phôi kim tự tháp (pe); D: phôi hình thành phát thể lá (ce); E,F: giai đoạn phôi phát triển và kéo dài thành chồi



Hình 2. Chồi phát triển từ phôi mô lá Sâm cau trên các môi trường khác nhau

Ghi chú: A: MS đối chứng; B, C, D, E, F: môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp BA có nồng độ lần lượt là 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg/l

Sau 6 tuần nuôi cấy, tổng số phôi trung bình trên một mẫu lá cao nhất đạt 11,2 phôi/mẫu đối với môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp với 2,0 mg/l BA và 10, 13 phôi/mẫu đối với môi trường có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp với 1,0 mg/l BA, cả hai môi trường này có tổng số phôi trung bình trên một mẫu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 1). Tuy nhiên sau 10 tuần nuôi cấy môi trường có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp với 2,0 mg/l BA cho tỷ lệ tạo chồi cao hơn với 3,86 chồi/mẫu so với 1,8 chồi /mẫu đối với môi trường có bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp với 1,0 mg/l BA (Bảng 1). Bên cạnh đó, môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp 2,0 mg/l BA cũng thích hợp cho sự cảm ứng phôi phát triển thành chồi hoàn chỉnh với chồi kéo dài, cơ quan rễ hình thành đầy đủ và phát triển bình thường (Hình 2E).

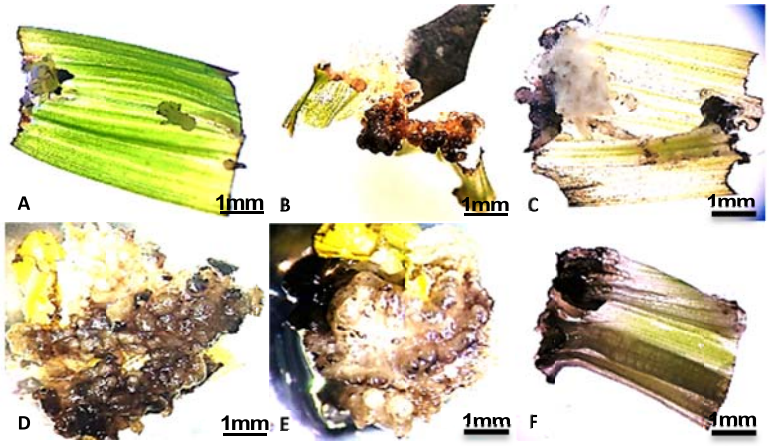
3.2. Tạo mô sẹo từ lá *in vitro*

Sau 10 tuần nuôi cấy, trên hầu hết các môi trường (MS) có bổ sung BA (0,5 mg/l) kết hợp với NAA (2,0-4,0 mg/l) hay 2,4-D (0,5-2,0 mg/l) đều có sự hình thành mô sẹo từ mô lá. Tỷ lệ tạo mô sẹo khác nhau tùy thuộc vào từng môi trường cụ thể và có sự khác biệt rõ rệt giữa các môi trường đã nêu so với môi trường đối chứng (MS) và môi trường có bổ sung BA 0,5 mg/l kết hợp với NAA 1,0 mg/l. Nhìn chung, với cùng nồng độ BA 0,5 mg/l, tỷ lệ tạo mô sẹo tăng dần theo nồng độ của NAA hay 2,4-D, đạt mức cao nhất ở trường hợp có bổ sung 3,0 mg/l NAA hay 1,0 và 1,5 mg/l 2,4-D, sau đó giảm xuống ở các trường hợp còn lại. Khi xem xét ở cùng trường hợp có tỷ lệ tạo mô sẹo cao nhất, môi trường có bổ sung 2,4-D cho tỷ lệ tạo mô sẹo cao hơn hẳn so với môi trường có bổ sung NAA (93,33% và 86,67% so với 53,33%) (Bảng 2, Hình 3). Sự vượt trội về khả năng cảm ứng tạo mô sẹo của 2,4-D trong trường hợp này hoàn toàn phù hợp với nhận định cho rằng 2,4-D là một auxin mạnh thường được dùng cho cảm ứng tạo mô sẹo (Bùi Trang Việt, 2009).

Bảng 2. Khả năng tạo mô sẹo từ lá sâm cau *in vitro* trên môi trường MS bổ sung BA kết hợp với NAA hay 2,4-D ở các nồng độ khác nhau sau 10 tuần nuôi cấy

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Tỷ lệ tạo sẹo (%)	Hình thái	Khả năng tạo phôi (sau 10 tuần)	Sinh trưởng của mô sẹo
0,0	0,0	0,0	$0,00^{e} \pm 0,00$	-	-	-
0,5	1,0	0,0	$0,00^{e} \pm 0,00$	-	-	-
	2,0	0,0	$13,33^{de} \pm 8,09$	Sẹo xốp, nâu	Tạo phôi ít	+
	3,0	0,0	$53,33^{b} \pm 8,09$	Sẹo đặc, trắng	Tạo phôi nhiều	++
	4,0	0,0	$20,00^{cd} \pm 0,00$	Sẹo xốp, nâu	Tạo phôi ít	+
	0,0	0,5	$13,33^{de} \pm 8,09$	-	-	-
	0,0	**1,0**	**$86,67^{a} \pm 8,09$**	**Sẹo đặc, trắng**	**Tạo phôi rất nhiều**	**++++**
	0,0	1,5	$93,33^{a} \pm 8,09$	Sẹo đặc, trắng	Tạo phôi nhiều	+++
	0,0	2,0	$33,33^{c} \pm 8,09$	Sẹo xốp, nâu	Tạo phôi ít	++

** Các chữ các khau nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*
Ghi chú: +: Mức độ sinh trưởng của mô sẹo; -: Mẫu không tạo mô sẹo



Hình 3. Sự hình thành mô sẹo Sâm cau ở các nghiệm thức khác nhau

Ghi chú: A-C: MS bổ sung 0,5 mg/l BA + 2,0; 3,0 và 4,0 mg/l NAA; D-F: MS bổ sung BA 0,5 mg/l + 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l 2,4-D

Các kết quả này cho thấy cả môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA kết hợp với 1,0 hay 1,5 mg/l 2,4-D đều thích hợp cho việc cảm ứng tạo mô sẹo từ mô lá. Tuy nhiên, khi tiến hành khảo sát khả năng tăng sinh khối của mô sẹo sau 8 tuần nuôi cấy, nghiệm thức MS bổ sung 0,5 mg/l BA kết hợp1,0 mg/l 2,4-D cho khả năng tích lũy sinh khối ở mô sẹo là cao nhất khi xét cả 3 chỉ tiêu gồm trọng lượng tươi (0,495 g), trọng lượng khô (0,129 g) và năng suất sinh khối đạt được là 26,18 % (Bảng 3). Kết quả trên có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê khi so sánh các chỉ tiêu với các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó, mô sẹo được tạo ra trên môi trường này cho khả năng sinh trưởng nhanh và ổn định hơn nên đã được chọn làm môi trường sử dụng cho việc cảm ứng mô sẹo phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng tới sự tăng sinh khối mô sẹo từ lá Sâm cau *in vitro*

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	2.4-D (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng khô (g)	Năng suất sinh khối (%)
0,0	0,0	0,0	$0,154^{f} \pm 0,024$	$0,015^{e} \pm 0,005$	$9,92^{d} \pm 2,46$
0,5	1,0	0,0	$0,182^{ef} \pm 0,039$	$0,028^{cd} \pm 0,007$	$15,57^{c} \pm 2,36$
	2,0	0,0	$0,226^{cde} \pm 0,046$	$0,026^{de} \pm 0,003$	$11,65^{d} \pm 1,12$
	3,0	0,0	$0,294^{bc} \pm 0,029$	$0,068^{b} \pm 0,008$	$23,02^{b} \pm 1,08$
	4,0	0,0	$0,153^{f} \pm 0,031$	$0,017^{de} \pm 0,004$	$11,13^{d} \pm 0,27$
	0,0	0,5	$0,258^{cd} \pm 0,030$	$0,041^{c} \pm 0,004$	$15,99^{c} \pm 2,13$
	0,0	**1,0**	**$0,495^{a} \pm 0,069$**	**$0,129^{a} \pm 0,009$**	**$26,18^{a} \pm 1,83$**
	0,0	1,5	$0,330^{b} \pm 0,043$	$0,079^{b} \pm 0,016$	$23,66^{ab} \pm 1,80$
	0,0	2,0	$0,189^{def} \pm 0,041$	$0,016^{de} \pm 0,003$	$8,73^{d} \pm 1,05$

** Các chữ các khau nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*

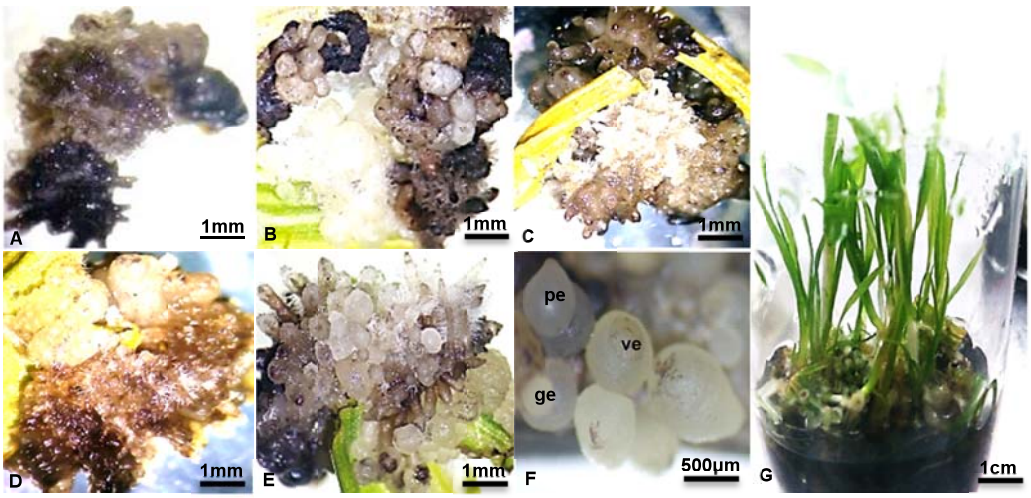
3.3. Tạo phôi sinh dưỡng từ mô sẹo

Sau 4 tuần nuôi cấy, ở tất cả các môi trường thử nghiệm đều có sự tạo phôi từ mô sẹo. Với cùng nồng độ 2,4-D là 0,5 mg/l, số lượng phôi tạo ra tăng dần theo sự gia tăng nồng độ BA, đạt mức cao nhất ở hai trường hợp BA 1,5 mg/l (35,93 phôi/mẫu) và 2,0 mg/l (32,53 phôi/mẫu), sau đó giảm xuống khi nồng độ BA đạt mức 2,5 mg/l (Bảng 4, Hình 4). Kết quả này cho thấy BA ở cả hai nồng độ 1,5 và 2,0 mg/l đều thích hợp cho sự tạo phôi trong thí nghiệm này.

Bảng 4. Khả năng tạo phôi từ mô sẹo sâm cau trên môi trường MS bổ sung 2,4-D và BA ở các nồng độ khác nhau sau 10 tuần nuôi cấy

2,4-D (mg/l)	BA (mg/l)	Số phôi/mẫu (tuần 6)	Số chồi/mẫu (tuần 10)	Sinh trưởng
0,0	0,0	$10,80^{d} \pm 1,98$	$1,33^{d} \pm 0,58$	++
0,5	0,5	$15,27^{c} \pm 3,40$	$2,53^{cd} \pm 0,12$	+
	1,0	$23,87^{b} \pm 2,30$	$3,73^{c} \pm 0,90$	++
	1,5	$35,93^{a} \pm 0,81$	$6,27^{b} \pm 1,01$	+++
	2,0	**$32,53^{a} \pm 2,46$**	**$7,67^{a} \pm 0,90$**	**+++**
	2,5	$25,06^{b} \pm 2,01$	$3,00^{c} \pm 0,40$	+

** Các chữ các khau nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*
Ghi chú: +: Mức độ sinh trưởng của chồi sau 10 tuần nuôi cấy



Hình 4. Sự hình thành phôi từ mô sẹo trên các môi trường khác nhau

Ghi chú: A: môi trường MS; B, C, D, E: môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA và 2,4-D ở các nồng độ 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l; F: các giai đoạn hình thành phôi vô tính; G: giai đoạn phát triển thành chồi trên MS bổ sung 0,5 mg/l BA và 2,0 mg/l 2,4-D

Sau 10 tuần nuôi cấy, phôi bắt đầu tăng trưởng và tạo chồi trên cùng môi trường đã được sử dụng để cảm ứng tạo phôi. Số lượng chồi thu tượng tăng dần theo sự gia tăng nồng độ của BA, đạt mức cao nhất ở nồng độ BA 2,0 mg/l (7,67 chồi/mẫu) và giảm xuống khi nồng độ BA đạt mức 2,5 mg/l (Bảng 4, Hình 5). Điều này cho thấy BA 2,0 mg/l thích hợp nhất cho sự tăng trưởng phôi. Như vậy, khi xét trên cả hai yếu tố số phôi và số chồi thu được từ phôi, BA ở nồng độ 2,0 mg/l thích hợp nhất cho sự tạo phôi; và điều này có nghĩa là môi trường MS bổng sung 0,5 mg/l 2,4-D kết hợp với 2,0 mg/l BA thích hợp nhất cho sự tạo phôi từ mô sẹo sâm cau. Kết quả này phù hợp với quan điểm cho rằng sự hiện diện của một auxin mạnh riêng rẽ hay kết hợp với cytokinin là điều cần thiết cho giai đoạn phát sinh phôi (Komamine và cs, 1997); và sự hiện diện của cytokinin có vai trò thúc đẩy các con đường truyền tín hiệu trong giai đoạn phát triển của phôi (Litwack, 2005; Osborne và cs, 2005).

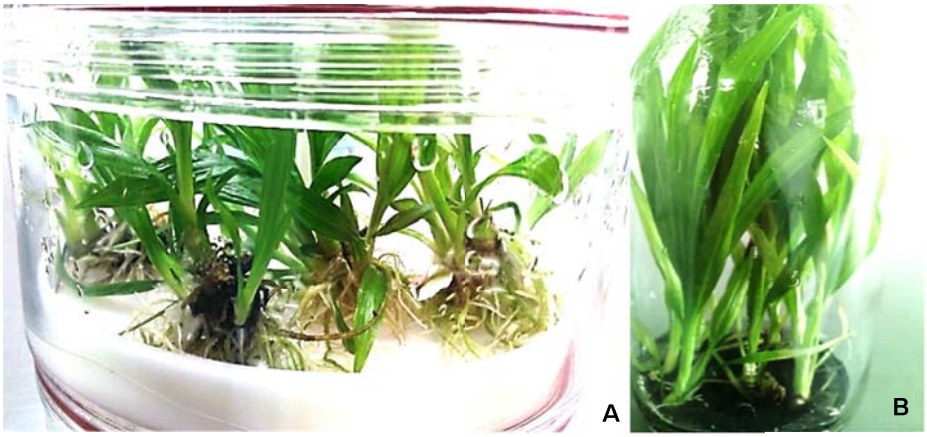
3.4. Phát triển cây con từ phôi trên hệ thống ngập chìm tạm thời

Bảng 5. Khả năng tăng trưởng thành cây con của phôi Sâm cau trên các môi trường và hệ thống nuôi cấy khác nhau sau 10 tuần nuôi cấy

Điều kiện môi trường	Nồng độ BA (mg/l)	Số cây/mẫu (10 tuần)	Số rễ/cây (10 tuần)	Mức độ sinh trưởng
Môi trường thạch agar	0,0	$1,53^{de}$±0,31	$4,87^{b}$±0,46	++
	0,5	$1,60^{de}$±0,40	$3,20^{c}$±0,20	+
	1,0	$1,07^{e}$±0,46	$2,73^{c}$±0,31	+
	2,0	$3,13^{b}$±0,42	$4,73^{b}$±0,30	+++
Hệ thống ngập chìm tạm thời	0,0	$2,87^{bc}$±0,31	$6,13^{a}$±0,31	+++
	0,5	$1,60^{de}$±0,35	$2,80^{c}$±0,20	+
	1,0	$2,13^{cd}$±0,31	$3,13^{c}$±0,12	++
	2,0	**$5,27^{a}$±0,70**	$4,80^{b}$±0,40	+++

** Các chữ cái khác nhau thể hiện cho sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05*
Ghi chú: +: mức độ sinh trưởng của chồi

Sau 8 tuần nuôi cấy, trên hầu hết các loại môi trường được thử nghiệm đều có sự tăng trưởng phôi thành cây con. Khả năng tăng trưởng phôi (thể hiện qua số cây thu được) thay đổi tùy thuộc vào nồng độ BA bổ sung vào môi trường và hệ thống nuôi cấy sử dụng. Nhìn chung, trên cả hai hệ thống nuôi cấy, khả năng tăng trưởng phôi không có nhiều sự khác biệt ở các môi trường có nồng độ BA dao động trong khoảng từ 0-1,0 mg/l. Tuy nhiên, khi nồng độ BA đạt mức 2 mg/l, sự tăng trưởng phôi tăng cao đáng kể so với các trường hợp còn lại trên cả hai hệ thống nuôi cấy. Đặc biệt, ở cùng môi trường cho tỷ lệ tăng trưởng phôi cao nhất, sự tăng trưởng phôi trong hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời (TIS) cao hơn đáng kể so với hệ thống nuôi cấy trên môi trường thạch (5,27 cây so với 3,13 cây) (Bảng 5, Hình 6). Kết quả này cho thấy phôi sâm cau được nuôi cấy trong hệ thống TIS chứa môi trường MS lỏng có bổ sung 2,0 mg/l BA có khả năng tăng trưởng thành cây con cao nhất trong trường hợp này. Kết quả này một lần nữa khẳng định hiệu quả của hệ thống này trong vấn đề giúp nâng cao khả năng tăng trưởng của mô cấy, đồng thời mở ra một hướng ứng dụng mới của hệ thống đó là sử dụng cho nhân giống cây dược liệu bằng phương pháp tạo phôi soma.



Hình 5. Cây Sâm cau tăng trưởng từ phôi được nuôi cấy trên các nền môi trường
Ghi chú: A: hệ thống TIS; B: môi trường thạch

4. KẾT LUẬN

Sự hình thành chồi Sâm cau theo con đường tái sinh chồi trực tiếp qua mô lá hay tái sinh chồi gián tiếp qua mô sẹo đều trải qua các giai đoạn phát sinh phôi thể hệ mang đặc trưng của Lớp thực vật một lá mầm: phôi cầu, phôi núi lửa và phôi kim tự tháp.

Nghiệm thức MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 2,0 mg/l BA tối ưu cho thí nghiệm tái sinh chồi từ lá *in vitro* khi cho tỷ lệ tạo chồi cao nhất.

Nghiệm thức MS + 0,5 mg/l BA + 1,0 mg/l 2,4-D tối ưu cho việc tạo mô sẹo từ lá *in vitro*, mô sẹo sinh trưởng tốt, có khả năng tích lũy sinh khối cao và dễ biệt hóa thành phôi thể hệ.

Nghiệm thức MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 2,0 mg/l BA tối ưu cho sự biệt hóa thành phôi thể hệ từ mô sẹo có khả năng sinh phôi. Nghiệm thức này cũng tối ưu cho sự phân hóa phôi thể hệ sớm đi vào quá trình kéo dài và phát triển thành các chồi hoàn chỉnh.

Trong hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời - TIS, môi trường MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 2,0 mg/l BA thích hợp cho phát triển cây Sâm cau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrahari AK, Panda SK, Meher A, and Padhan AR (2010). Screening of wound healing activity of *Curculigo orchioides*. International Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences 1(1): 91-95.
2. Bùi Trang Việt (2000) Sinh lý thực vật đại cương. Phần II: Phát triển. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
3. Chauhan NS, Rao CV, and Dixit VK (2007) Effect of *Curculigo orchioides* rhizomes on sexual behaviour of male rats. Fitoterapia 78: 530-534.
4. Đỗ Tất Lợi (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc. NXB Y Dược Hà Nội.
5. Fu DX, Lei GQ, Xiao WC, Chen JK, and Zhou TS (2004) Curculigoside C, A new phenolic glucoside from Rhizomes of Curculigo orchioides. Acta Botanica Sinica 46: 621-624.
6. Komamine A, Ito M, Kawahara R (1997) Cell culture systems as useful mechanisms of the cell cycle and differentiation using plant cell cultures. In: Advances in developemental biology and biotechnology of higher plant. Plant tissue culture: 150-159.
7. Litwack G (2005) Plant hormone, Vitamins and Hormones. Elsevier Inc.
8. Nguyễn Tiến Bân (2007) Sách đỏ Việt Nam. NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Hà Nội.
9. Venkatesh P, Mukherjee PK, Nema NK, Bandyopadhyay A, Fukui H, and Mizuguchi H (2009) Mast cell stabilization and antihistaminic potentials of *Curculigo orchioides* rhizomes. Journal of Ethnopharmacology 126: 434-436.
10. Osborne DI and McManus MT (2005) Hormones, signals and target cells in plant development. Cambridge University Press.
11. Wu Q (2005). The antixiodant phenol and phenolic glycosid is isolated from *Curculigo orchioides* Gaertn. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 53 (8): 1065 – 1067.
12. Wang ZH, Huang J (2013) Phenolic glycosides from *Curculigo orchioides* Gaertn. Fitoterapia, 86: 64 – 69.

RESEARCH ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Curculigo orchiodes* gaertn

ABSTRACT

Curculigo orchiodes Gaertn, a valuable medicinal plant, contains many secondary metabolites at high rate. The somatic embryogenesis has a great significance on the development of micropropagation system and the obtainment of *in vitro* biomass of *Curculigo orchiodes* Gaertn. In this research, the somatic embryogenesis of *Curculigo orchiodes* Gaertn was implemented from *in vitro* explant leaves under the effect of plant growth regulators. The result showed that the somatic embryo was directly inducted from leaf tissues on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA and 0.5 mg/l NAA. The somatic embryo from leaf tissue cultured in MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA by TIS (temporary imersion system), is appropriate for the development of complete plantlet. The formation of somatic embryogenesis went through some different stages such as globular embryo stage, pyramid embryo stage and volcano embryo stage before developing the complete plant. This result opens up a new prospect for the production of *Curculigo orchiodes* Gaertn seedlings, which meet the productive demand.

Keywords: *Curculigo orchiodes* Gaertn, globular embryo, plant growth regulator, pyramid embryo, somatic embryogenesis, volcano embryo.

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ ÁNH SÁNG ĐỎ-XANH DƯƠNG VÀ CƯỜNG ĐỘ CHIẾU SÁNG TỪ ĐÈN LED ĐƠN SẮC ĐẾN SỰ HÌNH THÀNH VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CHỒI VÀ RỄ LAN *Dendrobium mini*

Nguyễn Văn Vinh, Nguyễn Quỳnh Như Anh, Bùi Minh Trí
Viện Công Nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông lâm Tp. HCM
Email: buiminhtri@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng tối ưu từ đèn LED đơn sắc đối với khả năng tái sinh và gia tăng kích thước chồi và rễ trong điều kiện *in vitro* của ở lan Dendrobium mini. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, hai yếu tố bao gồm các tỷ lệ ánh LED đỏ (R)/xanh dương (B): 100R/0B; 75R/25B và 50R/50B và yếu tố cường độ chiếu sáng gồm các cường độ 200, 400, 600 và 600 lux. Đèn đơn sắc đỏ sử dụng có bước sóng 660 nm, đèn đơn sắc xanh dương sử dụng có bước sóng 460 nm. Nghiệm thức đối chứng được chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang ánh sáng trắng. Kết quả cho thấy sự gia tăng số chồi lan *Dendrobium mini* diễn ra nhanh nhất ở chế độ chiếu sáng 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương ở cường độ 800 lux trong khi kích thước chồi lớn nhất ở chế độ chiếu sáng 100% LED đỏ ở cường độ 800 lux. Chồ lan *Dedrobium mini* sẽ có số lá và hàm lượng chlorophyll cao ở điều kiện 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương với cường độ 400 lux. Sự phát triển rễ lan *Dendrobium mini* diễn ra tốt nhất khi chồi được nuôi cấy dưới chế độ chiếu sáng 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương với cường độ 400 lux.

Từ khóa: cường độ chiếu sáng, *Dendrobium mini*, đèn LED, nuôi cấy mô, tái sinh

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nuôi cấy mô thực vật đã và đang được áp dụng rộng rãi trong nhân giống cây xanh nhờ tiềm năng sản xuất số lượng lớn cây giống trong khoảng thời gian rất ngắn. Tuy nhiên, giá thành cây giống *in vitro* tương đối cao do chi phí năng lượng chiếu sáng ở các phòng nuôi cấy rất lớn (bao gồm chi phí chiếu sáng chiếm 65% và 25% để làm mát phòng nuôi cấy). So với đèn huỳnh quang, đèn LED được cải thiện nhiều tính năng như tiết kiệm năng lượng, hiệu quả và tuổi thọ cao, phát ra ánh sáng màu đơn sắc, kích thước và thể tích nhỏ (Bula và cs, 1991; Brow và cs, 1995). Với những ưu điểm vượt trội đó, hiện nay sự phát triển và ứng dụng công nghệ đèn LED trong sản xuất nông nghiệp trong đó có nhân giống *in voitro* đã được triển khai ở nhiều nước trên thế giới (Stutte, 2009). Tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng từ đèn LED là 2 yếu tố ảnh hưởng rấ nhiều đến khả năng tăng trưởng và chất lượng cây giống *in vitro*. Lan Dendrobium là một trong những nhóm giống hoa được nhiều người ưa chuộng và việc nhân được tiến hành phổ biến. Tuy nhiên quy trình nuôi cấy *in vitro* lan Dendrobium đã được xây dựng cho đến nay thường chỉ dựa trên cơ sở chiếu sáng với đèn huỳnh quang. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định được tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng tối ưu từ ánh sáng đơn sắc LED đến khả năng tái sinh chồi và rễ của lan *Dendrobium mini* nuôi cấy *in vitro*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu protocorm lan *Dendrobium mini* thí nghiệm có kích thước, và tuổi đồng nhất được sử dụng cho các bước tái sinh cây hoàn chỉnh. Mẫu được đặt dưới đèn chiếu sáng với chu kỳ 16 giờ sang/8 giờ tối. Ẩm độ của phòng nuôi cấy: 70 – 80%. Nhiệt độ trung bình ở phòng nuôi cấy được duy trì ở nhiệt độ 25 ± 2°C. Đèn LED đỏ sử dụng có bước sóng 660 nm, đèn LED xanh dương sử

dụng có bước sóng 460 nm. Các nghiệm thức chiếu sáng gồm các tỷ lệ đèn 100% đèn LED đỏ: 0% đèn LED xanh dương (R1); 75% đèn LED đỏ: 25% đèn LED xanh dương (R2) và 50% đèn LED đỏ: 50% đèn LED xanh dương (R3); Các cường độ chiếu sáng bao gồm cường độ 200 lux; 400 lux; 600 lux và 800 lux. Nghiệm thức đối chứng được chiều với đèn huỳnh quang (40 W, Rạng Đông – Việt Nam). Môi trường được chỉnh pH = 5,8 và cho vào bình nuôi cấy có dung tích là 250 mL, mỗi bình chứa 50 mL môi trường, hấp khử trùng ở 121^{o}C; 1 atm trong 20 phút.

Các thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên hai yếu tố. Ánh sáng bên ngoài và ánh sáng giữa các nghiệm thức đèn LED sẽ được ngăn cách hoàn toàn bằng những tấm màng nhựa màu đen, dày 1 mm. Hàm lượng diệp lục tố trong mẫu được xác định theo phương pháp Arnon (1949). Mỗi nghiệm thức lấy 3 mẫu lá, mỗi mẫu có khối lượng 25 mg, cắt nhỏ, cho vào ống nghiệm chứa 10 ml acetone 80%, đậy kín và đặt trong tối ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ. Sau 72 giờ, tiến hành đo mật độ quang của các mẫu trong ống nghiệm ở bước sóng 645 nm (OD_{645}) và 663 nm (OD_{663}) bằng máy đo quang phổ. Số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED ở các tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đến hệ số nhân và kích thước chồi lan *Dendrobium mini in vitro*

Bảng 1 Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến hệ số nhân chồi (lần) lan Dendrobium *in vitro* sau cấy 4 tuần

	Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
		200	400	600	800	
Hệ số nhân chồi	100Đ	1,3^{b}	1,3^{b}	1,3^{b}	1,3^{b}	1,3
	50Đ: 50X	1,3^{b}	1,2^{b}	1,4^{b}	1,3^{b}	1,3
	75Đ: 25X	1,3^{b}	1,3^{b}	1,4^{b}	1,8^{a}	1,4
	Trung bình I	1,3^{AB}	1,2^{B}	1,3^{AB}	1,5^{A}	
	F_R = 3,0^{ns}	F_I = 4,5**	F_{RI} = 2,8*	CV = 10,2%		
Chiều cao chồi	100Đ	4,2^{a}	4,0^{ab}	3,6^{ab}	4,2^{a}	4,0^{A}
	50Đ: 50X	3,5^{ab}	3,5^{ab}	3,4^{ab}	3,3^{ab}	3,4^{B}
	75Đ: 25X	3,1^{b}	2,2^{c}	3,6^{ab}	3,4^{ab}	3,1^{B}
	Trung bình I	3,6	3,2	3,5	3,6	
	F_R = 20,7**	F_I = 2,2^{ns}	F_{RI} = 3,8**	CV = 10,2%		

Những chữ cái khác nhau (a,b,c,…) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất P < 0,01 (**), ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả Bảng 1 thể hiện sự khác biệt về hệ số nhân chồi lan Dendrobium *in vitro* khi chồi được nuôi dưới các hệ thống ánh sáng đèn LED khác nhau. Dưới các tỷ lệ ánh sáng đèn LED đơn sắc khác nhau, sự khác biệt về hệ số nhân chồi lan Dendrobium giữa các tỷ lệ ánh sáng không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, khi chồi được chiếu sáng 800 lux thì chồi đạt hệ số nhân chồi cao nhất và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các cường độ ánh sáng 200 lux, 400 lux, 600 lux. Sự kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng cho chồi đạt hệ số nhân cao nhất 1,8 lần khi chồi nuôi dưới 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 800 lux, trong đó hệ số nhân chồi thấp nhất 1,2 lần khi chồi được chiếu sáng (50% LED đỏ + 50% LED xanh dương, 400 lux) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED khác. Nhìn chung, chồi lan Dendrobium sau khi cắt hết rễ được nuôi cấy dưới hệ thống ánh sáng đèn LED với tỷ lệ ánh sáng

đỏ/xanh dương ở các cường độ chiếu sáng khác nhau vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường, nhưng khi giảm tỷ lệ ánh sáng LED xanh dương chồi lan cho nhiều chồi phát sinh và đạt giá trị cao nhất ở điều kiện ánh sáng (75Đ: 25X, 800 lux).

Hình 1. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến hình thái chồi lan sau cấy 4 tuần
(Đ/C: đối chứng, R1I4: 100Đ – 800 lux, R2I2: 50Đ: 50X – 400 lux, R3I2: 75Đ: 25X – 400 lux)

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến số lá (lá/chồi) và chiều dài lá của lan Dendrobium *in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy

	Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
		200	400	600	800	
Số lá	100Đ	$2,7^{b}$	$2,5^{b}$	$2,6^{b}$	$2,5^{b}$	$2,6^{B}$
	50Đ: 50X	$2,7^{b}$	$3,5^{a}$	$2,7^{b}$	$2,8^{ab}$	$2,9^{A}$
	75Đ: 25X	$3,0^{ab}$	$2,6^{b}$	$3,0^{ab}$	$3,0^{ab}$	$2,8^{AB}$
	Trung bình I	2,8	2,9	2,8	2,8	
	F_R = 5,7**	$F_I = 0,2^{ns}$	F_{RI} = 3,5**	CV = 10,6 %		
Chiều dài lá	100Đ	$1,4^{c}$	$1,5^{bc}$	$1,5^{bc}$	$1,5^{bc}$	$1,5^{B}$
	50Đ: 50X	$1,6^{bc}$	$1,6^{bc}$	$1,5^{bc}$	$1,5^{c}$	$1,5^{B}$
	75Đ: 25X	$1,6^{bc}$	$1,6^{bc}$	$1,7^{ab}$	$1,9^{a}$	$1,7^{A}$
	Trung bình I	1,5	1,6	1,6	1,6	
	F_R = 7,7**	$F_I = 0,5^{ns}$	F_{RI} = 2,6*	CV = 7,7 %		
Hàm lượng Chlorophyll	100	$1,1^{b}$	$1,2^{b}$	$1,2^{b}$	$1,3^{ab}$	$1,2^{B}$
	50Đ: 50X	$1,2^{b}$	$1,4^{ab}$	$1,5^{a}$	$1,2^{b}$	$1,3^{A}$
	75Đ: 25X	$1,3^{ab}$	$1,3^{ab}$	$1,2^{b}$	$1,4^{ab}$	$1,3^{A}$
	Trung bình CĐCS	1,2	1,3	1,3	1,3	
		F_R = 6,8**	$F_I = 1,8^{ns}$	F_{RI} = 4,6**	CV = 7,7 %	

Số liệu hàm lượng diệp lục tố được chuyển đổi theo công thức (√x) trước khi xử lý thống kê. Những chữ cái khác nhau (a,b,c,...) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất $P < 0,01$ (**), ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả trình thể hiện qua Bảng 2 và Hình 1 cho thấy dưới ánh sáng đỏ (100%) chồi lan đạt chiều cao chồi cao nhất và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với hai tỷ lệ ánh sáng (50Đ: 50X, 75Đ: 25X). Khi được chiếu sáng 800 lux chồi lan đạt chiều cao chồi cao nhất, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê so với các cường độ ánh sáng 200 lux, 400 lux, 600 lux. Chồi lan sinh trưởng tốt và đạt chiều cao chồi cao nhất 4,2 cm khi chồi được nuôi dưới 100% ánh sáng đỏ ở cường độ ánh sáng 800 lux và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn

LED khác. Trong đó, chiều cao chồi thấp nhất 2,2 cm khi chồi nuôi dưới ánh sáng hỗn hợp (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 400 lux).

Như vậy, ánh sáng đỏ có tác dụng kéo dài đốt thân chồi, kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Hoenecke và cs (1999).

3.2. Ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED ở các tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đến sự phát tiển lá và hàm lượng chlorophyll trong lá lan *Dendrobium mini in vitro*

Quá trình theo dõi ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đến số lá của chồi lan Dendrobium *in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện rõ ở Bảng 2. Sau 4 tuần nuôi cấy, chồi lan đạt số lá nhiều nhất ở 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương (2,9 lá/chồi) và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với chồi nuôi dưới ánh sáng đỏ (100%), ánh sáng hỗn hợp (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương). Dưới các cường độ chiếu sáng khác nhau, sự khác biệt về số lá trên chồi không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, quá trình kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau cho kết quả chồi lan sau khi cắt hết rễ được nuôi dưới hệ thống ánh sáng 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương với cường độ chiếu sáng 400 lux đạt số lá trên chồi cao nhất 3,5 lá/chồi, thấp nhất 2,5 lá/chồi ở chế độ chiếu sáng (100Đ, 400 lux) và sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy, ở cùng cường độ ánh sáng 400 lux, khi giảm tỷ lệ ánh sáng đỏ thì chồi lan cho số lá cao hơn và cao nhất ở tỷ lệ 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương. Như vậy, chồi lan nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang và ánh sáng đèn LED (50Đ: 50X, 400 lux) cho số lá trên chồi tương đương nhau.

Kết quả trình bày ở Bảng 2 cho thấy sự khác biệt về chiều dài lá của lan Dendrobium *in vitro* khi nuôi dưới hệ thống ánh sáng đèn LED khác nhau. Dưới 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương chồi lan cho chiều dài lá dài nhất (1,7 cm) và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với 2 tỷ lệ ánh sáng (100% LED đỏ, 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương). Ở các cường độ chiếu sáng khác nhau, sự khác biệt về chiều dài lá lan không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, quá trình kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ ánh sáng cho kết quả chồi nuôi ở tỷ lệ 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương dưới cường độ chiếu sáng 800 lux cho lá có chiều dài dài nhất là 1,9 cm, ngắn nhất ở (100Đ, 200 lux) (1,4 cm), (50Đ: 50X, 800lux) (1,5 cm) và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở điều kiện ánh sáng (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 800 lux) lá của chồi lan Dendrobium *in vitro* được kéo dài tốt nhất.

Kết quả của nghiên cứu này (Bảng 2) cũng đã thể hiện rõ ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến hàm lượng diệp lục tố (mg/g lá) của chồi lan Dendrobium *in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy. Dưới ánh sáng hỗn hợp (50Đ: 50X) chồi lan đạt hàm lượng diệp lục tố cao nhất 1,3 mg/g lá và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chồi nuôi dưới tỷ lệ ánh sáng (100Đ, 75Đ: 25X), trong đó ánh sáng đỏ (100%) cho hàm lượng diệp lục tố thấp nhất 1,2 mg/g lá. Bên cạnh đó, khi được chiếu sáng 600 lux chồi lan đạt hàm lượng diệp lục tố cao nhất nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê so với các cường độ ánh sáng 200 lux, 400 lux, 800 lux.

Các chế độ kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng từ đèn LED đơn sắc cho hàm lượng chlorophyll cao nhất khi chồi được nuôi cấy dưới 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 600 lux (1,5 mg/g lá), hàm lượng chlorophyll thấp nhất khi chồi được chiếu sáng 200 lux dưới 100% LED đỏ (1,1 mg/g lá) và sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cho thấy ánh sáng xanh dương được cho là có khả năng thúc đẩy quá trình tổng hợp chất diệp lục và phát triển khí khổng (Poudel và cs, 2008).

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến số rễ (rễ/chồi) và chiều dài rễ của lan Dendrobium *in vitro* sau cấy 4 tuần

	Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
		200	400	600	800	
Số rễ	100Đ	$2,9^{a}$	$2,4^{ab}$	$2,3^{ab}$	$2,3^{ab}$	2,4
	50Đ: 50X	$2,3^{ab}$	$2,7^{a}$	$2,7^{a}$	$2,4^{ab}$	2,5
	75Đ: 25X	$2,6^{a}$	$1,9^{b}$	$2,8^{a}$	$2,7^{a}$	2,5
	Trung bình I	2,6	2,3	2,6	2,5	
	$F_R = 0,2^{ns}$	$F_I = 1,4^{ns}$	$F_{RI} = 2,8^{*}$	CV = 13,3%		
	Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
		200	400	600	800	
Chiều dài rễ	100Đ	$1,0^{abc}$	$0,9^{bcd}$	$0,8^{d}$	$0,8^{cd}$	$0,9^{B}$
	50Đ: 50X	$1,1^{ab}$	$1,1^{ab}$	$1,1^{ab}$	$1,0^{abcd}$	$1,1^{A}$
	75Đ: 25X	$1,1^{ab}$	$1,0^{abcd}$	$1,2^{a}$	$1,2^{ab}$	$1,1^{A}$
	Trung bình I	1,1	1,0	1,0	1,0	
	$F_R = 22,7^{**}$	$F_I = 1,5^{ns}$	$F_{RI} = 3,3^{**}$	CV = 8,9 %		

Số liệu chiều dài rễ được chuyển đổi theo công thức ($\sqrt{x}$) trong quá trình thống kê. Những chữ cái khác nhau (a,b,c,…) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất $P < 0,01$ (**), ns: sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Chồi lan khi được chiếu sáng 600 lux dưới 50% ánh sáng LED đỏ và 50% ánh sáng LED xanh dương đạt hàm lượng chlorophyll cao hơn chồi nuôi dưới hệ thống ánh sáng LED khác và ánh sáng đèn huỳnh quang. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Haln và cs (2000), ở đó tốc độ quang hợp của loài *Rehmannia glutinous* nuôi cấy *in vitro* là rất cao dưới hệ thống đèn LED hỗn hợp (50% LED đỏ và 50% LED xanh dương). Theo Matters và Beale (1995), ánh sáng xanh dương đóng vai trò điều hòa sự biểu hiện gene tham gia quá trình tổng hợp diệp lục tố ở cây xanh. Vì vậy, ở các nghiệm thức có ánh sáng xanh dương kết hợp với ánh sáng đỏ (50% LED đỏ + 50% ánh sáng xanh dương và 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương) đều có khả năng tổng hợp hàm lượng diệp lục tố trong chồi lan cao hơn so với các nghiệm thức sử dụng 100% ánh sáng đỏ.

3.3. Ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED ở các tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau đến sự phát triển rễ từ chồi lan *Dendrobium mini*

Chồi lan sau khi cắt hết rễ được nuôi dưới ánh sáng đèn LED ở các tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng khác nhau vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường, nhưng dưới 100% LED đỏ ở cường độ chiếu sáng 200 lux chồi lan đạt số rễ nhiều nhất (2,9 rễ/chồi) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức LED còn lại. Tuy nhiên, khi xét riêng từng yếu tố (yếu tố tỷ lệ ánh sáng, yếu tố cường độ chiếu sáng) sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, ánh sáng LED đỏ ở cường độ chiếu sáng thích hợp đã làm tăng số lượng rễ hình thành từ mẫu chồi trong vi nhân giống lan Dendrobium và kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trên cây nho của Poudel và cs (2008).

Trong nghiên cứu này, những số liệu thu được tuần thứ 4 thể hiện sự ảnh hưởng của các tỷ lệ ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến số rễ được hình thành chồi lan được trình bày ở Bảng 4. Về chiều dài rễ, chồi lan nuôi dưới 75% LED đỏ + 25% LED ở cường độ chiếu sáng 600 lux cho chiều dài rễ dài nhất 1,2 cm và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED còn lại (Bảng 3). Ở các cường độ chiếu sáng khác nhau sự khác biệt về

chiều dài rễ không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, ở các tỷ lệ ánh sáng khác nhau sự khác biệt về chiều dài rễ rất có ý nghĩa thống kê. Dưới 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương chồi lan cho rễ có chiều dài dài nhất 1,1 cm và ngắn nhất khi chồi nuôi dưới 100% ánh sáng LED đỏ (0,9 cm). Kết quả này trái ngược với kết quả của Ryu và cs (2012) khi nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED lên quá trình nảy mầm, sinh trưởng và hàm lượng Anthocyanin trên cây bồ công anh (*Taraxacum officinale*), tác giả cho rằng chiều dài rễ của cây nuôi dưới 100% ánh sáng LED đỏ dài hơn so với rễ của cây nuôi dưới các chế độ chiếu sáng (100% LED xanh dương, 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương và ánh sáng đèn huỳnh quang).

Về hình thái rễ, chồi lan nuôi dưới 100% ánh sáng LED đỏ và 75% ánh sáng LED đỏ + 25% ánh sáng LED xanh dương cho bộ rễ xanh nhạt và ốm. Ở chế độ chiếu sáng 50% ánh sáng LED đỏ + 50% ánh sáng LED xanh dương chồi lan cho rễ mập, khỏe, ngoài rễ được phủ một lớp sáp trắng (Hình 2).

Hình 2. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến hình thái rễ lan *Dendrobium mini in vitro* sau 4 tuần nuôi cấy.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ các kết quả đã thu nhận được qua các thí nghiệm cho thấy sự gia tăng số chồi lan *Dendrobium mini* diễn ra nhanh nhất ở chế độ chiếu sáng 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương ở cường độ 800 lux trong khi kích thước chồi lớn nhất ở chế độ chiếu sáng 100% LED đỏ ở cường độ 800 lux. Chồi lan *Dedrobium mini* sẽ có số lá và hàm lượng chlorophyll cao ở điều kiện 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương với cường độ 400 lux. Sự phát triển rễ lan *Dendrobium mini* diễn ra tốt nhất khi chồi được nuôi cấy dưới chế độ chiếu sáng 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương với cường độ 400 lux.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brown C.S., Schuerger A.C., Sager J.C., 1995. Growth and photomorphogenesis of pepper plants under red lightemitting diodes with supplemental blue or far - red lighting. *J Am Soc Hortic Sci* 120: 808 – 813.
2. Dương Thị Mỹ Thu, 2012. *Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED và các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh cây thanh hao (Artemisia annua L.) in vitro.* Luận văn thạc sĩ Khoa học cây trồng, đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
3. Đinh Cát Điềm, 2014. *Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc từ đèn LED (Light Emitting Diode) đến quá trình phát sinh hình thái và khả năng tái sinh của một số giống lúa nuôi cấy in vitro.* Luận văn thạc sĩ Sinh học thực nghiệm, đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.
4. Nhut D.T., Takamura T., Watanabe H., Okamoto K., Tanaka M., 2003. Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 73, 43 – 52.

5. Peng Z., Fei W., Fo – S. F., Wan – J. W., 2008. Protocorm - like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of Dendrobium candidum Wall ex Lindl. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 44:178 – 185.

6. Phạm Thị Lệ Huyền, 2015. *Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung tinh bột sắn dây đến sinh trưởng, phát triển và đặc điểm kiểu hình của lan Dendrobium in vitro.* Khóa luận tốt nghiệp Công nghệ sinh học, đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

7. Trần Nguyên Chất, 2014. Nghiên cứu tác động của ánh sáng đèn LED lên khả năng tái sinh cây gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) *in vitro.* Luận văn thạc sĩ Công nghệ sinh học, đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.

8. Xu, Z.G., Cui, J., & Di, X.R., 2009. Effects of different spectral energy distribution on tissue culture of Oncidium in vitro. *Int J Autom Comput*, 31, 45 – 50.

FLUENCE OF SPECTRAL RATIO AND LIGHT INTENSITY FROM THE MONOCHROMATIC LEDS TO SHOOT AND ROOT REGENATION OF *Dendrobium mini*

ABSTRACTS

The purpose of this study was to determine ratio and optimum light intensity from the monochromatic LEDs during germination and protocorm development of *Dendrobium mini*. Experiments were arranged in the two - factor completely randomized design. The *in vitro* samples were illuminated with red monochromatic LED (wavelength 660 nm), blue monochromatic LED (wavelength 460 nm) at ratios of 100%Red LED/0% Blue LED; 75%Red LED/25% Blue LED or 50%Red LED/50% Blue LED. Variation of light intensity ranged from 200, 400, 600 and 800 luxes. The control was illuminated with florescence lamps. The results indicated that shoot multification rate was highest at lighting regime of 75% red LED combined with 25% blue LED at intensity of 800 luxes. While, the ratio of 100% red LED at 800 luxes was the best regime for leaf size development. Leaf number and leaf chlorophyll content were highest when the plants were illuminated under lighting regime of 50% red LED combined with 50% blue LED at 400 luxes. Root number and root lenghth were also highest when the plants were illuminated under lighting regime of 50% red LED combined with 50% blue LED at 400 luxes.

Key words: *Dendrobium mini*, light emitting diodes, light intensity, regeneration, tissue culture.

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ ÁNH SÁNG ĐỎ - XANH DƯƠNG VÀ CƯỜNG ĐỘ CHIẾU SÁNG TỪ ĐÈN LED ĐƠN SẮC ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN HẠT LAN *Dendrobium mini*

Nguyễn Văn Vinh[1], Bùi văn Lệ [2], Bùi Minh Trí[3]
[1]Trung tâm Khuyến Nông Tp. Hồ Chí Minh
[2]Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh
[3]Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường - Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh
Email: buiminhtri@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định được tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng tối ưu từ đèn LED đơn sắc đối với quá trình nảy mầm *in vitro* và phát triển protocorm ở lan *Dendrobium mini*. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, hai yếu tố bao gồm các tỷ lệ ánh LED đỏ (R)/xanh dương (B): 100R/0B; 75R/25B và 50R/50B và yếu tố cường độ chiếu sáng gồm các cường độ 200, 400, 600 và 800 lux. Đèn đơn sắc đỏ sử dụng có bước sóng 660 nm, đèn đơn sắc xanh dương sử dụng có bước sóng 460 nm. Nghiệm thức đối chứng được chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang ánh sáng trắng. Kết quả cho thấy tỷ lệ 100% ánh sáng LED đỏ ở cường độ chiếu sáng 400 lux cho hạt lan nảy mầm tốt và là điều kiện ánh sáng để protocorm đạt hệ số nhân tốt nhất. Tỷ lệ 100% ánh sáng LED đỏ ở cường độ chiếu sáng 600 lux cho mẫu protocorm hình thành mô sẹo tốt nhất. Tỷ lệ 100% ánh sáng LED đỏ ở cường độ chiếu sáng 800 lux thích hợp để kéo dài đốt thân để chồi lan đạt chiều cao tốt nhất. Tỷ lệ 75% ánh sáng LED đỏ kết hợp với 25% ánh sáng LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 800 lux thích hợp cho quá trình hình thành chồi và tăng trưởng kích thước lá.

Từ khóa: cường độ chiếu sáng, *Dendrobium mini,* đèn LED, nuôi cấy mô, protocorm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nuôi cấy mô thực vật hiện đang được áp dụng rộng rãi trong hệ thống nông nghiệp nhờ sản xuất số lượng lớn cây giống trong khoảng thời gian rất ngắn. Tuy nhiên, giá thành cây giống *in vitro* tương đối cao do chi phí năng lượng chiếu sáng ở các phòng nuôi cấy rất lớn (bao gồm chi phí chiếu sáng chiếm 65% và 25% để làm mát phòng nuôi cấy). So với đèn huỳnh quang, đèn LED được cải thiện nhiều tính năng như tiết kiệm năng lượng, hiệu quả và tuổi thọ cao, phát ra ánh sáng màu đơn sắc, kích thước và thể tích nhỏ (Bula và cs, 1991). Với những ưu điểm vượt trội đó, hiện nay sự phát triển và ứng dụng công nghệ đèn LED trong sản xuất nông nghiệp đã được triển khai ở nhiều nước trên thế giới (Stutte, 2009). Tuy nhiên, tỷ lệ các loại quang phổ và cường độ chiếu sáng từ đèn LED là 2 yếu tố ảnh hưởng rất nhiều đến chất lượng cây giống *in vitro*. Lan *Dendrobium mini* là một trong những nhóm giống hoa được nhiều người ưa chuộng và việc nhân, lai giống được tiến hành phổ biến. Tuy nhiên quy trình nuôi cấy *invitro* lan *Dendrobium mini* đã được xây dựng cho đến nay thường chỉ dựa trên cơ sở chiếu sáng với đèn huỳnh quang. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định được tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng tối ưu từ ánh sáng đơn sắc LED đến giai đoạn phát triển hạt, sự hình thành và phát triển protocorm lan *Dendrobium mini* nuôi cấy *in vitro*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Quả lan thí nghiệm thuộc giống lan *Dendrobium mini* được thu sau 2,5 tháng kể từ khi đậu quả. Quả lan sau đó được rửa bằng nước cất và khử trùng trong dung dịch Javel và cồn 70^{o}. Sau đó

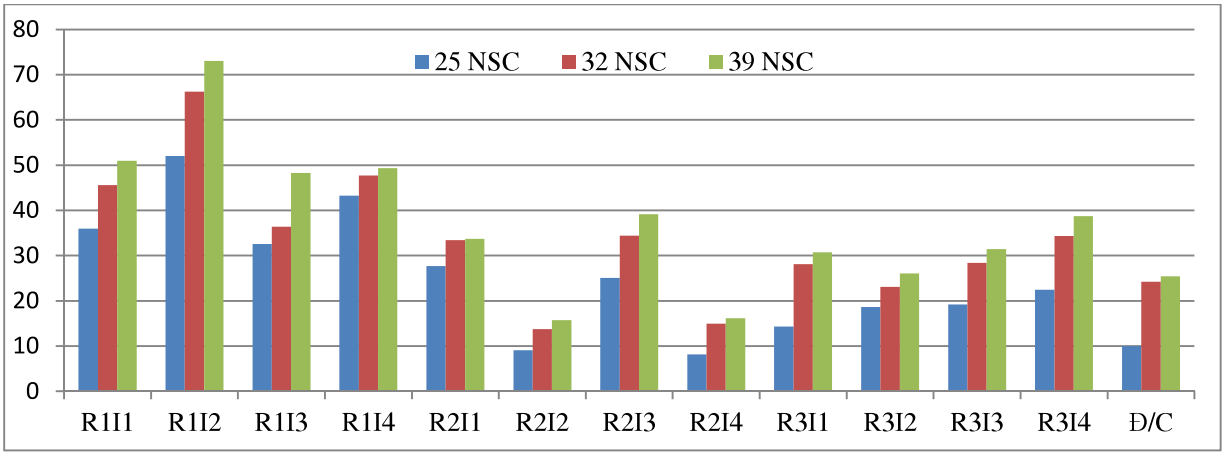
quả lan được cắt hai đầu và dùng dao xẻ dọc trái lan tách làm hai. Hạt lan được lấy ra khỏi qua và rải đều trên bề mặt môi trường MS bổ sung BA nồng độ 1 mg /L và NAA nồng độ 0,2 mg/L. Hạt sau gieo được đặt dưới đèn chiếu sáng với chu kỳ 16 giờ sáng/8 giờ tối. Ẩm độ của phòng nuôi cấy: 70 – 80%. Nhiệt độ trung bình ở không gian bên dưới hệ thống chiếu sáng: 25 ± 2°C. Đèn LED đỏ (bước sóng 660 nm), đèn LED xanh dương (bước sóng 460 nm) được sử dụng trong thí nghiệm. Các nghiệm thức chiếu sáng gồm các tỷ lệ đèn 100% đèn: LED đỏ/0% đèn LED xanh dương (R1); 75% đèn LED đỏ/25% đèn LED xanh dương (R2) và 50% đèn LED đỏ/50% đèn LED xanh dương (R3); các cường độ chiếu sáng bao gồm cường độ 200 lux; 400 lux; 600 lux và 800 lux. Nghiệm thức đối chứng được chiều với đèn huỳnh quang (40 W, Rạng Đông – Việt Nam). Môi trường được chỉnh pH = 5,8 và cho vào bình nuôi cấy có dung tích là 250 mL, mỗi bình chứa 50 mL môi trường, hấp khử trùng ở 121^{o}C; 1 atm trong 20 phút.

Các thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên hai yếu tố với ba lần lặp lại. Ánh sáng bên ngoài và ánh sáng giữa các nghiệm thức đèn LED sẽ được ngăn cách hoàn toàn bằng những tấm màng nhựa màu đen, dày 1 mm. Số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng từ đèn LED đơn sắc lên sự phát triển của hạt lan *Dendrobium mini*

Theo kết quả trình bày ở Hình 1 cho thấy ti lệ giữa ánh sáng đỏ và xanh dương và cường độ chiếu sáng đã ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm của hạt lan *Dendrobium mini in vitro*. Sau 25 ngày cấy, hạt lan đạt tỷ lệ nảy mầm trên 30% khi hạt được chiếu sáng 100% ánh sáng đỏ và tỷ lệ nảy mầm đạt cao nhất trên 50% khi hạt được nuôi cấy dưới 100% ánh sáng đỏ ở cường độ ánh sáng 400 lux. Tiếp tục theo dõi quá trình phát triển của hạt lan sau 32 và 39 ngày nuôi cấy, dưới tỷ lệ 100% ánh sáng đỏ ở các cường độ chiếu sáng 200 lux và 400 lux, hạt lan đạt tỷ lệ nảy mầm cao trên 50% so với các chế độ chiếu sáng đèn LED khác. Trong đó, sự kết hợp của 50% ánh sáng đỏ và 50% ánh sáng xanh dương ở cường độ chiếu sáng 400 lux, 800 lux hạt lan đạt tỷ lệ nảy mầm thấp nhất dưới 20%.



Hình 1. Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc đến tỷ lệ nảy mầm (%) của hạt lan *Dendrobium mini in vitro* ghi nhận sau 25, 32 và 39 ngày nuôi cấy (NSC)

Kết quả phân tích thống kê sau 39 ngày nuôi cấy cho thấy hạt lan khi được nuôi cấy dưới 100% ánh sáng đỏ cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ 50% ánh sáng đỏ + 50% ánh sáng xanh dương và 75% ánh sáng đỏ + 25% ánh sáng xanh dương. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả Ryu và cs (2012) khi nghiên cứu trên loài *Taraxacum officinale*, tác

giả đã ghi nhận đèn LED đỏ cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn đèn LED xanh dương cũng như sự phối hợp giữa LED xanh dương và LED đỏ. Cả bốn chế độ chiếu sáng 200 lux, 400 lux, 600 lux, 800 lux đều cho kết quả hạt nảy mầm tốt nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, khi xét về mối tương tác giữa yếu tố tỷ lệ ánh sáng và yếu tố cường độ chiếu sáng thì sự khác biệt về tỷ lệ nảy mầm giữa các nghiệm thức đèn LED có ý nghĩa thống kê. Dưới cùng cường độ chiếu sáng 400 lux, hạt lan đạt tỷ lệ nảy mầm cao nhất 63,70% ở tỷ lệ 100% ánh sáng đỏ, thấp nhất 20,69% ở tỷ lệ 50% ánh sáng đỏ kết hợp với 50% ánh sáng xanh dương. Nhìn chung, xu hướng giảm ánh sáng đỏ và thay thế bằng ánh sáng xanh dương làm tỷ lệ nảy mầm của hạt lan Dendrobium *in vitro* giảm xuống. Thực hiện kiểm tra trắc nghiệm T – test giữa nghiệm thức ánh sáng đèn huỳnh quang (đối chứng) và nghiệm thức ánh sáng đèn LED ở tỷ lệ 100% ánh sáng đỏ và cường độ chiếu sáng 400 lux cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ nảy mầm có ý nghĩa thống kê. Trong đó tỷ lệ nảy mầm của nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 30,27% thấp hơn nghiệm thức nuôi dưới ánh sáng đèn LED với tỷ lệ 100% ánh sáng đỏ và cường độ chiếu sáng 400 lux đạt 63,70%.

Từ kết quả thí nghiệm trên kết hợp với một số nhận định của các tác giả khác cho thấy quá trình nảy mầm của hạt lan Dendrobium không những phụ thuộc vào môi trường nuôi cấy (Phạm Thị Lệ Huyền, 2015)[8] mà còn phụ thuộc đặc tính quang phổ đèn chiếu sáng. Đối với hạt lan Dendrobium, ánh sáng đỏ giữ vai trò quan trọng đối với tiến trình nảy mầm của hạt. Thực tế cho thấy cùng một trái lan được nuôi cấy trên cùng môi trường ở các tỷ lệ ánh sáng và cường độ chiếu sáng khác nhau đã cho tỷ lệ nảy mầm khác nhau. Hạt lan khi được chiếu sáng 100% ánh sáng đỏ ở cường độ ánh sáng 400 lux phát triển tốt, cho tỷ lệ nảy mầm cao so với hạt nuôi dưới các hệ thống chiếu sáng đèn LED khác và cao hơn hạt nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang. Điều này có thể do sự nhạy cảm của hạt với ánh sáng được quyết định bởi nhóm protein nhạy cảm với ánh sáng đỏ (Phytochrome) có trong vỏ hạt. Phytochrome cảm nhận ánh sáng vùng đỏ, đỏ xa và truyền tín hiệu xúc tiến quá trình nảy mầm của hạt. Đối với lan Dendrobium, Phytochrome cảm nhận ánh sáng vùng đỏ truyền tín hiệu xúc tiến sự nảy mầm của hạt lan, giúp hạt lan nuôi cấy dưới chế độ 100% ánh sáng LED đỏ đạt tỷ lệ nảy mầm cao hơn so với hạt nuôi dưới các hệ thống đèn LED khác. Như vậy, ánh sáng LED đỏ giữ vai trò quan trọng trong quá trình nảy mầm của hạt lan Dendrobium và ánh sáng xanh dương kìm hãm sự nảy mầm của hạt lan.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng từ đèn LED đơn sắc đến sự hình thành và phát triển protocorm lan *Dendrobium mini*

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc và cường độ chiếu sáng đến hệ số nhân protocorm (lần) của lan *Dendrobium mini* sau 8 tuần nuôi cấy.

Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
	200	400	600	800	
100Đ	$1,8^{cd}$	$2,4^{a}$	$1,8^{bcd}$	$1,8^{cd}$	$1,9^{AB}$
50Đ:50X	$2,2^{ab}$	$1,8^{bcd}$	$1,9^{bcd}$	$1,6^{d}$	$1,8^{B}$
75Đ:25X	$2,0^{abcd}$	$2,1^{abc}$	$2,2^{ab}$	$1,9^{bcd}$	$2,0^{A}$
Trung bình I	$2,0^{A}$	$2,1^{A}$	$2,0^{A}$	$1,8^{B}$	
	$F_R = 3,3^{*}$	$F_I = 8,4^{**}$	$F_{RI} = 6,4^{**}$	CV = 7,9 %	

Số liệu hệ số nhân protocorm (lần) được chuyển đổi theo công thức (√x) trước khi xử lý thống kê, Những chữ cái khác nhau (a,b,c,…) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất P < 0,01 (**), P < 0,05 (*).

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến đặc điểm hình thái của protocorm lan *Dendrobium mini*

Tỷ lệ ánh sáng (%)	CĐCS (lux)	Đặc điểm hình thái
100Đ	200	Protocorm dài (2 – 3 mm), xanh nhạt
100Đ	400	Protocorm dài (2 – 4 mm), xanh nhạt
100Đ	600	Protocorm dài (2 – 3 mm), xanh nhạt
100Đ	800	Protocorm dài (2 mm), xanh nhạt
50Đ: 50X	200	Protocorm hơi tròn (3 - 4 mm), xanh nhạt
50Đ: 50X	400	Protocorm tròn (2 - 3 mm), xanh nhạt
50Đ: 50X	600	Protocorm tròn (2 - 3 mm), xanh nhạt
50Đ: 50X	800	Protocorm tròn (2 - 3 mm), xanh nhạt
75Đ: 25X	200	Protocorm hơi tròn (2 – 3 mm), xanh nhạt
75Đ: 25X	400	Protocorm hơi tròn (2 – 3 mm), xanh nhạt
75Đ: 25X	600	Protocorm tròn (2 – 3 mm), xanh hơi đậm
75Đ: 25X	800	Protocorm hơi tròn (2 – 3 mm), xanh nhạt
100HQ	2000	Protocorm tròn (2 – 3 mm), xanh nhạt

Kết quả trình bày ở Bảng 1 và 2 cho thấy dưới ánh sáng đèn LED protocorm không những phát triển tốt mà còn đạt hệ số nhân cao khi hạt được chiếu sáng dưới 100% ánh sáng LED đỏ và 75% ánh sáng LED đỏ + 25% ánh sáng LED xanh dương. Kết quả này trái ngược với nhận định của Xu và cs (2009), tác giả đã khẳng định dưới ánh sáng LED xanh dương tỷ lệ mẫu của lan Oncidium *in vitro* hình thành PLBs cao nhất và thấp nhất ở ánh sáng LED đỏ. Khi hạt được chiếu sáng 400 lux, protocorm đạt hệ số nhân cao và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với ba cường độ chiếu sáng còn lại. Sự phối hợp giữa tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng cho kết quả protocorm đạt hệ số nhân cao 2,4 lần ở tỷ lệ 100% ánh sáng LED đỏ dưới cường độ chiếu sáng 400 lux và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED khác. Trong đó, protocorm có hệ số nhân thấp nhất (1,6 lần) ở tỷ lệ 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương, cường độ chiếu sáng 800 lux.

Thực hiện kiểm tra trắc nghiệm T – test giữa nghiệm thức đối chứng đèn huỳnh quang và nghiệm thức đèn LED (100% đỏ, 400 lux), hệ số nhân protocorm ở nghiệm thức đối chứng đạt giá trị thấp 1,7 lần so với nghiệm thức đèn LED (100% LED đỏ, 400 lux) (2,4 lần) và khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này cũng tương tự với kết quả của Habiba và cs (2014) khi khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng khác nhau lên quá trình sinh trưởng và phát triển của PLBs (protocorm like body) ở loài lan *Dendrobium kingianum in vitro*. Tác giả này nhận định rằng ánh sáng trắng của đèn huỳnh quang, sự kết hợp ánh sáng LED đỏ và LED xanh dương (50Đ: 50X) cho kết quả PLBs được hình thành đều thấp hơn so với LED xanh dương (100% LED xanh dương) hoặc LED đỏ (100% LED đỏ).

Dưới tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng khác nhau, protocorm được hình thành và phát triển khác nhau. Ở ánh sáng LED đỏ (100% LED đỏ) và sự kết hợp giữa ánh sáng LED đỏ và ánh sáng LED xanh dương (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương) protocorm được hình thành và phát triển tốt nhất. Tuy nhiên, khi được chiếu sáng dưới ánh sáng hỗn hợp LED đỏ và LED xanh dương, protocorm tròn và xanh hơn so với protocorm nuôi dưới 100% LED đỏ. Về hình thái, nghiệm thức đèn LED (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 600 lux) và nghiệm thức đèn huỳnh quang đều cho protocorm tròn (2 – 3 mm). Tuy nhiên, dưới ánh sáng đèn huỳnh quang, protocorm có

màu xanh nhạt hơn so với protocorm được chiếu sáng đèn LED (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 600 lux). (Bảng 2). Hạt lan khi phát triển thành protocorm sau đó bắt đầu hình thành chồi, sự kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng LED đỏ/xanh dương với cường độ chiếu sáng thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tạo chồi từ protocorm lan Dendrobium *in vitro* sau 8 tuần nuôi cấy (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng đến sự phát triển chồi lan *Dendrobium mini*

	Tỷ lệ ánh sáng (%) (R)	Cường độ chiếu sáng (lux) (I)				Trung bình R
		200	400	600	800	
Tỷ lệ tạo chồi	100Đ	$33,0^{a}$	$15,8^{c}$	$18,1^{c}$	$17,1^{c}$	$21,0^{B}$
	50Đ: 50X	$29,7^{ab}$	$15,6^{c}$	$21,4^{bc}$	$15,7^{c}$	$20,6^{B}$
	75Đ: 25X	$32,6^{a}$	$16,8^{c}$	$22,5^{bc}$	$35,7^{a}$	$26,9^{A}$
	Trung bình I	$31,8^{A}$	$16,1^{B}$	$20,7^{B}$	$22,8^{B}$	
		$F_R = 5,2^{**}$	$F_I = 13,7^{**}$	$F_{RI} = 3,0^{*}$		CV = 23,4%
Chiều cao chồi	100Đ	3,9	3,8	3,8	4,6	$4,0^{A}$
	50Đ: 50X	3,4	3,6	3,5	3,6	$3,5^{A}$
	75Đ: 25X	3,4	2,2	3,0	2,8	$2,8^{B}$
	Trung bình I	3,6	3,2	3,4	3,7	
		$F_R = 22,1^{**}$	$F_I = 1,9^{ns}$	$F_{RI} = 2,2^{ns}$		CV = 12,7%

Những chữ cái khác nhau (a,b,c,…) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức xác suất P < 0,05 (*), ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Sự kết hợp giữa 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương cho tỷ lệ tạo chồi từ protocorm cao nhất 26,9% và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với 2 tỷ lệ ánh sáng (100% LED đỏ và 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương). Protocorm khi được chiếu sáng 200 lux cho tỷ lệ tạo chồi cao nhất đạt 31,8% và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với 3 cường độ chiếu sáng còn lại (400 lux, 600 lux, 800 lux). Tuy nhiên, ở hệ thống ánh sáng gồm 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương ở cường độ chiếu sáng 800 lux cho tỷ lệ tạo chồi từ protocorm đạt giá trị cao nhất (35,7%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức LED còn lại.

Thực hiện kiểm tra trắc nghiệm T – test giữa protocorm nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang và protocorm nuôi dưới ánh sáng đèn LED (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 800 lux), kết quả cho thấy protocorm nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang cho tỷ lệ hình thành chồi thấp 17,9% so với ánh sáng đèn LED (75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 800 lux) và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ánh sáng đỏ có vai trò làm tăng số lượng protocorm và khi kết hợp với ánh sáng xanh dương (25%) sẽ tạo điều kiện thuận lợi làm tăng tỷ lệ hình thành chồi từ protocorm lan Dendrobium *in vitro.*

Kết quả về sự ảnh hưởng của các chế độ chiếu sáng đèn LED lên chiều cao trung bình chồi lan Dendrobium *in vitro* được thể hiện ở Bảng 3. Nhìn chung, dưới ánh sáng đèn LED chồi lan sinh trưởng và phát triển bình thường, tuy nhiên khi nuôi dưới 100% ánh sáng đỏ chồi lan đạt chiều cao chồi (4,0 cm) cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chồi nuôi dưới 2 tỷ lệ ánh sáng (50Đ: 50X, 75Đ: 25X). Khi xét về yếu tố cường độ chiếu sáng, ở cường độ chiếu sáng 800 lux, chồi lan đạt chiều cao chồi (3,8 cm) cao hơn nhưng sự khác biệt lại không có ý nghĩa thống kê so với các cường độ chiếu sáng 200 lux, 400 lux, 600 lux. Quá trình kết hợp giữ tỷ lệ ánh sáng đơn sắc đỏ/xanh dương và cường độ chiếu sáng cho kết quả chồi lan khi được chiếu sáng 800 lux ở 100% ánh sáng đỏ đạt chiều cao chồi cao nhất (4,6 cm) và thấp nhất (2,2 cm) dưới 75% LED đỏ + 25% LED xanh

dương ở cường độ chiếu sáng 400 lux nhưng sự khác biệt này lại không có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED khác. Thực hiện kiểm tra trắc nghiệm T - test giữa nghiệm thức đối chứng đèn huỳnh quang và nghiệm thức đèn LED (100Đ, 800 lux) nhận thấy chồi lan nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang cho chiều cao chồi (3,2 cm) thấp hơn chồi nuôi dưới ánh sáng đèn LED (100Đ, 800 lux) (4,6 cm) và sự khác biệt rất có nghĩa thống kê. Nhìn chung, ánh sáng đỏ của đèn LED (100%) có tác dụng kéo dài đốt thân của chồi và làm chồi cao hơn so với ánh sáng đèn huỳnh quang.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ các kết quả đã thu nhận được qua các thí nghiệm cho thấy hạt lan *Dendrobium mini* phát triển và nảy mầm tốt nhất ở điều kiện ánh sáng 100% LED đỏ, 400 lux. Protocorm của lan Dendrobium đạt hệ số nhân cao nhất ở điều kiện ánh sáng 100% LED đỏ, 400 lux. Mẫu protocorm chuyển hóa thành mô sẹo tốt nhất ở điều kiện ánh sáng 100% LED đỏ, 600 lux. Số chồi được hình thành nhiều nhất ở điều kiện ánh sáng 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 800 lux. Chiều cao chồi cao hơn nếu chỉ chiếu 100% ánh sáng đỏ. Từ kết quả nghiên cứu này, vẫn cần các phân tích nghiên cứu biến động và tác động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật nội sinh và ngoại sinh đến sự phát sinh của lan *Dendrobium mini* dưới ánh sáng đơn sắc từ đèn LED nhằm gia tăng khả năng điều khiển phát sinh hình thái trong quá trình nhân giống lan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Thị Mỹ Thu, 2012. *Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED và các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh cây thanh hao (Artemisia annua L.) in vitro.* Luận văn thạc sĩ Khoa học cây trồng, đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
2. Đinh Cát Điềm, 2014. *Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc từ đèn LED (Light Emitting Diode) đến quá trình phát sinh hình thái và khả năng tái sinh của một số giống lúa nuôi cấy in vitro.* Luận văn thạc sĩ Sinh học thực nghiệm, đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh.
3. Haln Eun – Joo, Kozai – Tokyo and Paek Kee – Yoeup., 2000. Blue and red LED with or without sucrose and ventilation affect *in vitro* growth of *Rehmania glutinose* plantlets, *Journal of Plant Biology*, 43(4), pp. 247 – 250.
4. Nhut D.T., Takamura T., Watanabe H., Okamoto K., Tanaka M., 2003. Responses of strawberry plantlets cultured *in vitro* under superbright red and blue light emitting diodes (LEDs). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 73, 43 – 52.
5. Peng Z., Fei W., Fo – S. F., Wan – J. W., 2008. Protocorm - like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of Dendrobium candidum Wall ex Lindl. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 44:178 – 185.
6. Phạm Thị Lệ Huyền, 2015. *Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung tinh bột sắn dây đến sinh trưởng, phát triển và đặc điểm kiểu hình của lan Dendrobium in vitro.* Khóa luận tốt nghiệp Công nghệ sinh học, đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
7. Trần Nguyên Chất, 2014. Nghiên cứu tác động của ánh sáng đèn LED lên khả năng tái sinh cây gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) *in vitro.* Luận văn thạc sĩ Công nghệ sinh học, đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
8. Xu, Z.G., Cui, J., & Di, X.R., 2009. Effects of different spectral energy distribution on tissue culture of Oncidium in vitro. *Int J Autom Comput*, 31, 45 – 50.

INFLUENCE OF SPECTRAL RATIO AND LIGHT INTENSITY FROM THE MONOCHROMATIC LEDS DURING GERMINATION AND PROTOCORM DEVELOPMENT OF *Dendrobium mini*

ABSTRACTS

The purpose of this study was to determine ratio and optimum light intensity from the monochromatic LEDs during germination and protocorm development of Dendrobium mini. Experiments were arranged in the two - factor completely randomized design. The in vitro samples were illuminated with red monochromatic LED (wavelength 660 nm), blue monochromatic LED (wavelength 460 nm) at ratios of 100%Red LED/0% Blue LED; 75%Red LED/25% Blue LED or 50%Red LED/50% Blue LED. Variation of light intensity ranged from 200, 400, 600 and 800 luxes. The control was illuminated with fluorescence lamps. The results indicated that the ratio of 100% red LED at intensity of 400 luxes gave hihest germination rate and increased the protocorm number. The ratio of 100% red LED at 600 luxes was the best for the callus induction from protocorms. The ratio of 100% red LED at 800 lux gave longest shoot. The ratio of 75% red LED combined with 25% blue LED at 800 luxs was the best for shoot formation and leaf size development.

Key words: *Dendrobium mini,* light emitting diodes, light intensity, protocorm, tissue culture.

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐÈN CHIẾU SÁNG ĐẾN ĐIỀU KHIỂN RA HOA CHO CÂY THANH LONG (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. and Rose)

***Ngô Minh Dũng*[1], *Nguyễn Quang Thạch*[2]**
[1] *Viện KHKT Nông nghiệp miền Nam*
[2] *Đại học Nguyễn TấtThành*
Email:nqthachshnn@gmail.com

TÓM TẮT

Thanh long là một trong những trái cây quan trọng cho xuất khẩu ở nước ta. Hiện nay việc ứng dụng các biện pháp kỹ thuật làm gia tăng sản lượng ở mùa trái vụ là những yếu tố hàng đầu, trong đó có việc xác định loại đèn để đạt mục đích vừa xử lý ra hoa trái vụ tốt và vừa tiết kiệm điện để giảm giá thành sản xuất. Trong nghiên cứu này, tiến hành các thí nghiệm xác định thời gian chiếu sáng thích hợp trên các loại đèn: compact chuyên dụng là CFL-20W NN R-G, compact thường, đèn sợi đốt và đèn LED. Kết quả cho thấy: Trên cây thanh long ruột trắng tại Tây Ninh, thời gian chiếu sáng 4 tiếng/đêm cho số nụ trên trụ tương đương giữa đèn compact và sợi đốt là 24 đến 28 cành ra nụ/cây (cho năng suất từ 13,8 t/ha đến 14,9 t/ha), khác biệt có ý nghĩa thống kê. Hiệu quả xử lý ra hoa trái vụ trên thanh long của đèn LED thấp hơn so với đèn compact thường, compact chuyên dụng và đèn sợi đốt.

Từ khóa: Thanh long, mùa trái vụ, chiếu đèn, đèn LED.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thanh long *(Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. and Rose) là cây ngày dài hay nói chính xác hơn là cây đêm ngắn, cần có ngày dài (hay đêm ngắn) để phân hóa mầm hoa. Trong điều kiện vụ Hè (từ tháng 3 đến tháng 9), thời gian chiếu sáng trong ngày là dài (hay thời gian đêm ngắn) thích hợp cho thanh long ra hoa. Từ tháng 9 đến tháng 2 năm sau, thời gian chiếu sáng trong ngày ở nước ta ngắn (hay thời gian đêm dài) nên cây không ra hoa được (Nguyễn Văn Kế, 1997). Muốn thanh long ra hoa cần sử dụng ánh sáng đèn thắp vào ban đêm sẽ có tác dụng phá đêm dài thành đêm ngắn giúp cây ra hoa.

Theo tiêu chuẩn ngành của Bộ Nông nghiệp và PTNT ban hành năm 2006 về quy trình kỹ thuật trồng, chăm sóc, thu hoạch thanh long phục vụ xuất khẩu là sử dụng loại bóng đèn tròn 75-100W với khoảng cách hợp lý từ bóng đèn đến cành thanh long là 0,5-1,0m chiếu từ 6-10h/đêm và 15-20 đêm thì thanh long có thể ra hoa vào vụ Đông.

Kết quả nghiên cứu gần đây của Ngô Minh Dũng và cs. (2016) đã xác định được đèn chuyên dụng dùng điều khiển sự ra hoa của thanh long là đèn compact CFL-20W NN R-G. Trên cây thanh long ruột trắng tại Bình Thuận, chế độ chiếu sáng 11 giờ và ngắt quãng 30 phút từ 0h đến 0h30 cho số nụ trên trụ tốt nhất. Trên cây thanh long ruột đỏ tại Tiền Giang, chế độ chiếu sáng 7 tiếng 30 phút và ngắt quãng 30 phút từ 0h đến 0h30 cho số nụ trên trụ tốt hơn so với đối chứng.

Theo khảo sát của Công ty Điện lực Bình Thuận (PC Bình Thuận), diện tích thanh long đã có điện là 23.196 ha, chiếm 96,4% tổng diện tích thanh long hiện có. Đến nay, toàn tỉnh có 15.013 trạm biến áp với dung lượng là 876MVA. Trong giai đoạn 2011-2015, ngành điện đã đầu tư nâng cấp, phát triển hệ thống điện cho cả lưới điện 220kV, 110kV, 22kV với tổng mức đầu tư 1.013 tỷ đồng, chủ yếu để cấp điện cho thanh long nhưng vẫn chưa đáp ứng đủ nhu cầu phát triển nóng thanh long của tỉnh. Trước thực tế này UBND tỉnh Bình Thuận thực hiển chủ trương tiết giảm 50% công suất trạm biến áp chiếu đèn thanh long mùa vụ năm 2015 bằng cách chuyển đổi sử dụng 100% đèn

compact thay cho đèn sợi đốt trước đây. Tuy nhiên với diện tích thanh long trong toàn tỉnh Bình Thuận ngày càng tăng, điện vẫn không đủ để phục vụ cho việc chiếu đèn ra hoa trái vụ.

Để cây thanh long ra hoa được thì cần phải tích lũy được một lượng Pfr nhất định cho nên cần thời gian ngày dài và thời gian đêm ngắn để có đủ lượng Pfr thúc đẩy sự ra hoa. Mặt khác, theo học thuyết quang chu kỳ, sự chiếu sáng nếu đúng phổ hấp phụ của phytochrome vào thời gian đêm sẽ có tác dụng rất mạnh mẽ đến sự thúc đẩy ra hoa, thời gian chiếu sáng quang gián đoạn giữa đêm theo lý thuyết là rất ngắn (Taiz, L. and E. Zeiger, 2002.). Dựa trên cơ sở khoa học này các nhà khoa học đã chế tạo loại đèn LED có phổ ánh sáng cần thiết cho cây thanh long, với công suất thấp hơn so với đèn compact.

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về thời gian chiếu sáng của đèn sợi đốt so với các bóng đèn compact chuyên dụng CFL-20W NN R-G và đèn LED trong việc kích thích sự ra hoa của cây thanh long tại Tây Ninh.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các bóng đèn CFL-20W NN R-G, sợi đốt trong các thí nghiệm do Công ty Cổ phần Bóng đèn Phích nước Rạng Đông sản xuất và có sẵn trên thị trường.

Các bóng đèn CFL -20W NN R-G của Công ty Rạng Đông là bóng đèn chuyên dụng đã được công nhận là tiến bộ kỹ thuật.

Bóng đèn LED có phổ ánh sáng là 660nm, do công ty Jang Su (Trung Quốc) sản xuất.

Đồng hồ hẹn giờ tự động mở và tắt, đảm bảo chính xác số giờ chiếu sáng đã thiết lập.

2.2. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm có thời gian từ 10/2016 tới 03/2017 được thực hiện trên giống thanh long ruột trắng 8 năm tuổi tại Tây Ninh.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các thí nghiệm có 4 nghiệm thức (NT), mỗi nghiệm thức có 9 cây, được bố trí theo kiểu RCBD với 04 lần lặp lại:

NT1 (đối chứng): Đèn sợi đốt 40W

NT2: Đèn chuyên dụng CFL-20W NN R-G

NT3: Đèn compact 20W

NT4: Đèn LED 11W

Mỗi thí nghiệm đều chiếu liên tục 15 đêm và có số giờ chiếu khác nhau. Các bóng đèn được treo giữa hai hàng thanh long với mật độ 1.200 bóng/ha.

Thí nghiệm 1(vụ Thu-Đông): Chiếu sáng từ 00 giờ đến 01 giờ (tổng thời gian chiếu sáng: 1 giờ)

Thời gian chiếu sáng: Bắt đầu chiếu ngày 5/10/2016, kết thúc ngày 20/10/2016.

Thí nghiệm 2 (vụ Đông-Xuân): Chiếu sáng từ 00 giờ đến 03 giờ (tổng thời gian chiếu sáng: 3 giờ)

Thời gian chiếu sáng: Bắt đầu chiếu ngày 7/12/2016, kết thúc ngày 22/12/2016.

Thí nghiệm 3 (vụ Đông-Xuân): Chiếu sáng từ 22 giờ đến 02 giờ (tổng thời gian chiếu sáng: 4 giờ)

Thời gian chiếu sáng: Bắt đầu chiếu ngày 11/1/2017, kết thúc ngày 26/1/2017.

2.4. Các chỉ tiêu theo dõi

- Số cành ra nụ (nụ/cây)
- Số nụ/ cành (nụ)
- Năng suất (tấn/ha)

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SAS 9.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả kích thích ra hoa của các loại đèn

Hiệu quả kích thích ra hoa trên thanh long giữa các công thức được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hiệu quả kích thích ra hoa trên thanh long giữa các công thức

Công thức	Số cành ra nụ			Số nụ/cành		
	Thu-Đông	Đông-Xuân	Đông-Xuân	Thu-Đông	Đông-Xuân	Đông-Xuân
Đèn LED	6,00 b	10,00	7,80 b	1,53	1,70	1,60
Đèn compact	11,25 a	15,70	24,50 a	1,43	2,76	2,76
Đèn compact chuyên dụng	12,15 a	16,10	25,30 a	1,61	2,79	2,87
Đèn sợi đốt	14,91 a	18,30	28,00 a	1,56	3,00	2,96
LSD	9,57	7,63	12,68	1,31	1,83	1,39
CV (%)	21,76	13,67	17,22	23,08	12,97	9,90
F tính	$9,05^{*}$	$4,79^{ns}$	$28,88^{**}$	$0,04^{ns}$	$0,84^{ns}$	$3,25^{ns}$

Ghi chú: (ns) sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê
(*) sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê mức xác suất 0,05
(**) sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 0,01.
Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê.

Số cành ra nụ và số nụ/cành là hai chỉ tiêu rất quan trọng trong việc đánh giá hiệu quả của việc kích thích ra hoa mùa trái vụ bằng biện pháp chiếu sáng trên cây thanh long. Với mong muốn của người trồng thanh long là mỗi đợt xử lý đèn chiếu sáng, thì số cành ra nụ khoảng 20-25 cành, trên mỗi cành từ 2-3 nụ là hiệu quả nhất; bởi do, ở mức này thì số trái khi thu hoạch sẽ đa số là loại 1 (có giá cao).

Kết quả cho thấy số cành ra nụ ở thí nghiệm 1 và thí nghiệm 3 của công thức xử lý đèn LED thấp hơn có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với công thức xử lý đèn sợi đốt và đèn compact. Trong đó, thí nghiệm 1 có số cành ra nụ rất thấp (6,0 cành). Thí nghiệm 2 có số cành ra nụ giữa các công thức không có khác biệt thống kê. Trong quá trình chiếu đèn ở thí nghiệm 2, có bị ảnh hưởng mưa, nên có thể có tác động đến số nụ thanh long không phản ánh chính xác của các loại đèn và thời gian chiếu.

Số nụ/cành ở ba thí nghiệm đều cho kết quả không có khác biệt thống kê giữa các công thức xử lý đèn LED, đèn compact và đèn sợi đốt. Tuy nhiên, có thể thấy được xu hướng là đèn LED thấp hơn các đèn compact và sợi đốt.

Ở thí nghiệm 3, khi chiếu 4 giờ/đêm thì cũng cho số cành ra nụ và số nụ/cành cao hơn hai thí nghiệm trước.

Tuy thời điểm chiếu sáng khác nhau, nhưng cũng có thể nhận thấy số giờ chiếu sáng/đêm ít hơn thì cho số nụ ít hơn. Tuy nhiên số giờ/đêm cần tiếp tục nghiên cứu thêm để có kết luận cho từng loại đèn, từng vụ trong thời gian xử lý ra hoa mùa trái vụ trên cây thanh long.

3.2. Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất

Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các công thức được thể hiện qua bảng 2.

Bảng 2. Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các công thức trong các thí nghiệm

Công thức	Tổng số quả/trụ			Khối lượng TB quả (gr/quả)			NS thực tế (t/ha)		
	Thu-Đông	Đông-Xuân	Đông-Xuân	Thu - Đông	Đông-Xuân	Đông-Xuân	Thu-Đông	Đông-Xuân	Đông-Xuân
Đèn LED	10,25	11,43	12,08b	640	570	630a	5,11	12	5,61b
Đèn compact	15,58	15,90	44,70a	630	510	500b	8,15	12,9	13,76a
Đèn compact chuyên dụng	15,90	17,10	47,49a	630	510	510b	8,96	12,9	13,76a
Đèn sợi đốt	16,08	18,30	48,17a	620	480	530b	8,47	13,5	14,86a
LSD	9,38	6,98	9,75	0,01	0,074	0,11	4,41	2,37	7,50
CV (%)	17,26	12,22	17,89	1,40	6,28	8,40	15,89	8,20	17,50
F tính	$1,83^{ns}$	$3,83^{ns}$	$9,68^{**}$	$2,84^{ns}$	$6,78^{ns}$	$11,20^{*}$	$2,72^{ns}$	$1,69^{ns}$	$19,18^{**}$

Ghi chú: (ns) sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.
(*) sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê mức xác suất 0,05
(**) sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 0,01.
Các trung bình cùng ký tự không khác biệt có nghĩa thống kê.

Bảng 2 cho thấy tổng số quả/trụ và năng suất thực tế của công thức xử lý đèn LED thấp hơn so với công thức xử lý đèn compact, compact chuyên dụng và đèn sợi đốt. Trong đó, ở thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 sự khác biệt giữa tổng số quả/trụ và năng suất thực tế giữa ba công thức không có ý nghĩ thống kê. Trong thí nghiệm 3, công thức xử lý đèn LED thấp hơn có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với công thức xử lý đèn sợi đốt và đèn compact.

Trong đó thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 sự khác biệt trọng lượng trung bình quả giữa ba công thức không có ý nghĩa thống kê, thí nghiệm 3 sự khác biệt trọng lượng trung bình quả giữa ba công thức có ý nghĩa về mặt thống kê mức xác suất 0,05.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Hiệu quả xử lý ra hoa trái vụ trên thanh long của đèn LED thấp hơn so với đèn compact thường, compact chuyên dụng và đèn sợi đốt.

Thời lượng chiếu sáng 4 giờ/đêm cho kết quả tương đương giữa đèn compact thường, compact chuyên dụng và đèn sợi đốt.

4.2. Đề nghị

Hiệu quả của đèn LED chưa cao, do đó cần nghiên cứu thêm về cường độ ánh sáng phù hợp cho xử lý thanh long trái vụ.

Cần nghiên cứu thêm về số giờ chiếu sáng trong đêm để nhằm tiết kiệm chi phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2006. Thanh long - Quy trình kỹ thuật trồng, chăm sóc, thu hoạch phục vụ xuất khẩu. *Tiêu chuẩn ngành: 10TCN 637:2006*.

2. Ngô Minh Dũng, Trương Thanh Hưng, Ngô Thị Lam Giang, Nguyễn Đoàn Thăng, Nguyễn Quang Thạch, 2016. Xác định đèn compact chiếu sáng chuyên dụng điều khiển ra hoa cho cây thanh long (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. and Rose). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT,* 11/2016: 16-24

3. Ngô Minh Dũng, Trương Thanh Hưng, Ngô Thị Lam Giang, Nguyễn Đoàn Thăng, Nguyễn Quang Thạch, 2016. Xây dựng quy trình chiếu sáng thích hợp của đèn compact chuyên dụng điều khiển ra hoa cho cây thanh long (*Hylocereus undatus* (haw.) Britt. and Rose). *Tạp chí Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam (VASS),* 12/2016: 59-66

4. Nguyễn Văn Kế, 1997. *Cây Thanh long (Hylocereus undatus)*. NXB Nông Nghiệp.

5. Taiz, L. and E. Zeiger, 2002. *Plant physiology. 3rd edition*. Sinauer Associates.

STUDY ON THE PROPER UTILIZATION OF SPECIFIC LAMP AIMED TO CONTROL DRAGON FRUIT (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. and Rose) FLOWERING

ABSTRACT

Dragon fruit is considered one of traditionally valuable fruits in Vietnam that takes an important role in the exportation of agricultural comodities in general and fruit products in particular in terms of production and export value as well. As a matter of fact, high price of off-season dragon fruit has been recently reported and because of that the technologies aimed to improve productivity of off-season dragon fruit have been significantly paid great attention to. Among techniques applied, the types of lamp to be utilized for the purposes of increasing yield of dragon fruit and limiting expenditure should be accordingly prioritized. In this study, we conducted experiments to determine the appropriate lighting time on specialized compact fluorescent lamps: CFL-20W NN R-G, compact and LEDs. The results showed that white flesh dragon fruits in Tay Ninh, the lighting is 4 hours per night for the number of buds on the pillars equal to that of compact lamps and incandescent lamps. The effect of flowering on the dragon fruit of LEDs is lower than conventional compact lamps and incandescent lamps.

Key words: Dragon fruit, off-season, compact lamp, LED.

Một số hình ảnh

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG THỨC SỬ DỤNG CHẾ PHẨM KÍCH THÍCH SINH HỌC HB-101 VÀ LƯỢNG PHÂN ĐẠM BÓN ĐẾN NĂNG SUẤT HÀNH LÁ (*Allium cepa* var. *aggregatum*) TẠI TỈNH NINH THUẬN

Phạm Thị Minh Tâm[1] Lê Thị Tuyết Trinh[2]
[1]Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.
[2]Trung tâm GDNN-GDTX huyện Ninh Phước, tỉnh Ninh Thuận
Email: ptmtam@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Chất kích thích sinh học thực vật có chức năng kích thích quá trình tự nhiên để thúc đẩy hoặc tạo thuận lợi cho sự hấp thu dinh dưỡng, sự chống chịu với điều kiện ngoại cảnh bất lợi của cây và cải thiện chất lượng cây trồng. Vì vậy, sử dụng chất kích thích sinh học thực vật có thể là một trong những biện pháp để sản xuất rau an toàn thông qua việc giảm lượng phân bón hóa học và thuốc bảo vệ thực vật. Một thí nghiệm hai yếu tố đã được bố trí theo kiểu lô phụ nhằm xác định được phương thức sử dụng của chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón thích hợp đến sinh trưởng, năng suất cây hành tím ăn lá tại tỉnh Ninh Thuận. Yếu tố lô chính là 3 phương thức sử dụng HB 101 với nồng độ 1 mL/L (không xử lý củ (đối chứng); nhúng củ bằng nước lã kết hợp phun HB 101 lên cây 2 lần; nhúng củ bằng HB101 kết hợp phun HB 101 lên cây 2 lần). Yếu tố lô phụ là 4 mức phân đạm 60; 80; 100 (đối chứng); 120 kg/ha. Kết quả cho thấy nhúng củ giống bằng HB 101 kết hợp phun HB 101 lên cây hành tím trồng thu lá 2 lần cho khối lượng bụi hành cao nhất (136,4 g/bụi) và năng suất thương phẩm cao nhất (36,1 tấn/ha). Bón giảm liều lượng đạm xuống còn 80 kg N/ha cho cây hành tím trồng thu lá cho năng suất thương phẩm cao (35,18 tấn/ha).

Từ khóa: HB 101, cây hành lá, phân đạm, chất kích thích sinh học thực vật.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hành tím ăn lá (*Allium cepa* var. *aggregatum*) là loại rau gia vị phổ biến trong bữa ăn hàng ngày của người Việt Nam, để tạo thêm hương vị và thẩm mỹ các món ăn. Hành tím ăn lá có thể được dùng để nêm, hay chế biến các món ăn như xào nấu hoặc muối chua. Ngoài ra, hành tím ăn lá còn có giá trị dược liệu được sử dụng trong các bài thuốc dân gian (Mai Văn Quyền và ctv, 2000). Trước tình hình phát triển của nền nông nghiệp theo hướng thâm canh, việc ứng dụng các sản phẩm hóa học không chọn lọc của người nông dân làm cho sản phẩm nông nghiệp (đặc biệt là rau, quả tươi) và môi trường canh tác bị ô nhiễm nên đã ảnh hưởng trực tiếp tới sức khỏe con người và các sinh vật khác.

Để giải quyết vấn đề trên, việc sử dụng chất kích thích sinh học là một trong những biện pháp kỹ thuật được lựa chọn để giúp cây sinh trưởng, phát triển tốt, cho năng suất cao và đem lại hiệu quả kinh tế cho người dân. Đồng thời đây cũng là yếu tố góp phần thân thiện với môi trường vì giảm phân bón và thuốc bảo vệ thực vật đối với cây trồng (Kunicki và ctv, 2010). Một trong những chất kích thích sinh học được nói đến ở trên là HB 101 được chiết xuất từ cây tuyết tùng, cây bách, cây thông và cây mã đề. Đây là chế phẩm hữu cơ tự nhiên, là một chất dinh dưỡng tăng trưởng của cây trồng và không phải là phân bón hóa học (HB-101 USA, 2015). Mặc dù HB 101 đã được sử dụng từ rất lâu nhưng ở Việt Nam cho đến nay có rất ít nghiên cứu về chế phẩm kích thích sinh học HB 101.

Cũng như các loại cây trồng khác, cây hành tím ăn lá cũng cần được cung cấp một lượng phân vô cơ nhất định để đạt được năng suất cao, chất lượng tốt; trong đó có phân đạm. Hiện nay, nhiều địa

phương và công ty đã có nhiều khuyến cáo quy trình canh tác hành lá; tuy nhiên chưa có quy trình riêng về lượng phân đạm bón cho hành tím trồng để thu lá cho vùng trồng hành tại tỉnh Ninh Thuận. Việc phối hợp giữa HB-101 với lượng phân đạm bón cho cây hành tím ăn lá hiện nay cũng chưa được người dân địa phương chú ý. Do vậy việc xác định ảnh hưởng được phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB-101 và lượng phân đạm bón thích hợp đến năng suất cây hành tím thu lá tại tỉnh Ninh Thuận là cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm

Thí nghiệm đã được thực hiện từ tháng 12 năm 2015 đến tháng 3 năm 2016 tại xã Phước Hải, huyện Ninh Phước, tỉnh Ninh Thuận. Đất khu vực bố trí thí nghiệm tại xã Phước Hải có tỷ lệ sét (2,4%), thịt (3,6%) thấp và tỷ lệ cát cao (94%) nên thuộc loại đất cát. Hàm lượng dinh dưỡng các chất tổng số và các chất dễ tiêu đều nghèo; pH_{H2O} = 5,47 đất thí nghiệm có tính chua nhẹ nên để cây hành lá sinh trưởng và phát triển tốt cần bón vôi để cải tạo đất trước khi trồng.

2.2. Vật liệu thí nghiệm

- Giống: hành tím địa phương, có năng suất cao, ít sâu bệnh và ít đổ gãy lá, thời gian từ trồng đến thu hoạch khoảng 40 - 45 ngày (đối với hành lá).

- Phân urê (46% N).

- Chế phẩm kích thích sinh học HB 101 (Công ty TNHH Flora Yokkaichi, Nhật Bản). Sản phẩm 100% hữu cơ tự nhiên với thành phần như sau (tính cho 1 lít HB-101): 40,9 mg Na; 32,9 mg Ca; 1,8 mg Fe; 3,3 mg Mg; 7,4 mg Silicon; pH dung dịch đậm đặc là 4,0; dung dịch pha loãng 1.000 có pH khoảng 6,5.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu lô phụ (SPD), ba lần lặp lại. Yếu tố lô chính là 3 phương thức sử dụng HB 101 (A1: Không xử lý củ (Đ/C) (Không XL củ); A2: Nhúng củ bằng nước lã và phun HB 101 lên cây 2 lần (Nhúng củ NL + PC 2 lần) và A3: Nhúng củ bằng HB 101 và phun HB 101 lên cây 2 lần (Nhúng củ HB + PC 2 lần). Yếu tố lô phụ (B) là 4 liều lượng bón phân đạm bao gồm (60, 80, 100 –Đ/C) và 120 kg/ha). Diện tích mỗi ô là 7,2 m^2. Diện tích khu thí nghiệm là 259,2 m^2. Mật độ trồng là 444.000 cây/ha. Nền phân chung cho thí nghiệm (tính cho 1 ha) bao gồm 20 tấn phân chuồng hoai, 500 kg vôi, 60 kg P_2O_5 và 90 kg K_2O. Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi bao gồm Số lá trên bụi (lá/bụi), khối lượng bụi (g/bụi), năng suất thương phẩm (tấn/ha).

* Cách sử dụng HB 101: Nhúng củ trong dung dịch HB 101 nồng độ 1mL/L, thời gian nhúng khoảng 30 giây. Phun dung dịch HB 101 nồng độ 1mL/L. Thời gian phun là 14 NST và 21 NST. Lượng dung dịch phun 0,6 lít/10 m^2.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel được xử lý ANOVA và phân hạng Duncan (α=0,05 hoặc α=0,01) bằng phần mềm thống kê SAS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến số lá (lá/bụi)

Lá là nơi diễn ra hoạt động của quang hợp giúp cây sinh trưởng phát triển tốt, đồng thời cũng là bộ phận sử dụng chính của cây hành lá. Do đó số lá trên cây hành lá là chỉ tiêu cần quan tâm, số lá trên một bụi nhiều hay ít sẽ cho thấy sự sinh trưởng mạnh hay yếu của cây trong suốt thời gian sinh

trưởng của nó từ khi trồng cho đến khi thu hoạch. Đồng thời số lá nhiều làm tăng trọng lượng cây hành và cũng góp phần làm tăng năng suất.

Bảng 1. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến số lá/bụi của cây hành lá khi thu hoạch

Lượng đạm (kg/ha) (B)	Phương thức sử dụng HB 101 (A)			Trung bình B
	Không XL củ (Đ/C)	Nhúng củ NL + PC 2 lần	Nhúng củ HB + PC 2 lần	
60	35,4	39,4	35,5	36,8
80	37,3	39,8	47,2	41,4
100 (Đ/C)	37,2	36,8	45,4	39,8
120	38,6	39,3	45,0	41,0
Trung bình A	37,1 B	38,8 AB	43,3 A	
CV(%) = 10,46	F_A=7,06**	F_B= 2,27^{ns}	F_{A*B}= 1,57^{ns}	

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Số lá của cây hành lá được trình bày trong Bảng 1 cho thấy phương thức sử dụng HB 101 khác nhau thì số lá/bụi tăng dần (37,1 - 43,3 lá/bụi). Khi nhúng củ bằng HB 101 kết hợp phun HB 101 lên cây 2 lần thì cho số lá/bụi cao nhất (43,3 lá/bụi), khác biệt không có ý nghĩa so với nhúng củ bằng nước lã và phun HB 101 lên cây 2 lần, nhưng khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không xử lý củ. Kết quả này có thể do khi sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB-101 phun lên lá hay tưới vào đất, cây trồng hấp thụ các chất dinh dưỡng cần thiết từ đất. Những chất dinh dưỡng được kết hợp với canxi và natri từ HB-101 được ion hóa và được hấp thụ vào các tế bào của lá, qua đó tăng cường tế bào và tăng hiệu suất quang hợp. Điều này dẫn đến lá xanh hơn, cây khỏe và vững chắc hơn (HB-101 USA, 2015).

Qua Bảng 1 cho thấy sử dụng HB 101 ở nhiều phương thức xử lý khác nhau hay sự kết hợp giữa phương thức xử lý HB 101 khác nhau với bón đạm ở các liều lượng khác nhau trong thí nghiệm chưa tác động nhiều đến số lá/bụi.

3.2. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến khối lượng trung bình bụi (g)

Bảng 2. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến khối lượng trung bình bụi (g)

Lượng đạm (kg/ha) (B)	Phương thức sử dụng HB 101 (A)			Trung bình B
	Không XL củ (Đ/C)	Nhúng củ NL + PC 2 lần	Nhúng củ HB + PC 2 lần	
60	105,3	105,4	120,9	110,5
80	95,0	108,6	136,4	113,3
100 (Đ/C)	102,8	115,6	134,9	117,8
120	109,7	116,5	134,5	120,2
Trung bình A	103,2 B	111,5 B	131,7 A	
CV(%)=7,83	F_A= 31,43**	F_B= 2,07^{ns}	F_{A*B}= 1,14^{ns}	

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Kết quả được trình bày ở Bảng 2 cho thấy với phương thức sử dụng HB 101 khác nhau cho khối lượng trung bình bụi tăng dần (103,2 – 131,7 g/bụi). Trong đó, khối lượng trung bình bụi đạt cao nhất khi nhúng củ bằng HB 101 và phun HB 101 lên cây 2 lần (131,7 g/bụi), khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Theo HB-101 USA (2015), thân cây là con đường mà các chất dinh dưỡng được vận chuyển đến và đi từ lá và rễ, và nó cũng là xương sống của cây. Tế bào khỏe mạnh và đủ chất dinh dưỡng giúp phân phối các chất carbohydrate cần thiết cho việc tăng cường các màng tế bào. Khi cây được phun HB-101 dòng chất dinh dưỡng từ lá và rễ được tối đa hóa, góp phần vào sự phát triển tốt của thân cây, kết quả là làm tăng khối lượng bụi.

Khối lượng trung bình bụi tăng dần từ 110,5 – 120,2 g/bụi tỷ lệ thuận với lượng phân đạm bón từ 60 – 120 kg/ha. Khối lượng trung bình bụi đạt cao nhất khi bón 120 kg N/ha và khối lượng trung bình bụi thấp nhất khi bón 60 kg N/ha. Tuy nhiên, khối lượng trung bình bụi ở các mức phân đạm bón khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Đồng thời sự tương tác giữa phương thức sử dụng HB-101 và lượng phân đạm bón đến khối lượng trung bình bụi cũng khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tương tự kết quả này, Gajc-Wolska và ctv (2012) cho rằng phun Aminoplant (là một chất kích thích sinh trưởng thực vật có chứa amino acid) cho cây rau diếp quăn không làm tăng năng suất cây.

3.3. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến năng suất thương phẩm cây hành lá (tấn/ha)

Bảng 3. Ảnh hưởng của phương thức sử dụng chế phẩm kích thích sinh học HB 101 và lượng phân đạm bón đến năng suất thương phẩm cây hành lá

Lượng đạm (kg/ha) (B)	Phương thức sử dụng HB 101 (A)			Trung bình B
	Không XL củ (Đ/C)	Nhúng củ NL + PC 2 lần	Nhúng củ HB + PC 2 lần	
60	30,22	32,22	31,49	31,31 B
80	29,98	36,66	38,89	35,18 A
100 (Đ/C)	29,98	38,12	38,12	35,41 A
120	34,54	32,22	35,88	34,21 AB
Trung bình A	31,18 B	34,80 AB	36,10 A	
CV(%)=8,93	F_A=8,44**	F_B=3,46*	F_{A*B}= 2,39^{ns}	

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); *: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,05); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Kết quả số liệu được trình bày trong Bảng 3 cho thấy khi nhúng củ bằng HB 101 và phun lên cây 2 lần thì cho năng suất thương phẩm cao nhất (36,10 tấn/ha), khác biệt không có ý nghĩa so với nhúng nước ở củ và phun HB 101 lên cây 2 lần, nhưng khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với không xử lý củ (đối chứng). Kết quả này có thể nhận được bởi chất kích thích sinh trưởng sinh học thực vật bao gồm những chất được chiết xuất từ những vật liệu hữu cơ thô có chức năng kích thích quá trình tự nhiên để thúc đẩy hoặc tạo thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của cây. Sự kích thích này thông qua chu trình sống của cây với nhiều cách thức khác nhau như cải thiện hiệu quả sự chuyển hóa của cây để gia tăng năng suất và chất lượng cây trồng (Calvo và ctv, 2014, Maini, 2006).

Bón 80 kg N/ha cho cây hành tím thu lá làm tăng năng suất thương phẩm cây đạt 35,18 tấn/ha, khác biệt không có ý nghĩa so với năng suất thương phẩm ở cây đối chứng được bón 100 kgN/ha và 120 kg N/ha (34,21 tấn/ha, nhưng khác biệt có ý nghĩa so với bón 60 kg N/ha (31,31 tấn/ha). Kết quả này tương tự với kết quả của Nguyễn Thanh Huy (2014) là năng suất hành lá đạt cao nhất (28,2 tấn/ha) khi hành lá được bón 80 kg N/ha khi được trồng trên đất cát pha tại tỉnh Ninh Thuận. Kilgori

và ctv (2007) cũng cho rằng khi áp dụng lượng phân đạm từ 60 kg/ha đến 120 kg/ha sẽ làm tăng năng suất lá tươi (25 tấn/ha ở 120 kg N/ha).

Khi sử dụng HB 101 ở nhiều phương thức khác nhau kết hợp với bón đạm từ 60 – 120 kg/ha cho cây hành lá chưa thấy rõ tác động của tương tác này đến năng suất thương phẩm của cây hành lá.

4. KẾT LUẬN

- Nhúng củ giống bằng HB 101 (1ml/L) kết hợp phun HB 101 (1ml/L) 2 lần lên cây hành tím trồng thu lá cho khối lượng bụi hành cao nhất (136,4 g/bụi) và năng suất thương phẩm cao nhất (36,1 tấn/ha).

- Bón giảm liều lượng đạm xuống còn 80 kg N/ha cho cây hành tím trồng thu lá cho năng suất thương phẩm cao (35,18 tấn/ha).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Calvo P., Nelson L. and Kloepper J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. Plant Soil. 383:3 – 41.
2. Gajc-Wolska J, Kowalczyk K, Nowecka M, Mazur K, Metera A, 2012. Effect of organic-mineral fertilizers on the yield and quality of endive (*Cichorium endivia* L.). Acta Sci Pol. Hortotum Cultes. 11: 189-200
3. HB-101 USA, 2015. HB-101 plant vitalizer, Organic Plant Growth Enhancer http://www.hb-101usa.com/about-hb-101/what-is-hb-101/
4. Kilgori M.J., Magaji M.D. and Yakubu A.I., 2007. Productivity of two onion *(Allium fistulosum)* cultivars as affected by different levels of nitrogenous and phosphorous fertilizers in Sokoto, Nigeria. American – Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 158 – 162.
5. Kunicki E., Grabowska A., Sękara A. and Wojciechowska R., 2010. The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Folia Hortic. 22: 9 – 13.
6. Maini P., 2006. The experience of the the first biostimulant, based on amino acid and peptides: a short retrospective review on the laboratory researches and the practical results. Fert Agrorum. 1: 29-43
7. Mai Văn Quyền, Lê Thị Việt Nhi, Ngô Quang Vinh, Nguyễn Thị Hoa và Nguyễn Tuấn Kiệt, 2000. Những cây rau gia vị phổ biến ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 148 trang.
8. Nguyễn Thanh Huy, 2014. Bón phân cho cây Hành lá (*Allium cepa* var. *aggregatum*) trên vùng đất cát pha tại thành phố Phan Rang-Tháp Chàm, tỉnh Ninh Thuận. Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ Khoa học Cây trồng. Trường Đại học Nông Lâm, thành phố Hồ Chí Minh.

EFFECTS OF USING METHODS OF BIOSTIMULANT HB-101 AND RATES OF NITROGEN FERTILIZERS ON YIELD OF SCALLION (*Allium cepa* var. *aggregatum*) IN NINH THUAN PROVINCE

ABSTRACT

Plant biostimulants are applied to plants in order to stimulate natural processes to enhance and benefit nutrient uptake, nutrient efficiency, tolerance to abiotic stress, and crop quality. Therefore, using plant biostimulants would be one of techniques to produce safe vegetable and environment because of

reducing the applications of chemical fertilizers and pesticides. A two two-factor Split-Plot Designed experiments was carried out to determine the use of biostimulant HB 101 and rates of nitrogen fertilizers on yield of shallot (*Allium cepa* var. *aggregatum*) in Ninh Thuan province. The main plot factor was three using methods of HB 101 (Untreated bulbs – Control; Soaking bulbs in water combination of Spraying HB 101 on plant twice; Soaking bulbs in HB 101 combined spraying HB 101 on plant twice and the sub-plot factor was four levels of nitrogen fertilizer 60, 80, 100 (control) and 120 kg N/ha. The results of experiment showed that soaking bulb in HB 101 (1 mL/L) combination of spraying HB 101 (1 mL/L) twice on shallot plants resulted in the highest shallot plant weight (136,4 g/plant) and the highest commercial yield (36,1 tons/ha). The reducing application of nitrogen fertilizer at rate 80 kg N/ha enhanced the high commercial yield of shallot (35,18 tans/ha).

Key words: HB 101, shallot, nitrogen fertilizer, plant biostimulant.

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ BÓN SILICATE KALI QUA LÁ TRÊN CÂY DƯA LƯỚI (*Cucumis melo* L.) VÀ CÂY CÀ CHUA (*Licopersicum esculentum* MILL.) TRỒNG TRONG NHÀ MÀNG

Trần Thị Tường Linh, Huỳnh Đức Tài & cộng tác viên

TÓM TẮT

Bón silicate kali qua lá với liều lượng 257 mg K_2SiO_2/L và 513 mg K_2SiO_2/L, phun 5 lần/vụ làm tăng năng suất quả trên cây Dưa lưới và cây Cà chua Bi, giảm thiệt hại do bệnh gây ra bởi nấm *Pseudoperonospora cubensis* trên lá cây Dưa lưới.

Từ khóa: potassium silicate, phun qua lá, *Cucumis melo* Li., *Licopersicum esculentum* Mill.

1. MỞ ĐẦU

Tại một số quốc gia (Mỹ, Ấn Độ, Nhật, Hàn Quốc), việc sử dụng các loại xỉ và phân bón chứa silic (Si) cho thấy góp phần nâng cao năng suất cây trồng và giảm mức độ gây hại của nấm bệnh trên cây. Trong đó, hợp chất silicate kali ($K_2SiO_3.nH_2O$) được dùng bón qua lá cho thấy mang lại hiệu quả khá tốt trên một số loại cây như lúa, bắp, mía, các loại dưa,... [1, 5, 3]. Hiệu quả mang lại từ việc sử dụng silicate kali do K là một trong những dưỡng chất đa lượng thiết yếu đối với cây trồng, bên cạnh đó là ảnh hưởng tích cực của Si. Ở Việt Nam, việc sử dụng phân silic chưa được nghiên cứu nhiều. Silic thường được xem như yếu tố dinh dưỡng phụ đi kèm trong các loại phân khác như phân lân nung chảy, phân hữu cơ [2]. Nhằm góp phần đánh giá hiệu quả của Si đối với cây rau màu qua phương pháp bón phân qua lá, đề tài "**Nghiên cứu hiệu quả bón silicate kali qua lá trên cây dưa lưới (*Cucumis melo* L.) và cây cà chua (*Lycopersicum esculentum* Mill.) trồng trong nhà màng**" đã được thực hiện.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian

Các thí nghiệm trên 1 vụ dưa lưới và 1 vụ cà chua được thực hiện từ tháng 10/2015 - tháng 02/2016.

2.2. Địa điểm

Nhà màng thuộc Trung tâm Ươm tạo Doanh nghiệp Nông nghiệp Công nghệ cao TP. HCM; địa chỉ: Ấp 1, xã Phạm Văn Cội, huyện Củ Chi, TP. HCM.

2.3. Phương pháp

- Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên (Randomized Complete Block Design - RCBD), lặp lại 4 lần, một lần lặp của mỗi công thức gồm 4 cây (tổng số cây thí nghiệm là: 4 x 4 x 4 = 64 cây).

- Công thức (CT):

CT 1: Phun nước lã (Đối chứng)

CT 2: Phun silicate kali, 257 mg K_2SiO_3/L

CT 3: Phun silicate kali, 513 mg K_2SiO_3/L

CT 4: Phun silicate kali, 770 mg K_2SiO_3/L

- Dung dịch silicate kali (pha từ hóa chất K_2SiO_3: 55% SiO_2, 25% K_2O) hoặc nước lã được phun 5 lần vào các thời kỳ: Cây con sau khi trồng 10 ngày (phun 1 lần), chuẩn bị ra hoa (phun 1 lần), nuôi quả (phun 3 lần, cách nhau 10 - 15 ngày/lần). Lượng dịch phun là 1,0 - 1,5 L/ô/lần phun.

- Kỹ thuật trồng, chăm sóc dưa lưới và cà chua được thực hiện theo quy trình sản xuất theo tiêu chuẩn VietGAP của Trung tâm Nghiên cứu & Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao TP. HCM.

- Chỉ tiêu theo dõi, phân tích trên cây: Tình hình sinh trưởng và sâu bệnh, số quả/cây, trọng lượng quả, năng suất quả/cây, độ Brix của thịt quả chín lúc thu hoạch.

- Số liệu được xử lý thống kê theo các phương pháp phân tích biến lượng (Analysis of Variance, ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng LSD (Least Significant Difference Test) ở mức xác suất $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón lá silicate kali trên cây dưa lưới

**** Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đối với năng suất quả dưa lưới***

Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đến chỉ tiêu trọng lượng và năng suất quả dưa lưới được trình bày qua bảng 1.

Bón silicate kali qua lá với liều lượng 513 mg K_2SiO_3/L làm tăng trọng lượng và năng suất quả dưa lưới có ý nghĩa thống kê so với đối chứng phun nước lã; cụ thể: trọng lượng quả đạt 1,31 g/quả, năng suất đạt 5,26 kg/ô (4 cây) tương ứng bội thu 25% so với đối chứng. Kế đó là công thức phun 257 mg K_2SiO_3/L, năng suất quả tăng 12%. Thấp nhất là ở hai công thức phun 770 mg K_2SiO_3/L và đối chứng, trọng lượng quả 1,05 - 1,11 kg/quả, năng suất quả 4,20 - 4,45 kg/ô. Độ Brix quả dưa lưới sau khi thu hoạch có giá trị trong khoảng 10 - 12%, do kinh phí có hạn nên số mẫu phân tích không đủ số lượng để xử lý thống kê.

Bảng 1. Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đến trọng lượng và năng suất quả dưa lưới

Công thức	Trọng lượng quả			Năng suất		
	(kg/quả)	So đối chứng		(kg/ô)	So đối chứng	
		(kg/quả)	(%)		(kg/ô)	(%)
CT1: Nước lã (Đối chứng)	1,05 ^{c}	-	-	4,20 ^{b}	-	-
CT2: 257 mg K_2SiO_3/L	1,18 ^{ab}	0,13	12	4,70 ^{ab}	0,50	12
CT3: 513 mg K_2SiO_3/L	1,31 ^{a}	0,26	25	5,26 ^{a}	1,06	25
CT4: 770 mg K_2SiO_3/L	1,11 ^{c}	0,06	6	4,45 ^{b}	0,25	6
CV (%)	*9,84*	-	-	*9,89*	-	-
$LSD_{0,05}$	*0,18*	-	-	*0,74*	-	-

Các chữ cái (a, b, c) biểu diễn mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cột với xác suất $P \leq 0,05$.

3.1.2. Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đối với bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới

Trong vụ thí nghiệm xuất hiện bệnh đốm phấn gây hại chủ yếu trên lá dưa lưới. Ở mặt trên lá, đốm bệnh lúc đầu nhỏ, có màu xanh nhạt, sau đó biến dần sang màu vàng rồi màu nâu nhạt. Nấm *Pseudoperonospora cubensis* gây bệnh tạo ra lớp phấn màu xám đậm ở mặt dưới lá nơi có vết bệnh.

Lá bị vàng khi có nhiều đốm, trên các lá bị nặng các đốm bệnh liên kết lại tạo thành những vùng cháy màu nâu nhạt. Số liệu đánh giá ảnh hưởng của silicate kali đối với tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới được trình bày qua các bảng 2 và 3.

Kết quả đánh giá tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới vào 23 ngày, tỷ lệ bệnh trong khoảng 84 - 96% tương ứng chỉ số bệnh 29 - 56%. Ảnh hưởng của silicate kali phun qua lá làm giảm rõ rệt mức độ gây hại trên lá dưa lưới, chỉ số bệnh giảm 7 - 26% so với đối chứng; đồng thời, tỷ lệ lá nhiễm bệnh cũng giảm nhẹ từ 8 - 12%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của silicate kali phun qua lá đối với tỷ lệ bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới giai đoạn 23 ngày sau khi gieo.

Công thức	Tỷ lệ bệnh (%)		Chỉ số bệnh (%)	
	Trung bình	Giảm so đối chứng	Trung bình	Giảm so đối chứng
CT1: Nước lã (Đối chứng)	96,69 ^{a}	-	56,09 ^{a}	-
CT2: 257 mg K_2SiO_3/L	84,08 ^{b}	-12,61	35,34 ^{c}	-20,75
CT3: 513 mg K_2SiO_3/L	85,81 ^{b}	-10,89	29,64 ^{c}	-26,44
CT4: 770 mg K_2SiO_3/L	88,60 ^{ab}	-8,10	48,30 ^{b}	-7,79
CV (%)	*6,34*	-	*19,25*	-
$LSD_{0,05}$	*9,01*	-	*13,04*	-

Các chữ cái (a, b, c) biểu diễn mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cột với xác suất P ≤ 0,05.

Quy luật thống nhất với kết quả về năng suất, nồng độ phun 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L cho hiệu quả cao hơn so với nồng độ phun 770 mg K_2SiO_3/L. Điều này có thể do đặc tính của cây quyết định nhu cầu đối với các loại dưỡng chất, cần có sự cung cấp cân đối giữa các chất dinh dưỡng. Cây dưa lưới và cây cà chua trong thí nghiệm thuộc thực vật Hai lá mầm, chúng không tích lũy nhiều silic trong cây do đó nhu cầu về silic không lớn. Liều lượng phun qua lá 770 mg K_2SiO_3/L có thể không phù hợp đối với hoạt động thu hút dinh dưỡng và các quá trình sinh lý, sinh hóa trong cây.

Bảng 3. Ảnh hưởng của silicate kali phun qua lá đối với tỷ lệ bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới giai đoạn 33 ngày sau khi gieo

Công thức	Tỷ lệ bệnh (%)		Chỉ số bệnh (%)	
	Trung bình	Giảm so đối chứng	Trung bình	Giảm so đối chứng
CT1: Nước lã (Đối chứng)	99,46 ^{a}	-	50,31^{a}	
CT2: 257 mg K_2SiO_3/L	93,38 ^{ab}	-6,08	37,28 ^{b}	-13,02
CT3: 513 mg K_2SiO_3/L	87,01 ^{b}	-12,45	30,81 ^{b}	-19,50
CT4: 770 mg K_2SiO_3/L	92,50 ^{ab}	-6,96	48,57^{a}	-1,74
CV (%)	*5,33*	-	*18,70*	-
$LSD_{0,05}$	*7,49*	-	*12,48*	-

Các chữ cái (a, b) biểu diễn mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cột với xác suất P ≤ 0,05.

Tỷ lệ bệnh đốm phấn trên cây dưa lưới giai đoạn 33 ngày trong khoảng 87 - 99%, chỉ số bệnh 30 - 50%. Ảnh hưởng của silicate kali nồng độ 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L làm giảm 13 - 19% chỉ số bệnh, trong khi đó liều phun 770 mg K_2SiO_3/L không làm giảm chỉ số bệnh. Tỷ lệ bệnh giảm khoảng 6 - 12% ở cả 3 công thức phun silicate kali.

Kết quả đề tài cũng thống nhất với nhiều công trình nghiên cứu về hiệu quả của Si đối với cây trồng. Theo Datnoff và cộng sự (1991) [4], Si đóng vai trò như chất dinh dưỡng trực tiếp hoặc gián tiếp làm tăng cường sự sinh trưởng, cải thiện năng suất cây trồng và chất lượng nông sản. Mặc dù Si dường như không phải là chất dinh dưỡng thiết yếu cho sự sinh trưởng thực vật của phần lớn cây trồng, nhưng Si rất cần thiết đối với sự phát triển khỏe mạnh của nhiều loại cây trồng [5, 6, 7, 8].

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón lá silicate kali trên cây cà chua

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đến các yếu tố cấu thành năng suất, độ Brix và năng suất quả cà chua trình bày qua bảng 4. Phun silicate kali với liều lượng 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L làm tăng số quả/cây khác biệt có ý nghĩa thống kê; đồng thời cũng có xu hướng làm tăng trọng lượng quả khá rõ so với đối chứng phun nước lã và công thức phun liều lượng 770 mg K_2SiO_3/L.

Bảng 4. Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đến các yếu tố cấu thành năng suất, độ Brix và năng suất quả cà chua

Công thức	Trọng lượng quả (g/quả)	Số quả (quả/cây)	Độ Brix (%)	Năng suất		
				(kg/ô)	So đối chứng	
					(kg/ô)	(%)
CT1: Nước lã (Đối chứng)	2,72	89 ^{b}	19,9	0,95 ^{b}	-	-
CT2: 257 mg K_2SiO_3/L	3,08	124^{a}	22,7	1,52^{a}	0,56	59
CT3: 513 mg K_2SiO_3/L	3,17	118^{ab}	22,0	1,47^{a}	0,51	54
CT4: 770 mg K_2SiO_3/L	2,45	103 ^{b}	24,6	0,99 ^{b}	0,04	4
CV (%)	*10,08*	*18,40*	*8,22*	*15,13*	-	-
$LSD_{0,05}$	*NS*	*32*	*NS*	*0,30*	-	-

NS (non-significant) khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Các chữ cái (a, b) biểu diễn mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cột với xác suất $P \leq 0,05$.

Sự khác biệt về độ Brix quả ở thời kì thu hoạch giữa các công thức chưa đạt ý nghĩa thống kê ở mức xác suất P = 0,05. Tuy nhiên, độ Brix quả có xu hướng gia tăng trong các công thức sử dụng silicate kali (độ Brix: 22,0 - 24,6%, so với đối chứng: 19,9%), đạt cao nhất ở công thức phun 770 mg K_2SiO_3/L. Cùng quy luật với sự gia tăng các chỉ tiêu cấu thành năng suất, tổng lượng quả thu được cao nhất ở hai công thức phun 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L, bội thu 54 - 59% so với đối chứng. Phun silicate kali nồng độ 770 mg K_2SiO_3/L cho năng suất tương đương đối chứng.

Giống cà chua Bi sai quả, khá dễ trồng nên được trồng nhiều vụ trong năm. Tuy nhiên, hạn chế của giống cà chua Bi hiện được trồng phổ biến ở nước ta trong điều kiện nhà màng thường bị hiện tượng nứt quả. Vụ cà chua thí nghiệm cũng xảy ra tình trạng nứt quả ở mức độ nhẹ. Trong 3 đợt thu quả rộ liên tiếp trong tháng 02/2014, tỷ lệ quả cà chua bị nứt được trình bày qua bảng 5. Bón silicate kali qua lá cho thấy có xu hướng làm giảm tỷ lệ nứt quả cà chua. Tuy nhiên, do số lần lặp trong từng công thức của các đợt lấy mẫu chưa đủ để xử lý thống kê nên kết quả này chỉ mang thính chất tham khảo.

Bảng 5. Ảnh hưởng của silicate kali bón qua lá đến tỷ lệ quả cà chua bị nứt

Công thức	Đợt 04/02/2016 (%)	Đợt 10/02/2016 (%)	Đợt 12/02/2016 (%)	Trung bình 3 đợt (%)
CT1: Nước lã (Đối chứng)	14,07	7,14	6,32	9,18
CT2: 257 mg K_2SiO_3/L	6,37	0,00	3,17	3,18
CT3: 513 mg K_2SiO_3/L	1,72	0,63	0,00	0,78
CT4: 770 mg K_2SiO_3/L	3,73	5,22	1,72	3,56

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Sử dụng silicate kali phun qua lá cho cây Dưa lưới với liều lượng 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L, phun 5 lần/vụ làm tăng trọng lượng quả, cho bội thu năng suất 12 - 25%, hạn chế tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm phấn trên lá.

Trên cây cà chua Bi trồng trong nhà màng, sử dụng silicate kali phun qua lá với liều lượng 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L giúp tăng số quả/cây và cải thiện độ Brix quả, năng suất quả tăng 54 - 59%.

Liều lượng silicate kali 770 mg K_2SiO_3/L không thể hiện hiệu quả tốt đối với sự phát triển cho năng suất quả đối với cây dưa lưới cây Cà chua Bi trong thí nghiệm.

4.2. Kiến nghị

Đề xuất sử dụng silicate kali phun qua lá cho cây Dưa lưới và cây cà chua Bi trồng trong nhà màng với liều lượng 257 mg K_2SiO_3/L và 513 mg K_2SiO_3/L, phun 5 lần/vụ.

Đánh giá hiệu quả kinh tế của việc sử dụng silicate kali phun qua lá trong các thực nghiệm diện rộng.

Tiếp tục nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của silicate kali đối với hiện tượng nứt quả cà chua Bi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Trần Thị Tường Linh, Võ Đình Quang, Lê Thị Lệ Hằng, Phan Liêu (2005 b), "Ảnh hưởng của việc bón lân, silicate natri và silicofluoride natri đến sự sinh trưởng và hấp thu dinh dưỡng của cây lúa trồng trên đất phèn trong nhà lưới", *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT,* (3+4)/2005, Nhà xuất bản Lao động Xã hội, Hà Nội, trang 33-36.
2. Trần Thị Tường Linh, Nguyễn Thị Liên (2012), *Ứng dụng silic trong việc nâng cao khả năng kháng bệnh đạo ôn* (do nấm *Piricularia oryzae) trên cây lúa*, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở, Viện Ứng dụng Công nghệ.
3. Mai Nhữ Thắng, Nguyễn Trường Sơn, và cộng sự (2009), "Ảnh hưởng của lượng bón natri silicate lỏng đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và phẩm chất lúa TH 3-3 trồng trên đất phù sa sông Hồng", *Khoa học Đất*, số 32/2009, Hội Khoa học Đất Việt Nam, trang 67-71.

Tiếng Anh

4. Datnoff E. L., Raid R. N., Snyder G. H., Jones D. B. (1991), "Effect of Calcium Silicate on Blast and Bron Spot Intensities and Yields of Rice", *The American Phytopathological Society, Plant Disease*, Vol. 75 No 7, pp. 729-732.
5. Mengel K., Kirkby E. A. (1987), Principles of plant nutrition, 4th Edition, International Potash Institute Bern, Switzerland.
6. Miyake Y., Takahashi E (1978), "Silicon deficiency of tomato plant", *Soil Sci. Plant Nutr.* 24, pp. 175-189.
7. Nagabovanalli B. Prakash, Nagaraj H., Vasuki N., Siddaramappa R., Itoh S. (2002), *Effect of recycling of plant silicon for sustainable rice farming in South India*, 17th WCSS, 14-21 August 2002, Thailand.
8. Raven J. A. (1983), "The transport and function of silicon in plants", *Biol. Rev.* 58, pp. 179-207.

RESEARCH ON THE EFFECT OF FOLIAR SPRAYING OF POTASSIUM SILICATE ON *Cucumis melo* Li. AND *Licopersicum esculentum* Mill. CULTIVATED AT GREEN HOUSE

ABSTRACT

Foliar spraying of potassium silicate with doses of 257 mg K_2SiO_3/L and 513 mg K_2SiO_3/L, spraying 5 times per crop increased fruit yields of *Cucumis melo* Li. and *Licopersicum esculentum* Mill., decreased the damage of disease that caused by *Pseudoperonospora cubensis* on *Cucumis melo* Li. leaves.

Key words: potassium silicate, foliar spraying, *Cucumis melo* Li., *Licopersicum esculentum* Mill.

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ VÀ CƯỜNG ĐỘ ÁNH SÁNG ĐƠN SẮC TỪ ĐÈN LED ĐẾN KHẢ NĂNG HÌNH THÀNH VÀ PHÁT TRIỂN CHỒI *IN VITRO* CÂY GẤC (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Sgreng.)

Trần Nguyên Chất, Phạm Đức Toàn, Bùi Minh Trí
Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông lâm Tp. HCM
Email: buiminhtri@gmail.com

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là xác định ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng sử dụng đèn LED đỏ, LED xanh dương tốt nhất cho quá trình nuôi cấy mô cây gấc *in vitro*. Chồi gấc phát sinh từ mô sẹo được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 30 g/l sucrose và 8 g/l agar. Bổ sung BA ở nồng độ trong khoảng từ 2,0 mg/l, 2,4-D ở nồng độ thay đổi từ 2,0 mg/l, IBA 0,5 mg/l và được đặt dưới chế độ chiếu sáng bằng đèn đơn sắc đỏ (bước sóng 660 nm), đèn đơn sắc xanh dương (bước sóng 460 nm) hoặc chiếu sáng kết hợp đèn LED đỏ và LED xanh dương ở các tỷ lệ khác nhau. Cường độ chiếu sáng được thay đổi ở các mức 200, 400, 600 và 800 lux. Kết quả thực nghiệm cho thấy chế độ chiếu sáng bằng đèn LED với tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp với 25% LED xanh dương ở cường độ 400 lux là tốt nhất cho sự hình thành cụm chồi. Chồi của cây gấc *in vitro* có khả tăng chiều cao tốt nhất dưới chế độ chiếu sáng 100% bằng đèn LED đỏ ở cường độ 600 lux. Các kết quả này cho thấy việc điều chỉnh chế độ chiếu sáng đóng vai trò quan trọng trong việc nâng cao hiệu quả quá trình nhân giống ở cây gấc *in vitro*.

Từ khóa: cường độ chiếu sáng, LED, *Momordica cochinchinensis,* Nhân giống *in vitro,* tạo chồi.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Công nghệ nuôi cấy mô ngày càng được nghiên cứu sâu hơn nhằm tối ưu hóa quá trình nhân giống, rút ngắn thời gian, giảm giá thành sản xuất. Trong nuôi cấy mô thực vật hiện nay, khi sử dụng nguồn sáng đèn huỳnh quang, chi phí điện năng trong phòng nuôi cấy mô bao gồm chi phí chiếu sáng (65%) và (25%) để làm mát phòng nuôi cấy, chiếm tỷ lệ lớn trong giá thành sản phẩm. Đèn LED (Light Emiting Diodes) với điểm mạnh là tiết kiệm điện, tuổi thọ cao, phát nhiệt ít và không ảnh hưởng tới môi trường. Bên cạnh đó, bước sóng đèn LED phát ra có khoảng phổ ánh sáng hẹp, thuận lợi cho việc nghiên cứu về quang sinh học. Các nghiên cứu và ứng dụng của đèn LED được các nước trên thế giới thực hiện cho thấy sự nổi trội hơn so với các nguồn sáng thông thường khác bởi hiệu suất phát quang cao, độ chiếu xa tăng, tiết kiệm điện và không gây ô nhiễm môi trường.

Gấc là một cây trồng truyền thống có giá trị cao. Gấc là loại cây đơn tính biệt chu (cây đực và cây cái riêng), trồng bằng hạt sau một thời gian mới xác định được cây đực hay cây cái, cây đực thì không cho quả làm tốn thời gian và chi phí. Việc xây dựng một qui trình nuôi cấy tái sinh hoàn thiện sẽ là một bước giúp giải quyết hữu hiệu chất lượng giống cho ngành trồng cây gấc. Nghiên cứu này được tiến hành để xác định chế độ chiếu sáng đèn LED hiệu quả nhất đáp ứng cho quá trình nhân giống *in vitro* cây gấc.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

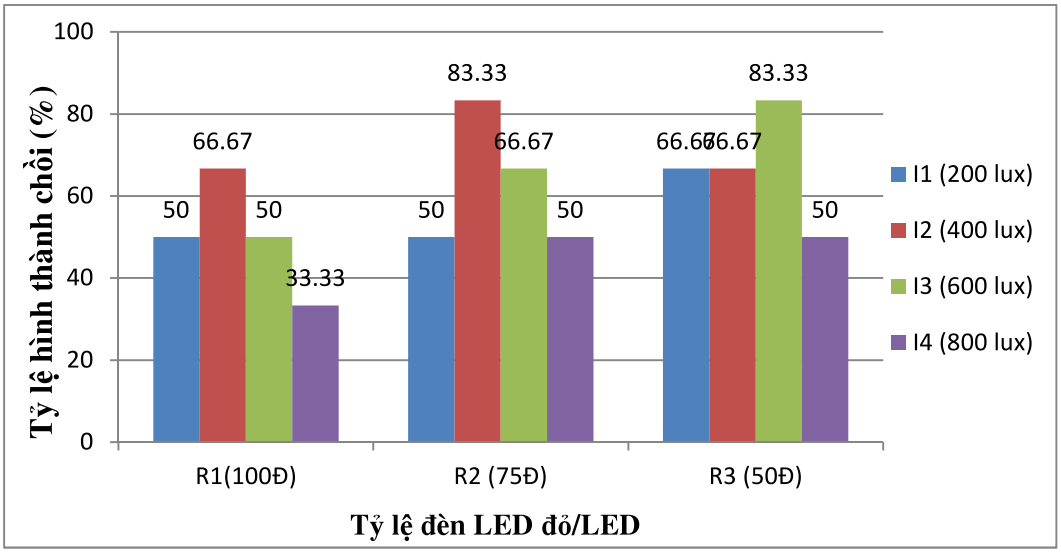
Môi trường cơ bản dùng trong các thí nghiệm là môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung sucrose 30g/l và agar 8g/l; Môi trường nuôi cấy được hiệu chỉnh về pH 5,8 và hấp khử trùng trong 20 phút ở nhiệt độ 121°C và áp suất 1 atm. Nguồn sáng sử dụng gồm đèn LED đỏ (bước sóng 660 nm) và đèn LED xanh dương (bước sóng 460 nm). Các nghiệm thức được đặt trong ánh sáng đèn LED với bốn cường độ chiếu sáng (I) 200, 400, 600, 800 lux, với tỷ lệ ánh sáng đèn LED

đỏ/LED xanh dương là: 100% đèn LED đỏ, 75% đèn LED đỏ + 25% đèn LED xanh lục, 50% đèn LED đỏ + 50% đèn LED xanh dương và 100% ánh sáng đèn huỳnh quang ở cường độ chiếu sáng 2000 lux làm đối chứng.

Hàm lượng chlorophyll trong mẫu được xác định theo phương pháp Arnon (1949). Mỗi nghiệm thức lấy 3 mẫu lá; mỗi mẫu có khối lượng 25 mg được cắt nhỏ, cho vào ống nghiệm chứa 10 ml acetone 80%, đậy kín và đặt trong tối ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ sau đó tiến hành đo mật độ quang ở hai bước sóng 645 nm (OD_{645}) và 663 nm (OD_{663}) bằng máy đo quang phổ. Số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ 2 loại đèn LED đỏ, LED xanh dương và các cường độ ánh sáng khác nhau lên tỷ lệ hình thành chồi từ mô sẹo cây gấc



Hình 1. Ảnh hưởng tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương và cường độ ánh sáng lên tỷ lệ hình thành chồi từ mô sẹo.

Theo kết quả thể hiện Hình 1 cho thấy, ở chế độ đèn LED R3 (50% LED đỏ: 50% LED xanh dương) cho tỷ lệ hình thành chồi trung bình cao nhất (66,67%), cao nhất ở nghiệm thức có cường độ ánh sáng 600 lux, thấp nhất ở cường độ 800 lux. Tỷ lệ hình thành chồi từ mô sẹo trung bình của nghiệm thức R2 (75% LED đỏ: 25% LED xanh dương) là 62,5%, cao nhất ở nghiệm thức cường độ ánh sáng 400 lux và thấp nhất ở cường độ ánh sáng 200 lux và 800 lux. Chế độ đèn LED R1 (100% LED đỏ) có tỷ lệ hình thành chồi trung bình thấp nhất (50%).

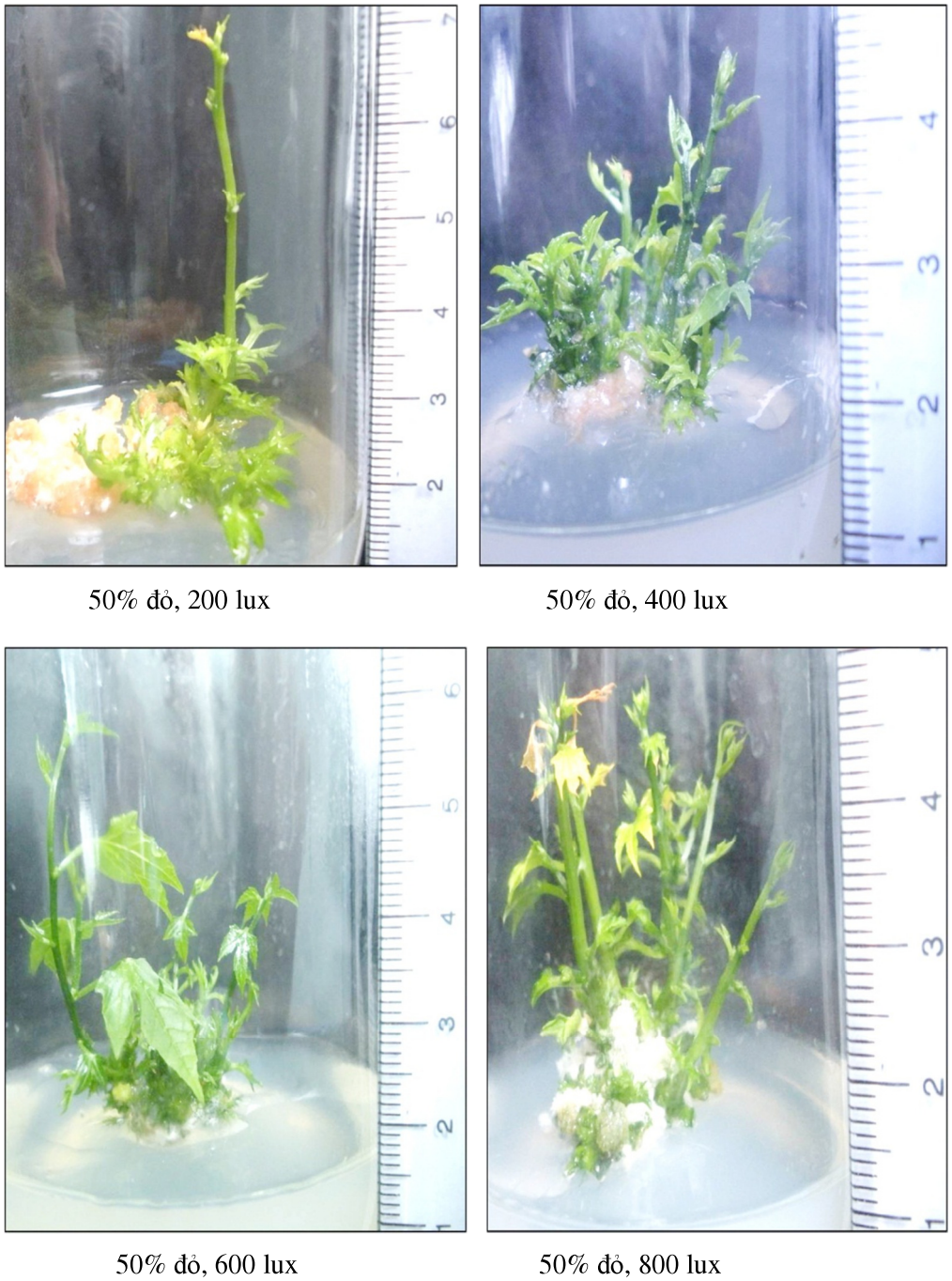
Xét về cường độ ánh sáng, cường độ chiếu sáng 800 lux cho kết quả hình thành chồi thấp nhất ở cả 3 chế độ đèn LED R1, R2 và R3. Điều này cho thấy cường độ ánh sáng cao (800 lux) làm ức chế quá trình hình thành chồi từ mẫu mô sẹo. Ở cường độ 200 lux, các nghiệm thức ở cả 3 chế độ đèn LED đỏ/LED xanh dương đều cho tỷ lệ hình thành chồi cao hơn hoặc bằng ở cường độ 200 lux. Các nghiệm thức có tỷ lệ hình thành chồi cao nhất nằm ở cường độ 600 lux ở mức độ 50% LED đỏ/50% LED xanh dương và cường độ ánh sáng 400 lux ở tỷ lệ 75% LED đỏ 25% LED xanh dương là 83,33%.

Qua kết quả thu được có thể thấy rằng tỷ lệ đèn LED phù hợp cho quá trình hình thành chồi từ mô sẹo tế bào lớp mỏng của cây gấc ở tỷ lệ 50% LED đỏ/50% LED xanh dương cường độ chiếu

sáng 600 lux và 75% LED đỏ/25% LED xanh dương cường độ chiếu sáng 400 lux. Cường độ chiếu sáng đèn LED cao hoặc thấp quá làm ức chế sự hình thành chồi từ mô sẹo cây gấc.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ 2 loại đèn LED đỏ, LED xanh dương và các cường độ chiếu sáng lên chiều cao chồi hình thành từ mô sẹo cây gấc

Ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED lên chiều cao trung bình chồi cây gấc phát sinh từ mô sẹo cho kết quả thể hiện trên Hình 2.



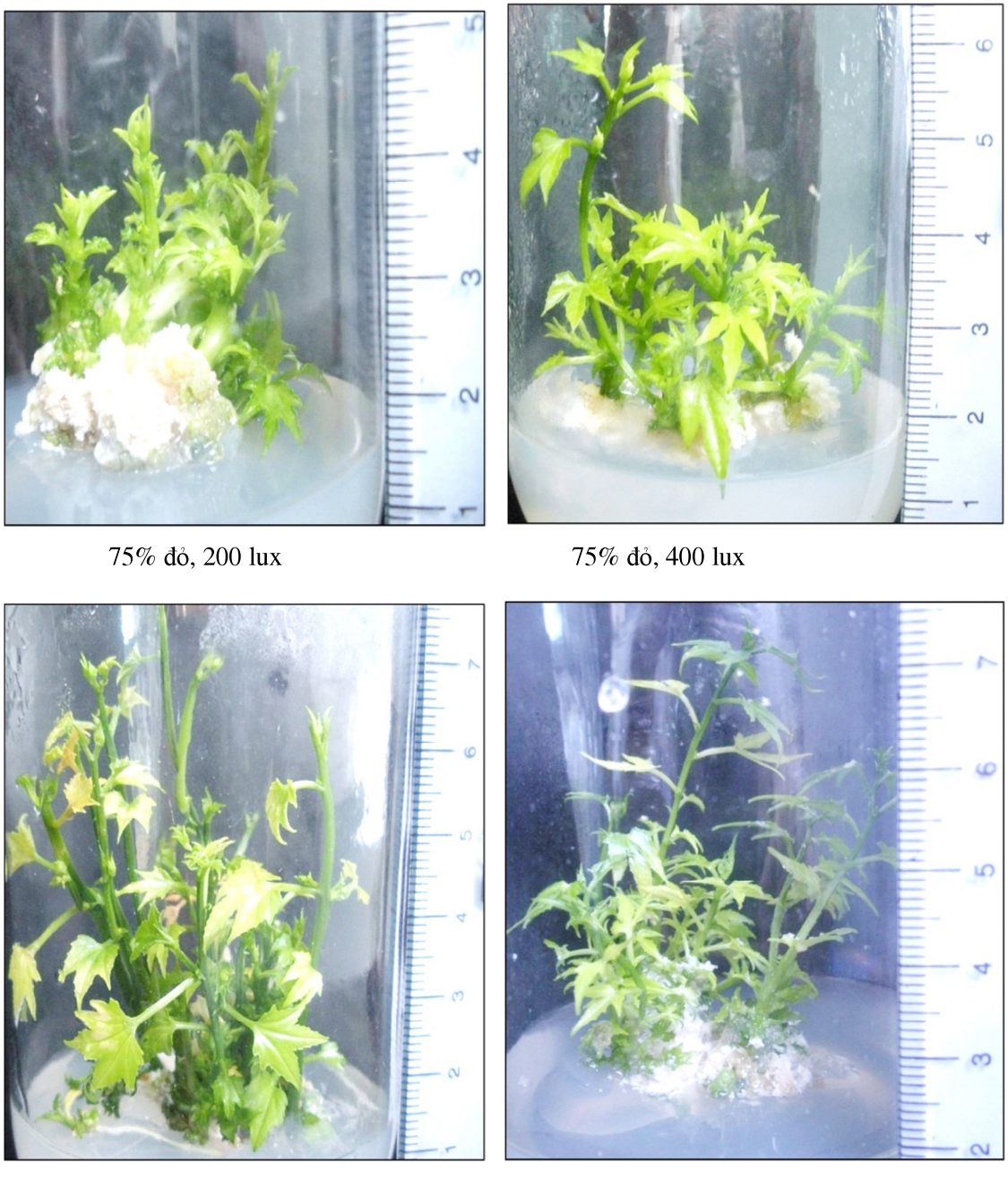
50% đỏ, 200 lux | 50% đỏ, 400 lux

50% đỏ, 600 lux | 50% đỏ, 800 lux

Hình 2. Cụm chồi phát sinh từ mô sẹo dưới tỷ lệ 50% đèn LED đỏ và 50% đèn LED xanh dương sau 60 ngày.

Hình 2 cho thấy, qua 60 ngày sau cấy tỷ lệ đèn R1 (100% LED đỏ) luôn có chiều cao chồi cao nhất, tiếp đến là tỷ lệ đèn R2 (75% LED đỏ/25% LED xanh dương), thấp nhất là tỷ lệ đèn R3 (50% LED đỏ/50% LED xanh dương). Điều này có thể gọi ý rằng ở tỷ lệ đèn LED đỏ càng cao có xu hướng kích thích sự phát triển chiều cao chồi gấc trong điều kiện có bổ sung BA.

Ở 60 ngày sau cấy, tỷ lệ đèn LED cho trung bình chiều cao chồi lớn nhất vẫn là R1. Trong khi đó không có sự khác biệt về mặt thống kê của trung bình chiều cao chồi giữa tỷ lệ R2 và R3. Tương tự 2 cường độ ánh sáng cho trung bình chiều cao chồi tốt nhất là 600 lux và 800 lux.



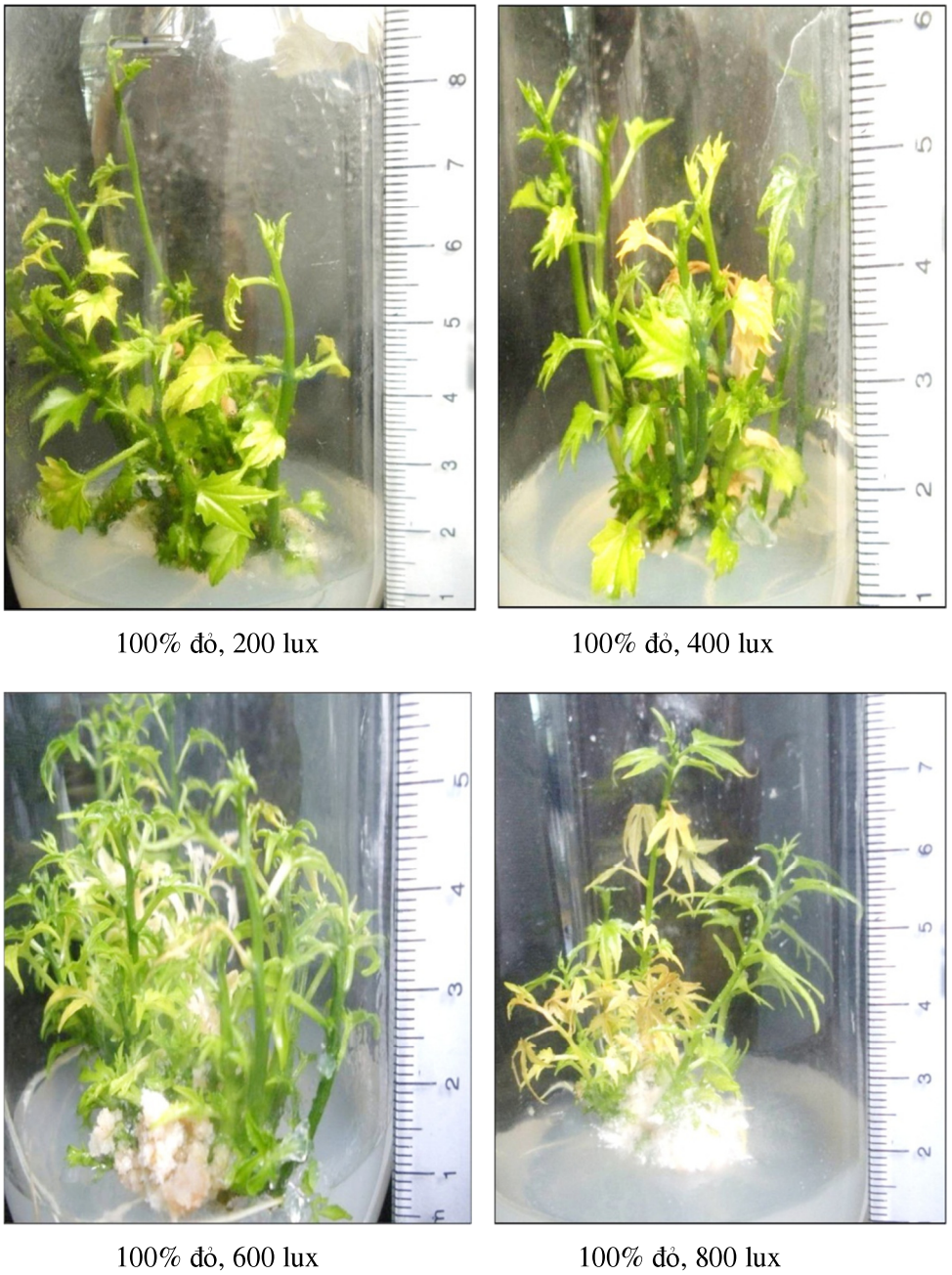
75% đỏ, 200 lux

75% đỏ, 400 lux

75% đỏ, 600 lux

75% đỏ, 800 lux

Hình 3. Cụm chồi phát sinh từ mô sẹo dưới tỷ lệ 75% đèn LED đỏ và 25% đèn LED xanh dương sau 60 ngày.



100% đỏ, 200 lux | 100% đỏ, 400 lux

100% đỏ, 600 lux | 100% đỏ, 800 lux

Hình 4. Cụm chồi phát sinh từ mô sẹo dưới tỷ lệ 100% đèn LED đỏ sau 60 ngày.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ 2 loại đèn LED đỏ, LED xanh dương và các cường độ chiếu sáng khác nhau đến hàm lượng chlorophyll của cây gấc *in vitro*

Cường độ ánh sáng điều hòa kích thước của lá cũng như phát sinh hình thái bao gồm sự hình thành sắc tố quang hợp và thủy tinh thể (Debegh và cs, 1992). Dưới đèn LED đỏ, lá của cây con được kéo dài và lượng chlorophyll giảm đi, nhưng được phục hồi với LED xanh, chứng tỏ lượng chlorophyll bị ảnh hưởng bởi ánh sáng LED (Dương Tấn Nhựt, 2010).

Ảnh hưởng của tỷ lệ đèn R1 (100% LED đỏ), R2 (75% LED đỏ, 25% LED xanh dương), R3 (50% LED đỏ, 50% LED xanh dương) và cường độ ánh sáng I1 (200 lux), I2 (400 lux), I3 (600 lux) và I4 (800 lux) đến hàm lượng chlorophyll của cây gấc *in vitro* được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ đèn LED đỏ, LED xanh dương và các cường độ chiếu sáng đến hàm lượng chlorophyll của lá chồi gấc *in vitro* sau 35 ngày nuôi cấy.

(Đơn vị tính: mg/g lá)

Tỷ lệ đèn LED (Yếu tố A)	Cường độ chiếu sáng (Yếu tố B)				Trung bình A
	I1 (200 lux)	I2 (400 lux)	I3 (600 lux)	I4 (800 lux)	
R1(100 Đ)	$4,88^{ef}$	$5,35^{def}$	$5,88^{def}$	$6,29^{de}$	$5,60^{C}$
R2 (75 Đ)	$5,34^{def}$	$9,98^{b}$	$12,79^{a}$	$14,28^{a}$	$10,60^{A}$
R3 (50 Đ)	$4,25^{f}$	$5,75^{def}$	$6,70^{cd}$	$8,11^{c}$	$6,20^{B}$
Trung bình B	$4,82^{D}$	$7,03^{C}$	$8,46^{B}$	$9,56^{A}$	
	F_A: 200,40**	F_B: 84,55**	F_{AB}: 20,1**	CV (%): 8,94	

*Ghi chú: Trung bình A, trung bình B ở các chữ khác nhau thì có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê, "^{ns}": không khác biệt về mặt thống kê, "**": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,01, "*": khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05.*

Nhìn vào bảng 1 cho thấy, hàm lượng chlorophyll của tỷ lệ R2 cao nhất và tỷ lệ R1 thấp nhất. Về cường độ ánh sáng, ở 200 lux các nghiệm thức ở cả 3 tỷ lệ ánh sáng đều cho hàm lượng chlorophyll thấp nhất và tăng dần theo cường độ ánh sáng, điều này chứng minh rằng cường độ ánh sáng và hàm lượng chlorophyll có tương quan tỷ lệ thuận với nhau.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ các kết quả đã thu được qua các thí nghiệm cho thấy ánh sáng đèn LED ở tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp với 25% LED xanh dương ở cường độ 400 lux tốt nhất cho sự hình thành cụm chồi từ mô sẹo cây gấc *in vitro*. Ánh sáng đèn LED ở tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp với 25% LED xanh dương ở cường độ 600 lux khi sử dụng nồng độ BA 2,0 mg/l tốt nhất cho sự gia tăng số chồi từ mô sẹo cây gấc *in vitro*. Ánh sáng đèn LED ở tỷ lệ 100% LED đỏ ở cường độ 600 lux cho khả năng kéo dài chồi cây gấc *in vitro* tốt nhất. Để làm rõ hơn cơ sở tác động của các chế độ chiếu sáng nên tiến hành xác định sự tương tác giữa ánh sáng đèn LED với từng chất điều hòa sinh trưởng khác trong quá trình nuôi cấy cây gấc *in vitro* và đi sâu tìm hiểu tác động của ánh sáng đơn sắc từ đèn LED đến các biểu hiện phát sinh hình thái và quá trình phân hóa của các loại tế bào ở cây gấc *in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Burke D. S., Smidt C.R. and Vuong L.T., 2005. *Momordica cochinchinensis, rosa roxburghii, wolfberry, and sea buckthorn—highly nutritional fruits supported by tradition and science*. Current Topics in Nutraceutical Research, 3 (4): 259 - 266.
2. Debnath B., Sinha S. and Sinha R. K., 2013. *In vitro differentiation and regeneration of momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng*. *Indian Journal of Plant Science,*. 2 (2): 17 - 21.
3. Dương Tấn Nhựt, 2003. *Đáp ứng của cây dâu tây in vitro dưới ánh sáng đơn sắc đỏ và xanh*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73(1): 43 - 52.
4. Dương Tấn Nhựt, 2011. *Công Nghệ Sinh Học Thực Vật: Nghiên Cứu Cơ Bản Và Ứng Dụng - Tập 1*. Nxb Nông Nghiệp, TP. HCM, 536 trang.
5. Economou A. and Read P.E., 1986. *Influence of light duration and irradiance on micropropagation of a hardy deciduous azalea*. J. Am. Soc. Hortic. Sci, 111: 146 - 149.

6. Lazzeri P.A. and Dunwell J. M., 1986. *In vitro regeneration from seedling organs of Brassica oleraceavar. italicacv. Green Comet. II. Effect of light conditions and explant size*. Ann. Bot, 58: 699 - 710.
7. Murashige, T and F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473 - 497.
8. Poudel, P.R., Kataoka, I. and Mochioka, R., 2008. *Effect of red and blue light emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes*. Plant Cell Tiss. Org. Culture.
9. Tôn Trang Ánh, 2010. *Nuôi cấy mô và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết cây gấc (Momordica cochinchinensis L. Spreng).* Luận văn thạc sĩ Khoa học cây trồng, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

INFLUENCE OF RATIOS AND INTENSITY OF MONOCHROMATIC LED TO SHOOT INDUCTION AND DEVELOPMENT OF *IN VITRO* GAC (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng)

ABSTRACTS

The purpose of this study was to determine the suitable LED lighting regimes *in vitro* culture of *Momordica cochinchinensis*. The callus were illuminated with red monochromatic light (wavelength 660 nm), blue monochromatic light (wavelength 460 nm) of different combined ratios. Variation of light intensity was 200, 400, 600 and 800 lux. Basal culture medium was MS supplemented with 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. The BA, 2,4-D and IBA concentrations were varied from 2 mg/l, 2 mg/l and 0.5 mg/l, respectively. Study results indicated that the light regime of 75% red LED and 25% blue LED at 400 lux was the best for shoot initiation. The shoot elongation was better under the 100% red and 600 lux LED light regime. The results suggest that lighting regime plays a very important role in morphogenesis and *in vitro* propagation efficiency of *Momordica cochinchinensis.*

Key words: *in vitro* propagation, LED, light intensity, *Momordica cochinchinensis,* shoot induction.

ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ ĐÈN LED ĐỎ-LED XANH DƯƠNG ĐẾN CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN CỦA CÂY ĐINH LĂNG LÁ NHỎ (*Polyscias fruticosa* (L.) HARMS) *IN VITRO*

Trịnh Việt Nga[1], Phạm Thị Minh Tâm[2], Triệu Thị Bích[1], Bùi Minh Trí[2]
[1]Viện Sinh học Nhiệt Đới - Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam
[2]Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường - Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh
Email: buiminhtri@gmail.com

TÓM TẮT

Chiếu sáng dùng đèn LED thay cho đèn huỳnh quang mở ra một tiềm năng lớn cho phép giảm chi phí chiếu sáng trong sản xuất cây giống nuôi cấy mô. Trong quá trình phát triển đặc biệt là quá trình quang hợp, thực vật sử dụng chủ yếu hai vùng ánh sáng đỏ và ánh sáng xanh dương. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định tỷ lệ ánh sáng đỏ và ánh sáng xanh dương phát ra từ đèn LED phù hợp nhất đối với việc nuôi cấy tái sinh và việc cảm ứng, phát triển chồi và rễ của cây đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa*) trong điều kiện *in vitro*. Các thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên. Các mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung sucrose (20 g/l), NAA (1 mg/l), agar (8 g/l) và than hoạt tính (1 g/l). Các mẫu đinh lăng *in vitro* được chiếu sáng với hai loại đèn LED đỏ và LED xanh dương ở các tỷ lệ kết hợp khác nhau. Cường độ chiếu sáng cho các cây thí nghiệm được điều chỉnh ở mức 600 lux. Kết quả đạt được cho thấy ở các loại tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đơn sắc, cây đinh lăng *in vitro* cho tỷ lệ tái sinh chồi và số chồi cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Chiều cao chồi đạt được cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương. Cây đinh lăng *in vitro* có số rễ, chiều dài rễ, chiều cao cây, số lá cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương.

Từ khóa: *In vitro*. LED, Polyscias fruticosa, tạo chồi, tạo rễ,

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đinh lăng không chỉ sử dụng làm rau xanh mà còn là một vị thuốc có tác dụng bồi bổ sức khỏe, chữa được nhiều chứng bệnh (Lutomski *et al.,* 1992). Nhu cầu mở rộng diện tích canh tác và nhu cầu cây giống đinh lăng hiện rất cao, dẫn đến việc cần phải sản xuất số lượng lớn cây giống chất lượng tốt và đồng nhất. Nuôi cấy mô là một trong những kỹ thuật mang lại hiệu quả nhân giống cao, tuy nhiên giá thành cây giống còn cao đặc biệt do chi phí tiêu hao điện năng quá lớn. Việc ứng dụng một nguồn sáng hiệu quả và tiết kiệm chi phí hơn sẽ là một giải pháp hiệu quả về lâu dài cho lĩnh vực nuôi cấy mô trong cả nghiên cứu và ứng dụng (Nguyễn Bá Nam và Dương Tấn Nhựt, 2012). Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng sự kết hợp giữa ánh sáng xanh và đỏ có tác động đến sự sinh trưởng của một số cây. Quang phổ vùng ánh sáng đỏ và ánh sang xanh dương trùng với quang phổ hấp thu cực đại diệp lục tố của cây, do đó cây có thể hấp thụ tối đa để chuyển năng lượng ánh sáng thành năng lượng tế bào cho cây sử dụng. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng kết hợp của tỷ lệ hai loại đèn đơn sắc đỏ và xanh dương sẽ được thảo luận.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu dùng trong quá trình nuôi cấy là các chồi của cây đinh lăng (*Polycias fruticosa* (L.) Harms) *in vitro* do phòng Công Nghệ tế bào thực vật - Viện Sinh học nhiệt đới cung cấp. Nguồn sáng sử dụng gồm đèn LED đỏ (bước sóng 660 nm) và đèn LED xanh dương (bước sóng 460 nm). Các nghiệm thức được đặt trong ánh sáng đèn LED với các tỷ lệ ánh sáng đèn LED đỏ/LED xanh (R) là 100% đỏ, 75% đỏ + 25% xanh dương, 50% đỏ + 50% xanh dương ở cường độ chiếu sáng 600

lux. Hàm lượng diệp lục tố trong mẫu được xác định theo phương pháp Arnon (1949). Các mẫu cấy được nuôi cấy trên môi trường Môi trường MS (Murashige – Skoog, 1962) có bổ sung sucrose (20 g/l), NAA (1 mg/l), agar (8 g/l) và than hoạt tính (1 g/l). Bình nuôi cấy là bình thủy tinh 250 ml có chứa 50 ml môi trường. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH từ 5,7 – 5,8. Thời gian chiếu sáng: 16 giờ/ngày. Cường độ chiếu sáng 2.000 lux. Độ ẩm trung bình: 70 – 80%. Nhiệt độ trung bình ở không gian bên dưới hệ thống chiếu sáng: 25 ± 2°C. Số liệu thí nghiệm được thu thập, tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA). Kết quả phân hạng theo Ducan bằng chương trình SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến khả năng tái sinh và phát triển chồi cây đinh lăng lá nhỏ *in vitro*

Kết quả trình bày trong Bảng 1 thể hiện rõ ảnh hưởng khác nhau của các hệ thống chiếu sáng đơn sắc đến tỷ lệ mẫu tái sinh chồi và số chồi của mẫu đinh lăng. Sau 30 ngày nuôi cấy, chồi đinh lăng được chiếu sáng với đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương đạt tỷ lệ mẫu tái sinh chồi cao nhất. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với các tỷ lệ ánh sáng còn lại.

Bảng 1. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến tỷ lệ mẫu tái sinh chồi và số chồi đinh lăng *in vitro*

Tỷ lệ đèn	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Số chồi (chồi/cây)	
		20 NSC	30 NSC
Đèn huỳnh quang	77,78 ^{ab}	1,89 ^{ab}	2,89 ^{abc}
100% đỏ	66,67 ^{bc}	1,67 ^{bc}	2,78 ^{bc}
75% đỏ + 25% xanh dương	85,19 ^{a}	2,11 ^{a}	3,33 ^{a}
50% đỏ + 50% xanh dương	81,48 ^{ab}	1,89 ^{ab}	3,11 ^{ab}
25% đỏ + 75% xanh dương	70,37 ^{abc}	1,89 ^{ab}	2,89 ^{abc}
100% xanh dương	59,26 ^{c}	1,44 ^{c}	2,44 ^{c}
CV(%)	12,85	12,16	8,94
$F_{tính}$	3,22*	3,24*	4,01*

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. *: Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,05.*

Sự kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương chiếu sáng từ đèn LED đơn sắc cho thấy sau 20, 30 ngày nuôi cấy (NSC). Dưới chế độ chiếu sáng 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương mô nuôi cấy đinh lăng đã đạt số chồi cao nhất, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED còn lại. Ở 20 ngày sau cấy, đã có sự khác biệt về số chồi giữa các tỷ lệ đèn LED. Tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho số chồi cao nhất (2,11 chồi) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đèn LED còn lại. Khi được chiếu sáng tỷ lệ 100% LED xanh dương đinh lăng đạt số chồi thấp nhất (1,44 chồi). Nghiệm thức HQ có số chồi bằng với tỷ lệ 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương và tỷ lệ 25% LED đỏ kết hợp 75% LED xanh dương đạt 1,89 chồi. Sự khác biệt giữa hai nghiệm thức không có ý nghĩa về mặt thống kê. Đến 30 ngày sau cấy, số chồi ở các nghiệm thức đèn LED tiếp tục tăng. Nghiệm thức có số chồi cao nhất là tỷ lệ 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương đạt 3,33 chồi. Nghiệm thức cho số chồi thứ hai là tỷ lệ 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương đạt 3,11 chồi. Nghiệm thức cho số chồi thấp nhất là tỷ lệ 100% LED xanh dương với 2,44 chồi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê gữa các nghiệm thức.

Bảng 2. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến số lá và chiều cao chồi đỉnh lăng *in vitro*

Chỉ tiêu	Tỷ lệ đèn	Thời điểm theo dõi		
		10 NSC	20 NSC	30 NSC
Số lá (lá/chồi)	Đèn huỳnh quang	3,78	4,89 ^{ab}	6,11 ^{ab}
	100% đỏ	3,56	4,11 ^{c}	5,33 ^{b}
	75% đỏ + 25% xanh dương	4,11	5,22 ^{a}	6,78 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	4,11	4,78 ^{ab}	6,56 ^{a}
	25% đỏ + 75% xanh dương	3,67	4,56 ^{bc}	5,56 ^{b}
	100% xanh dương	3,56	4,56 ^{bc}	5,11 ^{b}
	CV(%)	8,76	6,48	6,38
	$F_{tính}$	2,89^{ns}	4,58*	9,74**
Chiều cao chồi (cm)	Đèn huỳnh quang	3,46	4,10 ^{abc}	4,75 ^{ab}
	100% đỏ	3,39	4,08 ^{abc}	4,72 ^{ab}
	75% đỏ + 25% xanh dương	3,55	4,36 ^{ab}	5,18 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	3,66	4,43 ^{a}	5,19 ^{a}
	25% đỏ + 75% xanh dương	3,41	4,03 ^{c}	4,61 ^{ab}
	100% xanh dương	3,39	3,81 ^{c}	4,23 ^{b}
	CV(%)	5,14	4,47	5,84
	$F_{tính}$	1,03^{ns}	4,50*	5,12**

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ns: không khác biệt; *: Sự khác biệt ở mức ý nghĩa α=0,05; **: Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,01.*

Số liệu được trình bày ở Bảng 2 thể hiện rõ vai trò của ánh sáng đơn sắc đến số lá trên chồi đỉnh lăng *in vitro* ở các thời điểm 10, 20, 30 ngày sau nuôi cấy. Sau 20 ngày nuôi cấy, chồi đỉnh lăng được chiếu sáng 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho số lá trên chồi cao nhất (5,22 lá/chồi), thấp nhất ở 100% LED đỏ (4,11 lá/chồi). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức này. Ở 30 ngày sau cấy, quá trình kết hợp giữa tỷ lệ ánh sáng đỏ/xanh dương ánh sáng đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ chiếu sáng 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương. Ở ánh sáng đèn HQ chồi đỉnh lăng có cho chồi đỉnh lăng có số lá nhiều nhất (6,78 lá/chồi). số lá đạt 4,75 lá/chồi, thấp hơn số lá ở nghiệm thức đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương (4,4 lá/chồi). Sự khác biệt giữa hai nghiệm thức rất có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với kết quả của Dương Tấn Nhựt (2003) khi nghiên cứu khả năng đáp ứng của cây dâu tây *in vitro* dưới ánh sáng đơn sắc đỏ và xanh dương, số lá của mẫu cấy với sự kết hợp ánh sáng LED đỏ và LED xanh dương lớn hơn mẫu cấy dưới ánh sáng đèn huỳnh quang và LED đỏ hoàn toàn.

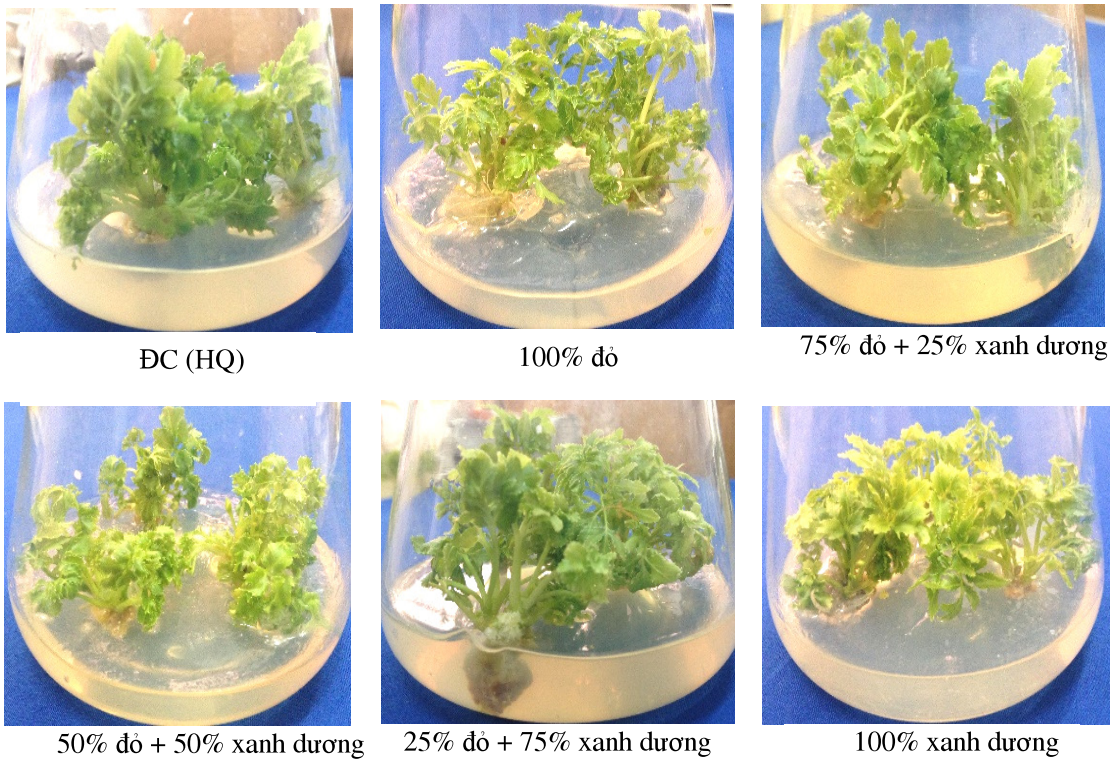
Xét về chiều cao chồi đỉnh lăng cho thấy sau 30 ngày nuôi cấy, tỷ lệ đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương luôn có chiều cao chồi cao nhất, tiếp đến là nghiệm thức tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương, thấp nhất là tỷ lệ đèn 100% LED xanh dương. Điều này gợi ý rằng tỷ lệ LED đỏ càng cao đã kích thích sự phát triển chiều cao chồi đỉnh lăng trong điều kiện có bổ sung BA. Về mặt thống kê, ở 20 ngày sau cấy, nghiệm thức tỷ lệ đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương đã đạt chiều cao chồi lớn nhất (4,43 cm). Ở 30 ngày sau cấy, hai nghiệm thức tỷ lệ đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương và tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho trung bình chiều cao chồi lớn nhất đạt 5,19 cm và 5,18 cm.

3.2. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến hàm lượng diệp lục tố chồi đinh lăng *in vitro*

Bảng 3. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến hàm lượng diệp lục tố chồi đinh lăng *in vitro*

Tỷ lệ đèn	Hàm lượng diệp lục tố (mg/g lá)
Đèn huỳnh quang	11,66 [b]
100% đỏ	8,65 [d]
75% đỏ + 25% xanh dương	13,44 [a]
50% đỏ + 50% xanh dương	10,24 [c]
25% đỏ + 75% xanh dương	9,63 [cd]
100% xanh dương	6,35 [e]
CV(%)	4,63
$F_{tính}$	83,49**

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. **: Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,01.*



Hình 1. Chồi đinh lăng *in vitro* ở giai đoạn 30 NSC được chiếu sáng với một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương.

Qua bảng 3 cho thấy hàm lượng diệp lục tố ở nghiệm thức có tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương đạt 13,44 mg/g lá, cao hơn các nghiệm thức khác. Điều này dẫn đến sự phát triển chồi của nghiệm thức này là tốt nhất. Điều này cũng cho thấy khả năng quang hợp dùng ánh sáng đèn LED với tỷ lệ thích hợp làm tăng khả năng quang hợp của lá. Sự gia tăng hàm lượng diệp lục làm tăng khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên

cứu trước đây cho rằng sự kết hợp giữa ánh sáng của LED đỏ và LED xanh dương làm tăng khả năng sinh trưởng, phát triển và gia tăng tốc độ quang hợp của cây *Rehmannia glutinose* nuôi cấy *in vitro*. Trong khi đó, cây con nuôi cấy dưới hệ thống LED xanh hoặc LED đỏ có tốc độ quang hợp rất thấp (Haln *et al.,* 2000). Nghiệm thức đối chứng (đèn HQ) cho hàm lượng diệp lục tố là 11,66 mg/g lá cũng tương đối cao nhưng vẫn thấp hơn so với nghiệm thức tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê. Vì vậy, ở các nghiệm thức có ánh sáng xanh dương kết hợp với ánh sáng đỏ đều có khả năng tổng hợp hàm lượng diệp lục tố trong chồi đỉnh lăng cao hơn so với các nghiệm thức sử dụng 100% ánh sáng đỏ.

Qua các kết quả có thể khẳng định rằng ánh sáng đèn LED giữ vai trò quan trọng trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển của chồi đỉnh lăng *in vitro*. Sau 30 ngày nuôi cấy, đỉnh lăng nuôi dưới hệ thống ánh sáng đơn sắc đèn LED và ánh sáng đèn HQ (đối chứng) có sự khác biệt rõ rệt về các chỉ tiêu sinh trưởng. Đỉnh lăng đạt tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất khi chồi được chiếu sáng ở ánh sáng hỗn hợp 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Tuy nhiên, dưới ánh sáng hỗn hợp 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương chồi đỉnh lăng có chiều cao chồi cao nhất. Theo Muneer *et al.* (2014), ánh sáng xanh dương ở cường độ cao có tác dụng duy trì và hoạt hóa một số phức hợp protein lõi của hệ thống quang hóa PSI và PSII. Vì vậy, ở các nghiệm thức 100% LED đỏ, ánh sáng đỏ tổng hợp các phức hợp protein của màng thylakoid làm tăng hiệu quả quang hợp, nhưng do thiếu hụt ánh sáng xanh dương nên gây ảnh hưởng đến phức hợp của hệ thống quang hóa PSI và PSII. Điều này làm ảnh hưởng đến các hoạt động của chuỗi truyền điện tử trong lục lạp.

3.2. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến số rễ và chiều dài rễ cây đỉnh lăng *in vitro*

Bảng 4. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến số rễ và chiều dài rễ cây đỉnh lăng *in vitro*

Chỉ tiêu	Tỷ lệ đèn	Thời điểm theo dõi		
		10 NSC	20 NSC	30 NSC
Số rễ (rễ/cấy)	Đèn huỳnh quang	2,33	4,11 ^{ab}	5,22 ^{ab}
	100% đỏ	2,00	3,78 ^{b}	5,11 ^{ab}
	75% đỏ + 25% xanh dương	2,33	4,56 ^{a}	5,89 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	2,00	3,67 ^{b}	4,89 ^{ab}
	25% đỏ + 75% xanh dương	1,89	3,56 ^{b}	4,78 ^{b}
	100% xanh dương	1,89	3,44 ^{b}	4,22 ^{b}
	CV(%)	14,07	9,13	10,46
	$F_{tính}$	1,49 ^{ns}	4,15 *	3,30 *
Chiều dài rễ (cm)	Đèn huỳnh quang	2,34 ^{ab}	3,52 ^{b}	4,69 ^{ba}
	100% đỏ	2,13 ^{b}	3,14 ^{bc}	4,16 ^{b}
	75% đỏ + 25% xanh dương	2,71 ^{a}	3,96 ^{a}	5,21 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	2,29 ^{ab}	3,31 ^{bc}	4,41 ^{ba}
	25% đỏ + 75% xanh dương	2,08 ^{b}	3,09 ^{bc}	4,09 ^{b}
	100% xanh dương	1,88 ^{b}	2,59 ^{c}	3,29 ^{c}
	CV(%)	8,06	7,17	7,24
	$F_{tính}$	7,49 **	11,52 **	12,71 **

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ns: không khác biệt; *: Sự khác biệt ở mức ý nghĩa α=0,05; **: Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,01.*

Kết quả ghi nhận ở Bảng 4 cho thấy ở tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cây đinh lăng đạt số rễ (5,89 rễ) và chiều dài rễ (5,21cm) là cao nhất. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức LED còn lại.

Bảng 4. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến số lá và chiều cao và khối lượng cây đinh lăng *in vitro*

Chỉ tiêu	Tỷ lệ đèn	Thời điểm theo dõi		
		10 NSC	20 NSC	30 NSC
Số lá (lá/cây)	Đèn huỳnh quang	3,67	4,78 ^{ab}	5,44 ^{ab}
	100% Đỏ	3,44	4,33 ^{b}	5,33 ^{ab}
	75% đỏ + 25% xanh dương	3,78	5,33 ^{a}	6,11 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	3,44	4,33 ^{b}	5,22 ^{b}
	25% đỏ + 75% xanh dương	3,33	4,22 ^{b}	4,78 ^{b}
	100% xanh dương	3,22	4,00 ^{b}	4,78 ^{b}
	CV(%)	7,17	7,19	8,41
	$F_{tính}$	2,08^{ns}	6,62**	3,73*
Chiều cao cây (cm)	Đèn huỳnh quang	3,58	4,61 ^{ab}	5,64 ^{ab}
	100% Đỏ	3,37	4,48 ^{b}	5,59 ^{abc}
	75% đỏ + 25% xanh dương	3,89	5,14 ^{a}	6,12 ^{a}
	50% đỏ + 50% xanh dương	3,59	4,74 ^{ab}	5,69 ^{ab}
	25% đỏ + 75% xanh dương	3,48	4,45 ^{b}	5,42 ^{bc}
	100% xanh dương	3,37	4,20 ^{b}	5,00 ^{c}
	CV(%)	6,77	6,77	6,06
	$F_{tính}$	1,95^{ns}	3,11*	3,25*

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ns: không khác biệt; *: Sự khác biệt ở mức ý nghĩa α=0,05; **: Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,01.*

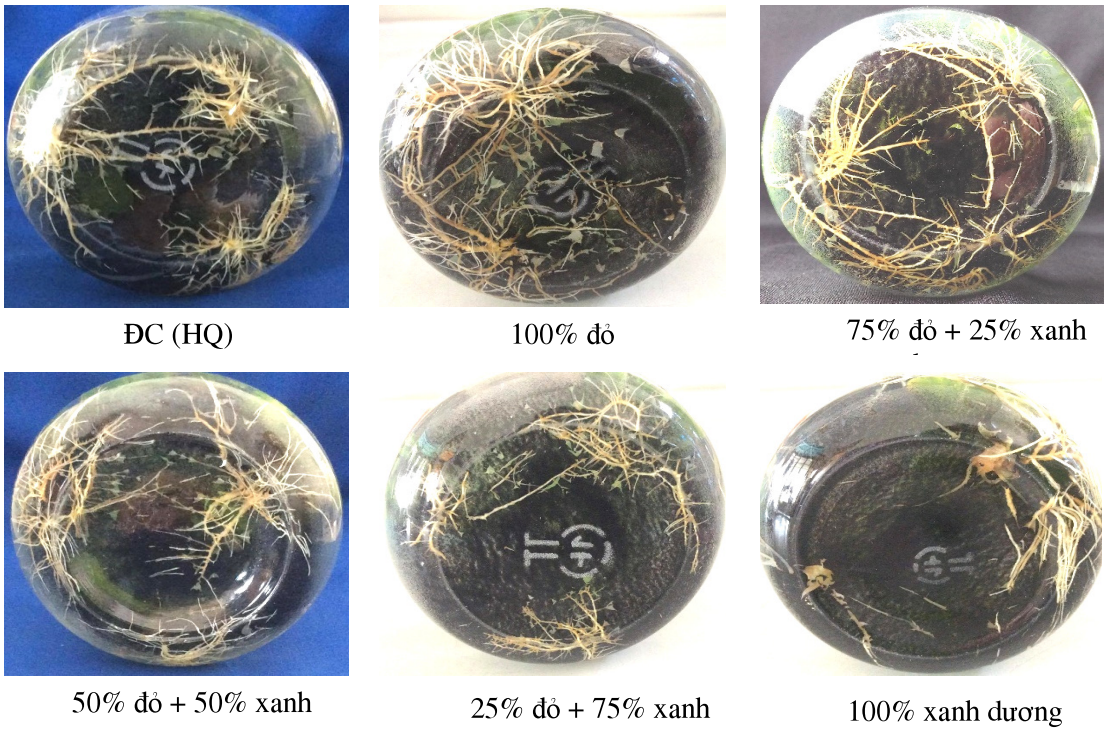
Về số rễ, ở 20 ngày sau cấy, cây đinh lăng nuôi bởi tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho chiều dài rễ dài nhất (4,56 cm) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức đèn LED còn lại (Bảng 4). Ở 30 ngày sau cấy, dưới tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cây đinh lăng cho rễ có chiều dài dài nhất (5,89 cm) và ngắn nhất khi chồi nuôi dưới tỷ lệ đèn 100% ánh sáng LED xanh dương (4,22 cm).

Về chiều dài rễ, ở 10 ngày sau cấy, nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho chiều dài rễ đạt 2,71 cm. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Sau 20 ngày sau cấy, chiều dài rễ giữa các nghiệm thức có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê. Nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho chiều dài rễ đạt 3,96 cm, cao hơn các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 100% LED xanh dương cho chiều dài rễ thấp nhất đạt 2,59 cm. Ở 30 ngày sau cấy, nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho chiều dài rễ đạt 5,21 cm cao hơn đối chứng (4,69 cm) và so với các nghiệm thức khác. Như vậy, cây đinh lăng khi được chiếu sáng ở nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho số rễ và chiều dài rễ nhiều hơn cây nuôi dưới ánh sáng đèn HQ và cây nuôi dưới các hệ thống ánh sáng đèn LED khác.

Số lượng rễ và chiều dài rễ của cây đinh lăng đã bị hạn chế khi được nuôi cấy dưới ánh sáng xanh dương. Hầu hết các cây đinh lăng khi được nuôi cấy dưới ánh sáng xanh dương đều cho số rễ

thấp. Moon *et al.* (2006) cũng cho rằng sự ra rễ được kích thích bởi ánh sáng đỏ và ức chế bởi ánh sáng xanh dương.

3.4. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến số lá và chiều cao cây đinh lăng *in vitro*



Hình 2. Rễ cây đinh lăng *in vitro* ở giai đoạn 30 ngày sau cấy được chiếu sáng với một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương.

Ảnh hưởng của tỷ lệ đèn LED đỏ/ LED xanh dương đến số lá và chiều cao của cây đinh lăng *in vitro* được thể hiện ở Bảng 4. Về số lá, tỷ lệ đèn cho số lá cao nhất trong suốt 30 ngày nuôi cấy là nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Nghiệm thức chiếu đèn 100% LED xanh dương cho số lá ít nhất có ý nghĩa về thống kê ở mức 0,01. Sau 20 ngày nuôi cấy, nghiệm thức cho kết quả số lá cao nhất là đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương đạt 5,33 lá. Nghiệm thức đối chứng đèn HQ có sự tăng trưởng số lá cao (4,78 lá). Sau 30 ngày nuôi cấy, cây đinh lăng đạt số lá cao nhất ở nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Thấp nhất ghi nhận ở hai nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 25% LED đỏ kết hợp 75% LED xanh dương và đèn 100% LED xanh dương không có sự khác biệt. Điều này gợi ý rằng, khi được chiếu sáng 100% LED xanh dương, cây đinh lăng cho số lá thấp nhất và số lá chỉ tăng dần khi tăng tỷ lệ ánh sáng đỏ.

Về chiều cao cây, qua 30 ngày nuôi cấy, nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương luôn cho chiều cao cây đạt được cao nhất. Nghiệm thức chiếu đèn 100% LED xanh dương cho chiều cao cây đạt được thấp nhất. Sau 20 ngày nuôi cấy, cây đinh lăng nuôi dưới hệ thống ánh sáng đơn sắc LED và ánh sáng đèn HQ có sự khác biệt về chiều cao. Cây đinh lăng cho chiều cao đạt được cao nhất khi đặt dưới nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương (5,14 cm), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Ở 30 ngày sau cấy, cây đinh lăng sinh trưởng tốt và cho chiều cao cây đạt được cao nhất (6,12 cm) khi chồi được nuôi dưới nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương

và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức khác, trong đó chiều cao cây thấp nhất (5,00 cm) khi cây nuôi dưới nghiệm thức chiếu đèn 100% LED xanh dương.

Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED khác nhau đến khối lượng tươi, khối lượng khô và tỷ lệ chất khô được thể hiện trong Bảng 5. Sự khác biệt về khối lượng tươi và khối lượng khô của cây đinh lăng *in vitro* rất có ý nghĩa thống kê. Ở tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cây đinh lăng *in vitro* đạt khối lượng tươi và khối lượng khô cao hơn so với cây Đinh lăng *in vitro* nuôi dưới các nghiệm thức đèn LED khác. Có thể là do nghiệm thức được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương cho cây nhiều lá và nhiều rễ làm khả năng tổng hợp sinh khối tươi và làm cho khối lượng khô trong cây cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của một số tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đến khối lượng tươi, khối lượng khô, tỷ lệ chất khô (%) cây đinh lăng *in vitro*

Tỷ lệ đèn	Khối lượng tươi (g/cây)	Khối lượng khô (g/cây)	Tỷ lệ chất khô (%)
Đèn huỳnh quang	0,93 ^{bc}	0,1 ^{b}	10,75 ^{ab}
100% đỏ	1,03 ^{b}	0,09 ^{b}	8,73 ^{bc}
75% đỏ + 25% xanh dương	1,63 ^{a}	0,16 ^{a}	9,81 ^{abc}
50% đỏ + 50% xanh dương	1,10 ^{bc}	0,08 ^{b}	7,27 ^{c}
25% đỏ + 75% xanh dương	0,83 ^{c}	0,08 ^{b}	9,63 ^{abc}
100% xanh dương	0,78 ^{c}	0,09 ^{b}	11,53 ^{a}
CV(%)	9,52	12,19	13,36
$F_{tính}$	28,40 **	19,33 **	3,46 *

*Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng ký tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. *: Sự Khác biệt ở mức ý nghĩa α=0,05; ** : Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức α = 0,01.*

Nghiệm thức chiếu đèn 100% LED xanh dương cây đinh lăng *in vitro* đạt tỷ lệ chất khô cao nhất (11,53%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với sự kết hợp của các nghiệm thức khác, trong đó cây đinh lăng *in vitro* được chiếu sáng với đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương cho tỷ lệ chất khô thấp nhất (7,27%).

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả đã thu nhận được cho thấy tỷ lệ đèn LED đỏ/LED xanh dương đơn sắc, cây đinh lăng *in vitro* cho tỷ lệ tái sinh chồi và số chồi cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương. Chiều cao chồi đạt được cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 50% LED đỏ kết hợp 50% LED xanh dương. Cây đinh lăng *in vitro* có số rễ, chiều dài rễ, chiều cao cây, số lá cao nhất khi được chiếu với tỷ lệ đèn 75% LED đỏ kết hợp 25% LED xanh dương.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Phòng Thí nghiệm Trọng điểm về Công nghệ Tế bào thực vật, Viện Sinh học Nhiệt đới đã hỗ trợ một số trang thiết bị và dụng cụ nghiên cứu. Xin cảm ơn Sở Khoa học Công nghệ Đồng Nai đã hỗ trợ kinh phí nghiên cứu phát triển cây đinh lăng trong giai đoạn 2016-2018.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đinh Cát Điềm (2014). Ảnh hưởng của ánh sáng đơn sắc từ đèn LED (Light Emitting diode) đến quá trình phát sinh hình thái và khả năng tái sinh của một số giống lúa nuôi cấy *in vitro*. Luận văn thạc sĩ Sinh học thực nghiệm, Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh-2014

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. "Nút") nuôi cấy *in vitro,* Tạp chí Công nghệ sinh học, 7(1):93 – 100.

Dương Thị Mỹ Thu (2012). Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng đèn LED và các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh cây thanh hao *(Artemisia annua L.) in vitro,* Luận văn Thạc sĩ khoa học Nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm Tp.HCM-2012.

Khattak A.M., Simon P. (2004). Light quality and temparature effects on *Antirrhinum* growth and development, Journal Zhejiang Univ. 6:119 – 124.

Murashige. T and Skoog. F (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Philipsantatum Vol 15 pp 473-498.

Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Đình Lâm, Dương Tấn Nhựt (2012). Ảnh hưởng của loại mẫu cấy và hệ thống chiếu sáng đơn sắc lên khả năng tái sinh chồi cây hoa cúc (*Chrysanthemum morifolium ramat.* cv. "Jimba") nuôi cấy *in vitro.* Tạp chí Khoa học và Công nghệ: 50(6):595 – 606.

Nguyễn Quỳnh Như Anh (2016). Xác định tỷ lệ và cường độ chiếu sáng tối ưu từ đèn LED đơn sắc trong quá trình nhân giống lan Dendrobium *in vitro.* Luận văn thạc sỹ Khoa học cây trồng, đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh-2016.

Trần Nguyên Chất, (2013). Nghiên cứu tác động của ánh sáng đèn LED lên khả năng tái sinh cây gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) *in vitro* thông qua nuôi cấy lớp mỏng tế bào. Luận văn thạc sỹ Công nghệ sinh học, Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh-2013.

Wang W.R, Zhang H.X, Zhao B, Zuan XF (2001). Improved growth of *Artemisia annua* L. hairy roots and artemisinin production under red light conditions, Biotechnology Lett. 23:1971 – 1973.

INFLUENCE OF DIFFERENT RATIOS BETWEEN RED-LED AND BLUE-LED ON INVITRO PROPAGATION OF *Polyscias fruticosa*

ABSTRACTS

Polyscias fruticosa (L.) Harms, a medicial plant, has being increasingly grown in recent years in Vietnam owing to a high demand of medicament production. Tissue culture is an advanced way to propagate enough quantity and quality of the plantlets to meet the demand. However, price of the tissue culture plantlets is still relatively high partly, because lighting expense. The aim of this study was to identify the most effective monochromatic ratios between red LED and blue LED on regeneration, shoot and root induction as well as *invitro* development of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms. The experiments were arranged in Completely Randomized Design. The invitro samples were put on MS media suplemented with sucrose (20 g/l), NAA (1mg/l), agar (8 g/l) and charcoal (1 g/l). The samples were illuminated with LED light regimes including: 100 red-LED, [75 red-LED+25 blue-LED] and [50 red-LED + 50 blue-LED]. The resuls revealed that the ratio of 75% red LED combined with 25% blue LED was the most suitable for improvement of shoot regeneration and bud induction. The ratio of 50% red LED combined with 50% blue LED was suitable for shoot elongation. The ratio of 75% red LED combined with 25% blue LED was suitable for increasing root numbers, root length, number of leaves and shoot height.

Keywords: *Invitro*, LED, *Polycias fruticosa*, root induction, shoot induction.

NGHIÊN CỨU NGUYÊN NHÂN GÂY RA BỆNH XƠ ĐEN TRÊN MÍT CHIANG RAI (*Artocapus heterophyllus* Lam.) VÀ BƯỚC ĐẦU ĐỀ RA BIỆN PHÁP KHẮC PHỤC

***Lê Văn Bé*[(1)], *Nguyễn Thành Nhân*[(1)], *Trương Hoàng Ninh*[(1)], *Nguyễn Xuân Linh*[(2)]**
[(1)]*Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Đại Học Cần Thơ,*
Email lvbe@ctu.edu.vn
[(2)] *Khoa Dược Điều dưỡng, trường đại học Tây Đô*

TÓM TẮT

Triệu chứng trái mít bị xơ đen vào mùa mưa của mít Chiang rai chưa được biết nguyên nhân. Bằng những quan sát trái non bị xơ đen cho thấy vết đen xuất hiện phía dưới của vỏ của trái. Giả thuyết được cho là vi khuẩn xâm nhập vào trái non bằng hai con đường qua nướm nhụy cái lúc nhận phấn và qua khe hở giữa các múi mít khi có nước mưa. Lấy xơ đen của trái cấy vào môi trường cho thấy khuẩn lạc phát triển rất nhanh sau 12 giờ. Nghiệm thức bao hoa cái bằng ly nhựa lúc hoa chưa nhận phấn nhằm ngăn nước mưa thì tỷ lệ trái bị xơ đen là 12%, trái được cung cấp ẩm độ có tỷ lệ xơ đen 87% và đối chứng 69%. Tuy nhiên, ly nhựa nhỏ bao quanh trái làm ngăn cản hiện tượng thụ phấn gây ra múi lép. Trong thí nghiệm khác, khi che mưa cho trái non bằng miếng nylon tỷ lệ trái bị xơ đen là 13%, đối chứng 66%. Hơn nữa, nghiệm thức che trái bằng miếng nylon trái tròn đều hơn trái được bao bằng ly nhựa.

Từ khóa: mít Chiang rai, nước mưa, xơ đen.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mít (*Artocapus heterophyllus* Lam., thuộc họ Dâu tằm Moraceae) được cho là có nguồn gốc ở tây nam Ấn Độ và Đông Nam Á, sau đó đến vùng nhiệt đới châu Phi (Love và Paull, 2011). Giống mít Chiang rai còn gọi là giống mít siêu sớm. Ưu điểm của giống Chiang rai là dễ trồng, cho thu hoạch sớm, năng suất cao, chất lượng cao. Vì vậy, giống mít này được trồng phổ biến từ miền Đông Nam Bộ đến vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Hơn nữa, giá thương phẩm của giống mít này có giá rất cao đặc biệt trong mùa mưa, có khi đến 25 ngàn/kg. Trái mít bị xơ đen tập trung nhiều vào mùa mưa, mùa khô hiện tượng này ít hoặc không có ngoài thực tế.

Trong những năm gần đây hiện tượng xơ đen đã xuất hiện trên giống mít này và có xu hướng phát triển mạnh gây nên nỗi lo của người trồng và người quản lý. Hiện tượng này phát triển mạnh vào mùa mưa, làm cho chất lượng và giá trị của trái mít giảm xuống, đôi lúc thương lái không thu mua vì xơ bị đen, thịt trái cứng lại, độ ngọt giảm. Không thể phân biệt trái bị hiện tượng xơ đen khi nhìn hình dạng bên ngoài kể cả thương lái. Vì vậy, khi mua thương lái phải cắt một miếng nhỏ vào trái để kiểm tra xơ đen.

Cho đến thời điểm này chưa có công bố khoa học nào về hiện tượng này. Hiện tượng xơ đen trên trái mít có thể là do sự rối loạn trong thụ phấn thụ tinh (Lê Phương Thư, 2015) hoặc có thể do thiếu canxi gây ra (Cty CP DV Tin cậy, 2016). Theo ITFNet (2012) hiện tượng này là do nấm *Rhizopus artocarpi* và *Lasiodiplodia* sp. gây ra. Một thông tin đáng quan tâm cho rằng đây là "bệnh mới", nguyên nhân gây ra bệnh này là do vi khuẩn *Pantoea stewartii* (Smith) Mergaert, trước đây có tên *Erwinia stewartii* (Smith) (Ruben *et al.,* 2014). Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu tìm ra nguyên nhân gây ra bệnh xơ đen và bước đầu đề ra biện khắc phục hiện tượng này.

2. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH

2.1. Địa điểm thực hiện

Thí nghiệm này được thực hiện tại hộ ông Nguyễn Văn Vũ (chủ nhiệm câu lạc bộ Mít), số 35,

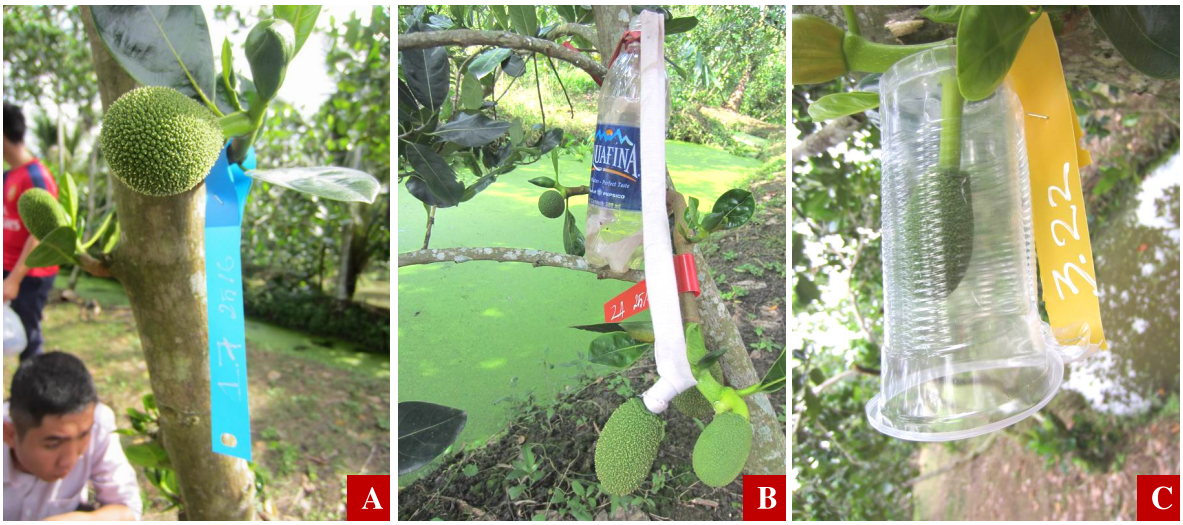
ấp Long Lợi, xã Đông Phước A, huyện Châu Thành, Hậu Giang, từ năm 2014 - 2016. Diện tích trồng mít của chủ hộ khoảng 2,4 ha, tuổi cây từ 5-7 năm tuổi. Ngoài ra, thí nghiệm này còn được thực hiện tại bộ môn Sinh lý Sinh lóa, Khoa Nông lghiệp và Sinh học Ứng dụng.

2.2. Khảo sát hiện tượng mít bị xơ đen

Mục tiêu của khảo sát nhằm mô tả chi tiết hiện tượng xơ đen. Cắt quan sát những trái bị xơ đen vào giai đoạn từ 7 ngày đến 30 ngày sau khi thụ phấn thụ tinh dưới kính lúp. Khảo sát ít nhất 30 trái có hiện tượng xơ đen.

2.3. Nghiên cứu nguyên nhân gây ra hiện tượng xơ đen

Giả thuyết đặt ra là do nước mưa là điều kiện và ẩm độ cao vi khuẩn sẽ phát tán theo dòng nước xâm nhập vào bên trong trái. Chọn những hoa cái chưa nhận phấn để tiến hành thí nghiệm này. Thời gian thực hiện vào tháng 7 năm 2016. Mỗi nghiệm thức quan sát 30 trái bao gồm. Có 3 nghiệm thức là: *(1)* Đối chứng (Hình 1A); *(2)* Tạo ẩm độ cao cho trái bằng cách treo chai nước trên cao tại vị trí trái. Chai nước có miếng vải để dẫn nước từ chai ra cuống trái nhằm tạo ẩm độ cao (Hình 1B); *(3)* Bao trái bằng ly nhựa (Hình 1C). Ghi nhận tình trạng trái bị xơ đen 30 ngày sau thụ phấn. Thời điểm xử lý các nghiệm thức lúc hoa cái chưa nhận phấn.



Hình 1. Các hình ảnh minh họa ba nghiệm thức được bố trí. ***(A)*** Nghiệm thức đối chứng; ***(B)*** Tạo ẩm độ cao cho trái non bằng cách nhỏ nước từ chai; ***(C)*** Bao trái bằng ly nhựa tránh nước mưa

2.4. Bước đầu khắc phục hiện tượng xơ đen

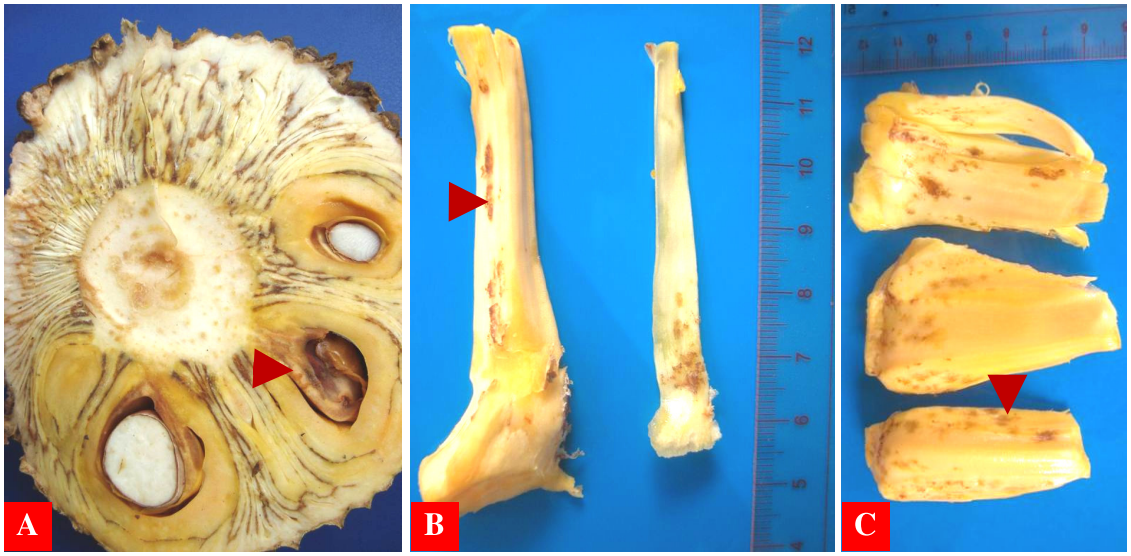
Giả thuyết cho rằng nước mưa là yếu tố cần thiết để vi khuẩn xâm nhập vào trái. Nếu che hoa cái trước khi nhận phấn không cho nước mưa ướt trái thì hiện tượng này sẽ giảm. Có hai nghiệm thức được bố trí: *(1)* Đối chứng; *(2)* Che trái bằng tấm nhựa. Chọn những hoa cái chưa nhận phấn lúc mo bao hoa vừa mở ra thì tiến hành che lại. Cắt miếng lưới sắt ô vuông có kích thước 50 x 60 cm, trên phủ bằng tấm nhựa. Buộc miếng lưới vào cây cách cuống trái khoảng 15-20 cm để tạo sự thông thoáng cho hoa cái nhận phấn bằng gió (Hình 2). Mỗi nghiệm thức quan sát 30 trái, cắt trái ra quan sát hiện tượng xơ đen vào 30 ngày sau khi thụ phấn thụ tinh.

Hình 2: Các hình ảnh minh họa bố trí hai nghiệm thức. ***(A)*** Hoa cái vừa mở mo bao quanh được chọn làm thí nghiệm; ***(B) (C)*** Các hoa cái được che không cho nước mưa ướt trái

3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

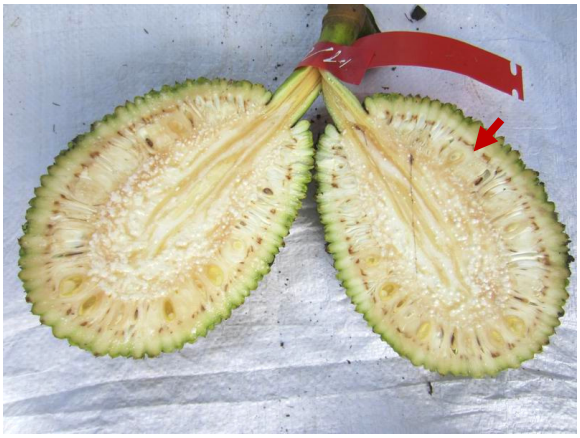
3.1. Khảo sát triệu chứng

Triệu chứng của hiện tượng xơ đen là xơ, thịt trái và hạt bị đen hoặc trường hợp nặng thì cả ba hiện tượng cùng xuất hiện trên trái. Hiện tượng này xảy ra từng phần hoặc toàn trái, các phần bị đen thường bị lép do không thể thụ phấn thụ tinh hoặc có khi phôi bị hư, hạt không phát triển (Hình 3). Cho đến nay, hiện tượng này vẫn chưa được làm sáng tỏ. Nguyên nhân của hiện tượng theo điều tra của Lê Phương Thư (2015) phỏng vấn nông dân cho rằng 33% do nước mưa, 60% do thiếu dinh dưỡng, 7% không biết. Hơn nữa, có khoảng 56% trả lời có thể nhận biết bằng hình dạng trái với đầu trái nhỏ, gai không nở, trái bị méo mó so với trái bình thường. Cũng có thể do thiếu canxi gây ra (Cty CP DV Tin cậy, 2016). Tuy nhiên, khi thương lái thu mua thường họ phải kiểm tra tại đầu trái cho chắc chắn.



Hình 3. Triệu chứng xơ bị đen của trái. **(A)** Trái bị xơ đen trầm trọng, có nhiều múi không thụ phấn thụ tinh, hạt bị đen (hoa không được thụ tinh, múi không hình thành) **(B)** Vết đen xuất hiện trên xơ trái (mũi tên); **(C)** Vết đen xuất hiện trên thịt của múi trái (mũi tên)

Khi khảo sát bên trong trái còn non (3-4 tuần sau khi thụ phấn thụ tinh, lúc nhụy cái chuyển sang màu đen) thì thấy những vệt đen xuất hiện. Vệt đen này xuất hiện ở dưới vỏ chứ không phải xuất hiện bên trong theo cuống trái (Hình 4). Cũng có ý kiến trước đây cho rằng bệnh thối cuống trái có khả năng lan vào bên trong làm trái bị xơ đen. Tuy nhiên không có bằng chứng mối liên hệ giữa bệnh thối cuống trái và bệnh xơ đen.



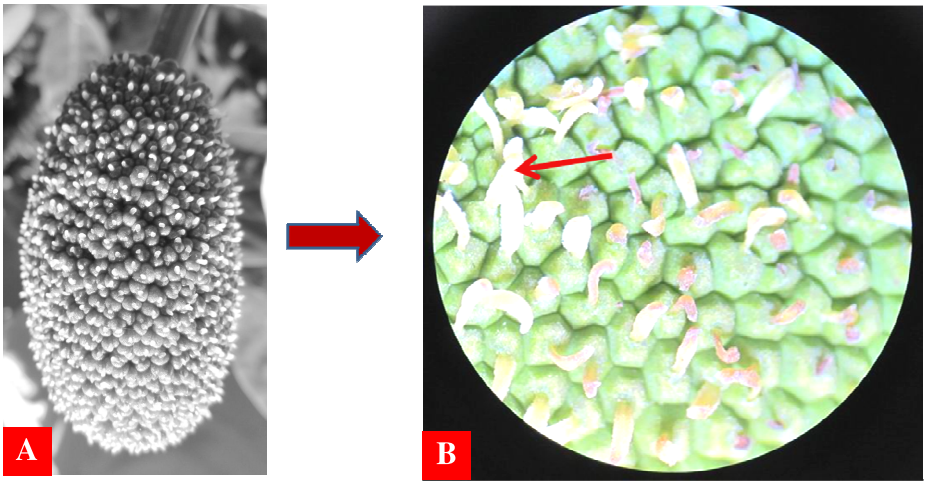
Hình 4. Vệt đen xuất hiện phía dưới vỏ, không phải xuất hiện từ trong cuống trái đi ra (mũi tên)

Khi quan sát chi tiết hơn cho thấy vệt đen xuất hiện theo 3 cách: ***(1)*** Giữa những múi mít (Hình 5A) làm cho xơ bị đen; ***(2)*** Tại nướm và vòi nhụy (Hình 5B) làm phôi bị hóa đen, hạt không phát triển; *(3)* Hoặc xuất hiện tại cả hai vị trí kể trên (Hình 5C). Tất cả những vệt đen này làm xơ, thịt trái và hạt bị đen.

Vệt đen xuất hiện như đã trình bày có thể là do vi khuẩn và vi khuẩn xâm nhập vào trái non (hoa cái) nhờ nước mưa. Nước mưa là yếu tố để vi khuẩn lây lan và xâm nhiễm bên trong trái non. Điều này có thể giải thích vì sao mùa mưa hiện tượng xơ đen xuất hiện nhiều vào mùa mưa, mùa khô rất ít (Lê Phương Thư, 2015; Cty CP DV Tin cậy, 2016).

Hình 5. Triệu chứng xơ bị đen của trái. (A) Vết đen của xơ giữa hai múi (mũi tên); (B) Vết đen xuất hiện trên vòi nhụy (mũi tên); (C) Vết đen ở xơ và bầu noãn làm đen xơ và hạt bị đen (mũi tên chỉ sự giả định vi khuẩn xâm nhập vào trái khi có nước mưa).

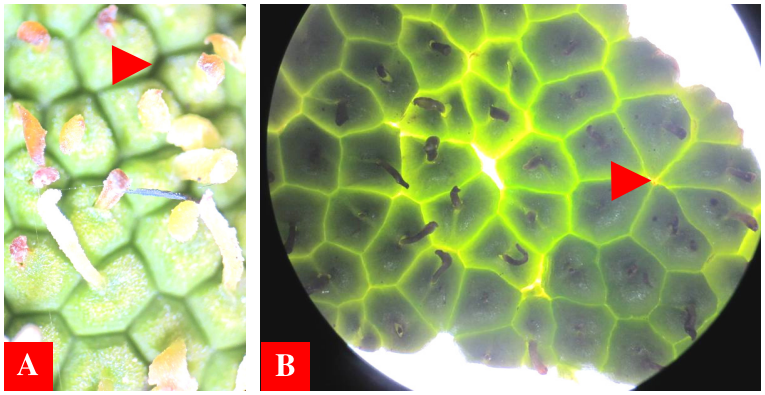
Câu hỏi đặt ra là vi khuẩn đi vào bên trong bằng cách nào? Để trả lời câu hỏi này khi quan sát hoa cái lúc nhận phấn thì nướm vươn ra ngoài để nhận phấn (Hình 6). Khi gặp nước mưa thì vi khuẩn đi vào cửa ngỏ là nướm, qua vòi nhụy và đến bầu noãn làm cho múi không thụ tinh, trái bị lép. Nếu trường hợp đã thụ tinh rồi, hợp tử phát triển thành phôi hoặc hột non thì các bộ phận này bị hư và trở thành màu đen.



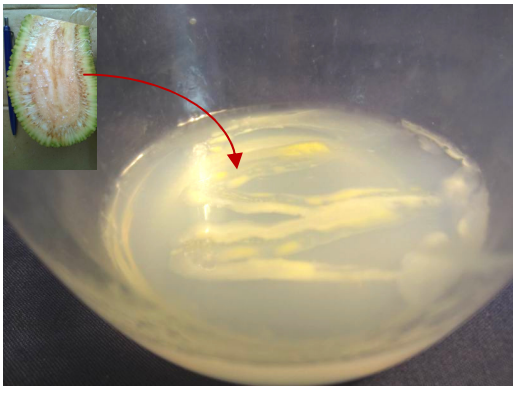
Hình 6. (A) Hoa cái vươn nướm ra ngoài để nhận phấn; (B) Nướm của hoa cái khi nhận phấn cũng là cửa ngỏ để vi khuẩn đi vào khi gặp nước mưa.

Một con đường thứ hai mà vi khuẩn có thể xâm nhập vào trái non qua khe hở giữa các múi mít. Hình dạng bên ngoài của vỏ trái mít lồi lõm. Tại vị trí lõm là nơi chứa nước có ẩm độ cao vào mùa mưa. Hơn nữa, giữa các múi mít bao giờ cũng có khoảng hở khi trái còn non (Hình 7).

Hình 7. (A) Khoảng lõm giữa các múi mít là nơi chứa nước mưa (mũi tên); (B) Khoảng hở giữa các múi mít là nơi vi khuẩn xâm nhập vào (mũi tên)



Để xác định sự hiện diện của vi khuẩn bên trong trái bằng cách lấy những phần xơ bị đen cấy lên môi trường. Kết quả cho thấy khuẩn lạc phát triển nhanh sau 12 giờ cấy lên môi trường, khuẩn lạc có màu vàng, không lồi lên môi trường (Hình 8). Có thể vi khuẩn trong khuẩn lạc này là tác nhân gây ra bệnh xơ đen như báo cáo của Ruben *et al.* (2014) hoặc có thể là vi khuẩn phụ sinh. Vì vậy, cần phải thực hiện qui trình Koch để khẳng định vi khuẩn này là nhân tố gây bệnh trong tương lai.



Hình 8. Khuẩn lạc màu vàng phát triển trên môi trường sau 12 giờ nuôi cấy

3.2. Ảnh hưởng của bao trái đến tỷ lệ trái bị xơ đen

Ảnh hưởng của bao trái bằng ly nhựa đến tỷ lệ trái bị xơ đen được trình bày ở Bảng 1. Theo kết quả cho thấy nghiệm thức đối chứng có tỷ lệ trái bị xơ đen là 69% trong mùa mưa. Tỷ lệ này rất lớn làm ảnh hưởng đến sản lượng và giá cả của mít vào mùa mưa. Hơn nữa, khi tạo ẩm độ cho trái thì tỷ lệ trái bị xơ đen tăng lên 87%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so sánh LSD 5%. Ngược lại, nghiệm thức bao trái bằng ly nhựa thì tỷ lệ trái bị xơ đen 12%. Hầu hết các trái bị xơ đen này xuất hiện ở phần cuối của trái, cuống trái không xuất hiện. Có thể giải thích khi trái non to lên và kéo dài ra khỏi ly nhựa và bị ướt bởi nước mưa nên vi khuẩn xâm nhập vào (Hình 9).

Như vậy, qua thí nghiệm này cho thấy nước mưa là yếu tố để vi khuẩn xâm nhập vào bên trong trái thông qua hai con đường giữa khe hở của các múi và nướm nhụy cái. Tuy nhiên, khuyết điểm trong thí nghiệm này là tỷ lệ trái non thụ phấn thụ tinh không đồng đều đưa đến trái bị lép mặc dù ly nhựa vẫn còn khoảng hở để hạt phấn rơi vào nhờ gió (Hình 1C). Kết quả cho thấy có nhiều múi không thể thụ phấn, múi mít bị lép nhiều. Có thể giải thích hiện tượng này là trái thụ phấn nhờ gió và côn trùng (Tessy *et al.* 1996), khi bao trái lại vào giai đoạn còn non làm giới hạn hiện tượng thụ phấn.

Bảng 1. Ảnh hưởng của bao trái đến tỷ lệ trái bị xơ đen

Nghiệm thức	Tỷ lệ trái bị xơ đen (%)
Đối chứng	69 b
Tạo ẩm độ cho trái	87 a
Bao trái bằng ly nhựa	12 c
Kiểm định LSD (5%)	*
CV (%)	50

Chú thích: Những chữ khác nhau theo sau các con số có khác biệt thống kê LSD 5%

Hình 9. Các trái bị xơ đen của các nghiệm thức quan sát tại thời điểm 1 tháng sau thụ phấn. **(1.22)** Nghiệm thức đối chứng, trái thứ 22; **(2.32)** Nghiệm thức tạo ẩm độ cao, trái thứ 32; **(3.22)** Nghiệm thức bao trái bằng ly nhựa, trái thứ 22

3.3. Bước đầu nghiên cứu khắc phục bệnh xơ đen của trái mít

Trong thí nghiệm trên (Bảng 1) cho thấy hiện tượng trái bị xơ đen giảm một cách có ý nghĩa. Tuy nhiên hoa cái được bao lại bằng ly nhựa thì trái non không được thụ phấn, thụ tinh nên trái bị lép. Để khắc phục hiện tượng này, thí nghiệm che trái bằng nylon được tiến hành. Kết quả thí nghiệm này cho thấy nghiệm thức đối chứng tỷ lệ trái bị đen xơ 66% và trái được che bằng nylon tránh mưa thì có tỷ lệ trái bị đen là 13%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê bằng kiểm định Student Test 5% (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của che trái non tránh nước mưa đến tỷ lệ trái bị xơ đen

Nghiệm thức	Số trái quan sát	Tỷ lệ trái bị xơ đen (%)
Đối chứng	30	66 a
Che trái bằng nylon	30	13 b

Chú thích: Những chữ khác nhau theo sau các con số có khác biệt thống kê bằng kiểm định T test 5%

Như vậy qua thí nghiệm này một lần nữa khẳng định vào mùa mưa, ẩm độ cao trong vườn là điều kiện lý tưởng cho vi khuẩn phát triển và nước mưa tạo điều kiện cho vi khuẩn đi vào trái. Theo quan sát tại vườn khác, mít được trồng thành một líp dài, hai bên là ruộng thì hiện tượng xơ đen không hoặc rất ít xảy ra. Điều này có thể giải thích tại vườn này thông thoáng, nước mưa sẽ khô nhanh chóng và vi khuẩn ít có điều kiện phát triển hơn vườn mít trồng với mật độ cao. Hơn nữa, ưu điểm của việc che trái mít bằng nylon là trái mít tròn, thụ phấn đồng đều hơn do miếng che nylon cao, thoáng tạo điều kiện cho hạt phấn đến nướm dễ dàng hơn là cách bao trái bằng ly nhựa (Hình 1B,C).

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Khảo sát trái bị xơ đen nhận thấy rằng vết đen xuất hiện phía dưới vỏ. Giả thuyết được cho là có thể vi khuẩn xâm nhập vào trái bằng hai con đường từ nướm nhụy lúc nhận phấn và khoảng hở giữa hai múi mít khi có nước mưa. Phần đen của xơ khi cấy lên môi trường, khuẩn lạc phát triển nhưng chưa xác định tên vi khuẩn.

Bao hoa cái bằng ly nhựa cho thấy có 12% trái bị hiện tượng xơ đen, nghiệm thức tạo ẩm độ cao thì tỷ lệ trái bị xơ đen là 87%, đối chứng 66%. Nghiệm thức bao hoa cái bằng ly nhựa ngăn cản hiện tượng thụ phấn dẫn đến trái bị lép.

Che trái non bằng miếng nylon ngăn nước mưa có tỷ lệ trái bị xơ đen là 13%, phương pháp này giúp trái thụ phấn tinh nhiều hơn.

Đề nghị

Tiếp tục thực hiện qui trình Koch và xác định tên vi khuẩn

Nghiên cứu cải tiến nâng cao hơn nữa hiệu quả của việc che mưa hoa cái để đạt kết quả tốt nhất

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cty CP DV Tin cậy, 2016. Hiện tượng đen xơ và cách khắc phục. (http://tincay.com/hien-tuong-den-xo-o-mit-thai-va-cach-khac-phuc. Tháng 9.2016).

2. ITFNet, 2012. International tropical fruits network. Dept. of Agriculture, Malaysia (http://www.itfnet.org/v1/2012, Tháng 9.2016)

3. Lê Phương Thư. 2015. Nghiên cứu biện pháp khắc phục bệnh nứt thân xì mủ và tìm hiểu nguyên nhân hiện tượng xơ đen trên mít Chanrai (*Artocapus heterophyllus* Lam.). Luận văn tốt nghiệp cao học ngành Khoa học Cây trồng. Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng. Đại Học Cần Thơ. 54 trang.

4. Love, K. and Paull, R.E.,2011. Jackfruit. College of Tropical Argiculture and Human Resoures. University of Hawaii at Manoa. 5-7 page.

5. Ruben, M.G., R.P. Garcia, C.T. Advincula, C. S. D.L. Cruz and L.M. Borines. 2014. Fruit bronzing: a new disease affecting jackfruit caused by *Pantoea stewartii* (Smith) Mergaert. Annals of Tropical Research 36[1]:17-31 page. VSU, Leyte, Philippines

6. Tessy, J., Kumaran, K., and Joseph, T. 1996. Flowering, floral biology and pollination an hard and soft flaked types of jack (*Artocarpus heterophyllus* L.). J. Tropic Agric. 31(1), 6-9 page.

STUDY TO CAUSE JACKFRUIT BRONZING IN CHIANG RAI CULTIVAR (*Artocapus heterophyllus* Lam.) AND PRIMARY SUGGESTION OF PREVENTION

ABSTRACTS

Causal symptom of jackfruit bronzing of Chiang rai cultivar has not been reported. These brown specks were appeared adjacent to skin of young fruit. It is supposed that bacteria could be entranced into fruit with two pathways by stigma during pollination time and ectodesmata among individual flowers in rainy season. The brown specimens of young fruit were inoculated in the cultural media where colony developed rapidly after 12 hours. The female flowers were covered by plastic pot to prevent rainy water from doing wetness whose had 12% of bronzing fruit, 87% of supplied huminity treatment and 69% of control treatment. However, the covered plastic pots also limited for pollination and caused aborted fruit. In the another study, the young fruits were roofed by plastic to get 13% and 66% of undesirable fruit of control. Moreover, the fruits were more full than covered plastic pots if it the rainwater roofs were used.

Keywords: Chiang rai, jackfruit bronzing, rainwater

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ BA, IBA VÀ NAA ĐẾN SỰ CẢM ỨNG TẠO PHÔI VÔ TÍNH Ở CÂY ĐINH LĂNG LÁ NHỎ (*Polycias fruticosa* (L.) Harms.)

Trịnh Việt Nga[1], Nguyễn Đức Minh Hùng[1], Phạm Thị Minh Tâm[2], Bùi Minh Trí [2], Ngô Thị Anh Khôi[1], Nguyễn Hữu Hổ[1],
[1]Viện Sinh học Nhiệt đới; [2]Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM
Email: ptmtam@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Đinh lăng lá nhỏ *(Polyscias fruticosa* (L.) Harms.) là cây dược liệu có thể được nhân giống bằng nuôi cấy mô. Khả năng phát sinh phôi vô tính phụ thuộc chặt chẽ vào thành phần và liều lượng chất điều hòa sinh trưởng. Hai thí nghiệm hai yếu tố đã được thực hiện tại Viện Sinh học Nhiệt đới, thành phố Hồ Chí Minh nhằm xác định môi trường phù hợp đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính. Cả hai thí nghiệm đều được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Ở thí nghiệm 1, yếu tố A là Nồng độ BA (0; 0,5; 1; 1,5 mg/L) và yếu tố B là nồng độ IBA (0; 0,1; 0,5 mg/L); Ở thí nghiệm 2, yếu tố A là Nồng độ BA (0; 0,5; 1; 1,5 mg/L) và yếu tố B là nồng độ NAA (0; 0,1; 0,5 mg/L). Mô sẹo tạo phôi tốt nhất khi được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA ở nồng độ 1,5 mg/L và NAA ở nồng độ 0,1 mg/L với tỷ lệ tạo phôi đạt 80,0%, số lượng phôi đạt 549 phôi/ bình tại thời điểm 45 ngày sau cấy.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Polycias fruticosa là cây dược liệu cùng họ với cây nhân sâm, toàn bộ cây từ củ, thân, lá, rễ đều có thể sử dụng để làm thuốc trị bệnh. *Polyscias fruticosa* có chứa hai nhóm hợp chất chính quan trọng là polyacetylen và saponin. Các hợp chất này có tác dụng chống ung thư, chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm (Huan và cs, 1998; Mitaine-Offer và cs, 2004). Phát sinh phôi vô tính là một trong những kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* mới mang lại hiệu quả vượt trội về tiềm năng nhân giống. Kỹ thuật này bên cạnh việc cho hệ số nhân giống cao thì cây con còn có bộ rễ tương tự như cây từ hạt có thể hình thành rễ củ ngay từ giai đoạn ban đầu. Khả năng phát sinh phôi vô tính phụ thuộc chặt chẽ vào thành phần chất điều hòa sinh trưởng. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận rằng sự kết hợp của cytokinin và auxin được dùng để cảm ứng hình thành phôi đã thể hiện ở nhiều thực vật. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về việc tạo phôi vô tính *Polyscias fruticosa* theo con đường gián tiếp từ mô sẹo tuy nhiên chỉ mới thử nghiệm mẫu mô thân *Polyscias fruticosa in vivo* trên môi trường chỉ có cytokinin như môi trường MS có bổ sung BAP 2,0 mg/L (Nguyễn Ngọc Dung, 1998) hoặc nuôi cấy mẫu mô lá và mô thân *Polyscias fruticosa in vivo* trên môi trường không có chất điều hòa sinh trưởng (Lê Thiên Thư, 2005) mà chưa tìm thấy nghiên cứu nào về ảnh hưởng của sự kết hợp cytokinin và auxin đến quá trình phát sinh phôi vô tính của mẫu mô lá *Polyscias fruticosa*. Vì các lý do trên, một nghiên cứu để tìm hiểu về môi trường nuôi cấy có bổ sung BA, IBA và NAA với nồng độ thích hợp cho việc cảm ứng phát sinh phôi vô tính *Polyscias fruticosa* từ mô sẹo đã được thực hiện.

2. PHƯƠNG TIỆN, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm Quốc gia Công nghệ Tế bào Thực vật – Viện Sinh học nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 04/2016 đến tháng 06/2017.

2.2. Vật liệu thí nghiệm

- Mô phiến lá, mô cuống lá của cây đinh lăng lá nhỏ 3 năm tuổi được trồng tại Viện Sinh học Nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh () và cây Đinh lăng lá nhỏ *in vitro* được nhân nuôi 06 tháng tại Viện Sinh học nhiệt đới (mô phiến lá, mô cuống lá).

- Môi trường cơ bản là môi trường MS (Murashige – Skoog, 1962) có bổ sung đường (20 g/L), nước dừa (20%) và agar (8g/L). Môi trường được điều chỉnh pH khoảng 5,7 - 5,8, hấp khử trùng ở 121^0C đạt áp suất 1atm trong 20 phút.

- Các hóa chất dùng trong thí nghiệm BA, NAA, IBA and Kinetin. Nguồn gốc: Sigma. Độ tinh khiết >98,5%.

2.3. Dụng cụ thí nghiệm và điều kiện nuôi cấy

- Nồi hấp vô trùng (Model SS – 325 của hãng Tomy Seiko, Nhật Bản), máy đo pH (Thermo, Đức), cân điện tử 4 số (Model XT 220A hãng Precisa, Thụy Sĩ), tủ cấy vô trùng, máy lạnh, tủ lạnh, kính hiển vi quang học (Model MBL 2000 hãng Kruss, Đức), máy lắc tròn điện tử (Model SSL1 của hãng STUART (BIBBY), Anh, quỹ đạo lắc 16 mm) và một số thiết bị khác dùng trong phòng thí nghiệm. Phòng nuôi cấy có nhiệt độ là 25 ± 2^0C, cường độ chiếu sáng (3.000 lux) và thời gian chiếu sáng là 12 giờ/ngày.

2.4. Bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của nồng độ BA và IBA đến cảm ứng tạo phôi từ mô sẹo

Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên,3 lần lặp lại, 12 nghiệm thức. Yếu tố E là 4 nồng độ BA (0, 0,5, 1,0 và 1,5 mg/L). Yếu tố F là 3 nồng độ IBA (0, 0,1 và 0,5 mg/L). Quy mô thí nghiệm: 360 mẫu (10 mẫu/đĩa petri, 3 đĩa petri/ô cơ sở).

- Thí nghiệm 2. Ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA đến khả năng hình thành phôi từ mô sẹo

Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 12 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Yếu tố G với 4 nồng độ BA (0, 0,5,1,0 và 1,5 mg/L). Yếu tố H với 3 nồng độ NAA (0, 0,1 và 0,5 mg/L). Quy mô thí nghiệm: 10 mẫu/ đĩa petri x 3 đĩa/ ô cơ sở x 12 NT x 3 LLL = 360 mẫu.

Phương pháp thực hiện: Sử dụng mô sẹo được tạo ra từ mô lá *in vitro* nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 2,4 – D ở nồng độ 2 mg/L và được phân tách thành các cụm nhỏ với đường kính 0,3 mm và cấy vào đĩa petri có chứa 20 ml môi trường MS có bổ sung nước dừa 20%, đường 20 g/lít. Các chất điều hòa sinh trưởng BA, IBA, NAA được bổ sung tương ứng với từng nghiệm thức trong các thí nghiệm. Thí nghiệm được để dưới ánh đèn huỳnh quang 3.000 lux, nhiệt độ 27^oC trong 8 tuần.

Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

Tiến hành lấy chỉ tiêu theo dõi với tất cả 10 mẫu/ô cơ sở.

Tổng số phôi vô tính (phôi): Theo dõi 3 lần ở các thời điểm 30, 45 và 60 NSC bằng cách quan sát dưới kính lúp và ghi nhận số lượng phôi tạo được.

Quy ước: Phôi vô tính là một trong bốn hình thái (phôi hình cầu, hình tim, hình thủy lôi, phân cực hóa có sự xuất hiện tiền lá mầm và tiền rễ).

Tỷ lệ tạo phôi (%): Theo dõi vào thời điểm 60 NSC bằng cách quan sát dưới kính lúp và ghi nhận số lượng cụm mô sẹo phát sinh phôi. Tỷ lệ tạo phôi (%) = (Số mẫu tạo phôi/ tổng số mẫu cấy) x 100.

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được thu thập tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), kết quả phân hạng theo Duncan bằng chương trình SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ BA và IBA đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ BA và IBA đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ (phôi)

Thời điểm theo dõi	Nồng độ BA (mg/L) (A)	Nồng độ IBA (mg/L) (B)			
		0	**0,1**	**0,5**	**TB (A)**
30 NSC	0	3^{d}	5^{d}	37^{c}	15^{C}
	0,5	56^{c}	76^{bc}	77^{bc}	69^{B}
	1	161^{ab}	271^{a}	181^{ab}	**204^{A}**
	1,5	196^{a}	293^{a}	186^{ab}	189^{A}
	TB (B)	104^{B}	161^{A}	120^{AB}	
	CV = 9,3%; F(A) = 141,5**; F(B) = 10,0**; F(A*B) = 9,7**				
45 NSC	0	4^{d}	5^{d}	50^{c}	20^{C}
	0,5	71^{c}	93^{bc}	89^{bc}	84^{B}
	1	190^{ab}	276^{a}	204^{ab}	223^{A}
	1,5	227^{ab}	325^{a}	248^{a}	262^{A}
	TB (B)	123^{B}	175^{A}	148^{AB}	
	CV = 9,2%; F(A) = 137,7**; F(B) = 11,6**; F(A*B) = 10,0**				
60 NSC	0	2^{e}	5^{e}	18^{d}	8^{D}
	0,5	42^{c}	56^{c}	48^{c}	49^{C}
	1	64^{bc}	128^{ab}	125^{ab}	106^{B}
	1,5	183^{a}	207^{a}	**241^{a}**	**206^{A}**
	TB (B)	73^{B}	99^{AB}	**108^{A}**	
	CV = 10,6%; F(A) = 138,0**; F(B) = 10,5**; F(A*B) = 3,3*				

*Trong cùng một cột, những giá trị theo sau có cùng ký tự sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê **: có ý nghĩa ở mức P < 0,01; (Số liệu đã được chuyển đổi sang dạng logarit khi phân tích thống kê).*

Bảng 1 cho thấy khi cảm ứng tạo phôi từ mô sẹo trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng cytokinin và auxin, ảnh hưởng của liều lượng BA, IBA và sự phối hợp giữa BA và IBA đến cảm ứng tạo mô sẹo đều có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng vẫn phát sinh phôi vô tính.

Mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung BA (1,5 mg/L) đều cho số lượng phôi hình thành cao, lần lượt là 189 phôi ở 30 NSC và 262 phôi ở 45NSC, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với không bổ sung BA hay bổ sung BA ở nồng độ thấp (0,5 mg/L). Tuy nhiên ở 60 NSC, số lượng phôi hình thành cao nhất (206 phôi) chỉ từ mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung BA (1,5 mg/L), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với không bổ sung BA hay bổ sung BA ở các nồng độ còn lại.

Số lượng phôi hình thành cao nhất từ mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung IBA (0,1 mg/L) là 161 phôi ở 30 NSC, 175 phôi ở 45 NSC. Tuy nhiên đến 60 NSC thì số lượng phôi hình thành cao nhất (108 phôi) chỉ từ mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung IBA ở nồng độ cao nhất (0,1 mg/L), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường không được bổ sung IBA trong thí nghiệm.

Mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung BA (1,5 mg/L) và IBA (0,1 mg/L) cho số lượng phôi hình thành cao nhất 293 phôi ở 30 NSC và 325 phôi ở 45 NSC, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường MS có bổ sung các nồng độ BA và IBA còn lại. Tuy nhiên ở 60 NSC, số lượng phôi hình thành cao nhất (241 phôi) chỉ từ mô sẹo được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung BA (1,5 mg/L) kết hợp với IBA (0,5 mg/L), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không bổ sung BA và IBA hay bổ sung nồng độ thấp của BA (0,5 mg/L) và của IBA (0,1 mg/L).

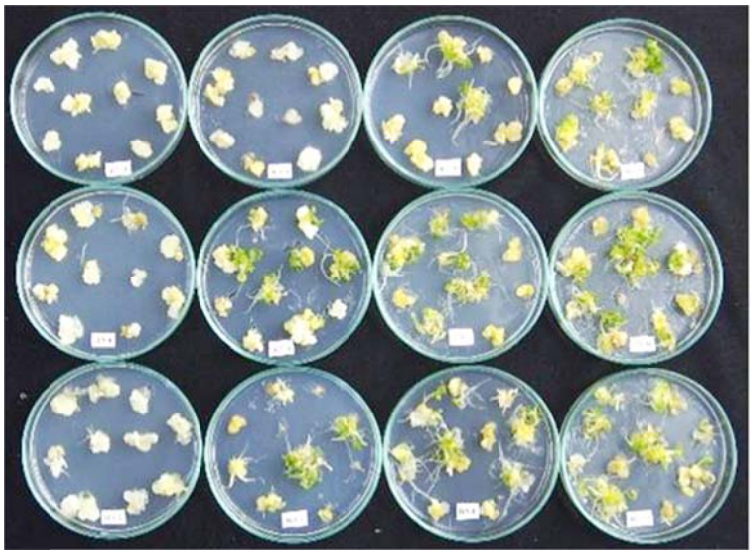
Mô sẹo bắt đầu phát sinh phôi trong giai đoạn từ 15 đến 20 ngày và trong giai đoạn từ 30 đến 45 ngày có sự tăng nhanh về số lượng. Tuy nhiên từ giai đoạn 45 đến 60 ngày sau cấy, số lượng phôi giảm rõ rệt, một số cụm phôi có biểu hiện hóa nâu và chết. Kết quả trên cho thấy BA, IBA và sự kết hợp BA và IBA có ảnh hưởng rõ rệt đến sự tạo phôi vô tính của cây Đinh lăng lá nhỏ.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BA và IBA đến tỷ lệ tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BA và IBA đến tỷ lệ tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ (%)

Nồng độ BA (mg/L) (A)	**Nồng độ IBA (mg/L) (B)**			
	0	**0,1**	**0,5**	**TB (A)**
0	$10,0^{f}$	$36,7^{e}$	$43,3^{de}$	$30,0^{C}$
0,5	$46,7^{c-e}$	$50,0^{b-e}$	$53,3^{b-e}$	$50,0^{B}$
1	$56,7^{b-d}$	$63,3^{a-c}$	$63,3^{a-c}$	$61,1^{AB}$
1,5	$66,7^{ab}$	$76,7^{a}$	$66,7^{ab}$	$73,3^{A}$
TB (B)	$45,0^{B}$	$56,7^{A}$	$56,7^{A}$	
	CV = 12,3%; F(A) = 31,8**; F(B) = 7,3**; F(AB) = 2,9*			

*Trong cùng một cột, những giá trị theo sau có cùng ký tự sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê **: có ý nghĩa ở mức P < 0,01; (Số liệu đã được chuyển đổi sang dạng arcsin khi phân tích thống kê)*



Hình 1. Phôi vô tính cây đinh lăng lá nhỏ nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA và IBA tại thời điểm 45 NSC:

BA 0 mg/L và IBA 0 mg/L (A); BA 0 mg/L và IBA 0,1 mg/L(B); BA 0 mg/L và IBA 0,5 mg/L(C); BA 0,5 mg/L và IBA 0 mg/L(D); BA 0,5 mg/L và IBA 0,1 mg/L(E); BA 0,5 mg/L và IBA 0,5 mg/L(F); BA 1 mg/L và IBA 0 mg/L(G); BA 1 mg/L và IBA 0,1 mg/L(H); BA 1 mg/L và IBA 0,5 mg/L(K); BA 1,5 mg/L và IBA 0 mg/L(L); BA 1,5 mg/L và IBA 0,1 mg/L(M); BA 1,5 mg/L và IBA 0,5 mg/L(N);

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ tạo phôi cao nhất (73,3%) ở môi trường MS có bổ sung nồng độ BA 1,5 mg/L, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với đối chứng không bổ sung BA. Bổ sung IBA ở 0,1 mg/L và 0,5 mg/L đều cho tỷ lệ tạo phôi cao nhất (56,7%), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường không được bổ sung IBA. Môi trường được bổ sung BA (1,5 mg/L) kết hợp với IBA (0,1 mg/L) cho tỷ lệ tạo phôi cao nhất (76,7%), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường không được bổ sung BA và IBA hay được bổ sung BA và IBA ở nồng độ thấp. Trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng cũng có hiện tượng phát sinh phôi vô tính từ mô sẹo nhưng tỷ lệ tạo phôi rất thấp chỉ 10%.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ

Bảng 3 thể hiện chỉ BA hay chỉ NAA và sự tương tác giữa BA và NAA đều ảnh hưởng khác biệt rất có ý nghĩa thống kê đến quá trình phát sinh phôi vô tính từ mô sẹo. Trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng vẫn có hiện tượng phát sinh phôi vô tính.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ (phôi)

Thời điểm theo dõi (NSC)	Nồng độ BA (mg/L) (A)	Nồng độ NAA (mg/L) (B)			
		0	**0,1**	**0,5**	**TB (A)**
30	0	5^{g}	15^{f}	86^{e}	35^{D}
	0,5	95^{de}	155^{b-e}	120^{c-e}	123^{C}
	1	177^{b-e}	238^{a-d}	178^{b-e}	198^{B}
	1,5	242^{a-c}	444^{a}	286^{ab}	334^{A}
	TB (B)	130^{B}	213^{A}	168^{A}	
	CV = 7,6%; F(A) = 116,7**; F(B) = 18,8**; F(A*B) = 13,7**				
45	0	5^{c}	15^{c}	98^{b}	39^{C}
	0,5	178^{b}	227^{ab}	188^{ab}	198^{B}
	1	243^{ab}	287^{ab}	258^{ab}	262^{AB}
	1,5	267^{ab}	549^{a}	298^{ab}	336^{A}
	TB (B)	173^{B}	269^{AB}	211^{A}	
	CV = 9,2%; F(A) = 85,9**; F(B) = 9,4**; F(AB) = 9,1**				
60	0	4^{d}	10^{d}	46^{bc}	20^{C}
	0,5	47^{bc}	67^{a-c}	51^{bc}	55^{B}
	1	82^{a-c}	99^{a-c}	93^{a-c}	92^{AB}
	1,5	116^{a-c}	173^{a}	145^{ab}	144^{A}
	TB (B)	62^{B}	87^{AB}	84^{A}	
	CV = 12,5%; F(A) = 47,1**; F(B) = 6,1**; F(AB) = 4,3**				

*Trong cùng một cột, những giá trị theo sau có cùng ký tự sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê **: có ý nghĩa ở mức P < 0,01; (Số liệu đã được chuyển đổi sang dạng logarit khi phân tích thống kê)*

Môi trường có bổ sung BA (1,5 mg/L) đã cho số lượng phôi hình thành cao nhất là 334 phôi (ở 30 NSC), 336 phôi (ở 45 NSC) và 144 phôi (ở 60 NSC), khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường có bổ sung các nồng độ BA còn lại.

NAA ở các nồng độ khác nhau cũng ảnh hưởng rất rõ rệt và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê đến sự cảm ứng tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ. Môi trường có bổ sung NAA (0,1 mg/L và 0,5 mg/L) cho số lượng phôi hình thành cao nhất lần lượt là 213 phôi và 168 phôi (ở 30 NSC). Trong khí đó ở 45 và 60NSC, môi trường ó bổ sung NAA ở nồng độ thấp (0,5 mg/L) lại cho số lượng phôi hình thành cao nhất lần lượt là 211 phôi 84 phôi.

Môi trường có bổ sung giữa nồng độ BA 1,5 mg/L và NAA 0,1 mg/L đều cho số lượng phôi hình thành cao nhất lần lượt là 444 phôi, 549 phôi và 173 phôi ở tất cả ba thời điểm theo dõi tương ứng là 30 NSC, 45 NSC và 60 NSC. Số lượng phôi hình thành ở môi trường có sự phối hợp giữa BA (1,5 mg/L) và NAA (0,1 mg/L) rất cao và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường được bổ sung các nồng độ BA và IBA còn lại trong thí nghiệm (Bảng 3).

Kết quả thí nghiệm cho thấy mô sẹo nhân nuôi trên môi trường MS có bổ sung BA và NAA đều tạo được phôi. Điều này cũng tương tự nghiên cứu của Huỳnh Thị Đan San và Võ Thị Bạch Mai (2009) đã nuôi cấy mô sẹo lá cây Hà thủ ô đỏ trên môi trường MS bổ sung NAA và BA. Sau 8 tuần nuôi cũng đã tạo được những tế bào có khả năng sinh phôi. Sự kết hợp giữa BA và NAA cho kết quả tạo phôi tốt hơn sự kết hợp giữa BA và IBA. Khi có sự kết hợp giữa BA và NAA mô sẹo có khả năng phát sinh phôi vô tính tương tự như tạo phôi ở cây mỏ quạ (Lê Hồng Giang và Nguyễn Bảo Toàn, 2011).

Sự kết hợp giữa cytokinin và auxin có khả năng thúc đẩy quá trình cảm ứng tạo phôi. Các kết quả trong nghiên cứu cho thấy cytokinin là chất điều hòa sinh trưởng cần thiết cho sự phát sinh phôi ở cây Đinh lăng lá nhỏ, BA có tác dụng kích thích sự tăng trưởng tế bào dưới sự có mặt của IBA trong môi trường với nồng độ thấp. Loschiavo và cs (1989) ghi nhận rằng auxin cảm ứng sự xác định khả năng tạo phôi của tế bào mô sẹo hoặc huyền phù tế bào nhưng chính nó lại làm cho những tế bào được cảm ứng này ngừng phân chia. Điều này dường như đã đúng trong nghiên cứu tạo phôi vô tính ở cây đinh lăng lá nhỏ. Mô sẹo cây đinh lăng lá nhỏ cho kết quả tạo phôi tốt trên môi trường MS bổ sung auxin ở nồng độ thấp cùng với sự có mặt của BA.

Mô sẹo nuôi cấy trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng vẫn có hiện tượng phát sinh phôi. Điều này tương tự với nghiên cứu của Lê Thiên Thư và Võ Thị Bạch Mai (2005) đã tạo được phôi trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng Sliwinska (2008) cũng đã tạo thành công phôi vô tính cây đinh lăng lá to (*Polycias filicifolia*) khi nuôi cấy trên môi trường lỏng 1/2 MS không có chất điều hòa sinh trưởng. Mô sẹo thường được cảm ứng trên môi trường có bổ sung auxin ở hàm lượng cao và sau đó được chuyển sang môi trường không có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật hoặc môi trường bổ sung auxin ở nồng độ thấp hơn nhờ đó giúp cho sự phát triển của những tế bào cảm ứng sinh phôi.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA đến tỷ lệ tạo phôi vô tính ở đinh lăng lá nhỏ

Bảng 4 cho thấy tỷ lệ tạo phôi cao nhất (72,2 %) ở môi trường có bổ sung nồng độ BA 1,5 mg/L, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường có bổ sung các nồng độ BA còn lại. Theo Komamine (2005), cytokinin riêng lẻ cũng đã được dùng như nhân tố cảm ứng cho sự hình thành phôi ở một vài loài thực vật. BA ở nồng độ cao và kinetin ở tất cả các nồng độ đều kích thích tái sinh cơ quan, trong khi BA ở nồng độ thấp kích thích tạo phôi vô tính đồng thời tạo cơ quan. Nghiên cứu cũng đã nhận được kết quả tương tự với nhận định này.

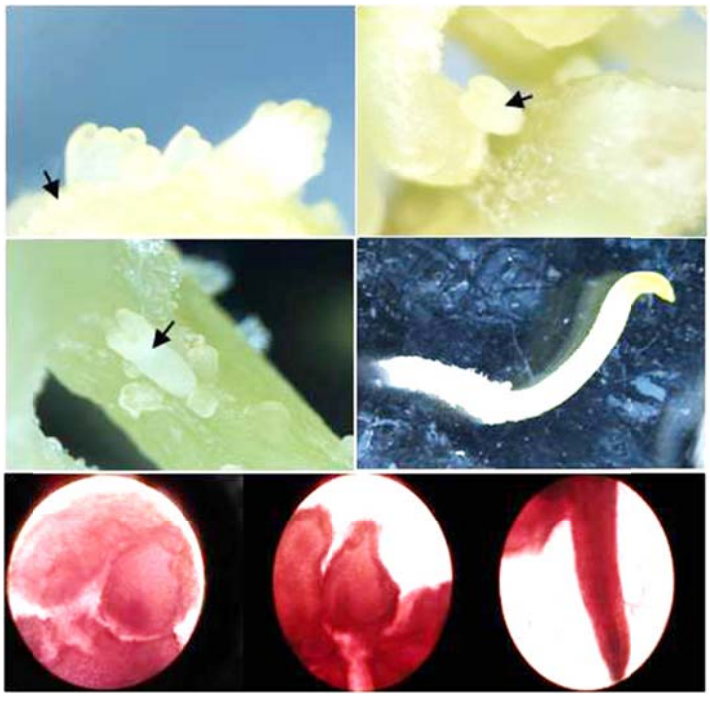
Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA đến tỷ lệ tạo phôi vô tính ở đỉnh lăng lá nhỏ (%)

Nồng độ BA (mg/L) (A)	**Nồng độ NAA (mg/L) (B)**			
	0	**0,1**	**0,5**	**TB (A)**
0	$10,0^{c}$	$50,0^{b}$	$53,3^{ab}$	$37,8^{C}$
0,5	$53,3^{ab}$	$53,3^{ab}$	$56,7^{ab}$	$54,4^{B}$
1	$63,3^{ab}$	$66,7^{ab}$	$66,7^{ab}$	$65,6^{AB}$
1,5	$66,7^{ab}$	$80,0^{a}$	$70,0^{ab}$	$72,2^{A}$
TB (B)	$48,3^{B}$	$62,5^{A}$	$61,7^{A}$	
	CV = 13,6%; F(A) = $17,9^{**}$; F(B) = $7,4^{**}$; F(AB) = $3,8^{**}$			

*Trong cùng một cột, những giá trị theo sau có cùng ký tự sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê **: có ý nghĩa ở mức P < 0,01; (Số liệu đã được chuyển đổi sang dạng arcsin khi phân tích thống kê)*

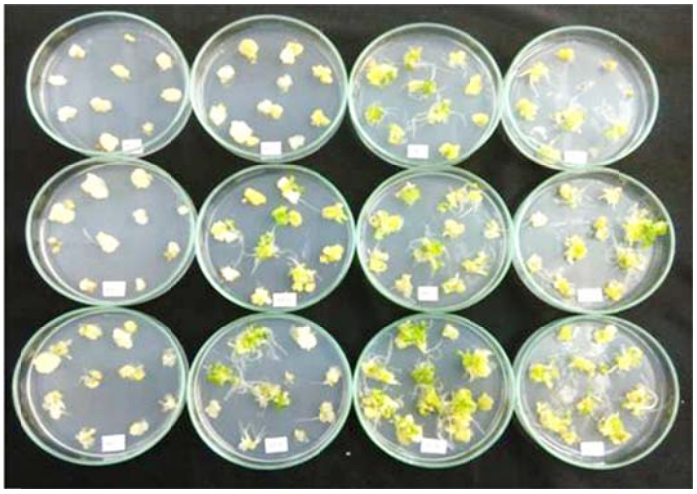
Môi trường có bổ sung NAA (0,1 mg/L và 0,5 mg/L) cho tỷ lệ tạo phôi cao nhất lần lượt đạt 62,5 % và 61,7 %, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với môi trường có bổ sung các nồng độ NAA còn lại trong thí nghiệm (giữa hai nồng độ trên có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê). Kết quả này có thể do nồng độ auxin cao cần thiết cho sự cảm ứng hình thành phôi vì auxin là một nhân tố sinh trưởng, kích thích sự dãn nở của vách tế bào, làm tế bào tăng trưởng về kích thước (Komamine, 2005; Moghaddam, 2005). Ngoài ra, auxin còn là một yếu tố truyền tín hiệu cảm ứng phát sinh phôi, đóng vai trò quan trọng trong kênh thông tin tế bào, làm tế bào biến đổi sang trạng thái cuối cùng đã được chương trình hóa để tạo thành phôi vô tính (Yeung, 1995).

Môi trường có bổ sung kết hợp giữa nồng độ BA 1,5 mg/ L và NAA 0,1 mg/L cho tỷ lệ tạo phôi cao nhất đạt 80,0 % và có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với các nồng độ BA và NAA còn lại trong thí nghiệm. Trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng có hiện tượng phát sinh phôi vô tính với tỷ lệ tạo phôi là 10,0%.



nhỏ

đoạn
hình
Hình
i của



Hình 3. Phôi vô tính cây đinh lăng lá nhỏ nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA và NAA tại thời điểm 45 NSC:

BA 0 mg/L và NAA 0 mg/L (A); BA 0 mg/L và NAA 0,1 mg/L(B); BA 0 mg/L và NAA 0,5 mg/L(C); BA 0,5 mg/L và NAA 0 mg/L(D); BA 0,5 mg/L và NAA 0,1 mg/L(E); BA 0,5 mg/L và NAA 0,5 mg/L(F); BA 1 mg/L và NAA 0 mg/L(G); BA 1 mg/L và NAA 0,1 mg/L(H); BA 1 mg/L và NAA 0,5 mg/L(K); BA 1,5 mg/L và NAA 0 mg/L(L); BA 1,5 mg/L và NAA 0,1 mg/L(M); BA 1,5 mg/L và NAA 0,5 mg/L(N);

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Mô sẹo tạo phôi tốt nhất khi được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA ở nồng độ 1,5 mg/L và NAA ở nồng độ 0,1 mg/L với tỷ lệ hình thành phôi đạt 80,0%, số lượng phôi đạt 549 phôi/ bình tại thời điểm 45 ngày sau cấy. Tù kết quả nghiên cứu nàu có thể kiến nghị khi tạo phôi vô tính Đinh lăng từ mô sẹo nên nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA ở nồng độ 1,5 mg/L và NAA ở nồng độ 0,1 mg/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Huan VD, Yamamura S, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K, Nham NT, Chau HM, 1998. Oleane saponins from *Polycias fruticosa*, *Phyochemistry* (47): 451-457
2. Huỳnh Thị Đan San và Võ Thị Bach Mai, 2009. Tìm hiểu sự phát sinh phôi soma từ mô sẹo lá cây hà thủ ô đỏ *Polygonum Multiflorum* Thunb. *in vitro,* Tạp chí phát triển KH&CN, tập 12, số 17, 81-85.
3. Komamine A., Murata N. and Nomura K., 2005, 2004. SIVB congress symposium proceeding: Mechanism of somatic embryogenesis in carrot suspension cultures – Morphology, physiology, biochemistry and molecular biology, *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 41.6-10.
4. Lê Hồng Giang và Nguyễn Bảo Toàn, 2011. Sự hình thành mô sẹo, phôi và cây con ở cây mỏ quạ in vitro (*Dischidla rafleslana* Wall.), Tạp chí Khoa học, số 20, 61-67.
5. Lê Thiên Thư và Võ Thị Bạch Mai, 2005. Nghiên cứu về sự phát sinh hình thái trong nuôi cấy *invitro* cây Đinh lăng *Polyscias fruticosa* L. Harm, *Tạp chí Phát triển khoa học và Công nghệ Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh*, Tập 8, số 11, trang 47-51.
6. Loschiavo F, Pitto L, Giuliano G, Torti G, Nuti Ronchi V, Marazziti D, Veraga R, Orselli S, Terzi M, 1989. DNA methylation of embryogenic carrot cell cultures and its variations as caused by maturation, differentiation, hormones and hypomethylation drugs, *Theor App Genet* 77, 325.
7. Mitaine-Offer AC, Tapodjou LA, Lontsi D, Sondegam BL, Choudhary MI, Rahman A, Lacaille-Dubois MA, 2004. Constituents isolated from *Polyscias fulva*.*Sys.Ecol*. (32): 607-610.
8. Moghaddam B.E and Taha R.M., 2005. Cellular behavior in embryogenic and non-embryogenic sugar beet

calluses, *In vitro Cell, Dev*., *Biol. Plant*, 41, 465-469.

9. Sliwinska A., Olszowska O., Furmanowa M., Nosov A., 2008. Rapid multiplication of *Polycias filicifolia* by secondary somatic embryogenesis, *In vitro Cell . Dev. Biol. Plant* (44): 69-77

10. Yeung E.C., 1995. Structural and developmental patterns in somatic embryogenesis, *In vitro Embryogenesis in Plants*, 205-247.

EFFECTS OF BA, IBA AND NAA's CONCENTRATION TO ASEXUAL EMBRYO CREATIVITY INDUCTION IN *Polycias fruticosa* (L.) Harms.

ABSTRACT

Polycias fruticosa is a medicinal plant that can be propagated by tissue culture. The ability to generate asexual embryos is strongly dependent on the composition and dosage of growth regulators. Two two-factorial experiments were carried out from April 2016 to June 2017 at the Institute Tropical Biology, Ho Chi Minh city in order to identify medium producing the most of number embryo of *Polycias fruticosa.* In the first experiment, factor A was Concentrations of BA (0; 0.5; 1; 1.5 mg/L) and factor B was IBA concentrations (0; 0.1; 0.5 mg/L). In the second experiment, factor A was Concentrations of BA (0; 0.5; 1; 1.5 mg/L) and factor B was NAA concentrations (0; 0.1; 0.5 mg/L) were evaluated in the study. The callus cultured on the MS medium supplemented with BA (1.5 mg/L) and NAA (0.1 mg/L) generated the most number of embryos (549 embryos) with a percentage up to 80.0 % at 45 days after culture.

Key words: BA, embryo propagation; IBA; *NAA; Polycias fruticosa.*

ẢNH HƯỞNG CỦA CHE PHỦ ĐẤT VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN HỮU CƠ ĐẾN SINH TRƯỞNG CÂY SẢ VÀ NĂNG SUẤT TINH DẦU SẢ JAVA (*Cymbopogon winterianus* Jawitt) TẠI GIA LAI

Phạm Thị Minh Tâm[1], Đào Duy Hiệp[1], Phạm Anh Cường[2] , Trần Thi[1], Võ Thị Thu Oanh[1]
[1]Khoa Nông học trường Đại học Nông Lâm TP. HCM
[2]Công ty Cổ phần Phân bón Bình Điền
Email: ptmtam@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Sả Java được trồng phổ biến ở Việt Nam để sử dụng cho công nghiệp và dược liệu. Với sự gia tăng nhu cầu sả nguyên liệu, việc áp dụng phân bón là một trong những biện pháp kỹ thuật để tăng sản lượng sả. Một thí nghiệm 2 yếu tố đã được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên để tìm hiểu ảnh hưởng của việc che phủ và liều lượng bón phân hữu cơ đến sinh trưởng của cây và năng suất dầu của sả Java. Yếu tố A gồm 2 cách che phủ đất (A1: Không che phủ đất (Đ/C); A2: Che phủ đất bằng rơm). Yếu tố B gồm 3 mức phân hữu cơ vi sinh bón (tấn/ha) (B1: 0 (Đ/C); B2: 2; B3: 4). Che phủ đất làm tăng hàm lượng tinh dầu sả ở đợt thu hoạch 1, đạt cao nhất là 1,45%. Bón phân hữu cơ vi sinh với liều lượng 4 tấn/ha cho cây sả Java cho năng suất lá thực thu (5,90 tấn/ha/2 đợt thu hoạch) và năng suất tinh dầu thực thu cao nhất là (85,25 kg/ha/2 đợt thu hoạch). Sự kết hợp phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh (0 – 6 tấn/ha) chưa ảnh hưởng đến sinh trưởng và năng suất dầu của cây sả Java.

Từ khóa: Sả Java, che phủ đất, phân hữu cơ, tinh dầu sả.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sả Java (*Cymbopogon winterianus* Jawitt) từ lâu đã được biết đến như là một dược liệu trong nền y học dân tộc và là cây dùng để chiết xuất tinh dầu. Tinh dầu sả Java là nguồn nguyên liệu cần thiết cho nhiều ngành công nghiệp như sản xuất nước hoa, dầu gội, bột giặt, xà phòng thơm, sáp khử mùi, các loại thuốc điều trị, thuốc khử trùng trong y tế và thuốc trừ sâu bệnh cho cây trồng (Lê Ngọc Thạch, 2003). Chính vì vậy mà nhu cầu sử dụng tinh dầu sả Java trong và ngoài nước ngày một tăng cao.

Nắm bắt được nhu cầu trên, nhiều địa phương tại Việt Nam với điều kiện khí hậu và địa hình thích hợp cho sự sinh trưởng của cây sả Java đã nhập và trồng giống sả này từ những năm 1960- 1965, và từ năm 1975 giống sả này được trồng ở Tây Nam bộ và các tỉnh Tây Nguyên. Tỉnh Gia Lai với khí hậu nhiệt đới gió mùa, nhiệt độ trung bình 24,2 – 26,6^{0}C, lượng mưa trung bình 1.200 – 2.500 mm/năm thích hợp cho giống sả Java phát triển. Sả Java là loại cây dễ trồng và đem lại hiệu quả kinh tế cao vì giống sả này không kén đất, có khả năng chịu hạn, ít bị sâu bệnh tấn công, chi phí đầu tư thấp và chu kì kinh tế kéo dài.

Nền nông nghiệp hữu cơ đang trở thành xu hướng phát triển nông nghiệp trên toàn thế giới, trong đó có Việt Nam. Phát triển nông nghiệp bền vững đi đôi với việc tăng độ phì nhiêu cho đất, bảo vệ môi trường và đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm. Mô hình canh tác nông nghiệp hữu cơ cần được nghiên cứu và áp dụng đối với tất cả các loại cây trồng tại Việt Nam nói chung và giống sả Java nói riêng.

Mặc dù nền nông nghiệp hữu cơ ở nước ta đã được biết đến từ lâu nhưng mới chỉ được quan tâm, nghiên cứu trong những năm gần đây. Việc đầu tư nghiên cứu áp dụng phương thức sản xuất nông nghiệp hữu cơ cần được đẩy mạnh đầu tư, phát triển và áp dụng rộng rãi vào thực tế sản xuất. Điển hình là sự áp dụng phương thức sản xuất hữu cơ vào trong quá trình canh tác giống sả Java. Sử

dụng phân hữu cơ và che phủ đất bằng vật liệu hữu cơ cho cây sả Java để đem lại hiệu quả và năng suất tinh dầu cao là vấn đề cần được quan tâm nghiên cứu để phát triển giống sả này một cách bền vững trên địa bàn nước ta.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu đã được tiến hành tại đội sản xuất 15, công ty sản xuất Bình Dương, Binh đoàn 15, xã Ia Púch, huyện Chư Prông, tỉnh Gia Lai từ tháng 5 đến tháng 9 năm 2017.

2.1. Điều kiện thí nghiệm

Bảng 1. Bảng phân tích mẫu đất tại nơi thí nghiệm

Thành phần cơ giới (%)			pH	Mùn (%)	Tổng số (%)			P dễ tiêu (mg P_2O_5/100g)
Cát	Thịt	Sét						
86	8	6	4,5	1,20	0,04	0,32	0,04	5,47

Phân tích tại Bộ môn Thủy Nông – khoa Nông học, 2017

Kết quả phân tích mẫu đất Bảng 1 cho thấy đất khu thí nghiệm có pH = 4,5 đất chua vừa. Đất khu thí nghiệm thuộc loại đất cát, thành phần hữu cơ nghèo chiếm 1,20%, hàm lượng N tổng số và K_20 nghèo, hàm lượng P_2O_5 tổng số giàu nhưng lượng P_2O_5 dễ tiêu ở mức nghèo. Do cây sả có thể sinh trưởng ở đất nghèo dinh dưỡng nên đất khu thí nghiệm vẫn phù hợp cho cây sả Java sinh trưởng và phát triển.

Trong thời gian làm thí nghiệm, từ tháng 5 đến tháng 8 có lượng mưa lớn, nhiệt độ trung bình 23,69 – 24,59, độ ẩm cao đây là điều kiện thích hợp cho giống sả Java phát triển. Tuy nhiên, tháng 7 lượng mưa quá lớn gây trở ngại cho sự sinh trưởng của cây, cộng với độ ẩm không khí quá cao dễ gây phát sinh bệnh trên vườn sả.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Cây sả Java 10 tháng tuổi được trồng từ tháng 8 năm 2016 xen trong vườn cao su với khoảng cách trồng 0,6 x 0,8 m. Các số liệu kiểm trắng trước thí nghiệm về Chiều cao bụi sả (cm), Đường kính bụi (cm) và Số nhánh/bụi sả đều cho thấy vườn sả trước thí nghiệm đồng đều (Số liệu không đưa vào). Vườn cao su đang trong giai đoạn kiến thiết cơ bản năm thứ 3, chưa khép tán.

Vật liệu che phủ đất: rơm.

Phân hữu cơ vi sinh Quế Lâm thành phần: hữu cơ = 15%, độ ẩm <= 30%, VSV có ích 3 x 10^6 con/gr, Humic = 3% và các nguyên tố trung vi lượng: Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn… các enzim, Humat và chất điều hòa sinh trưởng.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 2 yếu tố được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên, 6 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Yếu tố A gồm 2 cách che phủ đất (A1: Không che phủ đất (Đ/C); A2: Có che phủ đất). Yếu tố B gồm 3 mức phân hữu cơ vi sinh bón (tấn/ha) (B1: 0 (Đ/C); B2: 2; B3: 4). Diện tích mỗi ô là 19,2 m^2. Tổng diện tích khu thí nghiệm 345,6m^2.

Thí nghiệm không bón phân vô cơ. Bón toàn bộ lượng phân hữu cơ vi sinhvào đầu mùa mưa. Cách bón: rạch 2 bên gốc cách 10-15 cm sâu 10 cm để bón phân sau đó lấp đất vùi kín phân. Bón phân kết hợp làm cỏ, xới xáo, vun gốc và lấp phân. Phủ rơm đều trên mặt đất dày khoảng 1 cm sau khi bón phân.

2.4. Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi: Chọn 8 bụi trên ô cơ sở theo đường chéo góc. Theo dõi 2 lần khi thu hoạch ở mỗi đợt. Mỗi đợt thu hoạch cách nhau 45 ngày. Thí nghiệm có 2 đợt thu hoạch. Chiều cao cây (cm): đo từ gốc đến vuốt lá cao nhất; chiều dài lá (cm). Tình hình sâu bệnh hại (%) và Chỉ số bệnh (%); Trọng lượng lá trung bình 1 bụi (g); Năng suất lá thực thu (tấn/ha/đợt thu hoạch); Hàm lượng tinh dầu (%); Năng suất tinh dầu thực thu (kg/ha/đợt thu hoạch).

Hàm lượng tinh dầu được chiết xuất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập từ các thí nghiệm được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Excelđược xử lý ANOVA và phân hạng LSD (α= 0.05) bằng phần mềm thống kê SAS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến chiều cao bụi, chiều dài lá, tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm lá nhỏ trên sả Java

Ở đợt thu hoạch đầu tiên, phân hữu cơ vi sinh cũng như che phủ đất bằng vật liệu hữu cơ chưa tác động đến chiều cao bụi và chiều dài lá sả (Không trình bày số liệu). Tuy nhiên chiều cao bụi và chiều dài lá sả đã được tác động rõ rệt ở đợt thu hoạch sả thứ 2 (sau bón phân vi sinh và che phủ đất 90 ngày). Bón phân hữu cơ vi sinh càng nhiều thì bụi sả càng cao và lá càng dài (Bảng 1). Chiều cao bụi sả dao động từ 107,2 cm - 108,3 cm, từ khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi cây được bón 2 tấn hay 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha, nhưng lại khác biệt rất có ý nghĩa so với cây không được bón phân vi sinh (91 cm). Tương tự, chiều dài lá sả cũng có kết quả như chiều cao bụi. Bón phân hữu cơ vi sinh từ 2-4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha làm tăng chiều dài lá sả và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với cây không bón phân. Tuy nhiên bón 2 - 4 tấn phân không làm tăng khác biệt chiều dài lá sả.

Kết quả số liệu ở Bảng 2 cho thấy chiều cao bụi và chiều dài lá khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi sử dụng phương pháp che phủ đất (không che phủ đất, che phủ đất)và sự kết hợp phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh trong thí nghiệm ở đợt 2 chiều cao bụi sả dao động từ 29,8 – 109,7 cm khi thu hoạch sả ở đợt thứ hai.

Bảng 2. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến chiều cao bụi và chiều dài lá cây sả Java (cm) đợt thu hoạch thứ hai

Chỉ tiêu	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (tấn/ha) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
Chiều cao bụi sả (cm)	Không che phủ (Đ/C)	89,8	108,2	106,9	101,6
	Che phủ	92,2	106,3	109,7	102,7
	Trung bình (B)	$91,0^{b}$	$107,2^{a}$	$108,3^{a}$	
	Cv(%) = 6,2 $F_A = 0,14^{ns}$ $F_B = 19,94^{**}$ $F_{A*B} = 0,25^{ns}$				
Chiều dài lá (cm)	Không che phủ (Đ/C)	70,1	81,6	79,4	77,0
	Che phủ	73,3	80,4	84,7	79,5
	Trung bình (B)	$71,7^{b}$	$81,0^{a}$	$82,1^{a}$	
	Cv (%) = 7,1 $F_A = 0,85^{ns}$ $F_B = 6,18^{*}$ $F_{A*B} = 0,53^{ns}$				

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

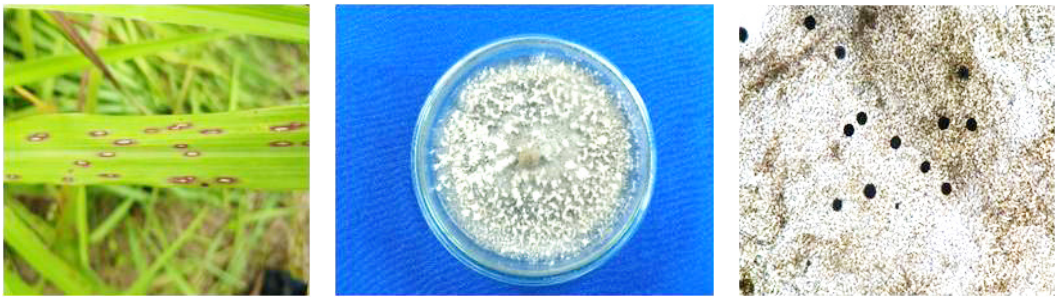
Kết quả số liệu ở Bảng 3 cho thấy tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi không hay có che phủ đất và sự kết hợp giữa phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh trong thí nghiệm ở đợt 2.

Bảng 3. Ảnh hưởng của che phủ đất và liều lượng phân hữu cơ đến tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đốm lá nhỏ gây hại trên lá sả Java (%) ở đợt thu hoạch 2

Chỉ tiêu	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (tấn/ha) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
Tỷ lệ bệnh (%)	Không che phủ (Đ/C)	21,67	20,67	16,33	19,56
	Che phủ	25,33	23,67	16,33	21,78
	Trung bình (B)	$23,50^{a}$	$22,17^{ab}$	$16,33^{b}$	
	Cv (%) =16,27	$F_A = 1,97^{ns}$	$F_B = 7,71^{**}$	$F_{AB} = 0,51ns$	
Chỉ số bệnh	Không che phủ (Đ/C)	3,67	3,08	2,52	3,09
	Che phủ	4,11	3,78	2,74	3,54
	Trung bình (B)	$3,89^{a}$	$3,43^{ab}$	$2,63^{b}$	
	CV (%) = 24,43	$F_A = 1,43^{ns}$	$F_B = 3,72^{*}$	$F_{A*B} = 0,13^{ns}$	

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số được đi kèm với cùng một chữ cái, khác biệt không có ý nghĩa thống kê; ns: mức khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: mức khác biệt có ý nghĩa thống kê mức α=0,05.*

Bón phân hữu cơ vi sinh giúp cây chống chịu tốt hơn với bệnh. Bón từ 2– 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha cho bụi sả có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh thấp hơn khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh ở cây không được bón phân lần lượt là 23,50% và 3,89. Khi cây được bón 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha cho tỷ lệ bệnh thấp nhất (16,33%) và chỉ số bệnh thấp nhất là 2,63%. Tuy nhiên tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh này khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh ở cây được bón 2 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha.



(A) **(B)** **(C)**

Hình 1. Triệu chứng bệnh đốm lá nhỏ và tác nhân gây bệnh trên cây sả (*Nigrospora sp)*
Vết bệnh trên lá (A); Tản nấm trên môi trường PGA (B); Hình dạng phôi nấm (C)

3.2. Ảnh hưởng của che phủ đất và liều lượng phân hữu cơ vi sinh đến trọng lượng lá trung bình/bụi, năng suất lá sả Java thực thu

Kết quả số liệu ở Bảng 4 cho thấy trọng lượng lá trung bình trên 1 bụi khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi sử dụng phương pháp che phủ đất (không che phủ đất, che phủ đất) và sự kết hợp phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh trong thí nghiệm ở cả 2 đợt thu hoạch.

Không bón phân hữu cơ vi sinh hay bón ở liều lượng từ 2 – 4 tấn/ha cho bụi sả có trọng lượng lá trung bình trên 1 bụi tương đồng nhau, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở đợt thu hoạch 1 dao động từ 126,9 – 148,5 g/bụi. Tuy nhiên, phân hữu cơ đã có tác động đến sự sinh trưởng của cây sả ở 90 ngày sau bón thể hiện ở trọng lượng lá trung bình trên 1 bụi khác biệt có ý nghĩa thống kê ở đợt thu hoạch 2. Trọng lượng lá trung bình trên 1 bụi đạt cao nhất 176,3 g/bụi khi cây được bón 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha, trong khi không bón phân hữu cơ trong lượng lá trung bình/bụi chỉ đạt 132,5 g/bụi (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của che phủ đất và liều lượng phân hữu cơ vi sinh đến trọng lượng lá trung bình/bụi sả Java (g/bụi) ở 2 đợt thu hoạch

Đợt thu hoạch	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (tấn/ha) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
1	Không che phủ (Đ/C)	124,6	138,3	142,5	135,1
	Che phủ	129,2	149,2	154,6	144,3
	Trung bình (B)	126,9	143,8	148,5	
	CV (%) = 21,4 $F_A = 0,42^{ns}$ $F_B = 0,87^{ns}$ $F_{A*B} = 0,03^{ns}$				
2	Không che phủ (Đ/C)	123,3	162,5	173,3	153,1
	Che phủ	141,7	161,7	179,2	160,8
	Trung bình (B)	$132,5^{b}$	$162,1^{ab}$	$176,3^{a}$	
	CV (%) = 16,8 $F_A = 0,39^{ns}$ $F_B = 4,32^{*}$ $F_{A*B} = 0,21^{ns}$				

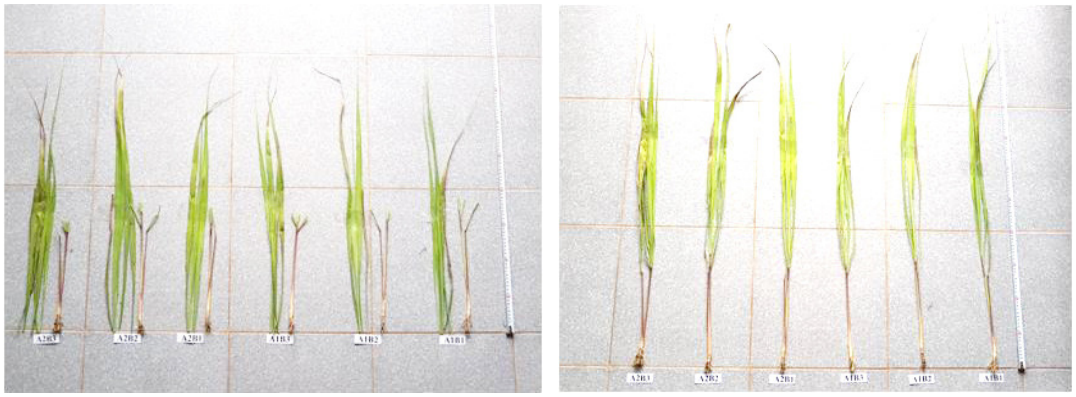
*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Bảng 5. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh năng suất lá sả Java thực thu (tấn/ha/2 đợt thu hoạch)

Chỉ tiêu	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (tấn/ha) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
Năng suất lá thực thu (tấn/ha/2 đợt thu hoạch	Không che phủ (Đ/C)	4,63	5,08	5,93	5,22
	Che phủ	4,73	5,45	5,88	5,35
	Trung bình (B)	4,68	5,27	5,90	
	CV(%) = 21,4 $F_A = 0,10^{ns}$ $F_B = 2,82^{ns}$ $F_{A*B} = 0,08^{ns}$				
Năng suất tăng so với Đ/C (%)	Không che phủ (Đ/C)	-	9,72	28,08	
	Che phủ	2,15	17,71	27,00	

ns: mức khác biệt không có ý nghĩa thống kê, p>0,05.

Năng suất lá sả thực thu ở 2 đợt thu hoạc khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi sử dụng phương pháp che phủ đất (không che phủ đất, che phủ đất), không bón hay bón phân hữu cơ vi sinh (2 - 4 tấn/ha), và sự kết hợp phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh trong thí nghiệm (Bảng 5). Theo Wany và ctv (2013), năng suất lá sả năm thứ nhất dao động từ 4,2 – 5,6 tấn/ha/2 đợt thu hoạch. Kết quả của thí nghiệm cũng tương tự như kết quả của Wany và ctv (2013). Có bón phân hữu cơ cho cây sả đều làm năng suất lá sả tăng từ 9,72 – 28,08% so với đối chứng không bón phân và không che phủ đất. Mặc dù không bón phân hữu cơ nhưng có che phủ đất bằng rơm dày 1 cm vẫn làm năng suất lá sả tăng 2,15%. Bón phân hữu cơ vi sinh với lượng 4 tấn/ha làm tăng năng suất sả cao nhất từ 27,0 – 28,08% so với đối chứng không bón phân.



Hình 2. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến chiều dài lá và chiều cao cây sả Java

3.3. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu sả Java

Kết quả số liệu ở Bảng 6 cho thấy không có hay có che phủ đất chỉ tác động đến hàm lượng tinh dầu trong lá sả ở đợt thu hoạch 1, đạt cao nhất 1,45% khi cây được che phủ đất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hàm lượng tinh dầu ở cây không được che phủ đất.

Bón phân hữu cơ vi sinh cho cây sả cũng chỉ tác động đến hàm lượng tinh dầu sả ở đợt thu hoạch 1. Bón 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha cho sả có hàm lượng tinh dầu cao nhất (1,47%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở đợt thu hoạch 1 so với cây không bón phân hữu cơ. Phương pháp che phủ đất kết hợp bón phân hữu cơ vi sinh ở liều lượng từ 0 – 4 tấn/ha cho bụi sả có hàm lượng tinh dầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở cả 2 đợt thu hoạch (Bảng 6). Hàm lượng tinh dầu sả trong thí nghiệm dao động từ 1,26 - 1,55%, cao hơn so với hàm lượng tinh dầu sả Java được Wany và ctv (2013) đề cập đến.

Bảng 6. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến hàm lượng tinh dầu cây sả Java (%)

Đợt thu hoạch	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (%) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
1	Không che phủ (Đ/C)	1,26	1,31	1,40	$1,32^{b}$
	Che phủ	1,37	1,43	1,55	$1,45^{a}$
	Trung bình (B)	$1,32^{b}$	$1,37^{ab}$	$1,47^{a}$	
	CV(%) = 5,74 $F_A = 11,38^{**}$ $F_B = 6,09^{*}$ $F_{A*B} = 0,07^{ns}$				
2	Không che phủ (Đ/C)	1,26	1,23	1,26	1,25
	Che phủ	1,29	1,23	1,37	1,29
	Trung bình (B)	1,27	1,23	1,31	
	CV(%) = 5,39 $F_A = 2,09^{ns}$ $F_B = 2,31^{ns}$ $F_{A*B} = 1,15^{ns}$				

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Năng suất tinh dầu thực thu khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi không hay có che phủ đất và sự kết hợp giữa phương pháp che phủ đất với bón phân hữu cơ vi sinh (0 – 4 tấn/ha) (Bảng 7). Tuy nhiên có che phủ đất cũng làm tăng năng suất tinh dầu sả lên từ 7,97% - 11,2% so với cây không che phủ đất.

Bón phân hữu cơ vi sinh ở liều lượng từ 0 – 4 tấn/ha cho bụi sả có năng suất tinh dầu thực thu khác biệt có ý nghĩa thống kê. Bón càng nhiều phân hữu cơ vi sinh thì năng suất tinh dầu càng cao. Năng suất tinh dầu sả thực thu cao nhất là 82,25 kg/ha/2 đợt thu hoạch khi cây được bón 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha nhưng khác biệt không có ý nghĩa so với năng suất tinh dầu sả ở cây được bón 2 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha. Kết quả của thí nghiệm cao hơn so với kết quả của Wany và ctv (2013). Năng suất tinh dầu sả trung bình năm thứ nhất là 28 – 42 kg/ha/2 đợt thu hoạch (Wany và ctv, 2013). Năng suất tinh dầu sả tăng từ 10,49 – 46,56% khi cây được bón phân hữu cơ từ 2-4 tấn/ha so với năng suất tinh dầu ở cây sả không được bón phân hữu cơ vi sinh (Bảng 7).

Bảng 7. Ảnh hưởng của che phủ đất và lượng phân hữu cơ vi sinh đến năng suất tinh dầu sả thực thu

Chỉ tiêu	Phương pháp che phủ (A)	Lượng phân HCVS (tấn/ha) (B)			Trung bình (A)
		0 (Đ/C)	2	4	
Năng suất tinh dầu thực thu (kg/ha/2 đợt thu hoạch)	Không che phủ (Đ/C)	58,36	64,48	78,97	67,27
	Che phủ	63,01	72,70	85,53	73,75
	Trung bình (B)	$60,68^{b}$	$68,59^{ab}$	$82,25^{a}$	
	Cv (%) = 17,04 $F_A = 1,31^{ns}$ $F_B = 4,95^{*}$ $F_{A*B} = 0,03^{ns}$				
% tăng so với Đ/C	Không che phủ (Đ/C)	-	10,49	35,36	
	Che phủ	7,97	24,57	46,56	

*Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (p<0,01); ns: khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p>0,05).*

Thảo luận

Toàn bộ cây sả đều chứa tinh dầu nhưng lá chứa tinh dầu nhiều nhất. Hàm lượng tinh dầu sả Java trung bình trong lá tươi vào khoảng 1% (Wany, 2013). Theo Nguyễn Thị Hưng và Nguyễn Khắc Quang (2012), hàm lượng tinh dầu sả Java vào mùa khô là 0,6 – 1,2 %, mùa mưa là 0,5 - 0,6%, thậm chí có thể đạt đến 1,8% vào mùa khô và 0,75% vào mùa mưa. Trong thí nghiệm, hàm lượng tinh dầu sả Ja dao động từ 1,26 – 1,55 là khá cao so với các kết quả nghiên cứu trên.

Kết hợp với vi sinh vật trong đất, phân hữu cơ giúp quá trình tổng hợp các phytohormones và các vitamin nhất định. Đây là những chất cần thiết để thúc đẩy cây trồng sinh trưởng và phát triển (Kumar, 2007). Phân hữu cơ làm tăng đáng kể chất hữu cơ trong đất, do đó làm tăng độ phì đất nên tác động tốt đến nhiều đặc tính khác nhau của đất. Những đặc tính này thúc đẩy sự kết hợp với những hạt khoáng, đăc biệt là hạt sét và do đó làm tăng khả năng trao đổi cation của đất, hình thành các chelates với những nguyên tố vi lượng và vì vậy làm giảm một cách đáng kể sự trực di các nguyên tố này. Bên cạnh đó, phân hữu cơ có tác dụng cải thiện cấu trúc đất làm gia tăng khả năng thấm hút và giữ nước, cải thiện sự thoáng khí và giữ nhiệt độ đất ôn (Allison, 1973; Eltibib và ctv, 1994; Woomer and Swift, 1991). Với tất cả vai trò và tác dụng của phân hữu cơ ở trên, bổ sung phân hữu cơ cho cây sả Java có tác động trực tiếp đến sự sinh trưởng và phát triển của cây. Phân hữu cơ tạo điều kiện thuận lợi thúc đẩy hệ rễ phát triển, tăng khả năng hấp thu của bộ rễ, kích thích đẻ nhánh, tạo bộ tán lá khỏe mạnh, tăng khả năng tổng hợp các chất dinh dưỡng cũng như tinh dầu dự trữ trong lá, qua đó nâng cao năng suất tinh dầu. Thí nghiệm cũng đã nhận được kết quả là bón phân hữu cơ vi sinh làm tăng chiều cao cây, chiều dài lá, trọng lượng lá trung bình/bụi, hàm lượng tinh dầu và năng suất tinh dầu. Sharma (1983) cũng đã có kết quả tương tự. Abedalla (2000) cũng cho thấy bón 2,5 tấn phân gà/ha cho sả *Cymbopogon proximus* có tốc độ sinh trưởng của sả cao nhất và sả lượng cao hơn chỉ bón phân. Ahmed (2000) Năng suất sả tăng tỷ lệ thuận với lượng bón phân gà ở 3 lượng bón là 2,5; 5 và 7,5 tấn/ha ở Shambat.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Che phủ đất cho cây sả chỉ tác động rõ rệt đến hàm lượng tinh dầu sả ở đợt thu hoạch 1 với hàm lượng tinh dầu đạt cao nhất là 1,45%, trong khi thấp nhất là 1,32 ở cây không được che phủ đất. Các chỉ tiêu khác về sinh trưởng cũng như năng suất sả chưa thấy rõ tác động của biện pháp che phủ đất.

Bón phân hữu cơ vi sinh ở liều lượng 4 tấn/ha có tác động tích cực đến sinh trưởng và các yếu tố cấu thành năng suất. Cây sả Java sinh trưởng tốt nhất, năng suất lá thực thu (5,90 tấn/ha/2 đợt thu hoạch) và năng suất tinh dầu thực thu cao nhất là (85,25 kg/ha/2 đợt thu hoạch) khi cây được bón 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ ha.

Sự kết hợp phương pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh (0 – 4 tấn/ha) không ảnh hưởng đến sinh trưởng và năng suất của cây sả Java.

Kiến nghị

Cần tiếp tục theo dõi biện pháp che phủ đất và sự kết hợp giữa biện pháp che phủ đất và bón phân hữu cơ vi sinh.

Khuyến khích bón từ 2- 4 tấn phân hữu cơ vi sinh/ha cho cây sả Java để cây sinh trưởng tốt, cho năng suất lá và năng suất tinh dầu cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdalla. A. I., 2000. Effect of Nitrogen and organic fertilization on the leaves yield and oil content of camel's Hay plant 'Mahareb' . (Agric) M. Sc. Thesis University of Khartoum, Sudan.

Ahmed. M. A. A., 2000. Effect of season, plant age and cultural factor on herbage yield and alkaloid content of two Catharanthus Roseus cultivars. P. H. D. Thesis. University of Khartoum, Sudan

Allison, F.E. 1973. Soil organic matter and its role in crop production. Development in Soil Science 3. Amsterdam: Elsevier

Eitilib, A.M; Ali, AM. And Abdullah M.A, 1994. Effect of chicken manure and salinity on growth and leaf N, P and K contents of okra grown on two soil types. University of Khartoum Journal of Agricultural science. (2):16-35

Kumar, J. 2007. Studies on integrated nutrient management through Vermicompost in direct seeded rice-wheat sequences. Ph.D. thesis. Chaudhary Sarwan Kumar Himachal Pradesh Krishi Vishvavidyalaya, Palampur

Lê Ngọc Thạch, 2003. *Tinh dầu.* Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh

Nguyễn Thị Hưng và Nguyễn Khắc Quang, 2012. Giáo trình mô đun trồng cây sả. 50 PP.

Sharma, H.L. 1983. Studies on the utilization of crop residue, FYM and N-fertilization in rice-wheat cropping system under sub-temperate climate. Ph.D Thesis. Department of Agronomy, HPKVV, Palampur.

Woomer, P. L and Swift, M.J., 1991). Organic matter and the sustainability of Agricultural system : Definition and measurement. In: Soil organic matter Definition and sustainability of Tropical agricultural (eds. Mulongoy, K. and Merckk, R.). Proceeding of international symposium organized by the university of Leuven and the International institute of Tropical Agricultural (IITA), Leuven, Belgium

Wany A., S. Jha , V. K. Nigam and D. M. Pandey, 2013. Review artice: Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from *Cymbopogon winterianus*: A short review. International Journal of Advanced Research, Volume 1, Issue 6, 504-521

EFFECT OF MULCH AND ORGANIC FERTILIZER DOSES ON GROWTH AND OIL YIELD OF JAVA LEMONGRASS (*Cymbopogon winterianus* Jawitt) IN GIA LAI

ABSTRACT

Java lemongrass is common cultivated in Vietnam for the use in industries and in traditional medicine. With the increase of raw lemongrass material demand, the application of fertilizer is one of the most traditional farm practices to raise the productivity. A two factorial experiment was laid out in Randomized complete Block Design to investigate the effect of mulch and organic fertilizer doses on growh and essential oil yield of Java lemongrass. The factor A was two method of mulches (A1: without mulching - Control; A2: Mulching with rice straw). Factor B was three organic fertilizer doses (tons/ha) (B1: 0 – Control; B2: 2 and B3: 4). Mulching with rice straw significantly increased essential oil content in the harvest 1 (1,45%). An application of organic fertilizer (4 tons/ha) significantly resulted in high biomass yield (5,90 tons/ha/2 harvests) and the highest essential oil yield (85,25 kgs/ha/2 harvests). A combination of mulch and an application of organic fertilizer (0-6 tons/ha) did not significant influence the growth and essential oil yield of Java lemongrass.

Key words: Java lemongrass, Mulching, organic fertilizer, lemongrass oil.

ẢNH HƯỞNG CỦA SILICATE KALI BÓN LÁ ĐỐI VỚI SỰ SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG SUẤT LÚA (*Oryza Sativa.*L) TRÊN ĐẤT XÁM TRỒNG TRONG CHẬU

Trần Thị Tường Linh, Nguyễn Kim Thi, Lê Nguyễn Tường Vi
Trường Đại học Sư phạm TP.HCM
Email: tuonglinh65@gmail.com

TÓM TẮT

Thí nghiệm trên giống lúa IR 50404 trồng trong chậu trên đất xám, bón silicate kali qua lá với các nồng độ 150, 300, 450, 600 và 750 mg K_2SiO_3/L cải thiện sự sinh trưởng, năng suất hạt và giảm chỉ số hạt lem (bệnh đạo ôn do nấm *Pyricularia oryzae* Cav.). Đặc biệt, bón qua lá nồng độ 750 mg K_2SiO_3/L cho năng suất lúa tăng 14% so với đối chứng phun nước lã.

Từ khóa: *Oryza Sativa.*L, potassium silicate, phân bón lá, năng suất hạt, *Pyricularia oryzae* Cav..

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong chế độ thâm canh lúa phổ biến hiện nay, các dưỡng chất thiết yếu đa lượng (N, P và K) và trung lượng (Ca, Mg, S) hầu như đã được đáp ứng khá tốt cho nhu cầu của cây lúa. Tuy nhiên, thực tế sản xuất lúa cho thấy phát sinh những hạn chế mới đối với sự sinh trưởng, phát triển và năng suất lúa mà nguyên nhân là do cây chưa được cung cấp thỏa đáng các dưỡng chất thiết yếu khác; đặc biệt là silic (Si) - vốn là một nguyên tố có hàm lượng khá lớn trong cây lúa, đóng vai trò quan trọng đối với sự sinh trưởng và phát triển khỏe mạnh của cây. Trong cây, tác dụng của Situơng tự K đó là giúp tăng cường hoạt động quang hợp của lá, tăng độ cứng cáp cho cây, tăng khả năng chống chịu của cây đối với các điều kiện bất lợi (sâu bệnh, phèn, mặn, nóng hạn, giá rét); qua đó giúp cây sinh trưởng tốt hơn, cải thiện năng suất và chất lượng lúa.

Sử dụng các loại phân bón hóa học chứa kali và silic trong thành phần để bón gốc đã được nghiên cứu nhiều, trong đó silic được bón vào đất dưới dạng các hợp chất chậm tan - phổ biến là trong phân lân nung chảy. Việc sử dụng silicate kali bón qua lá hầu như chưa được nghiên cứu ứng dụng nhiều tại Việt Nam. Trong khi đó, một số kết quả nghiên cứu ở nước ngoài đã cho thấy dùng biện pháp bón bổ sung các hợp chất chứa kali và silic hòa tan, có thể được hấp thu nhanh qua lá là một biện pháp kỹ thuật có tính khả thi và mang lại hiệu quả tốt góp phần cải thiện sự sinh trưởng và năng suất cây lúa, giảm thiểu áp lực sâu bệnh trong thực tế thâm canh lúa hiện nay. Mức nồng độ SiO_2 thường dùng bón qua lá cho cây trồng trong khoảng 100 - 500 ppm, hoặc có nơi nồng độ SiO_2 lên đến mức 1% ở dạng silicate kali hoặc silicate natri. Silic đóng vai trò như chất dinh dưỡng có tác dụng tăng cường sự sinh trưởng, cải thiện năng suất cây trồng và chất lượng nông sản (Phan Thị Công, 1998; Buck G.B. *et al.,* 2008).

Đất xám trồng lúa ở nước ta vốn nghèo dinh dưỡng (Hội khoa học đất Việt Nam, 2000) - trong đó, rất nghèo kali và silic hữu hiệu - do đó, đề tài đã được thực hiện nhằm góp phần vào cơ sở khoa học cho việc sử dụng trực tiếp các hợp chất silicate kali trong nông nghiệp hoặc làm nguồn nguyên liệu trong sản xuất phân bón lá cho lúa trên đất xám.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Địa điểm: Thí nghiệm trồng cây (11/2016 - 4/2017) tại khuôn viên hộ gia đình thuộc địa bàn Quận 2 - TP.HCM; Phân tích lý, hóa; giải phẫu mẫu thực vật tại Phòng thí nghiệm Di truyền - Thực vật, Khoa Sinh học - Trường Đại học Sư phạm TP.HCM.

- Công thức thí nghiệm:

CT1: Nền (NPK) + phun nước lã (Đối chứng)

CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L

CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L

CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L

CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L

CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L

- Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên (Randomized Complete Block Design - RCBD), 4 lần lặp. Số cây lúa/ô thí nghiệm: 24 cây/ô, tương đương 64 cây/công thức (24 cây x 4 lần lặp = 96 cây).

Hình 1. Bố trí thí nghiệm theo kiểu RCBD, 4 lần lặp lại - cây lúa 25 ngày sau khi gieo

- Giống lúa: Giống lúa IR 50404 được cung cấp từ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam, thời gian sinh trưởng: 85 - 90 ngày.

- Mật độ cây: Gieo trồng 8 cây/chậu, chậu nhựa có dung tích 13,6 dm^3 chứa 20 kg đất khô không khí (thu từ tầng đất 0-25 cm trên ruộng trồng lúa thuộc đất xám - Củ Chi, TP. HCM).

- Phương pháp bón silicate kali qua lá: Nước lã hoặc dung dịch silicate kali theo các mức nồng độ như trong công thức thí nghiệm được phun ướt đều lên toàn thân lá lúa vào lúc chiều mát; phun vào 3 thời kỳ: 10, 25 và 45 ngày sau khi gieo (SKG). Lượng dịch sử dụng phun để ướt đều cho toàn bộ thân lá lúa, tăng theo sự phát triển của cây và đảm bảo đồng đều cho tất cả các công thức; tương đương lượng dịch khoảng 300-400 L/ha đối với lúa trên đồng ruộng.

- Lượng phân NPK - urea, super lân, clorua kali - được bón với mức dinh dưỡng nguyên chất tính trên kg/ha/vụ: 80N - $40P_2O_5$ - $50K_2O$.

- Xử lý mẫu cây để xác định sinh khối và phân tích hóa học: Thu toàn bộ phần thân lá cây, rửa sạch đất bám bằng nước lã, rửa lại bằng nước cất, sấy cố định ở 90^0C trong 15 phút sau đó sấy ở 60^0C đến trọng lượng không đổi trong tủ sấy thông gió.

- Phân tích mẫu đất, mẫu cây: Theo hướng dẫn chi tiết trong "Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng" - Viện Thổ Nhưỡng Nông Hóa, 1998.

+ pH: Đo trong dung dịch huyền phù đất, tỷ lệ đất : dung dịch = 1 : 2,5, dung dịch nước (pH_{H2O}) hoặc dung dịch KCl (pH_{KCl}).

+ Độ dẫn điện (EC): Đo bằng máy đo độ dẫn điện, tỷ lệ đất : dung dịch = 1 : 5.

+ Si hòa tan (Knutson và cộng sự) trong đất: Chiết bằng nước, lắc trong 5 phút, lọc; Si hữu hiệu trong đất (theo Snyder, 2001): Chiết bằng dung dịch đệm natri acetate pH = 4.

+ Si tổng số trong mẫu rơm rạ khô: Công phá mẫu cây bằng hỗn hợp HCl và HNO_3.

- Đo đếm mẫu trên cây:

+ Chiều cao cây: Đo vào các thời điểm 10, 25, 45 ngày SKG và ngay khi thu hoạch (85 ngày); chọn ngẫu nhiên 3 cây/chậu, đo từ mặt đất đến chóp lá cao nhất.

+ Chiều dài bông: Đo từ cổ bông đến đầu mút bông vào giai đoạn lúa chín, đo ngẫu nhiên 5 bông/ô.

+ Số nhánh: Đếm số nhánh/ô tại thời điểm 80 ngày SKG.

+ Cấu trúc lớp biểu bì gân chính của lá lúa ở thời kỳ lúa trổ (70 ngày SKG) trên lá đòng và lá công năng số 3 (tính từ lá đòng), mẫu được lấy là 1 đoạn 5cm tính từ chóp lá vào trong 10cm; theo phương pháp được nêu bởi Trần Công Khánh (1981):

+ Giải phẫu thân và lá lúa: Cắt trực tiếp bằng tay với lưỡi dao lam.

+ Nhuộm màu mẫu gân lá: Ngâm mẫu cắt vào nước Javen trong 15-20 phút, rửa sạch bằng nước cất. Ngâm mẫu vào acid acetic 1% khoảng 5 phút, rửa sạch bằng nước cất. Nhuộm xanh bằng dung dịch xanh metylen loãng (1/1.000 trong nước cất) 2 phút, rửa sạch bằng nước cất. Nhuộm đỏ bằng dung dịch carmin trong 20 phút, rửa sạch bằng nước cất.

- Tình hình sâu, bệnh phát sinh trong vụ: Giai đoạn lúa chín, đánh giá tỷ lệ hạt vàng sáng, lem lém và chỉ số lem trên hạt lúa (theo phương pháp của IRRI, 1992).

- Xử lí số liệu: Phương pháp phân tích biến lượng (Analysis of Variance, ANOVA) ở mức xác suất $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm lý, hóa đất thí nghiệm

Kết quả phân tích một số tính chất lý, hóa của đất trước thí nghiệm được trình bày qua bảng 1.

Bảng 1. Một số tính chất lý, hóa của đất trước thí nghiệm

Chỉ tiêu	Hàm lượng
pH_{H2O}	6,2
pH_{KCl}	5,4
EC (µS/cm)	936
Chất hữu cơ (%)	1,38
N tổng số (%)	0,051
P_2O_5 tổng số (%)	0,057
K_2O tổng số (%)	0,022
Si hòa tan (mg/kg)	55,4
Si hữu hiệu (mg/kg)	61,5

Mẫu đất xám trên phù sa cổ trong thí nghiệm hơi chua, nghèo ion hòa tan (EC: 936 µS/cm). Hàm lượng N, P, K và chất hữu cơ tổng số trong đất đều ở mức thấp, kết quả phân tích ở đây cũng phù hợp với các nhận định như một số nghiên cứu trong nước đã nêu [3, 7, 8]. Xét kết quả phân tích Si hòa tan và Si hữu hiệu trong đất cho thấy đều ở mức thấp. Chiếu theo mức nồng độ Si hữu hiệu trong đất thích hợp cho lúa (>130 ppm (ở Nhật và Hàn Quốc),> 90 ppm (ở Đài Loan) do các tác giả Samuel và cộng sự (1993), Dobermann A. và Fairhurst T., 2000), đất thí nghiệm có nồng độ Si hữu hiệu thấp hơn mức thích hợp đối với sự sinh trưởng của cây lúa; do đó, việc bón bổ sung Si cho cây lúa là cần thiết.

3.2. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với chiều cao của cây lúa

Theo hệ thống tiêu chuẩn đánh giá cây lúa, chiều cao cây lúa được chia thành ba nhóm chính:

- Nửa lùn (vùng trũng <110 cm; vùng cao <90 cm)
- Trung gian (vùng trũng 110 - 130 cm; vùng cao 90 - 125 cm)
- Cao (vùng trũng> 130 cm; vùng cao> 125 cm).

Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến chiều cao của cây lúa được trình bày qua bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến chiều cao cây lúa

Công thức	Chiều cao cây (cm)			
	10 ngày SKG	25 ngày SKG	45 ngày SKG	85 ngàySKG (thu hoạch)
CT1: Nền (NPK) + nước lã	20,45	47,04	60,79	72,08
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	21,00	47,60	62,46	72,83
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	21,30	48,21	63,92	75,75
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	20,97	47,25	62,69	73,38
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	21,13	46,94	61,65	75,04
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	20,96	48,27	63,73	74,02
CV (%)	*3,04*	*2,23*	*3,00*	*2,45*
$LSD_{0,05}$	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*

Đối chiếu số liệu trong bảng 2 tiêu chuẩn đánh giá cây lúa cho thấy giống lúa IR 50404 thí nghiệm thuộc nhóm nửa lùn.

Ở các giai đoạn sinh trưởng của lúa, việc phun silicate kali chưa làm thay đổi về chiều cao cây rõ rệt, chiều cao cây giữa các nghiệm thức khá đồng đều nhau. Trong điều kiện thí nghiệm chiều cao cây ảnh hưởng bởi yếu tố giống là chủ yếu, mức độ tác động của silicate kali bón lá chỉ thể hiện rõ nét ở giai đoạn thu hoạch. Cụ thể là ở giai đoạn này với nồng độ 300 mg K_2SiO_3/L chiều cao cây tăng 3,67 cm so với đối chứng, ở những nghiệm thức khác chiều cao cây có xu hướng tăng nhưng sự khác biệt không đạt ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$.

Đối với lúa, chiều cao cây là một đặc tính nông học liên quan đến tình hình sinh trưởng, tính chống đổ ngã và ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất. Hầu hết, các giống năng suất cao có thân thấp, cứng rạ, kháng đổ ngã cho năng suất cao. Ngược lại, thân rạ cao ốm yếu để đổ ngã làm cho rối loạn bộ lá, làm rợp bóng, làm giảm năng suất.

Qua tiêu chuẩn đánh giá chiều cao cây lúa nêu trên cho thấy, tất cả các nghiệm thức đều tác động lên chiều cao cây lúa ở mức vừa phải, lúa có chiều cao thích hợp để sinh trưởng và đảm bảo năng suất hạt.

Hình 2. Cây lúa trong thí nghiệm thời kỳ thu hoạch

Từ trái sang phải: CT1: phun nước lã - đối chứng, CT2: 150 mg K_2SiO_3/L, CT3: 300 mg K_2SiO_3/L, CT4: 450 mg K_2SiO_3/L,CT5: 600 mg K_2SiO_3/L,
CT6: 750 mg K_2SiO_3/L

3.3. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với sinh khối khô của cây lúa

Bảng 3. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến sinh khối khô của cây lúa thời kỳ thu hoạch

Công thức	Sinh khối khô	
	(kg/m^2)	Tăng so đối chứng (kg/m^2)
CT1: Nền (NPK) + nước lã	0,62	-
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	0,70	0,08
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	0,65	0,03
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	0,72	0,10
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	0,76	0,14
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	0,70	0,10
CV (%)	*13,03*	-
$LSD_{0,05}$	*NS*	-

Kết quả được trình bày qua bảng 3, sinh khối cây lúa giữa các công thức dao động trong khoảng 0,62 - 0,76 kg/m^2, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các công thức. Sinh khối khô của cây lúa phun nước lã là 0,62 kg/m^2, hơi thấp hơn so với cây lúa được phun K_2SiO_3 - sinh khối khô giao động từ 0,65 - 0,76 kg/m^2, thấp nhất là 0,65 kg/m^2 ở CT3 (300 mg K_2SiO_3/L) và cao nhất là 0,72 - 0,76 kg/m^{2}ở CT4 và CT5 với nồng độ lần lượt là 450 mg K_2SiO_3/L và 600 mg K_2SiO_3/L.

3.4. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với cấu trúc giải phẫu lá lúa

Bảng 4. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến tỷ lệ độ dàycủa lớp biểu bì dưới và mô dày trên gân chính lá đòng của cây lúa

Công thức	Độ dày biểu bì dưới (%)	Độ dày mô dày (%)	Độ dày biểu bì và mô dày (%)
CT1: Nền (NPK) + nước lã	1,76	5,46	7,22
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	2,55	6,67	9,22
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	2,74	5,96	8,70
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	3,46	5,27	8,74
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	2,67	6,97	9,64
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	2,75	6,20	8,95

Bảng 5. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến tỷ lệ độ dày của lớp biểu bì dưới và mô dày trên gân chính lá công năng của cây lúa

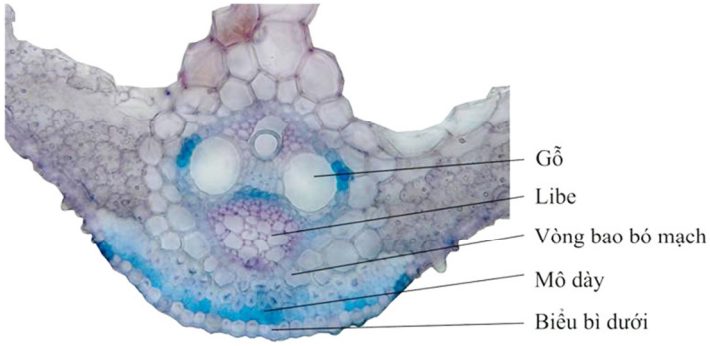
Công thức	Độ dày biểu bì dưới (%)	Độ dày mô dày (%)	Độ dày biểu bì và mô dày (%)
CT1: Nền (NPK) + phun nước lã	1,36	3,29	4,65
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	1,57	3,97	5,53
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	1,63	2,68	4,31
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	1,13	3,45	4,58
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	1,96	3,13	5,09
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	1,63	3,45	5,07

Cấu tạo giải phẫu của lá lúa thí nghiệm được xem xét ở hai lớp tế bào là biểu bì dưới và mô dày của gân lá chính trên cây lúa ở thời kỳ trổ (70 ngày SKG). Biểu bì bao bọc bên ngoài, có các khe lỗ khí, phía ngoài biểu bì có lớp cutin và có lông che chở. Mô dày gồm vài lớp tế bào thực hiện chức năng nâng đỡ cho cây, hạn chế đổ ngã, giúp cây đứng vững trước các điều kiện bất lợi như mưa, gió, bão,…

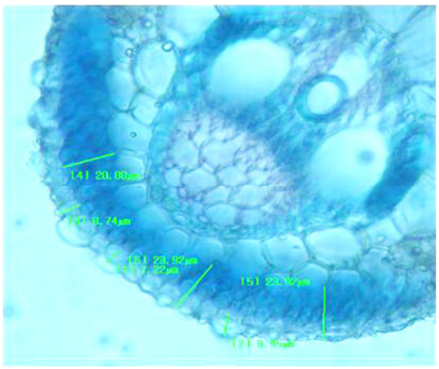
Bảng 4. và bảng 5. trình bày số liệu về tỷ lệ độ dày của lớp biểu bì dưới và mô dày so với tổng độ dày gân chính lá trên lá công năng và lá đòng của cây lúa. Kết quảcho thấy công thức bón 150 mg K_2SiO_3/L (CT2) đều có sự gia tăng độ dày của hai lớp tế bào biểu bì và mô dày; trên lá đòng tăng 2,42%, trên lá công năng tăng nhẹ là 0,88% so với đối chứng. Nhìn chung, phun silicate kali qua lá theo các nồng độ thí nghiệm cho thấy có xu hướng làm gia tăng tỷ lệ độ dày lớp biểu bì dưới và mô dày trên gân lá chính. Tuy nhiên, số liệu thí nghiệm chỉ mang tính tham khảo do chưa đủ số mẫu để tính thống kê. Các hình ảnh giải phẫu gân lá chính trên lá công năng và lá đòng của cây lúa thời kỳ trổ chụp dưới kính hiển vi quang học trong hình 2 và hình 3.

Theo nhiều nghiên cứu, sự liên kết giữa silica với cellulose trong các tế bào biểu bì lá như sau: trên lớp biểu bì là một lớp silica, kế đó ở bên ngoài là lớp cutin mỏng. Lớp kép này, lớp silica và lớp cutin, có ý nghĩa rất lớn trong việc hạn chế sự thoát hơi nước không cần thiết qua lớp biểu bì, cũng như tác dụng bảo vệ chống lại sự xâm nhập của nấm bệnh (Mengel K., Kirkby E. A., 1987; Wang S.Q *et al.,* 2010;Ma J. F., E. Takahashi, 2002).

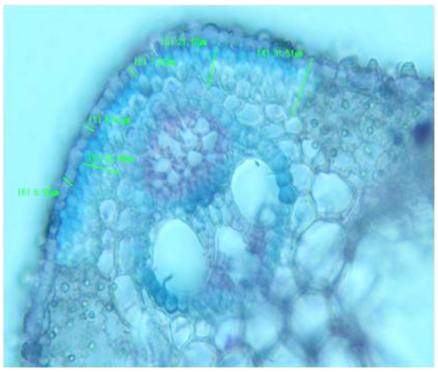
Kết quả giải phẫu lá và nhận định trích dẫn nêu trên cũng thống nhất với kết quả thí nghiệm thu được về ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh đạo ôn trên hạt được trình bày trong mục 3.7 dưới đây.



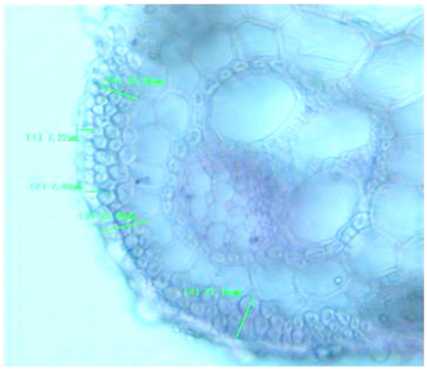
Hình 3. Cấu tạo giải phẫu gân lá chính của cây lúa



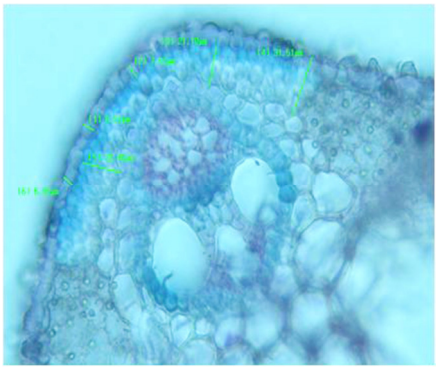
Lá công năng - CT1



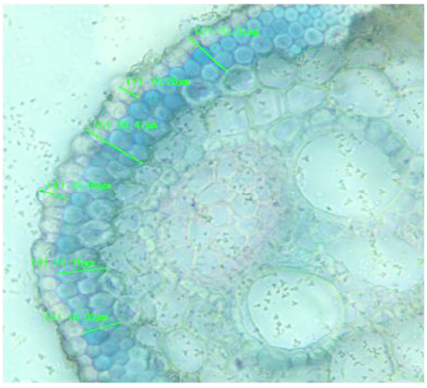
Lá đòng - CT1



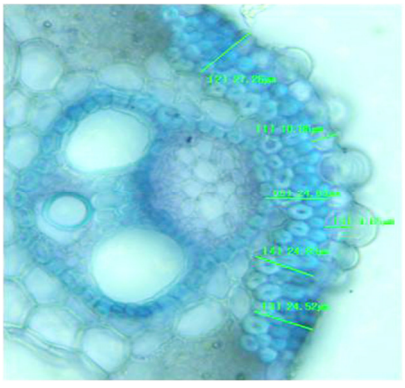
Lá công năng - CT2



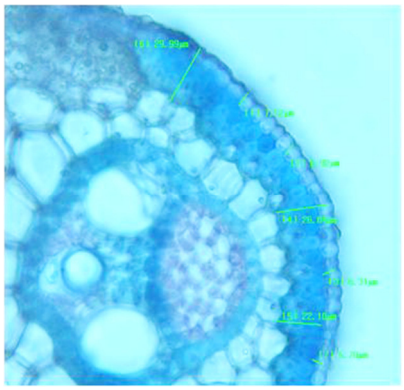
Lá đòng - CT2



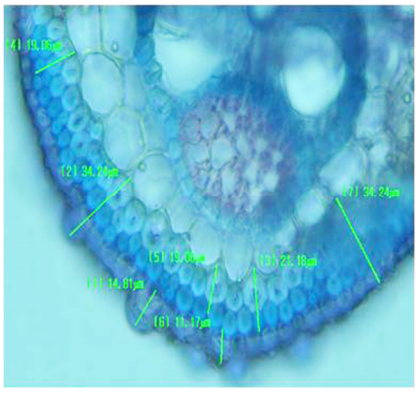
Lá công năng - CT3



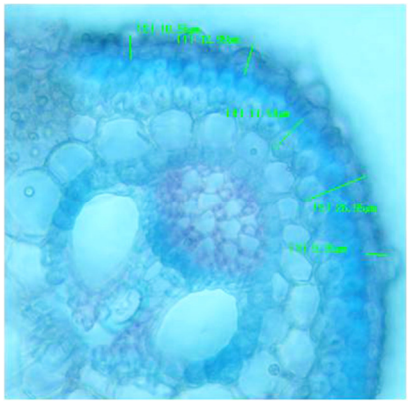
Lá đòng - CT3



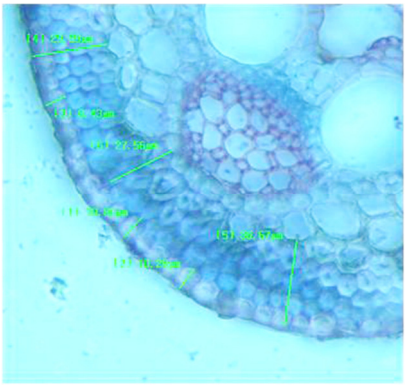
Lá công năng - CT4



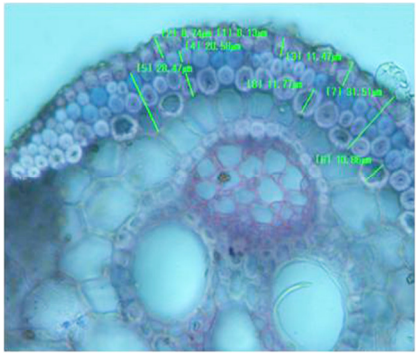
Lá đòng - CT4



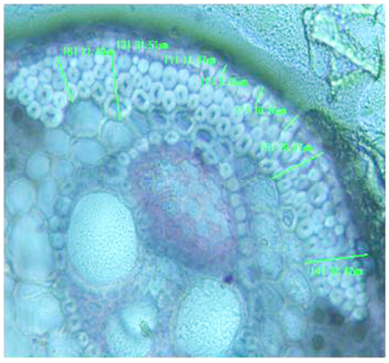
Lá công năng - CT5



Lá đòng - CT5



Lá công năng - CT6



Lá đòng - CT6

Hình 4. Hình ảnh giải phẫu gân lá chính trên lá công năng và lá đòng ở thời kỳ lúa trổ (70 ngày SKG) trong 6 công thức thí nghiệm dưới kính hiển vi quang học (độ phóng đại 400)

3.5. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với hàm lượng Si và tổng lượng Si trong rơm rạ lúa thời kỳ thu hoạch

Qua bảng 6, ở thời kỳ thu hoạch 85 NSG hàm lượng Si trong rơm rạ thuộc công thức đối chứng là thấp nhất (Si: 9,40%); thấp hơn so với các công thức bón K_2SiO_3 - hàm lượng Si trong rơm rạ giao động từ 9,61 - 10,15%, thấp nhất là 9,47% ở CT4 (bón 450 mg K_2SiO_3/L) và cao nhất là 10,15% ở CT5 (bón 600 mg K_2SiO_3/L).

Bảng 6. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến hàm lượng Si và tổng lượng Si trong rơm rạ lúa thời kỳ thu hoạch

Công thức	Hàm lượng Si		Tổng lượng Si	
	(%)	Tăng so đối chứng	(g/cây)	Tăng so đối chứng
CT1: Nền (NPK) + nước lã	9,40	-	0,33	-
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	9,61	0,21	0,38	0,05
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	9,99	0,59	0,37	0,06
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	9,47	0,07	0,39	0,03
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	10,15	0,75	0,43	0,10
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	9,77	0,36	0,38	0,05
CV (%)	*6,36*	-	*16,78*	-
$LSD_{0,05}$	*NS*	-	*NS*	-

Kết quả về hàm lượng Si tích lũy trong mẫu thân lá lúa khô giữa các công thức dao động trong khoảng 9,40 - 10,15%; khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy việc phun phân bón lá K_2SiO_3 với các mức nồng độ thí nghiệm chỉ ảnh hưởng nhẹ đến sự tích lũy hàm lượng Si trong rơm rạ. Do hàm lượng Si tổng số và sinh khối trong các công thức phun K_2SiO_3 có xu hướng gia tăng nên tổng lượng Si trong cây lúa ở thời kỳ thu hoạch đều cao hơn so với đối chứng; các nghiệm thức xử lý 600 mg/L K_2SiO_3 và 750 mg/L K_2SiO_3 có tổng lượng Si trong cây cao nhất (0,43 - 0,48 g SiO_2/cây), các công thức còn lại trong khoảng 0,33 - 0,39 g SiO_2/cây.

Epstein (1994) cho rằng Si là nguyên tố dinh dưỡng hữu ích cho hầu hết các loài thực vật. Hàm lượng Si trong tế bào phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng Si hòa tan sẵn có trong môi trường sống của cây. Theo Mengel K., Kirkby E. A. (1987), hoa màu đáp ứng với Si quan trọng nhất là cây lúa, có mối tương quan chặt chẽ giữa hàm lượng Si trong rơm rạ với năng suất lúa. Derent và cộng sự (1994) đã chứng minh rằng tồn tại một mối tương quan nghịch giữa nồng độ Si trong cây và mức độ thiệt hại do bệnh đối với lúa trồng trên đất giàu chất hữu cơ.

3.7. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối vớicác yếu tố cấu thành năng suất và năng suất lúa

Bảng 7. Ảnh hưởng của silicate kalibón lá đến các yếu tố cấu thành năng suất lúa

Công thức	Số bông/m^2	Số hạt/bông	Tỷ lệ hạt chắc(%)	Trọng lượng 1.000 hạt (g)
CT1: Nền (NPK) + nước lã	567	92,40	63,80	27,14
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	597	95,13	63,01	27,15
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	569	104,20	65,93	27,53
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	589	97,25	69,89	27,69
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	569	97,90	65,52	26,93
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	594	101,00	63,88	27,10
CV (%)	*6,00*	*8,84*	*7,58*	*4,96*
$LSD_{0,05}$	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*

Qua bảng 7, các nghiệm thức phun liều lượng 150 mg K_2SiO_3/L - 750 mg K_2SiO_3/L có số bông/m^2 tăng nhẹ. Số hạt trên bông là số lượng hoa phân hóa và hình thành trên bông. Số hạt trên bông phụ thuộc vào 2 yếu tố: tổng số hoa phân hóa và số hoa thoái hóa. Số hạt trên bông nhiều hay ít tùy thuộc vào số gié, hoa phân hóa cũng như hoa thoái hóa. Số gié và hoa phân hóa được quyết định trong thời kỳ đầu của quá trình làm đòng. Số hoa phân hóa nhiều hay ít tùy thuộc vào sinh trưởng của cây và điều kiện ngoại cảnh. Số hạt/bông trung bình giữa các nghiệm thức có phạm vi biến thiên từ 95,13 - 104,2 hạt. Mặc dù sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê, tuy nhiên so với đối

chứng thì số hạt/bông của các nghiệm thức phun silicate kali đều tăng; trong đó, cao nhất là ở nghiệm thức 300 mg K_2SiO_3/L với số hạt/bông trung bình là 104,20 hạt, kế đó là nghiệm thức 750 mg K_2SiO_3/L với số hạt/bông trung bình là 101 hạt.

Bón silicate kali qua lá giúp tăng nhẹ tỷ lệ hạt chắc. Ngoài nghiệm thức phun 150 mg K_2SiO_3/L có tỷ lệ hạt chắc giảm nhẹ so với đối chứng thì các nghiệm thức còn lại đều làm cho tỷ lệ hạt chắc tăng. Trong đó nghiệm thức phun 450 mg K_2SiO_3/L có tỷ lệ hạt chắc trung bình cao nhất (69,89%), tuy nhiên khác biệt so với đối chứng không đạt ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ hạt chắc trong tất cả các công thức thí nghiệm khá thấp có thể do khi trổ bông lúa gặp tiết trời mưa nên bất lợi.

Trọng lượng 1.000 hạt giữa các nghiệm thức biến thiên từ 26,93 - 27,69g. Hầu hết các nghiệm thức bón Si đều có trọng lượng 1.000 hạt cao hơn nghiệm thức đối chứng - trừ nghiệm thức phun 600 mg K_2SiO_3/L. So với các yếu tố khác thì trọng lượng 1.000 hạt tương đối ít biến động, nó phụ thuộc chủ yếu vào giống. Tuy nhiên, nếu đủ phân, nước, điều kiện thời tiết thuận lợi thì hạt sẽ mẩy đều.

Bảng 8. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến năng suất lý thuyết và năng suất lúa thực thu

Công thức	Năng suất lý thuyết			Năng suất thực thu		
	(kg/m^2)	Tăng so đối chứng		(kg/m^2)	Tăng so đối chứng	
		(kg/m^2)	(%)		(kg/m^2)	(%)
CT1: Nền (NPK) + nước lã	0,90	-	-	0,96	-	-
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	0,96	0,06	6,8	1,03	0,07	7,3
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	1,08	0,17	19,2	1,04	0,08	8,5
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	1,10	0,20	22,3	0,99	0,03	3,6
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	0,98	0,08	8,8	0,96	0,01	0,7
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	1,04	0,14	15,0	1,09	0,13	13,8
CV (%)	*11,01*	-	-	*7,06*	-	-
$LSD_{0,05}$	*NS*	-	-	*NS*	-	-

Kết quả trình bày trong bảng 8 cho thấy năng suất lý thuyết (NSLT) giữa các nghiệm thức dao động từ 0,96 - 1,10 kg/m^2. Các nghiệm thức bón silicate kali đều đạt NSLT cao hơn so với nghiệm thức đối chứng (từ 0,06 - 0,20 kg/m^2; tương đương 6,8 - 22,3%). NSLT được cấu thành bởi 4 yếu tố: Số bông hữu hiệu, số hạt/bông, tỷ lệ hạt chắc và trọng lượng 1.000 hạt. Ở CT2 (bón 150 mg K_2SiO_3/L) có số bông/m^2 cao nhất (597 bông/m^2) nhưng năng suất (0,96 kg/m^2) tương đối thấp hơn so với các công thức bón silicate kali do có tỷ lệ hạt chắc thấp nhất (63,01%). Trong CT4 (bón 450 mg K_2SiO_3/L) các yếu tố cấu thành năng suất đều cao hơn nên đạt NSLT cao nhất.

Quan sát bảng 8, giữa NSLT và năng suất thực thu của các nghiệm thức là xấp xỉ nhau. Tuy nhiên, khi xét về năng suất thực thu thì năng suất cao nhất đạt được là ở CT6 (bón 750 mg K_2SiO_3/L) với 97,86g/m^2. Một số nghiên cứu trước đây đã khẳng định hiệu lực của Si đối với bội thu năng suất hạt lúa rất rõ. Hơn nữa, Si cũng có tác dụng tốt lên các yếu tố cấu thành năng suất như số bông, số hạt/bông và phần trăm hạt chắc (Trần Thị Tường Linh và cộng sự, 2012; Mai Nhữ Thắng, Nguyễn Trường Sơn và cộng sự, 2009; Ma J. F., E. Takahashi, 2002).

3.7. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đối với bệnh đạo ôn trên lúa

Trong vụ thí nghiệm, qua quan sát nhận thấy ở giai đoạn từ trổ bông đến chín sáp cây lúa khá mẫn cảm với bệnh đạo ôn. Từ kết quả ở bảng 9 cho thấy tỷ lệ hạt vàng sáng trong các công thức trong khoảng 78,5 - 84,8%, tương ứng tỷ lệ hạt lem dao động trong khoảng 15,3 - 21,5%. Mặc dù sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$ nhưng trong các nghiệm thức bón silicate kali tỷ lệ hạt lem có xu hướng giảm - trừ nghiệm thức 6 với nồng độ 750 mg K_2SiO_3/L có tỷ lệ hạt lem tương đương với đối chứng.

Mức độ thiệt hại trên hạt lúa do bệnh đạo ôn được thể hiện qua kết quả về chỉ số hạt lem, kết quả trong khoảng 8,79 - 13,61%. Các nghiệm thức bón K_2SiO_3 qua lá có chỉ số hạt lem giảm 1,30 - 4,82% so với đối chứng. Kết quả thu được qua đề tài thống nhất với một số công trình nghiên cứu ảnh hưởng của việc phun silicate kali qua lá (Trần Thị Tường Linh và cộng sự, 2012; Ma J. F., E. Takahashi, 2002), đó là tác dụng tích cực của yếu tố kali và silic trong việc góp phần giúp cây lúa chống chịu tốt hơn đối với tác hại của nấm gây bệnh đạo ôn.

Bảng 9. Ảnh hưởng của silicate kali bón lá đến tỷ lệ hạt vàng sáng, hạt lem và chỉ số hạt lem thời kỳ thu hoạch

Công thức	Tỷ lệ hạt vàng		Tỷ lệ hạt lem		Chỉ số hạt lem	
	%	Tăng so đối chứng	%	Giảm so đối chứng	%	Giảm so đối chứng
CT1: Nền (NPK) + nước lã	78,5	-	21,5	-	13,61	-
CT2: Nền + 150 mg K_2SiO_3/L	**84,8**	6,3	**15,3**	-6,3	**8,79**	-4,82
CT3: Nền + 300 mg K_2SiO_3/L	81,3	2,8	18,8	-2,8	12,46	-1,15
CT4: Nền + 450 mg K_2SiO_3/L	80,3	1,8	20,3	-1,3	12,31	-1,30
CT5: Nền + 600 mg K_2SiO_3/L	**82,0**	3,5	**18,0**	-3,5	**9,24**	-4,37
CT6: Nền + 750 mg K_2SiO_3/L	78,5	0	21,5	0	12,07	-1,54
CV (%)	*8,41*	-	*35,38*	-	*41,4*	-
LSD0,05	*NS*	-	*NS*	-	*NS*	-

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Ảnh hưởng của việc bón silicate kali qua lá với các nồng độ 150-750 mg K_2SiO_3/L cải thiện sự sinh trưởng của cây lúa (IR 50404) và giảm chỉ số hạt lem. Đặc biệt, bón qua lá nồng độ 750 mg K_2SiO_3/Lcho năng suất lúa tăng 14% so với đối chứng phun nước lã.

Sự khác biệt về hiệu lực của các mức nồng độ silicate kali bón lá - 150, 300, 450, 600 và 750 mg K_2SiO_3/L - đối với sự sinh trưởng, năng suất và bệnh đạo ôn trên lúa thí nghiệm chưa đạt ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$. Đồng thời, hiệu lực của silicate kali bón lá không rõ chiều hướng tăng hoặc giảm theo sự thay đổi mức nồng độ silicate kali sử dụng trong thí nghiệm.

4.2. Kiến nghị

Ứng dụng silicate kali bón lá trong khoảng 150 - 750 mg K_2SiO_3/L trong canh tác lúa thử nghiệm ngoài đồng ruộng trên đất xám tại thành phố Hồ Chí Minh và các vùng có điều kiện đất đai tương tự. Tùy vào giống, điều kiện thời tiết, tình trạng và giai đoạn phát triển của cây lúa mà lựa chọn nồng độ silicate kali bón lá thích hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Buck G.B., G.H. Kornd, A. Nolla, L. Coelho (2008), "Potassium silicate as foliar spray and rice blast control", J. Plant Nutri. 31: 231-237.

Hội khoa học đất Việt Nam (2000), Đất Việt Nam, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 118-119.

Ma J. F., E. Takahashi (2002), *Soil fertilizer and plant silicon research in Japan,* Elsevier Science, Amsterdam.

Mai Nhữ Thắng, Nguyễn Trường Sơn, và cộng sự (2009), "Ảnh hưởng của lượng bón natri silicate lỏng đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và phẩm chất lúa TH 3-3 trồng trên đất phù sa sông Hồng", *Khoa học Đất*, số 32/2009, Hội Khoa học Đất Việt Nam, trang 67-71.

Mengel K., Kirkby E. A.(1987), *Principles of plant nutrition*, 4th Edition, International Potash Institute Bern, Switzerland.

Phạm Quang Khánh (1995), Tài nguyên đất Đông Nam Bộ - Hiện trạng và tiềm năng, NXB Nông nghiệp - Hà Nội, tr. 30-50.

Phan Thị Công (1998), Nghiên cứu sự bền vững của các hệ thống cây trồng chính trên đất xám (Haplic Acrisols) miền Đông Nam Bộ, *Báo cáo tổng kết chương trình phát triển nông nghiệp bền vững cho vùng đất cao Nam Việt Nam (ISA/KUL)* 1994-1998, TP.Hồ Chí Minh.

Samuel L. T., Werner L. N., James D. B., John L. H. (1993), *Soil Fertility and Fertilizers*, Macmillan Publishing Comp., 5th edition.

Trần Thị Tường Linh, Võ Đình Quang & Lê Thị Lệ Hằng (2012), "Ảnh hưởng của silicate sodium (Na_2SiO_3) và silicofluoride sodium (Na_2SiF_6) đến khả năng hấp phụ lân của đất lúa miền Nam", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* (số 09 năm 2012), Viện khoa học Nông nghiệp Việt Nam, tr. 150-156.

Trần Thị Tường Linh, Võ Đình Quang (2015), "Vai trò của silic đối với cây trồng", *Kỷ yếu Hội thảo quốc gia Sử dụng hiệu quả phân bón Văn Điển ở Việt Nam, TP. Hồ Chí Minh - ngày 28/5/2015*, NXBNông nghiệp, tr. 268-281.

Nguyễn Xuân Trường (2003), *Sổ tay sử dụng phân bón*, NXBNông Nghiệp TP.HCM, tr.204 - 205.

Viện Thổ nhưỡng Nông hóa (1998), *Sổ tay phân tích đất, nước, phân bón, cây trồng*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

Vo Thi Guong, Truong Thi Nga, Vo Tong Xuan, Karl H. D. (1998), "Effect of Calcium silicate and Nitrogen Fertilizer on Rice yield in Alluvial soils and Sandy soil in the Mekong Delta", *Vietnam Soil Science*, pp. 46-51.

Wang S.Q, C.M. Gu, H.H. Zhao, L.M. Zhao, L.P. Wang, H. Wang (2010), *Research and Application Prospects of Micro-siliconFertilizer on Rice Production*, Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Jiamusi Heilongjiang 154025, China.

Yosida S. (1981), *Fundamentals of rice crop science*, IRRI, Los Banos, Philippines.

EFFECTS OF POTASSIUM SILICATE FOLIAR ON GROWTH AND YIELD OF RICE (*Oryza sativa.*L) GROWN ON AN ACRISOL SOIL IN POTS

ABSTRACTS

On IR 50404 rice cultivar planted on an acrisol soil, applying potassium silicate as a foliar fertilizer with doses of 150, 300, 450, 600 and 750 mg K_2SiO_3/L improved plant growth, grain yield and reduced the damage of rice blast disease (caused by *Pyricularia oryzae* Cav.). Especially, application of 750 mg K_2SiO_3/ L dose resulted in a 14% increase in grain yield compared to water spray control.

Key words: *Oryza Sativa.L,* potassium silicate, foliar fertilizer, grain yield, *Pyricularia oryzae* Cav..

VAI TRÒ CỦA DẦU NEEM (NEEM OIL) VÀ DẤM GỖ (WOOD VINEGAR) TRONG VIỆC PHÒNG TRỪ SÂU BỆNH HẠI RAU TRỒNG HỮU CƠ

Vũ Thị Quyền, Trần Thị Hải Yến, Võ Lý Thu Thảo
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định nồng độ dấm gỗ và dầu neem phù hợp với phòng trừ sâu bệnh hại rau trồng hữu cơ. Kết quả chỉ ra nồng độ pha loãng dung dịch dấm gỗ được xác định là phù hợp cho phòng bệnh là 1:100 và dầu neem là 1:250. Phương thức phòng bệnh bằng dấm gỗ và dầu neem giúp năng suất rau muống và rau dền hữu cơ đạt cao hơn so với rau trồng theo tiêu chuẩn Vietgap 126% (rau muống; 2,1 kg/m^2 so với 1,65 kg/m^2), 161% (rau dền; 2,25 kg/m^2 so với 1,40 kg/m^2) và năng suất mướp đắng tương đương mướp đắng Vietgap; đồng thời giúp cải thiện đáng kể môi trường sinh thái khu vực canh tác.

Từ khóa: dấm gỗ, dầu neem, pha loãng, rau dền, rau muống, mướp đắng, năng suất.

1. MỞ ĐẦU

Thực phẩm an toàn đóng góp rất lớn trong việc cải thiện sức khỏe con người, chất lượng cuộc sống và chất lượng giống nòi. Tại châu Âu, nền nông nghiệp hữu cơ (NNHC) phát triển mạnh mẽ do người tiêu dùng không chỉ quan tâm đến sự an toàn tuyệt đối của sản phẩm mà họ luôn ý thức phải góp phần bảo vệ môi trường sinh thái. Ở nước ta, do áp lực về năng suất, sản lượng nên từ nhiều năm qua, người dân đã lạm dụng quá mức các loại phân hóa học và thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) hóa học, khiến cho nông sản bị tồn dư kim loại nặng và dư lượng thuốc BVTV gây nguy hiểm cho người sử dụng. Bên cạnh, đất canh tác cũng bị suy yếu do bị tích tụ các loại độc tố trên; hơn nữa, đất lại không được nghỉ ngơi cũng như cung cấp dinh dưỡng đầy đủ khiến tình trạng đất bị thoái hóa ngày một trầm trọng. Vì vậy, các nhà khoa học đã chỉ ra sự cần thiết phải lập lại chế độ canh tác an toàn cho người – đất và cây trồng. Canh tác nông nghiệp hữu cơ được đánh giá là phương thức canh tác hiệu quả nhất, góp phần bảo vệ sức khỏe cho người sản xuất, tiến tới chấm dứt tình trạng ô nhiễm đất, nước, không khí; đặc biệt là tạo ra nông sản sạch, chất lượng dinh dưỡng cao, an toàn cho con người và vật nuôi.

Từ tất cả các vấn đề nêu trên, đề tài "***Nghiên cứu vai trò của dầu neem (Neem oil) và dấm gỗ (Wood vinegar) trong việc phòng trừ sâu bệnh hại rau trồng hữu cơ***" được thực hiện nhằm góp phần tạo ra nông sản sạch, giàu dinh dưỡng; giúp tăng cường sức khỏe đất và cải thiện môi trường sinh thái nông nghiệp.

Mục tiêu nghiên cứu

Xác định nồng độ thảo mộc BVTV phù hợp trong trồng rau hữu cơ nhằm tạo ra sản phẩm rau ăn (gồm rau muống, rau dền và mướp đắng) đạt năng suất và chất lượng tốt.

2. ĐỊA ĐIỂM, VẬT LIỆU VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Khu vực quy hoạch trồng rau hữu cơ – Hợp tác xã Nông nghiệp Ngã Ba Giồng, xã Xuân Thới Thượng, huyện Hóc Môn, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Hạt giống (rau muống, rau dền và mướp đắng) mua tại Công ty CP Giống cây trồng miền Nam.

- Dấm gỗ (Wood Vinegar): Là chất lỏng màu vàng nâu được sản xuất từ quá trình chưng cất gỗ keo lai. Đây cũng là kết quả nghiên cứu thực nghiệm giữa Trung tâm Nghiên cứu và Tư vấn Nông nghiệp Nhiệt đới và Công ty Biffa. Thành phần của dung dịch dấm gỗ gồm: (i) Các hợp chất hữu cơ (10 – 20%, trong đó: acid 4 – 10%, alcohol 3 – 4%, phenol 1-3%); (ii) Nước (80 – 90%).

- Dầu Neem (Neem oil): Dầu neem sử dụng trong thí nghiệm được chiết xuất từ nhân hạt neem – Sản phẩm NC thực nghiệm giữa Trung tâm Nghiên cứu và Tư vấn Nông nghiệp Nhiệt đới và Công ty Thảo Mộc Phương Nam. Thành phần Azadirachtin A và B trong dầu neem là 2.536 mg/L.

- Phân hữu cơ sinh học BotaniGro: Là phân hữu cơ chiết xuất từ sinh khối thực vật theo công nghệ thủy phân, xuất xứ: Malaysia. Thành phần chất dinh dưỡng trong phân hữu cơ sinh học BotaniGro: Chất hữu cơ (3,69%), Acid humic (0,38%), Acid fulvic (1,74%), N (1,28%), P_2O_5 (0,42%), *Azotobacter sp., Enterobacter sp., Rhizobium sp.:* 2.5 x 10^7CFU/ml, *Bacillus subtilis:* 1.1 x 10^4CFU/ml, *Streptomyces sp.*: 1.6 x 10^4 CFU/ml. Được sử dụng bón lót và bón thúc với cùng nồng độ pha loãng (2ml/L). Định kỳ 5 - 7 ngày bón 1 lần. Tác dụng: cải tạo đất, cung cấp dinh dưỡng cho cây.

3. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Nội dung nghiên cứu

- Ảnh hưởng của dấm gỗ đến năng suất rau muống, rau dền và mướp đắng

- Ảnh hưởng của dầu Neem đến năng suất rau muống, rau dền và mướp đắng

- Ảnh hưởng của việc phun cách nhật giữa dấm gỗ và dầu Neem đến năng suất rau muống, rau dền và mướp đắng.

3.2. Phương pháp thí nghiệm

3.2.1. Nguyên tắc chung

- Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CBD), 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại được thực hiện trên diện tích 1m^2.

- Mỗi một loại rau được bố trí trồng trong 1 luống với diện tích 20 m^2 (ngang x dài = 2 m x10 m). Tất cả các thí nghiệm đều có chung kỹ thuật xử lý đất và chăm sóc. Công thức đối chứng là luống rau trồng theo tiêu chuẩn Vietgap có kích thước tương tự.

- Xử lý hạt giống: Rửa sạch hạt giống rồi ngâm bằng nước thông thường trong vòng 2-3 giờ (rau dền) và 7- 8 giờ (rau muống); sau đó vớt ra rửa sạch, ngâm trong dung dịch dấm gỗ (1:50) trong vòng 1 phút, vớt ra, để ráo rồi đem gieo trực tiếp lên luống.

- Bón phân cho rau ăn lá: Phân hữu cơ sinh học BotaniGro (2ml/L) và tưới cho rau theo lịch như sau:

+ Lần 1 phun vào ngày rau được 2 cặp lá mầm

+ Lần 2 phun cách lần thứ nhất 7 ngày.

+ Lần 3 phun trước khi thu hoạch 5 ngày.

Với mướp đắng, pha 2ml/L để tưới cho cây, định kỳ 5 ngày/ lần (7 lần /vụ).

- Tưới nước: Vườn rau lắp đặt sẵn hệ thống tưới phun sương tự động. Thời gian mỗi lần tưới là 10 phút và mỗi ngày tưới 4 lần vào 8 giờ, 11 giờ, 14 giờ và 17 giờ.

- Dấm gỗ và dầu neem thí nghiệm phun định kỳ 5 ngày/lần.

- Tổng hợp số liệu bằng phần mềm excel và xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS.

3.2.2. Bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của dấm gỗ đến sinh trưởng của rau muống và rau dền: 6 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Các kí hiệu nghiệm thức và mức nồng độ áp dụng là: D_0 (không phun dấm gỗ, đối chứng), D_1 (1:20), D_2 (1:40), D_3 (1:60), D_4 (1:80) và D_5 (1:100).

- Thí nghiệm 2. Ảnh hưởng của dầu neem đến sinh trưởng của rau muống và rau dền: 6 CT và 3 lần lặp lại. Các kí hiệu công thức và mức nồng độ áp dụng là: N_0 (Không phun dầu neem, đối chứng), N_1 (1:100), N_2 (1:150), N_3 (1:200), N_4 (1:250) và N_5 (1:300).

- Thí nghiệm 3. Ảnh hưởng của việc phun cách nhật giữa dấm gỗ và dầu neem đến năng suất rau muống, rau dền và mướp đắng: nghiệm thức tối ưu ở mỗi thí nghiệm 1 và 2 được chọn để làm ở thí nghiệm 3; ký hiệu là D_{opt} và N_{opt} và nghiệm thức đối chứng là qui trình VietGap. Bố trí trên toàn bộ luống thí nghiệm ($20m^2$), trong 2 vụ liên tục.

- Thời gian thực hiện các thí nghiệm: từ tháng 1 đến tháng 6 năm 2017.

4. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của dấm gỗ và dầu neem đến sinh trưởng của rau muống

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của dấm gỗ ở các mức nồng độ pha loãng khác nhau đối với rau muống (bảng 4.1) chỉ ra rằng: Nghiệm thức D_4 (1:90) luôn cho kết quả tốt nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu (chiều cao cây 33,1 cm; chu vi gốc: 2,1 cm; số lá/cây: 7,8 và khối lượng rau 2,2 kg/m^2), cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức Do, D_1 và D_2. Đứng thứ 2 là hai nghiệm thức D_3 và D_5 với các chỉ tiêu đạt được tương ứng: chiều cao cây 33,0 và 33,2 cm; chu vi gốc: 1,7 và 2,1 cm; số lá/cây: 7,8 và 7,8 và khối lượng rau 2,1 kg/m^2. Thấp nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu là nghiệm thức đối chứng. Ngoài ra, việc sử dụng dấm gỗ phun phòng bệnh định kỳ cho rau giúp rau muống không bị nhiễm bệnh và cho hình thái thân cây đồng đều hơn. Ở thí nghiệm này, 3 nghiệm thức D_3, D_4 và D_5 cho kết quả tốt hơn nhất về tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu.

Bảng 1. Ảnh hưởng của dấm gỗ đến sinh trưởng và khối lượng rau muống (từ 03/2/2017 – 01/3/2017)

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Chu vi gốc (cm)	Số lá/cây	Khối lượng (kg/m^2)
D_0	26,2c	1,1c	5,1d	1,0c
D_1 (1:20)	29,7bc	1,4bc	6,9c	1,7b
D_2 (1:40)	30,0bc	1,7b	7,2b	1,7b
D_3 (1:60)	33,0a	1,7b	7,8a	2,1ab
D_4 (1:80)	33,1a	2,1a	7,8a	2,2a
D_5 (1:100)	32,2ab	2,1a	7,0b	2,1ab
F	**	**	**	**
CV,%	3,5	5,5	5,0	9,2

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (**), 5% (*) và (ns) không khác biệt ý nghĩa thống kê.

Bảng 2. Ảnh hưởng của dầu neem đến sinh trưởng và khối lượng rau muống (từ 03/2/2017 – 01/3/2017)

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Chu vi gốc (cm)	Số lá/cây	Khối lượng (kg/m^2)
N_0	26,2c	1,1b	5,1c	1,0c
N_1 (1:100)	31,8ab	1,9ab	7,4b	2,1b
N_2 (1:150)	31,8ab	1,9ab	7,4b	2,1b
N_3 (1:200)	33,0a	2,0a	8,8a	2,5a
N_4 (1:250)	32,1ab	2,0a	8,8a	2,4a
N_5 (1:300)	30,2b	2,0a	7,0b	2,0b
F	**	**	**	**
CV,%	4,4	4,3	4,7	7,0

Bảng 2 cũng chỉ ra ảnh hưởng của dầu neem đến sinh trưởng và khối lượng rau muống là rất rõ ràng. Theo đó, tất cả các nghiệm thức xử lý dầu neem đều cho kết quả cao hơn và khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với đối chứng. Kết quả cho thấy 2 nghiệm thức N_3 và N_4 luôn cho kết quả tốt hơn về tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu.

Ở thí nghiệm này, kết quả sinh trưởng của rau muống không khác nhiều sao với thí nghiệm xử lý dấm gỗ nhưng khối lượng rau thì có sự khác biệt (2,5 kg/m^2 so với 2,2 kg/ m^2). Điều đó chứng tỏ ngoài khả năng phòng bệnh cho cây, dầu neem đã thể hiện vai trò cung cấp dưỡng chất cho cây, giúp rau tăng sinh khối, thân cây chắc và nặng hơn (hình 1).

a. Rau dền hữu cơ

b. Rau dền Vietgap

a. Rau muống hữu cơ

b. Rau muống Vietgap

Hình 1. Rau muống và dền thí nghiệm

4.2. Ảnh hưởng của dấm gỗ và dầu neem đến sinh trưởng của rau dền

Bảng 3. Ảnh hưởng của dấm gỗ đến sinh trưởng và khối lượng rau dền (từ 03/2/2017 – 7/3/2017)

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Chu vi gốc (cm)	Số lá/cây	Khối lượng (kg/m^2)
D_0	23,7c	1,2c	6,7d	0,9c
D_1 (1:20)	27,5b	1,9b	8,3c	1,4b
D_2 (1:40)	28,0b	1,9b	8,3c	1,4b
D_3 (1:60)	29,0a	2,3ab	9,8a	1,7ab
D_4 (1:80)	29,2a	2,4a	9,8a	1,9a
D_5 (1:100)	29,2a	2,2ab	9,0b	1,7ab
F	**	**	**	**
CV,%	3,9	6,3	5,7	11,1

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: Chiều cao thân cây và chu vi gốc đạt lớn nhất ở 3 nghiệm thức D_3, D_4 và D_5 (tương ứng: 29,0 – 29,2 – 29,2 cm chiều dài và 2,3 – 2,4 – 2,2 cm chu vi gốc). Giữa 3 nghiệm thức này chưa thực sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê, nhưng chúng lại khác biệt thống kê có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ở mức 1%. Số lá/cây nhiều nhất là ở D_3 và D_4 (cùng có 9,8 lá), kế đến là D_5 (9,0 lá), thấp nhất là đối chứng (6,7 lá). Tương tự, trọng lượng rau cao nhất cũng nằm ở D_4 (1,9 kg/m^2), thứ nhì là D_3 và D_5 (cùng có 1,7 kg/m^2); thấp nhất là đối chứng 0,9 kg/m^2.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dầu neem đến sinh trưởng và khối lượng rau dền (từ 03/2/2017 – 01/3/2017)

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Chu vi gốc (cm)	Số lá/cây	Khối lượng (kg/m^2)
N_0	23,7c	1,2b	6,7d	0,9c
N_1 (1:100)	30,9ab	1,7ab	9,4b	1,8b
N_2 (1:150)	30,8ab	1,7ab	9,4b	1,8b
N_3 (1:200)	31,5ab	2,0a	10,6a	2,1a
N_4 (1:250)	32,0a	2,0a	10,6a	2,1a
N_5 (1:300)	31,2ab	2,0a	9,0b	1,7b
F	**	**	**	**
CV,%	4,4	4,3	4,7	7,0

Bảng 4 ghi nhận tất cả các nghiệm thức xử lý dầu neem đều có các chỉ tiêu sinh trưởng cao hơn và khác biệt thống kê so với đối chứng ở mức ý nghĩa 1%. Kết quả cũng chỉ ra 2 nghiệm thức N_3 và N_4 luôn cho kết quả tốt nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu (chiều cao cây 31,5 – 32,0 cm; chu vi gốc 2,0 cm; số lá 10,6 và khối lượng 2,1 kg/m^2); kế đến là các nghiêm thức N_1, N_2 và N_5; kết quả thấp nhất ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu là ở đối chứng.

4.3. Ảnh hưởng của dấm gỗ và dầu neem đến năng suất rau muống, rau dền và mướp đắng

Áp dụng quy trình bón phân BotinaGro, phun thuốc phòng bệnh bằng dung dịch dấm gỗ pha loãng với tỷ lê 1:110 và dầu neem 1:250 cho thấy cây rau luôn khỏe mạnh, ít bị nấm bệnh tấn công; đặc biệt giảm đáng kể rầy xanh và bọ nhảy ở mướp đắng (hình 2). Kết quả về năng suất được theo dõi 2 vụ liên tục cho rau muống và rau dền được trình bày ở bảng 5 dưới đây. Kết quả cho thấy năng suất rau ở luống thí nghiệm và đối chứng (được trồng theo tiêu chuẩn VietGAP) có sự khác biệt nhau rõ rệt: năng suất rau muống và dền thí nghiệm luôn cao hơn đối chứng 127% và năng suất rau dền tăng hơn so với đối chứng 161%.

a. Mướp đắng Vietgap

b. Mướp đắng hữu cơ

Hình 2. Mướp đắng thí nghiệm

Bảng 5. Năng suất rau muống và rau dền hữu cơ qua 2 vụ trồng (3/3/2017 đến 10/4/2017)

Lô thí nghiệm (20 m^2)	Mướp đắng (thu hoạch từ 21/5/2017 đến 14/6/2017) (số quả/kg)	Rau muống			Rau dền		
		Vụ 1 (kg/20m^2)	Vụ 2 (kg/20m^2)	TB (kg/20m^2)	Vụ 1 (kg/20m^2)	Vụ 2 (kg/20m^2)	TB (kg/20m^2)
VietGap	143/26,7	34,0	30,0	33,0	28,0	28,0	28,0
Hữu cơ (Dấm gỗ 1:100 + dầu neem 1:250 phun cách nhật)	176/25,9	44,0	40,0	42,0	44,0	46,0	45,0

Với mướp đắng thì trồng hữu cơ cho năng suất về khối lượng tương đương với mướp đắng trồng và Vietgap (25,9 kg so với 26,7 kg trên cùng diện tích thí nghiệm là 20 m^2), chỉ có một sự

khác biệt về số lượng quả là trồng bằng phương pháp hữu cơ cho quả nhiều và nhỏ hơn so với trồng bằng Vietgap (176 so với 143 quả trên diện tích 20m^2). Kết quả này cũng gần giống với kết quả nghiên cứu của Vũ Thị Quyền và cộng sự (2017) về vai trò của phân bón đối với rau trồng hữu cơ, theo đó quả mướp đắng trồng Viepgap và hữu cơ trên diện tích 20m^2/mô hình được ghi nhận là: 120 quả/15 kg so với 160 quả/14,8 kg.

5. KẾT LUẬN – KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

- Trong trồng rau hữu cơ, việc áp dụng các loại thuốc thảo mộc để phòng bệnh có ý nghĩa rất lớn đối với sinh trưởng và năng suất rau. Ở nghiên cứu này, nồng độ pha loãng dung dịch dấm gỗ được xác định là phù hợp cho phòng bệnh là 1:100 và dầu neem phòng bệnh là 1:250.

- Năng suất rau muống và rau dền hữu cơ đạt cao hơn so với rau rau muống và rau dền Vietgap 126% (rau muống) và 161% (rau dền).

- Mướp đắng trồng hữu cơ cho năng suất tương đương với mướp đắng trồng theo tiêu chuẩn Vietgap, nhưng kích thước trái nhỏ hơn và đồng đều hơn.

Đặc biệt, trong suốt quá trình sử dụng thảo mộc BVTV, môi trường không khí nơi trồng rau hữu cơ thực sự trong lành. Điều này được bà con nông dân HTX Ngã Ba Giồng ghi nhận và đánh giá cao giá trị của thảo mộc đối với sức khỏe cây và môi trường sinh thái.

5.2. Kiến nghị

- Kết quả này là thỏa mãn với mục tiêu của thí nghiệm. Tuy nhiên, để có thể khai thác hết tiềm năng của hai loại thảo mộc này trong nông nghiệp hữu cơ, cần có các nghiên cứu sâu hơn và cho nhiều đối tượng cây trồng hơn trong thời gian tới.

- Cần có các phân tích về hàm lượng dinh dưỡng rau hữu cơ cũng như các nghiên cứu về bảo quản rau nhằm góp phần xây dựng hoàn thiện quy trình canh tác và bảo quản rau quả hữu cơ sau thu hoạch.

- Việc ghi nhận vai trò của thảo mộc đối với môi trường sinh thái nơi canh tác nông nghiệp chỉ được đánh giá bằng cảm quan; vì vậy, rất cần có các nghiên cứu, đánh giá bằng định lượng cho môi trường không khí, đất và nước trong việc áp dụng thảo mộc trong sản xuất NNHC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Thị Quyền (2015), *Bài giảng: Quản lý Môi trường Nông nghiệp Nông thôn*, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng.
2. Vũ Thị Quyền, Trần Thị Hải Yến, Võ Lý Thu Thảo (2017), *Nghiên cứu ảnh hưởng của dấm gỗ đến năng suất, chất lượng rau muống và rau dền hữu cơ,* Kỷ yếu Khoa học: Quản lý dịch hại tổng hợp cây trồng theo hướng hữu cơ sinh học trong phát triển nông nghiệp hữu cơ. Nxb Nông nghiệp chi nhánh TP.HCM.
3. Rivera F.R., Valida A.D., Acedo A.L. (2015), *Effect of wood vinegat on tomato fruit quality and shelf life at ambient and low temperatures*, ISHS Acta Horticulturae 1088: II Southeast Asia Symposium on Quality Management in Postharvest Systems, Doi:10.17660/ActaHortic.2015.1088.20.
4. Ishii *et al.,* (1990), Mokutan, "Mokusakueki, Shinyoto Kaihatukendyu Seikasyu", *New technology for usage of charcoal and wood vinegar,* 343-362.
5. Tzuki *et al.,* (1989), *Nippon SakumOtugaku Kiyoh*, 58:592-597.
6. Saigusa (1955), *Nippon Shyokubuttl Byori Cakkai Kohen Yoshi*, 19:185
7. Website: BotaniGro (Bio-Fertilizer), *Pyroligneous acid*

ABSTRACT

The purpose of studying to determine the concentration of woood vinegar and neem oil in accordance with pest and disease control on organic cultivation. The result indicated that the dilution ratio of wood vinegar solution was found to be suitable for prevention of 1: 100 and neem oil was 1: 250. The prevention pest and disease with wood vinegar and neem oil help the yield of organic vegetable (*Inpomoca aquatica, Amaranthus tricolor*) getting higher than vegetable of Vietgap certificate: 126% (*Inpomoca aquatica*, 2.10 kg/m^2 compare to 1.65 kg/m^2), 161% (*Amaranthus tricolor,* 2.25 kg/m^2 compare to 1.40 kg/m^2) and *Momordica charantia* has the yield equivalent with one of Vietgap; At the same time, it helps to significantly improve the ecological environment of the farming area.

Key words: wood vinegar, neem oil, diluted, *Inpomoca aquatica*, *Amaranthus tricolor, Momordica charantia,* yield.

PHẦN 3

BÀI BÁO TÓM TẮT

LỰA CHỌN, THIẾT KẾ, THỬ NGHIỆM VÀ ỨNG DỤNG MỘT SỐ MỒI NHẰM KHUẾCH ĐẠI CÁC VÙNG TRÌNH TỰ TIỀM NĂNG ĐỂ NHẬN DIỆN CÁC LOÀI LAN HÀI (*Paphiopedilum*) VIỆT NAM

Đặng Văn Khải[1], Nguyễn Thị Nhã[1], Vũ Thị Huyền Trang[1,2]
[1] Khoa Nông nghiệp Công Nghệ Cao và Công Nghệ Sinh Học, Đại học Nguyễn Tất Thành
[2] Đại học Quốc tế - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh
Email: vuthihuyentrang.vu@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm lựa chọn và thiết kế mồi để khuếch đại cho 3 vùng trình tự tiềm năng matK, ACO, trnL để nhận diện các loài lan Hài (*Paphiopedilum*) Việt Nam. Cặp mồi 56F-mo/1326R-mo được lựa chọn từ các nghiên cứu trước đó với kích thước khuếch đại vùng matK đạt 1200 bp, đồng thời cặp mồi này cũng được hiệu chỉnh cho phù hợp với riêng *Paphiopedilum*. Đối với hai vùng ACO và trnL chúng tôi tiến hành thiết kế mồi mới vì không tìm được mồi phù hợp có sẵn. Các mồi mới thiết kế đều được đánh giá hiệu quả khuếch đại trên 54 mẫu lan Hài Việt Nam. Kết quả khuếch đại vùng trình tự matK đạt hiệu suất khá cao 89% so với các nghiên cứu trước đó đồng thời cũng cho sản phẩm khuếch đại dài hơn và số phải lặp lại thí nghiệm khuếch đại rất thấp. Vùng ACO là một vùng trình tự có độ biến thiên di truyền cao và khó tìm được vùng bảo tồn để thiết kế mồi, do đó cặp mồi ACO-F/ACO-R trong nghiên cứu chỉ có thể khuếch đại với hiệu suất đạt 44,4%. Riêng cặp mồi trnL-F/trnL-R được thiết kế để khuếch đại vùng trình tự trnL lại cho hiệu suất khuếch đại tuyệt đối 100% hầu như ngay trong lần đầu tiên thực hiện phản ứng PCR, với chiều dài trình tự như dự kiến là 500 bp. Chúng tôi đề xuất hai cặp mồi 56F-mo/1326R-mo và trnL-F/trnL-R đạt hiệu quả rất cao cho việc khuếch đại hai vùng trình tự matK và trnL trong nhận diện lan Hài Việt Nam. Vùng ACO cần được xem xét thêm khả năng thiết kế mồi khác.

Từ khóa: ACO, matK, Orchidaceae, *Paphiopedilum*, trnL.

SCREENING, DESIGNING, PILOT EVALUATION AND APPLICATION OF SOME POTENTIAL PRIMERS FOR MOLECULAR DISCRIMINATION OF *Paphiopedilum* species IN VIETNAM

ABSTRACT

The study aimed to select and design primers for amplification of the three potential regions matK, ACO, trnL for authentication of *Paphiopedilum* species in Vietnam. New-designed primers were all evaluated their amplification efficacy by applying on 54 *Paphiopedilum* samples collected in Vietnam. The primer pair 56F-mo/1326R-mo were specifically modified for matK sequences of *Paphiopedilum* and could solve a longer length (1200 bp) and higher amplification rate (89%) compared with previous study. As there were no available proper primers for amplification of the two regions ACO and trnL for *Paphiopedilum*, we have designed new specific primers. The primer pair trnL-F/trnL-R have proved to be quick and easy in multiplying trnL regions of all studied samples, which achieved 100% efficacy and gave products of about 500 bp in length. On contrast the PCR rate of primer pair ACO-F/ACO-R could only get 44.4% which might be because of high diveregence in their sequences. From the study we suggest that the two potential identifying markers matK and trnL could be effectively amplified using the primer pairs 56F-mo/1326R-mo and trnL-F/trnL-R, respectively in our study. These results significantly contribute to the conservation of valuable endangered *Paphiopedilum* species in our country.

Keywords: ACO, matK, Orchidaceae, *Paphiopedilum*, trnL.

ẢNH HƯỞNG CỦA DỊCH CHIẾT NẤM MEN VÀ PEPTONE LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA CÂY LAN GẤM (*Anoectochilus roxburghii*) *IN VITRO*

Đỗ Đức Thăng[1], Lê Đức Tuấn[2], Bùi Minh Trí[2], Nguyễn Thị Huyền Trang[1], Trần Trọng Tuấn[1], Đỗ Đăng Giáp*[1]

[1]Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn Lâm KH & CN Việt Nam, [2]Trường Đại học Nông Lâm Thành Phố Hồ Chí Minh

Email: *dodanggiap@gmail.com*

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm men và petone lên sự phát triển của cây lan gấm (*A. roxburghii*) được thược hiện nhằm đánh giá vai trò của dịch chiết nấm men và peptone trong môi trường nuôi cấy cây lan gấm không có chất điều hòa. Peptone và dịch chiết nấm men được khảo sát với ba nồng độ khác nhau 1, 3, 5 g/l đã cho thấy những tác động tích cực lên sự phát triển sinh khối của cây lan gấm. Sau 8 tuần nuôi cấy, mẫu ban đầu có khối lượng 0,3 – 0,4 g/cây được cấy trên môi trường Albert's bổ sung peptone riêng lẻ với nồng độ 3 g/l có tác động tốt nhất đối với sự phát triển của cây lan gấm đạt khối lượng tươi và khối lượng khô là 0,56 g/cây và 0,067 g/cây. Hàm lượng dịch chiết nấm men bổ sung riêng lẻ thích hợp cho cây lan gấm phát triển là 1 g/l cho khối lượng tươi và khối lượng khô đạt 0,56 g/cây và 0,074 g/cây. Tỷ lệ kết hợp thích hợp của peptone và dịch chiết nấm men cho sự phát triển sinh khối của cây lan gấm là 3 g/l peptone với 1 g/l dịch chiết nấm men, khối lượng tươi và khối lượng khô của cây cao hơn hẳn đạt 0,65 g/cây và 0,084 g/cây. Bên cạnh đó, điều kiện môi trường nuôi cấy tốt nhất cho sự phát triển cây lan gấm là nuôi cấy lỏng lắc khối lượng tươi và khối lượng khô đạt 1,15 g/cây và 0,152 g/cây.

Từ khóa: *Anoectochilus roxburghii,* dịch chiết nấm men, peptone, sinh khối, lỏng lắc.

EFFECT OF YEAST EXTRACT POWDER AND PEPTONE ON THE GROWTH OF *Anoectochilus roxburghii IN VITRO*

SUMMARY

In this report, the role of yeast extract powder and peptone inside of free plant growth regulators medium culture *Anoectochilus roxburghii*. The both peptone and yeast extract powder was studied with three concentration 1, 3, 5 $g.l^{-1}$ (w/v) that show positive effects on the development biomass *A. roxburghii*. Eight weeks after cultured, the weight of explant initial have 0.3 – 0.5 g/plant was culture on Albert's medium supplemented concentration peptone single at 3 $g.l^{-1}$ was the most suitable to the development for fresh weight and dry weight are 0.56 g/plant and 0.067 g/plant. Yeast extract powder supplemented with concentration 1 $g.l^{-1}$ was the greatest for the development with fresh weight and dry weight are 0.56 g/plant and 0.074 g/plant. The ratio combined of peptone and yeast extract powder was the most suitable to rapid multiplicate biomass of *A. roxburghii* are 3 $g.l^{-1}$ peptone and 1 $g.l^{-1}$ yeast extract powder with 0.65 g/plant of fresh weight and dry weight was 0.084 g/plant. An adjacent, the greatest condition of medium cultured for the development of *A. roxburghii* was found when cultured on the shake-liquid medium with 1.15 g/plant of fresh weight and dry weight was 0.152 g/plant.

Key words: *Anoectochilus roxburghii,* biomass, peptone, shake-liquid, yeast extract powder

TĂNG CƯỜNG KHẢ NĂNG CHỊU MẶN CỦA LÚA OM4900 GIAI ĐOẠN MẠ BẰNG CALCIUM SILICATE

Khúc Ngọc Vy[1] và Phạm Phước Nhẫn[2]
[1]Sinh viên lớp Sinh học Ứng dụng khóa 40, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Đại học Cần Thơ
[2]Bộ môn Sinh lý – Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Đại học Cần Thơ
Email: ppnhan@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Lúa là cây trồng chủ lực của Việt Nam được thâm canh nhiều ở Đồng bằng sông Cửu Long nơi mà các điều kiện canh tác rất dễ bị tổn thương do biến đổi khí hậu. Việc bổ sung các nguyên tố dinh dưỡng thiết yếu là một giải pháp để gia tăng tính chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường. Calcium và silic có rất nhiều vai trò trong sinh học thực vật, nhất là khả năng tăng cường chống chịu với các điều kiện bất lợi sinh học và phi sinh học. Trong nghiên cứu này, hợp chất calcium silicate ở 6 nồng độ (0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/L) được bổ sung vào dung dịch trồng lúa ở độ mặn 3‰ để khảo sát khả năng tăng cường chống chịu mặn trên cây lúa giai đoạn mạ. Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung calcium silicate ở mức 200 mg/L không ảnh hưởng lên chiều cao cây nhưng cải thiện chiều dài rễ, gia tăng sinh khối và một số hợp chất biến dưỡng liên quan đến tính chống chịu mặn như proline, hàm lượng đường. Bổ sung calcium silicate còn có tác dụng duy trì pH và EC của dung dịch phù hợp cho sự sinh trưởng của cây lúa giai đoạn mạ.

Từ khóa: *calcium silicate,* chiều dài rễ, mặn, mạ, sinh khối.

ENHANCEMENT OF OM4900 RICE SEDDLINGS' TOLERANCE TO SALINITY BY CALCIUM SILICATE

SUMMARY

Paddy rice is the main crop in Vietnam and to be grown intensively in Mekong Delta where resources for rice production are highly vulnerable to climate change. The supplement of essential nutrient elements is a possible application to enhance plant tolerance to stress environment. Calcium and silicon play multiple functions in plant biology, particularly against abiotic and biotic stress. In this study, six concentrations of calcium silicate (0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/L 250 mg/L) were added to rice growing medium containing 3‰ of salt to investigate its enhancement on rice seedlings' tolerance to salinity. The results showed that calcium silicate addition of 200 mg/L had no positive effect on plant height but improved root elongation, fresh biomass, and metabolites such as proline and soluble sugars involved in capacity to tolerate to saline condition. Adding calcium silicate also maintained pH and EC of solution at suitable values for rice seedling to grow.

Keyword: *biomass,* calcium silicate, rice seedling, root length, salinity.

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ NAPHTHALENE ACETIC ACID, BENZYL ADENINE VÀ TUỔI CÂY ĐẾN KHẢ NĂNG NẢY CHỒI, SINH TRƯỞNG VÀ RA HOA CỦA LAN *Dendrobium* White 5N

Lê Thị Thu Hằng, Bùi Minh Trí, Hà Thị Loan
Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh
Email: lehang705@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của NAA, BA và tuổi cây đến sự nảy chồi, tăng trưởng và ra hoa của lan *Dendrobium* White 5N. Nội dung đầu tiên đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NAA và BA đến sự nảy chồi, tăng trưởng và ra hoa của lan *D.* White 5N ở độ tuổi cây 21 tháng. Nội dung 2 đánh giá ảnh hưởng của NAA và BA đến khả năng nảy chồi, sinh trưởng và ra hoa của lan *D.*White 5N ở các độ tuổi cây khác nhau. Trong nội dung 1, NAA (0, 5, 10, 15 và 20 ppm) và BA (0, 30, 60, 90 và 120 ppm) được phun cho cây một lần duy nhất. Kết quả cho thấy lan *D.* White 5N được xử lý 10 ppm NAA và 120 ppm BA có thời điểm xuất hiện chồi mới trung bình sớm nhất lần lượt là 38 và 37 ngày sau phun, tỷ lệ nảy chồi cao nhất lần lượt là 53% và 54,8%, số chồi mới trên chậu cùng đạt nhiều nhất là 1,3 chồi. Phun phối hợp NAA 10 ppm với BA 120 ppm cho cây lan có thời điểm xuất hiện chồi mới trung bình sớm nhất là 15 ngày sau phun, tỷ lệ nảy chồi cao nhất là 73,7%, số chồi mới trên chậu đạt nhiều nhất là 2 chồi. Nồng độ NAA (10 ppm) và BA (120 ppm) có tác động tích cực đến sự nảy chồi, làm tăng số lượng chồi mới nhưng không làm ảnh hưởng đến chất lượng hoa. Phun phối hợp NAA 10 ppm và BA 120 ppm có ảnh hưởng tích cực đến khả năng nảy chồi, sinh trưởng và ra hoa của lan D. White 5N ở ba độ tuổi cây (15, 21, 27 tháng tuổi). Lan 21 tháng tuổi đáp ứng tốt nhất thông qua việc có chồi xuất hiện sớm nhất là 16 ngày sau phun, tỷ lệ nảy chồi đạt cao nhất là 88,3%.

Từ khóa: BA, *Dendrobium* White 5N, NAA, nảy chồi.

THE EFFECT OF NAPHTHALENE ACETIC ACID, BENZYL ADENINE AND PLANT AGE TO SHOOTING CAPABILITY, GROW, FLOWERING OF *Dendrobium* White 5N ORCHID

ABTRACT

The study was conducted to evaluate effects of NAA, BA and plant age to shooting capability, grow, flowering of *Dendrobium* White 5N. The first content evaluated the effects of NAA and BA concentrations to promote shooting and flowering of *D.*White 5N, 21 months-old. The second contents evaluated effects of NAA and BA to shooting capability, growth, flowering of *D.*White 5N at different plant ages. In the first content, NAA (0, 5, 10, 15, 20 ppm) and BA (0, 30, 60, 90, 120 ppm) were sprayed only once for plant. The results indicated that *D.*White 5N treated with NAA 10 ppm and BA 120 ppm have induced growth of new shoots earliest at 38 and 37 days after spraying, highest rate of new shoots on plant were 53% and 54.8%, highest number of new shoots was 1.3 shoots. The treament of mixture between NAA 10 ppm and BA 120 ppm have induced growth of new shoots earliest at 15 days after spraying, highest rate of new shoots on plant was 73.7%, highest number of new shoots was 2 shoots. NAA 10 ppm and BA 120 ppm induced a positive effect on the new shoots, increased the number of new shoots and did not affect on quality of the flowers. Spraying application of mixtures of NAA 10 ppm and BA 120 ppm effected on new shoots, growth and flowering of *D.*White 5N at three plant ages (15, 21, 27 months-old). The 21 months-old orchids have induced growth of new shoots earliest at 16 days after spraying, highest rate of new shoots on plant was 88.3%.

Key word: BA, *Dendrobium* White 5N, NAA, shoot.

NGHIÊN CỨU TÁCH DÒNG, BIỂU HIỆN VÀ TINH SẠCH PROTEIN ERF8 TỪ CÂY *Arabidopsis thaliana* TRONG VI KHUẨN *Escherichia coli*

[1]Nguyễn Thanh Huyền, [1]Nguyễn Thị Thúy Hạnh, [2]Nguyễn Huy Thuần, [1]Nguyễn Xuân Cảnh*
[1]Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2]Viện Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Đại học Duy Tân
Email: nxcanh@vnua.edu.vn*

ĐẶT VẤN ĐỀ

ERF8 (Ethylene-responsive factor 8) thuộc họ AP2/ERF được biết đến như một trong những nhân tố phiên mã tham gia vào quá trình kìm hãm sự già hóa của lá cây. Sự già hóa của lá cây là giai đoạn phát triển cuối cùng của lá và khi đó chất dinh dưỡng từ lá cũ sẽ được chuyển sang mô mới đang trong quá trình phát triển. Điều hòa sự già hóa của lá cây phụ thuộc vào tuổi của cây và các tác động của môi trường xung quanh. Hiện nay chưa có nghiên cứu cụ thể nào về ERF8 ngoài một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, sự kết hợp của ERF8 và ERF4 có vai trò quan trọng trong việc kìm hãm sự già hóa của lá cây. Do đó, nghiên cứu về chức năng cũng như sự tương tác của ERF8 có ý nghĩa quan trong trong viêc làm tăng cường sức đề kháng của cây. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tách dòng, biểu hiện và tinh sạch đươc protein ERF8 trong vi khuẩn *E. coli*. Gen ERF8 được khuyếch đại từ nguồn cDNA của cây *Arabidopsis thaliana* bằng phương pháp PCR và được tách dòng nhờ vector pTZ257R/T. Sau đó, gen này được chuyển vào vector pGEX-5X và biểu hiện ở *E. coli*. Tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới sự biểu hiện của protein ERF8 và qua đó xác định được điều kiện tối ưu để protein ERF8 biểu hiện thành công trong vi khuẩn *E. coli* BL21 ở 30^{o}C, sau 3 giờ cảm ứng với 0,5 mM IPTG. Cuối cùng, protein ERF8 tái tổ hợp được tinh sạch sơ bộ nhờ phương pháp sắc ký ái lực.

Từ khóa: *Arabidopsis thaliana*, ERF8, nhân tố phiên mã, *E. coli*, protein.

CLONING, EXPRESSION AND PURIFICATION OF ERF8 PROTEIN FROM *Arabidopsis thaliana* IN *Escherichia coli*

ABSTRACT

Ethylene-responsive factor 8 (ERF8), a member of AP2/ERF superfamily, is one of the transcription factors that involves in repression of leaf senescence in plants. Leaf senescence is the final stage of leaf development and involves the mobilization of nutrients from old leaves to newly growing tissue. Regulation of leaf senescence depends on the developmental age of plants, and it is also influenced by various external stimuli. Recently, some studies indicated that combination of ERF8 and ERF4 is an important key in signaling pathways related to the progression of leaf senescence. Besides, there is no specific study of ERF8. Therefore, investigating function and interaction of ERF8 is considered effective strategy to control plant's resistance against stress factors. In this study, we show the results of cloning, expression and purification of ERF8 protein in *Escherichia coli*. ERF8 was amplified from cDNA of *Arabidopsis thaliana* by PCR, cloned into pTZ257R/T vector. This gen then was subcloned into the expression vector pGEX-5X and expressed in *E. coli* strain BL21. Besides, the research was carried out to investigate factors and determine the optimal conditions for the expression of ERF8 protein in *E. coli* train BL21 (at 30^{o}C after 3 hours induction with 0.5 mM IPTG). Finally, ERF8 recombinant protein was initially purified by affinity chromatography for further studies.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, ERF8, transcription factor, *E. coli*, protein.

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHỈ THỊ DNA BARCODE ĐỂ XÁC ĐỊNH LOÀI LAN THẠCH HỌC TÍA (*Dendrobium officinale*)

Nguyễn Trường Giang, Dương Hoa Xô, Huỳnh Hữu Đức*
Trung tâm công nghệ sinh học Tp Hồ Chí Minh
Email: huuduchuynh82@gmail.com

TÓM TẮT

Lan Thạch hộc tía (*Dendrobium officinale*) vừa có giá trị làm cảnh vừa là cây dược liệu quý và có giá trị cao, tuy nhiên đặc diểm hình thái của cây này và một số loài có quan hệ họ hàng gần rất giống nhau và khó phân biệt. Ở nước ta hiện nay, việc định danh phân loại và bảo tồn các loài lan rừng thường dựa trên các đặc điểm hình thái là chủ yếu, phương pháp này có một số hạn chế nhất định khi sử dụng trong việc định danh và phân loại các loài lan, đặc biệt là các loài có quan hệ họ hàng gần. Kỹ thuật DNA barcode dựa trên cơ sở phân tích trình tự DNA của các vùng gen trong lục lạp và nhân đã được ứng dụng trong việc định danh và nghiên cứu đa dạng sinh học cũng như bảo tồn nguồn gen các loại cây trồng. Trong nghiên cứu này 5 mẫu lan thuộc loài *Dendrobium officinale* và 02 mẫu lan thuộc loài *Dendrobium nobile* được thu thập và phân tích trình tự DNA của 03 vùng DNA barcode là *rbcL*, *matK* và ITS. Kết quả phân tích cho thấy các mẫu DNA được ly trích từ các mẫu lan cho tỷ lệ PCR thành công trên các cặp mồi tương ứng cho từng DNA barcode là 100%. Dựa trên trình tự DNA của 03 vùng *rbc*L, *mat*K và ITS của 07 mẫu lan nghiên cứu có thể phân biệt giữa hai loài *Dendrobium officinale* và *Dendrobium nobile*. Bên cạnh đó kết quả so sánh về sự khác nhau của 03 vùng trình tự này của 07 mẫu lan có mức độ khác nhau từ thấp tới cao là *rbc*L<*mat*K<ITS. Ngoài ra, khi so sánh và phân tích trình tự DNA của vùng *rbc*L, *mat*K, ITS của 2 loài này với các trình tự tương ứng của các loài có quan hệ gần trên cơ sở dữ liệu NCBI cho thấy vùng ITS có thể sử dụng hiệu quả trong việc phân biệt hai loài này và loài gần.

Từ khóa: Bioinformatics, DNA Barcode, Dendrobium, Molecular biotechnology.

APPLICATION OF DNA BAROCDE FOR IDENTIFICATION *Dendrobium officinale*

Summary

Dendrobium officinale is a valuable medicinal plant, however based on morphological characteristics is difficult to differentiate between it and the closed species. In Vietnam, the identification of wild orchid species is mainly based on morphological characteristics of the plants, and therefore there are some limitations. DNA barcode, based on the DNA sequences in the chloroplast or nuclear genome, have been used to identify a plant at species level and applied in biodiversity and conservation researches. In this study, five *Dendrobium officinale* and two *Dendrobium nobile* accessions were collected and analysed their *rbc*L, *mat*K, and ITS sequences. The results showed that the extracted DNA products were amplified 100% by specific primers the published sequences in the genebank indicated that ITS can be used as a efficient marker for differentiation between these two species and their closed species.

Key word: Bioinformatics, DNA Barcode, Dendrobium, Molecular biotechnology.

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG ĐẾN SỰ PHÁT SINH CALLUS TỪ BAO PHẤN MƯỚP ĐẮNG (*MOMORDICA CHARANTIA* L.) *IN VITRO*

***Nguyễn Minh Lý*[1], *Võ Châu Tuấn*[1], *Nguyễn Thị Như Thảo*[1]**
[1]*Khoa Sinh-Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng*
Email: Minhlyvn24@gmail.com

TÓM TẮT

Phát sinh callus từ bao phấn *in vitro* là một trong những bước quan trọng nhất của quy trình tạo cây mướp đắng đơn bội bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn. Thí nghiệm này được tiến hành với mục đích khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) một cách riêng rẽ hoặc kết hợp đến sự phát sinh callus *in vitro* từ bao phấn của giống khổ qua lai (*Momordica charantia* L.) F1 Diago 26. Kết quả cho thấy, bao phấn nuôi cấy trên các môi trường có bổ sung các chất ĐHST riêng lẻ không cảm ứng phát sinh callus. Trong khi đó, sự kết hợp giữa auxin (2,4-D; NAA) và cytokinin (BAP; KN; TDZ) có hiệu quả đối với sự hình thành callus. Đặc biệt, tỷ lệ phát sinh callus đạt giá trị cao nhất là 66,67% trên môi trường MS có bổ sung 3% sucrose; 0,8% agar; 2,0 mg/l 2,4-D và 2,0 mg/l KN với pH = 5,75.

Từ khóa: Bao phấn, Callus, Chất điều hòa sinh trưởng, Mướp đắng, *Momordica charantia* L.

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON CALLOGENESIS FROM ANTHER CULTURE OF BITTER GOURD (*Momordica charantia* L.)

ABSTRACT

Callogenesis is one of the important stages in the production of doubled haploids by *in vitro* anther culture. This study was designed to determine the effect of plant growth regulators (PGRs) alone or in combination on callogenesis from anthers of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) - F1 hybrid Diago 26. The result showed that calli were not found on MS medium supplemented with various concentrations of PGRs alone. The combination of auxin (2,4-D; NAA) and cytokinin (BAP; KN; TDZ) was effective in inducing callus. Optimal callogenesis were found on MS medium supplemented with 2,0 mg/l 2,4-D and 2,0 mg/l KN.

Key word: Anther, Callus, Plant grow regulators, Bitter gourd, *Momordica charantia* L.

ẢNH HƯỞNG CỦA PHÂN BÓN NPK ĐẾN CHỈ TIÊU SINH HÓA CỦA LÁ VÀ NĂNG SUẤT, PHẨM CHẤT QUẢ CỦA GIỐNG BÍ ĐAO CHANH F1 TN61 (*BENINCASA HISPIDA* (THUNB.) COGN.)

Nguyễn Thị Y Thanh[1], Võ Minh Thứ[1], Hồ Đắc An[2]
[1]Khoa Sinh – KTNN, Trường Đại học Quy Nhơn
[2] Trường PTTH. Sông Ray, Cẩm Mỹ, Đồng Nai
Email: nguyenthiythanh@qnu.edu.vn

TÓM TẮT

Cây bí đao được trồng phổ biến, có giá trị dinh dưỡng cao, dùng làm thực phẩm, nguyên liệu cho công nghiệp, và có khả năng sinh trưởng, chống chịu và thích ứng tốt. Giống bí đao chanh F1 TN61 (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) đang được trồng đại trà ở huyện Cẩm Mỹ, tỉnh Đồng Nai nhưng năng suất không cao do chưa xác định được chế độ bón phân hợp lý. Xác định lượng phân bón NPK thích hợp sẽ làm tăng năng suất, phẩm chất cho giống bí đao chanh này. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu lượng phân bón NPK ở các mức 300, 400, 500 kg/ha. Kết quả nghiên cứu cho thấy bón phân NPK ở mức 400 kg/ha là thích hợp nhất đối với cây bí đao chanh F1 TN61. Với mức bón trên nhiều chỉ tiêu hóa sinh trong lá (hàm lượng DL; hàm lượng chất khô; hàm lượng nitơ tổng số), các chỉ tiêu về năng suất, phẩm chất (lượng chất khô, đường tổng số, axit hữu cơ tổng số và vitamin C) trong quả đều cao hơn các mức khác, đặc biệt năng suất tăng 28,09% so với đối chứng (bón phân N, P, K riêng rẽ).

Từ khóa: *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn., giống bí đao chanh F1 TN61, phân bón NPK.

THE EFFECT OF NPK FERTILISER ON THE LEAF BIOCHEMICAL INDICATORS AND PRODUCTIVITY, QUALITY OF F1 TN61 WINTER MELON FRUIT (*Benincasa hispida* (THUNB.) COGN.)

ABSTRACT

The winter melon, is widely cultived, has high nutritional value. Its fruit is used for the food, and industrial raw materials. The growth, tolerance and adaptability of this plant are good. The F1 TN61 winter melon plant is being commonly grown in Cam-My district, Dong-Nai province in black lands, red soils with gravel and alluvial soil but the productivity is not high due to the inadequate fertilization regime. Determining the appropriate amount of NPK fertilizer will increase the productivity and quality. An experiment was carried out to determinate the effect of different NPK fertilizer levels (300, 400, 500 kg.hectare^{-1}) on fied and quality of *Benincasa hispida*. The results showed that applying NPK fertilizer at 400 kg per hectare yielded in high fruit yield, larger fruit size and weight and higher dry matter content, increasing total sugar and vitamin C in comparison with other levels.

Key words: *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn., FI TN61 winter lemon plant, NPK fertilizer.

NUÔI CẤY PHÔI DỪA SÁP BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN VITRO*

Nguyễn Thị Tường Vi**, Nguyễn Thị Anh, Nguyễn Lê Thảo Tâm
Công ty CP KH CNNN Anh Đào, Tp. HCM
Email: Tuongvint.anhdao@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình nuôi cấy *in vitro* cây dừa Sáp (*Cocos nucifera* L.) từ phôi, được lấy trong trái dừa có sáp 10-12 tháng tuổi. Trên môi trường Y_3^* + 10mg/l BA + 1mg/l IBA, đã có 86,67% phôi cảm ứng nảy mầm sau 60 ngày nuôi cấy. Môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng chồi là môi trường Y_3^* + 10 mg/l GA_3. Sau 75 ngày nuôi cấy, cây tái sinh từ phôi đạt chiều dài thân trung bình là 4,2cm, số lá/ cây là 2,6 lá . Sau 45 ngày nuôi cấy, môi trường tăng sinh rễ tối ưu cho cây dừa sáp là môi trường Y_3^* + 10 mg/l NAA, với số rễ trung bình 2,7 rễ/cây, chiều dài trung bình rễ là 9,14cm. Cây *in vitro* được chuyển ra trồng ở vườn ươm, sau 60 ngày trồng trên giá thể hữu cơ gồm perlite : đất : phân bò theo tỷ lệ 2:1:1, thì cho tỷ lệ cây sống đạt 85,33%, cây sinh trưởng và phát triển tốt.

Từ khóa: Dừa Sáp, *in vitro*, phôi, BA, Y_3^*.

IN VITRO CULTURE OF MAKAPUNO COCONUT (*COCOS NUCIFERA* L.) EMBRYOS

SUMMARY

The study was conducted in order to establish *in vitro* propagation protocol of coconut (*Cocos nucifera* L.) from embryo. The embryo culture was initiated on medium Y3 * containing 10mg / l BA and 1mg / l IBA 86.67% of the samples induced embryos and formed shoots after 60 days of culture. The best medium for shoot inductions was Y3 * + 10 mg / l GA_3. After 75 days of culture the plant reached a height of 4.2 cm and had, 2.6 leaves per plant. After 45 days of culture, on the optimal root growth medium (Y3 * + 10 mg / l NAA) root number reached 2.7 roots per plantlet and average root length reached 9.14 cm. After 60 days of plant, the highest plantlets survival and optimal plant growth were obtained by using organic media containing perlite, land and substance from cow dung with ratio 2:1:1, respectively. The survival rate of plants in the nursary was 85.33%.

Keywords: embryos, *in vitro, Makapuno*, BA, Y_3^*.

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC GIỐNG MAI VÀNG (*Ochna integerrima*) BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Phan Minh Đạt, Nguyễn Thị Nhã
Khoa Nông nghiệp Công nghệ Cao và Công nghệ Sinh học, Đại học Nguyễn Tất Thành.
Email: nguyenthinha78@gmail.com

TÓM TẮT

Đặc điểm phân tử của 15 giống mai (Ochnaceae) thu thập từ các địa phương miền Nam Việt Nam đã được tiến hành bằng chỉ thị RAPD. Sử dụng 11 mồi đa hình đã khuếch đại được tổng số 634 băng, trong số đó, 129 băng đa hình (20,3%). Số băng/mồi dao động từ 1 (MAP7, OPA05, OPB09, OPD11 và OPF18) đến 12 (OPG10). Mồi OPG10 cho đa hình nhiều nhất 31,6%, các mồi cho tỷ lệ băng đa hình thấp hơn 24,4%. Trong nghiên cứu này, hệ số tương đồng di truyền giữa các cặp giống mai nằm trong khoảng từ 0,48 đến 0,78. Tuy nhiên, do tỷ lệ các băng đa hình thu nhận từ chỉ thị RAPD thấp nên xuất hiện nhiều đa hình hiếm, đây là các băng giúp nhận diện các giống sau này. Nhận diện các chỉ thị RAPD có thể cung cấp nhiều đặc điểm về kiểu gen. Sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa các giống đã được xây dựng bằng phương pháp phân nhóm UPGMA, 15 giống mai được phân thành 2 nhóm chính.

Từ khóa: chỉ thị phân tử, *Ochna integerrima* (Lour.) Merr, RAPD.

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF *Ochna integerrima* USING RAPD MARKER

SUMMARY

Molecular characterization of *Ochna* genotypes collected from different geographical regions of the Vietnam Southen was carried out using RAPD marker. Using 11 polymorphic RAPD primers, 634 bands were amplified, among which 129 were polymorphic. The number of bands per primer ranged from one (MAP7, OPA05, OPB09, OPD11 và OPF18) to 12 (OPG10). Primer OPG10 was the most polymorphic, generating 31.6% polymorphic bands; the rest of the primers gave less than 24.4% polymorphism. In the present study, the genetic similarity among genotypes was calculated as being between 0.48 -0.78, However, it must also be noted that the polymorphism obtained by the RAPD markers used was low, which produced the greatest number of bands and showed the greatest potential to discriminate polymorphic DNA segments. Prior identification of more polymorphic RAPD markers may provide a better characterization of genotypes.UPGMA dendrograms were used to examine the genetic relatedness of the genotypes. Two major groups were determined according to cluster analysis.

Keywords: molecular marker, *Ochna integerrima* (Lour.) Merr, RAPD.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẾ ĐỘ CHE SÁNG VÀ PHÂN BÓN ĐẾN SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT CÂY SÂM ĐÁ (*Curcuma* sp.) TRỒNG TẠI BUÔN MA THUỘT, TỈNH ĐẮK LẮK

Phan Văn Tân[1] và Nguyễn Hữu Khải[2]

[1] *Cán bộ giảng dạy, khoa Nông lâm nghiệp, trường Đại học Tây Nguyên;* [2] *học viên cao học Khoa học cây trồng khoá 2016-2017, trường Đại học Tây Nguyên*

Email: phvtan56@yahoo.com

Tóm tắt

Đã di thực cây sâm đá (*Curcuma sp.,* họ Zingiberaceae, bộ Zingiberales) từ xã Đắk Rong, huyện Kbang, tỉnh Gia Lai đến xã Hoà Thuận, Tp. Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk. Cây giống từ nuôi cấy mô trồng trong chế độ che sáng 25%, 50%, 75% và 04 loại phân bón hữu cơ: trấu hun, phân chuồng hoai mục, phân hữu cơ vi sinh và mùn. Kết quả: tỷ lệ sống 80-94%; công thức che sáng 50% ánh sáng trực xạ toàn phần và phân chuồng hoai mục 11 tấn/ha cho tỷ lệ sống, số cây/khóm, chiều cao cây, tổng diện tích lá, hàm lượng diệp lục tổng số và năng suất cao nhất. Phân chuồng hoai mục phù hợp nhất với cây sâm đá và cho năng suất thân ngầm và củ tươi đạt 3 tấn cho 1.000 m^2 đất. Cần bảo tồn và phát triển sâm đá-một loài dược liệu quý hiếm.

Từ khóa: chế độ che sáng, *Curcuma* sp., phân hữu cơ, sâm đá

RESEARCH ON THE IMPACTS OF SHADE PRODUCING CANOPY AND ORGANIC FERTILIZER ON GROWTH AND PRODUCTIVITY OF *Curcuma* sp. CULTIVATED IN BUON MA THUOT CITY, DAK LAK PROVINCE

ABSTRACT

The species *Curcuma* sp., Zingiberaceae, Zingiberales was acclimatized from Dak Rong commune, Kbang district, Gia Lai province to Hoa Thuan commune, Buon Ma Thuot city, Dak Lak province. Seedlings from cultured tissue were cultivated on shade producing canopy 25%, 50%, 75% of sunshine and 4 kinds of organic fertilizer: heated husk, decomposed manure, microorganic fertilizer and humus. Results: survival rate is 80-94%, and the samples which were planted in conditions of 50% shade of sunshine and 11 tons decomposed manure per hecta bring about the maximum of survival rate, number of trees/cluster, the height of tree, total area of all leaves, total chlorophyll content and yield. The decomposed manure is best suitable for *Curcuma sp.* and gives 3 tons of fresh underground (rhizomes and tuber) per 1,000 m^2. It is possible to preserve and develop *Curcuma* sp. - a threatened medical species.

Keywords: decomposed manure, shade producing canopy, *Curcuma* sp., organic fertilizer

ẢNH HƯỞNG CỦA NACL ĐẾN KHẢ NĂNG NẢY MẦM, SINH TRƯỞNG VÀ MỘT SỐ CHỈ TIÊU HÓA SINH 5 DÒNG/GIỐNG LÚA

Phùng Thị Hải Huyền, Điêu Thị Mai Hoa*
Trường Đại học Sư phạm Hà Nội
Email: hoadtm@hnue.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng chịu mặn của 3 dòng lúa OM/sal-23, OM/sal-24 và OM/sal-34 và được so sánh với 2 giống: nhiễm mặn (IR29) và chịu mặn (Pokkali). Thí nghiệm được thực hiện ở giai đoạn nảy mầm và giai đoạn cây mạ. Trong giai đoạn nảy mầm, tỷ lệ nảy mầm của hạt và khả năng sinh trưởng cây mầm của các dòng, giống được xác định ở các nồng độ xử lý NaCl lần lượt là 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2%. Trong giai đoạn cây mạ, hàm lượng diệp lục, hàm lượng proline và hàm lượng nước liên kết của cây được đánh giá tại thời điểm 7 và 14 ngày sau khi xử lý mặn trong môi trường dinh dưỡng Yoshida có bổ sung 0,8% NaCl. Kết quả thí nghiệm cho thấy, so sánh giữa ba dòng lúa nghiên cứu, dòng OM22/sal-34 thể hiện khả năng chịu mặn tốt nhất, sau đó đến OM22/sal-23. Dòng OM22/sal-24 chỉ chịu mặn hơn so với giống mẫn cảm IR29.

Từ khóa: chịu mặn, diệp lục, gen chịu mặn Saltol, nảy mầm, proline.

EFFECT OF NaCl ON SEED GERMINATION ABILITY, GROWTH AND SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF 5 RICE LINES/VARIETIES

SUMMARY

This study was conducted to evaluate the salinity tolerance of three OM/sal-23, OM/sal-24 and OM/sal-34 rice lines and compared to two varieties: sensitive salinity (IR29) and salt tolerance variety (Pokkali). This study was conducted in two stages such as germination and seedling stages. In germination stage, the germination rate and growth parameters of the seedlings of lines and varieties were evaluated in the different concentrations of NaCl such as 0% (control); 0.5%; 1.0%; 1.5%; 2.0% of NaCl. In the seedling stage, the chlorophyll, proline and relative water contents in leaves of seedlings at 7 and 14 days after growing in Yoshida nutrient medium with 0.8% NaCl were determined. The results showed that, OM22/sal-34 is the most salinity tolerance among three lines studied, followed by OM22/sal-23, OM22/sal-24 is more salty than IR29, the sensitive variety.

Keywords: chlorophyll, germination, proline, salt tolerance, Saltol/QLT.

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA PHÂN HỮU CƠ VI SINH SÔNG GIANH VÀ CHẾ PHẨM DHL2 ĐẾN MỘT SỐ CHỈ SỐ SINH LÝ - HÓA SINH Ở RAU CẢI NGỒNG

Trần Khánh Vân[1], Đào Thị Hường[1], Lê Hải Đăng[2]
[1]Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội
[2]Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội
**[a]E-mail: vantk@hnue.edu.vn;*

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã được tiến hành với đối tượng là cây cải ngồng *(Brassica chinensis var. parachinensis)* nhằm mục đích đánh giá được hiệu quả của việc sử dụng phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh (Phân HCVS Sông Gianh) và chế phẩm DHL2 đối với việc nâng cao năng suất và chất lượng của rau cải ngồng. Kết quả cho thấy rằng phân HCVS Sông Gianh và chế phẩm DHL2 đều thúc đẩy quá trình sinh trưởng, phát triển của rau cải ngồng thông qua việc ảnh hưởng tích cực đến các chỉ tiêu sinh trưởng: chiều cao cây, khối lượng tươi và các chỉ số sinh lý, hóa sinh bao gồm: tăng hàm lượng diệp lục tổng số, tăng hoạt tính enzim catalaza, hàm lượng đường khử, hàm lượng viatamin C, thúc đẩy sự hấp thu Cu trồng trong đất không bị ô nhiễm Cu(< 50ppm) ở cả rễ, thân, lá. Bên cạnh đó, việc sử dụng chế phẩm DHL2 có ảnh hưởng tích cực hơn tới một số chỉ số sinh lý-hóa sinh so với phân HCVS Sông Gianh bao gồm: hàm lượng diệp lục, hàm lượng catalase, vitamin C.

Từ khóa: cải ngồng, chế phẩm DHL2, phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh

EFFECT OF SONG GIANH MICROORGANISM FERTILIZER AND DHL2 PRODUCT'S ON THE GROWTH OF *BRASSICA Chinensis var. parachinensis*

ABSTRACT

An experiment was carried out to study the effect of Song Gianh microorganism fertilizer and DHL2 on the growth of *Brassica chinensis var. parachinensis* grown on Dong Anh soil. The data were processed by statistical one –way ANOVA analysis (Turkey's – b) at the significance level of α= 0.05. The results showed that both Song Gianh and DHL2 fertilizers had a positive effect to increase fresh biomass as well as quality of this vegetable thought parameters such as plant's height, total chlorophyll content, inverted sugar content, vitamin C content, activity of catalase. Moreover, the application of these fertilizers increased the Cu accumulation in leaf of this plant. DHL2 product showed positive effect to the growth and quality of *Brassica chinensis var. parachinensis* than Song Gianh microorganism fertilizer.

Keywords: Chinese Brocoli (*Brassica chinensis var. parachinensis)*, DHL2 product, Song Gianh microbial organic fertilizer.

ẢNH HƯỞNG CỦA VI KHUẨN LAM *Nostoc calcicola* HN9 ĐỐI VỚI STRESS "ÔXY HÓA" Ở CÂY ĐẬU XANH (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. ĐX208)

Sulinet Sing BunHuong [1]***, Trần Ngọc Toàn***[2]***, Nguyễn Đình San***[2]***, Mai Văn Chung*** [21]
[1] *Sở Nông nghiệp Huaphanh, Lào*
[2] *Trường Đại học Vinh*

TÓM TẮT

Chủng vi khuẩn lam (VKL) *Nostoc calcicola* HN9 ở pha suy vong đã gây stress "ôxy hóa" ở giống đậu xanh ĐX208 (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) trong giai đoạn cây có 1 lá kép ba trưởng thành với sự bùng nổ về hàm lượng gốc tự do superoxide ($O_2^{\bullet-}$) và hydrogen peroxide (H_2O_2) nội sinh. Trong lá bị stress, hệ thống chống ôxy hóa đã được cảm ứng với sự gia tăng mạnh mẽ hoạt độ của các enzyme chống ôxy hóa (superoxide dismutase-SOD, catalase-CAT, ascorbate peroxidases-APX và polyphenol oxidase-PPO). Hoạt động của các enzyme chống ôxy hóa đã làm giảm hàm lượng $O_2^{\bullet-}$ và H_2O_2 trong giai đoạn cây có 3-6 lá kép ba, góp phần kiểm soát stress "ôxy hóa" ở các tế bào lá.

Trái lại, xử lý *N. calcicola* HN9 ở pha cân bằng không gây stress "ôxy hóa" ở lá đậu xanh ĐX208; do đó, trong các cây đậu xanh này, hàm lượng các dạng ôxy hoạt hóa $O_2^{\bullet-}$ và H_2O_2 duy trì ở mức thấp, gia tăng hàm lượng axit ascorbic và hoạt độ của SOD và APX, nhưng chưa có ảnh hưởng rõ ràng đến biểu hiện của phenol tổng số và các enzyme CAT, PPO.

Từ khóa: chất chống ôxy hóa, đậu xanh ĐX208, *Nostoc calcicola* HN9, stress "ôxy hóa", vi khuẩn lam.

EFFECT OF CYANOBACTERIAL EXTRACT OF STRAIN *Nostoc calcicola* HN9 ON OXIDATIVE STRESS IN MUNGBEAN (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. DX208)

SUMMARY

The cyanobacterial suspension of strain *Nostoc calcicola* HN9 collected in death phase caused the oxidative stress in leaves of mungbean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek cv. DX208) through a strong release of superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in stage V1. In cyanobacteria-treated plants, enzymatic antioxidants such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidases (APX) and polyphenol oxidase (PPO) were enhanced to high activity during the vegetative stages. An enhancement of enzymes SOD, CAT, APX and PPO helps to control accumulation of $O_2^{\bullet-}$ and H_2O_2, therefore, reduces cellular damage from oxidative stress. Being different from that, suspension of *N. calcicola* HN9 collected in log phase only raised biosyntheis of ascorbic acid and total phenol as wel as activity of SOD and CAT, however, the induced effect was lower than that of suspension in death phase.

Keywords: antioxidants, cyanobacteria, mungbean DX208, *Nostoc calcicola* HN9, oxidative stress.

[1] Tác giả liên hệ: Mai Văn Chung, Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An
Điện thoại: 0949299862 ; E-mail: chung.uni@gmail.com

HOẠT ĐỘ ENZYME NỘI SINH VÀ HÀM LƯỢNG MỘT SỐ YẾU TỐ DINH DƯỠNG TRONG GIAI ĐOẠN NẢY MẦM SỚM CỦA VỪNG ĐEN CAMPUCHIA VÀ VỪNG TRẮNG V6 (*Sesamum indicum)*

Trần Thị Thúy, Nguyễn Phúc Đạt, Trần Thị Thanh Huyền
Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 đường Xuân Thủy, quận Cầu Giấy, Hà Nội
Email: thuy_tt@hnue.edu.vn

TÓM TẮT

Vừng là giống cây lấy dầu được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam. Các giá trị dược học của vừng, đặc biệt là vừng đen, đã được nhiều nhà nghiên cứu báo cáo; do vậy, vừng cũng được sử dụng rất nhiều trong chế biến thực phẩm, trong các bài thuốc dân gian. Trong nghiên cứu này, hoạt độ của một số enzyme nội sinh cũng như các yếu tố dinh dưỡng trong giai đoạn nảy mầm sớm của hai giống vừng (vừng đen Campuchia và vừng trắng V6) đã được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Hạt vừng nảy mầm (thời điểm rễ mầm ≤ 0,5 cm) có hoạt tính các enzyme nội sinh, đặc biệt là phytase và protease cao hơn so với hạt được ngâm no nước ở cả hai giống vừng nghiên cứu. Hoạt động của các enzyme nội sinh này đã dẫn đến những thay đổi lớn về hàm lượng các chất dinh dưỡng trong hạt: hàm lượng protein, tinh bột và lipid giảm còn 30-50% so với hạt khô ban đầu của cả hai giống nghiên cứu; hàm lượng chất kháng dinh dưỡng phytate giảm tới 94,6% ở giống vừng đen và 92,7% ở giống vừng trắng. Trong khi đó, hàm lượng các khoáng chất (kẽm, canxi, magie) hòa tan tăng 21,7 - 62,5% đối với hạt vừng đen nảy mầm; các khoáng chất trong hạt vừng trắng nảy mầm tăng không đáng kể so với hạt khô, trừ magie (tăng 52,8%). Những đánh giá bước đầu này đã khẳng định giá trị dinh dưỡng tích cực của hạt vừng nảy mầm trong chế biến thực phẩm.

Từ khóa: Amylase, enzyme nội sinh, hạt vừng nảy mầm, phytase, protease, phytate

ASSESSMENT OF ENDOGENOUS ENZYMES AND SOME NUTRIENT CONTENTS DURING EARLY GERMINATION OF SESAME SEEDS (*Sesamum indicum)* VARIETIES CAMBODIA AND V6

SUMMARY

Sesame is a popular crop for production of cooking oil in Vietnam. Sesame seed has been used in many traditional medicines and foods. There has been alot of evidences of critical pharmaceutical properties of sesame seed, especially the black-seed one. Therefore, research for improvement of sesame seed processing is necessary. In this paper, some endogenous enzymes and nutrient compounds (protein, lipid, polysaccharide and dissolved minerals) of early germinated sesame seeds (var. Cambodia (black sesame) and V6 (white sesame) were evaluated. Experimental results showed that: Endogenous enzymes, especially protease and phytase in early germinated seeds were higher than those in ungerminated seeds of both varieties. Activity of those endogenous enzymes has made major changes in nutrient compounds of seed: proteins, polysaccharides and lipids were reduced from 30 to 50% compared to those were in the ungerminated seeds; phytate, an anti nutrient factor, was also reduced at 94.6% and 92.7% in Cambodia and V6 sesame, respectively. Besides content of the easily absorbable minerals, including calcium, magnesium and zinc was significantly increased (21.7 – 62.5%) in early germinated seeds of Cambodia sesame. However, change in the content of those minerals in early germinated seeds of V6 sesame were not significant, excepting magnesium content (increased at 52.8%). These preliminary results showed a potential use of the early germinated seeds of sesame in food processing.

Keywords: germinated sesame; phytate; endophytic enzymes; phytase, amylase, protease.

NHÂN GIỐNG CÂY ĐẬU NÚI (*Plukenetia volubilis* L.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY CHỒI ĐỈNH

Đỗ Tiến Vinh[1], Mai Thị Phương Hoa[1], Trần Văn Minh[2] Nguyễn Quang Thạch[1]
[1] Đại học Nguyễn Tất Thành;
[2]Trường Đại học Quốc tế, ĐHQG TPHCM
Email: dtvinh@ntt.edu.vn

TÓM TẮT

Đậu Núi là loại cây lấy dầu có giá trị kinh tế cao. Dầu Đậu Núi rất giàu protein, các vitamin, omega 3, 6, và 9, vitamin E, carotenoid nên được sử dụng nhiều trong dược phẩm, mỹ phẩm, thực phẩm. Đậu Núi cần được nghiên cứu chọn lọc và nhân giống. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Chồi Đậu Núi được vô trùng tốt nhất ở nồng độ javel 100% trong thời gian 10 phút. Môi trường tốt nhất để nhân nhanh chồi là MS có bổ sung BA (0,1 mg/L), đường sucrose 30 (g/l) và agar 8 (g/l). Môi trường thích hợp cho quá trình tạo rễ và phát triển cây Đậu Núi hoàn chỉnh trong nuôi cấy *in vitro* là MS có bổ sung IBA (0,1 mg/l), nước dừa (10%), đường sucrose 30 (g/l) và agar 8 (g/l)

Từ khóa: cây Đậu Núi, nuôi cấy mô, nhân giống trong ống nghiệm, *Plukenetia volubilis* L., vi nhân giống.

MICROPROPAGATION OF *Plukenetia volubilis* L. BY SHOOT-TIP CULTURE

SUMMARY

Plukenetia volubilis L. are high value commercial strawberries. Sacha inchi oil is rich in protein, vitamins, omega 3, 6, and 9, vitamin E, carotenoids should be used in pharmaceuticals, cosmetics and food. Sacha inchi need to be carefully selected and propagated. Research results show that: Sacha inchi shoots are best sterile at 100% javel for 10 minutes. The best medium for rapid propagation of shoots was MS with BA (0.1 mg/L), sucrose 30 (g/l) and 8 (g/l) agar. Suitable medium for complete rooting and growth in *in vitro* culture was MS with IBA (0.1 mg/l), coconut water (10%), sucrose 30 (g/l) and agar 8 (g/l)

Key words: Sacha inchi, in vitro propagation, micropropagation, *Plukenetia volubilis* L., tissue culture.

NHÂN NHANH CHỒI CÂY HỒNG MÔN (*Anthurium andreanum* 'tropical') THÔNG QUA NUÔI CẤY PLB

Dương Tấn Nhựt*, Phạm Thị Sương, Trần Tiểu Hằng, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, Nguyễn Bá Nam
Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, VAST
**Email: duongtannhut@gmail.com*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, quá trình tái sinh chồi thông qua PLB phát sinh từ những lát mỏng (1 × 5 × 5 mm) mẫu mô sẹo được cắt thành được sử dụng để so sánh hiệu quả với quá trình tái sinh chồi trực tiếp từ mẫu mô sẹo. Ngoài ra, nano bạc được bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhằm khảo sát khả năng sinh trưởng của cây Hồng môn ở điều kiện *in vitro* và vườn ươm. Kết quả ghi nhận được cho thấy, tỷ lệ phát sinh PLB và số PLB/mẫu cao nhất (91,25% và 42,67 PLB; tương ứng) trên môi trường MS1 có bổ sung 1 mg/l BA, 0,08 mg/l 2,4-D kết hợp với 0,5 mg/l Kn sau 8 tuần nuôi cấy. Những PLB này tái sinh chồi sau 4 tuần nuôi cấy và hiệu quả tái sinh chồi thông qua nuôi cấy PLB gấp khoảng 5 lần so với tái sinh chồi trực tiếp từ mẫu mô sẹo. Các chồi Hồng môn *in vitro* nuôi cấy trên môi trường bổ sung 7 ppm nano bạc với mật độ 10 chồi/bình sau 12 tuần sinh trưởng tốt hơn và có tỷ lệ sống cao (92,00%) khi chuyển ra vườn ươm 8 tuần so với các nghiệm thức khác.

Từ khóa: cây Hồng môn, mô sẹo, nano bạc, PLB, sinh trưởng.

IN VITRO SHOOT MULTIPLICATION OF *ANTHURIUM ANDREANUM* 'TROPICAL' VIA PLB CULTURE

ABSTRACT

In this study, shoot regeneration via PLB formation derived from TCL-callus (1 × 5 × 5 mm) were compared to direct -shoot regeneration from callus. In additional, silver nanoparticles were supplemented to the medium to investigate the growth ability of *in vitro* and greenhouse *Anthurium* planlets. The results shown that, ratio of PLB formation and number of PLB per explant on MS1 medium added 1 mg/l BA, 0.08 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l Kn archived the best results (91.25% and 44.67 PLB; respectively) after 8 weeks of cultured. Shoot regeneration via PLB was about 5-fold more effective than direct- shoot regeneration from callus after 4 weeks of cutured. After 8 weeks transferred into greenhouse, the growth and survival rate (92.00%) of *in vitro* 12 week old shoots cultured on medium supplemented 7 ppm silver nanoparticles at a density of 10 shoots per vessel were higher than those in other treatments.

Keyworks: *Anthurium,* callus, growth, PLB, silver nanoparticles.

TẠO DÒNG VÀ XÁC ĐỊNH TRÌNH TỰ GEN MÃ HÓA RIBULOSE-1,5-BISPHOSPHATE CARBOXYLASE (RUBISCO) Ở CÂY *Mesembryanthemum crystallinum (ICE PLANT)*

Hoàng Thị Kim Hồng[1*], Võ Thị Mai Hương[1], Nguyễn Thị Quỳnh Trang[1], Nguyễn Thị Tường Vy[1], Đặng Thành Long[2]

[1] Khoa Sinh học, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

[2] Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

Email: hkhong@hueuni.edu.vn

TÓM TẮT

Bài báo này trình bày các kết quả ban đầu trong nghiên cứu tạo dòng và xác định trình tự gen *rbcL* mã hóa ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) ở cây *Mesembryanthemum crystallinum*. Rubisco thường được biết đến như enzyme chính đóng vai trò hết sức quan trọng trong quá trình quang hợp của cây xanh. Ở các loài thực vật C3, Rubisco thường xúc tác cho phản ứng cố định CO_2 của Ribulose-1,5-biphosphate (RibuBP) trong quá trình quang hợp theo chu trình Calvin, tuy nhiên ở các nhóm thực vật CAM (Crassulacean acid metabolism), cơ chế quang hợp không chỉ phụ thuộc vào enzyme Rubisco mà còn phụ thuộc vào enzyme *Phosphoenolpyruvatecarboxylase (PEPC)*. Cây *M. crystallinum* là một loài thực vật đặc biệt, mang đặc tính quang hợp trung gian của cả hai nhóm thực vật C3 và CAM. Loài cây này có thể thực hiện quang hợp theo cơ chế C3 hoặc CAM tùy thuộc vào từng giai đoạn sinh trưởng hoặc do tác động bất lợi của môi trường. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành tách dòng và giải mã trình tự gen *rbcL* mã hóa Rubisco từ lá cây *M. crystallinum*. Kết quả nghiên cứu cho thấy gen *rbcL* có độ dài 1363 bp, mã hóa chuỗi polypeptide chứa 453 amino acid . So sánh trình tự gen *rbcL* đã giải mã của cây *M. crystallinum* với gen *rbcL* đã được công bố trên ngân hàng gen với số đăng ký HM850175.1 cho thấy mức độ tương đồng giữa hai gen này là 99%.

Từ khóa: CAM (Crasualacean acid metabolism), chọn dòng, gen rbcL, giải mã trình tự, *M. crystallinum,* Rubisco.

CLONING AND SEQUENCING OF GENE ENCODING RIBULOSE-1,5-BISPHOSPHATE CARBOXYLASE (RUBISCO) IN *Mesembryanthemum crystallinum*

SUMMARY

This paper presents the initial results of cloning and sequencing of gene rbcL encoding ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rubisco) in *Mesembryanthemum crystallinum* . Rubisco is well-known as a key enzyme which plays an important role in the photosynthesis of vascular plants. In C3 plants, rubisco catalyzes the carboxylation of ribulose-1,5-diphosphate (RibuDP) via Calvin cycle, but in CAM (Crasualacean Acid Metabolism) plants, photosynthesis usually operates via both C4 and C3 cycles, therefore, CAM photosynthesis is not only depended on enzyme rubisco but also on phosphoenolpyruvatecacboxylase (PEPC). *M. crystallinum* seems to be a special plant that possesses an intermediate characteristic of both C3 and CAM photosynthesis. This species displays C3 or CAM photosynthesis depending on the growth stage or the effects of the stress environment. In this study, we cloned and sequenced gene rbcL encoding rubisco in *M. crystallinum* leaves. The results indicated that *rbcL* gene was 1363 bp in length, encoding a polypeptide chain with 453 amino acid residuces. Homology alignment showed that gene *rbcL* encoding rubisco in *M. crystallinum* leaves is 99% similarity with *rbcL* gene of Genebank (accession number: HM850175.1).

Keywords: CAM (Crasualacean acid metabolism), cloning, *M. crystallinum*, rbcL gene, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rubisco), sequencing.

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT LÊN KHẢ NĂNG NHÂN CHỒI VÀ TẠO RỄ CÂY THƯƠNG LỤC (*Phytolacca americana* L.)

Lê Thị Thúy[1], Đặng Thị Kim Thúy[2]
[(1)] Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh
[(2)]Viện Sinh học Nhiệt đới Thành phố Hồ Chí Minh
Email: thuylt@cntp.edu.vn

TÓM TẮT

Thương lục (*Phytolacca americana* L.) là cây dược liệu được du nhập vào nước ta từ 10 năm trước. Hiện nay, nghiên cứu về nuôi cấy mô tế bào cây Thương lục ở Việt Nam còn hạn chế. Mẫu cấy lá và đoạn thân mang chồi ngủ từ cây con Thương lục *in vitro* được cấy trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật với các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy đoạn thân mang chồi ngủ tạo chồi tốt nhất (9,33 ± 3,46 chồi/mẫu) trên môi trường bổ sung BA 1 mg/l. Mẫu lá được cấy trên môi trường bổ sung BA hoặc TDZ với các nồng độ khác nhau chỉ cảm ứng tạo mô sẹo và không tạo chồi. Môi trường có NAA 0,2 mg/l thích hợp để tạo rễ *in vitro*.

Từ khóa: BA, mô sẹo, *Phytolacca americana* L., vi nhân giống

EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON SHOOT AND ROOT FORMATION OF POKEWEED (*Phytolacca americana* L.)

ABSTRACT

Phytolacca americana L. planted in Vietnam 10 years ago. In Vietnam and in the world, no micropropagation studies of *Phytolacca americana* L. were reported. The arm of this study was to develop a micropropagation protocol for *Phytolacca Americana*. Nodal and leaf explants from plantlet were cultured on Murashige and Skoog medium (MS) supplemented with different concentration of hormones. The optimum shoots number were induced from nodal explant of pokeweed by culturing them in MS medium supplemented with 1,0 mg/l of 6-benzylaminopurine (BA) (9,33 ± 3,46 shoots/explant). The leaf explants just induced callus on MS medium with different concentration of BA or TDZ. Shoots were allowed to root *in vitro* on medium with α – NAA 0,2 mg/l.

Keywords: BA, callus, *Phytolacca americana* L., micropropagation.

ẢNH HƯỞNG CỦA MOLYPĐEN (Mo) ĐẾN KHẢ NĂNG CHỊU HẠN CỦA MỘT SỐ GIỐNG ĐẬU CÔ VE Ở GIAI ĐOẠN CÂY CON

Lê Văn Trọng
Trường Đại học Hồng Đức
Email: tronghongduc@gmail.com

TÓM TẮT

Bài báo trình bày kết quả thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của nguyên tố vi lượng Mo đến khả năng chịu hạn của một số giống đậu cô ve NHP04, NHP08 và NHP24 ở giai đoạn cây con. Kết quả cho thấy Mo có ảnh hưởng tích cực đến khả năng chịu hạn của ba giống đậu cô ve (*Phaseolus vulgaris* L.), giống có khả năng chịu hạn tốt nhất là NHP08 có chỉ số chịu hạn tương đối đạt 3215,20 ở CT I và 3594,33 ở CT II , tiếp theo là NHP24 đạt 3070,48 ở CT I và 3473,75 ở CT II, cuối cùng là giống NHP04 chỉ đạt 2255,65 ở CT I và 2596,35 ở CT II. Mo cũng ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng chịu hạn của cây đậu cô ve qua một số chỉ tiêu như hàm lượng nước trong lá, khả năng giữ nước của lá, cường độ thoát hơi nước của lá và khối lượng bộ rễ. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học để đưa ra các giải pháp nhằm nâng cao khả năng chống chịu hạn của một số giống đậu cô ve.

Từ khóa: Đậu cô ve, molypđen, chịu hạn, giai đoạn cây con.

EFFECT OF MOLYBDENUM ON DROUGHT TOLERANCE OF SOME COMMON BEAN VARIETIES AT SEEDLING STAGE

SUMMARY

This article presented the results of experiments about the effect of Mo on drought tolerance of some common bean varieties NHP04, NHP08 and NHP24 at the seedling stage. Results showed that Mo had a positive effect on drought tolerance of the three common bean varieties, the best drought tolerant varieties was NHP08 with relative drought index of 3215,20 in formula I and 3594.33 in formula II, followed by NHP24 reaching 3070.48 in formula I and 3473.75 in formula II, finally NHP04 only 2255.65 in formula I and 2596.35 in formula II. Mo also directly affects on drought tolerance of the common bean through some indicators such as water content in leaf, water holding capacity, evaporative intensity of leaf and root mass. The result of this study is the scientific basis to propose solutions to improve drought tolerance of some common bean varieties.

Keywords: Common bean, molypden, drought tolerance, seedling stage.

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC CỦA MỘT SỐ DÒNG LÚA NẾP ĐƯỢC CHỌN TẠO THEO HƯỚNG CỨNG CÂY CHỐNG ĐỔ NGÃ PHỤC VỤ CHO SẢN XUẤT

Nguyễn Thị Thuở[1], Võ Công Thành[2] và Lê Văn Hòa[2]
[1] Trường Cao đẳng Cộng đồng Sóc Trăng, Nghiên cứu sinh ; [2] Trường Đại học Cần Thơ
Email: ntthuo@stcc.edu.vn,

TÓM TẮT

Thời gian qua, đổ ngã trên lúa đã trở thành một vấn đề lớn ở Đồng bằng sông Cửu Long bởi nó gây thiệt hại đáng kể đến năng suất và cả chất lượng của lúa gạo. Nhằm chọn tạo giống nếp mới cứng cây, chống được đổ ngã, năng suất cao, chất lượng tốt phục vụ cho nhu cầu sản xuất ở khu vực, các dòng nếp lai ưu tú về tính cứng cây, chống đổ ngã của tổ hợp lai THL1 (lúa nếp NK2 x lúa Nhật) đã được đánh giá, chọn lọc. Các chỉ tiêu đánh giá gồm đặc điểm nông học, chất lượng hạt, đường kính và độ cứng lóng của bốn lóng thân trên cùng. Kết quả đã tuyển chọn được hai dòng nếp mới là NL2-2 và NL2-8 đều thuộc nhóm lúa nếp ngắn ngày, chiều cao cây trung bình, đường kính lóng thân từ lóng thứ nhất đến lóng thứ tư lần lượt là 2,63-2,66; 4,48-4,52; 5,12-5,2 và 5,82-6,03 mm; độ cứng từ lóng thứ nhất đến lóng thứ tư lần lượt là 2,68-3,01; 5,78-6,14; 9,04-9,41 và 10,04-12,38 N/cm^2; hàm lượng amylose 2,37-2,66%, hàm lượng protein 7,48-7,7%, độ dài hạt 6,96-7,09 mm, dạng hạt thon dài; có thể tiến hành khảo nghiệm để đưa vào sản xuất chọn giống nếp mới cứng cây, chống đổ ngã. Có sự tương quan chặt chẽ giữa đường kính với độ cứng lóng thân.

Từ khóa: chống đổ ngã, độ cứng lóng, đường kính lóng, lúa nếp *NK2*.

AGRONOMIC SURVEY TO ASSESS LODGING RESISTANCE OF SOME STICKY RICE LINES FOR PRODUCTION

SUMMARY

In recent years, lodging in rice became a big challenge in the Mekong Delta because of the significant damage to yield and quality of rice. In order to select new varieties of sticky rice tolerable to lodging, high productivity, good quality for production in the region, the sticky rice lines of hybrid combination THL1 (sticky rice NK2 x Japanese rice) had been evaluated and selected. Accordingly, diameter and breaking strength of four top internodes, agronomy and grain quality were assessed as target traits. The results showed that there were two lines of NL2-2 and NL2-8 were noticed as short-day sticky rices; average height; the average diameter of first, second, third and fourth internodes varied from 2.63-3.79; 4.48-5.37; 5.12-6.37 and 5.82-6.88 mm, respectively; the breaking strength of first, second, third and fourth internodes was varied in the ranges of 2.68-3.36; 4.24-6.14; 7.19-9.41 and 10.04-12.38 N.cm^{-2}, respectively; the content of amylose is 2.37-2.66%, the content of protein is 7.48-7.7%, the grain length is 6.96-7.09 mm; the granular form is long slender. There was the significantly positive correlation between the diameter internode and the breaking strength. It is possible to carry out the trial to put into production this new stiffculm sticky rices.

Keywords: breaking strength, internode diameter, lodging resistance, NK2 sticky rice.

ỨNG DỤNG DNA BARCODE TRONG ĐỊNH DANH CÂY TỎI Ở TỈNH HÀ GIANG VÀ BƯỚC ĐẦU KHẢO SÁT KHẢ NĂNG TÁI SINH CÂY TỎI THÔNG QUA MÔ SẸO TỪ LÁT CẮT PHÔI

Nguyễn Khắc Hưng, Nguyễn Thị Loan, Vũ Thị My, Phạm Bích Ngọc
Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Emai: pbngoc@ibt.ac.vn

TÓM TẮT

Cây tỏi với nhiều công dụng quý đã được sử dụng từ lâu trong ẩm thực cũng như các bài thuốc trị liệu ở nhiều cộng đồng dân tộc tại tỉnh Hà Giang. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm định danh và bước đầu khảo sát khả năng ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tiến tới tạo giống cây tỏi bản địa qua kỹ thuật nhân nhanh *in vitro*. Kết quả phân tích các chỉ thị ITS và matK cho thấy mẫu tỏi thu thập được là loài *Allium sativum*. Bên cạnh đó, quy trình tái sinh cây qua mô sẹo cũng đã được khảo sát. Kết quả cho thấy việc khử trùng mẫu phôi đạt hiệu quả cao nhất khi khử trùng với dung dịch javen 60% trong 30 phút. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L 2,4 D + 0,5 mg/L kinetin là phù hợp cho quá trình tạo mô sẹo từ lát cắt ngang gốc phôi. Tỷ lệ tái sinh chồi từ mô sẹo đạt cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA.

Từ khóa: DNA Barcode, matK, ITS, tỏi, tái sinh.

THE APPLICATION OF DNA BARCODE IN IDENTIFICATION OF A GARLIC CULTIVAR COLLECTED IN HA GIANG PROVINCE AND PREMIER INVESTIGATING ON THE REPRODUCIBLE ABILITY OF GARLIC MEDIATED THROGH CALLUS CULTURING

SUMMARY

Garlic with many useful characteristic has been used in cuisine as well as in remedies in many ethnic communities in Ha Giang province. This study aimed to identify and initially investigate the applicability of tissue culture technology in order to micropropagate this garlic cultivar. Analysis of the ITS and matK showed that garlic samples collected is *Allium sativum* species. In addition, the shoot regeneration ability of callus has been investigated. Results showed that sterilization efficiency was highest when conducted with 60% javen solution in 30 minutes. The MS medium supplemented with 1.5 mg / L 2.4 D + 0.5 mg / L kinetin is suitable for the induction of callus from the transverse sections of the embryo. The percentage of shoots regenerated from callus was highest when cultured on MS medium supplemented with 0.5 mg / L BAP + 0.5 mg / L NAA.

Key words: DNA Barcode, matK, micropropagation, ITS, garlic,

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG HỮU THỤ CỦA HAI MƯƠI TỔ HỢP LAI CỦA LAN *DENDROBIUM* MINI

***Nguyễn Văn Vinh*[1]*, *Trần Hồng Anh*[2], *Bùi Minh Trí*[3], *Bùi Văn Lệ*[4]**
[1]*Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tại tp. Hồ Chí Minh, Email:vinhnh_25@yahoo.com*
[2]*Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại Tp. Hồ Chí Minh*
[3]*Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh*
[4]*Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh*

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 20 tổ hợp lan lai thu nhận từ 15 giống lan *Denrobium* mini được theo dõi quá trình thụ phấn, đậu quả, phát triển của quả và thời gian thu hoạch quả để đánh giá khả năng hữu thụ [3]. Thực hiện gieo hạt và theo dõi sự nảy mầm của hạt trong điều kiện *in vitro* để đánh giá chất lượng hữu thụ. Kết quả của quá trình lai tạo cho thấy thời gian hoa héo hoàn toàn dao động từ 6 - 20 ngày. Riêng tổ hợp lai DM25 x DM26 không có biểu hiện hoa héo nhưng cuống hoa phình to ra, đến giai đoạn 45 ngày thì hoa rụng. Trong 20 tổ hợp lai của *Dendrobium* mini nghiên cứu chỉ có 15 tổ hợp lai đậu quả với tỷ lệ từ 25 – 100% và thời gian thu hoạch quả từ 65 – 80 ngày. Sau 75 ngày thụ phấn, sự phát triển của quả có sự dao động với các chỉ tiêu chiều dài của quả 3,07 – 5,83 cm, đường kính quả 1,10 – 1,53 cm, trọng lượng quả 2,33 – 4,23 g. Kết quả ghi nhận được cũng cho thấy hình dạng quả lan lai được phân chia thành hai nhóm: (1) quả dài, phình to ở giữa, thẳng và có trọng lượng cao; (2) quả ngắn, thon, đường kính quả nhỏ và trọng lượng quả nhẹ. Đa số quả của các tổ hợp lai đều có hạt, riêng tổ hợp lai DM24 x DM01 và DM15 x DM25 xuất hiện quả không hạt với tỷ lệ 50% - 66,67%. Hạt của các tổ hợp lan *Dendrobium* mini lai có màu vàng hoặc màu trắng. Những hạt có màu vàng có thời gian nảy mầm 25 – 26 ngày và tỷ lệ nảy mầm cao 70 – 97%, ngược lại các tổ hợp có hạt màu trắng có thời gian nảy mầm dài 31 – 34 ngày và tỷ lệ nảy mầm thấp 24 – 28%.

Từ khóa*:* lan *Dendrobium* mini, lan lai, lai tạo, khả năng hữu thụ, gieo hạt lan.

EVALUATION THE POSSIBILITY OF TWENTY COMBINATION *Dendrobium* MINI CROSS-BREEDING

In this study, 20 combination Dendrobium mini cross-breeding have taken from cross-breeding among 15 varieties of *Dendrobium* mini orchid have been observed the pollination process, fruit-bearing process, the development of fruit and the time that fruit can be harvested to evaluate the ability to pollinate. Sowing the seeds and observing the seed germination under *in vitro* conditions to evaluate quality of the ability to pollinate. The result of hybridization process show that the time that flowers completely wilt from 6 to 20 days. Specially, the flower of combination Dendrobium mini cross-breeding DM25 x DM26 does not wilt but the peduncle of the flower had been bulge to date 45 and fell out. Among 20 combinations *Dendrobium* mini cross-breeding just have 15 cross-breeding create fruits with fruit ratio is from 25 to 100% and the time to harvest fruits are from 65 to 80 days. After 75 days pollination, the development of fruit has the variaty with the length of fruits from 3,07 to 5,83 cm, diameter of fruits from 1.10 to 1.53 cm, weight of fruits from 2,33 – 4,23 g. The result show that the shape of fruits has been divided into two groups: (1) long fruit, big bulge in the middle, straight and great weight; (2) short fruit, slim, small diameter fruit and low fruit weight. Almost fruits of generality of hybrid combinations have seed. However, the fruits of combination Dendrobium mini cross-breeding DM24 x DM01 and DM15 x DM25 does not have seeds with frequency 50% to 66,67%. The colour of cross – breeding seeds is white or yellow. Yellow seeds have germination times from 25 – 26 days and high germination rate from 70 – 97%. Conversely, white seeds have long germination times from 31 – 34 days and low germination rate from 24 – 28%.

Key word: *Dendrobium* mini orchid, orchid hybrid, cross-breeding, ability to pollinate, sowing orchid seeds.

HIỆN TƯỢNG MẤT MÀU XANH CỦA LÁ RAU MỒNG TƠI (*Basella alba* L.) TRỒNG THỦY CANH VÀ BIỆN PHÁP KHẮC PHỤC BẰNG BỔ SUNG FE-EDTA

Nguyễn Thị Huyền[1*], Đoàn Văn Tú[2], Nguyễn Thị Thủy[1], Nguyễn Quang Thạch[1]
[1] Viện Sinh học Nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[2] Viện Nghiên cứu và Phát triển Vùng, Bộ Khoa học và Công nghệ
[*]Email: huyennguyen2495@gmail.com

TÓM TẮT

Mồng tơi (*Basella alba* L.) là loại rau ăn lá có nhiều giá trị và công dụng. Rau đặc biệt có vị ngọt, tính hàn giúp thanh nhiệt, nhuận tràng, lương huyết và giải độc. Tuy nhiên, mồng tơi khi trồng thủy canh thường có hiện tượng mất màu xanh của lá, trong khi đó hiện tượng này không xảy ra đối với mồng tơi trồng trên đất. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định nguyên nhân dẫn đến sự mất màu xanh của lá và biện pháp khắc phục hiện tượng này. Kết quả nghiên cứu về thời vụ, phương thức canh tác cũng như phân tích hàm lượng Mg, Fe trong đất, dung dịch dinh dưỡng và trong cây mồng tơi cho thấy, nguyên nhân chính gây nên sự mất màu xanh của lá mồng tơi trồng thủy canh là do sự thiếu hụt sắt. Bằng cách bổ sung Fe – EDTA ở mức 80mg/l dung dịch trồng, cây mồng tơi trồng thủy canh đã hoàn toàn khắc phục được hiện tượng mất màu xanh của lá. Đồng thời, cây sinh trưởng tốt và cho năng suất cao hơn đối chứng trồng trên đất.

Từ khóa: Mồng tơi, hiện tượng mất màu xanh của lá, thủy canh, Fe – EDTA.

THE CHLOROSIS OF CEYLON SPINACH (*Basella alba* L.) LEAVES IN HYDROPONICS AND THE WAY TO OVERCOME VIA FE – EDTA ADDITION

SUMMARY

Ceylon spinach (*Basella alba* L.) is a leafy vegetable with many characteristics of interest such as sweet and cool tasty which have effects on antipyretic, laxative and detoxification. However, ceylon spinach usually has a loss of the normal green coloration of leaves when is planted in the hydroponic systems; while this phenomenon does not occur to ceylon spinach grown on the land. Therefore, this study was conducted to determine the reasons and the solutions to overcome the chlorosis phenomenon of ceylon spinach in hydroponics. The results of the study on seasons, cropping methods as well as the analysis of Mg, Fe content in soil, nutrition solution and the Ceylon spinach plants showed that the green leaf loss in hydroponics was mainly caused by iron deficiency. This phenomenon had completely overcome when Ceylon spinach was planted in the SH1 solution added 80 mg Fe - EDTA per liter in hydroponic systems. Ceylon spinach grew well and had better yield in comparison with them planted in the soil.

Keywords: *Basella alba* L., chlorosis, Fe – EDTA, hydroponics.

ẢNH HƯỞNG SALICYLIC ACID TIỀN XỬ LÝ HẠT GIỐNG ĐẾN KHẢ NĂNG NẢY MẦM VÀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC LÁ DƯA CHUỘT TRONG ĐIỀU KIỆN HẠN

Nguyễn Thị Phương Dung**, Phạm Tuấn Anh, Đoàn Thị Giang, Trần Anh Tuấn
Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
**Email: ntpdung@vnua.edu.vn*

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của salicylic acid (SA) xử lý hạt giống dưa chuột trước khi gieo với các nồng độ 0 mM (đối chứng), 0,25mM, 0,5 mM, 0,75mM và 1 mM đã được thực hiện. Kết quả cho thấy, xử lý hạt trước khi gieo với 0,75mM SA cho tỷ lệ nảy mầm của hạt giống cao nhất (98,33%). Xử lý SA cho hạt trước gieo làm tăng tỷ lệ chlorophyll tổng số/carotennoid (chl/car) so với đối chứng từ 5,49-13,37% ở cây ra hoa rộ, đồng thời mật độ khí khổng giảm 73,9%-61,7% so với đối chứng (có ý thống kê ở mức độ tin cậy 95%). Kết quả cho thấy, SA có khả năng tham gia vào thúc đẩy quá trình nảy mầm của hạt và tác động làm thay đổi cấu trúc lá nhằm giảm bớt sự thoát hơi nước và tăng khả năng chịu hạn.

Từ khóa: biểu bì, dưa chuột, SA, khí khổng.

EFFECT OF PREWOWING SEED TREATMENT WITH SALICYLIC ACID ON GERMMINATION AND LEAF STRUCTURE OF CUCUMBER UNDER DROUGHT CONDITION

SUMMARY

In present study, the effects of SA presowing-treatment at 5 concentrations of 0mM (control), 0.25mM, 0.50mM, 0.75mM and 1.00mM on in drought condition was studied. The results showed that treatment before sowing with 0.75 mM SA gave the highest rate of seed germination (98.33%). SA pre-sowing treatment on seeds increased the ratio of total chlorophyll/carotenoid ratio (chl/car) compared to it was in the control at 5.49 to 13.37% in blossoming-plants. Contemporally, the stomatal densities decreased at 73.9 % -61.7% compared to it was in the control (confidence level is 95%). It might conclude that SA participated in promoting of seed germination and the affecting on changing of leaf structure.

Key words: leaf epiderma, cucumber, SA, stomata

ẢNH HƯỞNG CỦA NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA) ĐẾN CHẤT LƯỢNG CÀNH GIÂM CÂY BÔNG TRANG ĐỎ (*Ixora chinensis* L.) VÀ CÂY DÂM BỤT KÉP HỒNG (*Hibiscus rosa-sinenis* L.)

Phạm Thị Phương Thảo và Lê Văn Hòa, Lâm Thị Muội, Nguyễn Thị Kim Ngân
Email: ptpthao@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Naphthalene acetic acid (NAA) là một chất điều hòa sinh trưởng thực vật được sử dụng hiệu quả trong việc thúc đẩy sự hình thành rễ cũng như chất lượng rễ trong nhân giống cây trồng. Đề tài được thực hiện nhằm mục đích khảo sát ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của cành giâm cây bông trang đỏ (Ixora chinensis L.) và cây dâm bụt kép hồng (Hibiscus rosa-sinenis L.). Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4-5 nghiệm thức tùy loại hoa gồm nghiệm thức đối chứng (nhúng cồn 50^{o}) và xử lý NAA 5 giây với các nồng độ khác nhau trước khi giâm vào giá thể có chứa tro trấu và xơ dừa với tỷ lệ 3:1, thí nghiệm có 4 lần lập lại (20 cành giâm/lần lập lại). Kết quả thí nghiệm cho thấy, đối với cành giâm cây bông trang đỏ, sử dụng NAA ở nồng độ 750 ppm và 1.000 ppm giúp cành giâm cây bông trang đỏ ra rễ sớm (>30% ở thời điểm 2 tuần SKG), làm tăng số rễ, tỷ lệ ra rễ và chiều dài rễ của cành giâm. Đối với cây dâm bụt kép hồng, nhúng NAA nồng độ từ 1.000 ppm giúp gia tăng số rễ, chiều dài rễ, tỷ lệ ra rễ cũng như tỷ lệ sống của cành giâm đạt từ 92,5 – 95% so với nghiệm thức đối chứng (chỉ 60%) sau 4 tuần xử lý.

Từ khóa: cây dâm bụt kép hồng, cây bông trang đỏ, Naphthalene acetic acid, cành giâm.

EFFECTS OF NAPHTHALENE ACETIC ACID (NAA) TREATMENTS ON ROOTING OF RED IXORA FLOWER (Ixora chinensis L.) AND HIBISCUS-ROSA PEACH FLOWER (Hibiscus rosa-sinenis L.) STEMCUTTINGS

SUMMARY

NAA is the suitable plant growth regulator for rooting as well as root system quality on the propagation of many plants. This study investigated the root formation of Red Ixora flower (*Ixora chinensis* L.) and Hibiscus-rosa peach flower (*Hibiscus rosa-sinenis* L.) stem cuttings under the influence of various concentrations of NAA. An experiment for each variety of flowers was established in RCD with four replications (20 stem cuttings/each replication). The treatments included a control treatment compared with some of different concentrations of NAA. The basal part of the cuttings were dipped on NAA solution for 5 seconds before planting in tubes containing carbonized rice hulls and coconut fiber with the ratio 3:1 respectively. The results showed that, using NAA with the concentration at 750 ppm and 1,000 ppm appeared optimal for root formation with above 30% just after 2 weeks and they produced the highest rooting percentage, number of roots and root length of red Ixora flower stem cuttings. Dipping the young cuttings of Hibiscus-rose flower with NAA from 1,000 ppm could increase number of roots as well as root length. The percentage about 92.5%- 95% survival rates and rooting percentage were recorded in various NAA concentrations, while 60% stem cuttings were found in the control treatment after 4 weeks.

Key words: Hibiscus-rosa peach flower, Naphthalene acetic acid, Red Ixora flower, stem cutting.

MỘT SỐ BIẾN ĐỔI SINH HÓA THEO TUỔI PHÁT TRIỂN VÀ THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG CỦA QUẢ CHANH LEO TÍM (*Passiflora edulis* Sims) TRỒNG TẠI NHO QUAN NINH BÌNH

Trần Thị Thanh Huyền, Lê Thị Thủy, Lê Thị Hồng Giang
Khoa Sinh học, Trường ĐH Sư phạm Hà Nội
Email: tranthanhhuyen@hnue.edu.vn

TÓM TẮT

Chanh leo là cây trồng có nguồn gốc ở Nam Mĩ và đã trở thành loại cây mang lại giá trị kinh tế cao ở nước ta trong những năm gần đây. Nghiên cứu này tiến hành phân tích động thái một số biến đổi sinh hóa và thành phần dinh dưỡng có trong quả chanh leo tím trồng tại Ninh Bình. Kết quả cho thấy, hàm lượng đường khử, vitamin C, hoạt độ enzym amylaza, peroxydaza tăng dần từ khi quả hình thành (1 tuần tuổi) cho đến khi quả chín (9 tuần tuổi), trong khi đó hàm lượng axit xitric, hoạt độ enzym catalaza gia tăng ở thời kì đầu của quá trình phát triển quả, sau đó giảm dần khi quả bước vào giai đoạn chín (tuần 7-tuần 9). Khi chín (quả 9 tuần tuổi), quả chanh leo chứa tới 18 loại axit amin, trong đó có đầy đủ 9 axit amin không thay thế với hàm lượng dao động từ 0,036 mg/100g dịch quả tươi (axit amin methionin) đến 0,194 mg/100g dịch quả tươi (axit amin threonin). Ngoài ra, quả chín còn chứa hàm lượng cao một số khoáng chất như photpho, magie, canxi và sắt.

Từ khóa: axit amin, chanh leo (*Passiflora edulis* Sims), enzym, giá trị dinh dưỡng, khoáng chất.

STUDY ON SOME OF BIOCHEMICAL CHANGES ACCORDING TO THE AGE OF DEVELOPMENT AND THE NUTRIENT COMPOSITION OF THE PURPLE PASSION FRUIT (*Passiflora edulis* Sims) GROWING IN NHO QUAN, NINH BINH

SUMMARY

The passion fruit is native of Tropical America and has become a valuable economic crop in our country in recent years. This study analyzed the dynamics of some biochemical changes and nutrient composition in the purple passion fruit grown in Ninh Binh. The results showed that the reducing sugar content, vitamin C content, enzym activity of amylase, peroxydase increased gradually from the initial appearance of the fruit (at the age of 1 week) to ripe fruit (at the age of 9 week). While the content of citric acid and the catalase enzym activity increased in the early stages of fruit development, and then decreased lightly during ripening (from week7 to week 9.5). At the time of ripen fruit (week 9), the purple passion fruit contains 18 amino acids, including all nine essential amino acids with a content ranging from 0.036 mg / 100g fresh fruit (amino acid methionine) to 0.194 mg / 100g fresh fruit juices (amino acid threonin). In addition, the ripe fruits also contain high levels of minerals such as potassium, magnesium, calcium and iron.

Keywords: amino acids, enzymes, minerals, nutritional value, passion fruit (*Passiflora edulis* Sims).

CẢM ỨNG TẠO MÔ SẸO TỪ LÁ VÀ NUÔI CẤY HUYỀN PHÙ TẾ BÀO CÂY BÁ BỆNH (*Eurycoma longifolia*)

Trần Trọng Tuấn[1*], Nguyễn Thị Thu Hằng[1], Ngô Nhứt Đẳng[1], Trịnh Thị Hương[2], Nguyễn Thị Dược[1], Đặng Thị Kim Thuý[1], Nguyễn Thị Huyền Trang[1], Đỗ Đăng Giáp[1]

[1]Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

[2]Trường Đại Học Công nghiệp Thực phẩm, TP. HCM

**Email: trantrongtuan.com@gmail.com*

TÓM TẮT

Cây bá bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack) là loại dược liệu quý thuộc họ Simaroubaceae phân bố chủ yếu khu vực Đông Nam Á. Cây bá bệnh chứa chủ yếu các hợp chất quassinoid và alkaloid. Cây bá bệnh như là một loại thuốc dân gian trong điều trị sốt rét, suy giảm chức năng tình dục và hoạt động ức chế tế bào. Trong báo cáo này, vai trò của chất điều hoà sinh trưởng thực vật lên sự hình thành mô sẹo và sinh khối huyền phù tế bào cây bá bệnh được khảo sát. Kết quả cho thấy, môi trường WPM bổ sung 2,5 mg/l NAA cho kết quả cảm ứng mô sẹo tối ưu ở các mẫu cấy gân lá (28,3%) và cuống lá (43,3%). Đối với mẫu cấy phiến lá, môi trường WPM bổ sung 3,5 mg/l NAA cho kết quả cảm ứng mô sẹo cao hơn so với các nồng độ còn lại. Ngoài ra, trong thí nghiệm khảo sát nồng độ NAA và IBA riêng lẻ lên sự tăng trưởng của dịch huyền phù tế bào, kết quả nuôi cấy tế bào huyền phù tốt nhất trong môi trường bổ sung 1,0 mg/l NAA. Trong nghiên cứu về nồng độ đường sucrose và fructoes, dịch huyền phù tế bào tăng trưởng cao nhất trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l NAA, 70 g/l sucrose.

Từ khóa: Cây bá bệnh, huyền phù tế bào, mô sẹo, NAA, IBA.

LEAF-DERIVED CALLUS INDUCTION AND CELL SUSPENSION CULTURE OF *Eurycoma logifolia*

SUMMARY

Eurycoma longifolia is a precious medicinal herb of the Simaroubaceae family distributed mainly in Southeast Asia. *Eurycoma longifolia* contain mainly of quasinoid and alkaloid compounds, as traditional medicine for the treatment of malaria, sexual dysfunction and cellular inactivation. In this study, the role of plant growth regulators on the formation of callus and cell suspension (*Eurycoma longifolia*) was investigated. The results showed that the WPM medium supplemented with 2.5 mg/l NAA resulted in optimal callus induction in leaf midrib, leaf vein and petiole. In addition, in experiments investigating specific concentrations of NAA and IBA on growth of cell suspension, the results of cells suspension culture are best in medium supplemented with 1.0 mg/l NAA. In the sucrose or fructose concentration study, the highest yields of cell suspension was obtained in MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA and 70 g/l sucrose.

Key words: Eurycoma longifolia, cell suspension culture, NAA, IBA, sucrose.

ẢNH HƯỞNG CỦA CÔNG THỨC PHÂN BÓN LÊN SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG SUẤT ĐẬU TƯƠNG HÈ THU TRỒNG TRÊN ĐẤT GIA LÂM - HÀ NỘI

Vũ Tiến Dũng, Vũ Đình Chính
Học viện nông nghiệp Việt Nam
Email: vdchinh@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Đề tài nghiên cứu ảnh hưởng của công thức bón phân cho đậu tương hè thu trồng trên đất Gia Lâm - Hà Nội nhằm mục tiêu xác định công thức bón phân hợp lý để cây đậu tương sinh trưởng phát triển tốt, năng suất cao trong điều kiện vụ hè thu. Thí nghiệm được thực hiện trên hai giống đậu tương D140 và ĐVN6, bố trí theo kiểu Split - plot (theo kiểu 2 nhân tố) với 3 lần nhắc lại, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển, yếu tố cấu thành năng suất và năng suất. Kết quả nghiên cứu của thí nghiệm đã xác định được công thức bón phân ảnh hưởng đến chỉ số diện tích lá, khối lượng và số lượng nốt sần, khả năng tích lũy chất khô, tổng số quả trên cây, khối lượng 1000 hạt, năng suất cá thể và năng suất của đậu tương. Công thức bón phân thích hợp để đạt năng suất đậu tương cao, thu nhập thuần lớn cho cả hai giống đậu tương D140 và ĐT20 trên đất Gia Lâm - Hà Nội là 40kgN + 120kgP_2O_5 + 80kgK_2O/ha+ 1,0 tấn phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh. Giống D140 đạt năng suất 26,41 tạ/ha, thu nhập thuần 11,1 triệu đồng/ha; giống ĐT20 đạt 29,0 tạ/ha và thu nhập thuần 15,4 triệu đồng/ha.

Từ khóa: đậu tương, phân bón, sinh trưởng, phát triển, năng suất.

EFFECT OF FERTILIZER FORMULA ON GROWTH, DEVELOPMENT AND YIELD OF SUMMER SOYBEAN AT GIA LAM, HA NOI

SUMMARY

The effect of fertilizer formula on growth, development and yield of summer soybean at Gia Lâm - Hà Nội was studied to identify optium formula using two soybean varieties D140 and ĐT20. The experiment was replicated three times in a Split - plot design.The results of the experiment have determined the fertilizer formula that affects the leaf area index, the weight and number of nodules, the ability to accumulate dry matter, the total number of fruits in the tree, weight 1000 seeds, individual productivity and the yield of the soybean. Suitable fertilizer formula for high soybean yield, high net income for both soybean varieties D140 and ĐT20 in Gia Lam - Hanoi is 40kgN + 120kgP_2O_5+ 80kgK_2O/ ha + 1.0 ton organic fertilizer Song Gianh River. The D140 yields 26.41 quintals per hectare, net income is 11.1 million per hectare; The DT20 variety is 29.0 quintals per hectare and the net income is 15.4 million dong per hectare.

Key words: Soybean, Fertilizer, growth, development, yield.

ẢNH HƯỞNG CỦA THIẾU NƯỚC Ở CÁC THỜI KÌ SINH TRƯỞNG TỚI HÀM LƯỢNG PROLIN, SỰ SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT VÀ PHẨM CHẤT ĐẬU HÀ LAN

Vương Thị Thu Thủy, Nguyễn Văn Mã
Trường đại học Sư phạm Hà Nội 2
Email: nvanma@yahoo.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của thiếu nước ở các thời kì sinh trưởng khác nhau tới hàm lượng prolin, sinh trưởng, một số yếu tố tạo năng suất và phẩm chất hạt nhằm tìm hiểu tác động của thiếu nước, phản ứng của đậu Hà Lan. Kết quả cho thấy,khi thiếu nước,hàm lượng prolin ở lá và rễ tăng cao, cao nhất khi chịu thiếu nước ở thời kì ra hoa. Hàm lượng prolin ở rễ thường cao hơn ở lá. Thiếu nước làm giảm chiều cao cây, diện tích lá, số nốt sần và tăng chiều dài rễ. Thiếu nước tác động lớn nhất tới sinh trưởng vào lúc cây con. Thiếu nước làm giảm số quả/cây, chiều dài quả, số hạt/quả và khối lượng hạt. Thiếu nước làm giảm hàm lượng ni tơ tổng số, lượng tinh bột và tăng lượng axit ascorbic trong hạt đậu Hà Lan.

Từ khóa: năng suất, phẩm chất, prolin, thiếu nước, thời kì sinh trưởng.

EFFECTS OF WATER SHORTAGE AT DIFFERENT GROWTH STAGES ON PROLINE CONTENT, GROWTH, PRODUCTIVITY AND QUALITY OF COMMON PEAS

SUMMARY

Studying the effects of water shortage at different growth stages on proline content, growth, some elements of productivity and grain quality in order to understand the effects of water dehydration and pea responses. The results show that when water is deficient, proline content in leaves and roots increases and reaches the highest level when the water shortage happens during flowering period. The content of proline in roots is often higher than in leaves. The water shortage causes the reduction in tree height, leaf area and the number of nodules, but increases the length of roots. It has the greatest impact on the growth at seedling period. The lack of water affects number of fruit, number of seeds in fruit, length of fruit and grain weight. It reduces the total nitrogen content, starch content and increases the ascorbic acid level in pea grains.

Key words: growth stage, productivity, proline, quality, water shortage.

PHẦN 4

PHỤ LỤC

SẢN PHẨM BIOTECH ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO
Phục vụ "Nông nghiệp hữu cơ xanh, hiệu quả, bền vững"

Bạch Thanh Ấn
0974205555 – andrew@biotechvietnam.org

Công ty Cổ phần Công nghệ Biotech Việt Nam, tiền thân là Công ty CP Đầu tư & Phát triển Đại Việt được thành lập từ năm 2007 và phát triển lên thành Công ty Cổ phần Công nghệ Biotech Việt Nam từ đầu năm 2016. Cung cấp các giải pháp công nghệ sinh học vi sinh cho ngành Môi trường: xử lý nước thải và ô nhiễm môi trường; Nông nghiệp; Thủy sản. Công ty Biotech Việt Nam hiện nay tự hào là tập đoàn phân phối độc quyền của nhiều thương hiệu vi sinh nhập khẩu nước ngoài, phục vụ đa dạng ngành Môi trường, Nông Nghiệp và Thủy sản uy tín của Mỹ và Ấn Độ trong khu vực châu Á.

Chúng tôi cung cấp tư vấn hỗ trợ bà con gói giải pháp tổng thể cho canh tác nông nghiệp hữu cơ bền vững là sự kết hợp hoàn hảo giữa thành tựu Công nghệ Nông nghiệp vi sinh và Bảo vệ thực vật sinh học trong sản xuất. Chúng tôi có các dòng sản phẩm**: CẢI TẠO ĐẤT, TĂNG TRƯỞNG, PHÒNG TRỪ SINH HỌC; BẢO QUẢN SAU THU HOẠCH** đảm bảo cây trồng được chăm sóc một cách trọn vẹn, hiệu quả, bền vững, giảm bớt nỗi lo lắng về bệnh hại. Nhà nông sẽ cung cấp ra thị trường những sản phẩm nông nghiệp sạch, giá cả, đầu ra ổn định, thúc đẩy kinh tế nông nghiệp phát triển.

NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO là một nền nông nghiệp được ứng dụng kết hợp những công nghệ mới, tiên tiến để sản xuất, còn gọi là công nghệ cao nhằm nâng cao hiệu quả, tạo bước đột phá về năng suất, chất lượng nông sản, thỏa mãn nhu cầu ngày càng cao của xã hội và đảm bảo sự phát triển nông nghiệp bền vững. Công nghệ cao được tích hợp ứng dụng trong nông nghiệp công nghệ cao bao gồm: công nghiệp hóa nông nghiệp (cơ giới hóa các khâu của quá trình sản xuất, thu hoạch, sơ chế, chế biến...), tự động hóa, công nghệ thông tin, công nghệ vật liệu mới, công nghệ sinh học; các giống cây trồng, vật nuôi năng suất, chất lượng cao...; **các quy trình canh tác tiên tiến, canh tác hữu cơ**... cho hiệu quả kinh tế cao trên một đơn vị sản xuất.

Việc canh tác hữu cơ không còn xa lạ với bà con chỉ còn là vấn đề áp dụng phương pháp, kỹ thuật trồng, vật tư nông nghiệp hữu cơ nào và sử dụng như thế nào cho đúng và hiệu quả thì vẫn còn là vấn đề nan giải.

Hiện nay công ty Biotech nắm bắt được các công nghệ tiên tiến, công nghệ cao trên thế giới, cung cấp đầy đủ cho thị trường nông nghiệp Việt Nam với các sản phẩm: phân bón sinh học, phân bón vi sinh phòng trừ bệnh về rễ, phân bón tăng trưởng, chống rụng trái, kích ra trái, tăng cường khả năng đậu trái, và cả sản phẩm sinh học trị sâu hại, nấm bệnh, nước rửa sử lý trái sau thu hoạch chống nấm mốc từ các nhà sản xuất lớn trên thế giới: **SUN & EARTH MICROBIOLOGY; SHAKTIBIOTECH; AGAIA**

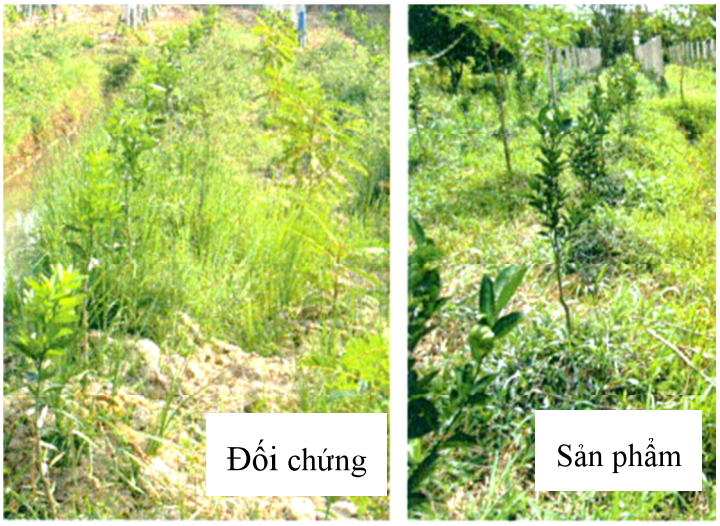
S.Y.T.MICROBIOLOGÍA VALENCIA, S.L.
SUN & EARTH MICROBIOLOGY& LABORATORY

NIVSHAKTI
BIOENERGY PVT LTD
In Harmony with Nature
An ISO 9001:2008 Company
Formerly known as
SHAKTI BIOTECH

AGAIA
MAKERS OF EVOLVE

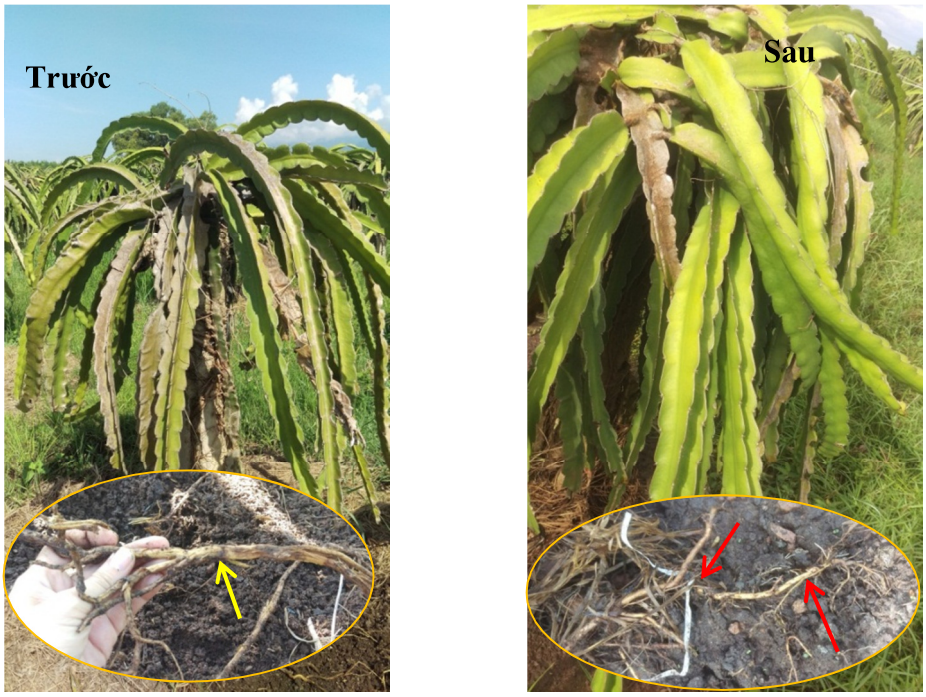
- **Nhóm cải tạo đất**: **Bio Soil, Nano-Tricho** chọn lựa kỹ lưỡng các chủng vi khuẩn vùng rễ (Rhizobacteria), vi khuẩn quang hợp cùng với chiết xuất humic là giải pháp hữu hiệu cải tạo đất, cân bằng môi trường đất, giúp đất tơi xốp, tăng cường hệ vi sinh vật có lợi trong đất, kích thích ra rễ, cây trồng khỏe mạnh.
- **Nhóm phòng và trị bệnh nấm hại, tuyến trùng trong đất**: **Bio Tricho, Bio Paecil, Nano-Tricho** chứa nấm đối kháng *Trichoderma viride* và *Trichoderma harzianum* và nấm *Paecilomyces lilacinus* trị tuyến trùng là giải pháp sinh học tuyệt vời trị các bệnh về rễ: lở cổ rễ, thối rễ, u bướu…
- **Nhóm kích thích tăng trưởng**: **Bio K+, Bio Sun, Bio Ensure, Bio NPK** dạng phân bón lá cho cây thiếu Kali và thiếu Lân, được chiết xuất từ tự nhiên không gây độc cho cây, sinh vật và con người, rất dễ sử dụng, phun trực tiếp lên lá, thân, trái cho cành cứng cáp, chắc khỏe, trái đẹp, ngon ngọt.
- **Nhóm bảo vệ thực vật: Bio Super Guard, Bio Neemakar, Bio Magic,** hoàn toàn sinh học không độc hại cho người và các sinh vật, điều trị sâu bệnh hại: đạo ôn, thán thư, thối cành, nám cành, côn trùng chích hút, gặm nhấm.

Sau đây là một số hình ảnh công ty đã và đang triển khai một số giải pháp cho nhà vườn



Hình 1. Cam sành xã Tượng Lộc, huyện Tam Bình, Vĩnh Long sau khi sử dụng sản phẩm

Hình 2. Mãng cầu dai Tây Ninh (vườn ông Vũ) sau khi sử dụng sản phẩm phân bón sinh học



Hình 3. Xử lý thanh long thối rễ trước và sau 1 tháng tại hộ ông Phương - Hàm Liêm - Bình Thuận - không còn thối rễ - kích ra rễ mới

Hình 4. Xử lý thanh long thối rễ trước và sau 1 tháng tại hộ ông Tánh - Hàm Liêm - Bình Thuận - không còn thối rễ - kích ra rễ mới

PHÂN SINH HỌC WEHG
GIẢI PHÁP CẢI TẠO ĐẤT VÀ CANH TÁC HỮU CƠ

Mai Thành Phụng, Võ Thanh Phong

1. MỞ ĐẦU

Từ lâu chúng ta đã quen với quan điểm *"canh tác có lợi"*, làm sao cho mức lãi và thu nhập từ cây trồng cao nhất. Hệ quả của việc khai thác đất và cây trồng tối đa bằng phân vô cơ (phân hóa học) đã làm suy thoái độ phì đất đai và ảnh hưởng độc hại đến môi trường của thế hệ tương lai.

Kể từ thập niên 80, ý thức được tầm quan trọng của việc bảo vệ tài nguyên đất đai (là một loại tài nguyên rất khó phục hồi một khi bị thoái hóa nghiêm trọng) các khoa học gia đã đề xuất quan điểm *"canh tác có lợi"*.

"Canh tác có lợi" là bao hàm cả việc bảo đảm được lãi, đồng thời phải tiếp tục duy trì bảo vệ bồi dưỡng độ phì đất đai, môi trường sinh thái cho thế hệ sau. Xuất phát từ khuynh hướng này, có thể thúc đẩy sự đa dạng hóa hệ thống canh tác (như nuôi tôm, cá trong ruộng,…). Nhằm gia tăng thu nhập cho nông dân mà không ảnh hưởng nhiều đến môi trường sinh thái.

Với các công năng cải tạo đất, tác động một cách hợp lý vào hệ sinh vật đất, vận động tài nguyên sẵn có trong đất một cách tự nhiên cung cấp cho cây, nâng cao hiệu quả sử dụng phân hữu cơ và vô cơ (giảm từ 50% đến 70% lượng phân vô cơ), giảm thiểu được thuốc trừ sâu bệnh, hoàn toàn không gây ảnh hưởng độc hại đến con người và môi trường; WEHG có khả năng đáp ứng được yêu cầu *"canh tác có lợi"*.

Do đó việc đánh giá hiệu quả của WEHG không chỉ đơn thuần dựa vào tính toán lãi và thu nhập, mà còn phải đánh giá hiệu quả làm tăng độ phì cho đất đai một cách bền vững, lâu dài, bảo vệ được môi trường sinh thái và bảo vệ được sức khỏe con người.

2. GIỚI THIỆU CHẾ PHẨM SINH HỌC WEHG

2.1. Đại cương về chế phẩm WEHG

Chế phẩm WEHG viết tắt từ chữ Worldwise Enterprise Heaven's Green, được sản xuất tại Hoa Kỳ.

WEHG là chế phẩm phục vụ cây trồng thế hệ mới, xuất phát từ một khuynh hướng sử dụng phân bón và chế phẩm điều tiết tăng trưởng đang được ưa chuộng tại Hoa Kỳ.

Khuynh hướng này có thể được tóm tắt như sau:

a) Tích cực bảo vệ môi trường và bảo đảm phẩm chất nông sản ở mức độ an toàn lâu dài cho người sử dụng.

b) Kích thích hợp lý quá trình vận dụng tài nguyên sẵn có ở đất đai và cây trồng là chủ yếu.

c) Góp phần tạo cân bằng môi trường đất, cải tạo và bồi dưỡng độ phì cho đất một cách tự nhiên, lâu dài và bền vững.

Với các công năng trên: Chế phẩm WEHG mang đặc tính trung gian giữa một chất cải tạo bồi dưỡng đất và một chất điều tiết sinh trưởng; đồng thời, thông qua việc vận động đất cung cấp dinh dưỡng cho cây trồng, WEHG cũng mang tính chất bổ sung dinh dưỡng đa dạng.

2.2. Công thức của WEHG

Trong chế phẩm gồm có 3 thành phần chính:

a) Dung môi và chất cố định hợp chất: Chế phẩm WEHG dung môi ở dạng dầu (dầu đậu nành).

b) Chất khoáng và vi lượng.

c) Chất hữu cơ.

Đây là thành phần hợp chất quyết định làm cho chế phẩm WEHG khác hẳn với các chế phẩm khác. Gọi một cách tổng hợp là *"Chất trích dược thảo"*.

Về nguyên lý tổng quát, hợp chất hữu cơ của chế phẩm WEHG được trích từ một số cây trồng hoang dại có tính năng chống chịu cao trong những điều kiện khắc nghiệt về ngoại cảnh như: Hạn hán, lạnh, đất nghèo dinh dưỡng, đất phèn, đất mặn,…

Quy trình trích, tinh chế, cô lập chất hữu cơ này luôn được giữ kín.

"Chất trích dược thảo" là thành phần quyết định các tính năng vượt trội sau đây của chế phẩm:

- Cải tạo và nâng cao độ phì của đất một cách tự nhiên – lâu dài - bền vững.
- Đẩy mạnh và làm cân bằng giữa quá trình khoáng hóa và mùn hóa.
- Thu hút, tạo điều kiện cho sinh vật, vi sinh vật có ích đến sinh sống và phát triển; làm cân bằng trạng thái sinh vật đất.
- Đưa pH về trung tính.
- Tác động trực tiếp lên bộ rễ cây giúp rễ cây tăng trưởng và hoạt động mạnh.
- Huy động, giải phóng dinh dưỡng khó tiêu thành dễ tiêu cung cấp cho cây, làm cho đất ngày càng tơi xốp, thoáng khí, nâng cao khả năng giữ nước, giữ dinh dưỡng của đất.

2.3. Tác động của WEHG

Chế phẩm WEHG tác động mạnh trên cây trồng và trong đất. Tuy nhiên trong đất chế phẩm có tác động mạnh và đa dạng hơn.

Theo cơ chế được giới thiệu và khảo nghiệm, khi cho vào trong đất dưới tác động qua lại giữa các thành phần hoạt chất trên từ đó tạo nên tác động vào đất và sinh vật trong đất.

Kết quả là đất được cải tạo về tính chất lý, hóa học và hệ thống sinh vật, vi sinh vật trong đất phát triển, duy trì ở mức độ cân bằng tiến dần đến tối ưu.

Các hiệu quả tiếp theo là:

a) Làm cân bằng giữa quá trình mùn hóa và khoáng hóa nhờ hoạt động của sinh vật, vi sinh vật trong đất, cải thiện thành phần và tính chất mùn, phục hồi dinh dưỡng và vận động giải phóng dinh dưỡng trong đất một cách hợp lý, đồng thời cố định đạm từ khí trời.

b) Tạo điều kiện thuận lợi cho trùn đất sinh sống và phát triển, từ đó làm cho đất tơi xốp, gia tăng lượng protein trong đất, vừa phục hồi đất vừa giải phóng dinh dưỡng khó tiêu thành dễ tiêu thông qua chu trình sống của trùn đất.

c) Tạo sự cân bằng của sinh vật, vi sinh vật trong đất từ đó làm hạn chế sâu, bệnh có nguồn gốc từ đất.

d) Tăng cường hoạt động của bộ rễ cây.

Kết quả là, làm cho cây trồng sinh trưởng và phát triển một cách đều đặn, cân đối và tiến dần đến tối ưu; gia tăng năng suất cây trồng; đồng thời đất được cải tạo, độ phì được phục hồi và gia tăng dần theo thời gian; tránh được các tác hại môi trường do dùng chế phẩm hóa học quá nhiều (phú dưỡng hóa nguồn nước).

2.4. Công dụng của phân sinh học WEHG

WEHG có 3 tác dụng chính:

➢ *Tác dụng trong đất:*

- WEHG làm cân bằng trạng thái sinh học trong đất từ đó làm giảm sâu bệnh có nguồn gốc từ đất.
- WEHG có công năng làm cho đất ngày càng màu mỡ thêm; tạo điều kiện thuận lợi cho các sinh vật, vi sinh vật có ích sinh sống và phát triển đặc biệt là trùn đất, làm cho đất tơi xốp, thoáng khí, cải tạo lý, hóa tính của đất, giải phóng dinh dưỡng khó tiêu thành dễ tiêu, huy động tài nguyên có sẵn trong đất cung cấp cho cây trồng. Từ đó giúp cây sinh trưởng, phát triển mạnh mẽ, rễ tăng trưởng mạnh, hoạt động sâu, rộng để hút nước, dinh dưỡng cung cấp cho cây. Trên cây trồng thu hút các loại thiên địch là bạn của nhà nông đến sinh sống và phát triển. Tổng hợp dinh dưỡng đa lượng từ khí trời bổ sung cho đất. Các yếu tố này đưa lại hiệu quả là làm tăng năng suất, phẩm chất cây trồng một cách lâu dài và ổn định. Trên đồng ruộng được xử lý WEHG liên tục năng suất cây trồng sẽ tăng trong vụ đầu và tăng cao đến mức độ chưa từng thấy trong các vụ kế tiếp.
- WEHG có tác dụng tốt với hầu hết các loại đất kể cả đất chua, phèn, mặn, đất bạc màu do sử dụng phân hóa học và khai thác đất liên tục nhiều vụ.

➢ *Tác dụng trên cây:*

Chế phẩm sinh học WEHG có những tác dụng đặc biệt khi sử dụng đúng liều lượng và phương pháp xử lý trên thân, lá cho mỗi loại cây trồng như sau:

- Phòng ngừa, hạn chế sâu, rầy, rệp sáp, bọ hút, cào cào và nhiều loại côn trùng có hại khác phá hoại mùa màng.
- Điều tiết tăng trưởng, huy động khí trời bổ sung dinh dưỡng cho cây, kích thích làm cho hoa ra nhiều và tập trung, tỉ lệ đậu quả cao, hạn chế rụng quả, sản phẩm có mẫu mã đẹp, hương vị đậm đà, giữ được những giá trị tự nhiên của mỗi loại nông sản.
- Cây trái và hoa màu khi thu hoạch ăn sẽ ngon hơn, an toàn tuyệt đối cho người sử dụng, không bị nhiễm độc như các sản phẩm nông sản sử dụng phân hóa học và các chế phẩm hóa chất hiện đang lưu hành.
- Đối với thân và lá cây, WEHG kích thích làm cho tăng trưởng nhanh và cân đối, kích thích làm lành các khuyết tật ở vỏ cây. Trên phần miệng cạo và vỏ cạo của cây cao su đang khai thác mủ, khi phun WEHG vào sẽ mau lành và không bị khô miệng cạo. WEHG làm tăng tuổi thọ của cây trồng.

➢ *Tác dụng của WEHG đối với hạt giống:*

Hạt giống trước khi gieo trồng được xử lý bằng phân sinh học WEHG đúng liều lượng và phương pháp sẽ nâng cao khả năng nảy mầm, hạt giống nảy mầm đồng loạt, cây con mập khỏe, hạn chế các nguồn sâu bệnh từ hạt giống. Đồng thời giúp tăng cường sức nảy mầm của hạt giống (cường lực mạ, sức khỏe cây con) một cách vượt trội hạn chế các tác hại bất lợi của thời tiết khí hậu (rét, nóng) và môi trường (hạn, mặn, phèn).

3. HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG PHÂN SINH HỌC WEHG

CÂY TRỒNG	PHUN XUỐNG ĐẤT (Xử lý đất ẩm trước khi phun)	PHUN LÊN LÁ (Chỉ phun lúc trời mát, tránh mưa)
HOA MÀU RAU CẢI, ỚT, CÀ, DƯA ĐẬU BẮP, KHỔ QUA, CÂY LẤY CỦ.	Phun 1 lần cho 1 vụ. -Bón phân hữu cơ hoai mục. -Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun đều trên diện tích 1.000m^2	- Pha 300ml phân Wehg với 30 lít nước, phun 1.000m^2 - Phun theo định kỳ 7 ngày 1 lần cho đến kết thúc vụ trồng - Các loại cây lấy củ chỉ phun 3 lần, mỗi lần cách nhau 15-20 ngày.
CÂY ĂN TRÁI: CAM, CHANH, QUÝT, BƯỞI, SẦU RIÊNG, BƠ, XOÀI, CHÔM CHÔM, NHO…	Pha 1 lít phânWehg với 40 lít nước,phun xung quanh mỗi gốc từ 1-3 lít. Thời gian 2-3 tháng phun 1 lần.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun theo định kỳ như sau: 1- Phun trước khi cây ra hoa 2- Phun sau khi cây đậu trái 3- Phun sau lần thứ hai 15 ngày 4- Phun sau lần thứ ba 15 ngày.
CÂY THANH LONG (Vụ Mùa)	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước,phun xung quanh mỗi gốc 1 lít. Thời gian 2 tháng phun 1 lần.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun theo định kỳ 15 ngày 1 lần cho đến kết thúc vụ.
CÂY THANH LONG (Vụ Chong Đèn)	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun xung quanh mỗi gốc 1 lít.Thời gian 2 tháng phun 1 lần.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun theo định kỳ như sau: 1- Phun sau khi đã rút đèn 2- Phun sau rút đèn 15 ngày 3- Phun sau rút râu 1 ngày 4- Phun sau khi rút râu 12 ngày.
CÂY LÚA	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun lên 1.000m^2, sau khi gieo sạ từ 1 đến 3 ngày. Phun 1 lần 1 vụ.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun 3.000m^2 theo định kỳ như sau: 1- Phun sau sạ 20 ngày 2- Phun sau sạ 40 ngày 3- Phun sau khi lúa trổ từ 7 đến 10 ngày.
CÂY CAO SU	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun từ mặt cạo xuống đất,mỗi gốc từ 1-2 lít, mỗi năm 3-4 lần tập trung vào mùa mưa.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun 15 ngày 1 lần trong thời gian khai thác mũ.
CÂY MÍA	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun lên diện tích 1.000m^2, phun 1 lần cho 1 vụ	- Pha 1 lít phânWehg với 100 lít nước, phun 1.000m^2 Phun 4 lần, mỗi lần cách nhau 15-20 ngày.
CÂY HOA KIỂNG PHONG LAN, HOA HUỆ, LÀI, CÚC, LY LY, BON SAI.	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun lên diện tích 1.000m^2, phun 1 lần cho 1 vụ, nếu trồng trên giá thể thì phun vừa đủ ướt.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun 7 ngày 1 lần
CÂY HỒ TIÊU, CÀ PHÊ, CA CAO. . .	Pha 1 lít phân Wehg với 40 lít nước, phun xung quanh mỗi gốc từ 1-2 lít.Thời gian 3 tháng phun 1 lần.	- Pha 1 lít phân Wehg với 100 lít nước, phun theo định kỳ như sau : 1/ Phun trước khi cây ra hoa 2/ Phun sau khi cây đậu trái 3/ Sau đó phun 15 ngày 1 lần, phun 4-5 lần.

GIẤM GỖ SINH HỌC - SẢN PHẨM THIÊN NHIÊN KỲ DIỆU

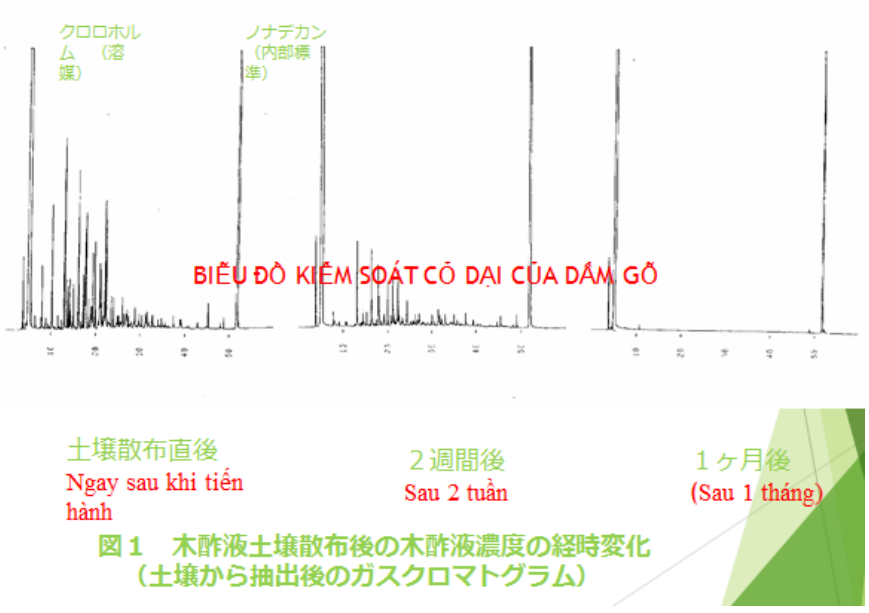
Từ xa xưa, bằng kinh nghiệm truyền thống, cha ông ta đã biết lấy nước cốt từ củi gỗ để trị các bệnh ngoài da (dùng ống tre tươi vùi một đầu vào lửa, đầu kia sủi ra một ít bọt nước, rồi bôi bọt nước ấy để làm lành các vết thương như khô môi, giời bò, giời leo,…). Đó chính là một dạng giấm gỗ (nước có vị chua được chiết xuất từ thực vật).

Ngày nay, giấm gỗ (wood vinegar hay pyrolygneous) đã trở thành một sản phẩm sinh học kỳ diệu. Các nước tiên tiến như Mỹ, Nhật Bản, Trung Quốc,… đã nghiên cứu và sử dụng giấm gỗ rộng rãi. Nó có nguồn gốc thiên nhiên được chiết xuất từ khói của quá trình nhiệt phân thực vật (được hiểu là quá trình sản xuất than sinh học) một cách có chọn lọc, loại trừ các hợp chất không an toàn và thu được sản phẩm giấm gỗ với thành phần hơn 200 hợp chất hữu cơ, ngoài phần lớn là nước (90%) còn lại là Axit axetic 2-5% và các chất Cồn, Ester, Axit, Phenol, Methanol,… mùi khói đặc trưng, màu nâu đỏ đến vàng sẫm, độ tinh khiết cao, có đặc tính kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa rất mạnh.

Vì vậy, giấm gỗ đã được sử dụng như một sản phẩm hữu cơ thân thiện, được ví như là sức mạnh của thiên nhiên ứng dụng an toàn trong nhiều lĩnh vực:

- Trong bảo vệ thực vật sinh học: Tăng trưởng thực vật, kiểm soát cỏ dại, xua đuổi hoặc tiêu diệt côn trùng, nấm, vi sinh vật gây hại, một số loại sâu bọ,…

Khả năng kiểm soát cỏ dại trong nghiên cứu của TS. Mitsuyoshi YATAGAI

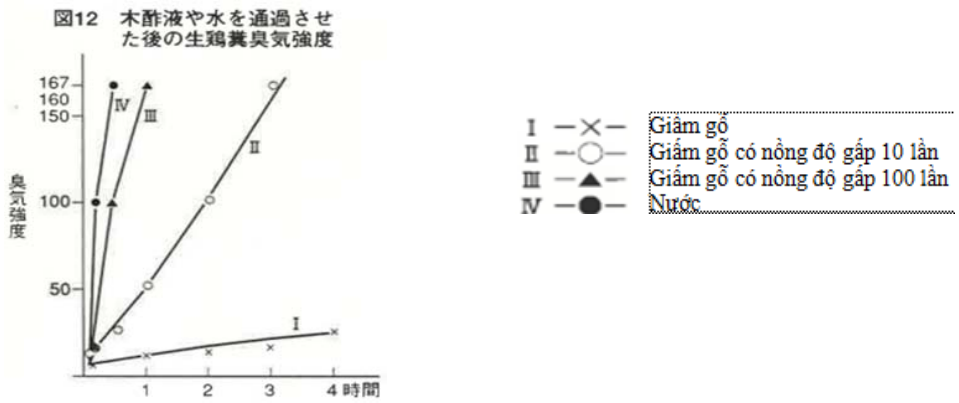


- Trong bảo vệ môi trường: Giấm gỗ được dùng để xử lý chất thải hữu cơ, ức chế sự hoạt động các vi sinh vật gây hại, bao phủ và kiềm hãm sự giải phóng các khí NH_3, H_2S, NO_2, NO_3,… làm giảm mùi hôi rác thải, nhà vệ sinh,…

Ứng dụng giấm gỗ xử lý mùi hôi chất thải tại Nhật Bản

- Trong chăn nuôi: Không những làm sạch môi trường chuồng trại mà giấm gỗ còn có tác dụng kích thích tiêu hóa, gián tiếp làm giảm mùi hôi phân thải của vật nuôi.

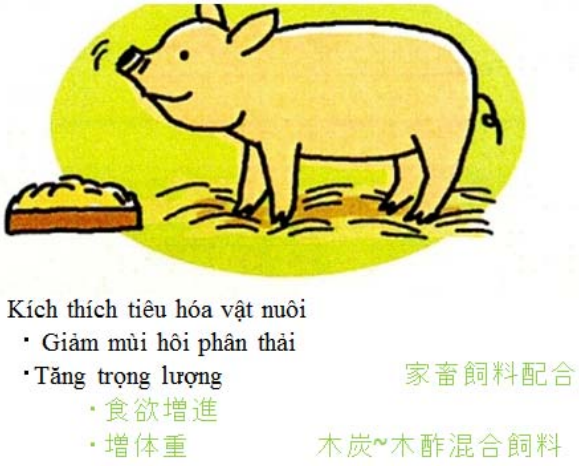
Kishimoto (Japan) đã gia nhiệt phân chim lên 80^0C, sau đó dùng dung dịch thử nghiệm khử mùi với 1 lượng nhất định (200 ml), tiến hành đo cường độ mùi của khí. Phân chim sống có cường độ mùi là 167. Sau khi cho đi qua giấm gỗ, cường độ mùi giảm 0,5, thời gian càng lâu thì độ giảm cường độ mùi càng lớn, nhưng sau 4 giờ, cường độ mùi không còn giảm nữa. Nếu dùng giấm gỗ đã pha loãng 10 lần, sau 3 tiếng, cường độ mùi giống như phân sống.



Giấm gỗ được hấp thụ vào trong than gỗ, trộn vào thức ăn của chim, sẽ làm giảm mùi hôi của phân chim. Kết quả đo nồng độ ammoniac và hydro sulfua, so sánh mẫu đã trộn giấm gỗ vào thức ăn và mẫu đối chứng, nồng độ ammoniac giảm 23~43%, nồng độ hydro sulfua giảm 85%. Sau đó tiến hành đánh giá nồng độ mùi của phân đã qua xử lý bằng giấm gỗ và mẫu đối chứng, qua khứu giác của các thành viên trong nhóm nghiên cứu, xác nhận có hiệu quả khử mùi. Tiến hành thử nghiệm trên bò Nhật cũng cho kết quả khử mùi tương tự như đối với chim. Hỗn hợp thức ăn có trộn than gỗ, giấm gỗ có tác dụng ngăn ngừa các vấn đề ô nhiễm mùi trong chăn nuôi.

Kết quả này cũng được thực chứng đối với lợn. Khi trộn giấm gỗ vào thức ăn cho lợn ăn, ta thấy lợn ăn khỏe hơn, khả năng sinh sản cũng tăng lên. Thịt lấy từ lợn được cho ăn thức ăn có trộn giấm gỗ không có thành phần chất béo, thịt săn chắc. Lượng giấm gỗ trộn vào nhiều nhất là khoảng 0,1 - 1 % lượng thức ăn. Không trộn nhiều hơn vì giấm gỗ có mùi mạnh nếu cho vào quá nhiều, lợn sẽ không thích và làm biếng ăn.

Ngoài ra, trong nhiều lĩnh vực khác, người Nhật còn dùng để pha loãng với nước, tắm bảo vệ da, làm mùi hương thực phẩm xông khói, hay sử dụng để xua đuổi động vật nhỏ, côn trùng, ruồi, muỗi, kiến, gián, mối mọt,… trong môi trường sinh hoạt.



Từ năm 2014, công ty Cổ phần Phân bón và DVTH Bình Định (BIFFA) với sự hỗ trợ kỹ thuật của Hiệp hội nghiên cứu giấm gỗ Nhật Bản GPT đã sản xuất thành công sản phẩm giấm gỗ sinh học tại Việt Nam. Đó là kết quả nghiên cứu của đề tài Nghiên cứu quy trình sản xuất giấm gỗ từ cây nguyên liệu bạch đàn với sự cố vấn của các nhà khoa học trong ngoài nước, không sử dụng Ngân sách nhà nước từ năm 2014 đến 2016. Hiện công ty đang hoàn thiện hồ sơ pháp lý để đưa sản phẩm ra thị trường.

Công nhận chất lượng của giấm gỗ Việt Nam, Hiệp hội nghiên cứu giấm gỗ Nhật Bản GPT đã kết nạp Công ty BIFFA là thành viên.

TS. Mitsuyoshi YATAGAI, chủ tịch Hiệp hội nghiên cứu giấm gỗ Nhật Bản GPT ký Hợp đồng hợp tác với ông Võ Tuấn Toàn, GĐ Công ty BIFFA (người thứ 5 và 6 ngồi từ phải sang) tại Đà Nẵng Techdemo 2017

Giấy chứng nhận Công ty BIFFA là thành viên Hiệp hội nghiên cứu giấm gỗ Nhật Bản GPT

Sản phẩm giấm gỗ BIFFA hiện đang được khảo nghiệm và mang lại những kết quả khả quan: Sử dụng chế phẩm sinh học giấm gỗ (wood vinegar) tại vườn rau hữu cơ - hợp tác xã Ngã Ba Giồng, xã Xuân Thới, Hóc Môn do Trung tâm Nghiên cứu sinh thái cảnh quan và làm vườn môi trường TP. Hồ Chí Minh thực hiện trên cây rau muống, rau dền, khổ qua, rau cải cho kết quả xua đuổi, ngăn ngừa tốt đối với một số sâu bệnh hại, vườn rau phát triển ổn định.

Ở các tỉnh phía Bắc, sử dụng giấm gỗ trên cây ớt hạn chế được bệnh héo xanh tại huyện Vĩnh Bảo, TP. Hải Phòng, trên cây thanh long tại xã Đông Bắc, huyện Kim Bôi, tỉnh Hòa Bình hay ở thôn Giáp Hạ 2, xã Thanh Hải, huyện Lục Ngạn, Bắc Giang, anh Nguyễn Minh Hiếu, dùng dấm gỗ trên cây cam đường,… cho kết quả diệt trừ sâu bệnh hại rất tốt.

Trong xử lý mùi hôi chuồng trại chăn nuôi, giấm gỗ BIFFA cũng đã được khảo nghiệm tại Nghệ An do Viên Môi trường Nông nghiệp thực hiện tháng 11 năm 2017.

Bảng 1. Diễn biến nồng độ Hydro sulphua H_2S tại các thời điểm khác nhau sau khi phun bổ sung giấm gỗ BIFFAEN (µg/m^3); (ngày đầu sau phun)

Nồng độ hydro sulphua (H_2S) tại các thời điểm	Trước phun	H %	SP1 giờ	H %	SP 2 giờ	H %	SP 4 giờ	H %	SP 6 giờ	H %	SP 8 giờ	H %	SP 10 giờ	H %
CT1 (L1)	90	-	85	6,7	80	11,2	73	18,9	65	27,8	60	33,3	52	42,2
CT1 (L2)	74	-	69	6,8	65	12,2	60	18,9	57	23	52	29,7	50	32,4
CT1 (L3)	73	-	67	8,1	62	15	60	17,8	56	23,3	51	30,1	48	34,3
CT2 (ĐC)	80	-	81	-	83	-	84	-	84	-	86	-	87	-
QCVN 06:2009/NTNMT	42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)		42(µg/m^3/h)	

Bảng 2. Diễn biến nồng độ amoniac (NH_3) tại các thời điểm khác nhau sau khi phun bổ sung giấm gỗ BIFFAEN (µg/m^3); (ngày đầu sau phun)

Nồng độ amoniac (NH_3) tại các thời điểm	Trước phun	H %	SP1 giờ	H %	SP 2 giờ	H %	SP 4 giờ	H %	SP 6 giờ	H %	SP 8 giờ	H %	SP 10 giờ	H %
CT1 (L1)	1091	-	1011	7	937,1	14,1	785,5	28	601	45	382	65	513	53
CT1 (L2)	1124	-	1048	6,9	968,8	13,8	831,7	26	640	43	427	62	506	55
CT1 (L3)	1167	-	1095	6,1	1009	13,5	863,5	26	688	41	455	61	579	51
CT2(ĐC)	1181	-	1225	-	1276	-	1322	-	1377	-	1403	-	1485	-
QCVN 06:2009/NTNMT	200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)		200 (µg/m^3/h)	

Ghi chú: - SP: sau phun
- CT: công thức khảo nghiệm
- ĐC: đối chứng
- QCVN 06:2009/NTNMT: Quy chuẩn Việt Nam – một số chất độc hại trong không khí
- -: không bổ sung giấm gỗ, không tính hiệu quả khử mùi
- H %: hiệu suất giảm mùi so với thời điểm trước phun trong ngày

Để khẳng định sự an toàn của sản phẩm, giấm gỗ BIFFA đã được so sánh với tiêu chuẩn giấm gỗ của Úc qua kết quả thử nghiệm tại các đơn vị thuộc Viện hàn lâm KHVN để kiểm tra tính an toàn sinh học của sản phẩm tại Báo cáo thử nghiệm xác định khả năng gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên chuột, chế phẩm sinh học BIFFA gây chết chuột thí nghiệm theo đường uống trong thí nghiệm này với liều gây chết 50% động vật thí nghiệm LD50= 0,5125 ml/10g hay 51,25 ml/kg; So với LD50 của Audstralia = 33.000 mg/kg thì độ an toàn của chế phẩm Dấm gỗ BIFFA =

51,25ml X 1,05 = 51, 756 g/kg = 51756 mg/kg. Như vậy, Chế phẩm sinh học dấm gỗ BIFFA an toàn khoảng 17 - 18 lần so với dấm gỗ của Australia.

Bảng 3. Số lượng chuột chết, biểu hiện bên ngoài của chuột khi uống chế phẩm sinh học

Lô TNo	Mẫu (ml/10g)	Số chuột chết trong 72 giờ	Biểu hiện bên ngoài trong vòng 0-72 giờ
1	Đối chứng	0	Sau khi uống nước chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
2	0,25	0	Sau khi uống chế phẩm sinh học chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
3	0,3	1	Sau khi uống chế phẩm sinh học chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
4	0,4	2	Sau khi uống chế phẩm sinh học một số con giảm ăn, lông hơi xù, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
5	0,5	3	Sau khi uống chế phẩm sinh học chuột giảm ăn uống, lông hơi xù
6	0,6	4	Sau khi uống chế phẩm sinh học chuột giảm ăn uống có những con không ăn, lông hơi xù, di chuyển ít hoặc chậm
7	0,75	6	Sau khi uống chế phẩm sinh học, chuột không ăn uống, ít và không di chuyển

Dựa theo công thức tính giá trị LD50 đã trình bày ở phần phương pháp, có thể tính được giá trị LD50 như sau:

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma a \times b/N$$

$$LD_{50} = 0,75 - 0,2357 = 0,5125 \text{ (ml/10g) hay } 51,25 \text{ ml/kg}$$

Kết quả thí nghiệm trên cho thấy: Chế phẩm sinh học gây chết động vật thí nghiệm theo đường uống trong thí nghiệm này với liều gây chết 50% động vật thí nghiệm LD50= 0,5125 ml/10g hay 51,25 ml/kg.

Ngoài ra, giấm gỗ BIFFA còn có khả năng kháng vi khuẩn Gram (+) tương đối mạnh, kháng vi khuẩn Gram (-) rất mạnh, kháng nấm mốc mạnh.

Kết quả thử nghiệm: Phân tích hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định mẫu Chế phẩm sinh học Dấm gỗ BIFFA của Trung tâm Giống và bảo tồn nguồn gen vi sinh vật - Viện Công nghệ sinh học).

Chỉ số	Chủng VSV kiểm định	Phương pháp	Đường kính vòng ức chế (D-d) mm	Kết luận
Kháng vi khuẩn Gram(+)	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Khuếch tán trong thạch	15	Mẫu BIFFA có khả năng kháng vi khuẩn Gram (+) tương đối mạnh
Kháng vi khuẩn Gram(-)	*E. coli* ATCC 25.922		20	Mẫu BIFFA có khả năng kháng vi khuẩn Gram (-) rất mạnh
Kháng nấm mốc	*F. oxysporum* VCM3028		18	Mẫu BIFFA có khả năng kháng nấm mốc mạnh
Kháng nấm men	*S. cerevisiae*		6	Mẫu BIFFA kháng nấm men yếu

D: Đường kính vòng ức chế
d: Đường kính lỗ thạch

Tóm lại, trong bối cảnh an toàn vệ sinh thực phẩm và thân thiện môi trường được xem là điều kiện hàng đầu trong chất lượng cuộc sống hiện đại, giấm gỗ với những ứng dụng kỳ diệu được xem như là sức mạnh của thiên nhiên, bảo vệ môi trường sống và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

HỘI THẢO KHOA HỌC SINH LÝ THỰC VẬT TOÀN QUỐC
SINH LÝ THỰC VẬT ỨNG DỤNG TRONG NÔNG NGHIỆP CÔNG NGHỆ CAO

(Lần thứ 2 năm 2017)

-----0o0-----

Chịu trách nhiệm xuất bản:
Giám đốc – Tổng biên tập: TS. LÊ LÂN
Biên tập : Nguyễn Thị Diễm Yến
Trình bày – bìa : Nguyễn Khánh Hà

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
167/6 - Phương Mai - Đống Đa - Hà Nội
ĐT: (024) 38523887 – 38521940 Fax: (024) 35760748.
E-mail: nxbnn@yahoo.com.vn
Website: nxbnongnghiep.com.vn

CHI NHÁNH NXB NÔNG NGHIỆP
58 Nguyễn Bỉnh Khiêm Q.1, TP. Hồ Chí Minh
ĐT: (028) 38299521 – 39111603 Fax: (028) 39101036
E-mail: cnnxbnn@yahoo.com.vn

In 500 bản, khổ 20,5 x 28,5 cm tại Cty TNHH MTV In ấn Mai Thịnh Đức.
71 Kha Vạn Cân, Q. Thủ Đức, TP. Hồ Chí Minh
XNĐKXB số 4348-2017/CXBIPH/2-266/NN ngày 1/12/2017.
QĐXB số: 038/QĐ CNNXBNN ngày 2/12/2017. ISBN: 978-604-60-2664-8.
In xong và nộp lưu chiểu quý IV/2017

ĐƠN VỊ TỔ CHỨC

BIOTECHNOLOGY CENTER
HO CHI MINH CITY

TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU & TƯ VẤN NÔNG NGHIỆP NHIỆT ĐỚI
TARCC

NTT UNIVERSITY
NGUYEN TAT THANH

THAM GIA TÀI TRỢ

BIOTECH Solution

Biffa

63 - 630
NN - 2017 2/266 - 2017

ISBN: 978-604-60-2664-8

Giá: 150.000 đ