

- shoots in liquid-shake culture. *American Journal of Plant Sciences*, 10: 1233-1238.
- Roy, S.K., Rahman, M., Hauque, S., 2000. *Mass Propagation of Pineapple through in Vitro Culture, in: Transplant Production in the 21st Century*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 279-283.
- Sha Valli Khan, P.S., Prakash, E., Rao, K.R., 2002. Callus induction and plantlet regeneration in *Bixa oreliana* L., an annatto-yielding tree. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 38: 186-190.
- Vuylsteke, D., Swennen, R., Wilson, G.F., De Langhe, E.A.L., 1988. Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantain (Musasp/CV AAB). *Scientia Horticulturae*, 36: 79-88.
- Zepeda, C., Sagawa, Y., 1981. In Vitro Propagation of Pineapple. *HortScience*, 16: 495.

Direct regeneration and *in vitro* propagation of MD2 pineapple variety

Hoang Thi Giang, Truong Thu Lan, Bui Thi Minh,
Nguyen Thi Hong Nhung, Phung Thi Phuong Nhung

Abstract

This study was carried out to optimize the method of shoot regeneration and rapid multiplication directly from the dormant axillary buds on suckers of the MD2 pineapple variety. Results showed that the explants were effectively sterilized by using fungicide 0.1% mercuric chloride for 15 min and cultured on the medium supplemented with 500 mg/L cefotaxime. The best direct shoot regeneration was observed on MS medium containing 3 mg/L BAP. MS medium supplemented with 3 mg/L BAP and 1 mg/L NAA was suitable for direct shoot multiplication, with a multiplication rate of 4.47. The optimal medium for rooting was MS added with 1 mg/L NAA. This study will be the basis for further studies on efficient micropropagation systems for MD2 pineapple.

Keywords: Pineapple (*Ananas comosus* L.), MD2, rapid multiplication, *in vitro*

Ngày nhận bài: 14/11/2022

Ngày phản biện: 28/11/2022

Người phản biện: PGS.TS. Trần Thị Lệ Minh

Ngày duyệt đăng: 28/12/2022

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NHÂN CHỒI CÂY ĐIỀU TỪ MẪU CÀNH NON BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ

Dương Minh Nga¹, Lê Thị Như¹, Phạm Xuân Hội¹, Nguyễn Thành Đức¹,
Phạm Thị Mai¹, Nguyễn Văn Toàn¹, Không Ngân Giang^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá khả năng nhân chồi *in vitro* từ cành non của giống điều AB0508. Nghiên cứu đã so sánh ảnh hưởng của agar và phytagel kết hợp với chất chống oxy hóa Poly Vinyl Pyrrolidone (PVP) và than hoạt tính để giảm sự hóa nâu do các hợp chất phenolic trong mẫu gây ra. Kết quả cho thấy, sử dụng môi trường nuôi cấy MS, bổ sung đường 30 g/L, Phytagel 2,25%, PVP 1 g/L, nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng 16 giờ với cường độ ánh sáng 45 - 55 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ cho tỷ lệ hóa nâu của mẫu thấp nhất và tỷ lệ sống tốt nhất (27,12%). Các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin đóng vai trò quan trọng trong việc tạo chồi ở cây điều, trong đó BAP cho hiệu quả cao hơn so với Kinetin và TDZ. Bổ sung 6-Benzyl amino purine (BAP) 4 mg/L đã tạo ra sự hình thành chồi cao nhất (27,24%), giảm nồng độ BAP xuống 2 mg/L đã thúc đẩy sự hình thành chồi mới (3,79 chồi/mẫu).

Từ khóa: Cây điều, *in vitro*, nhân chồi, cành non

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ, e-mail: ngangiang.khong2010@gmail.com

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây điều (*Anacardium Occidentale* L.) là cây công nghiệp dài ngày có giá trị kinh tế cao. Việt Nam là nước sản xuất hạt điều lớn thứ 3 trên thế giới, với sản lượng ước tính khoảng 360.000 tấn năm 2021, hàng năm xuất khẩu mang lại hàng trăm triệu USD cho đất nước. Tuy nhiên, những năm gần đây, chất lượng hạt điều không ổn định, nguyên nhân chính là do các giống điều đang canh tác bị thoái hóa mạnh (Nguyễn Văn Hòa và Nguyễn Như Hiến, 2014). Việc áp dụng kỹ thuật nhân giống *in vitro* mang lại nhiều triển vọng để nhân nhanh các kiểu gen ưu tú.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy nuôi cấy mô cây điều gặp nhiều khó khăn và chỉ đạt được một số thành công hạn chế (Catarino *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2019), một trong những nguyên nhân chính là do các hợp chất thứ cấp trong cây điều gây ra sự nâu hóa và hoại tử của mẫu. Do đó, một số chất chống oxy hóa và chất hấp thụ có khả năng ức chế sự tiết của các hợp chất thứ cấp đã được nghiên cứu, bao gồm than hoạt tính (AC); Polyvinyl Pyrrolidone-360 (PVP-360); PVPP (Polyvinylpolypyrrolidone) và axit ascorbic. Kết quả cho thấy trong số bốn chất trên, sử dụng PVP-360 ở nồng độ 1 g/L cho hiệu quả cao nhất (Thimmappaiah *et al.*, 2002).

Nghiên cứu về hiệu quả của các chất kích thích sinh trưởng (Mnoney and Mantell, 2002) đã cho thấy TDZ tốt hơn BAP trong quá trình biệt hóa chồi. Năm 2002, Thimmappaiah và cộng tác viên đã hoàn thiện quy trình nhân nhanh điều sử dụng vật liệu là đoạn thân chứa 1 - 2 mắt chồi, gồm các giai đoạn: Khử trùng mẫu; chuẩn bị mẫu và nuôi cấy khởi động; nhân chồi bên; kéo dài chồi; ra rễ. Tuy nhiên hiệu quả của phương pháp này không cao.

Nghiên cứu này đánh giá mô tả hiệu quả của chất chống oxy hóa và chất hấp thụ để giảm sự nâu hóa của mẫu cành điều giống AB0508. Bên cạnh đó, ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng cũng như điều kiện nuôi cấy tối ưu được nghiên cứu để tạo chồi.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống điều năng suất cao, chất lượng tốt AB0508 được trồng phổ biến tại các tỉnh Bình Phước, Đắk Lắk, năng suất của giống đạt trên 3,5 tấn/ha với mật

độ 200 cây/ha, kích cỡ hạt trung bình: 116 hạt/kg, tỷ lệ nhân trung bình: 30,2%. Cây giống AB0508 được trồng và chăm sóc tại nhà lưới của Viện Di truyền Nông nghiệp, cây 1 năm tuổi, các cành non có từ 6 - 8 lá được cắt làm vật liệu thí nghiệm nuôi cấy mô.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp khử trùng mẫu: Các mẫu cành điều được loại bỏ lá rồi rửa bằng nước xà phòng loãng, sau đó rửa lại dưới vòi nước. Ngâm mẫu vào hoạt chất diệt nấm Metalaxyl 3 g/L trong 15 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng rồi tiến hành khử trùng. Đầu tiên, lắc nhẹ mẫu trong dung dịch cồn 70% (v/v) trong 1 phút, sau đó khử trùng bằng dung dịch javen (NaOCl, Trung Quốc) 2% trong 20 phút, bổ sung vào dịch khử trùng 2 - 3 giọt Tween 20. Cuối cùng, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng 5-6 lần và thấm khô mẫu bằng giấy đã hấp khử trùng. Cành non sau khi khử trùng được cắt thành các đoạn có chiều dài 1 - 1,5 cm có 1 - 2 nách lá, đưa vào nuôi cấy trong ống nghiệm chứa 25 mL môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962), sử dụng chất làm đặc môi trường Agar (6,5 g/L, Việt Nam). Mẫu được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, không chiếu sáng.

- Đánh giá ảnh hưởng của chất chống hóa nâu, chất làm đặc môi trường và điều kiện chiếu sáng đến tỉ lệ sống của mẫu: Các đoạn cành non có chiều dài 1 - 1,5 cm có 1 - 2 nách lá, được nuôi cấy trong ống nghiệm chứa 25 mL môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung đường 30 g/L, chất chống hóa nâu Polyvinylpyrrolidone (PVP) 1 g/L (Sigma) hoặc than hoạt tính (AC) 2 g/L (Trung Quốc), sử dụng chất làm đặc môi trường Agar 6,5 g/L (Việt Nam) hoặc Phytigel 2,25 g/L (Sigma), môi trường MS cơ bản không bổ sung chất chống hóa nâu được sử dụng làm đối chứng. Mẫu được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ trong điều kiện chiếu sáng (16 giờ, cường độ ánh sáng $45 - 55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) hoặc trong bóng tối. Tỉ lệ mẫu sống được đánh giá sau 3 tuần nuôi cấy.

- Đánh giá ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng bật chồi: Các mẫu cành non sau 3 tuần nuôi cấy có hiện tượng chồi nách phồng lên, có màu xanh đậm hơn các vùng xung quanh sẽ được chuyển sang ống nghiệm mới chứa 25 mL môi trường bật chồi. Môi trường bật chồi sử dụng nền $\frac{1}{2}$ MS, đường 30 g/L (BioBasic),

PVP 1 g/L (Sigma), phytigel 2,25 g/L (Sigma). Tiến hành bổ sung 2 chất điều hòa sinh trưởng BAP (Sigma) hoặc Kinetin (Sigma) vào môi trường, thử nghiệm đánh giá các dải nồng độ khác nhau: BAP 2 mg/L - 4 mg/L - 6 mg/L; Kinetin 1 mg/L - 2 mg/L. Các mẫu thí nghiệm được đặt trong điều kiện nuôi cấy: nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ ánh sáng $45 - 55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Sau 3 - 4 tuần nuôi cấy, mẫu được chuyển sang môi trường mới có cùng nền công thức nhưng không chứa chất điều hòa sinh trưởng nhằm mục đích phát triển chồi.

- Đánh giá ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh của chồi:

+ Giai đoạn nhân nhanh chồi: Các mẫu được cấy chuyển sang bình tam giác chứa 100 mL môi trường nhân nhanh chồi (MS + sucrose 30 g/L (Biobasic) + PVP 1g/L (Sigma) + Phytigel 2,25 g/L (Sigma)), 3 mẫu/bình. Các chất điều hòa sinh trưởng được bổ sung vào môi trường và đánh giá ở các nồng độ khác nhau: TDZ (0,001 mg/L - 0,01 mg/L - 0,1 mg/L, Sigma) hoặc BAP (2 mg/L - 3 mg/L - 4 mg/L, Sigma). Mẫu được nuôi cấy ở cùng điều kiện như trên. Sau 1 tháng nuôi cấy, tiến hành đếm số chồi phát sinh/mắt chồi.

+ Giai đoạn kéo dài chồi: Các chồi được tạo thành trên môi trường nhân nhanh, sau 2 - 3 tuần từng chồi riêng biệt sẽ được tách ra và chuyển sang nuôi cấy trên cùng loại môi trường và cùng điều kiện nuôi cấy. Sau một tháng nuôi cấy, tiến hành đo chiều dài chồi.

- Phương pháp phân tích số liệu: Tất cả các thí nghiệm sử dụng 50 mẫu/thí nghiệm, mỗi thí nghiệm lặp lại 5 lần, số liệu được xử lý thống kê bằng phương pháp kiểm định phương sai ANOVA, sử dụng phần mềm R.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7/2021 đến 10/2022 tại Phòng Thí nghiệm Trọng điểm về Công nghệ tế bào thực vật, Viện Di truyền Nông nghiệp.

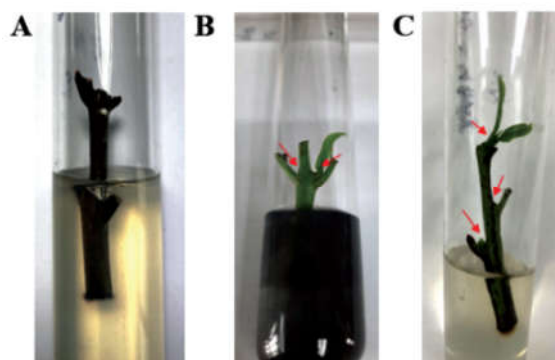
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả

3.1.1. Ảnh hưởng của chất chống hóa nâu và chất làm đặc môi trường đến khả năng sống của mẫu cành điều

Trên môi trường nuôi cấy sử dụng nền MS, chất làm đặc Agar (6,5 g/L) và không bổ sung chất

chống hóa nâu AC hoặc PVP, sau một tháng nuôi cấy, mẫu dần trở nên bị nâu hóa (Hình 1A), tỉ lệ sống của mẫu chỉ đạt 3,5% ở điều kiện nuôi trong bóng tối và 6,9% trong điều kiện chiếu sáng 16 h, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ngược lại, trên môi trường có bổ sung AC (2 g/L) hoặc PVP (1 g/L), sau 1 tháng nuôi cấy mẫu vẫn duy trì được màu xanh tươi (Hình 1B, C), không bị nâu hóa và xuất hiện mầm chồi được quan sát thấy bật lên ở phần nách lá, một phần mô nhô ra có màu xanh đậm hơn các phần xung quanh. Tỉ lệ sống của mẫu trên môi trường bổ sung AC (2 g/L) là 10,46% và 11,7% tương ứng với 2 điều kiện nuôi cấy không chiếu sáng và chiếu sáng 16 giờ, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tỉ lệ sống của mẫu trên môi trường bổ sung PVP (1 g/L) và nuôi ở bóng tối cũng chỉ đạt 11,56%, nhưng trong điều kiện chiếu sáng, tỉ lệ sống của mẫu đã tăng lên 21,18%, khác biệt có ý nghĩa thống kê (Hình 2).



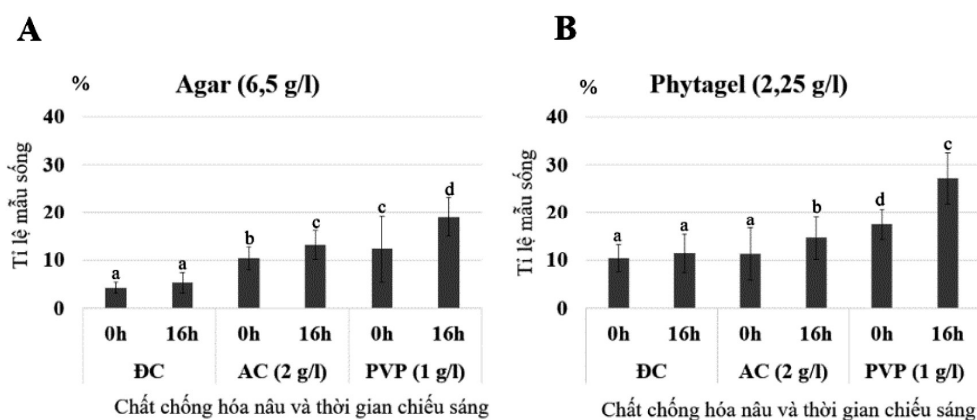
Hình 1. Mẫu cành điều AB0508 nuôi cấy trong các môi trường không bổ sung chất chống hóa nâu (A) hoặc có chất chống hóa nâu (B, C)

Ghi chú: A: mẫu cành điều non giống AB0508 sau 1 tháng nuôi cấy trên môi trường đối chứng (MS + sucrose 30 g/L + agar 6,5 g/L), không chứa chất hóa nâu. B-C: Mẫu cành điều non giống AB0508 trên môi trường nuôi cấy có bổ sung chất chống hóa nâu AC 2 g/L (B) hoặc PVP 1 g/L (C). Điều kiện nuôi cấy: $\pm 25^\circ\text{C}$, chiếu sáng 16 giờ, cường độ ánh sáng $45 - 55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Sau 1 tháng nuôi cấy chồi xanh bật lên ở nách lá (mũi tên đỏ).

Đối với môi trường nuôi cấy sử dụng chất làm đặc phytigel (2,25 g/L), kết quả tương tự cho thấy bổ sung chất chống hóa nâu AC (2 g/L) và PVP (1 g/L) làm tăng tỉ lệ sống của mẫu so với môi trường đối chứng và nuôi cấy mẫu ở điều kiện chiếu sáng 16 giờ cho tỉ lệ sống cao hơn so với nuôi không chiếu sáng. Kết quả cho thấy, tỉ lệ sống của mẫu trên môi trường bổ sung PVP (1 g/L) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với môi trường bổ sung AC

(2 g/L) trong cả 2 điều kiện nuôi cấy không chiếu sáng hoặc chiếu sáng 16 giờ. Như vậy môi trường cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi sử dụng chất làm đặc phytigel (2,25 g/L), bổ sung chất chống hóa nâu

PVP (1 g/L) và nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng 16 giờ, cường độ chiếu sáng 45 - 55 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tỷ lệ sống của mẫu đạt 27,12% (Hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng của chất làm đặc môi trường, chất chống hóa nâu và điều kiện chiếu sáng đến tỷ lệ sống của mẫu cành điều non

Ghi chú: ĐC: Môi trường đối chứng sử dụng nền MS và chất làm đặc môi trường Agar 6,5 g/L (A) hoặc Phytigel 2,25 g/L (B), không bổ sung thêm chất chống hóa nâu. AC (2 g/L): Môi trường có bổ sung chất chống hóa nâu AC 2 g/L, sử dụng chất làm đặc môi trường Agar 6,5 g/L (A) hoặc Phytigel 2,25 g/L (B). PVP (1 g/L): Môi trường có bổ sung chất chống hóa nâu PVP (1 g/L), sử dụng chất làm đặc môi trường Agar 6,5 g/L (A) hoặc Phytigel 2,25 g/L (B).

3.1.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng bật chồi của mẫu cành điều

Môi trường thúc đẩy sự bật chồi nền MS giảm đa lượng (1/2 MS), chứa đường 30 g/L, PVP 1 g/L, phytigel 2,25 g/L. Thử nghiệm bổ sung riêng rẽ vào môi trường 2 chất điều hòa sinh trưởng BAP hoặc Kinetin ở các dải nồng độ khác nhau: BAP (2 mg/L - 4 mg/L - 6 mg/L); kinetin (1 mg/L - 2 mg/L). Đánh giá khả năng bật chồi của mẫu ở các công thức thí

nghiệm sau 1 tháng nuôi cấy. Trên môi trường đối chứng, tỷ lệ bật chồi của mẫu đạt 9,36%, trong khi đó bổ sung kinetin (1 mg/L hoặc 2 mg/L) đã làm tăng tỷ lệ bật chồi lên lần lượt 13,24% và 17,23%, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sử dụng BAP ở cả 3 nồng độ 2 mg/L - 4 mg/L - 6 mg/L, đã làm tăng tỷ lệ bật chồi lên lần lượt là 18,35%; 27,24% và 23,14%. Như vậy tỷ lệ bật chồi tốt nhất khi bổ sung vào môi trường chất điều hòa sinh trưởng BAP, nồng độ 4 mg/L (Bảng 1).

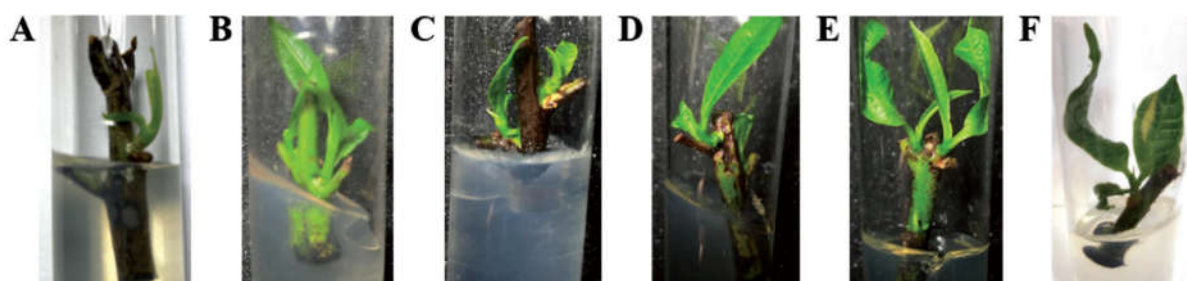
Bảng 1. Ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng bật chồi của mẫu cành điều non

Công thức	Tỷ lệ bật chồi (%)
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) (đối chứng)	9,36 ± 4,2 ^a
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) + BAP 2 mg/L	18,35 ± 3,3 ^c
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) + BAP 4 mg/L	27,24 ± 3,1 ^c
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) + BAP 6 mg/L	23,14 ± 4,1 ^d
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) + Kinetin 1 mg/L	13,24 ± 5,1 ^b
(1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytigel 2,25 g/L) + Kinetin 2 mg/L	17,23 ± 4,3 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Các mẫu được cấy chuyển 3 tuần một lần, nhằm giảm tối đa ảnh hưởng của các hợp chất Phenolic trong quá trình nuôi cấy. Sau 3 tháng, các chồi đã

hình thành rõ ràng (Hình 3), lúc này các chồi được tách khỏi cành và nuôi cấy riêng biệt.



Hình 3. Mẫu cành điều giống AB0508 sau 3 tháng nuôi cấy trên các môi trường bột chồi khác nhau

Ghi chú: A: Môi trường bột chồi đối chứng (1/2 MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L), không bổ sung chất kích thích sinh trưởng. B-C: Môi trường bột chồi bổ sung Kinetin 1 mg/L (B) hoặc Kinetin 2 mg/L (C). D-F: Môi trường bột chồi bổ sung BAP 2 mg/L (D), 4 mg/L (E), 6 mg/L (F).

3.1.3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh và kéo dài của chồi

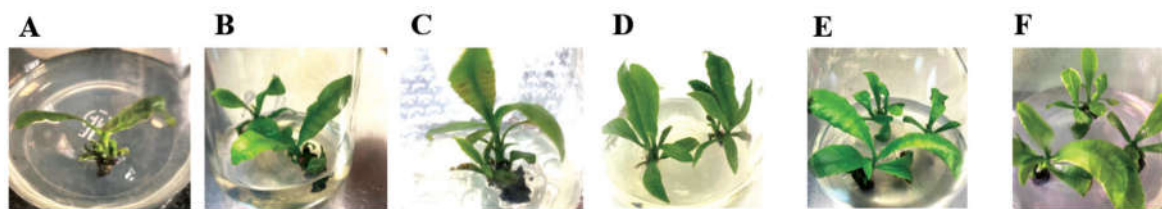
Các mẫu đã bột chồi sau 3 tháng nuôi cấy được chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi. Môi trường nhân nhanh (MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) được bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng nhằm thúc đẩy khả năng tạo chồi mới. Tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ khác nhau của 2 chất điều hòa sinh trưởng TDZ (0,001 mg/L - 0,01 mg/L - 0,1 mg/L) và BAP (2 mg/L - 3 mg/L - 4 mg/L) đến khả năng nhân nhanh và kéo dài chồi điều. Kết quả thu được sau 3 tháng nuôi cấy cho thấy trên môi trường đối chứng, số chồi mới sinh ra thấp, trung bình đạt 1,17 chồi/mắt chồi và chiều dài trung bình của chồi ngắn (2,02 cm). Trên môi trường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng TDZ, số chồi tạo ra trung bình cao hơn, cụ thể là 3,01; 2,84; 2,35 chồi tương ứng với các nồng độ tăng dần của TDZ (0,001 mg/L - 0,01 mg/L - 0,1 mg/L) và

chiều dài trung bình của chồi lần lượt là 2,67 cm; 2,17 cm và 2,27 cm. Tương tự, bổ sung BAP làm tăng khả năng nhân nhanh của chồi và hiệu quả nhân nhanh đạt cao nhất 3,79 chồi/mắt chồi ở nồng độ 2 mg/L BAP, tăng nồng độ BAP lên 3 mg/L hoặc 4 mg/L thì hiệu quả nhân chồi lại giảm đi, chỉ còn 2,85 và 2,39 chồi/mắt, chiều dài chồi cũng tốt nhất ở nồng độ BAP thấp (2 mg/L), đạt trung bình 2,47 cm (Bảng 3). Thêm vào đó, các chồi mới được tạo ra có khả năng kéo dài và phát triển bình thường, kích thước chồi dao động từ 1,79 - 2,69 cm sau 3 tháng nuôi cấy (Bảng 2). Trong khi đó, các chồi mới hình thành ở môi trường có TDZ và BAP nồng độ cao có xu hướng còi cọc và trương nước, chồi có xu hướng hóa nâu và hoại tử qua thời gian (Hình 4). Như vậy môi trường nhân nhanh cho hệ số nhân chồi cao và chiều dài chồi lớn nhất khi bổ sung thêm BAP 2 mg/L, đồng thời các mẫu chồi có thể phát triển một cách bình thường.

Bảng 2. Ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh và kéo dài chồi điều

Môi trường nhân chồi	Số lượng chồi trung bình/mắt chồi	Chiều dài trung bình của chồi (cm)
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) (đối chứng)	1,17 ± 0,9 ^a	2,02 ± 0,49 ^{ab}
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + TDZ 0,001 mg/L	3,01 ± 1,21 ^c	2,67 ± 1,08 ^d
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + TDZ 0,01 mg/L	2,84 ± 0,7 ^c	2,17 ± 0,70 ^b
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + TDZ 0,1 mg/L	2,35 ± 0,7 ^b	2,27 ± 0,71 ^c
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + BAP 2 mg/L	3,79 ± 1,6 ^d	2,47 ± 0,51 ^d
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + BAP 3 mg/L	2,85 ± 0,9 ^c	1,79 ± 0,42 ^a
(MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L) + BAP 4 mg/L	2,39 ± 0,8 ^b	2,81 ± 0,82 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.



Hình 4. Một số hình ảnh mẫu chồi điều giống AB0508 trên môi trường nhân nhanh chồi

Ghi chú: A - C: Mẫu chồi điều trên môi trường nhân nhanh chồi (MS + sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L), bổ sung TDZ 0,001 mg/L (A); 0,01 mg/L (B); 0,1 mg/L (C). D-F: Mẫu chồi điều trên môi trường nhân nhanh chồi (MS+ sucrose 30 g/L + PVP 1 g/L + phytagel 2,25 g/L), bổ sung BAP 2 mg/L (D); 3 mg/L (E); 4 mg/L (F).

3.2. Thảo luận

Điều đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước đây là khó nuôi cấy *in vitro*, lý do chính được đưa ra là sự có mặt của các chất chuyển hóa thứ cấp bị oxy hóa mạnh trong cây điều sau khi tạo vết thương, dẫn đến hậu quả là hiện tượng hóa nâu và hoại tử nghiêm trọng của mẫu cấy, vấn đề này cũng đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây về nuôi cấy mô điều (Jha, 1988; Das *et al.*, 1996). Trong quá khứ, một số cách tiếp cận đã được thực hiện để giải quyết sự hóa nâu của mẫu điều, nhưng với thành công hạn chế (D'Silva and D'Souza, 1992). Trong nghiên cứu này, việc bổ sung than hoạt tính AC (2 g/L) và PVP (1 g/L) làm giảm tỷ lệ hóa nâu của mẫu, sự nảy mầm và phát triển của chồi đã được cải thiện đạt 27,12%.

Nghiên cứu về hiệu quả của các chất kích thích sinh trưởng đối với quá trình nuôi cấy mô điều (Thimmappaiah *et al.*, 2002) đã cho thấy trong số các chất Zeatin 10 μ M; 2-IP 5 μ M; BAP 30 μ M; TDZ 0,01 μ M, TDZ và BAP cho kết quả tạo chồi và biệt hóa chồi tốt hơn các chất còn lại, tuy nhiên chồi tạo ra trên môi trường bổ sung TDZ 0,01 μ M cần cỗi, phát triển kém. Tiến hành đánh giá các nồng độ khác nhau của BAP (2 mg/L - 4 mg/L - 6 mg/L) và kinetin (1 mg/L - 2 mg/L) đến khả năng bật chồi của mẫu cành điều non đã cho thấy BAP kích thích sự ra chồi tốt hơn kinetin và nồng độ thích hợp nhất là 4 mg/L, tỉ lệ ra chồi đạt 27,24%. Khi chuyển sang giai đoạn nhân chồi và kéo dài chồi thì BAP cũng thể hiện hiệu quả tốt hơn TDZ và hiệu quả tốt nhất ở nồng độ thấp 2 mg/L đối với cả 2 chỉ tiêu tạo chồi mới (3,79 chồi/mắt) cũng như khả năng kéo dài chồi (2,47 cm).

Mặc dù TDZ và BAP đều có hiệu quả trong khả năng tăng sinh chồi, tuy nhiên các chồi nhỏ hình thành trong TDZ và BAP bị hạn chế bởi các vấn đề

còi cọc và trương nước nghiêm trọng. Các nghiên cứu sâu hơn để đạt được hiệu quả và độ chính xác cao hơn trong việc sử dụng chúng hiện nay đang được khuyến khích. Các cách tiếp cận nghiên cứu khả thi có thể bao gồm các cải tiến cho việc áp dụng phối hợp các chất điều hòa sinh trưởng, hoặc nuôi cấy lỏng với sự kết hợp các hóa chất này (Mridula *et al.*, 1983; George, 1996). Cách tiếp cận này có thể làm giảm bớt hoặc loại bỏ các vấn đề về còi cọc và trương nước.

IV. KẾT LUẬN

Bổ sung than hoạt tính AC 2 g/L hoặc PVP 1 g/L vào môi trường nuôi cấy có tác dụng làm giảm sự hóa nâu của mẫu cành điều và tăng tỉ lệ sống của mẫu, trong đó PVP 1 g/L cho hiệu quả tốt hơn. Bên cạnh đó chất làm đặc môi trường và điều kiện chiếu sáng cũng ảnh hưởng đến khả năng sống sót của mẫu. Trong nghiên cứu này, môi trường nuôi cấy nền MS, bổ sung sucrose 30 g/L, phytagel 2,25 g/L, PVP 1 g/L, nuôi cấy chiếu sáng 16 h với cường độ ánh sáng 45 - 55 μ mol m⁻² s⁻¹ cho tỉ lệ sống của mẫu tốt nhất (27,12%).

Các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm Cytokinin đóng vai trò quan trọng trong việc tạo chồi, trong đó BAP cho hiệu quả cao hơn so với Kinetin và TDZ. Tỉ lệ bật chồi tốt nhất với BAP 4 mg/L, sau đó chuyển sang môi trường chứa BAP ở nồng độ thấp hơn (2 mg/L) để nhân và kéo dài chồi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Hòa, Nguyễn Như Hiến, 2014. Để cây điều Việt Nam phát triển bền vững. *Tạp chí Cộng sản*, [online]. Địa chỉ: <https://tapchiconsan.org.vn/nong-nghiep-nong-dan-nong-thon/-/2018/27500/de-cay-dieu-viet-nam-phat-trien-ben-vung.aspx>. Ngày truy cập 15/10/2022
- Catarino, L., Menezes, Y., & Sardinha, R., 2015. Cashew cultivation in Guinea-Bissau - risks and challenges of

- the success of a cash crop. *Scientia Agricola*, 72: 459-467.
- D'Silva, I. & D'Souza, L.**, 1992. *In vitro* proliferation of *Anacardium occidentale* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 29: 1-6.
- Das, S., Jha, T.B. & Jha, S.**, 1996. *In vitro* propagation of cashew nut. *Plant Cell Reports*, 15: 615-619.
- George, E. F.**, 1996. *Plant propagation by tissue culture*. The UK: Exegetics Limited, Edington.
- Jha, T.B.**, 1988. *In vitro* morphogenesis in cashew nut, *Anacardium occidentale* L. *The Journal of Experimental Biology*, 26: 505-507.
- Martins, A. B. G., Silva, A. de C. C. da, & Chiamolera, F. M.**, 2019. Cashew crop propagation. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41: 5-10.
- Mneney, E.E. & Mantell, S.H.**, 2002. Clonal propagation of cashew by tissue culture. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77: 649-657.
- Mridula MK, Gupta PK, Mascarenhas AF.**, 1983. Rapid multiplication of *Sapium sebiferum* Roxb. by tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2: 133-139.
- Murashige, T., and Skoog, F.**, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15: 473- 497.
- Thimmappaiah, Shirly, R.A., and Sadhana, P.H.**, 2002. *In vitro* propagation of cashew from young trees. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 38: 152-156.

Study on *in vitro* shoot proliferation using young branches of cashew

Duong Minh Nga, Le Thi Nhu, Pham Xuan Hoi, Nguyen Thanh Duc, Pham Thi Mai, Nguyen Van Toan, Khong Ngan Giang

Abstract

The objective of this study was to evaluate the formation of buds and multiply shoots *in vitro* conditions using young branches of cashew variety AB0508. The study compared the effects of agar and phytigel combined with the antioxidant Poly Vinyl Pyrrolidone (PVP) and activated carbon to reduce browning caused by phenolic compounds in explants. The results showed that use of MS medium supplemented with 30 g/L sucrose, 2.25 g/L Phytigel, 1 g/L PVP, cultured in 16 h of lighting conditions with light intensity of 45 - 55 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gave the lowest browning rate and the best survival rate (27.12%). The growth regulators of the cytokinin group played an important role in formation of cashew shoots, in which BAP had a higher efficiency than Kinetin and TDZ. Addition of 6-Benzyl amino purine (BAP) 4 mg/L generated the highest bud formation (27.24%), reducing BAP concentration to 2 mg/L accelerated new shoot formation (3.79 shoots/sample).

Keywords: Cashew, *in vitro*, proliferation, shoot

Ngày nhận bài: 25/10/2022

Ngày phản biện: 11/11/2022

Người phản biện: TS. Hà Thị Loan

Ngày duyệt đăng: 28/11/2022

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI VỤ, MẬT ĐỘ TRỒNG VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN BÓN ĐẾN SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT GIỐNG ĐẬU XANH TX05 TẠI THÁI BÌNH

Nguyễn Thanh Tuấn^{1,2*}, Phạm Thị Ngọc¹, Vũ Văn Quang²

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành trong vụ Hè năm 2021 nhằm xác định được thời vụ, mật độ trồng và lượng phân bón phù hợp cho giống đậu xanh TX05 trên đất chuyển đổi trồng lúa kém hiệu quả tại huyện Quỳnh Phụ, tỉnh Thái Bình. Thí nghiệm thời vụ trồng với 4 công thức được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ. Thí nghiệm mật độ và lượng phân bón bố trí theo kiểu split-plot với 4 công thức mật độ và 4 mức phân bón. Các thí nghiệm đều lặp lại 3 lần. Kết quả nghiên cứu đã xác định thời vụ gieo thích hợp từ 10/6 đến 25/6, với mật độ trồng là 25 - 30 cây/m² và lượng phân bón cho 1 ha: 1 tấn phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh + 400 kg vôi bột + 50 kg N : 75 kg P₂O₅ : 55 kg K₂O. Với các biện pháp kỹ thuật nêu trên, giống đậu xanh TX05 cho năng suất cao nhất (đạt 1,75 - 1,81 tấn/ha) trong vụ Hè tại Thái Bình.

Từ khóa: Giống đậu xanh TX05, thời vụ, mật độ trồng, liều lượng phân bón

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đậu xanh có giá trị kinh tế và dinh dưỡng cao (Keatinge *et al.*, 2011). Hạt đậu xanh được khai thác để sử dụng nguyên liệu làm trong sản xuất thực phẩm: bánh kẹo, súp, miến, nước giải khát, đồ hộp và đồ ăn chay... (Trần Văn Lại, 1993). Đặc biệt, đậu xanh còn được sử dụng như một dược liệu truyền thống trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh tiêu hóa, thần kinh, tim mạch và giải độc. Bên cạnh đó, đậu xanh là cây cải tạo đất rất tốt, có khả năng chịu hạn khá, thời gian sinh trưởng ngắn nên dễ dàng bố trí trong các công thức luân canh, xen canh và gối vụ (Nguyễn Thanh Tuấn, 2020). Sự tham gia của cây đậu xanh vào các hệ thống và chế độ canh tác mang lại nhiều ý nghĩa về kinh tế, về cải tạo đất và giữ độ phì nhiêu cho đất (Phạm Văn Thiệu, 2009). Đặc biệt, đậu xanh là đối tượng mang lại hiệu quả cao trong chuyển đổi cơ cấu cây trồng.

Tuy nhiên, hiện nay diện tích trồng còn manh mún, rải rác, năng suất và sản lượng đậu xanh còn thấp. Một trong những nguyên nhân dẫn đến tình trạng này là do thiếu bộ giống đậu xanh có năng suất cao và thích ứng rộng, đậu xanh thu hoạch rải rác do quả chín không tập trung gây khó khăn trong việc thu hái và tổn kém công sức; biện pháp kỹ thuật canh tác còn hạn chế và mang tính truyền thống, cơ học chưa áp dụng cơ giới hóa các khâu từ gieo đến thu hoạch. Do đó, để thúc đẩy mở rộng

diện tích, tăng sản lượng đậu xanh thì việc chọn tạo và đưa vào sản xuất bộ giống tốt có năng suất và chất lượng cao là vấn đề cấp bách hiện nay. Đồng thời, các biện pháp kỹ thuật canh tác cho giống mới cũng cần được đưa ra nghiên cứu một cách tổng thể nhằm hoàn thiện quy trình sản xuất.

Giống đậu xanh TX05 do Học viện Nông nghiệp Việt Nam chọn tạo được cấp bằng bảo hộ và tự công bố lưu hành năm 2021. Giống có thời gian sinh trưởng ngắn, phù hợp với vụ Xuân, Hè và Hè Thu ở các tỉnh phía Bắc. Giống TX05 không nhiễm bệnh phấn trắng, nhiễm nhẹ bệnh đốm nâu, ra hoa, quả chín khá tập trung và có khả năng tái sinh mạnh. Để phát huy tối đa tiềm năng năng suất của giống thì việc nghiên cứu thời vụ, mật độ trồng và lượng phân bón phù hợp là rất cần thiết nhằm hoàn thiện quy trình sản xuất, đặc biệt trong điều kiện vụ Hè trên đất chuyển đổi trồng lúa kém hiệu quả tại Thái Bình, góp phần mang lại hiệu quả cao trong chuyển đổi cơ cấu cây trồng trước bối cảnh biến đổi khí hậu và thực trạng sản xuất lúa chưa đem lại hiệu quả như hiện nay.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống đậu xanh TX05 được lai tạo từ tổ hợp lai ĐX044 × CB6, đã được Bộ Nông nghiệp và PTNT cấp bằng bảo hộ và tự công bố lưu hành năm 2021.

¹ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ, e-mail: thanglongmos@yahoo.com