

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NANO TRONG NUÔI CẤY MÔ CÂY MÍA (*Saccharum officinarum* L.)

Đồng Huy Giới¹, Ngô Thị Ánh²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã xác định được: (i) 150 ppm nano bạc để khử trùng mẫu Roc 22 với tỷ lệ mẫu sống sạch đạt trên 75%; (ii) tỷ lệ lớn các mảnh lá *in vitro* (96,70%) tạo mô sẹo ở môi trường có bổ sung 6 ppm nano bạc và 96,67% mẫu mô sẹo bật chồi trong môi trường bổ sung 4 ppm nano bạc; (iii) Môi trường nhân chồi bổ sung 4 ppm nano bạc cho tỷ lệ tái sinh cũng như chất lượng chồi cấp 1 từ mẫu ngọn mang chồi bên là tốt nhất, 100% mẫu bật chồi; bổ sung 4 ppm nano bạc vào môi trường nhân chồi với hệ số nhân chồi cấp 1 là 15,64 (lần) và 6 ppm vào môi trường nhân chồi từ chồi cấp 2 với hệ số nhân 9,43 (lần); (iv) Môi trường bổ sung 4 ppm nano bạc cho tỷ lệ chồi ra rễ 100%, 14,63 rễ/chồi.

Từ khóa: Giống mía Roc 22, nuôi cấy mô, nano bạc

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mía (*Saccharum officinarum* L.) là nguồn nguyên liệu chính của ngành công nghiệp chế biến đường. Đường mía hiện chiếm trên 60% tổng sản lượng đường thô của toàn thế giới. Ngoài ra, mía còn là nguyên liệu hoặc trực tiếp hoặc gián tiếp của nhiều ngành công nghiệp. Ở Việt Nam, ngành mía đường đã và đang được ưu tiên đầu tư phát triển. Tuy nhiên, một trong những khó khăn cơ bản của ngành mía đường nước ta là các giống mía trồng hiện đang bị suy thoái, giảm năng suất và tăng chi phí thuốc phòng trừ sâu bệnh. Nuôi cấy mô là biện pháp an toàn nhất trong cung cấp giống sạch bệnh, làm phục tráng, trẻ hóa, sạch bệnh, tăng năng suất mía một cách đáng kể so với trồng bằng ngọn (Hoàng Thị Kim Hoa, 2004). Giống mía ROC22 có cây khỏe, cho năng suất cao, có khả năng thích nghi rộng với nhiều loại đất từ đất bãi ven sông đến đất pherarit ở vùng đồi thấp cho đến đất phù sa trong đê. Vì vậy, nó góp phần khai thác tốt hơn tiềm năng đất đai ở nhiều địa phương nhất (Phan Thị Thu Hiền và *ctv.*, 2009).

Tuy nhiên, nhân giống *in vitro* nói chung vẫn gặp phải thách thức là sự nhiễm nấm và vi khuẩn gây ảnh hưởng lớn tới hiệu suất và chất lượng cây. Hiện nay, người ta thường sử dụng một số chất khử trùng như HgCl₂, CaClO₂, gây độc hại cho người và các sinh vật khác. Ngoài ra, các hóa chất trên có hiệu quả chưa cao mà còn làm giảm hệ số nhân chồi và mô cấy chậm phát triển (Kharrazi *et al.*, 2011). Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng vật liệu nano mà đặc biệt là nano bạc có khả năng diệt khuẩn một cách hiệu quả, ngoài ra nano bạc còn có tác động tích cực đến quá trình phát sinh hình thái của cây *in vitro* (Rostami A and Shamsavar A, 2012). Vì vậy, trong báo cáo này, nano

bạc đã được nghiên cứu sử dụng để nâng cao hiệu quả nhân giống mía ROC22.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống mía ROC22 (*Saccharum officinarum* L.) do Trung tâm khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng và phân bón Quốc gia nhập nội và sản xuất thử từ năm 2004.

- Chế phẩm nano bạc kích thước 15 - 20 nm, được điều chế tại Bộ môn Sinh học, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 7 năm 2016 đến tháng 5 năm 2017.

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng Công nghệ sinh học - Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng và Phát triển Công nghệ sinh học Thanh Hóa.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Khử trùng mẫu tạo vật liệu khởi đầu:

- Khử trùng cơ bản: Ngọn mía được cắt bỏ phần lá, phần bẹ, lá già, lau sạch bằng cồn etanol 70°. Sau đó đưa ngọn vào box vô trùng, tách lấy phần ngọn với lá non.

- Khử trùng mẫu bằng chế phẩm nano: Sử dụng nano bạc với các nồng độ 50; 100; 150; 200 ppm lắc mẫu trong 60 phút. Lô đối chứng là các mẫu được lắc trong dung dịch nước cất vô trùng. Mẫu được nuôi cấy trong môi trường MS* là MS cơ bản (Murashige, T. and Skoog, F., 1962) có thiamin 1 mg/l và 150 ml/l nước dừa và ở thời điểm sau 9 ngày nuôi cấy xác định tỷ lệ mẫu sạch sống, tỷ lệ mẫu sống.

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng và Phát triển Công nghệ sinh học Thanh Hóa

2.3.2. Phương pháp bổ sung dung dịch nano bạc (NS) vào môi trường nuôi cấy mô

- Tạo mô sẹo và tái sinh mô sẹo: Lá non *in vitro* được cắt thành miếng (1 cm²) và cấy vào môi trường MS* có 2,4D và bổ sung NS 0; 2; 4; 6; 8 hoặc 10 ppm. Sau 4 tuần xác định tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo, đường kính (cm) và đặc điểm mô sẹo.

- Mô sẹo hình thành được cấy vào môi trường MS* có bổ sung BAP và NS với nồng độ 0; 2; 4; 6; 8 hoặc 10 ppm để nghiên cứu ảnh hưởng của NS đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo. Mẫu được đánh giá sau 4 tuần trên môi trường nuôi cấy với các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu bật chồi (%), số chồi/mẫu và đặc điểm chồi.

- Nhân nhanh *in vitro*: Các chồi bên, hay chồi cấp 1, 2 được nuôi cấy trên MS* có một số chất kích thích sinh trưởng (tùy thí nghiệm) và NS 0; 2; 4; 6; 8 hoặc 10 ppm. Sau 3 tuần xác định tỷ lệ mẫu bật chồi, chiều cao chồi và đặc điểm chồi.

- Tạo rễ cho chồi *in vitro*: Tiến hành tách chồi, cắt bớt lá ngọn và bỏ lá già, cấy vào môi trường nền MS*+1 mg/l NAA và bổ sung NS với các nồng độ 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm. Sau 3 tuần xác định các chỉ tiêu như tỷ lệ chồi ra rễ, chiều cao trung bình của rễ (cm), số rễ/ chồi.

2.3.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm và phân tích số liệu

- Điều kiện thí nghiệm: Các môi trường nuôi cấy MS* là môi trường MS có bổ sung 6,3 g/l agar, 30 g/l

sucrose (thí nghiệm ra rễ bổ sung 60 g/l), 150 ml/l nước dừa, 1 mg/l thiamin, pH 5,7 - 5,8; khử trùng ở 121°C, 1,1 atm, 20 phút. Các mẫu nuôi cấy *in vitro* trong phòng được duy trì ở điều kiện: 25 ± 2°C, ánh sáng 2500 lux, 14 - 16 giờ/ngày (trừ thí nghiệm tạo mô sẹo, điều kiện tối hoàn toàn). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 3 lần nhắc lại, mỗi lần 30 mẫu/công thức.

- Phân tích số liệu: Các số liệu được xử lý theo chương trình IRRISTAT 5.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hỗn hợp nano bạc (NS) đến hiệu quả khử trùng mẫu

Mẫu sau khi được xử lý trong dung dịch NS 60 phút được cấy trong MS*. Sau 9 ngày, kết quả thu được thể hiện ở bảng 1. Ở CT0 tỷ lệ mẫu sạch thấp (25,00% ở chồi bên và 58,30% ở lá non). Khi sử dụng NS để khử trùng thì tỷ lệ mẫu sạch tăng dần theo nồng độ của NS. CT3 (NS 150 ppm) được cho là tốt nhất, vì tỷ lệ mẫu sạch cao và cho tỷ lệ mẫu sống sạch cũng cao nhất. Khi tăng nồng độ NS lên thì tỷ lệ nhiễm giảm hẳn, tuy nhiên một số mẫu có hiện tượng đen và chết. Kết quả này gần giống với công bố của Shokri *et al.* (2014) sử dụng NS ở 200 ppm để xử lý cho chồi mang mắt ngủ *Rosa hybrida* L., cho tỷ lệ mẫu sống sạch là 80%. Nasser *et al.* (2013) cũng đã nghiên cứu cho thấy hiệu quả của NS trong khử trùng hạt *Arabidopsis* và lá cà chua, khoai ở nồng độ thấp (100 ppm).

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng của nano bạc (NS) đến mẫu mía

Công thức	Nano bạc (ppm)	Chồi bên		Lá non	
		Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sống sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sống sạch (%)
CT0	0	25,0 ± 0,43 ^c	23,3 ± 0,43 ^d	58,3 ± 0,49 ^c	58,3 ± 0,49 ^c
CT1	50	46,7 ± 0,50 ^d	43,3 ± 0,50 ^c	68,3 ± 0,48 ^d	68,3 ± 0,48 ^d
CT2	100	48,3 ± 0,50 ^c	46,7 ± 0,50 ^b	73,3 ± 0,45 ^c	73,3 ± 0,45 ^{bc}
CT3	150	76,7 ± 0,42 ^b	76,7 ± 0,42 ^a	75,0 ± 0,44 ^b	75,0 ± 0,44 ^a
CT4	200	80,0 ± 0,40 ^a	76,7 ± 0,42 ^a	78,3 ± 0,42 ^a	73,3 ± 0,42 ^c
LSD _{0,05}		6,9	9,7	4,9	11,9
CV(%)		3,30	4,90	1,80	4,50

Ghi chú: Bảng 1, 2, 3, 4, 5, 6: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa 95%.

3.2. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến sự tạo mô sẹo và tái sinh chồi từ mô sẹo

Thí nghiệm khảo sát đã xác định 2,5 mg/l 2,4-D kích thích tạo mô sẹo từ mẫu cây lá non nghiên cứu, tuy nhiên hiệu quả không cao (khoảng 82%). Mặc dù công bố của Behera K. K. và S. Sahoo (2009) với

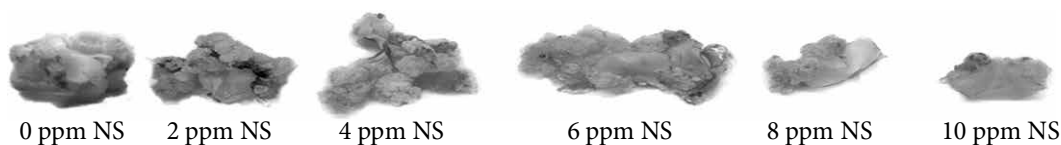
mía *S. officinarum* L. cv - *Nayana* cho rằng, với 2,5 mg/l 2,4-D cho tỷ lệ mô sẹo 100%, chất lượng mô sẹo tốt. Kết quả sau 4 tuần nuôi thể hiện (bảng 2) cho thấy: 2,4-D kết hợp với nano bạc ảnh hưởng đáng kể đến sự phát sinh mô sẹo của lá *in vitro*. Khi tăng NS mô sẹo bị ức chế (ở 10 ppm NS). Sau 4 tuần theo

đôi, mẫu ở môi trường có 6 ppm NS thì 96,70% mẫu tạo mô sẹo và kích thước mô sẹo lớn nhất (3,80 cm). Ewais *et al.* (2015) đã chỉ ra ảnh hưởng của các hạt NS đến mô sẹo của *Solanum nigrum*. Khi chưa tiếp xúc với NS thì mô sẹo nhỏ, màu trắng và màu xanh lá cây, làm tăng kích thước và thay đổi hình thái mô sẹo. Đặc biệt, khi bổ sung 8 ppm NS là tốt nhất, tỷ lệ mô sẹo cao (89%), chất lượng mô sẹo tốt, thời gian xuất hiện mô sẹo sớm (10 ngày sau khi nuôi cấy).

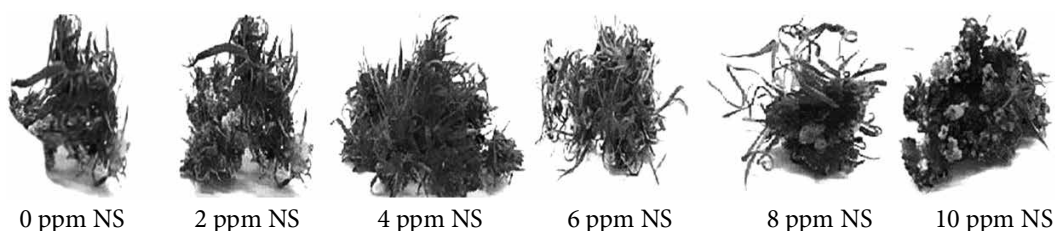
Bảng 2. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng hình thành mô sẹo từ lá non

Công thức	NS (ppm)	Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Đường kính mô sẹo (cm)	Đặc điểm mô sẹo
CT0	0	83,30±0,38 ^e	3,13±0,28 ^d	Trắng, chắc
CT1	2	83,30±0,38 ^e	3,13±0,27 ^{cd}	Trắng, chắc
CT2	4	88,30±0,32 ^e	3,30±0,22 ^b	Trắng, chắc
CT3	6	96,70±0,18 ^a	3,80±0,16 ^a	Trắng, xốp
CT4	8	91,70±0,28 ^b	2,23±0,15 ^e	Trắng, xốp, 1 số nâu hóa
CT5	10	83,30±0,38 ^{de}	1,53±0,14 ^f	Trắng, xốp, 1 số nâu hóa
LSD _{0,05}		12,0	0,24	
CV(%)		3,50	4,7	

Ghi chú: Môi trường nền MS* + 2,5 mg/l 2,4-D.



Hình 1. Mô sẹo hình thành từ lá non ở môi trường có lượng nano bạc khác nhau



Hình 2. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo

3.3. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng tái sinh chồi *in vitro*

Thí nghiệm khảo sát cho thấy, ở MS* + 0,5 mg/l BA cho tỷ lệ bật chồi khá cao, tuy nhiên chồi không mập. Thân Thị Thu Hạnh và Lưu Thị Duyên (2003) nghiên cứu trên mía VN84-422 và VN85-1427 cũng cho rằng, tỷ lệ mẫu bật chồi cao nhất là 48,33% ở MS + 0,5 mg/l BA. Sau 3 tuần nuôi cấy, ở môi trường có NS (bảng 4), tỷ lệ mẫu bật chồi cũng như chất

Các mô sẹo được nghiên cứu tái sinh chồi trên môi trường bổ sung 0,2 mg/l kinetine và BA ở nồng độ 1,5 mg/l (Hà Thị Thúy và *ctv.*, 2013) và bổ sung NS nồng độ khác nhau. Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả (bảng 3) cho thấy, ở môi trường có NS, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, số chồi/mẫu, chất lượng chồi tốt hơn nhiều. Ở nồng độ NS 4 ppm cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ mẫu bật chồi 96,67%, số chồi/ mẫu 161,33, chồi cao và mập. Song, ở NS trên 8 ppm, sự tạo chồi có hiện tượng giảm dần và bị ức chế.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo

Công thức	Nano bạc (ppm)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)	Chồi/mẫu (chồi)	Đặc điểm chồi
CT0	0	93,31±0,25 ^{bc}	134,65±2,76 ^b	Cao, mập
CT1	2	93,33±0,50 ^c	80,00±5,40 ^{de}	Cao, mập
CT2	4	96,67±0,18 ^a	161,33±4,34 ^a	Cao, mập
CT3	6	91,67±0,28 ^d	117,67±1,56 ^c	Cao, mập
CT4	8	86,67±0,34 ^e	78,67±1,82 ^e	Cao, nhỏ
CT5	10	81,67±0,39 ^f	65,33±3,63 ^f	Cao, nhỏ
LSD _{0,05}		9,2	4,49	
CV(%)		2,8	2,3	

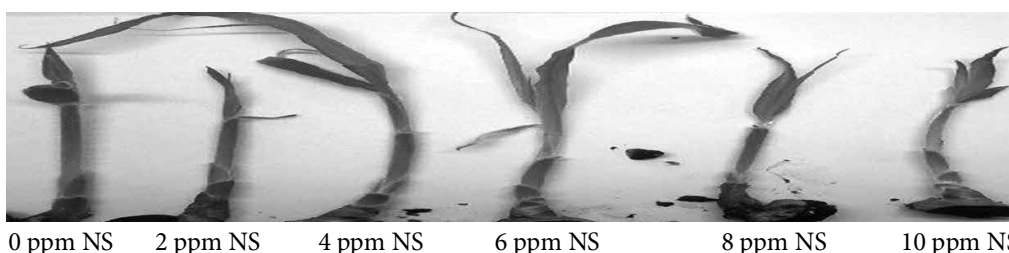
Ghi chú: Môi trường nền: MS* + 1,5 mg/l BA + 0,2 mg/l kinetine.

lượng chồi cao tỷ lệ mẫu bật chồi 100%, chồi cao 10,3 cm, mập. Hediati M và H. Salama (2012) cũng sử dụng NS cho thấy, từ NS 2 - 6 ppm làm tăng chiều dài chồi, diện tích bề mặt lá, hàm lượng protein và cacborhydrat, nhưng ở NS 4 - 6 ppm làm tăng tuổi thọ của cành và gốc lạc và ngô nuôi cấy mô. Tuy nhiên, NS cao (ở 8 - 10 ppm) đã ức chế khả năng tái sinh chồi.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến sự tạo chồi *in vitro* từ chồi bên

Công thức	NS (ppm)	Tỷ lệ mẫu bột chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT0	0	90,00±0,30 ^{bc}	8,17±0,20 ^{bc}	Nhỏ
CT1	2	100,00±0,00 ^a	8,17±0,29 ^c	Mập
CT2	4	100,00±0,00 ^a	10,03±0,43 ^a	Mập
CT3	6	100,00±0,00 ^a	7,20 ±0,33 ^d	Mập
CT4	8	90,00±0,30 ^c	6,13±0,38 ^e	Mập
CT5	10	86,67±0,34 ^d	3,20± 0,32 ^f	Mập
LSD _{0,05}		14,7	0,47	
CV(%)		4,3	3,6	

Ghi chú: Môi trường nền MS* + 0,5 mg/l BA

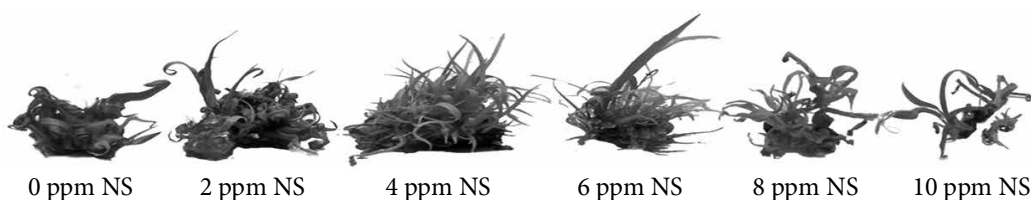


Hình 4. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng tái sinh chồi

Bảng 5. Ảnh hưởng của với nano bạc (NS) đến khả năng nhân chồi *in vitro*

Công thức	NS (ppm)	Nhân chồi từ chồi cấp 1		Nhân chồi từ chồi cấp 2		
		Tỷ lệ mẫu bột chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi
CT0	0	98,30±0,23 ^{bc}	5,79± 0,96 ^e	8,39±1,04 ^{cd}	11,70 ±1,20 ^e	Mập, mềm
CT1	2	98,33±0,13 ^c	8,76±1,06 ^d	8,40± 0,89 ^{cd}	11,63±1,13 ^e	Mập, mềm
CT2	4	100,00± 0,00 ^a	15,64±1,31 ^a	8,53±0,79 ^{bc}	12,40± 1,04 ^d	Mập, mềm
CT3	6	100,00±0,00 ^a	9,58±1,01 ^{cd}	9,43±0,98 ^a	13,07±0,88 ^c	Mập, cứng
CT4	8	91,67±0,28 ^d	9,61±1,00 ^{bcd}	5,80±0,89 ^e	14,10±0,99 ^a	Nhỏ, cứng
CT5	10	86,67±0,13 ^e	5,42±1,03 ^e	5,77±0,96 ^f	13,43±0,98 ^{bc}	Nhỏ, cứng
LSD _{0,05}		9,4	1,49	0,23	0,52	
CV(%)		2,7	1,5	2,0	2,3	

Ghi chú: Môi trường nền MS* +1,5 mg/l BA+ 0,2 mg/l kinetine.

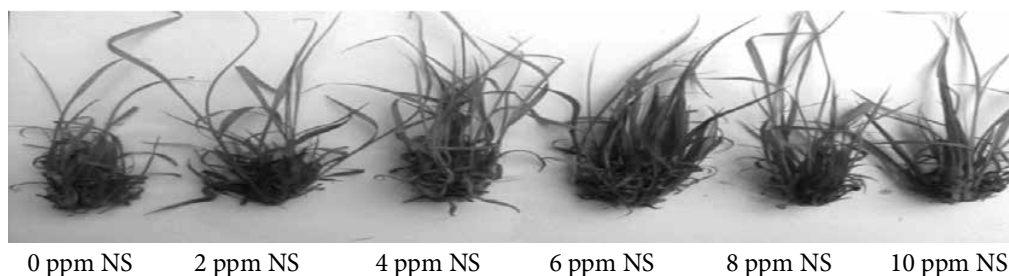


Hình 5. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng nhân chồi từ chồi cấp 1

Môi trường MS* + 1,5 mg/l BA + 0,2 mg/l Ki cũng là kết quả nhân chồi tốt nhất của thí nghiệm khảo sát cho nuôi cấy các chồi *in vitro* cấp 2. Hệ số

Các chồi *in vitro* trên được cấy trong MS* +1,5 mg/l BA +0,2 mg/l kinetine (kết quả thí nghiệm khảo sát) có bổ sung NS. Kết quả (bảng 5) sau 3 tuần cho thấy, đối với chồi cấp 1, CT2 (4 ppm) 100% mẫu bột chồi, hệ số nhân lớn nhất (15,64 lần), chất lượng chồi tốt, cao và mập. Tuy nhiên khi nồng độ NS từ 6 ppm thì khả năng nhân chồi giảm, và bị giảm mạnh ở 10 ppm. Điều này gần giống với công bố của A. Rostami and A. Shahsavvar (2009); Nabeel K. Al-Ani (2011) nuôi cấy đoạn cành ô liu và cây lá máu ở MS có 4 ppm NS thì có hệ số nhân cao nhất.

nhân chồi cấp 2 đạt tốt nhất ở công thức bổ sung 6ppm NS (9,43 lần), cao hơn so với đối chứng (8,39 lần).



Hình 6. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh chồi từ chồi cấp 2

3.4. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng ra rễ của chồi

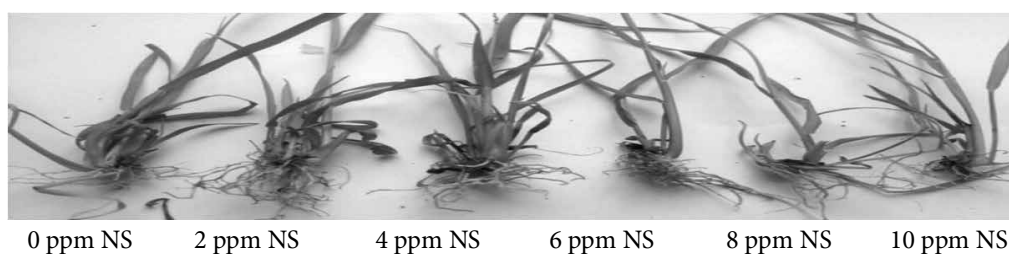
Mặc dù Hà Thị Thúy và cs., (2013) cho rằng, nồng độ NAA thích hợp nhất cho quá trình hình thành rễ là 0,5 mg/l khi đó tỷ lệ mẫu ra rễ là 94,5% ở giống ROC26 và 97,3% ở giống BH1; Behera K. K and S. Sahoo (2009) cho rằng, sử dụng 2,5 mg/l NAA cho khả năng hình thành rễ của giống mía *Saccharum officinarum* L. cv-Nayana là tốt nhất với tỷ lệ mẫu ra rễ 85%, số rễ/chồi 11,2 (rễ), chiều dài rễ (4,0 cm); theo kết quả khảo sát, môi trường bổ sung 1mg/l NAA cho khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh từ chồi cấp 2 là thích hợp nhất. Hơn nữa, nhằm xác định được độ NAA kết hợp NS thích hợp nhất đến khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh từ chồi cấp 2. Các chồi cấp 2 được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 1 mg/l NAA kết hợp với NS, theo dõi sau 3 tuần thu

được kết quả thể hiện ở bảng 6. Kết quả cho thấy: Sau 8 ngày rễ mới bắt đầu xuất hiện ở CT0 khi chưa bổ sung nano bạc (đối chứng), còn sau 5 ngày tất cả các thí nghiệm NAA kết hợp với nano đều xuất hiện rễ, điều này chứng tỏ rằng NS có khả năng kích thích sự hình thành rễ sớm. Sau 3 tuần, khả năng ra rễ của chồi đã khác nhau rõ rệt ở các công thức.. CT2 cho kết quả tốt nhất, với tỷ lệ chồi ra rễ 100%, rễ nhiều và dài, mập và cứng hơn so với các nồng độ nano bổ sung khác và so với đối chứng (tỷ lệ chồi ra rễ 98,31%), số rễ ít và chiều dài ngắn hơn. Theo công bố của Rostami A. and A. Shabsavar (2009) đối với chồi ô liu, hệ số rễ được cải thiện khi nồng độ NS tăng, hệ số cao nhất là 0,97 (lần) khi nuôi cấy trong môi trường bổ sung 8 ppm NS. Như vậy, mỗi loài khác nhau thì sự ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh là khác nhau.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nano bạc (NS) đến khả năng ra rễ của chồi cấp 2

Công thức	Nano bạc (ppm)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/ chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
CT0	0	98,31±0,13 ^b	12,35±0,86 ^d	3,68±0,68 ^{cd}	Mập, khỏe
CT1	2	95,00±0,22 ^c	15,20±1,32 ^a	4,10±0,60 ^b	Mập, cứng, khỏe
CT2	4	100,00±0,00 ^a	14,63±0,80 ^b	4,23±1,06 ^a	Mập, cứng, khỏe
CT3	6	90,00±0,30 ^c	13,20±1,03 ^c	3,47±1,02 ^{de}	Nhỏ, cứng, khỏe
CT4	8	90,00±0,30 ^c	10,53±1,74 ^c	3,27±0,64 ^c	Nhỏ, cứng, khỏe
CT5	10	78,33±0,42 ^f	8,27±0,90 ^f	2,83±0,71 ^f	Nhỏ, mềm, yếu,
LSD _{0,05}		2,6	0,31	1,47	
CV(%)		3,9	1,4	4,4	

Ghi chú: Môi trường nền MS* + 1 mg/l NAA.



Hình 7. Ảnh hưởng nano bạc (NS) đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro*

IV. KẾT LUẬN

- Nồng độ nano bạc thích hợp nhất cho khử trùng mẫu mía là 150 ppm tỷ lệ mẫu sống sạch ở chồi bên là 76,70% và ở lá non là 75%.

- Bổ sung 6 ppm NS vào môi trường nuôi cấy đã kích thích quá trình tạo mô sẹo cũng như chất lượng mô sẹo tốt nhất. Môi trường bổ sung 4 ppm nano bạc cho tỷ lệ mẫu bật chồi từ mô sẹo cao (96,67%), chồi, mập, khỏe.

- Môi trường bổ sung 4 ppm nano bạc là thích hợp nhất cho việc tái sinh chồi từ chồi cấp 1, với tỷ lệ mẫu bật chồi 100,00%; hệ số nhân 15,64 lần và chất lượng chồi tốt. Môi trường bổ sung 6 ppm nano bạc là tốt nhất cho sự nhân chồi từ chồi cấp 2 với hệ số nhân 9,43 lần, chồi mập, cứng khỏe.

- Môi trường bổ sung 4 ppm nano bạc thích hợp nhất đến khả năng ra rễ của chồi cấp 2 (cho tỷ lệ chồi ra rễ 100%), số rễ/chồi là 14,63 (rễ), đồng thời rễ mập, khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Thân Thị Thu Hạnh, Lưu Thị Hồng Duyên, 2003. Nghiên cứu kỹ thuật nhân nhanh giống mía VN84-422, VN85-1427 bằng phương pháp *in vitro*. *Tuyển tập kết quả nghiên cứu khoa học 1997 - 2007*. Viện Nghiên cứu Mía đường, Bến Cát, 1-50.

Phan Thị Thu Hiền, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà, 2009. Quy trình nhân nhanh giống mía ROC22 (*Saccharum officinarum* L.) từ đỉnh sinh trưởng và chồi nách. *Tạp chí Khoa học*, Trường ĐHSP Hà Nội 2, Vol 35: 62-71.

Hoàng Thị Kim Hoa, 2004. Ứng dụng công nghệ sinh học trong vi nhân nhanh giống cây trồng và chế biến bảo quản quả. *Hội nghị tổng kết hoạt động KHCN giai đoạn 1996-2001*, Viện Nghiên cứu ứng dụng công nghệ: 156-176.

Hà Thị Thúy, Trần Thị Hạnh, Vũ Anh Tuấn, Đỗ Năng Vinh, 2013. Nghiên cứu xây dựng và phát triển quy trình sản xuất giống mía sạch bệnh theo quy mô

công nghiệp bằng công nghệ tế bào. Viện KHNN Việt Nam. *Hội thảo Quốc gia về khoa học cây trồng lần thứ nhất*, 839-847.

Behera K. K and S. Sahoo, 2009. Rapid *in vitro* Micro propagation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L. cv-Nayana) Through Callus Culture. *Nature and Science*, Vol. 7, No. 4: 1-10.

Ewais E. A., S. A. Desouky and E. H. Elshazly, 2015. Evaluation of Callus Responses of *Solanum nigrum* L. Exposed to Biologically Synthesized Silver Nanoparticles. *Scientific and academic publishing*, Vol. 5, No. 3: 45-56.

Kharrazi M., Nemati H., Tehranifar A., Bagheri A. and Sharifi A., 2011. In vitro culture of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) Focusing on the Problem of Vitrification. *J. Biol. Environ Sci*, Vol. 13:1-6.

Hediat M. and H. Salama, 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International research journals of Biotechnology*. Vol. 3, No.10: 190-197

Murashige T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Vol 15: 473-497.

Nabeel K.Al-Ani, 2011. Using Silver Nano- Particles to Increase Efficiency Of Sterile Solution for *in vitro* Techniques. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*, Vol. 4, No. 1: 48- 51.

Nasser M., Z. V. Sepideh and K. Sajjad, 2013. Plant In vitro Culture goes Nano: Nanosilver-Mediated Decontamination of Ex vitro Explants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, Vol. 4, No. 2: 1-4.

Rostami A.A. and A. Shahsavar, 2009. Nano-Silver Particles Eliminate the *in vitro* Contaminations of Olive 'Mission' Explants. *Journal of Plant Sciences*, Vol. 8, No. 7: 505-509.

Shokri, A. Babaei, M. Ahmadian, M.M. Arab, S. Hessami, 2015. The effects of different concentrations of nano - silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.) *in vitro* culture. *International Society for Horticultural Science*. Vol. 3, No.1: 50-54.

Research on the use of nanosilver in sugarcane (*Sacchrum officinarum* L.) tissue culture

Dong Huy Gioi, Ngo Thi Anh

Abstract

This study identified: (i) 150 ppm of silver nano solution was the best treatment for sterilization the Sugar cane explants that made more than 75% samples clean and survival; (ii) The formation of callus from the young leaf piece of sugarcane were best in medium 6 ppm nanosilver (96,7% samples forming callus). The shooting medium supplemented with 4 ppm nanosilver was the best medium for the formation of shoots from sugarcane callus; (iii) The concentration of 4 ppm nanosilver was also the best for shoot micropagating from lateral bud in the shooting medium (100% samples appeared shoots). The best concentration of nanosilver for micropagating from *in vitro* primary shoot was 4 ppm added to *in vitro* shooting medium (the coefficient were 15.64 times), and the best concentration of nanosilver for micropagating from *in vitro* secondary shoot was 6 ppm added to the shooting medium (the coefficient were 9.43 times); (iv) The medium supplementation with 4 ppm nanosilver was the best medium for rooting of *in vitro* shoots with 100%.

Key words: Sugar cane variety Roc22, tissue culture, silver nano

Ngày nhận bài: 19/5/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày phản biện: 22/5/2017

Ngày duyệt đăng: 29/5/2017

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG VÀ PHÂN BÓN NPK ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA GỖ ĐỎ (*Azelia xylocarpa* Craib) GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

Nguyễn Văn Việt¹, Hà Thanh Tùng¹

TÓM TẮT

Bài báo trình bày một số kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng và phân bón đến sinh trưởng của cây Gỗ đỏ (*Azelia xylocarpa* Craib) trong giai đoạn vườn ươm. Kết quả cho thấy trong giai đoạn 3 tháng tuổi kể từ khi gieo ươm, che sáng 50% là phù hợp, tỷ lệ sống và khả năng sinh trưởng về chiều cao đạt 96,17%; 44,78 cm. Bón thúc bằng cách tưới phân NPK (5 : 10 : 3) hoà tan trong nước với nồng độ 3% cho tỷ lệ sống, khả năng sinh trưởng về đường kính gốc và chiều cao của cây con Gỗ đỏ đạt được lần lượt là 94,33%; 1,07 cm và 45,31 cm. Đánh giá sinh trưởng cây Gỗ đỏ giai đoạn vườn ươm nhằm cung cấp cơ sở khoa học để phục vụ sản xuất cây giống trong bảo tồn và phát triển nguồn gen quý.

Từ khóa: *Azelia xylocarpa* Craib, Gỗ đỏ, che sáng, sinh trưởng, D_{oo} , H_{vn}

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gỗ đỏ (Cà te, Gỗ cà te) có tên khoa học là *Azelia xylocarpa* Craib thuộc họ Đậu (*Fabaceae*), họ phụ Vang (*Caesalpinoideae*) (Nguyễn Hoàng Nghĩa và cộng sự, 2007), là loài cây gỗ lớn, cao tới 30 m và đường kính đạt tới 80 - 100 cm. Cây sống trong rừng nhiệt đới thường xanh hay nửa rụng lá, có phân bố ở Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Khánh Hoà và các tỉnh vùng Đông Nam bộ. Phân bố không tập trung mà gặp như các cây cá thể rải rác cùng các loài cây khác trong rừng (Nguyễn Hoàng Nghĩa, 1999). Cây sống trong rừng kín lá rộng thường xanh hay nửa rụng lá mưa ẩm hoặc hơi khô nhiệt đới núi thấp, phân bố ở Việt Nam (Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Khánh Hoà và các tỉnh vùng Đông Nam bộ), Lào (Bolykhamxay, Thủ đô Viên Chăn), Thái Lan và Myanmar (Nguyen Duc Thanh *et al.*, 2012; Nguyễn Đức Thành, 2016).

Theo sách Đỏ Việt Nam (2007), Gỗ đỏ thuộc phân hạng EN A1c,d. Gỗ đỏ rất được ưa chuộng trên thị trường như dựng nhà cửa và các đồ nội thất, đồ thủ công mỹ nghệ chất lượng cao (Nguyễn Đức Thành, 2016). Hiện số lượng cá thể trưởng thành của loài trong tổ thành rừng tự nhiên là rất thấp, đang bị suy giảm nghiêm trọng nguồn gen cây bản địa có giá trị cao.

Hiện nay, những tài liệu nghiên cứu về cây Gỗ đỏ còn hạn chế, chủ yếu mới tập trung mô tả về đặc điểm hình thái và sinh thái của cây, chưa đi sâu nghiên cứu về kỹ thuật nhân giống, ươm trồng. Đối với nhân giống Gỗ đỏ rất cần thiết vì thiếu nguồn giống do cây phân bố rải rác (Sounthone Douangmala và cộng sự, 2016), chu kỳ quả không ổn định nên hạn chế hạt giống. Để nâng cao hiệu quả cho nhân giống cây này, nghiên cứu một số nhân tố ảnh hưởng đến sinh trưởng Gỗ đỏ trong giai đoạn vườn ươm được tiến hành nhằm xây dựng cơ sở khoa học áp dụng

vào thực tiễn phục vụ công tác bảo tồn và phát triển nguồn gen quý.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng túi bầu polyetylen cỡ 10 × 15 cm, hỗn hợp ruột bầu gồm 95% đất tầng B dưới tán rừng tự nhiên kết hợp với 5% phân chuồng hoai và 1% supe lân Lâm Thao. Hạt giống Gỗ đỏ (nguồn từ Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào) đã xử lý nứt nanh, mỗi bầu gieo 1 hạt. Phân chuồng hoai ngâm nước, phân NPK tỷ lệ 5 : 10 : 3. Dung dịch benlat 0,5% để xử lý nấm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu chung

Bố trí thí nghiệm theo phương pháp sinh thái thực nghiệm, lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại có dung lượng mẫu lớn ($n = 36$), số liệu thu thập sau 3 tháng.

Đánh giá chất lượng cây bằng phương pháp cho điểm dựa vào các tiêu chí như: chiều cao, đường kính gốc, số lóng, tái sinh cành, còn hoặc mất ngọn.

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm 1. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến tỷ lệ sống, sinh trưởng

Thí nghiệm được bố trí với 3 công thức che sáng khác nhau là: CS_1 che sáng 25%; CS_2 che sáng 50%; CS_3 che sáng 75% và 1 công thức đối chứng (ĐC) không che sáng. Dàn che ánh sáng bằng phen nửa đan với khoảng cách và kích thước của các nan nửa trên phen được tính toán theo công thức thực nghiệm của Nguyễn Hữu Thước và cộng sự (1966).

- Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của phân bón NPK đến tỷ lệ sống, sinh trưởng

¹ Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp Việt Nam