

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT GIỐNG HOA CÚC TẠI BẮC TRUNG BỘ BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY MÔ

Phạm Văn Chương¹, Hồ Ngọc Giáp¹,
Võ Văn Trung¹, Lê Thị Thu Hương¹, Hồ Thị Trang¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm chọn lọc giống hoa cúc có chất lượng cao và các biện pháp kỹ thuật được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD), nghiên cứu trên 12 giống hoa cúc tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Bắc Trung bộ (Viện KHKTNN Bắc Trung bộ) trong năm 2014. Nhân giống hoa cúc triển vọng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào được tiến hành tại phòng thí nghiệm nuôi cấy của Viện. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 2 giống hoa cúc (Pha lê vàng và Mai vàng) cho năng suất và chất lượng vượt trội, phù hợp vùng sinh thái Bắc Trung bộ. Nồng độ $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 3 phút có tác dụng khử trùng tốt nhất, đảm bảo tỷ lệ sống cao của mẫu nuôi cấy mô của 2 giống Pha lê vàng và Mai vàng. Sử dụng môi trường MS + Kinetine nồng độ 0,1mg/l là môi trường tốt nhất để nhân nhanh chồi giống của Pha lê vàng và Mai vàng, và sử dụng môi trường có bổ sung 0,1-0,2mg α -NAA tăng về khả năng ra rễ và tái sinh cây hoàn chỉnh.

Từ khóa: Nuôi cấy mô, chất điều hòa sinh trưởng, hệ số nhân chồi

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, nhu cầu sản xuất và tiêu dùng hoa cúc ở vùng Bắc Trung bộ là rất lớn, đặc biệt là ở các tỉnh như Nghệ An, Hà Tĩnh và Thừa Thiên Huế. Hoa cúc được sử dụng quanh năm, chủ yếu phục vụ cho lễ, hội, trang trí những nơi công cộng. Tuy nhiên, ở các tỉnh trên thì các hộ trồng hoa chưa tự sản xuất được giống hoa cúc sạch bệnh, nguồn giống hoa cúc sản xuất chủ yếu thường được nhập về từ các nơi như: Hải Phòng, Nam Định, Hà Nội, Đà Lạt... Giống cây con đưa về thường có khả năng thích nghi thấp, sức sống kém và thường không đồng đều do cây mẹ có hệ số di truyền thấp. Vì vậy, việc sản xuất cây mẹ từ các giống hoa cúc triển vọng bằng công nghệ nuôi cấy mô tế bào nhằm khắc phục những tồn tại trên và cung cấp cây giống cho các vùng sản xuất hoa ở vùng Bắc Trung bộ là nhu cầu cấp bách và cần thiết.

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

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Gồm 12 giống hoa cúc: Thọ Đỏ, Chi Đỏ, Tím Lồi, Ánh Bạc, Pha lê vàng, Mai vàng, Phan Tím, Phan Trắng, Phấn Hồng, Chi Trắng, Đỏ Nhung và Chi Xanh.

- Mẫu thí nghiệm: Mẫu nuôi cấy là các đỉnh sinh trưởng, các đoạn thân mang mắt ngủ từ cây hoa cúc khỏe mạnh, không bị nhiễm sâu bệnh.

2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nội dung nghiên cứu

- Tuyển chọn giống hoa cúc chất lượng cao, phù hợp với vùng sinh thái Bắc Trung bộ.

- Nhân giống hoa cúc triển vọng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

a) Tuyển chọn giống hoa cúc chất lượng cao phù hợp với vùng sinh thái Bắc Trung bộ

- Thí nghiệm về các biện pháp kỹ thuật được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD), 3 lần nhắc lại, diện tích mỗi ô thí nghiệm là 20 m². Các nội dung nghiên cứu được triển khai tại Viện KHKTNN Bắc Trung bộ, năm 2014.

b) Nhân giống hoa cúc triển vọng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào tại Viện KHKTNN Bắc Trung bộ

- Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng hóa chất $HgCl_2$ 0,1% đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy trong phòng thí nghiệm

Thí nghiệm gồm 5 công thức (CT1: Thời gian khử trùng 1 phút, CT2: Thời gian khử trùng 3 phút, CT3: Thời gian khử trùng 5 phút, CT4: Thời gian khử trùng 7 phút và CT5: Thời gian khử trùng 10 phút), mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại theo dõi 5 lọ, mỗi lọ cây 1 mẫu, mỗi giống đưa vào 20 mẫu.

Tỷ lệ mẫu sạch bệnh sống sau 3 tuần (%) = (Tổng số mẫu sống/Tổng số mẫu nuôi cấy) x 100.

- Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng Kinetine đến khả năng sinh trưởng và hệ số nhân chồi của hoa cúc

Thí nghiệm gồm 6 công thức (CT1: Nền + 0 mg/l Kinetine, CT2: Nền + 0,1mg/l Kinetine, CT3: Nền + 0,2 mg/l Kinetine, CT4: Nền + 0,3 mg/l Kinetine, CT5: Nền + 0,4 mg/l Kinetine, CT6: Nền + 0,5 mg/l Kinetine), môi trường nền là: MS (*Murashige-Skoog*,

¹ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Bắc Trung bộ

1962) + Sucrose 5% + Agar 0,7%; pH 5,8 và GA3. Mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại theo dõi 5 lọ, mỗi lọ cấy 1 mẫu. Mẫu cấy là các chồi bình thường, có đủ thân và lá, không bị dị dạng. Hệ số nhân chồi (lần) = Số chồi tạo thành/Số chồi ban đầu.

- Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng α - NAA (α -aphthaleneacetic) đến khả năng ra rễ của cây hoa cúc trong môi trường nuôi cấy mô

Thí nghiệm gồm 4 công thức (CT1: Nền + 0,1 mg/l α - NAA, CT2: Nền + 0,2mg/l α - NAA, CT3: Nền + 0,3 mg/l α - NAA, CT4: Nền + 0,4mg/l α - NAA), mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại theo dõi 5 bình, mỗi bình 3 mẫu cấy. Để tạo cây hoàn chỉnh, cần cấy chuyển các chồi cúc đơn lẻ hoặc các đoạn cắt (mang mắt ngủ) sang môi trường ra rễ. Môi trường MS và bổ sung α - NAA ở nồng độ 0,1-0,4 mg/l là các tác nhân kích thích sự hình thành các rễ bất định của chồi cúc cấy mô.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp

thống kê sinh học áp dụng chương trình IRRISTAT 5.0 trên phần mềm máy tính.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm sinh trưởng của các giống

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, giống Mai vàng và Pha lê vàng có chiều cao cây, số lá, đường kính thân và đường kính hoa cao hơn các giống còn lại và đặc biệt cao hơn hẳn so với giống đối chứng. Cụ thể, chiều cao cây cao hơn so với các giống khác từ 5,3 - 14,1 cm, 2 giống này cũng có số lá cao hơn các giống còn lại từ 3,5 - 9,8 lá. Pha lê vàng và Mai vàng có đường kính thân và đường kính hoa cao hơn so với các giống khác, tương ứng lần lượt là 0,58 cm (đường kính thân); 4,71 cm (đường kính hoa) và 0,53 cm (đường kính thân), 4,05 cm (đường kính hoa).

Qua khảo sát và so sánh từ tập đoàn gồm 12 giống cúc, đã xác định được 2 giống (Pha lê vàng và Mai vàng) có khả năng thích ứng với điều kiện sinh thái của vùng, và 2 giống này có chất lượng nổi trội hơn cả, do đó 2 giống này được lấy làm vật liệu nghiên cứu ở giai đoạn tiếp theo trong phòng thí nghiệm.

Bảng 1. Đặc điểm sinh trưởng của các giống trong thí nghiệm

TT	Tên giống	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Số nụ	Đường kính thân (cm)	Đường kính hoa (cm)	Độ bền hoa tự nhiên (ngày)
1	Chi Trắng	48,20	29,70	18	0,37	2,33	37
2	Phan Tím	39,80	32,60	19	0,40	3,06	37
3	Ánh Bạc	47,80	43,50	21	0,46	3,05	35
4	Thọ Đỏ	36,80	35,00	20	0,44	2,60	36
5	Đỏ nhung	45,40	37,00	25	0,43	3,73	40
6	Phan Trắng	39,80	32,60	19	0,40	3,06	37
7	Pha Lê Vàng	53,50	47,00	24	0,58	4,71	44
8	Chi Đỏ	48,00	33,70	16	0,39	3,00	38
9	Chi Xanh	42,60	30,80	13	0,38	2,79	38
10	Tím Lồi	46,70	41,50	26	0,46	3,20	41
11	Mai Vàng	52,10	45,70	26	0,53	4,05	46
12	Phấn Hồng (đ/c)	39,40	37,20	18	0,42	2,83	32

3.2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng hóa chất (HgCl₂) đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy trong phòng thí nghiệm

Đối với cúc Pha lê vàng và Mai vàng có tỷ lệ mẫu

sống cao nhất, tương ứng là 17,7 và 16,7 mẫu, tương đương 88,5% và 83,5% ở nồng độ khử trùng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 3 phút. Sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến tỷ lệ mẫu sống

Giống	CT	Thời gian khử trùng (phút)	Số mẫu đưa vào	Số mẫu sống sau 3 tuần	
Pha lê vàng	1	1	20	10,30	
	2	3	20	17,70	
	3	5	20	15,70	
	4	7	20	13,70	
	5	10	20	12,30	
	CV%			2,2	
	LSD _{.05}			2,83	
Mai vàng	1	1	20	13,70	
	2	3	20	16,70	
	3	5	20	15,70	
	4	7	20	15,30	
	5	10	20	12,30	
	CV%			3,2	
	LSD _{.05}			1,92	

3.3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng Kinetine đến hệ số nhân chồi của hoa cúc

Kết quả bảng 3 cho thấy: Nồng độ Kinetine có ảnh hưởng rất rõ đến khả năng sinh trưởng và hệ số

nhân chồi của hoa cúc. Nồng độ Kinetine thích hợp để đạt hệ số tái sinh chồi cao nhất là 0,1 mg/l và đạt tới hệ số nhân chồi là 4,56 và 5,17, tương ứng với giống Pha lê vàng và Mai vàng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Kinetine bổ sung tới tái sinh chồi

Giống	Kinetin (mg/l)	Số mẫu ban đầu	Số mẫu tạo thành	Hệ số nhân
Pha lê vàng	0,0 (đc)	30	117,70	3,92
	0,1	30	136,70	4,56
	0,2	30	128,00	4,27
	0,3	30	125,70	4,19
	0,4	30	122,70	4,09
	0,5	30	118,70	3,96
	CV%			3,7
LSD _{.05}			0,28	
Mai vàng	0,0 (đc)	30	120,00	4,00
	0,1	30	155,00	5,17
	0,2	30	138,30	4,61
	0,3	30	136,70	4,56
	0,4	30	140,30	4,68
	0,5	30	133,70	4,46
	CV%			4,0
LSD _{.05}			9,1	

3.4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng α -NAA (α -phthaleneacetic) đến khả năng ra rễ của cây hoa cúc trong nuôi cấy mô

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ NAA tới tỷ lệ mẫu ra rễ trong ống nghiệm

Giống	Môi trường (NAA mg/l)	Số mẫu cấy (cây)	Số cây ra rễ sau 1 tuần	Tỷ lệ (%)	Số cây ra rễ sau 2 tuần	Tỷ lệ (%)	Số cây ra rễ sau 3 tuần	Số rễ cây	Chiều dài rễ (cm)	
Pha lê vàng	0,1	120	50,30	41,91	76,70	63,89	120,00	5,30	1,3	
	0,2	120	54,70	45,56	79,70	66,39	120,00	6,00	1,5	
	0,3	120	46,00	38,33	70,30	58,61	114,30	5,00	1,2	
	0,4	120	47,70	39,72	68,70	57,22	106,30	5,30	1,0	
	CV%							3,1		2,4
	LSD _{.05}							7,30		0,57
Mai vàng	0,1	120	55,70	46,39	80,30	66,94	118,70	6,30	1,4	
	0,2	120	59,30	49,44	85,30	71,11	120,00	7,00	1,5	
	0,3	120	53,70	44,72	77,70	64,72	116,70	5,00	1,3	
	0,4	120	55,00	45,83	75,70	63,06	110,70	5,30	1,1	
	CV%							3,5		2,2
	LSD _{.05}							8,01		54

Qua bảng 4 cho thấy: Đối với giống Pha lê vàng thì nên bổ sung vào môi trường MS nồng độ α -NAA từ 0,1 - 0,2mg/l. Còn đối với giống Mai vàng thì nên bổ sung vào môi trường MS nồng độ α -NAA là 0,2 mg/l.

3.5. Xác định giá thể thích hợp trong quá trình ra ngôi cây con

Số liệu thu được ở bảng 5 cho thấy: Giá thể bằng cát sạch là sự lựa chọn phù hợp nhất khi ra ngôi cây con từ ống nghiệm. Trên môi trường này thì các chỉ tiêu sinh trưởng như tỷ lệ cây sống sau 3 tuần ra ngôi, tăng trưởng về chiều cao cây và ra lá mới đối với giống Pha lê vàng và Mai vàng tương ứng là 96,7%; 1,2 cm; 1,2 lá và 98%; 1,1 cm; 1,0 lá.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các loại giá thể trong quá trình ra ngôi cây con

Giống	Loại Giá Thể	Số cây trồng	Số cây sống sau 1 tuần	Tỷ lệ %	Số cây sống sau 2 tuần	Tỷ lệ %	Số cây sống sau 3 tuần	Tỷ lệ %	Tăng trưởng chiều cao cây(cm)	Số lá mới	
Pha lê vàng	Cát sạch	150	147	98	145	96,70	145	96,70	1,20	1,20	
	Đất	150	140	93	137	91,10	135	90,20	0,90	0,80	
	Trấu hun	150	140	93	134	89,30	132	88,20	1,00	0,90	
	CV%									3,6	3,4
	LSD _{.05}									0,85	0,75
Mai vàng	Cát sạch	150	149	99,30	147	98,20	147	98,20	1,10	1,00	
	Đất	150	140	93,30	138	91,80	135	90,20	0,90	0,80	
	Trấu hun	150	143	95,10	140	93,30	140	93,30	0,80	0,80	
	CV%									0,9	3,1
	LSD _{.05}									0,16	0,54

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết Luận

- Pha lê vàng và Mai vàng là 2 giống hoa cúc có triển vọng, có năng suất và chất lượng cao, phù hợp với vùng sinh thái Bắc Trung bộ. Số nụ/cây, đường kính thân, đường kính hoa và độ bền hoa của Pha lê vàng và Mai vàng tương ứng đạt 24 nụ; 0,58cm; 4,71cm; 44 ngày và 26 nụ; 0,53cm; 4,05cm và 46 ngày.

- Để đạt tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy cao, cần xử lý HgCl₂ 0,1% trong thời gian 3 phút đối với Pha lê vàng và Mai vàng. Sử dụng môi trường MS bổ sung Kinetine với nồng độ 0,1 mg/l là môi trường tốt nhất để nhân nhanh chồi của giống Pha lê vàng và Mai vàng.

- Giai đoạn ra rễ, để tái sinh hoàn chỉnh sử dụng môi trường MS có bổ sung 0,1 - 0,2 mg α -NAA đối với Pha lê vàng và môi trường MS có bổ sung 0,2 mg α -NAA đối với Mai vàng.

- Cát sạch là giá thể thích hợp để ra ngôi cây con từ ống nghiệm.

4.2. Đề nghị

- Đây là kết quả bước đầu nghiên cứu sản xuất giống hoa cúc ở Bắc Trung bộ bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Cần được mở rộng xây dựng các mô hình ở những địa phương trồng hoa, đặc biệt là vùng ven đô ở Bắc Trung bộ.

- Tiếp tục hoàn thiện quy trình sản xuất hoa cúc tại vùng có khí hậu khắc nghiệt Bắc Trung bộ, đặc biệt là kỹ thuật huấn luyện cây sau khi đưa ra khỏi ống nghiệm, bao gồm các biện pháp như xử lý nấm bệnh, giá thể thích hợp, che lưới giảm nhiệt,... để từng bước đáp ứng nhu cầu về giống cúc vụ Hè và Thu Đông ở vùng Bắc Trung bộ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Mạnh Khải, Nguyễn Quang Thạch, 1999. Ảnh hưởng của GA3 đến sự ra hoa và chất lượng giống cúc trắng CN93 trong vụ Đông ở Đồng bằng Bắc bộ. *Tạp chí Nông nghiệp và CNTP*, 448: 458-460.
- Nguyễn Thị Kim Lý, 2001. *Nghiên cứu tuyển chọn và nhân giống cây cúc trên vùng đất trồng hoa ở Hà Nội*. Luận văn Tiến sĩ Nông nghiệp. Viện Khoa học Kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam.
- Nguyễn Quang Thạch, Đặng Văn Đông, 2002. *Cây hoa cúc và kỹ thuật trồng*. NXB nông nghiệp, Hà Nội.
- Phạm Chí Thành, 1998. *Giáo trình phương pháp thí nghiệm đồng ruộng*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Viện Nghiên cứu Rau quả, 1997. Ảnh hưởng của một số loại chất kích thích đối với sự sinh trưởng và phát triển của cúc CN93. *Thông tin khoa học kỹ thuật rau quả*, 2: 31-33.

Kenth and Toress, 1990. *Tissue culture techniques for horticulture*, pp.26-34.

Sanjaya. L.,1992. Effect of plant growth regulator on rooting of bud cutting of Chrysanthemum. *Bulletin/Horticulture*, Indonesia, pp.77-82.

Research on production of chrysanthemum variety by using tissue culture technique in North Central Region of Vietnam

Pham Van Chuong, Ho Ngoc Giap,
Vo Van Trung, Le Thi Thu Huong, Ho Thi Trang

Abstract

Experiments of selection and technical measures for 12 Chrysanthemum varieties were arranged in randomized complete block design at ASINCV in 2014. Mass seedling production of Chrysanthemum was conducted by using tissue culture in laboratory of the Institute. The research results identified two chrysanthemum varieties (Pha Le Vang and Mai Vang) with superior yield and quality, suitable for Northern Central Vietnam. Concentration of $HgCl_2$ 0.1% for 3 minutes was recorded to be the best antiseptic effects, ensuring high survival rate of tissue culture samples of 2 varieties above. MS media supplemented with Kinetin 0.1 mg/L was the best one for multiplying the scions of 2 varieties, and the media supplemented with 0.1-0.2mg α -NAA increased the root formation and complete plant regeneration.

Key words: Tissue culture, growth regulators, coefficient of bud multiplication

Ngày nhận bài: 28/8/2015

Ngày phản biện: 3/9/2015

Người phản biện: TS. Đặng Văn Đông

Ngày duyệt đăng: 20/5/2016

KẾT QUẢ THU THẬP, LƯU GIỮ VÀ SỬ DỤNG NGUỒN GEN CÂY TRỒNG TẠI VÙNG BẮC TRUNG BỘ

Võ Thị Tuyết¹, Phạm Thị Sâm¹,
Nguyễn Thị Thu Hà¹, Nguyễn Thị Trâm¹

TÓM TẮT

Trong những năm qua, Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả và Cây công nghiệp Phú Quý đã thu thập, bảo tồn và đánh giá được nguồn gen cây trồng địa phương rất đa dạng và phong phú. Từ năm 2011 - 2013, đã thu thập tại 5 tỉnh gồm: Thừa Thiên Huế, Quảng Trị, Hà Tĩnh, Nghệ An và Thanh Hoá được 14 nhóm loài cây trồng có nguồn gốc địa phương với tổng số 355 mẫu nguồn gen, bảo tồn, lưu giữ 585 mẫu nguồn gen. Trong đó lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu cây ăn quả và cây công nghiệp Phú Quý (Trung tâm Nghiên cứu CAQ và CCN Phú Quý) ở ngoài đồng ruộng 244 mẫu, trong nhà lưới 154 mẫu và lưu giữ tại Trung tâm Tài nguyên Thực vật ở ngoài đồng ruộng 38 mẫu nhóm cây có củ, lưu giữ kho lạnh 149 mẫu nguồn gen loài cây có hạt; Mô tả, đánh giá 318 lượt mẫu nguồn gen; Cấp phát 125 lượt mẫu nguồn gen cây ăn quả có múi phục vụ công tác nghiên cứu và phát triển sản xuất cho bà con nông dân vùng Bắc Trung bộ.

Từ khóa: Thu thập, lưu giữ, sử dụng, tài nguyên di truyền, vùng Bắc Trung bộ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguồn gen cây trồng bản địa ở nước ta rất đa dạng và phong phú, tuy nhiên nguy cơ xói mòn đang diễn ra nhanh chóng nên nhiệm vụ thu thập quỹ gen, bảo tồn và sử dụng có hiệu quả nguồn tài nguyên cây trồng là việc cần làm nghiêm túc, khẩn trương và rất cần thiết. Việc bảo quản và sử dụng tốt nguồn gen là tiền đề để nâng cao năng suất, chất lượng cây trồng một cách bền vững, góp phần xoá đói, giảm nghèo, an ninh lương thực và bảo vệ môi trường. Trong thời gian qua, nguồn tài nguyên di

truyền thực vật ở nước ta đang bị xói mòn một cách nghiêm trọng do nhiều nguyên nhân như nạn phá rừng, khai thác rừng không hợp lý, thay đổi về cơ cấu giống cây trồng. Một số giống ngày càng bị suy thoái nghiêm trọng, năng suất, phẩm chất không đáp ứng được nhu cầu thị trường, hiệu quả kinh tế thấp nên dần dần bị đào thải. Trong những năm gần đây, Trung tâm Nghiên cứu CAQ và CCN Phú Quý đã thu thập, lưu giữ, đánh giá ban đầu... với mục đích là bảo tồn, đánh giá tuyển chọn để phục vụ sản xuất những giống tốt đem lại hiệu quả kinh tế cao. Việc

¹ Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả và Cây công nghiệp Phú Quý, Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Bắc Trung bộ