

ẢNH HƯỞNG CỦA THÀNH PHẦN CHẤT NỀN ƯƠM CÂY ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CÂY CON DƯA HẦU TAM BỘI *EX VITRO*

Lâm Ngọc Phương và Nguyễn Bảo Vệ¹

ABSTRACT

Micropropagation of many plants is achieved through the establishment of explants, their initial growth in vitro being followed by transplanting into greenhouse or field. Many plantlets die during this period. Therefore, after ex vitro transplantation plantlets usually need some weeks of acclimatization with gradual lowering in air humidity. If the ex vitro transplantation of plantlets is successful, the increase in their growth can be enormous. Results of present experiment showed that 3-week-old seedless watermelon plantlets were acclimatized with 83,33% success on a mixture of husk- ashes and coconut fiber muck (1:1, v/v). These plantlets, that were strong, high and had many leaves, will be a good material for transplanting in the field.

Key words: *Micropropagation, watermelon, ex vitro culture, survival rate*

Title: *Effects of different substrates during acclimatization of seedless watermelon (Citrullus vulgaris Schard.) plantlets to ex vitro conditions*

TÓM TẮT

Vi nhân giống nhiều loài thực vật đã thành công qua việc thiết lập mẫu cây, sự sinh trưởng khởi đầu in vitro được tiếp tục với việc chuyển chúng ra vườn ươm hoặc đồng ruộng. Nhiều cây con bị chết trong giai đoạn này. Do đó, cây con chuyển sang ex vitro cần có vài tuần làm quen với ẩm độ không khí thấp. Nếu công việc này thành công thì sự gia tăng về sinh trưởng rất lớn. Để đánh giá môi trường thích hợp được sử dụng để trồng cây con trong quá trình thuần dưỡng 4 loại chất nền là mụn xơ dừa, tro trấu, đất và phân hữu cơ đã được sử dụng riêng hoặc phối hợp chung. Kết quả cho thấy cây con in vitro được ươm trồng trong chất nền có thành phần mụn xơ dừa phối hợp với tro trấu (1:1) cho tỉ lệ sống cao nhất là 83,33%, khác biệt rất có ý nghĩa so với các thành phần còn lại; trọng lượng tươi gia tăng 1,21g, cây con xanh tốt khoẻ mạnh.

Từ khóa: *Vi nhân giống, dưa hầu, trồng ra vườn ươm, tỷ lệ sống*

1 MỞ ĐẦU

Vi nhân giống nhiều loài thực vật đã thành công qua việc thiết lập mẫu cây, sự sinh trưởng khởi đầu in vitro được tiếp tục với việc chuyển chúng ra vườn ươm hoặc đồng ruộng. Trong nuôi cấy in vitro, cây con sinh trưởng dưới điều kiện rất đặc biệt, bình cây tương đối kín không khí..., ẩm độ cao và ánh sáng thấp hơn so với trồng trọt cổ điển. Sử dụng bình kín để ngăn chặn nhiễm trùng đã làm giảm sự khuếch tán không khí do đó làm cho lớp bó mạch của lá tăng lên và làm hạn chế khí CO₂ vào và thải ra từ cây trong bình cấy. Môi trường nuôi cấy thường được thêm đường vào làm nguồn carbon và nguồn năng lượng, điều này làm giảm đáng kể thế năng nước của môi trường và làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn và nấm. Hơn nữa, cây con thường được cung cấp với một lượng lớn các chất điều hòa sinh trưởng đã tạo ra những cây con bất thường về hình thái, giải phẫu và sinh lý (Kozai

¹ Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng Dụng

& Smith, 1995). Sau khi chuyển từ điều kiện *in vitro* sang *ex vitro* cây con phải điều chỉnh những bất thường nêu trên. Trong vườn ươm và đặc biệt nơi đồng ruộng, có ánh sáng cao và ẩm độ thấp hơn trong bình nuôi cấy. Ngay cho dù thể năng nước của chất nền cao hơn thể năng nước của môi trường nuôi cấy có đường, cây con có thể héo nhanh vì sự mất nước ở lá thì không có giới hạn. Thêm vào đó, việc cung cấp nước có thể có hạn chế vì sự dẫn nước của rễ thấp và do sự nối kết giữa rễ và thân. Do đó, cây con được chuyển ra *ex vitro* thường cần vài tuần để tập làm quen (thuần dưỡng) với ẩm độ không khí thấp. Thí nghiệm này được thực hiện nhằm tìm thành phần chất nền thích hợp để thuần dưỡng cây con dưa hấu Tam Bội *in vitro* chuyển sang *ex vitro*.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

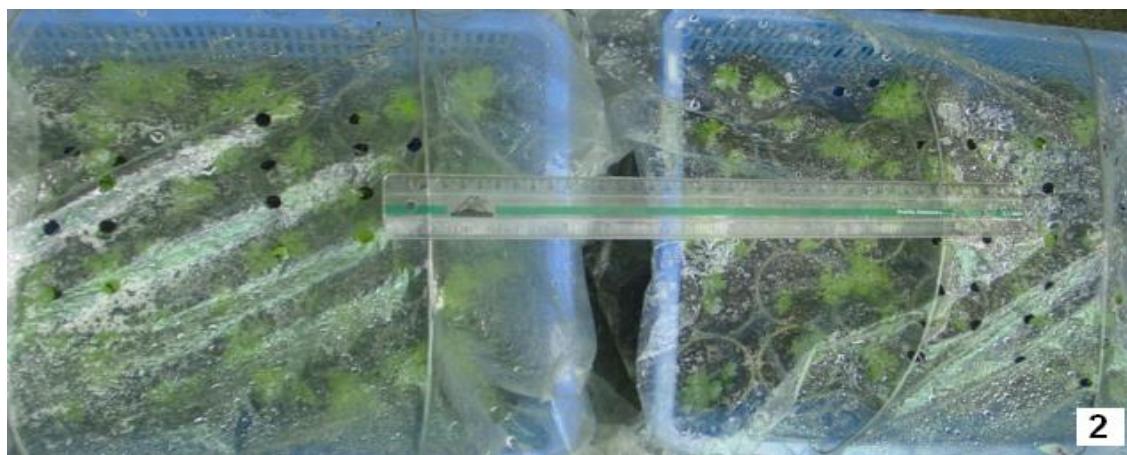
Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 10 cây, gồm 4 nghiệm thức: (1) Mụn xơ dừa (xơ dừa); (2) Tro trấu ; (3) 1/2 Xơ dừa + 1/2 Tro trấu (Xơ + Tro); và (4) 1/4 Đất + 1/2 Tro trấu + 1/4 Phân hữu cơ (Đất + Tro + Phân).

Để chuẩn bị vật liệu chất nền cho thí nghiệm, các chất xơ dừa, tro trấu được ngâm nước qua đêm, phơi khô lại, sau đó khử trùng cùng với đất và phân hữu cơ với các hóa chất Basudin, Copper B (nồng độ 0,2 %) 3 ngày trước khi cho chúng vào các ly nhựa có chiều cao 10 cm và đường kính miệng ly là 08 cm, được đục sẵn 1 lỗ ở giữa đáy ly. Đối với vật liệu cây thực vật, chồi dưa hấu tam bội được tạo rễ *in vitro* có tuổi 3 tuần sau khi cấy (Hình 1).



Hình 1: Cây con dưa hấu tam bội sau 3 tuần cấy, trước khi chuyển ra vườn thuần dưỡng

Các cây con có rễ được gấp ra khỏi bình, rửa sạch phần rễ dính agar dưới vòi nước chảy, để ráo nước, cân và ghi nhận trọng lượng mỗi cây. Tiếp đến, cây chúng được chuyển đến nhà lưới, trồng lại vào ly nhựa chứa chất nền được chuẩn bị sẵn. Sau cùng, các ly có trồng cây con được cho vào một rỗ nhựa, thành một nghiệm thức, được trùm kín bằng bọc nylon (kích thước 100 x 60 cm) có đục 20 lỗ với đường kính 0,8 cm/lỗ (Hình 2). Thí nghiệm được đặt trong điều kiện nhà lưới có ẩm độ không khí tương đối 55±5%, cường độ ánh sáng 4.000 – 5.000 lux; nhiệt độ 29±2°C.



Hình 2: Cây con dưa hấu tam bội được thuần dưỡng, 2 tuần sau khi trồng

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tỷ lệ cây sống

Cây con cây mô có thân lá mỏng mảnh, mềm.. nên khi lấy ra khỏi bình cấy để chuyển sang giai đoạn thuần dưỡng thường dễ bị tổn thương cơ học. Trong điều kiện nóng ẩm, cây dễ phát sinh bệnh khiến tỷ lệ chết cao; nếu không sử dụng thuốc phòng trừ nấm bệnh để khử các chất nền trước khi ươm cây. Các loại chất nền dùng ươm cây dưa hấu tam bội cây mô ở giai đoạn đầu là rất quan trọng, nó ảnh hưởng lớn tới tỷ lệ sống và sự phát triển của cây sau này. Thông thường, các rễ non được tạo ra trong ống nghiệm có một biểu bì yếu ớt, nên khi đặt tiếp xúc với chất nền trong nhà ươm, chúng trở nên khô héo nhanh chóng và chết. Đây là giai đoạn tinh tế nhất, các rễ được sinh ra trong bình thì cực yếu và khi tiếp xúc với chất nền, chúng chết đi. Phải chờ sự thành lập và sinh trưởng của rễ mới để cây tự dưỡng.

Kết quả ở Bảng 1 là phần trăm cây dưa hấu tam bội sống sót trong quá trình thuần dưỡng vào các thời điểm 1, 2 và 3 tuần sau khi trồng (SKT) cho thấy tỷ lệ sống của cây có sự thay đổi từ 1 đến 2 tuần đầu. Vào tuần đầu, tỉ lệ cây sống đạt cao nhất ở nghiệm thức Xơ + Tro là 93,33% và thấp nhất ở nghiệm thức Đất + Tro + Phân là 26,67%, khác biệt có ý nghĩa 1%. Đến 2 và 3 tuần SKT, tỷ lệ sống cao nhất vẫn ở nghiệm thức Xơ + Tro là 83,33% và thấp nhất ở nghiệm thức Đất + Tro + Phân. Tỷ lệ này giảm so với tuần đầu, có lẽ là do cây con chưa ổn định về sinh lý để thích nghi với điều kiện tự nhiên. Theo Van Huylenbroeck & De Riek (1995) khi thuần dưỡng cây con *Spathiphyllum floribundum* đã quan sát được 2 giai đoạn khác nhau: giai đoạn thích nghi, với sự sinh trưởng chồi chậm và tạo rễ; tiếp theo là giai đoạn sinh trưởng nhanh của rễ và chồi.

Kết quả trên cho thấy mụn xơ dừa và tro trấu (tỉ lệ 1:1) là tốt nhất để ươm cây cây mô. Trên các nền giá thể có đất cây cây mô có tỷ lệ chết cao, quan sát thấy có hiện tượng úng gốc. Do vậy, cây con dưa hấu tam bội cần một giá thể xốp để trồng, mụn xơ dừa là loại giá thể giữ được độ ẩm nhưng không bị úng khi được tưới nước nhiều. Trong chất nền ươm trồng cây có kết hợp giữa hai thành phần xơ dừa và tro trấu thì cho được tỷ lệ số cây sống đạt cao nhất (Hình 3). Kết quả về chất nền này cho thấy có sự phù hợp với kết quả của Vũ Ngọc Phương et al. (2001).

Bảng 1: Tỷ lệ sống (%) của cây con dưa hấu tam bội *ex vitro* trong 3 tuần trên những thành phần chất nền ươm cây con khác nhau

Nghiệm thức	Tuần sau khi trồng		
	1	2	3
Xơ dừa	56,6 b	50,0 b	50,0 b
Tro trấu	43,3 b	36,7 b	36,7 b
Xơ + Tro	93,3 a	83,3 a	83,3 a
Đất + Tro + Phân	26,6 b	20,0 b	20,0 b
F	**	**	**
CV (%)	31,9	34,4	34,4

Trong cùng một cột các số có mẫu tự theo sau giống nhau không khác biệt có ý nghĩa thống kê

** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.



Hình 3: Cây con dưa hấu tam bội có tỷ lệ sống cao được thuần dưỡng với chất nền phối hợp xơ dừa và tro trấu, 3 tuần sau khi trồng

3.2 Chiều cao gia tăng

Khảo sát ảnh hưởng của thành phần môi trường ươm cây đến sự sinh trưởng của cây con dưa hấu tam bội vào các thời điểm 1, 2 và 3 tuần SKT cho thấy các cây con có sự tăng cao nhanh sau 2-3 tuần trồng. Tuy nhiên, chiều cao gia tăng ở các nghiệm thức không có sự khác biệt thống kê (Bảng 2). Vào 3 tuần SKT, nghiệm thức đất + tro + phân cho chiều cao gia tăng nhiều nhất (5,69 cm), kế đến là nghiệm thức xơ + tro (5,61cm) và nghiệm thức xơ cho chiều cao gia tăng thấp nhất với 1,91cm. Tuy rằng, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 2: Chiều cao gia tăng (cm) của cây con dưa hấu tam bội *ex vitro* trong 3 tuần trên những thành phần chất nền ươm cây con khác nhau

Nghiệm thức	Tuần sau khi trồng		
	1	2	3
Xơ dừa	0,56	0,83	1,91
Tro trấu	0,32	1,39	3,04
Xơ + Tro	1,25	2,82	5,61
Đất + Tro + Phân	0,50	1,55	5,69
F	ns	ns	ns
CV (%)	67,5	47,5	41,0

ns = không khác biệt có ý nghĩa thống kê

3.3 Số lá gia tăng

Theo dõi sự gia tăng số lá mỗi ngày và ghi nhận mỗi tuần được trình bày ở bảng 3 cho thấy: vào thời điểm 1 tuần SKT, tất cả các nghiệm thức đều có sự gia tăng số lá tương đối chậm và đồng đều từ 1 đến 2 lá, đo đó chúng không khác biệt nhau qua thống kê.

Đến 2 tuần SKT, số lá tăng cao nhất ở nghiệm thức Xơ + Tro là 5 và thấp nhất ở nghiệm thức Tro trấu là 2, khác biệt nhau và khác biệt với nghiệm thức còn lại có ý nghĩa 5%. Theo Van Huylenbroeck et al. (1998), nghiên cứu quá trình thuần dưỡng ở cây thuốc lá cho thấy hoạt động quang tổng hợp mạnh khi lá mới phát triển đầy đủ. Thời điểm này, cây con đã thích nghi được với điều kiện mới, hoạt động của bộ rễ trở nên hữu hiệu để hút nước, tăng cường hoạt động sinh lý cho cây.

Đến 3 tuần SKT, số lá gia tăng cao nhất ở nghiệm thức Xơ + Tro và nghiệm thức Đất + Tro + Phân là 8, khác biệt có ý nghĩa 1% so với hai nghiệm thức Xơ dừa và Tro trấu.

Bảng 3: Số lá gia tăng của cây con dưa hấu tam bội ex vitro trong 3 tuần trên những thành phần chất nền ươm cây con khác nhau

Nghiệm thức	Tuần sau khi trồng		
	1	2	3
Xơ dừa	2	3 bc	5 b
Tro trấu	1	2 c	6 b
Xơ + Tro	2	5 a	8 a
Đất + Tro + Phân	2	4 bc	8 a
F	ns	*	**
CV (%)	54,90	22,10	10,90

*Trong cùng một cột các số có mẫu tự theo sau giống nhau không khác biệt có ý nghĩa thống kê; ** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns = không khác biệt có ý nghĩa thống kê*

3.4 Số rễ và chiều dài rễ

Số rễ và chiều dài rễ được đếm và đo sau 3 tuần trồng. Các ly chứa cây con được cho nước vào và nhẹ nhàng rửa bỏ phần chất nền trồng cây để giữ bộ rễ được an toàn trước khi đo đếm. Kết quả ở Bảng 4 cho thấy vào 3 tuần SKT các cây con ở cả 4 nghiệm thức đều cho mọc rễ với số rễ trung bình từ 7 đến 8, không khác biệt nhau.

Bảng 4: Số rễ và chiều dài rễ của cây con dưa hấu tam bội ex vitro sau 3 tuần trồng trên những thành phần chất nền ươm cây con khác nhau

Nghiệm thức	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)
Xơ dừa	7	4,63
Tro trấu	8	3,45
Xơ + Tro	8	6,63
Đất + Phân + Tro	8	6,61
F	ns	ns
CV (%)	37,0	34,90

ns = không khác biệt có ý nghĩa thống kê

Bảng 4 cũng cho thấy nghiệm thức xơ + tro cho được kết quả chiều dài rễ lớn nhất là 6,63 cm (Hình 4) và nghiệm thức tro trấu cho kết quả thấp nhất là 3,45 cm, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.



Hình 4: Cây con dưa hấu tam bội được thuần dưỡng với chất nền phối hợp xơ dừa và tro trấu, 3 tuần sau khi trồng

3.5 Trọng lượng tươi gia tăng

Trọng lượng tươi sau 3 tuần trồng được trình bày ở Bảng 5 cho thấy các cây con dưa hấu tam bội sinh trưởng ở các điều kiện môi trường ươm cây khác nhau đã có sự khác biệt nhau có ý nghĩa 5%. Nghiệm thức đất + tro + phân cho kết quả trọng lượng tươi tăng cao nhất là 1,31g, kế đến là nghiệm thức xơ + tro tăng 1,21g, khác biệt nhau không có ý nghĩa thống kê; nhưng khác biệt có ý nghĩa 5% so với các nghiệm thức tro trấu và xơ dừa, tăng được 0,81g và 0,48g, khác biệt nhau có ý nghĩa 5%.

Bảng 5: Trọng lượng tươi / chồi củi con dưa hấu tam bội *ex vitro* sau 3 tuần trồng trên những thành phần chất nền ươm cây con khác nhau

Nghiệm thức	Trọng lượng tươi/chồi (g)
Xơ dừa	0,48 c
Tro trấu	0,81 b
Xơ + Tro	1,21 a
Đất + Tro + Phân	1,31 a
F	*
CV (%)	18,40

*Trong cùng một cột các số có mẫu tự theo sau giống nhau không khác biệt có ý nghĩa thống kê; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%*

Kết quả trên cho thấy cây con cây mô trồng trong chất nền mụn xơ dừa và tro trấu cho tỉ lệ cây sống cao nhất (83,33%) cùng với cho trọng lượng tươi gia tăng cao (1,21g). Kết quả này phù hợp với báo cáo của Vũ Ngọc Phương et al. (2001) về thành phần giá thể ươm cây đối với cây hồng (*Paulownia fortunei*).

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Trong giai đoạn thuần dưỡng, cây con *in vitro* sang *ex vitro* chất nền ươm cây là mụn xơ dừa phối hợp với tro trấu cho kết quả tốt nhất, với tỉ lệ cây sống khá cao (83,30%) sau 3 tuần ươm trồng (Hình 5). Do đó, có thể sử dụng thành phần chất nền này để thuần dưỡng cây con dừa hấu tam bội *ex vitro* để cho cây sinh trưởng và phát triển ổn định, khỏe mạnh với số lá và trọng lượng tươi tăng cao, sẵn sàng để chuyển trồng ra đồng.



Hình 5: Cây con dừa hấu tam bội được thuần dưỡng trên chất nền xơ dừa và tro trấu phối hợp, 3 tuần sau khi trồng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- KOZAI, T., SMITH, M.A.L. 1995. Environmental control in plant tissue culture - general introduction and overview. In: Aitken-Christie, J., Kozai, T., Smith, M.L. (ts.). Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture. pp. 301-318. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht - Boston - London.
- VAN HUYLENBROECK, J.M., DE RIEK, J. 1995. Sugar and starch metabolism during *ex vitro* rooting and acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum* "Petite" plantlets. *Plant Sci.* 111: 19-25.
- VAN HUYLENBROECK, J.M., PIQUERAS, A., DEBERGH, P.C. 1998. Photosynthesis and carbon metabolism in leaves formed prior and during *ex vitro* acclimatization of micropropagated plants. *Plant Sci.* 134: 21-30.
- VŨ NGỌC PHƯƠNG, ĐOÀN THỊ ÁI THUYỀN, LƯU VIỆT DŨNG, THÁI XUÂN DU, NGUYỄN VĂN UYÊN. 2001. Quy trình ươm cây hồng (*Paulownia fortunei*) giai đoạn sau ống nghiệm. Trong Công Nghệ sinh học và Nông nghiệp sinh thái bền vững. NXB. Nông Nghiệp. tr.63-68.