

MỤC LỤC

So sánh một số loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng của rau muống sản xuất bằng công nghệ thủy canh động với giá thể

Nguyễn Thị Ngọc Dinh và Đỗ Thị Thanh1

Xác định một số biện pháp kỹ thuật phục vụ cho việc sử dụng máy gieo sạ và bón phân theo hàng giống lúa thuần DH12 tại vùng đồng bằng sông Hồng

Hà Văn Duyên, Lê Văn Huy, Trần Thị Huyền, Nguyễn Thanh Hải, Nguyễn Thị Hòa và Trần Văn Quang12

Một số dẫn liệu về đặc điểm sinh vật học, sinh thái học của Một đậu đỏ *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Bruchidae: Coleoptera)

Hồ Thị Thu Giang và Nguyễn Bích Hoa21

Sự thay đổi của tập chuyển hóa và tăng cường khả năng kháng bệnh bắt nguồn từ sự xâm nhập gen lạ ở thực vật

Vũ Quỳnh Hoa.....33

Đặc điểm giải phẫu hoa, rễ và khả năng nhân giống cây Bát giác liên (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe) - Berberidaceae

Phạm Ngọc Khánh, Ninh Thị Phíp và Phạm Thanh Huyền.....41

Tổng quan: chọn tạo giống ngô chống chịu hạn và ngập úng phó với biến đổi khí hậu

Vũ Văn Liết.....52

Changes in Morphological Characteristics, Regeneration Ability and Polysaccharide Content in Tetraploid *Dendrobium officinale*

Phu-Long Pham, Ying-Xue Li, He-Rong Guo, Rui-Zhen Zeng, Li Xie, and Zhi-Sheng Zhang73

Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến sinh trưởng của giống bơ B3 Giai đoạn vườn ươm tại Phú Thọ

Đỗ Hải Long và Vũ Thanh Hải81

Ảnh hưởng của virus ấu trùng túi lên tuổi thọ và một số tập tính của ong mật tại Việt Nam

Phan Thanh Ngọc và Phạm Hồng Thái.....87

Nghiên cứu tương quan trên toàn bộ hệ gen về khả năng chịu mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ trong điều kiện mặn nhân tạo trong nhà lưới

Phan Thị Hồng Nhung, Phạm Văn Cường và Pierre Bertin.....95

Nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương, Thừa Thiên Huế, Việt Nam	
<i>Phạm Thị Bích Phương và 陈中义Chen Zhongyi.....</i>	<i>104</i>
Đánh giá ảnh hưởng của biện pháp tỉa quả và vật liệu bao quả tới kích thước và chất lượng quả giống táo 05 (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) tại Gia Lâm - Hà Nội	
<i>Nguyễn Thị Phương</i>	<i>116</i>
Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống cây ba kích (<i>Morinda officinalis</i> How) bằng phương pháp giâm hom tại Bắc Giang	
<i>Nguyễn Mai Thơm, Kim Ngọc Quang, Võ Đại Hải và Thiều Thị Phong Thu</i>	<i>129</i>

SO SÁNH MỘT SỐ LOẠI DUNG DỊCH DINH DƯỠNG HỮU CƠ ĐẾN SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỦA RAU MUỐNG SẢN XUẤT BẰNG CÔNG NGHỆ THỦY CANH ĐỘNG VỚI GIÁ THỂ

Nguyễn Thị Ngọc Dinh, Đỗ Thị Thanh*

Trung tâm Nông nghiệp hữu cơ, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: ntndinh@vnua.edu.vn*

TÓM TẮT

Để so sánh một số loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ làm dung dịch thủy canh, thí nghiệm được tiến hành nhằm xác định ảnh hưởng của 03 loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ (V.M 1954, Vegano và TNC Hume) đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng rau muống trong vụ hè và hè thu năm 2019. Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ V.M 1954 cho các chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất và chất lượng của rau muống là tốt nhất. Vì thế, đã khẳng định rau muống hoàn toàn có thể sinh trưởng, phát triển cho năng suất và chất lượng tốt đồng thời hạn chế được sâu bệnh hại khi sản xuất bằng công nghệ thủy canh động với giá thể và sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ V.M 1954 (nồng độ 1,5‰).

Từ khóa: Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ, giá thể, rau muống, thủy canh

COMPARISON OF DIFFERENT ORGANIC NUTRIENT SOLUTIONS ON THE VEGETATIVE GROWTH, YIELD AND QUALITY OF WATER SPINACH GROWN IN CIRCULATING HYDROPONIC TECHNOLOGY USING GROWTH MEDIA BED

ABSTRACT

To comparison some types of organic nutrient solutions as hydroponic solution, the experiment was carried out to determine the effects of 03 types of organic nutrient solutions (V.M 1954, Vegano and TNC Hume) to the growth, yield and quality of water spinach by using a circulating hydroponic system and growth media bed in summer and summer-autumn seasons, 2019. The results indicated that the V.M 1954 organic nutrient solution was the best for the growth, yield and quality of water spinach. Therefore, the results confirmed that water spinach could fully grow and develop for good productivity and quality, and contemporaneous reduce pests and diseases when grown in circulating hydroponic technology using growth media bed with organic nutrient solution V.M 1954 (1.5‰ concentration).

Key words: Circulating hydroponic, growth media bed, organic nutrient solution, water spinach

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sản xuất rau an toàn, rau hữu cơ đang là một vấn đề cấp thiết đặt ra đối với các nhà nghiên cứu, người sản xuất để phục vụ nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng. Một trong những giải pháp để có rau an toàn và chất lượng cao là sản xuất rau hữu cơ hoặc theo nguyên tắc hữu cơ nghĩa là không sử dụng bất kỳ hóa chất nông nghiệp nào trong sản xuất (Phạm Tiến Dũng & cs., 2016; Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs., 2015a). Thêm vào đó, để đáp ứng nhu cầu lương thực, thực phẩm ngày càng tăng về số lượng và chất lượng, ứng dụng công nghệ cao vào sản xuất rau thủy canh là hướng đi đúng đã được Đảng và Nhà nước quan tâm thể hiện qua đề án phát triển nông nghiệp công nghệ cao đến 2020 - số 176/QĐ-TTg ngày 29 tháng 01 năm 2010. Thủy canh (Hydroponic) là hình thức canh tác trong dung dịch, kỹ thuật trồng cây không dùng đất. Cây được trồng trên hoặc trong dung dịch dinh dưỡng, sử dụng dinh dưỡng hòa tan trong nước dưới dạng dung dịch và tùy theo từng kỹ thuật mà toàn bộ hoặc một phần rễ cây được ngâm trong dung dịch dinh dưỡng (Vũ Quang Sáng & cs., 2007). Hiện nay, ở Việt Nam, sản xuất rau thủy canh chủ yếu sử dụng dung dịch dinh dưỡng vô cơ nên chất lượng sản phẩm được đánh giá là không cao, nhạt, nhanh héo (Nguyễn Thị Ngọc Dinh và cs., 2015a) và người tiêu dùng không thích sử dụng. Vì vậy, một trong những hướng nghiên cứu mới hiện nay là sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ để sản xuất thủy canh. Sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ tự chiết xuất từ động, thực vật để sản xuất thủy canh tĩnh cho rau muống vừa đảm bảo năng suất và chất lượng sản phẩm (Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs.,

2015a) vừa được sử dụng như một loại phân bón hữu cơ qua lá trong sản xuất lúa hữu cơ (Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs., 2015b) và rau hữu cơ (Phạm Tiến Dũng & cs., 2013). Sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ trong sản xuất thủy canh làm giảm 6 lần hàm lượng NO_3^- , tăng độ ngọt (Brix) và làm chậm quá trình héo của rau so với dung dịch vô cơ (Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs., 2015a), đồng thời dung dịch dinh dưỡng hữu cơ có nhiều nguyên tố vi lượng, vi sinh vật có lợi (Edwards & cs., 2010), và có chất kích thích sinh trưởng cần thiết cho cây như axit humic và fluvic (Arancon & cs., 2007). Cho đến nay, nghiên cứu ứng dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ cho sản xuất rau thủy canh ở Việt Nam còn rất ít và chưa được quan tâm.

Tuy nhiên, khi sử dụng hệ thống thủy canh có một số nhược điểm cần phải khắc phục như: Phải điều chỉnh pH, nhiệt độ của dung dịch phù hợp với sự sinh trưởng, phát triển đối với từng loại cây (Cometti & cs., 2013). Một số giá thể được sử dụng trong hệ thống cá - rau (aquaponics systems) như cát, sỏi, đá, đất nung (Rakocy & Hargreaves, 1993) và giá thể hỗ trợ sinh trưởng cho cây trồng như vỏ hạt cọ, xơ dừa (Oladimeji & cs., 2018). Vì thế, để khắc phục nhược điểm khi sản xuất rau bằng hệ thống thủy canh động, nhiều nghiên cứu sử dụng giá thể vừa có tác dụng giữ dinh dưỡng, điều chỉnh pH và ổn định nhiệt độ của dung dịch.

Vấn đề đặt ra là sử dụng loại dung dịch dinh dưỡng nào phù hợp cho sản xuất rau ăn lá trong hệ thống thủy canh động với giá thể. Trên thị trường hiện nay có rất ít dung dịch dinh dưỡng hữu cơ sử dụng cho sản xuất rau thủy canh, vì thế nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá được loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ phù hợp với sinh trưởng, năng

suất và chất lượng của rau muống sử dụng công nghệ thủy canh động với giá thể. Mục tiêu của nghiên cứu là so sánh một số loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ trong sản xuất thủy canh động với giá thể để lựa chọn loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ thích hợp nhất đối với rau muống.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

- Giống rau muống Lá tre (*Ipomoea aquatica* Forsk) là giống rau muống trắng lá nhỏ của công ty TNHH Trang Nông được người tiêu dùng ưa chuộng, khi nấu chín vẫn giữ được màu xanh, có hàm lượng vitamin cao, có thể trồng từ tháng 2 đến tháng 11 ở miền Bắc và trồng quanh năm ở miền Nam. Năng suất trung bình đạt từ 20 - 30 tấn/ha.

- 03 loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ: V.M 1954; Vegano; TNC Hume

Thành phần mỗi loại dung dịch dinh dưỡng hữu cơ như sau: Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ V.M 1954 (Sản phẩm của công ty 1954) là hỗn hợp các chất hữu cơ tự nhiên được thủy phân bằng enzym sinh học, bao gồm các chất axit amin, vi lượng hữu cơ, hoocmon sinh trưởng tự nhiên; Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ Vegano (sản phẩm của công ty TNHH Việt Liên) là dịch Chitosan hoạt hóa, dịch Axit amin từ bã men bia, khoáng đa lượng, vi lượng; Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ TNC Hume có nguồn gốc từ Mỹ, với thành phần 18% Humic + Fulvic axit.

2.2. Phương pháp

Trong sản xuất rau thủy canh với hệ thống cá - rau (aquaponics), một số giá thể được sử dụng như: Vỏ hạt cọ, xơ dừa và có trộn thêm cát, sỏi, đất nung (Oladimeji & cs., 2018; Rakocy & Hargreaves, 1993).

Chúng tôi tiến hành thử nghiệm sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ với giá thể là cát vàng và xơ dừa (tỷ lệ 1:1 về thể tích) để sản xuất rau muống bằng phương pháp thủy canh động. Hệ thống thủy canh động được thiết kế như sau: Chậu nhựa có kích thước 60 cm x 40 cm (Dài x Rộng); thùng 60 lít đựng dung dịch dinh dưỡng; hệ thống ống nhựa đưa dung dịch từ thùng chứa lên chậu cây; giá sắt cao 90 cm. Các ống nhựa được lắp ráp thành đường dẫn truyền dung dịch đến cây, trên đó được lắp và đục lỗ để tưới. Ở dưới chậu lắp đường ống hồi lưu về thùng chứa để tạo thành một hệ thống tuần hoàn. Kích thước mỗi chậu là 0,24 m².

Cách điều chỉnh dinh dưỡng trong hệ thống thủy canh: Pha dung dịch dinh dưỡng hữu cơ với nồng độ theo các công thức thí nghiệm, sau đó đo nồng độ chất rắn hòa tan (TDS) trong thùng chứa. Sau đó dung dịch dinh dưỡng được bơm từ thùng chứa lên các chậu trồng rau có chứa giá thể, dung dịch dinh dưỡng lại hồi lưu về thùng chứa. Mỗi ngày định kỳ bơm dung dịch dinh dưỡng 2-3 lần mỗi lần 30 phút - 1 giờ. Định kỳ 7 ngày 1 lần đo TDS của dung dịch dinh dưỡng trong thùng chứa và bổ sung dinh dưỡng để đạt được nồng độ TDS ban đầu thích hợp cho cây sinh trưởng và phát triển.

Công thức thí nghiệm: Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ V.M 1954 (1,5‰) (V.M 1954); Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ Vegano (2,5‰) (Vegano); Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ TNC Hume (2,5‰) (TNC Hume).

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCB) với 03 lần nhắc lại, mỗi công thức là 1 chậu diện tích 0,24 m² (Dài x rộng), tổng diện tích của 1 lần nhắc

lại là 0,72 m² được thực hiện trong vụ hè và hè thu năm 2019 tại Trung tâm Nông nghiệp hữu cơ, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Rau muống được gieo bằng hạt với khoảng cách cây cách cây 5cm và hàng cách hàng 10cm. Vụ hè rau muống được trồng trong thời gian 45 ngày (từ 01/05/2019 đến 14/06/2019) với 2 lần thu hoạch (Lần 1: 25 NSG; lần 2: 45 NSG) và vụ hè thu được trồng trong thời gian 67 ngày (từ 30/6/2019 đến 05/09/2019) với 4 lần thu hoạch (Lần 1: 23 NSG; lần 2: 39 NSG; lần 3: 53 NSG; lần 4: 67NSG). Ngoài ra, phòng trừ sâu bệnh hại theo phương pháp hữu cơ bằng dịch chiết từ gừng, tỏi, ớt, quế với giấm theo tỷ lệ 1:1 về khối lượng. Thí nghiệm được thực hiện ngoài trời và được che mưa trong suốt quá trình làm thí nghiệm bằng nilong trắng và lưới chắn côn trùng.

Các chỉ tiêu theo dõi của thí nghiệm
2 gồm: pH của dung dịch đo bằng máy pH HANNA HI 98107 định kỳ 7 ngày đo 1 lần; Nồng độ chất rắn hòa tan của dung dịch (TDS) đo bằng máy TDS HANNA HI 86302 định kỳ 7 ngày đo 1 lần; Các chỉ tiêu về rễ được đo lúc thu hoạch; Các chỉ tiêu sinh lý (Diện tích lá (dm²/cây) đo bằng phương pháp cân nhanh, chỉ số SPAD: đo bằng máy đo SPAD 502); Hàm lượng chất khô (%); Năng suất thực thu (kg/m²) tại các lần thu hoạch, độ Brix, hàm lượng NO₃⁻ trong rau (mg/kg) được xác định theo TCVN 8742:2011 của lần thu thứ 2 trong vụ hè và lần thu hoạch thứ 4 trong vụ hè thu); Sự mất nước của rau được xác định qua khối lượng hao hụt (KLHH) khi để cây trong điều kiện nhiệt độ phòng (25 ± 2°C).

2.3. Xử lý thống kê

Sử dụng phần mềm Microsoft Office Excel và chương trình IRRISTAT 5.0 để tính các tham số thống kê cơ bản và phân tích ANOVA kết quả thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự biến đổi pH của các dung dịch dinh dưỡng, giá thể và TDS của môi trường dinh dưỡng trong quá trình trồng rau muống

Theo Cabrera & cs. (1996), giá trị pH của dung dịch thủy canh đối với từng loại cây trồng khác nhau là khác nhau, tuy nhiên hầu hết các loại cây trồng đều thích hợp với giá trị pH từ 5,5 - 6,5. Thông thường trong sản xuất thủy canh cần phải điều chỉnh pH bằng kiềm và axit (Inden, 1982). Tuy nhiên, trong thí nghiệm khi sử dụng giá thể, giá trị pH của dung dịch dinh dưỡng hữu cơ làm dung dịch thủy canh và pH của giá thể đều ở trong giá trị thích hợp cho cây sinh trưởng phát triển, chúng tôi không cần điều chỉnh giá trị này. Điều này hoàn toàn phù hợp với giả thuyết nghiên cứu lúc đầu của nghiên cứu là công nghệ thủy canh động với giá thể có thể điều chỉnh được pH thích hợp với sinh trưởng của cây.

Số liệu về sự biến đổi giá trị pH của dung dịch dinh dưỡng hữu cơ trong quá trình làm thí nghiệm dao động từ 5,5 - 6,7 trong vụ hè và từ 5,8 - 6,8 trong vụ hè thu, đây vẫn là giá trị thích hợp cho rau muống sinh trưởng phát triển. Giá trị pH của giá thể cũng không chênh lệch nhiều so với giá trị pH của dung dịch dinh dưỡng, dao động từ 5,6 - 6,8 trong vụ hè và từ 5,7 - 6,5 trong vụ hè thu (Bảng 1).

Bảng 1. Sự biến đổi pH của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ và pH của giá thể

Dung dịch dinh dưỡng	Lần đo															
	10 NSG		17 NSG		24 NSG		31 NSG		38 NSG		45 NSG		52 NSG		59 NSG	
	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT	pH DD	pH GT
Vụ hè																
V.M 1954	6,5	6,2	6,2	6,1	5,5	5,6	6,4	6,1	6,5	6,7	6,6	6,8				
Vegano	6,7	6,5	6,6	6,5	5,8	5,7	6,3	6,2	6,5	6,3	6,6	6,1				
TNC Hume	6,7	6,5	6,6	6,5	5,7	5,6	6,4	6,5	6,5	6,1	6,6	5,8				
Vụ hè thu																
V.M 1954	6,4	5,8	6,6	6,1	6,2	6,5	6,2	6,4	6,6	6,4	6,8	6,5	6,8	6,2	6,8	6,2
Vegano	6,2	6,1	6,2	6,1	6,0	6,2	5,8	6,0	6,4	6,0	6,8	6,2	6,8	6,1	6,8	6,1
TNC Hume	6,0	5,7	6,4	5,9	5,8	5,7	6,0	5,9	6,8	6,0	6,8	6,1	6,8	6,1	6,8	5,9

Ghi chú: pH DD: pH của dung dịch dinh dưỡng; pH GT: pH của giá thể; NSG: ngày sau gieo

Độ dẫn điện (Electrical conductivity - EC) là sự biểu hiện của nồng độ ion trong dung dịch có thể được dễ hấp thụ. Độ dẫn điện tương quan thuận với nồng độ chất rắn hòa tan (Total Dissolved Solids - TDS). Đối với trồng thủy canh, nếu giá trị EC cao sẽ kìm hãm sự hấp thụ dinh dưỡng vì tăng áp suất thẩm thấu, ngược lại giá trị EC thấp lại ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức sống và năng suất cây trồng (Samarakoon & cs., 2006). Vì thế, xác định được nồng độ chất rắn hòa tan thích hợp đối với từng loại rau là rất quan trọng. Nồng độ chất rắn hòa tan (TDS) ở cả 2 vụ hè và vụ hè thu thể hiện qua bảng 4. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi

cho thấy, sau mỗi lần đo giá trị TDS tăng dần nhưng vẫn ở ngưỡng cho phép để cây rau muống sinh trưởng, phát triển bình thường. Giá trị TDS dao động từ 500 - 780 mg/lít ở vụ hè và 600 - 740 mg/lít ở vụ hè thu. Giá trị TDS tăng lên sau mỗi lần đo do một số hợp chất hữu cơ vẫn chưa phân hủy hết trong các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ sẽ được tiếp tục phân hủy trên giá thể tro vì thế làm tăng thêm giá trị TDS ở những lần đo sau. Giá trị TDS của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ trong thí nghiệm này gần với giá trị TDS trong các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs. (2015a).

Bảng 2. Sự biến đổi chỉ số TDS của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ (mg/lít)

Dung dịch dinh dưỡng	Lần đo							
	10 NSG	17 NSG	24 NSG	31 NSG	38 NSG	45 NSG	52 NSG	59 NSG
Vụ hè								
V.M 1954	650	740	700	780	650	620		
Vegano	500	700	600	760	630	660		
TNC Hume	520	690	620	730	650	650		
Vụ hè thu								
V.M 1954	690	620	700	600	700	630	700	740
Vegano	630	660	660	630	650	600	680	650
TNC Hume	620	600	690	600	700	630	670	690

Ở cả 2 vụ trồng, giá trị TDS ở dung dịch V.M 1954 cho giá trị TDS ở mỗi lần đo hầu hết đều cao hơn các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ còn lại (Bảng 2). Điều này có thể dự đoán năng suất của rau muống ở dung dịch V.M 1954 có thể đạt cao hơn các công thức còn lại.

3.2. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến các chỉ tiêu sinh lý cây rau muống

Chỉ số SPAD đánh giá hàm lượng chlorophyll trong lá cây và là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng quang hợp của cây trồng. Theo Zhang và Oweis (1998), nhiều nghiên cứu đã cho thấy, có tương quan

giữa chỉ số SPAD và cường độ quang hợp của cây trồng.

Ở vụ hè, chỉ số SPAD của dung dịch V.M 1954 đạt cao nhất ở cả 2 lần thu hoạch, sai khác không có ý nghĩa so với dung dịch Vegano và có ý nghĩa thống kê so với dung dịch TNC Hume ở lần thu 2. Ở vụ hè thu, chỉ số SPAD ở lần thu hoạch thứ 3 đạt cao nhất ở dung dịch Vegano sai khác không có ý nghĩa so với dung dịch V.M 1954 và sai khác có ý nghĩa so với TNC Hume. Ở cả 2 vụ trồng, dung dịch TNC Hume đều cho chỉ số SPAD thấp nhất, điều này có thể dẫn đến năng suất thấp ở dung dịch này (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến chỉ số SPAD, diện tích lá của rau muống tại các lần thu hoạch

Dung dịch dinh dưỡng	Vụ hè				Vụ hè thu				
	Lần 1		Lần 2		Lần 1		Lần 2		Lần 4
	SPAD	DT lá (dm ² /cây)	SPAD	DT lá (dm ² /cây)	DT lá (dm ² /cây)	DT lá (dm ² /cây)	SPAD	DT lá (dm ² /cây)	
V.M 1954	34,10 ^a	1,36 ^a	35,50 ^a	1,68 ^a	1,04 ^a	0,95 ^a	40,81 ^a	1,07 ^a	1,07 ^a
Vegano	32,90 ^a	1,16 ^a	32,50 ^{ab}	1,59 ^{ab}	1,04 ^a	0,90 ^a			1,04 ^b
TNC Hume	31,20 ^a	1,09 ^a	31,90 ^b	1,39 ^b	0,00	0,64 ^b	41,53 ^a	1,04 ^b	1,01 ^c
					0,70	2,80	33,70 ^b	0,97 ^c	0,10
					1,13E-02	5,32E-02			2,58E-03
CV(%)	7,60	3,30	6,80	1,90			1,10	0,60	
LSD _{0,05}	4,80	0,90	3,20	0,27			0,93	1,30E-02	

Ghi chú: Các giá trị trung bình cùng cột mang mũ cùng chữ cái là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P=0,05$) và ngược lại khi khác chữ là khác nhau có ý nghĩa. DT: diện tích.

Lá là cơ quan quang hợp của cây, trong lá có diệp lục với hệ sắc tố quang hợp hấp thụ ánh sáng và truyền năng lượng hấp thụ được để cố định CO₂ sau đó tổng hợp tạo thành vật chất hữu cơ cho cây. Khi tăng diện tích lá cây sẽ tăng khả năng hấp thụ ánh sáng và tăng cường độ quang hợp để tăng năng suất cho cây. Vụ hè, diện tích lá/cây của rau muống ở dung dịch V.M 1954 đạt cao nhất và TNC Hume đạt thấp nhất ở cả 2 lần thu hoạch. Vụ hè thu, dung dịch TNC Hume chỉ cho thu hoạch 3 lần, các dung dịch dinh

dưỡng còn lại cho thu hoạch 4 lần. Dung dịch V.M 1954 có diện tích lá/cây đạt cao nhất ở cả 4 lần thu hoạch, nhưng chỉ sai khác có ý nghĩa so với dung dịch còn lại ở lần thu hoạch thứ 3 và 4, trong khi đó dung dịch TNC Hume có diện tích lá thấp nhất ở cả 3 lần thu hoạch (Bảng 3). Diện tích lá/cây cao ở dung dịch V.M 1954 là tiền đề để đạt được năng suất cao.

3.3. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến sự sinh trưởng của bộ rễ cây rau muống

Rễ là cơ quan quan trọng làm nhiệm vụ hút nước và dinh dưỡng của cây trong hệ thống thủy canh, số lượng rễ chính nhiều, khối lượng rễ lớn là tiền đề cho cây rau có thể hút được nhiều dinh dưỡng và sinh trưởng và phát triển tốt. Ở vụ hè, chiều dài rễ ở cả 3 dung dịch dinh dưỡng không có sự sai khác dao động từ 21,31 - 24,36 cm, khối lượng rễ khô đạt cao nhất ở dung dịch V.M 1954 sai khác có ý nghĩa so với các dung

dịch còn lại, số lượng rễ chính cũng đạt cao nhất ở V.M 1954 nhưng sai khác không có ý nghĩa so với Vegano. Ở vụ hè thu, dung dịch V.M 1954 đạt chiều dài rễ chính, khối lượng rễ khô và số rễ chính cao nhất sai khác có ý nghĩa so với các dung dịch còn lại, khối lượng rễ khô ở dung dịch V.M 1954 cao gấp 2,58 và 2,53 lần so với Vegano và TNC Hume tương ứng (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến sự sinh trưởng của bộ rễ cây rau muống

Dung dịch dinh dưỡng	Vụ hè			Vụ hè thu		
	CD rễ (cm)	KL rễ khô (g/cây)	Số rễ chính	CD rễ (cm)	KL rễ khô (g/cây)	Số rễ chính
V.M 1954	23,42 ^a	3,60 ^a	22,89 ^a	19,07 ^a	1,32 ^a	18,80 ^a
Vegano	21,31 ^a	2,26 ^b	21,11 ^{ab}	14,41 ^c	0,51 ^b	16,60 ^b
TNC Hume	24,26 ^a	1,92 ^b	14,11 ^c	16,60 ^b	0,52 ^b	13,53 ^c
CV(%)	9,70	10,00	11,50	0,80	17,00	3,60
LSD _{0,05}	5,10	1,30	5,10	0,31	0,30	1,34

Ghi chú: Các giá trị trung bình cùng cột mang mũ cùng chữ cái là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P=0,05$) và ngược lại khi khác chữ là khác nhau có ý nghĩa. CD: chiều dài;

KL: Khối lượng.

Ở cả 2 vụ trồng, bộ rễ cây rau muống ở dung dịch V.M 1954 phát triển tốt hơn các dung dịch còn lại, đây chính là điều kiện để V.M 1954 có thể cho năng suất cao so với các dung dịch còn lại (Bảng 4).

3.4. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng đến chỉ tiêu năng suất và chất lượng sản phẩm của rau muống tại các lần thu hoạch

Để đánh giá tỷ lệ héo của rau muống trong điều kiện nhiệt độ phòng chúng tôi đánh giá qua khối lượng hao hụt của rau của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ khác nhau tại lần thu hoạch thứ 2 ở cả hai vụ hè và hè thu, số liệu được thể hiện qua bảng 5. Tỷ lệ héo của rau tăng dần từ 1h sau thu hoạch đến 24h sau thu hoạch. Dung dịch dinh dưỡng hữu cơ được sử dụng làm dung dịch thủy

canh có tác dụng giảm khối lượng hao hụt của rau sau thu hoạch so với dung dịch vô cơ làm dung dịch thủy canh (Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs., 2015a), tuy nhiên 1h sau thu hoạch khối lượng của rau đã thể hiện sự hao hụt từ 4,07 - 4,40% ở vụ hè và 2,97 - 4,84% ở vụ hè thu, đến 24h sau thu hoạch khối lượng hao hụt của rau muống từ 28,37 - 30,70% trong vụ hè và 22,89 - 29,84% ở vụ hè thu (Bảng 5). Khối lượng hao hụt này tương đối thấp do dung dịch dinh dưỡng hữu cơ được chiết xuất từ vật liệu có nguồn gốc hữu cơ chứa nhiều thành phần tương tự như phân hữu cơ nên giúp cây có khả năng giữ nước trong tế bào tốt hơn khi điều kiện bất lợi xảy ra.

Ở vụ hè, tất cả các thời điểm theo dõi sau thu hoạch, khối lượng hao hụt của rau

muống không có sự sai khác về mặt thống kê giữa các công thức sử dụng dung dịch dinh dưỡng trừ 5h sau thu hoạch dung dịch Vegano cho khối lượng hao hụt thấp nhất sai khác có ý nghĩa so với dung dịch V.M 1954 và không có ý nghĩa so với TNC Hume (Bảng 5).

Ở vụ hè thu, dung dịch V.M 1954 cho khối lượng hao hụt thấp nhất và sai khác có ý nghĩa so với các dung dịch còn lại, tiếp đến là dung dịch TNC Hume và đạt cao nhất là dung dịch Vegano. Điều này chứng tỏ, rau thủy canh sử dụng dung dịch V.M 1954 có các hợp chất hữu cơ giúp cây có khả năng giữ nước trong tế bào tốt hơn vì thế tươi lâu hơn so với 2 dung dịch còn lại (Bảng 5).

Bảng 5. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đến khối lượng hao hụt (%) của rau muống sau thu hoạch trong điều kiện phòng

Dung dịch dinh dưỡng	1h STH	3h STH	5h STH	8h STH	12h STH	24h STH
Vụ hè						
V.M 1954	4,40 ^a	9,53 ^a	14,27 ^a	19,57 ^a	22,90 ^a	28,37 ^a
Vegano	4,37 ^a	8,37 ^a	12,73 ^b	18,93 ^a	22,13 ^a	30,70 ^a
TNC Hume	4,07 ^a	9,33 ^a	13,30 ^{ab}	19,30 ^a	23,40 ^a	30,23 ^a
CV(%)	13,10	15,70	7,20	7,30	7,40	5,90
LSD _{0,05}	2,20	3,20	1,20	3,20	3,80	4,00
Vụ hè thu						
V.M 1954	2,97 ^c	6,39 ^c	10,58 ^c	14,58 ^c	18,33 ^c	22,89 ^c
Vegano	4,84 ^a	10,13 ^a	15,08 ^a	20,34 ^a	25,27 ^a	29,84 ^a
TNC Hume	3,56 ^b	9,26 ^b	13,35 ^b	16,96 ^b	18,64 ^b	23,40 ^b
CV(%)	3,40	3,10	3,20	2,20	1,60	0,80
LSD _{0,05}	1,50E-02	2,10E-02	2,63E-02	2,15E-02	1,67E-02	9,74E-03

Ghi chú: STH: sau thu hoạch. Các giá trị trung bình cùng cột mang mũ cùng chữ cái là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P=0,05$) và ngược lại khi khác chữ là khác nhau có ý nghĩa.

Khối lượng chất khô tích lũy của cây là khối lượng sau khi sấy khô cây trồng. Khối lượng tích lũy chất khô của cây thể hiện sức hấp thụ dinh dưỡng của cây trong hệ thống thủy canh. Nguyễn Thị Ngọc Đình & cs (2015a) đã chỉ ra rằng sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ trong sản xuất rau thủy canh đã làm tăng hàm lượng chất khô. Ở vụ hè, rau muống có hàm lượng chất khô tích lũy cao nhất ở dung dịch V.M 1954 sai khác không có ý nghĩa so với dung dịch TNC Hume và thấp nhất là Vegano ở cả 2 lần thu hoạch. Ở vụ hè thu, dung dịch V.M 1954 có hàm lượng chất khô đạt cao nhất và

sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy 95% so với các dung dịch còn lại ở lần thu hoạch 1, 2, 3. Ở lần thu 4, dung dịch Vegano có hàm lượng chất khô cao nhất, tiếp đến là V.M 1954, sai khác có ý nghĩa thống kê (Bảng 6). Nguyên nhân làm tăng hàm lượng chất khô của rau muống khi sử dụng dung dịch V.M 1954 là do cây có bộ rễ phát triển tốt hơn các dung dịch còn lại (Bảng 4).

Nhìn chung, sử dụng dung dịch dinh dưỡng hữu cơ khác nhau cho năng suất thực thu của rau muống khác nhau có ý nghĩa thống kê ở cả 2 vụ trồng (Bảng 6). Tại vụ hè, dung dịch V.M 1954 cho năng suất thực thu

cao nhất ở cả 2 lần thu hoạch, thấp nhất là TNC Hume. Ở vụ hè thu, dung dịch V.M 1954 cho năng suất thực thu cao nhất và sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy 95% so với các dung dịch còn lại ở cả 4 lần thu. Dung dịch TNC Hume chỉ cho thu hoạch 3 lần và mỗi lần thu hoạch đều cho năng suất thấp nhất

(Bảng 6). Điều này được giải thích do dung dịch TNC Hume có giá trị TDS thường thấp hơn các dung dịch còn lại (Bảng 2), bộ rễ kém phát triển (Bảng 4), chỉ số SPAD và diện tích lá thấp (Bảng 3), bên cạnh đó dung dịch V.M 1954 cho các chỉ tiêu trên đều cao nhất.

Bảng 6. Ảnh hưởng của các dung dịch dinh dưỡng đến chỉ tiêu năng suất và chất lượng sản phẩm của rau muống tại các lần thu hoạch

Dung dịch dinh dưỡng	Hàm lượng chất khô tích lũy (%)				Năng suất thực thu (kg/m ²)			Độ Brix (%)				Hàm lượng NO ₃ ⁻ (mg/kg)	
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 1	Lần 2	Lần 3		Lần 4
Vụ hè													
V.M 1954	10,60 ^a	12,86 ^a			0,93 ^{ab}	1,15 ^a			2,43 ^a	2,60 ^a			369,20 ^b
Vegano TNC	9,70 ^b	12,02 ^b			1,02 ^a	0,64 ^b			2,30 ^a	2,43 ^b			527,50 ^{ab}
Hume	9,96 ^{ab}	12,27 ^{ab}			0,48 ^c	0,49 ^b			2,40 ^a	2,47 ^{ab}			826,70 ^a
CV (%)	4,00	2,10			11,40	23,10			9,80	6,20			24,10
LSD _{0,05}	0,81	0,57			0,05	0,09			0,50	0,16			446,00
Vụ hè thu													
V.M 1954	9,72 ^a	10,05 ^a	10,06 ^a	10,16 ^b	1,22 ^a	0,89 ^a	1,69 ^a	1,14 ^a	3,58 ^a	5,14 ^a	4,99 ^a	4,91 ^a	540,00 ^b
Vegano TNC	8,37 ^b	9,76 ^b	9,89 ^c	10,32 ^a	1,06 ^b	0,41 ^c	0,55 ^b	1,18 ^a	3,15 ^b	4,45 ^b	4,58 ^b	4,54 ^b	715,00 ^a
Hume		9,86 ^b	9,94 ^b	9,98 ^c		0,57 ^b	0,57 ^b	0,67 ^b		3,94 ^c	3,90 ^c	3,89 ^c	540,67 ^b
CV (%)	0,20	0,40	1,20	0,70	1,80	1,10	1,50	4,30	2,40	1,50	1,20	1,40	12,70
LSD _{0,05}	8,2E-04	2,8E-03	8,8E-03	5,1E-03	7,4E-03	3,6E-03	7,6E-03	0,02	0,12	0,15	0,13	0,14	171,86

Ghi chú: Các giá trị trung bình cùng cột mang mũ cùng chữ cái là khác nhau không có ý nghĩa thống kê (P=0,05) và ngược lại khi khác chữ là khác nhau có ý nghĩa.

Với dung dịch V.M 1954, năng suất thực thu của rau muống đạt cao nhất ở các lần thu hoạch ở cả 2 vụ trồng, chúng tôi tính toán năng suất thực thu rau muống trên diện tích 1000m² sản xuất bằng công nghệ thủy canh động với giá thể. Ở vụ hè, tổng năng suất thực thu của rau muống với 2 lần thu hoạch tính trên 1000m² là 2080kg trong thời gian 45 ngày. Ở vụ hè thu, năng suất thực thu của rau muống ở 4 lần thu hoạch tính trên 1000m² là 4940kg trong thời gian 67 ngày.

Độ Brix (độ ngọt) của rau muống ở dung dịch V.M 1954 đạt cao nhất ở cả 2 vụ trồng và tất cả các lần thu hoạch rau. Rau muống trắng trồng ở vụ hè thu có ngọt cao hơn so với vụ hè ở tất cả các dung dịch. Ở vụ hè thu, dung dịch V.M 1954 cho độ ngọt cao nhất và sai khác có ý nghĩa so với các dung dịch còn lại ở cả 4 lần thu. Độ ngọt của rau muống ở các dung dịch dinh dưỡng hữu cơ đều cao (Bảng 6), điều này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Dinh & cs. (2015a).

Nitrat là dạng chất đạm hiện diện trong rau và là thông số để xác định chất lượng của rau. Sử dụng lượng nitrat ít hoặc vừa đủ sẽ giúp cho rau có màu xanh, nhìn đẹp mắt. Sau khi tích lũy trong cơ thể con người, nitrat sẽ chuyển hóa thành Nitrit và nitric oxide gây nguy cho sức khỏe con người (Habermeyer & cs., 2015). Sự có mặt của nitrat trong nông sản sẽ ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người và dư lượng nitrat trong mô thực vật vượt ngưỡng an toàn được xem như là một độc chất. Theo quy định của Bộ NN & PTNT, ngưỡng hàm lượng Nitrat trong rau muống là nhỏ hơn 600 mg/kg (Quyết định số 99/2008/QĐ-BNN ngày 15/10/2008 của Bộ NN & PTNT). Ở cả 2 vụ hè và hè thu, rau muống trồng sử dụng dung dịch thủy canh V.M 1954 có hàm lượng NO₃⁻ đạt ngưỡng an toàn với sức khỏe con người (Bảng 6).

Quá trình làm thử nghiệm, chúng tôi có sử dụng dung dịch phòng trừ sâu bệnh hại được chiết xuất từ gừng, tỏi, ớt. Quan sát trong quá trình thử nghiệm cho thấy, rau muống trồng thủy canh rất ít bị sâu bệnh hại.

5. KẾT LUẬN

Trong hệ thống thủy canh động với giá thể thì dung dịch dinh dưỡng V.M 1954 với nồng độ 1,5‰ cho các chỉ tiêu về sinh trưởng, năng suất và chất lượng tốt nhất đối với rau muống. Trên diện tích 1000 m², trồng rau muống có thể cho năng suất 2080kg trong thời gian 45 ngày vụ hè và 4940kg trong thời gian 67 ngày vụ hè thu. Vì thế, cần tiếp tục sản xuất rau muống bằng công nghệ thủy canh động với giá thể, sử dụng dinh dưỡng hữu cơ V.M 1954 kết hợp với ứng dụng công nghệ cao trong điều khiển tự động về dinh dưỡng và điều kiện môi trường để sản xuất rau muống với số lượng

lớn, an toàn theo nguyên tắc hữu cơ và đạt chất lượng cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arancon N. Q., C. A. Edwards, Dick R. & Dick L. (2007). Vermicompost tea production and plant growth impacts. *Biocycle*. 48: 51-52.
- Cabrera R.I., Evans R.Y. & Paul J.L. (1996). The uptake of nitrate and ammonium by greenhouse roses. *Acta Hort.* 424: 53-57.
- Cometti N. N., Bremenkamp D. M., Galon K., Hell L. R., Zanotelli M. F. (2013). Cooling and concentration of nutrient solution in hydroponic lettuce crop. *Horticultura Brasileira*. 31: 287-292.
- Edwards C. A., Askar A., Vasko-Bennett M. & Arancon N. (2010). In: Edwards, C. A., N. Arancon and R. Sherman, (Eds.), *The Use and Effects of Aqueous Extracts from Vermicomposts or Teas on Plant Growth and Yields*. CRC Press, Vermiculture Technology, Boca Raton, FL. U.S.A., pp. 235-248.
- Habermeyer M., Roth, A., Guth S., Diel P., Engel K. H., Epe B., Furst P., Heinz V., Humpf H.U., Joost H. G. (2015). Nitrate and nitrite in the diet: How to assess their benefit and risk for human health. *Mol. Nutri. Food Res*. 59: 106-128.
- Inden F. (1982). Management of pH in nutrient solution. *J. Japan Agric. Hortic*. 57: 327-331.
- Nguyễn Thị Ngọc Dinh, Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Hồng Hạnh, Trần Anh Tuấn (2015a). Hiệu quả sử dụng của dung

- dịch dinh dưỡng hữu cơ trong sản xuất thủy canh tĩnh với cây rau muống. Tạp chí khoa học phát triển. 13(4): 495-501.
- Nguyễn Thị Ngọc Dinh, Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Ích Tân, Nguyễn Hồng Hạnh, Phan Thị Thủy (2015b). Ảnh hưởng của liều lượng phân giun quế đến sinh trưởng, phát triển và năng suất giống lúa ĐTL2 trong vụ xuân sản xuất theo hướng hữu cơ tại Gia Lâm, Hà Nội. Tạp chí khoa học và phát triển. 13(7): 1081-1088.
- Phạm Tiến Dũng, Nguyễn Thị Nga (2013). Ảnh hưởng của phân giun quế đến sinh trưởng, năng suất của su hào trồng trong hộp xốp theo hướng hữu cơ tại Hà Nội. Hội thảo quốc gia: Nông nghiệp hữu cơ - thực trạng và định hướng phát triển lần thứ I, tr. 230.
- Phạm Tiến Dũng, Đào Châu Thu, Lê Văn Hưng, Nguyễn Hồng Hạnh, Nguyễn Thị Ái Nghĩa, Phí Thị Diễm Hồng, Nguyễn Thị Ngọc Dinh (2016). Giáo trình Nông nghiệp hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Nông nghiệp.
- Oladimeji A. S., Olufeagba S. O., Ayuba V. O., Sololmon S.G., Okomoda V. T. (2018). Effects of different growth media on water quality and plant yield in a catfish-pumpkin aquaponics system. Journal of King Saud University - Science, pp. 1-7.
- Rakocy J. E., Hargreaves J. A. (1993). Integration of vegetable hydroponics with fish culture: a review. In: Techniques for Modern Aquaculture, Proceedings Aquacultural Engineering Conference. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, USA, pp. 112-136.
- Samakaron U.C., Weerasinghe P.A. & Weerakkody A.P. (2006). Effect of Electrical Conductivity [EC] of the nutrient solution on nutrient uptake, growth and yield of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Stationary Culture. Tropical Agricultural Research. 18(1): 13-21.
- Vũ Quang Sáng, Nguyễn Thị Nhẫn, Mai Thị Tân, Nguyễn Thị Kim Thanh (2007). Sinh lý thực vật ứng dụng. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Zhang H.P & Oweis (1998). Water yield relation and optimal irrigation scheduling of wheat in Mediterranean regions. Agriculture water management. 3: 195-211.

XÁC ĐỊNH MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT PHỤC VỤ CHO VIỆC SỬ DỤNG MÁY GIEO SẠ VÀ BÓN PHÂN THEO HÀNG GIỐNG LÚA THUẦN ĐH12 TẠI VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG HỒNG

*Hà Văn Duyên¹, Lê Văn Huy², Trần Thị Huyền²,
Nguyễn Thanh Hải³, Nguyễn Thị Hòa⁴, Trần Văn Quang⁴*

¹ Học viên cao học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

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

³ Khoa Cơ điện, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ: havanduyenhua@gmail.com

TÓM TẮT

Các thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của thời gian ủ, độ sâu gieo hạt và mật độ gieo đến năng suất giống ĐH12 được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCB) với 5 mức thời gian ủ, 5 độ sâu gieo hạt và 6 mật độ gieo. Thí nghiệm được tiến hành trong vụ Mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian ủ 12 giờ, độ sâu gieo hạt 1,0 cm và gieo với khoảng cách hàng x hàng = 20 cm; cây x cây từ 11,0 - 12,5 cm (mật độ 40 - 45 khóm/m²) phù hợp cho giống ĐH12 đạt năng suất cao. Kết quả thí nghiệm là cơ sở dữ liệu tham khảo cho việc sử dụng máy gieo sạ và bón phân theo hàng có trợ giúp của khí động.

Từ khóa: Thời gian ủ, độ sâu gieo hạt, mật độ gieo, giống lúa thuần ĐH12.

DETERMINATION OF TECHNICAL MEASURES TO USE AIR-ASSISTED STRIP SEEDER FOR CULTIVATION INBRED RICE CULTIVARS ĐH12 IN RED RIVER DELTA

ABSTRACTS

The experiments of influence of germination time, seeding depth and sowing density for inbred rice cultivars ĐH12 yield has been designed randomized completed block (RCB) with five germination time level, five seeding depth level and six sowing density level. These experiments were conducted in the summer season 2019 at Gialam district, Hanoi. The results show that: germination time is 12 hours; sowing depth is 1.0 cm; and sowing density: row x row = 20 cm; hill x hill from 11.0 to 12.5 cm (sowing density 40 - 45 hills/m²) are suitable for ĐH12 cultivars to get high yield. The results are databases for using air-assisted strip seeder.

Keywords: Germination time, seeding depth, sowing density, inbred rice cultivars ĐH12.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở châu Á, lúa thường được trồng bằng cây trên đất có tưới để giảm mất nước, kiểm soát cỏ dại, tạo điều kiện cho cây sinh trưởng trong điều kiện yếm khí (Sanchez, 1973). Tuy nhiên, canh tác lặp đi lặp lại ảnh hưởng xấu đến tính chất của đất, phá hủy kết cấu của đất, giảm tính thấm bề mặt và hình thành các vùng có độ nông, sâu khác nhau (Sharma & cs., 2003), tất cả đều ảnh hưởng tiêu cực đến canh tác luân canh cây trồng sau lúa (Tripathi & cs., 2005). Hơn nữa, việc tạo ra vùng đất canh tác có nước tưới đòi hỏi lượng lớn về nước và công lao động; cả hai yếu tố này làm giảm lợi nhuận trong sản xuất lúa. Chính vì vậy, đòi hỏi sự chuyển dịch lớn từ sản xuất lúa cấy sang gieo thẳng. Theo Pandey & Velasco (2005), công lao động thấp và đủ nước phù hợp cho việc cấy, trong khi công lao động cao và ít nước có lợi cho việc gieo thẳng. Furuhashi & cs. (2015) cho rằng khi canh tác lúa bằng máy gieo hạt theo hàng có trợ giúp của khí động (air-assisted strip seeder) có số bông và năng suất cao hơn so với máy sạ hạt theo khóm (shooting hill-seeder) do lúa đẻ nhánh sớm hơn, tỷ lệ nhánh hữu hiệu cao hơn. Tương tự, khi sử dụng máy bón phân bằng khí động cây lúa sinh trưởng phát triển tốt hơn so với phương thức sử dụng máy cấy khóm.

Ở Việt Nam, theo Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020), trong những năm gần đây, mức độ cơ giới hóa một số khâu trong nông nghiệp đạt tỷ lệ cao và tăng nhanh. Đối với lĩnh vực trồng trọt, khâu làm đất lúa đạt 95%; khâu chăm sóc, bảo vệ thực vật lúa và các cây trồng khác đạt khoảng 70%; khâu thu hoạch lúa đạt 70%. Nhờ đó, đã nâng cao

năng suất và giá trị gia tăng của sản phẩm nông nghiệp, tạo tiền đề quan trọng để xây dựng nền nông nghiệp hiện đại, ứng dụng công nghệ cao. Cơ giới hóa nông nghiệp đã giải quyết khâu lao động nặng nhọc, tính thời vụ, đồng thời thúc đẩy quá trình liên kết sản xuất, hình thành các tổ chức dịch vụ ở nông thôn. Tuy nhiên, tại các tỉnh phía Bắc, diện tích gieo cấy lúa bằng máy (2 vụ/năm) khoảng 57,0 nghìn ha chiếm 2,4% diện tích, trong đó vùng đồng bằng sông Hồng có 38,0 nghìn ha chiếm 3,8%. Nguyên nhân là do khâu làm mạ khay còn phức tạp, chi phí cao và đồng ruộng còn manh mún (Trung tâm Khuyến nông quốc gia, 2019).

Những năm gần đây, nông dân đang chuyển dần từ việc cấy lúa truyền thống sang gieo sạ, nhưng các máy gieo sạ đang sử dụng phổ biến lại là các công cụ gieo sạ kéo tay, một số ít được liên hợp với máy kéo (Lê Văn Bảnh, 2015). Hầu hết các loại máy gieo này đều có chung nguyên lý làm việc: dựa vào sự rơi tự do của mộng mạ qua lỗ nhỏ, do đó gieo sạ không đều. Khả năng rơi tự do của hạt mộng mạ qua lỗ nhỏ phụ thuộc vào nhiều yếu tố: lượng mộng mạ trong thùng chứa, kích thước của hạt thóc giống, kích thước của rãnh mộng, độ ẩm ướt của mộng mạ và của lỗ thoát mộng mạ. Mặt khác, các máy sạ có thùng chứa mộng mạ quay, trong quá trình gieo, mộng mạ bị xoay, chà xát vào nhau dẫn đến bị tổn thương mầm và rễ, ảnh hưởng nhiều đến sự phát triển của cây con; mật độ cây lúa chưa đều nhau. Hơn nữa, theo nghiên cứu của Viện nghiên cứu và Phát triển đồng bằng sông Cửu Long, Đại học Cần Thơ thì sạ hàng cho năng suất, số bông chắc cao hơn sạ lan trong khi lượng hạt giống của sạ hàng thấp hơn (Nguyễn Thành Tâm và Đặng Kiều Nhân, 2014). Yêu cầu thực tiễn đặt ra là cần

phải có máy gieo sạ theo hàng, đảm bảo độ đồng đều, hạt gieo có độ chìm trong bùn từ đó tăng khả năng nảy mầm, tránh chim chuột phá hoại, đảm bảo sự phát triển của cây non. Khâu bón phân cũng được liên hợp với máy gieo đảm bảo sự đồng đều của phân bón lót, tiết kiệm chi phí phân bón, từ đó tiết kiệm chi phí sản xuất và nâng cao hiệu quả kinh tế của sản xuất lúa.

Trong bài báo này, trình bày kết quả đánh giá được ảnh hưởng của một số biện pháp kỹ thuật để xây dựng qui trình canh tác lúa thông qua sử dụng máy gieo sạ và bón phân theo hàng tại vùng đồng bằng sông Hồng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Giống lúa thuần DH12 do Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam sản xuất, đảm bảo chất lượng của Bộ Nông nghiệp và PTNT

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm được triển khai trong vụ Mùa 2019 tại khu thí nghiệm đồng ruộng, Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Thị trấn Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội. Đất làm thí nghiệm là đất phù sa không được bồi đắp thường xuyên. Lượng phân bón cho tất cả các thí nghiệm là 100 kg N + 100 kg P₂O₅ + 75 kg K₂O/ha. Bao gồm 03 thí nghiệm sau:

** Thí nghiệm 1:* Xác định thời gian ủ thích hợp cho gieo sạ. Giống được ngâm 60 giờ (vụ Xuân) và 48 giờ (vụ Mùa) tiến hành ủ giống, thời gian sau ủ là công thức thí nghiệm, gồm 5 công thức sau: U1: gieo ngay khi ngâm (không ủ); U2: gieo sau ủ 12

giờ; U3: gieo sau ủ 18 giờ; U4: gieo sau ủ 24 giờ; U5: gieo sau ủ 30 giờ. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên (RCB) với 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 1,0 m². Ở tất cả công thức, hạt giống lúa được gieo sạ bằng việc sử dụng panh cố định độ sâu 1,0 cm, mật độ sạ 40 lỗ/m², mỗi lỗ gieo 01 hạt.

** Thí nghiệm 2:* Xác định độ sâu gieo hạt thích hợp cho gieo sạ theo hàng. Thí nghiệm gồm 5 mức: D1: độ sâu gieo hạt 0 cm; D2: độ sâu gieo hạt 0,5 cm; D3: độ sâu gieo hạt 1,0 cm; D4: độ sâu gieo hạt 1,5 cm; D5: độ sâu gieo hạt 2,0 cm. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên (RCB) với 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 1,0 m².

** Thí nghiệm 3:* Xác định mật độ gieo sạ thích hợp. Thí nghiệm gồm 6 công thức sau: M1: hàng x hàng = 20 cm; cây x cây = 10,0 cm (50 khóm/m²); M2: hàng x hàng = 20 cm; cây x cây = 11,0 cm (45 khóm/m²); M3: hàng x hàng = 20 cm; cây x cây = 12,5 cm (40 khóm/m²); M4: hàng x hàng = 25 cm; cây x cây = 8,0 cm (50 khóm/m²); M5: hàng x hàng = 25 cm; cây x cây = 9,0 cm (45 khóm/m²); M6: hàng x hàng = 25 cm; cây x cây = 10,0 cm (40 khóm/m²). Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên (RCB) với 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 10m².

Các thí nghiệm trên bố trí theo phương pháp của Gome A.A. and Gome K.A. (1984). Các chỉ tiêu được đánh giá theo phương pháp của Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI, 2002). Số liệu của các thí nghiệm được tổng hợp và xử lý theo phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), chương trình IRRISTAT 5.0 và Excel.

4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của thời gian ủ đến sinh trưởng và năng suất của giống lúa ĐH12

Kết quả thí nghiệm cho thấy thời gian ủ khác nhau cho chiều dài mầm, tỷ lệ sống và thời gian sinh trưởng khác nhau. Khi tăng thời gian ủ, mầm dài từ 0 mm (không ủ) đến 6,8 mm (ủ 30 giờ). Tuy nhiên khi tăng chiều dài mầm làm tỷ lệ sống của giống giảm đi đáng kể chỉ còn 60% với công thức U5 (ủ 30 giờ). Các công thức ủ 12, 18 và 24 giờ cho tỷ lệ sống ở mức tương đương nhau,

biến động từ 84 - 88%. Thời gian ủ ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian sinh trưởng, biến động từ 105 ngày (không ủ) đến 110 ngày (ủ 30 giờ). Như vậy, trong điều kiện vụ Mùa ở vùng đồng bằng sông Hồng, khi gieo sạ nên ngâm 48 giờ và ủ với thời gian từ 12 đến 24 giờ để có tỷ lệ sống trên đồng ruộng cao. Kết quả nghiên cứu phù hợp với công bố của Kamboj & cs. (2012) cho rằng thời gian ủ không quá 24 giờ và độ sâu gieo hạt không quá 2,0 cm phù hợp cho việc gieo sạ bằng máy.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian ủ đến chiều dài mầm, tỷ lệ sống và thời gian sinh trưởng của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Chiều dài mầm (mm)	Tỷ lệ sống (%)	Thời gian sinh trưởng (ngày)
1	U1	0	75	105
2	U2	1,0	85	106
3	U3	2,3	88	107
4	U4	3,5	84	107
5	U5	6,8	60	110

Thời gian ủ khác nhau không ảnh hưởng nhiều đến chiều cao cây, chiều dài bông, chiều dài cổ bông, chiều dài lá đòng và số gié cấp 1 của giống ĐH12 trong vụ

Mùa 2019. Chiều cao cây biến động từ 104,3 - 106,5 cm; chiều dài bông từ 23,5 - 24,2 cm; chiều dài lá đòng từ 28,5 cm đến 32,5 cm; số gié cấp 1 từ 13 - 14 gié.

Bảng 2. Một số đặc điểm nông sinh học của giống lúa thuần ĐH12 ở các thời điểm ủ khác nhau trong vụ Mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

TT	Công thức	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài cổ bông (cm)	Chiều dài lá đòng (cm)	Chiều rộng lá đòng (cm)	Số gié cấp 1
1	U1	105,2	23,5	5,4	28,5	1,9	13
2	U2	106,5	24,0	5,0	30,7	1,9	13
3	U3	105,0	24,2	6,2	29,2	1,8	13
4	U4	108,5	23,7	6,0	32,5	1,9	14
5	U5	104,3	23,7	5,5	30,6	1,9	14

Số bông trên khóm của giống ĐH12 thay đổi ở thời gian ủ khác nhau, đạt cao nhất ở công thức gieo sạ sau khi ủ 12 giờ (U2). Tỷ lệ hạt chắc giảm khi thời gian ủ tăng,

nhận thấy ở công thức U1, U2 và U3 cho tỷ lệ hạt chắc cao hơn cả. Khối lượng 1.000 hạt của giống ĐH12 không thay đổi giữa các công thức thí nghiệm đạt 24,0 gam. Năng suất lý thuyết của các công thức thí nghiệm

dao động từ 63,7 - 80,7 tạ/ha. Năng suất thực thu của các công thức dao động từ 51,3 - 63,2 tạ/ha và giảm dần khi tăng độ sâu.

Công thức U2 có năng suất lý thuyết cao nhất đạt 63,2 tạ/ha. Như vậy, thời gian ủ 12 giờ phù hợp cho việc gieo sạ.

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian ủ đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

TT	Công thức	Số bông/ khóm	Số hạt/ bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Khối lượng 1.000 hạt (gam)	Năng suất lý thuyết (tạ/ha)	Năng suất thực thu (tạ/ha)
1	U1	5,6	160,2	88,2	24,0	76,0	59,7
2	U2	6,2	158,3	85,7	24,0	80,7	63,2
3	U3	5,6	162,5	84,1	24,0	73,5	57,5
4	U4	5,5	159,7	82,3	24,0	69,4	55,6
5	U5	5,2	162,5	78,5	24,0	63,7	51,3
CV%							6,7
LSD _{0,05}							3,6

4.2. Ảnh hưởng của độ sâu gieo hạt đến sinh trưởng và năng suất giống lúa ĐH12

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở các độ sâu gieo hạt khác nhau tỷ lệ sống khác nhau. Khi gieo hạt ở độ sâu càng lớn tỷ lệ sống của cây mạ càng giảm, cao nhất ở công thức

1, tỷ lệ sống đạt 95%, tiếp đến là 82% và giảm xuống còn 28% ở công thức 5 với độ sâu gieo hạt là 2,0 cm. Như vậy, nên thiết kế máy cấy có độ sâu gieo hạt ở mức 1,0 cm để đảm bảo tỷ lệ sống cao.

Bảng 4. Ảnh hưởng của độ sâu gieo hạt đến một số đặc điểm nông sinh học của giống lúa thuần ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài cổ bông (cm)	Chiều dài lá đòng (cm)	Chiều rộng lá đòng (cm)	Số gié cấp 1
1	D1	95	104	105,2	23,5	5,4	28,5	1,9	13
2	D2	82	105	106,5	24,0	5,0	30,7	1,9	13
3	D3	66	106	105,0	24,2	6,2	29,2	1,9	13
4	D4	50	108	107,5	23,7	6,0	32,5	1,9	13
5	D5	28	110	104,3	23,7	5,5	30,6	1,9	13

Độ sâu gieo hạt khác nhau ảnh hưởng đến thời gian sinh trưởng của giống lúa thuần ĐH12. Khi tăng độ sâu gieo hạt, thời gian sinh trưởng của giống kéo dài từ 104 ngày (sâu 0 cm) đến 110 ngày (gieo sâu 2,0 cm). Độ sâu gieo hạt không ảnh hưởng đến chiều cao cây của giống ĐH12 ở các công thức thí nghiệm (biến động từ 104,3 - 106,5

cm), chiều dài bông (biến động từ 23,5 - 24,2 cm), chiều dài lá đòng (biến động từ 28,5 - 32,5 cm), chiều rộng lá đòng (1,9 cm) và số gié cấp 1 (13 gié).

Số bông trên khóm của giống ĐH12 ở các công thức thí nghiệm giảm dần khi tăng độ sâu gieo hạt. Tương tự, tỷ lệ hạt chắc cũng giảm xuống khi tăng độ sâu gieo hạt,

nhận thấy ở công thức D1, D2 và D3 cho tỷ lệ hạt chắc cao hơn cả. Khối lượng 1.000 hạt của giống ĐH12 không thay đổi giữa các công thức thí nghiệm đạt 24,0 gam. Năng suất lý thuyết của giống ở các công thức thí nghiệm dao động từ 63,5 - 76,3 gam. Năng suất thực thu của các công thức dao động từ

49,8 - 59,5 tạ/ha và giảm dần khi tăng độ sâu. Công thức D3 cho năng suất thực thu cao nhất đạt 59,5 tạ/ha. Như vậy, độ sâu gieo hạt khoảng 1,0 cm phù hợp cho giống lúa ĐH12 sinh trưởng, phát triển tốt và đạt năng suất cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của độ sâu gieo hạt đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Số bông/ khóm	Số hạt/ bông	Tỷ lệ hạt chắc	Khối lượng 1.000 hạt (gam)	Năng suất lý thuyết (tạ/ha)	Năng suất thực thu (tạ/ha)
1	D1	5,4	150,3	87,2	24	67,9	53,2
2	D2	5,5	158,5	85,0	24	71,1	55,6
3	D3	5,8	160,6	85,3	24	76,3	59,5
4	D4	5,2	155,2	82,0	24	63,5	50,2
5	D5	5,1	162,5	80,5	24	64,0	49,8
CV%							5,8
LSD _{0,05}							2,7

4.3. Ảnh hưởng của mật độ gieo đến sinh trưởng và năng suất giống lúa ĐH12

Kết quả đánh giá cho thấy mật độ gieo khác nhau không ảnh hưởng đến thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chiều dài bông, chiều rộng lá đòng nhưng ảnh hưởng đến

chiều dài lá đòng và số gié cấp 1 của giống lúa thuần ĐH12. Khi tăng mật độ gieo theo hàng chiều dài lá đòng tăng, biến động từ 28,5 - 32,5 cm. Tương tự khi tăng khoảng cách hàng x hàng, số gié cấp 1 tăng từ 13 lên 14 gié/bông.

Bảng 6. Ảnh hưởng của mật độ gieo đến một số đặc điểm nông sinh học của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài cổ bông (cm)	Chiều dài lá đòng (cm)	Chiều rộng lá đòng (cm)	Số gié cấp 1
1	M1	105	105,2	23,5	5,4	28,5	1,9	13
2	M2	106	106,5	24,0	5,0	30,7	1,9	13
3	M3	106	105,0	24,2	6,2	29,2	1,9	13
4	M4	106	108,5	23,7	6,0	32,5	1,9	14
5	M5	106	104,3	23,7	5,5	30,6	1,9	14
6	M6	116	105,5	24,2	6,1	32,1	1,9	14

Trong vụ Mùa 2019, ở các công thức thí nghiệm giống ĐH12 nhiễm nhẹ sâu bệnh hại như sâu đục thân, sâu cuốn lá, bệnh đạo ôn, khô vằn và bạc lá; không bị nhiễm rầy

nâu (điểm 1-3). Tuy nhiên, ở các mật độ M1, M2 và M3 (hàng cách hàng 20 cm) bị bệnh khô vằn, bạc lá nặng hơn so với mật độ M4, M5 và M6 (hàng cách hàng 25 cm).

Bảng 7. Ảnh hưởng của mật độ gieo đến mức độ nhiễm sâu bệnh hại của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Sâu hại (điểm)			Bệnh hại (điểm)		
		Đục thân	Cuốn lá	Rầy nâu	Đạo ôn	Khô vằn	Bạc lá
1	M1	0	0	0	1	3	3
2	M2	1	0	0	1	3	3
3	M3	0	1	0	1	3	3
4	M4	1	1	0	1	1	1
5	M5	3	0	0	1	1	1
6	M6	1	3	0	1	1	1

Số bông trên khóm của các công thức thí nghiệm thay đổi ở các mật độ gieo khác nhau từ 5,1 đến 6,5 bông/khóm. Tương tự, tỷ lệ hạt chắc cũng thay đổi khác nhau khi thay đổi mật độ gieo hạt, từ 83,5 - 87,3%. Khối lượng 1.000 hạt của giống ĐH12 không thay đổi giữa các công thức thí nghiệm, đạt 24,0 gam. Năng suất lý thuyết của giống ở của các công thức thí nghiệm dao động từ 71,7 - 91,4 tạ/ha. Năng suất

thực thu dao động từ 55,3 - 69,5 tạ/ha; công thức M2 và M3 cho năng suất thực thu cao đạt trên 65 tạ/ha và không có sự sai khác. Như vậy, để giống ĐH12 đạt năng suất cao nên gieo sạ với khoảng cách: hàng x hàng = 20 cm; cây x cây từ 11,0 - 12,5 cm (mật độ 40 - 45 khóm/m²). Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Virk & cs. (2018) cho rằng gieo sạ bằng máy hàng cách hàng 23 cm và cây cách cây là 11,5 cm.

Bảng 8. Ảnh hưởng của mật độ và khoảng cách gieo đến năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của giống ĐH12 trong vụ Mùa 2019

TT	Công thức	Số bông/khóm	Số hạt/bông	Tỷ lệ hạt chắc	Khối lượng 1.000 hạt (gam)	Năng suất lý thuyết (tạ/ha)	Năng suất thực thu (tạ/ha)
1	M1	5,5	159,3	85,2	24,0	71,7	55,3
2	M2	6,2	178,5	86,0	24,0	91,4	69,5
3	M3	6,5	165,6	87,3	24,0	90,2	67,8
4	M4	6	163,2	85,0	24,0	79,9	60,2
5	M5	5,8	165,5	85,5	24,0	78,8	58,7
6	M6	5,5	159,3	83,5	24,0	71,7	55,3
CV%							7,3
LSD _{0,05}							3,8

4. KẾT LUẬN

Thời gian ủ hạt ảnh hưởng đến chiều dài mầm, tỷ lệ sống, thời gian sinh trưởng và năng suất giống ĐH12. Khi tăng thời gian ủ dẫn đến tỷ lệ sống giảm nhưng thời

gian sinh trưởng kéo dài hơn. Thời gian ủ 12 giờ phù hợp gieo sạ đối với giống lúa ĐH12 trong vụ Mùa ở vùng đồng bằng sông Hồng.

Khi tăng độ sâu gieo hạt tỷ lệ sống của giống giảm dần, thời gian sinh trưởng kéo

dài hơn và làm giảm năng suất. Độ sâu gieo hạt 1,0 cm phù hợp cho giống ĐH12 sinh trưởng phát triển và cho năng suất cao.

Mật độ gieo không ảnh hưởng đến thời gian sinh trưởng nhưng làm thay đổi

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020). Báo cáo Hội thảo góp ý dự thảo Nghị định “Đẩy mạnh cơ giới hóa đồng bộ trong nông nghiệp và Chiến lược phát triển cơ giới hóa nông nghiệp và công nghiệp chế biến nông sản”. TP. Hồ Chí Minh, tháng 6/2020.
- Furuhata Masami, Tadashi Chosa, Yukiharu Shioya, Takayuki Tsukamoto, Masahiro Seki and Hisashi Hosokawa (2015). Developing Direct Seeding Cultivation Using an Air-Assisted Strip Seeder. JARQ 49 (3), 227 - 233 (2015) <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
- Kamboj B.R., Kumar A., Bishnoi D.K., Singla K., Kumar V., Jat M.L., Chaudhary N., Jat H.S., Gosain D.K., Khippal A., Garg R., Lathwal O.P., Goyal S.P., Goyal N.K., Yadav A., Malik D.S., Mishra A. and Bhatia R. (2012). Direct Seeded Rice Technology in Western Indo-Gangetic Plains of India: CSISA Experiences. CSISA, IRRI and CIMMYT. 16 pp.
- Lê Văn Bảnh (2015). Nghiên cứu, thiết kế máy gieo lúa theo hàng liên hợp với máy kéo bốn bánh. Tạp chí Công nghiệp nông thôn, số 16.
- năng suất của giống lúa ĐH12. Gieo sạ với khoảng cách hàng x hàng = 20 cm; cây x cây từ 11,0 -12,5 cm (mật độ 40 - 45 khóm/m²) phù hợp cho giống ĐH12 đạt năng suất cao trong vụ Mùa tại đồng bằng sông Hồng.
- Nguyễn Thành Tâm và Đặng Kiều Nhân (2014). Ảnh hưởng của phương pháp và mật độ gieo sạ đến năng suất, chất lượng và hiệu quả kinh tế sản xuất nếp tại Thủ Thừa, Long An. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học: 32 (2014): 53-57.
- Pandey, S., and Velasco, L. (2005). Trends in crop establishment methods in Asia and research issues. In “Rice Is Life: Scientific Perspectives for the 21st Century” (K. Toriyama, K. L. Heong, and B. Hardy, Eds.), pp. 178–181. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines and Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba, Japan.
- Sanchez, P. A. (1973). Puddling tropical soils. 2. Effects on water losses. Soil Sci. 115, 303–308.
- Sharma, P. K., Ladha, J. K., and Bhushan, L. (2003). Soil physical effects of puddling in rice-wheat cropping systems. In “Improving the Productivity and Sustainability of Rice-Wheat Systems: Issues and Impacts” (J. K. Ladha, J. E. Hill, J. M. Duxbury, R. K. Gupta, and R. J. Buresh, Eds.), pp. 97–113. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, ASA Special Publication 65.

Tripathi, R. P., Sharma, P., and Singh, S. (2005). Tillage index: An approach to optimize tillage in rice-wheat system. *Soil Till. Res.* 80, 125–137.

Trung tâm Khuyến nông quốc gia (2019). Cơ giới hóa trong sản xuất lúa. Diễn đàn Khuyến nông @ Nông nghiệp. Kiên Giang, ngày 18/10/2019.

Virk Ahmad Latif, Naeem Ahmad, Azhar Mahmmod, Abdur Rehman, Ghulam Hasan and Mushtaq Muhammad Sharif (2018). Response of Growth and Yield of Direct Seeded Rice Cultivars Under Different Planting Patterns. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences.* 14: 16-21.

**MỘT SỐ DẪN LIỆU VỀ ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC, SINH THÁI HỌC CỦA
MỘT ĐẬU ĐỎ *CALLOSOBRUCHUS MACULATUS* FABRICIUS
(BRUCHIDAE: COLEOPTERA)**

Hồ Thị Thu Giang¹ và Nguyễn Bích Hoa²

¹ Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

² Chi cục kiểm dịch thực vật vùng VII, tỉnh Lạng Sơn

*Tác giả liên hệ: Hồ Thị Thu Giang Email: htgiangnh@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Một đậu đỏ là 1 trong các loài gây hại quan trọng trong bảo quản đậu đỗ. Ở nhiệt độ 25; 27,8 và 30°C vòng đời của một đậu đỏ lần lượt là 29,07; 26,83 và 23,64 ngày. Thời gian sống của trưởng thành đực và cái giảm khi nhiệt độ tăng. Tổng số trứng đẻ trung bình của một trưởng thành cái một đậu đỏ ở nhiệt độ 25°C; 27,8°C và 30°C tương ứng là 48,93, 54,26 và 64,73 quả/trưởng thành cái, trưởng thành cái đẻ số lượng trứng tập trung cao nhất vào 3 ngày đầu. Trưởng thành một đậu đỏ ưa thích đẻ trứng trên hạt đậu trắng ở điều kiện lựa chọn và không lựa chọn ký chủ. Khi mật độ sâu non tăng từ 1, 2, 3 và 4 (con/hạt) đậu thì trọng lượng hao hụt cũng tăng lần lượt là 3,97; 10,65; 15,35 và 19,36 (mg). Tỷ lệ vũ hóa trưởng thành của một đậu đỏ giảm khi mật độ sâu non/1 hạt tăng. Tỷ lệ nảy mầm của hạt giảm khi mật độ sâu non tăng.

Từ khóa: *Callosobruchus maculatus*, vòng đời, sức sinh sản, nhiệt độ, ưa thích đẻ trứng.

ABSTRACT

Callosobruchus maculatus Fabricius is one of the most economically important beetles infesting many grains in storage but pulses is its main target of attack. Study on the biological and ecological characteristics of *C. maculatus* have done in the laboratory. The life cycle of *C. maculatus* was 29.07; 26.83 and 23.64 days at 25; 27.8 and 30°C, respectively. The longevity of females and males was decreased as temperature increased. The mean number of eggs laid per female at 25, 27.8 and 30°C was 48.93, 54.26 and 64.73 eggs/female, respectively. The highest mean number of egg laid at the first 3 days. Oviposition preference of *C. maculatus* on the different seed beans was determined. The effect of larval density per seed on weight loss when the density of larvae increased from 1,2,3,4 larvae/ seed, the weight loss increased from 3.97; 10.65; 15.35 and 19.36mg. The adult emergence number decreased inversely proportional to the density of larvae on bean seeds. Increasing larval density in reducing germination of bean seeds. Understanding of life cycle helps in management of pest in a better way.

Key words: *Callosobruchus maculatus*, life cycle, fecundity, temperature, Oviposition preference.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loài côn trùng gây hại đối với đậu đỗ sau thu hoạch như một đậu xanh *Callosobruchus chinensis* L., một đậu đỏ *Callosobruchus maculatus*, một đậu *Ancanthoscelides obtectus*,... thiệt hại do chúng gây ra là khá lớn. Trong đó một đậu đỏ *C. maculatus* là loài gây hại đáng kể, chúng gây hại trực tiếp đến sản lượng nông sản, gây ảnh hưởng đến giá trị thương phẩm, gây mùi khó chịu, màu sắc không bình thường mà còn là nguyên nhân làm ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng khi sử dụng nông sản. Trên thế giới đã có ghi nhận 1 số kết quả nghiên cứu về một đậu đỏ trong phòng thí nghiệm về ảnh hưởng yếu tố sinh thái như nhiệt độ, ẩm độ, thức ăn đến thời gian phát dục các pha, tỷ lệ sống sót, thời gian sống, sức sinh sản của trưởng thành (Ouedraogo & cs. 1996; Moreno & cs. 2000; Ofuya & Reichmuth, 2002; Edvardsson & Tregenza, 2005; George & Deus 2009; Badoor & cs. ,2009; Sonali & cs. 2018). Ở Việt Nam Nguyễn Thị Oanh (2017) ghi nhận tỷ lệ hao hụt khối lượng hạt đậu trắng sau khi thả một đậu đỏ *C. maculatus* ở các mật độ khác nhau từ 1-20 cặp sau 90 ngày lây nhiễm dao động từ 23,1- 51,3% vì vậy nghiên cứu một số đặc điểm sinh vật học, sinh thái học cơ bản của loài gây hại này là cần thiết có ý nghĩa quan trọng để có thể đề xuất việc ngăn chặn sự lây lan của một đậu đỏ *C. maculatus* tránh thiệt hại cho người sản xuất, kinh doanh, người tiêu dùng, bảo vệ sức khỏe của con người.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nghiên cứu thời gian phát dục các pha, vòng đời của một đậu đỏ *C. maculatus*

- Đưa khoảng 200 gram đậu đỏ đã xử lý vào hộp nhựa kích thước đường kính 9 cm

x chiều cao 12 cm. Thả 10 cặp trưởng thành một đậu đỏ mới vũ hóa 1- 3 ngày vào, sau 1 ngày dùng sàng tách trưởng thành một đậu đỏ ra khỏi hộp và thu được số lượng lớn trứng để đủ cho theo dõi các pha phát dục. Bố trí thí nghiệm theo phương pháp nuôi cá thể Sonali & cs. (2018). Pha trứng: kiểm tra hàng ngày cho đến khi trứng nở thành sâu non. Theo dõi sự phát dục của trứng trên các đĩa petri qua kính lúp điện (n= 60)

Chỉ tiêu theo dõi: Thời gian phát dục các pha, vòng đời (ngày)

2.2. Sức sinh sản của một đậu đỏ

Thí nghiệm thực hiện theo phương pháp Sonali & cs. (2018). Cho 01 cặp đực cái 1 ngày tuổi vào mỗi hộp petri đường kính 5cm có chứa (50 hạt đậu đỏ). Hàng ngày thay đậu đỏ mới và những hạt đậu đã được tiếp xúc trưởng thành một đực quan sát đếm số trứng đẻ ra thí nghiệm theo dõi cho đến khi trưởng thành chết sinh lý.

Chỉ tiêu theo dõi: Sức sinh sản sản (quả/trưởng thành cái), Số trứng đẻ trung bình trong một ngày của một con cái. Số cặp theo dõi n=20, nhiệt ẩm độ phòng thí nghiệm, thời gian chiếu sáng 16h sáng x 8h tối.

2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ khác nhau đến đặc điểm sinh học của một đậu đỏ

Thí nghiệm bố trí với 3 công thức ứng với 3 mức nhiệt độ 25°C, 30°C và nhiệt độ phòng 27,8°C. Ẩm độ dao động từ 70-75%. Theo dõi giống như mục 2.2.

Chỉ tiêu theo dõi: Vòng đời (ngày), sức sinh sản (quả/trưởng thành cái), thời gian sống (ngày).

2.4. Ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau đến đặc điểm sinh học của một đậu đỏ

Theo phương pháp của Badoor & cs. (2009). Các loại đậu được xử lý. Thí nghiệm bố trí với 5 công thức. Thả trứng thành mới vũ hóa (05 cặp) vào các hộp kích thước hộp nhựa đường kính 9cm x chiều cao 12cm bên trong đựng các loại thức ăn khác nhau. Mỗi hộp 100gr hạt đậu nguyên hạt các loại. Thí nghiệm với 04 công thức tương ứng với 4 loại đậu: Đậu xanh; Đậu trắng; Đậu đỏ và Đậu đen. *Chỉ tiêu theo dõi:* Vòng đời (ngày), sức sinh sản (quả/trưởng thành cái), tỷ lệ vũ hóa (%)

2.5. Nghiên cứu sự ưa thích đẻ trứng của một đậu đỏ

Theo phương pháp của Islam & cs. (2007). Thí nghiệm với 4 loại đậu (đậu đỏ, đậu xanh, đậu đen, đậu trắng..).

- *Thí nghiệm không có sự lựa chọn:* 50 hạt đậu mỗi loại để riêng vào hộp nhựa nhỏ các hạt không chồng lên nhau. Cho 1 cặp trưởng thành vũ hóa 3 ngày tuổi đưa vào hộp để đẻ trứng, sau 48h chuyển trưởng thành ra khỏi hộp.

- *Thí nghiệm có sự lựa chọn:* cho 50 hạt đậu của mỗi loại đồng thời cho vào hộp đĩa petri 10 cm hoặc hộp nhựa lớn hơn chuyển 1 cặp trưởng thành vũ hóa 3 ngày tuổi đưa vào hộp để đẻ trứng, sau 48h chuyển trưởng thành ra khỏi hộp.

Chỉ tiêu theo dõi Số trứng đẻ, tỷ lệ trứng nở, thời gian phát triển từ trứng- trưởng thành, tỷ lệ trưởng thành vũ hóa trên mỗi công thức loại đậu. Thí nghiệm nhắc lại 3 lần/công thức.

2.6. Nghiên cứu ảnh hưởng mật độ sâu non một đậu đỏ đến hao hụt trọng lượng và tỷ lệ nảy mầm của các loại đậu.

Cho 1 cặp trưởng thành vào hộp nhựa nhỏ bên trong có 5-10 hạt đậu đã được cân trước và đánh dấu riêng cho tiếp xúc trong

24- 48h sau đây đưa trưởng thành ra khỏi hộp loại bỏ các trứng để sao cho mỗi hạt đậu có từ 1- 4 quả trứng tương ứng với các mật độ sâu non là 1,2, 3 và 4 con/hạt đậu và đổi chúng đậu sạch không có mọt. Khi trưởng thành vũ hóa loại trưởng thành ra từ các mật độ sâu non thì cân lại trọng lượng hạt. Mỗi công thức mật độ nhắc lại n= 30 . Chỉ tiêu theo dõi thời gian phát triển từ trứng- trưởng thành, tỷ lệ trưởng thành vũ hóa trên mỗi công thức.

Xác định tỷ lệ nảy mầm:

Các hạt đậu từ các công thức ở các mật độ khác nhau sau khi lây nhiễm mọt 2 tuần thì được gieo vào các cốc nhỏ thể tích 640ml đường kính 6 cm bên trong cốc có đất hạt gieo sâu khoảng 2,5 cm so với bề mặt sau khoảng thời gian 1 tuần- 10 ngày sẽ thấy hạt nảy mầm nếu hạt không nảy mầm là sau 1 tháng không thấy nảy mầm từ đất. Bên cạnh đây có thể tạo vết thương nhân tạo cho hạt đậu bằng giấy ráp chiếm khoảng 5% bề mặt hạt để so sánh tỷ lệ nảy mầm. Tính tỷ lệ hao hụt trọng lượng theo Kenton & Carl (1978).

$$\text{Tỷ lệ hao hụt trọng lượng (\%)} = \frac{OW - CW}{OW} \times 100$$

Trong đó: OW: khối lượng chất khô của mẫu ban đầu

CW: khối lượng chất khô của mẫu thí nghiệm cuối cùng.

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình StatView

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thời gian phát dục các pha của một đậu đỏ *C. maculatus*

Chúng tôi đã tiến hành theo thời gian phát dục các pha của một đậu đỏ ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trung bình 27,8°C,

ẩm độ 71,7%, kết quả thể hiện ở bảng 1. Qua theo dõi các pha phát dục của một đậu đỏ chúng tôi thấy tập tính hoạt động như sau: Sâu non nở ra từ trứng đục xuyên qua lớp vỏ hạt và vào nội nhũ. Khi sâu non chui vào hạt đậu, quả trứng (vỏ) còn lại sẽ có màu trắng đục, vỏ trứng chứa chất thải của sâu non khi đục vào hạt. Sâu non đục hạt ăn nội nhũ và phôi, chuyển tuổi qua các lần lột xác. Sâu non một đậu đỏ phát triển và hóa nhộng ngay trong một hạt. Khi sâu non đầy sức thì hóa nhộng bên trong hạt đậu. Trưởng thành vũ hóa chui qua vỏ hạt đậu. Cả trưởng thành đục và trưởng thành cái đều không cần thức ăn hoặc nước uống

trong suốt thời gian sống của chúng, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Christopher & Lawrence (2006). Kết quả bảng 1 cho thấy ở nhiệt độ trung bình: 27,8°C; ẩm độ trung bình: 71,7% thời gian phát dục của trứng dao động từ 5- 7 ngày, trung bình là 6,33 ngày. Thời gian phát dục của sâu non tuổi 1 dao động từ 2 - 4 ngày trung bình là 3,63 ngày. Sâu non tuổi 2 có thời gian phát dục dao động từ 3-4 ngày, trung bình là 3,53 ± 0,09 ngày, sâu non tuổi 3 và tuổi 4 có thời gian phát dục dao động từ 3-5 ngày, thời gian phát dục trung bình lần lượt là 3,77 ngày và 3,73 ngày.

Bảng 1. Thời gian phát dục các pha của một đậu đỏ *C. maculatus*

Pha phát dục		Thời gian phát dục (ngày)		
		Ngắn nhất	Dài nhất	Trung bình ± SE
Trứng		5	7	6,33 ± 0,11
	Tuổi 1	2	4	3,63 ± 0,09
	Tuổi 2	3	4	3,53 ± 0,09
	Tuổi 3	3	5	3,77 ± 0,15
	Tuổi 4	3	5	3,73 ± 0,15
Nhộng		4	6	4,97 ± 0, 16
Tiền đẻ trứng		2	3	2,08 ± 0, 08
Vòng đời		24	30	26,83 ± 0,52

Chú thích: Số cá thể theo dõi Trứng: 39, sâu non các tuổi: 33; nhộng: 30, Tiền đẻ trứng: 12

Nhiệt độ trung bình: 27,8°C; Ẩm độ trung bình: 71,7%

Pha nhộng có thời gian phát dục dao động 4- 6 ngày, trung bình là 4,97 ngày. Thời gian tiền đẻ trứng dao động trong từ 2 - 3 ngày, trung bình là 2,08 ngày. Vòng đời dao động từ 24- 30 ngày, trung bình là 26,83 ngày. Theo Bhubaneshwari & Victoria (2014), cũng đã ghi nhận thời gian

đục của các pha một đậu đỏ gần giống như kết quả của chúng tôi, tác giả cho biết ở nhiệt độ 18- 27°C, ẩm độ 79,5% pha trứng thời gian phát dục kéo dài từ 6- 7 ngày sâu non tuổi 1 dao động từ 8- 9 ngày; tuổi 2 dao động 3-4 ngày; tuổi 3 từ 3- 4 ngày; tuổi 4 dao động từ 4-5 ngày. Pha nhộng kéo dài 5- 7 ngày.

3.2. Ảnh hưởng của các mức nhiệt độ khác nhau đến đặc điểm sinh học của một đậu đỏ

**Ảnh hưởng của nhiệt độ đến vòng đời của một đậu đỏ*

Nhiệt độ là yếu tố sinh thái ảnh hưởng đến sự phát triển của côn trùng nói chung và

một đậu đỏ nói riêng, chúng tôi đã tiến hành theo dõi ảnh hưởng của các mức nhiệt độ đến thời gian phát dục các pha của một đậu đỏ kết quả thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Vòng đời của một đậu đỏ *C. maculatus* ở các mức nhiệt độ khác nhau

Pha phát dục	Thời gian phát dục (ngày) ở các mức nhiệt độ		
	25 °C	27,8 °C	30 °C
Trứng	6,72± 0,15 ^a (36)	6,33± 0,11 ^b (39)	4,17± 0,11 ^c (36)
Sâu non	15,13± 0,25 ^a (31)	14,52± 0,23 ^b (33)	13,84± 0,18 ^c (32)
Nhộng	6,07± 0,21 ^a (30)	4,97± 0,16 ^b (30)	4,41± 0,10 ^c (27)
Tiền đẻ trứng	2,29± 0,13 ^a (14)	2,08± 0,08 ^{ab} (12)	1,38± 0,13 ^c (16)
Vòng đời	29,07± 0,37 ^a (14)	26,83± 0,52 ^b (12)	23,64± 0,44 ^c (16)

Ghi chú: *Ấm độ dao động từ 70- 75%; số trong ngoặc (...) là số cá thể theo dõi*

Các chữ khác nhau trong cùng một hàng biểu diễn sự sai khác có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$ (Fishe'r PLSD)

Thời gian phát dục các pha trứng, sâu non, nhộng và vòng đời của một đậu đỏ nuôi trên đậu đỏ trong khoảng nhiệt độ từ 25- 30°C đều giảm khi nhiệt độ tăng. Ở 25; 27,8 và 30°C thời gian phát dục pha trứng lần lượt là 6,72; 6,33 và 4,17 ngày. Pha sâu non phát triển hoàn toàn bên trong hạt đậu đỏ có thời gian phát dục kéo dài nhất dao động 13,84- 15,13 ngày. Thời gian phát dục của pha nhộng ở mức nhiệt độ 25; 27,8 và 30°C lần lượt là 6,07; 4,97 và 4,41 ngày. Như vậy vòng đời trung bình của một đậu đỏ ngắn nhất là 23,64 ngày ở nhiệt độ 30°C và vòng đời kéo dài nhất ở 25°C là 29,07 ngày, tiếp theo là ở 27,8°C vòng đời là 26,83 ngày. Qua xử lý thống kê ở tất cả các pha phát dục nhiệt độ ảnh hưởng rõ rệt đến sự phát triển của một đậu đỏ ở độ tin cậy có ý nghĩa mức xác suất $P < 0,05$. Đối với pha trứng ($F = 118,10$; $df = 3$); pha sâu non ($F = 8,532$; $df = 3$); pha nhộng ($F = 24,867$; $df = 3$), Vòng đời ($F = 40,85$; $df = 3$). Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Adenekan & cs. (2018) về ảnh hưởng của các mức nhiệt độ khác nhau từ 10- 40°C đến thời gian phát triển của một đậu đỏ nuôi trên hạt đậu đũa ở

10; 20; 30 và 40°C thời gian phát dục lần lượt là 38; 29,8; 23,1 và 16,2 ngày.

**Ảnh hưởng của nhiệt độ đến thời gian sống của trưởng thành một đậu đỏ*

Thời gian sống của một đậu đỏ kéo dài nhất ở 25°C với thời gian sống của trưởng thành cái và đực lần lượt là 12,21 và 10,85 ngày so với ở nhiệt độ 27,8°C thời gian sống của trưởng thành cái và đực là 10,17 và 9,44 ngày (bảng 3) và ở 30°C thời gian sống của trưởng thành cái và đực là 9,5 và 8,77 ngày. Qua phân tích cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng lớn đến thời gian sống của cả trưởng thành cái ($F = 7,259$; $df = 3$) và trưởng thành đực ($F = 4,345$; $df = 3$). Chúng tôi nhận thấy trưởng thành cái có thời gian sống kéo dài hơn so với trưởng thành đực tuy nhiên qua xử lý thống kê không có sự sai khác.

Khi nhiệt độ tăng thì thời gian sống của trưởng thành giảm giống với nhận xét của Sonali & cs. (2018). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Bhubaneshwari & Victoria (2014) thời gian sống của trưởng thành đực dao động từ 10-12 ngày, thời gian sống của trưởng thành cái dài hơn so với trưởng thành đực dao động từ 10-14 ngày.

Bảng 3. Thời gian sống của trưởng thành một đậu đỏ ở các mức nhiệt độ khác nhau

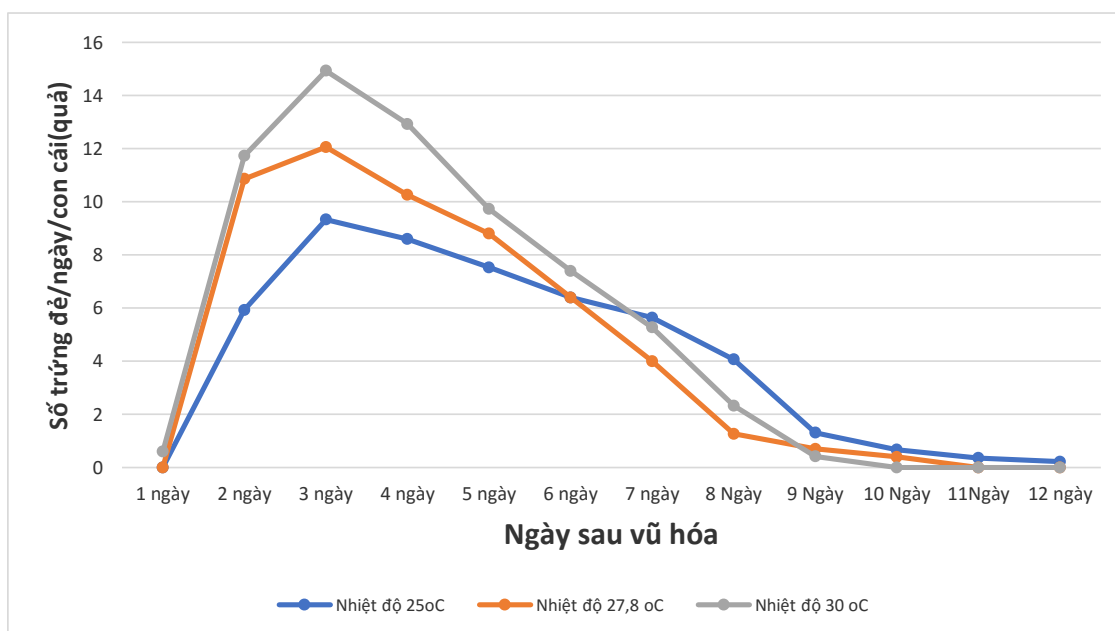
Nhiệt độ (°C)	Thời gian sống trung bình (ngày)	
	Trưởng thành cái	Trưởng thành đực
25	12,21± 0,57 ^a (14)	10,85± 0,59 ^a (13)
27,8	10,17± 0,49 ^b (12)	9,44± 0,42 ^b (16)
30	9,50± 0,51 ^b (18)	8,77± 0,47 ^b (13)

Ghi chú: Ẩm độ dao động từ 70- 75%; Các chữ khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai khác có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$ (Fisher PLSD), số trong ngoặc (...) là số cá thể theo dõi

Nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ đến nhịp điệu sinh sản của loài một đậu đỏ *C. maculatus* được thể hiện ở hình 1 chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt khá lớn về thời gian đẻ trứng ở 25°C trưởng thành một đậu đỏ có thời gian đẻ trứng kéo dài hơn so với ở nhiệt độ 30°C.

Chúng tôi thấy nhịp điệu đẻ trứng của một đậu đỏ ở các mức nhiệt độ khác nhau là khác nhau. Một bắt đầu đẻ trứng từ ngày thứ 2-3 sau vũ hóa ở cả 2 mức nhiệt độ 25 và 27,8 °C, số trứng đẻ tăng dần trong 3 ngày đầu đẻ trứng và đạt cao điểm vào ngày thứ 3 sau khi trưởng thành vũ hóa. Ở nhiệt độ 30°C

thì trưởng thành bắt đầu đẻ trứng sau vũ hóa 1-2 ngày số trứng đẻ ở ngày thứ 3 cao nhất đạt trung bình là 14,93 quả/con cái/ngày, ở nhiệt độ 27,8°C là 12,06 quả/cái/ngày và ở 25°C là 9,33 quả/cái/ngày. Từ ngày thứ 5 sau vũ hóa trở đi số lượng trứng đẻ giảm dần và giảm mạnh nhất vào ngày thứ 10 với nhiệt độ 25 °C là 0,67 quả/ngày, 27,8 °C là 0,4 quả/ngày và ở nhiệt độ 30°C là không có trưởng thành đẻ trứng. Kết quả này phù hợp với kết quả của Brade & cs. (2014) đã xác định nhịp điệu sinh sản của một đậu đỏ *C. maculatus* nuôi trên đậu đũa cho thấy trong 3 ngày đầu từ khi một bắt đầu đẻ trứng đã có đến 60% tỷ lệ số lượng trứng được đẻ.



Hình 1. Nhịp điệu sinh sản của trưởng thành một *C. maculatus* ở các mức nhiệt độ khác nhau

* *Sức đẻ trứng của một đậu đỏ C. maculatus ở các mức nhiệt độ khác nhau*

Sức đẻ trứng của côn trùng nói chung và một đậu đỏ *C. maculatus* cũng chịu ảnh hưởng bởi điều kiện nhiệt độ môi trường.

Sau khi vũ hóa trưởng thành cái một đậu đỏ *C. maculatus* được chúng tôi ghép đôi và tiếp tục theo dõi ở điều kiện nhiệt độ 25°C, 30°C và nhiệt độ phòng 27,8°C về sức sinh sản kết quả cho thấy ở các mức nhiệt độ khác nhau thì một đậu đỏ sinh sản khác nhau (bảng 4).

Bảng 4. Sức sinh sản của một đậu đỏ *C. maculatus* ở các mức nhiệt độ khác nhau.

Chỉ tiêu theo dõi	25°C		27,8 °C		30 °C	
	Dao động	Trung bình $\pm$ SE	Dao động	Trung bình $\pm$ SE	Dao động	Trung bình $\pm$ SE
Tổng số trứng đẻ (quả/trưởng thành cái)	18-76	48,93 $\pm$ 3,88 ^a	28-82	54,26 $\pm$ 4,42 ^{ab}	23-85	64,73 $\pm$ 4,47 ^b
Thời gian đẻ trứng (ngày)	4-11	7,67 $\pm$ 0,45 ^a	5-9	6,73 $\pm$ 0,33 ^{ab}	3-9	6,13 $\pm$ 0,38 ^b
Số trứng đẻ ngày (quả/ trưởng thành cái/ngày)	1-14	6,35 $\pm$ 0,33 ^a	1-19	7,93 $\pm$ 0,41 ^b	1-20	10,59 $\pm$ 0,54 ^c

Ghi chú: Trong phạm vi hàng các chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa

P<0,05; n=30

Tổng số trứng đẻ trung bình của một trưởng thành cái ở 3 mức nhiệt độ khác nhau, ở nhiệt độ 25°C số trứng đẻ ít nhất đạt là 48,93 $\pm$ 3,88 quả/ trưởng thành cái, ở nhiệt độ 30°C số trứng đẻ cao nhất đạt là 64,73 $\pm$ 4,47 quả/trưởng thành cái và 54,26 $\pm$ 4,42 quả/trưởng thành cái ở nhiệt độ 27,8°C. Qua xử lý thống kê chúng tôi thấy có sự sai khác có ý nghĩa $P<0,05$, ở nhiệt độ 30°C tổng số trứng đẻ cao hơn so với 27,8°C và 25°C.

Thời gian đẻ trứng của một đậu đỏ kéo dài trung bình từ 6,13- 7,67 ngày. Thời gian đẻ trứng kéo dài dài nhất khi trưởng thành cái một đậu đỏ nuôi ở nhiệt độ 25°C là 7,67 $\pm$ 0,45 ngày, ở nhiệt độ 27,8°C là 6,73 $\pm$ 0,33 ngày và thời gian đẻ trứng trung bình ngắn nhất khi nuôi ở nhiệt độ 30 °C là 6,13 $\pm$ 0,38 ngày. Qua xử lý thống kê chúng tôi thấy có sự sai khác về thời gian đẻ trứng ở nhiệt độ 25 và 30°C, không có sự sai khác về thời gian đẻ trứng ở các nhiệt độ 27,8 và 30 °C.

Số trứng đẻ trung bình trong 1 ngày của 1 trưởng thành cái khi nuôi ở nhiệt độ 25°C dao động từ 1-14 quả, trung bình là 6,35 $\pm$ 0,33 quả/cái/ngày. Ở nhiệt độ 27,8°C thì số trứng đẻ trong 1 ngày dao động từ 1- 19 quả, trung bình là 7,93 $\pm$ 0,41 quả/cái/ngày, cao nhất khi nuôi ở nhiệt độ 30°C số trứng đẻ dao động là 1-20 quả/cái/ngày và trung bình là 10,59 $\pm$ 0,54quả/cái/ngày. Ở nhiệt độ 30°C số trứng đẻ trong 1 ngày của 1 trưởng thành cái là cao nhất, có sự sai khác có ý nghĩa với độ tin cậy $P<0,05$ so với nhiệt độ 25°C và 27,8°C.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nhận xét của Adenekan & cs. (2018) cho biết ở 30°C trưởng thành một đậu đỏ đẻ trứng nhiều nhất với số trứng đẻ trung bình là 46,5 quả/ trưởng thành cái. Ở nhiệt độ 10, 20 và 40°C số trứng đẻ lần lượt là 6,3; 10,8 và 39,3 quả/trưởng thành cái.

3.3. Tập tính lựa chọn đẻ trứng của trưởng thành một đậu đỏ trên một số loại đậu

Trưởng thành cái một đậu đỏ đẻ trứng trên bề mặt hạt đậu và có tập tính lựa chọn đẻ trứng điều này rất quan trọng cho sự sinh trưởng phát triển của thế hệ sau nếu lựa chọn không chính xác sẽ làm giảm tỷ lệ sống sót

(Baidoo & cs. 2015), chúng tôi đã bố trí thí nghiệm với 4 loại đậu (đậu đen, đậu xanh, đậu đỏ và đậu trắng) với 2 công thức cho các loại đậu vào trong 1 hộp và cho trưởng thành 3 ngày sau vũ hóa đẻ trứng (thí nghiệm lựa chọn) và đẻ riêng từng loại đậu (thí nghiệm không lựa chọn) thí nghiệm theo dõi trong 2 ngày kết quả thể hiện ở bảng sau:

Bảng 5. Sự lựa chọn đẻ trứng của trưởng thành một đậu đỏ trên các loại đậu khác nhau

Loại đậu	Số lượng trứng đẻ (quả/cái/ngày)	
	Không lựa chọn	Có lựa chọn
Đậu đen	11,33 ± 0,67 ^{ab}	1,33 ± 0,67 ^b
Đậu đỏ	10,67 ± 1,76 ^{ab}	4,33 ± 0,88 ^a
Đậu trắng	12,67 ± 0,88 ^a	5,33 ± 0,88 ^a
Đậu xanh	8,67 ± 0,88 ^b	2,67 ± 0,88 ^{ab}

Ghi chú: Trong phạm vi cột các chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa $P < 0,05$

Ở thí nghiệm không lựa chọn trưởng thành một đậu đỏ đẻ trứng nhiều nhất trên đậu trắng 12,67 quả/cái/ngày và thấp nhất là trên đậu xanh với số trứng đẻ là 7,67 quả/cái/ngày có sự sai khác có ý nghĩa. Trên đậu đen và đậu đỏ số trứng đẻ không có sự sai khác so với trứng đẻ trên đậu trắng lần lượt là 11,33 và 10,67 quả/cái/ngày. Trong thí nghiệm lựa chọn thì trưởng thành một đậu đỏ vẫn ưa thích đẻ trứng nhiều nhất trên đậu trắng 5,33 quả/cái/ngày, tiếp theo trên đậu đỏ và đậu xanh là 4,33 và 2,67 quả/cái/ngày. Trưởng thành một đậu đỏ đẻ trứng ít nhất trên đậu đen 1,33 quả/cái/ngày có sự sai khác đáng kể với độ tin cậy $p < 0,05$ so với số trứng đẻ trên 3 loại đậu. Kết quả của chúng tôi phù hợp với nhận xét của Islam & cs. (2009) là trưởng thành một đậu đỏ *Calloricius maculatus* ưa thích đẻ trứng trên đậu gà, đậu xanh hơn so với trên đậu đen.

Một đậu đỏ ưa thích đẻ trứng trên đậu dài trắng *Vigna unguiculata* > đậu xanh *Vigna radiata* > đậu gà *Cicer arietinum* > đậu đen *Vigna mungo* (Sonali & cs., 2018).

Baidoo & cs. (2015) cũng đã nghiên cứu sự lựa chọn đẻ trứng của một đậu đỏ trên hạt lạc có màu sắc khác nhau từ kem, đỏ, xám và màu đen thì kết quả cũng cho thấy trưởng thành một đậu đỏ ưa thích đẻ trứng trên lạc màu kem là 4,9 quả trong khi đậu lạc đỏ và màu đen số trứng đẻ ít hơn chỉ đạt là 2,06 và 1,83 (thí nghiệm có lựa chọn), tác giả cho rằng chất Tanins chủ yếu ở vỏ hạt. Người ta đã quan sát thấy rằng hạt đen và đỏ chứa hàm lượng tannin cao nhất trong khi mức thấp nhất được tìm thấy trong hạt màu kem, Tannin có thể ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển của côn trùng theo nghĩa là nồng độ cao trong hạt làm cho nó không ngon miệng do đó làm giảm việc ăn của *Calloricius maculatus*. Họ một đậu Bruchidae thường đẻ trứng trên bề mặt hạt đậu sâu non nở ra đục vỏ chui vào bên trong và các hạt đậu thường có vỏ cứng. Vỏ hạt của màu kem và hạt lốm đốm mỏng hơn so với màu đỏ và đen, các loại hạt màu tối đôi khi được bao phủ bởi một mạng lưới các đường vân song song và ngang so

với bề mặt mịn của các hạt kem. Những đường vân ngang này làm cho hạt màu tối không kích thích cho trưởng thành đẻ trứng.

3.4. Ảnh hưởng mật độ sâu non một đậu đỏ đến hao hụt trọng lượng và tỷ lệ nảy mầm của các loại đậu.

Sâu non một đậu đỏ *C. maculatus* là pha gây hại chủ yếu cho đậu bảo quản, gây hao hụt trọng lượng của hạt. Tùy vào số lượng sâu non trong hạt mà có khả năng gây ra các ảnh hưởng khác nhau đến hạt.

Bảng 6. Ảnh hưởng của mật độ sâu non đến thời gian phát triển của một đậu và hao hụt trọng lượng của hạt đậu đỏ.

Số sâu non/ hạt	Thời gian phát triển từ trứng đến trưởng thành (Ngày)		Trọng lượng hao hụt (mg)		Tỷ lệ vũ hóa (%)
	Dao động	Trung bình $\pm$ SE	Dao động	Trung bình $\pm$ SE	
1 SN	23- 31	26,38 $\pm$ 0,46 ^a	2,2- 6,4	3,97 $\pm$ 0,23 ^a	72,37
2 SN	24- 30	26,57 $\pm$ 0,37 ^a	6,4- 14,2	10,65 $\pm$ 0,53 ^b	64,48
3 SN	23- 31	26,67 $\pm$ 0,44 ^a	4,5- 18,7	15,35 $\pm$ 0,97 ^c	56,77
4 SN	24- 31	27,95 $\pm$ 0,43 ^b	5,2- 22,3	19,36 $\pm$ 1,22 ^d	43,47

Ghi chú: Nhiệt độ trung bình: 27,1°C; Ẩm độ trung bình: 71,1%

SN: sâu non. Trong phạm vi cột các chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa ở mức xác suất $P < 0,05$

Ở hạt đậu có 1 sâu non thì tỉ lệ vũ hóa đạt cao nhất là 72,37%, trọng lượng hao hụt là 3,97mg. Ở hạt đậu có 2 sâu non thì tỉ lệ vũ hóa đạt 64,48%, trọng lượng hao hụt là 10,65mg. Ở hạt đậu có 3 sâu non thì tỉ lệ vũ hóa đạt 56,77%, trọng lượng hao hụt là 15,35mg. Ở hạt đậu có 4 sâu non thì tỉ lệ vũ hóa thấp nhất đạt 43,47%, trọng lượng hao hụt là 19,36mg. Khi mật độ sâu non tăng dần từ 1,2,3 và 4 sâu non/hạt thì tỷ lệ trưởng thành vũ hóa giảm dần. Mật độ sâu non càng tăng thì trọng lượng hao hụt càng tăng. Qua xử lý thống kê chúng tôi thấy có sự sai khác có ý nghĩa ở mức xác suất $P < 0,05$ về trọng lượng hao hụt hạt đậu đỏ do mật độ sâu non

Vì vậy chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của sâu non đến hao hụt trọng lượng hạt nhằm xác định về khả năng gây hại của sâu non một đậu đỏ *C. maculatus* đến hao hụt trọng lượng của hạt đậu đỏ. kết quả được thể hiện ở Bảng 6. Kết quả từ bảng 6 cho thấy số lượng sâu non khác nhau trên mỗi hạt đậu sẽ gây ra hao hụt trọng lượng khác nhau, và ở các công thức mật độ sâu non/ hạt đậu thì đều có trưởng thành vũ hóa với tỉ lệ trưởng thành vũ hóa khác nhau.

khác nhau gây ra.

Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Charles & cs. (2010) khi mật độ sâu non tăng từ 1, 2, 3 và 4 con/hạt đậu đũa thì trọng lượng hao hụt cũng tăng lần lượt là 16,0; 30,8; 47,2 và 61,0 mg. Tỷ lệ hao hụt trọng lượng cũng tăng lần lượt là 6,7; 13,2; 19,6 và 25,2%.

Tỷ lệ trưởng thành vũ hóa giảm khi có nhiều sâu non/hạt đậu cũng phù hợp với nhận xét của Umeozor (2005) khi tăng mật độ sâu non đã xảy ra cạnh tranh từ đó ảnh hưởng đến tỷ lệ chết của sâu non, thời gian phát triển. Thời gian phát triển từ trứng đến trưởng thành vũ hóa của một đậu đỏ tại các mật độ sâu non từ 1- 4 sâu non/1 hạt đậu dao động từ 26,38- 27,95 ngày. Qua xử lý thống kê chúng tôi thấy không có sự sai khác ở mức

xác suất $P > 0,05$ khi mật độ sâu non từ 1- 3 sâu non/1 hạt đậu nhưng khi mật độ sâu non 4 con/ 1 hạt đậu thì thời gian phát triển từ trứng đến trưởng thành là 27,95 ngày, ngắn nhất là ở mật độ 1SN/ 1 hạt là 26,38 ngày.

Các hạt đậu sau khi được lây nhiễm ở các mật độ sâu non khác nhau sau 2 tuần được đem gieo để so sánh tỷ lệ nảy mầm giữa các công thức thí nghiệm và 2 đối chứng. Kết quả được thể hiện ở bảng 7. Qua bảng 7 chúng tôi nhận thấy, với sâu non mật độ 3,4 con sâu non/hạt sau khi gieo thì hạt không nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm đạt thấp ở mật độ 2 con/hạt tỷ lệ nảy mầm là 16,67% và ở mật độ 1 con/hạt tỷ lệ nảy mầm là 53,33%. Trong khi đó đối chứng không có một tỷ lệ

nảy mầm đạt 93,33% và khi hạt bị xây xát vỏ bên ngoài 5% trên bề mặt hạt tỷ lệ nảy mầm chỉ đạt 86,67%. Kết quả của chúng tôi cũng giống với nhận xét của Charles & cs. (2010) cho biết khi hạt đậu bị nhiễm một tỷ lệ nảy mầm đạt 71% trong khi đối chứng không bị một thì tỷ lệ nảy mầm đạt 92% và mật độ một tăng thì tỷ lệ nảy mầm của hạt đậu cũng giảm. Qua thí nghiệm cho thấy, việc làm sạch hạt giống đậu đỏ khi đóng gói và bảo quản là rất quan trọng, ảnh hưởng tới chất lượng nảy mầm của hạt. Nếu trong lô hạt giống xuất hiện một đậu đỏ thì sau 1 vòng đời phát triển của một đậu đỏ, tỷ lệ nảy mầm của lô hạt giống sẽ giảm rất nhanh do một đậu đỏ gây hại.

Bảng 7. Ảnh hưởng của mật độ sâu non một đậu đỏ *C. maculatus* gây hại đến tỷ lệ nảy mầm của đậu đỏ

Mật độ sâu non (con/1 hạt)	Tổng số hạt đậu thí nghiệm (hạt)	Số hạt nảy mầm (hạt)	Tỷ lệ nảy mầm (%)
1 sâu non	30	16	53,33
2 sâu non	30	5	16,67
3 sâu non	30	0	0
4 sâu non	30	0	0
ĐC 1 (không có mọt)	30	28	93,33
ĐC 2 (tạo vết xước nhân tạo 5% bề mặt hạt đậu)	30	26	86,67

Ghi chú: Nhiệt độ trung bình: 28,1°C; Ẩm độ trung bình: 70%

4. KẾT LUẬN

Nhiệt độ ảnh hưởng đến sự phát triển của một đậu đỏ ở nhiệt độ 25; 27,8 và 30°C vòng đời lần lượt là 29,07; 26,83 và 23,64 ngày. Theo chiều tăng nhiệt độ từ 25- 30°C thời gian sống của trưởng thành giảm. Thời gian sống của trưởng thành được dao động từ 8,77- 10,85 ngày, thời gian sống của trưởng thành cái dài hơn so với trưởng thành đực dao động từ 9,5-12,2 ngày

Tổng số trứng đẻ trung bình của một trưởng thành cái một đậu đỏ ở nhiệt độ 25

°C; 27,8 °C và 30 °C tương ứng là 48,93, 54,26 và 64,73, trưởng thành cái đẻ số lượng trứng tập trung cao nhất vào 3 ngày đầu.

Trưởng thành một đậu đỏ ưa thích đẻ trứng trên hạt đậu trắng ở điều kiện lựa chọn và không lựa chọn ký chủ

Khi mật độ sâu non tăng từ 1, 2, 3 và 4 (con/hạt) đậu thì trọng lượng hao hụt cũng tăng lần lượt là 3,97; 10,65; 15,35 và 19,36 (mg).. Tỷ lệ vũ hóa trưởng thành của một đậu đỏ giảm khi mật độ sâu non/1 hạt tăng. Tỷ lệ

nảy mầm của hạt giảm khi mật độ sâu non tăng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adenekan M. O., Ajetunmobi O.T., Okpeze V. E.& Aniche D.C. (2018). Residual Effect of Different Temperature Regimes on the Developmental Stages of F1 Progeny of *C. maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidea) on Cowpea Seeds. International Journal of Agriculture Innovations and Research Volume 6 (6): 2319-1473
- Badoor I. M., Azza Kamal Emam, Somia I. Salama & H Mahoud Hanafy (2009). Tendency of certain pulse seed to *C. maculatus* & *Callosobruchus chinensis* (L.) infestation. J.Agric. Sci, Cairo17(1):: 1993-1997.
- Baidoo P. K., Kwansa N. A., Annin C. P. (2015). The Role of Seed Coat and Its Pigmentation on the Acceptance of Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) Cultivars by the Cowpea Beetle, *C. maculatus* (F.). Advances in Entomology 3: 125-131
- Bhubaneshwari M. D. & Victoria N. D. (2014). Biology & morphometric measurement of cowpea weevil, *C. maculatus* fabr. (Coleoptera: Chrysomelidae) in green gram. Journal of Entomology & Zoology Studies 2 (3): 74-76
- Brade A. A, Misari S. M & Dike M. C. (2014). Observations on the Biology of *C. maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae) under Ambient Laboratory Conditions. STECH, Vol. 3(3), S/No 8, September: 27-33.
- Charles W. Fox, Marsha L. Bush & Frank J. Messina (2010). Biotypes of the seed beetle *C. maculatus* have differing effects on the germination & growth of their legume hosts Agricultural & Forest Entomology 12: 353–362
- Christopher W. Beck & Lawrence S. Blumer (2006). Bean Beetles, *C. maculatus*, a Model System for Inquiry-Based Undergraduate Laboratories. ABLE 2006 Proceedings Vol. 28: pp. 274-283.
- Edvardsson M. & Tregenza T. (2005). Why do male *C. maculatus* harm their mates? Behavioral Ecology, 16(4): 788–793.
- George B. Swella1 & Deus M. K. Mushobozy (2009). Comparative Susceptibility of Different Legume Seeds to Infestation by Cowpea Bruchid *C. maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) Plant Protect. Sci. Vol. 45(1): 19–24
- Islam M. Saiful, Fauzia Akhter, Rezina Laz & Selina Parween (2007). “oviposition preference of *C. maculatus* to common pulses & potentiality of triflumuron as their protectant” J. bio-sci. 15: 83-88.
- Kenton L. H & Carl J. L (1978). A Manual of Methods for the Evaluation of Postharvest losses. American Association of Cereal Chemists. pp. 129- 133.
- Moreno R. AP., Duque G. A., Cruz J. de la & Tróchez P. A. (2000). Life cycle & hostes of *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidae)” Revista Colombiana de Entomología Vol.26 No.3/4:131-135.
- Nguyễn Thị Oanh (2017). Khả năng gây hại của mọt đậu (*C. maculatus*) trên hạt

- đậu trắng và mọt ngô (*Sitophilus zeamais motschulsky*) trên hạt ngô trong phòng thí nghiệm Hội nghị côn trùng học quốc gia lần thứ 9, trang 585-591.
- Ofuya, T.I. & Reichmuth C. (2002). Effect of relative humidity on the susceptibility of *C. maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) to two modified atmospheres. J. Stored Prod. Res. 38: 139 – 146.
- Ouedraogo P.A., S. Sou, A. Sanon, J.P. Monge, J. Huignard, B. Tran & P.F. Credland (1996). Influence of temperature & humidity on populations of *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) & its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina Faso. Bulletin of Entomological Research 86: 695-702.
- Sonali Verma, Monika Malik, Parveen Kumar, Darshna Choudhary, PK Jaiwal & Ranjana Jaiwal (2018). Susceptibility of four Indian grain legumes to three species of stored pest, bruchid (*Callosobruchus*) & effect of temperature on bruchids. International Journal of Entomology Research, Volume 3 (2): 23- 27.
- Umeozor O. C. O.C. (2005). Effect of the Infection of *C. maculatus* (Fab.) on the Weight Loss of Stored Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Appl. Sci. Environ. Mgt. 9 (1): 169 – 172.

SỰ THAY ĐỔI CỦA TẬP CHUYỂN HÓA VÀ TĂNG CƯỜNG KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH BẮT NGUỒN TỪ SỰ XÂM NHẬP GEN LẠ Ở THỰC VẬT

Vũ Quỳnh Hoa

Bộ môn Rau Hoa Quả và Cảnh quan, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Cải thiện di truyền với việc sử dụng kết hợp nhân giống thông thường và kỹ thuật di truyền đã được báo cáo trong hầu hết các giống cây trồng quan trọng để thể hiện các đặc điểm mong muốn của con người, chẳng hạn như khả năng chống lại bệnh. Nhiều công nghệ tiên tiến khác nhau đã được phát triển cho phép đánh giá bộ dữ liệu quy mô lớn của các phân tử sinh học, bao gồm trình tự DNA (bộ gen hay hệ gen - genome), bản phiên mã (hệ phiên mã - transcriptome), protein (hệ protein - proteome) và các chất chuyển hóa (tập chuyển hóa - metabolome). Lĩnh vực tập chuyển hóa là một nhánh của công nghệ -omics liên quan đến việc xác định và định lượng thông lượng cao của các phân tử trọng lượng thấp (<1500Da) (chất chuyển hóa) trong một hệ thống sinh học. Các chất chuyển hóa đóng vai trò quan trọng trong tương tác giữa cây trồng và mầm bệnh và phản ánh kiểu hình phân tử. Các chất chuyển hóa sử dụng các quy trình phân tích có độ nhạy cao có thể được định nghĩa là việc xác định và định lượng không chệch (nonbiased) tất cả các chất chuyển hóa trong hệ thống sinh học. Do đó, cách tiếp cận này là cơ sở để phát hiện ra các dấu ấn sinh học mới nhằm mô tả tốt hơn các cơ chế dẫn đến khả năng kháng bệnh ở thực vật.

METABOLOMIC PROFILE MODIFICATION AND ENHANCED DISEASE RESISTANCE DERIVED FROM ALIEN GENES INTROGRESSION IN PLANTS

ABSTRACT

Genetic improvement with the combined use of conventional breeding and genetic engineering has been reported in most important crop varieties to express human desired traits, such as resistance to diseases. Various advanced technologies have been developed that allow accumulation and assessment of large-scale datasets of biological molecules, including DNA sequence (genome), transcripts (transcriptome), proteins (proteome) and metabolites (metabolome). The field of metabolomics is the branch of -omics technology related to the high-throughput identification and quantification of low-molecular-weight molecules (<1500Da) (metabolites) in a biological system. Metabolites play vital roles in plant-pathogen interactions, and reflect the molecular phenotype. Metabolomics using highly sensitive analytical procedures can be defined as the nonbiased identification and quantification of all the metabolites in a biological system. Thus, this approach serves as the basis for the discovery of new biomarkers for better describing the mechanisms resulting in disease resistance in plants.

Key words: Metabolomics, metabolomic modification, metabolomic profile, disease resistance, gene introgression, gene modification, plant breeding

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vào những năm 1970, cải thiện di truyền với việc sử dụng kết hợp nhân giống thông thường và kỹ thuật di truyền, nhờ đó con người đưa vào hoặc thay đổi DNA, RNA hoặc protein trong một sinh vật để tạo ra các đặc điểm mới hoặc thay đổi sự biểu hiện của các đặc điểm hiện có, chẳng hạn như thời gian bảo quản trái cây dài hơn, hàm lượng dinh dưỡng cao hơn và khả năng chống chịu sâu bệnh. Sự xuất hiện của sinh học phân tử trong các chương trình nhân giống vào những năm 1980 cho phép hiểu được các yếu tố quyết định di truyền của kiểu hình và sự chọn lọc có sự hỗ trợ của marker (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2016). Nhân giống cây trồng hiện đang ở trong kỷ nguyên gen, khi bộ gen tham chiếu của hầu hết các loài cây trồng chính đã có sẵn. Trong 15 năm qua, nhiều công nghệ tiên tiến khác nhau đã được phát triển cho phép tích lũy và đánh giá các bộ dữ liệu quy mô lớn về các phân tử sinh học, bao gồm trình tự DNA, bản phiên mã (liên quan đến RNA), sửa đổi DNA (bộ gen), và, ở các trường hợp hơn, protein (hệ protein) và các chất chuyển hóa (tập chuyển hóa). Sự phát triển của metabolomics đã cung cấp một khía cạnh mới trong bối cảnh sinh học đa chiều cho phép nghiên cứu sâu về mạng lưới trao đổi chất toàn cầu. Lĩnh vực metabolomics là một nhánh của công nghệ omics liên quan đến việc xác định và định lượng thông lượng cao của các phân tử trọng lượng phân tử thấp (<1500Da) trong một hệ thống sinh học. Metabolomics là một cách tiếp cận mạnh mẽ để có được một cái nhìn toàn diện về cách mạng lưới trao đổi chất được điều hòa và ngày càng được nhiều nhà nghiên cứu áp dụng trong những năm gần đây. Do đó,

metabolomics đã được tìm thấy ứng dụng trong các khía cạnh đa dạng của nông nghiệp, chẳng hạn như khoa học dinh dưỡng (Hall & cs, 2008), vi sinh (Loots, 2014), bảo vệ thực vật (Aliferis & cs, 2011; Brotman & cs 2012), và sau thu hoạch (Yun & cs, 2013). Nó có thể được sử dụng để làm sáng tỏ các chức năng của gen và kết hợp cấu hình phiên mã và proteomic trong hệ thống gen và hệ gen chức năng sinh học. Metabolomics có thể được định nghĩa là “sự xác định và định lượng không chệch của tất cả các chất chuyển hóa trong hệ thống sinh học,” bằng cách sử dụng các quy trình phân tích có độ nhạy cao. Do đó, cách tiếp cận này là cơ sở để phát hiện ra các dấu ấn sinh học mới nhằm mô tả tốt hơn các cơ chế dẫn đến khả năng kháng bệnh ở thực vật. Bài viết này tóm tắt các nghiên cứu về chuyển hóa hiện nay nhằm làm sáng tỏ các chức năng của gen thực vật liên quan đến khả năng kháng bệnh.

BIẾN ĐỔI CHẤT CHUYỂN HÓA BẮT NGUỒN TỪ BIẾN ĐỔI GEN

Sự tiến bộ trong kỹ thuật di truyền cho phép tái tổ hợp bộ gen của các sinh vật thuộc các loài có quan hệ họ hàng xa. Sự ra đời của các gen trong hệ gen thực vật mã hóa quá trình sinh tổng hợp các chất chuyển hóa giúp tăng cường khả năng chống chịu của thực vật đối với các áp lực phi sinh học hoặc sinh học đã mang lại một bước tiến trong bảo vệ thực vật (Kos & cs, 2009). Mỗi quan hệ chặt chẽ với kiểu hình làm cho các chất chuyển hóa trở nên lý tưởng để đánh giá trạng thái sinh lý của một sinh vật hoặc hệ thống tại một thời điểm. Thực vật biến đổi để biểu hiện các chất chuyển hóa diệt côn trùng đã được đưa vào để giảm thiểu thiệt hại về năng suất do côn trùng gây ra, ví dụ, gen xâm nhập từ *Bacillus*

thuringiensis (thực vật *Bt*) được sử dụng rộng rãi nhất trong thực hành nông nghiệp. Leon & cs (2009) đã phát triển một phương pháp nghiên cứu tập chuyển hóa bằng cách kết hợp FT-ICR / MS và CE-TOF / MS để so sánh giữa thành phần trao đổi chất trong nhân của ngô biến đổi gen (GM) mang gen *B. thuringiensis* Cry1Ab và của các dòng isogenic tương ứng. Các phân tích cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa nhân GM và nhân hoang dại, đặc biệt đối với các chất chuyển hóa liên quan đến sinh tổng hợp axit amin. Ứng dụng của các chất chuyển hóa để nghiên cứu so sánh giữa lúa hoang dại và lúa chuyển gen mang gen *cryIaC* và *sck* để kháng sâu bọ, cho thấy sự khác biệt đáng kể trong các bộ chuyển hóa của chúng. Le Gall & cs (2003) đã áp dụng phương pháp phân tích chuyển hóa NMR để phát hiện sự khác biệt về trao đổi chất giữa cà chua không chuyển gen và cà chua chuyển gen mang các yếu tố phiên mã ngô. Tương tự như vậy, việc áp dụng phương pháp phân tích NMR và phân tích đa biến (PCA) cho thấy sự khác biệt đáng kể về tập chuyển hóa giữa cây thuốc lá dại và cây được thiết kế để biểu hiện các gen sinh tổng hợp salicylat. Mặt khác, dựa trên CE-TOF / MS hoặc kết hợp GC-TOF / MS và FIE-MS, các nhà nghiên cứu khác đã tìm thấy rất ít sự khác biệt giữa các giống đậu tương truyền thống và chuyển gen hoặc không có sự khác biệt đáng kể giữa các giống thông thường và khoai tây biến đổi gen. Từ các phân tích chuyển hóa đã cho thấy sự biến đổi tự nhiên đáng kể tồn tại trong các nguồn gen cây trồng, cùng với tương tác môi trường. Các mô hình phiên mã và chuyển hóa, và dấu vết trao đổi chất của các tiếp cận kiểu hoang dại và chuyển gen đại mạch cho thấy rằng sự khác biệt cụ thể của cây trồng

trong bộ phiên mã và bộ chuyển hóa vượt quá nhiều ảnh hưởng do biểu hiện gen chuyển. Kusano & cs (2007) kết luận rằng phương pháp đa dạng tạo ra sự phân biệt rõ ràng tập chuyển hóa quả cà chua; và sự khác biệt giữa các dòng chuyển gen và đối chứng là nhỏ so với sự khác biệt quan sát được giữa các giai đoạn chín và các giống truyền thống. Tập chuyển hóa của ngô GM được trồng cùng với các dòng không biến đổi gen cho thấy rằng phần lớn sự khác biệt được quan sát có liên quan đến sự biến đổi tự nhiên và các yếu tố môi trường hơn là các biến đổi gen. Những nghiên cứu đó cho thấy rằng việc sử dụng các chất chuyển hóa để đánh giá mức độ tương đồng sẽ yêu cầu thử nghiệm ở nhiều vị trí và phân tích tỉ mỉ để phân biệt sự khác biệt di truyền với các tác động của môi trường, bởi vì có thể sẽ có ảnh hưởng của tương tác gen-môi trường. Kết luận, việc mô tả tính đa dạng tự nhiên trong các chất chuyển hóa của thực vật bằng cách sử dụng các phương pháp tiếp cận tập chất chuyển hóa đã cung cấp kiến thức sâu hơn về thành phần thực phẩm và bản chất biến đổi của nó cả trong và giữa các loài.

CƠ SỞ DI TRUYỀN CỦA QUÁ TRÌNH SINH TỔNG HỢP HÓA CHẤT THỰC VẬT (PHYTOCHEMICAL)

Lập bản đồ và xác định các locus hoặc gen mã hóa các chất chuyển hóa cụ thể là bước quan trọng đầu tiên của phương pháp tiếp cận chuyển hóa chức năng như một công cụ bổ sung quan trọng trong các chiến lược hỗ trợ gen hiện có để cải thiện cây trồng. Các công trình trước đây liên kết trực tiếp các locus tính trạng số lượng biểu hiện (eQTLs) với sự thay đổi kiểu hình trong các con đường trao đổi chất cụ thể, nhấn mạnh sự phức tạp của các tương tác giữa phiên mã và

sự biến đổi chất chuyển hóa. Những phân tích này cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa tổ chức điều hòa di truyền của các bản phiên mã và các chất chuyển hóa đối với một nhóm nhỏ cụ thể của các chất chuyển hóa thứ cấp trong *Arabidopsis thaliana*. Hơn nữa, các phân tích phổ rộng của các chất chuyển hóa cho phép lập bản đồ QTL của một phần mở rộng của tập chuyển hóa thực vật. Hệ số di truyền của các chất chuyển hóa thấp hơn so với mức phiên mã có thể cho thấy sự tích lũy chất chuyển hóa nhạy cảm hơn với các điều kiện môi trường. Hằng & cs (2004) đã báo cáo vị trí nhiễm sắc thể của các gen quan trọng đối với sự chuyển hóa carbohydrate ở các loài *Allium cepa* dựa trên bộ tám dòng thêm một nhiễm sắc thể *Allium fistulosum* (FF) -shallot (AA) (MALs) (FF + 1A ~ FF + 8A) được phát triển trước đây của Shigyo & cs (1996). Hàm lượng đường trong bộ này được đánh giá hàng tháng để xác định ảnh hưởng của một nhiễm sắc thể ngoại lai đơn lẻ từ hành củ đối với sản xuất carbohydrate trong phiến lá của hành hoa. Kết quả của họ cho thấy rằng đường không khử hầu như không được tạo ra trong phiến lá của cây FF + 2A trong suốt cả năm. Phát hiện này cho thấy gen kiểm soát việc sản xuất đường không khử đường như nằm trên nhiễm sắc thể 2A của hành củ. Họ cũng phát hiện ra ảnh hưởng của nhiễm sắc thể 8A của hành củ đối với sự gia tăng lượng đường không khử trong mùa đông cho thấy gen liên quan đến sản xuất đường không khử trong mùa đông đường như nằm trên nhiễm sắc thể 8A của hành củ. Kết quả của họ cho thấy rằng bộ MAL hoàn chỉnh là rất quan trọng để làm sáng tỏ cơ chế của con đường trao đổi chất đối với các chất nhầy, bao gồm fructose-oligosaccharides. Phương thức di truyền để

sản xuất carbohydrate hòa tan đã được làm rõ bằng cách xác định vị trí các gen ứng viên và các QTL liên quan đến sucrose và tích lũy carbohydrate hòa tan trên bản đồ liên kết hành dựa trên các chỉ thị phân tử. Sự kết hợp của cả bản đồ chỉ thị phân tử và tập hợp bộ thêm một nhiễm sắc thể sẽ tiết lộ vị trí nhiễm sắc thể của các QTL liên quan đến sản xuất carbohydrate trong hành củ, cũng như hiểu biết về vị trí của các QTL khác nhau trên cùng một nhiễm sắc thể. Yaguchi & cs (2013) gợi ý rằng các nhiễm sắc thể bổ thêm vào (2A và 6A) sẽ có các gen chưa biết liên quan đến việc điều tiết sản xuất polyphenol, do đó các hoạt động chống oxy hóa được tăng lên trong các MAL này. Nghiên cứu gần đây sử dụng bộ MAL hoàn chỉnh cho thấy 50 unigenes tham gia vào quá trình sinh tổng hợp saponin. Các nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của nhiễm sắc thể phụ của hành củ đối với việc sản xuất các chất chuyển hóa khác, chẳng hạn như axit ascorbic, chất diệt lục, sulfua, anthocyanins, flavonoid, là cần thiết để hiểu rõ hơn về vị trí nhiễm sắc thể của các gen liên quan đến sản xuất của chúng. Gần đây, một tập hợp đầy đủ của *A. cepa*-*A. roylei* MALs và tập hợp các dòng bổ sung nhiễm sắc thể *A. fistulosum* - *A. roylei* đã được thiết lập thông qua nhóm nghiên cứu của Vũ Q. Hoa & cs (2012). Những bộ này có thể là nguồn tài nguyên hữu ích cho các phương pháp tiếp cận RNA-Seq và tập chuyển hóa để khám phá nền tảng di truyền và phiên mã của *A. roylei*, một loài hoang dã quan trọng cho thấy các chất chuyển hóa có hoạt tính sinh học đối với các bệnh ở cây trồng Allium.

CÁC CHẤT CHUYỂN HÓA TÍCH CỰC NHƯ LÀ DẤU ẤN SINH HỌC TRONG CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG KHÁNG BỆNH

Các phương pháp nhân giống cây trồng thông thường dựa vào việc chọn lọc các mầm cây có kiểu hình và đặc điểm nông học mong muốn từ các cây riêng lẻ được tạo ra bằng cách sử dụng các phép lai và gây đột biến. Việc nhân giống dựa trên kiểu hình mà không có kiến thức về thành phần di truyền của thực vật sẽ tốn nhiều thời gian và tài nguyên. Các phương pháp tiếp cận -omics đa dạng với việc đánh giá gen, phiên mã, protein và chất chuyển hóa có thể cung cấp thông tin về kết quả cuối cùng của những thay đổi bộ gen dẫn đến kiểu hình bị thay đổi. Một số lượng lớn các chất chuyển hóa được tạo ra bởi thực vật, nhiều chất cần thiết để thực vật tương tác với môi trường. Chất chuyển hóa thứ cấp là những hợp chất hữu cơ nhỏ (khối lượng phân tử nói chung nhỏ hơn 3000 Da), khác với chất chuyển hóa sơ cấp không có chức năng trong chu trình sống của tế bào. Việc sản xuất các chất chuyển hóa thứ cấp cụ thể khác nhau giữa các loài hoặc chi và do đó, ngoài hình dáng và kích thước, v.v., một khía cạnh của đặc tính của một loài. Ngày nay, người ta chấp nhận rộng rãi rằng nhiều trong số chúng có liên quan đến tương tác giữa các sinh vật, ví dụ như trong việc bảo vệ thực vật chống lại mầm bệnh, trong độc tính của mầm bệnh hoặc thu hút các sinh vật có lợi cho người sản xuất. Tuy nhiên, chức năng của phần lớn các chất chuyển hóa thứ cấp vẫn chưa được biết rõ. Ranh giới giữa các chất chuyển hóa chính và phụ không được xác định rõ ràng và các khu vực chồng chéo lên nhau vì các chất chuyển hóa sơ cấp như axit amin, carbohydrate và acetyl-coenzyme A (CoA) được sử dụng như các

khối xây dựng trong các chất chuyển hóa thứ cấp. Một số chuyển hóa trao đổi chất trong chuyển hóa sơ cấp cũng có những biến đổi trong chuyển hóa thứ cấp. Đến nay, số lượng cấu trúc được mô tả vượt quá 100.000. Sự đa dạng phong phú này một phần là kết quả của quá trình tiến hóa được thúc đẩy bởi sự chọn lọc để có được khả năng phòng thủ được cải thiện chống lại sự tấn công của vi sinh vật hoặc côn trùng/ động vật ăn thịt. Quá trình sinh tổng hợp của một số chất chuyển hóa thứ cấp là cấu thành, trong khi ở nhiều loài thực vật, nó có thể được tạo ra và tăng cường bởi các điều kiện stress sinh học, chẳng hạn như vết thương hoặc nhiễm trùng. Kogel & cs kết luận rằng tập chuyển hóa đại diện cho một thăm dò tức thời hơn về tình trạng sinh lý của thực vật khi so sánh những thay đổi trong bộ phận phiên mã ở lá và bộ chuyển hóa gây ra bởi gen chuyển, tương tác giữa cây trồng hoặc sinh vật ở rễ bằng cách sử dụng các dòng lúa mạch (*Hordeum vulgare*) trồng ngoài đồng. Phân tích chuyển hóa và phiên mã phản ứng của cây lúa đối với vi khuẩn bệnh bạc lá *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* cho thấy cho phép phân biệt các phản ứng chuyển hóa và phiên mã của hai kiểu gen lúa và chủng vi khuẩn khác nhau. Cấu trúc trao đổi chất của các kiểu gen hướng dương có phản ứng tương phản với nhiễm *Sclerotinia sclerotiorum* đã chứng minh sự điều chỉnh cụ thể kiểu gen của các con đường trao đổi chất riêng biệt, cho thấy tầm quan trọng của việc phát hiện các kiểu chuyển hóa hơn là những thay đổi chất chuyển hóa cụ thể khi tìm kiếm các dấu hiệu chuyển hóa đáp ứng khác biệt với nhiễm mầm bệnh. Phản ứng bảo vệ toàn thân của cây *Arabidopsis thaliana* đối với tác nhân gây bệnh lá *Pseudomonas syringae* pv. cà chua DC3000

(Pst) do nấm có ích *Trichoderma asperelloides* T203 gây ra, bao gồm những thay đổi đáng kể trong axit amin, polyamine, đường và các chất trung gian chu trình axit citric. Vũ Q. Hoa & cs (2012) phát hiện ra nhiễm sắc thể 2A của hành củ có thể sở hữu một số gen liên quan đến tính kháng bệnh héo *Fusarium*. Sau đó, Abdelrahman & cs (2017) đã có thể phân lập và xác định hợp chất saponin Alliospiroside A ở *A. fistulosum* có thêm nhiễm sắc thể 2A từ cây hành củ và vai trò của nó trong cơ chế bảo vệ chống lại mầm bệnh *Fusarium*. Wojciechowska & cs (2014) báo cáo rằng axit chlorogenic, một chất chuyển hóa được xác định bằng phân tích bộ phận chuyển hóa không được nhắm mục tiêu ở cà chua kháng thuốc, ức chế sự xâm chiếm của nấm *Alternaria* bằng cách ức chế sinh tổng hợp alternariol. Quần thể lập bản đồ bao gồm 210 dòng lai tái tổ hợp (RIL) có nguồn gốc từ phép lai giữa ZS97 và MH63 đã đánh giá tiềm năng của chiến lược omics kết hợp trong việc tìm hiểu cơ sở di truyền của sản phẩm chuyển hóa lúa. Li và cộng sự chỉ ra rằng nhiều chất chuyển hóa đã được kích hoạt để điều phối phản ứng bảo vệ của chuỗi đối với *Fusarium oxysporum*. Chín chất chuyển hóa sơ cấp và mười sáu lipid đã được thay đổi ở cây lúa mạch sở hữu gen kháng đa bệnh bền Lr34 bị nhiễm bệnh gỉ sắt lá lúa mạch (*Puccinia graminis* sp. *hordei*) với mức biểu hiện Lr34 cao được trồng trong cả ba điều kiện sinh trưởng. LC-Q / TOF-MS kết hợp với phân tích thống kê đa biến đã chứng minh ba chất chuyển hóa từ các loại hợp chất thực vật khác nhau - đường, axit phenolic và axit hữu cơ là các chất đánh dấu chuyển hóa cây có dầu tiềm năng để lựa chọn cây có dầu kháng một phần. Zeiss & cs (2018) chỉ ra

tổng cộng 41 chất chuyển hóa đã được chọn lọc bao gồm các axit amin, axit hữu cơ, lipid, các dẫn xuất của axit cinnamic và axit benzoic, flavonoid và glycoalkaloids steroid, đặc biệt nổi bật trong hai giống cà chua có khả năng kháng bệnh cao với bệnh *Ralstonia solanacearum*.

KẾT LUẬN

Người ta ước tính rằng sản lượng nông nghiệp toàn cầu hàng năm giảm 31-42% do sâu bệnh hại cây trồng. Một phương pháp hiệu quả, bền vững với môi trường để kiểm soát sự lây nhiễm bệnh trên cây trồng là sử dụng các gen kháng. Kỹ thuật phân tích kỹ lưỡng chất chuyển hóa với hiệu suất cao đã cho phép xác định một số lượng lớn các phân tử mới có chức năng kháng khuẩn, ức chế sự phát triển mầm bệnh. Do đó, tập chuyển hóa đã cung cấp một khía cạnh mới trong nghiên cứu sinh học hệ thống, giúp hiểu rõ hơn về các tương tác trong hệ thống sinh học như tương tác của thực vật với sâu và bệnh. Tuy nhiên, kiến thức về các con đường trao đổi chất của thực vật vẫn chưa đầy đủ và vẫn còn một chặng đường dài cho đến khi các nhà nghiên cứu có thể hiểu đầy đủ về sự phức tạp của quá trình nghiên cứu bệnh trên thực vật. Theo quan điểm của tầm quan trọng của các chất chuyển hóa, do đó cần phải nghiên cứu sâu hơn cả về chức năng thực vật và giá trị của chúng đối với con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdelrahman M, Mahmoud HYAH, El-Sayed M, Tanaka S, Tran LSP (2017) Isolation and characterization of Cepa2, a natural alliospiroside A, from shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum

- group) with anticancer activity. *Plant Physiology and Biochemistry* 116:167-173.
- Aliferis KA, Chrysai-Tokousbalides M (2011) Metabolomics in pesticide research and development: review and future perspectives. *Metabolomics* 7:35-53.
- Brotman Y, Lisec J, Meret M, Chet I, Willmitzer L and Viterbo A (2012) Transcript and metabolite analysis of the *Trichoderma*-induced systemic resistance response to *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis thaliana*. *Microbiology* 158:139-146.
- Gao X, Locke S, Zhang J, Joshi J, Wang-Pruski G (2018) Metabolomics Profile of Potato Tubers after Phosphite Treatment. *American Journal of Plant Sciences* 9:845-864.
- Hall RD, Brouwer ID, and Fitzgerald MA (2008) Plant metabolomics and its potential application for human. *Nutrition Physiology Plantarum* 132:162-175.
- Hang TTM, Shigyo M, Yaguchi S, Yamauchi N, Tashiro Y (2004) Effect of single alien chromosome from shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) on carbohydrate production in leaf blade of bunching onion (*A. fistulosum* L.). *Genes Genet Syst* 79:345-350.
- Kusano M, Fukushima A, Kobayashi M, Hayashi N, Jonsson P, Moritz T, Ebana K, Saito K (2007) Application of a metabolomic method combining one-dimensional and twodimensional gas chromatography-time-of-flight/mass spectrometry to metabolic phenotyping of natural variants in rice. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 855: 71-79.
- Kos M, van Loon JJ, Dicke M, and Vet LE (2009) Transgenic plants as vital components of integrated pest management. *Trends in Biotechnology* 27: 621–627.
- Le Gall G, Colquhoun I J, Davis AL, Collins GJ, and Verhoeven ME (2003) Metabolite profiling of tomato (*Lycopersicon esculentum*) using ¹H NMR spectroscopy as a tool to detect potential unintended effects following a genetic modification. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51:2447-2456.
- Leon C, Rodriguez-Meizoso I, Lucio M, Garcia-Canas V, Ibanez E, Schmitt-Kopplin P, Cifuentes A (2009) Metabolomics of transgenic maize combining Fourier transform-ion cyclotron resonance-mass spectrometry, capillary electrophoresis-mass spectrometry and pressurized liquid extraction. *Journal of Chromatography A* 1216: 7314-7323.
- Loots DT (2014) An Altered *Mycobacterium tuberculosis* Metabolome Induced by katG Mutations Resulting in Isoniazid Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58(4):2144-2149.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects

- Washington, DC: The National Academies Press.
- Shigyo M, Tashiro Y, Isshiki S, Miyazaki S (1996) Establishment of a series of alien monosomic addition lines of Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L.) with extra chromosomes from shallot (*A. cepa* L. Aggregatum group). *Genes Genet Syst* 71: 363-371.
- Vu HQ, Yoshimatsu Y, Khrustaleva LI, Yamauchi N, Shigyo M (2012) Alien genes introgression and development of alien monosomic addition lines from a threatened species, *Allium roylei* Stearn, to *Allium cepa* L. *Theor Appl Genet* 124(7):1241-1257.
- Vu HQ, El-Sayed MA, Ito S, Yamauchi N, Shigyo M (2012) Discovery of a new source of resistance to *Fusarium oxysporum*, cause of *Fusarium* wilt in *Allium fistulosum*, located on chromosome 2 of *Allium cepa* Aggregatum group. *Genome* 55:797-807.
- Wojciechowska E, Weinert CH, Egert B, Trierweiler B, Schmidt-Heydt M, Horneburg B, Graeff-Honninger S, Kulling SE, Geisen R (2014) Chlorogenic acid, a metabolite identified by untargeted metabolome analysis in resistant tomatoes, inhibits the colonization by *Alternaria alternata* by inhibiting alternariol biosynthesis. *Eur J Plant Pathol* 139(4):735–747.
- Yaguchi S, Matsumoto M, Date R, Harada T, Maeda T, Yamauchi N, Shigyo M (2013) Biochemical Analyses of the Antioxidative Activity and Chemical Ingredients in Eight Different Allium Alien Monosomic Addition Lines. *Biosci Biotech Biochem* 2013 77(12):2486-2488.
- Zeiss DR, Mhlongo MI, Tugizimana F, Steenkamp PA, and Dubery IA (2018) Comparative Metabolic Phenotyping of Tomato (*Solanum lycopersicum*) for the Identification of Metabolic Signatures in Cultivars Differing in Resistance to *Ralstonia solanacearum*. *Int J Mol Sci* 19(9):2558
doi: [10.3390/ijms19092558](https://doi.org/10.3390/ijms19092558)

**ĐẶC ĐIỂM GIẢI PHẪU HOA, RỄ VÀ KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG CÂY
BÁT GIÁC LIÊN (*DYSOSMA TONKINENSE* (GAGNEP.) M.HIROE) -
BERBERIDACEAE**

Phạm Ngọc Khánh^{1,3}, Ninh Thị Phức², Phạm Thanh Huyền³

¹ NCS Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Viện Dược liệu

TÓM TẮT

Bát giác liên (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe) - Berberidaceae là cây thuốc quý, có phân bố chủ yếu ở Việt Nam và phía Nam của Trung Quốc. Do khả năng tái sinh kém, bị khai thác quá mức làm dược liệu nên cây được đưa vào Sách đỏ Việt Nam (2007) với mức nguy cấp (EN). Nghiên cứu này nhằm xác định đặc điểm giải phẫu của hoa, rễ và khả năng nhân giống hữu tính, vô tính cây Bát giác liên. Kết quả nghiên cứu cho thấy Bát giác liên là cây tự bất thụ (self-incompatible) và cần phải giao phần khác cây (obligatory outbreeding) để có thể đậu quả. Hoa lưỡng tính với 6-7(8) đài, 6-7(8) tràng, 6 nhị và 1 nhụy. Hạt có vỏ dày với thời gian ngủ nghỉ ngắn (thời gian từ khi gieo đến khi nảy mầm là 60 ngày). Hạt được gieo ngay sau khi thu hoạch có tỷ lệ nảy mầm cao nhất (84,4%). Cấu tạo vi phẫu rễ Bát giác liên gồm các lớp biểu bì, mô mềm vỏ (vỏ), nội bì, trụ bì và mô mềm ruột. Mầm bất định hình thành từ lớp tế bào trụ bì (tầng phát sinh của rễ). Hom đầu rễ và giữa rễ cho kết quả nhân giống tốt nhất với tỷ lệ hom bật mầm là 74,8 % và 80,6%. Hom rễ có độ dài từ 1 cm đến 15 cm và cả rễ (dài > 30 cm) đều có khả năng hình thành chồi bất định, trong đó hom rễ dài > 30 cm có tỷ lệ hom xuất vườn cao nhất (94,7%).

Từ khóa: Bát giác liên, *Dysosma tonkinense*, đặc điểm giải phẫu, nhân giống.

**MORPHOLOGY CHARACTERISATION OF FLOWER, ROOT AND
PROPAGATION ABILITY OF *DYSOSMA TONKINENSE* (GAGNEP.) M.HIROE -
BERBERIDACEAE**

ABSTRACT

Dysosma tonkinense (Gagnep.) M.Hiroe) - Berberidaceae is precious medicinal plant with most of its distribution occurring within Vietnam and the Southern areas of China. Due to low in reproductive abilities and over exploitation for medicine, it has been classified as a category “Endangered (EN) species” on the Vietnam Red Data Book (2007) . This study aim to decides morphology characterisation of flower, root and sexual, asexual propagation of *D. tonkinense*. The results showed that *D. tonkinense* is self-incompatible and obligatory outbreeding plant. Hermaphrodite flowers with 6-7(8) calyxes, 6-7(8) corollas, 6 stamens and a pistil. Seeds has thick coat and dormancy (times from sowing for germinate is 60 days). The anatomy of *D.*

tonkinense transverse section of root include epidermis, cortex (parenchyma), endodermis, pericycle/cambium and pith. Adventitious shoots originated to layer of cells of root pericycle/cambium. Old parts and middle parts of root has sprouting rate higher than young parts root (with sprouting rate is 74,8% and 80,6%). Both root segments cutting (1cm to 15 cm) and whole root (>30cm) have abilities sprouted with highest sprouting in whole root (94,7 percents)

Từ khóa: *Dysosma tonkinense*, morphology characterisation, propagation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Bát giác liên (*Dysosma* Woodson) là một chi nhỏ gồm 7 đến 10 loài cây thân thảo sống lâu năm thuộc họ Hoàng liên (Berberidaceae), có phân bố ở Trung Quốc và Việt Nam; trong đó có 6 loài đặc hữu ở Trung Quốc. Chi Bát giác liên có quan hệ gần với chi *Diphylllea* Michx phân bố ở Tây Á, Bắc Mỹ; chi *Podophyllum* L phân bố ở Tây Bắc Mỹ và chi *Sinopodophyllum* Ying. Phân bố ở phía Tây dãy Himalaya.

Loài Bát giác liên ở Việt Nam có tên khoa học *Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe (Hiroe, 1973; Pham *et al.*, 2020) với các tên đồng danh *Podophyllum tonkinense* Gagnep (Gagnepain, 1938); *P. versipelle* Hance subsp. *versipelle*; *Dysosma difformis* (Ying *et al.*, 2011). Bát giác liên có phân bố tại một số tỉnh thuộc miền núi phía Bắc Việt Nam như Hòa Bình, Sơn La, Lai Châu, Điện Biên, Lào Cai, Hà Giang, Tuyên Quang, Yên Bái ở độ cao 470 đến 1.720 m (Gagnepain, 1938; Phạm Hoàng Hộ, 1999; Nguyễn Hữu Hiến, 2005); Kon Tum là địa điểm phân bố mới được ghi nhận và là điểm phân bố xa nhất về phía Nam của loài này (Pham *et al.*, 2020). Thân rễ và rễ của loài được sử dụng trong y học cổ truyền với tên vị thuốc là "Bát giác liên" (Phạm Hoàng Hộ, 1999; Đỗ Tất Lợi, 2004; Nguyễn Hữu Hiến, 2005).

Do bị khai thác sử dụng làm thuốc thiếu sự kiểm soát trong nhiều năm dẫn đến

hiện trạng suy giảm nguồn gen nghiêm trọng trong tự nhiên. Loài Bát giác liên đã được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam (2007) với mức phân hạng "đang nguy cấp" (EN A1a, c, d), cần được nghiên cứu nhân giống và bảo tồn.

Cây Bát giác liên có tỷ lệ đậu quả rất thấp trong tự nhiên cũng như điều kiện trồng trọt nên việc sử dụng hạt làm vật liệu nhân giống rất khó khăn; tuy nhiên có thể nhân giống bằng thân rễ (Nadeem *et al.*, 2000). Chưa có nghiên cứu nhân giống các loài Bát giác liên (thuộc 2 chi *Dysosma* Woodson. và *Podophyllum* L.) bằng rễ, tuy nhiên Phạm Ngọc Khánh và cs (2017) đã ghi nhận các trường hợp cây Bát giác liên mọc từ rễ. Với mục tiêu nghiên cứu vật liệu và biện pháp nhân giống phù hợp cho cây Bát giác liên; việc nghiên cứu cấu tạo giải phẫu hoa, giải phẫu rễ, đặc điểm sinh sản hữu tính và sự hình thành chồi bất định từ rễ; đồng thời, các đánh giá khả năng nhân giống bằng hạt và bằng hom rễ đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Bát giác liên 4-5 năm tuổi được trồng trong nhà màng có lưới đen che giảm ánh sáng 50% tại Trung tâm nghiên cứu dược liệu Sa Pa - Viện Dược liệu. Hoa được thu vào thời điểm 1/3 khi cây ra hoa rộ. Rễ được thu vào tháng 10 khi phần thân trên mặt đất bắt đầu lụi.

Thuốc nhuộm carmin axetic 2% (nhuộm đỏ) và methylene blue 1% (nhuộm xanh).

Kính hiển vi quang học Kruss MBL 2000 – T

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp cắt mẫu, nhuộm kép và soi tiêu bản

Giải phẫu hoa được thực hiện tại Trung tâm nghiên cứu dược liệu Sa Pa - Viện Dược liệu

Vì phẫu rễ được thực hiện tại Khoa Hóa phân tích tiêu chuẩn, Viện Dược liệu.

Mẫu rễ sau khi thu về được rửa sạch bằng nước sau đó được cố định và bảo quản trong dung dịch FAC gồm ethyl alcohol 96°, acetic acid 40%, formalin và nước cất (Nguyễn Khoa Lâm, 1997). Mẫu rễ được cắt mỏng bằng dao lam, nhuộm kép và làm tiêu bản tạm thời. Phương pháp nhuộm kép nhằm phân biệt được tế bào có màng bằng cellulose (bắt màu đỏ của thuốc nhuộm carmine và tế bào có màng thấm lignin (bắt màu xanh của thuốc nhuộm methylene blue) (Hoàng Thị Sản và Nguyễn Tề Chính, 1982). Từ đó xác định được sự có mặt và phân bố các loại mô của rễ. Mẫu rễ được quan sát và chụp ảnh tiêu bản dưới kính hiển vi Kruss MBL 2000 – T của Đức.

2.2.2. Phương pháp nhân giống

Nhân giống Bát giác liên được thực hiện tại Tung tâm nghiên cứu dược liệu Sa Pa, Viện Dược liệu.

- Nhân giống hữu tính:

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến tỷ lệ nảy mầm của hạt Bát giác liên

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc, 4 công thức: không bảo quản BQ0 và bảo quản hạt trong thời gian 1 tháng (BQ1), 2 tháng (BQ2) và 3 tháng (BQ3).

Hạt được tách từ quả chín hoàn toàn (vỏ quả màu vàng chanh), loại bỏ lớp áo hạt, rửa sạch và để ráo nước, phơi trong nắng nhẹ đến khi độ ẩm của hạt còn 15%. Công thức BQ0 hạt được gieo ngay (không bảo quản); các công thức còn lại, hạt được chứa trong túi PE hàn mép và lưu trong điều kiện nhiệt độ 4-5°C. Hạt được gieo trong các khay nhựa với nền 100% mùn.

- Nhân giống vô tính:

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của vị trí hom rễ đến khả năng nhân giống Bát giác liên. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc, 3 vị trí hom rễ khác nhau: hom đầu rễ (VT1), hom giữa rễ (VT2) và hom cuối rễ (VT3). Các hom rễ đồng đều, dài 10 cm, đường kính của hom cuối rễ và giữa rễ ~ 2,0 mm, đường kính hom cuối rễ ~ 1,0 mm.

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của độ dài hom rễ đến khả năng nhân giống Bát giác liên. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) gồm 3 lần nhắc, 5 kích thước hom khác nhau: hom dài 1 cm (KT1), hom dài 3 cm (KT2), hom dài 5 cm (KT3), hom dài 10 cm (KT4), hom dài 15 cm (KT5) và hom là cả rễ dài > 30 cm (KT6). Các hom rễ được lấy từ vị trí giữa rễ, đồng đều về đường kính (~ 0,2 cm)

Rễ sau khi thu từ cây mẹ được rửa sạch, sau đó cắt thành các đoạn hom và xử lý theo các công thức thí nghiệm. Các hom rễ được giâm trong giá thể là mùn; khi giâm đặt hom nằm ngang cách nhau 3-4 cm sau đó

phủ kín bằng lớp mùn dày 2-3 cm; tưới giữ ẩm cho đến khi hom bật mầm và cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn.

Các số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Excel và xử lý bằng chương trình IRRISTAT ver. 5.0.

Phương pháp xử lý số liệu

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái và giải phẫu hoa Bát giác liên



Hình 1. Cấu tạo giải phẫu hoa Bát giác liên (*Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M.Hiroe).

a. Cành mang hoa; b. Các giai đoạn phát triển của hoa; c,d,e,f,g. các bộ phận của hoa

Bát giác liên có thời gian ra hoa từ tháng (1)2 đến tháng 3(4). Vào thời điểm tháng 1 khi phần thân lá trên mặt đất của năm trước đã già, lụi thì mầm mới bắt đầu hình thành; khi mầm thoát ra khỏi lá bao mầm thì chùy nụ hoa cũng xuất hiện. Nụ hoa hình thành và phát triển đồng thời với mầm; khi mầm đạt kích thước tối đa thì chùy hoa bắt đầu nở. Về cấu tạo, hoa của loài Bát giác liên ở Việt Nam (*Dysosma tonkinense*) có cấu tạo tương đồng với các loài Bát giác liên thuộc

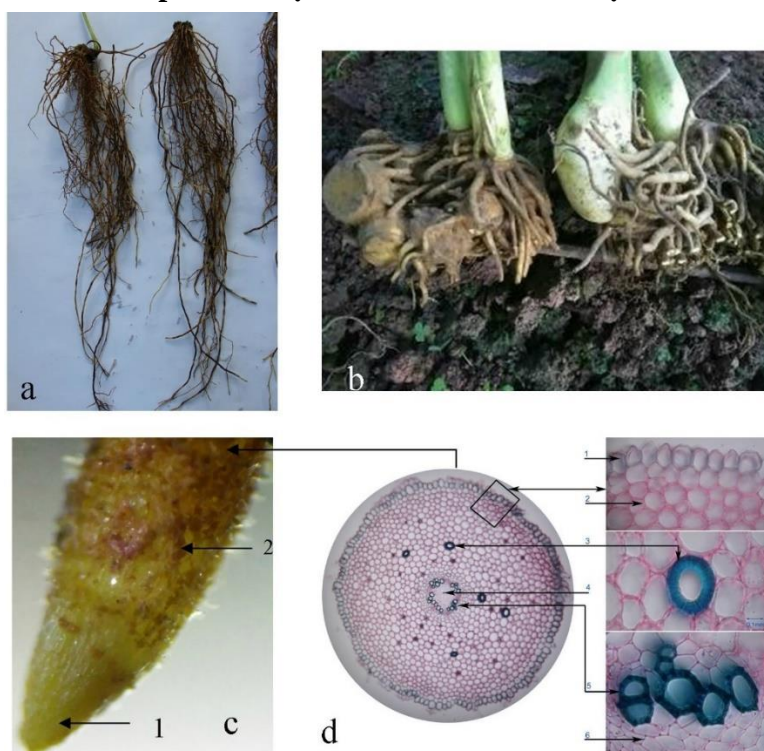
chi *Dysosma* Woodson., đó là đài 6(8) (xếp 2 vòng), tràng 6-8 (xếp 2 vòng), nhị 6, nhụy 1, bầu trên. Hoa nở trong thời gian từ 7 đến 10 ngày với dấu hiệu đặc trưng của sự nở hoa đó là đài khô và rụng, bao phấn mở, tuy nhiên cánh hoa khum, bao kín nhị và nhụy (hình 1a, 1b). Với đặc điểm cánh hoa khum, bao kín lấy nhị và nhụy sẽ làm cho các loài côn trùng khó tiếp cận để thụ phấn và giao phấn cho cây; đồng thời khi cánh hoa rụng thì lớp tế bào trên bề mặt nhụy nơi tiếp nhận

hạt phấn đã bị chết (hình 1f) nên sự thụ tinh sẽ không diễn ra. Những đặc điểm trên chính là nguyên nhân tỷ lệ đậu quả rất thấp (0% - 10% trong tự nhiên với các quần thể <20 cá thể và 5%-10% trong điều kiện trồng trọt với quần thể >100 cá thể) mặc dù số lượng hoa lưỡng tính trên cây mỗi cây tương đối lớn (hình 1a), có thể đến 30 hoa/cây.

Đặc điểm tỷ lệ đậu quả rất thấp của loài Bát giác liên ở Việt Nam tương đồng với các loài khác thuộc chi *Dysosma* Woodson và chi *Podophyllum* L đã được nghiên cứu. Gong *et al.*, 2015 cho biết rằng các loài Bát giác liên thuộc chi *Dysosma* Woodson và *Podophyllum* L có tỷ lệ đậu quả trong tự nhiên rất thấp; trong đó loài *Dysosma pleiantha* có tỷ lệ đậu quả 17,1%. Loài

Podophyllum peltatum có tỷ lệ đậu quả khoảng 10% và số hạt trung bình trên mỗi quả là $18.8 \pm 1,0$ hạt (Whisler and Snow, 1992). Để giải thích cho hiện tượng tỷ lệ đậu quả trong quần thể rất thấp của các loài thuộc chi *Dysosma* Woodson. và *Podophyllum* L., các nghiên cứu của Whisler and Snow (1992) và Gong *et al.* (2015) cho biết rằng các loài Bát giác liên có hiện tượng tự bất thụ (self-incompatible) và cần phải giao phấn khác cây (obligatory outbreeding) để có thể đậu quả. Hiện tượng tự bất thụ ở các loài Bát giác liên do một số cơ chế, đó là sự ức chế nảy mầm của hạt phấn và sự ức chế phát triển của ống phấn trên đầu nhụy; đồng thời khi cánh hoa mở để đầu nhụy tiếp nhận hạt phấn thì lớp tế bào trên bề mặt nhụy đã bị hoại tử.

3.2. Đặc điểm hình thái, vi phẫu và sự hình thành chồi bất định trên rễ Bát giác liên

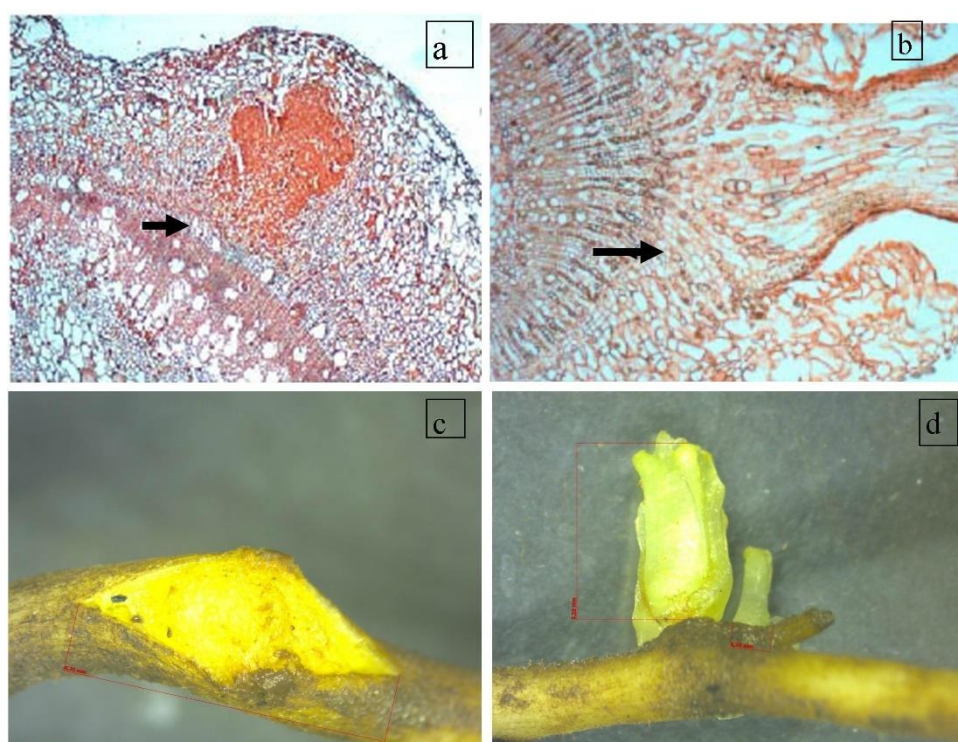


Hình 2. Đặc điểm hình thái và vi phẫu rễ Bát giác liên

a, b- thân rễ mang các rễ; c- rễ Bát giác liên. c1: chóp rễ. c2: vùng rễ trưởng thành mang lông rễ; d-mặt cắt ngang tại vùng rễ trưởng thành. d1. biểu bì, d2-mô mềm vỏ, d3-mô cứng, d4-mô mềm ruột, d5-gỗ, d6-libe.

Bát giác liên là cây hai lá mầm nhưng có kiểu rễ chùm gồm nhiều rễ nhỏ (cây 4-5 tuổi có đến 25 - 40 rễ, có khi nhiều hơn) mọc từ thân rễ. Rễ hình sợi, dài 30 - 70 cm, đường kính 1,5 - 2,5 mm; mặt ngoài có nhiều lông rễ, màu vàng chanh, khi già có màu nâu nhạt. Khi rễ đã phát triển ổn định, 2/3 chiều dài rễ (phía giáp góc thân) không phân nhánh, chỉ 1/3 rễ về phía đỉnh sinh trưởng có phân

nhánh. Mặt cắt ngang rễ hình tròn., biểu bì gồm một lớp tế bào đa giác hay hình gần tròn, xếp tương đối đều đặn. Dưới lớp biểu bì là mô mềm gồm các tế bào tròn có thành mỏng. Rải rác trong mô mềm vỏ có tế bào cứng kích thước to hơn tế bào mô mềm. Gỗ và libe tạo thành vòng tròn ngay lớp trụ bì. Phía trong là mô mềm ruột có kích thước nhỏ và có thành dày (hình 2).



Hình 3. Vi phẫu rễ Bát giác liên đang hình thành mầm bất định.

a, c- vi phẫu và vị trí rễ đang trong quá trình phân hóa;

b, d. hình thái và vi phẫu mầm bất định.

Phản phân hóa của tế bào là quá trình mà tế bào đã phân hóa trở lại thành tế bào gốc (callus), có tính toàn năng (Wu, 2011). Vi phẫu vị trí rễ đang trong quá trình hình thành mầm bất định cho thấy: tại vị trí rễ hình thành chồi bất định, lớp tế bào của tầng phát sinh rễ phản phân hóa, phân chia mạnh tạo thành một khối mô gồm nhiều tế bào nhỏ, các tế bào tiếp tục phân chia và tăng kích

thước (theo cả chiều dài và chiều rộng) làm cho khối mô lớn lên, rách lớp biểu bì, vết rách dài từ 6,0 - 12,0 mm (hình 3a, 3c). Sau khi lớp biểu bì rách ra, mầm bất định mới hình thành; mầm bất định gồm 3-4 lá bao chồi hình tam giác, màu vàng nhạt hay màu trắng (hình 3b, 3d); kích thước của chồi bất định phụ thuộc vào độ sâu của rễ trong đất, nếu rễ mọc sâu trong đất, chồi có thể hình

thành và vươn dài đến hơn 5 cm. Khi mầm vươn lên khỏi mặt đất thì lá thật mới xuất hiện.

3.3. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến khả năng nảy mầm của hạt

Xác định tỷ lệ nảy mầm của hạt sau từng thời gian bảo quản hạt có ý nghĩa quan trọng đối với sản xuất nông nghiệp. Hạt của các cây trồng khác nhau thì có thể bảo quản trong thời gian khác nhau, do chúng có các đặc điểm khác nhau về cấu trúc, kích thước và chất dự trữ trong hạt. Bởi vậy, một số loại hạt có thể bảo quản trong thời gian nhất định và điều kiện thích hợp mà vẫn đảm bảo tỷ lệ nảy mầm khi gieo, trong khi có những loại hạt phải gieo ngay sau khi thu hoạch, tỷ lệ nảy

mầm của hạt sẽ càng giảm nếu thời gian bảo quản càng dài. Trong một nghiên cứu bảo quản hạt giống một số loài thực vật tại khu vực Tây Tạng, Liu *et al.* đã thực hiện bảo quản hạt của 489 loài trong thời gian và điều kiện bảo quản khác nhau. Với các thời gian và điều kiện bảo quản, tỷ lệ nảy mầm của hạt giống có thể tăng, giảm hoặc tương đương so với khi thu hoạch (không bảo quản). Một nghiên cứu khác về bảo quản hạt *Syzigium cuminii* cho thấy, hạt bảo quản trong điều kiện ẩm độ 10%, nhiệt độ 20°C đã làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt từ 89,0% (hạt mới thu hoạch) đến 92,5% sau khi bảo quản 180 ngày (Anandalakshmi, 2005).

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến khả năng nảy mầm của hạt

Chỉ tiêu Công thức	Thời gian từ khi gieo hạt đến.... (ngày)		Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
	nảy mầm	xuất vườn		
BQ0	64	252	84,4	80,0
BQ1	57	240	72,2	67,8
BQ2	55	235	62,2	55,6
BQ3	50	230	51,1	44,4
	<i>LSD</i> _{0.05}		8,7	9,4
	<i>CV</i> %		3,5	3,7

Ghi chú: BQ0 - gieo ngay sau khi thu, không bảo quản; BQ1- bảo quản hạt trong 1 tháng; BQ2 - bảo quản hạt trong 2 tháng; BQ3- bảo quản hạt trong 3 tháng. Hạt bảo quản trong điều kiện nhiệt độ 4-5°C.

Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến khả năng nảy mầm của hạt Bát giác liên được trình bày trên bảng 1. Kết quả cho thấy hạt sau khi tách khỏi quả chín, đãi sạch lớp áo hạt, để ráo nước rồi gieo ngay (BQ0) cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất (84,4%), mặc dù thời gian nảy mầm của hạt và thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn dài hơn các công thức còn lại. Thời gian bảo quản càng kéo dài thì tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn càng giảm. Trong đó tỷ lệ nảy mầm của hạt giảm 21% (từ

72,2% xuống còn 51,1%) sau khi bảo quản từ 1 tháng đến 3 tháng.

3.4. Ảnh hưởng của vị trí hom rễ đến khả năng hình thành chồi bất định

Đối với các loại thực vật khác nhau, việc sử dụng vị trí hom (tương ứng với tuổi hom) khác nhau trên thân hoặc rễ có ảnh hưởng đến kết quả nhân giống. Trong khi một số loài thực vật có thể sử dụng hom ngọn (hom non) làm vật liệu nhân giống như các loài thuộc chi Tú cầu (*Hydrangea* L), thì phần lớn các loài thực vật khác nên sử dụng

hom giữa (hom bánh tẻ) hoặc hom gốc (hom già) làm vật liệu nhân giống. Khi nhân giống loài *Vitex donianna* (Lamiaceae) bằng rễ, hom có đường kính 1,1-2,5 cm sẽ cho kết

quả nhân giống tốt hơn so với hom có đường kính 0,5-1,0 cm (Mapongmetsem *et al.*, 2016)

Bảng 2. Ảnh hưởng của vị trí hom rễ đến khả năng nhân giống

Chỉ tiêu Công thức	Khối lượng hom rễ (g)	Thời gian từ khi giâm hom đến.... (ngày)		Tỷ lệ hom bật mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		bật mầm	xuất vườn		
VT1	1,7	275	325	67,7	62,6
VT2	2,8	265	310	74,8	72,3
VT3	3,1	260	310	80,6	78,9
<i>LSD</i> _{0,05}				5,9	6,8
<i>CV</i> %				3,1	3,9

Ghi chú: VT1 - Hom cuối rễ; VT2 - Hom giữa rễ; VT3 - Hom đầu rễ

Khi nhân giống Bát giác liên bằng hom rễ cho thấy hom ở vị trí đầu rễ - VT3 (hay hom già, giáp thân rễ) và hom ở vị trí giữa rễ - VT2 (hom bánh tẻ) có thời gian bật mầm và thời gian cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn ngắn hơn; đồng thời tỷ lệ bật mầm

(80,6% và 74,8%) và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (78,9% và 72,3%) lớn hơn so với hom cuối rễ - VT1 (hom non) có tỷ lệ hom bật mầm và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn lần lượt là 67,7% và 62,6% (bảng 2).

Bảng 3. Đặc điểm của cây giống Bát giác liên từ các vị trí hom rễ

Công thức	Chỉ tiêu	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số rễ (rễ)	Số mầm (mầm)
VTR1		8,0 ± 0,9	1,2 ± 0,5	2,5 ± 0,5	2,0
VTR2		9,1 ± 0,7	1,6 ± 0,5	3,5 ± 0,4	1,0
VTR3		12,5 ± 1,0	1,7 ± 0,4	4,5 ± 0,5	1,0

Ghi chú: VT1 - Hom cuối rễ; VT2 - Hom giữa rễ; VT3 - Hom đầu rễ

Theo dõi cây giống Bát giác liên tại thời điểm xuất vườn cho thấy cây giống từ hom tại vị trí đầu rễ có chiều cao cây và số rễ lớn hơn, trong khi số lá tương đương so với cây con từ hom giữa rễ và cuối rễ. Tuy nhiên, theo dõi số mầm trên mỗi hom cho thấy hom ở vị trí cuối rễ (VT1) có nhiều mầm hơn so với hom giữa rễ và đầu rễ (Bảng 3).

Như vậy vị trí hom rễ có ảnh hưởng rõ đến khả năng nhân giống của cây Bát giác liên. Đối với hom đầu rễ và giữa rễ là các hom già và hom bánh tẻ có vị trí gần với thân rễ. Với đặc điểm rễ có hình sợi,

hoi thuận từ đầu rễ đến cuối rễ nên các hom đầu rễ và giữa rễ có kích thước lớn hơn và khối lượng lớn hơn, đồng nghĩa với lượng chất dự trữ trong các đoạn hom đầu rễ và giữa rễ sẽ lớn hơn lượng chất dự trữ trong hom cuối rễ. Đây là yếu tố quan trọng, dinh dưỡng cung cấp cho quá trình hình thành và phát triển của chồi bất định trên hom đầu rễ nhiều hơn nên hom sẽ bật mầm sớm hơn, tỷ lệ bật mầm nhiều hơn và cây giống sẽ sinh trưởng tốt hơn. Tuy nhiên số lượng mầm hình thành trên một hom cuối rễ lại nhiều hơn do đoạn hom này có nhiều điểm

phân nhánh của rễ nên khả năng hình thành mầm (chồi) bất định tại các điểm phân nhánh này sẽ lớn hơn so với hom đầu rễ và giữa rễ (các hom rễ này không phân nhánh).

3.5. Ảnh hưởng của độ dài hom rễ đến khả năng nhân giống Bát giác liên

Lựa chọn kích thước (độ dài) của đoạn hom giâm có ý nghĩa quan trọng trong nhân giống cây trồng. Độ dài của hom giâm có liên quan tới số chồi ngủ trên đoạn hom (đối với hom thân) và liên quan đến chất

đinh dưỡng dự trữ trong hom để cung cấp cho quá trình bật mầm. Không chỉ vậy, nhiều loại cây trồng có bộ phận thu hoạch là cơ quan sinh dưỡng (thân, cành, rễ) thì việc lựa chọn kích thước hom còn liên quan đến sự cân đối giữa khối lượng để nhân giống với khối lượng của bộ phận thu hoạch. Đối với cây Bát giác liên, bộ phận thu hoạch bao gồm thân rễ (rhizoma) và rễ (root) nên việc sử dụng hom rễ có kích thước thích hợp để nhân giống không những vừa đảm bảo khả năng nhân giống mà còn đảm bảo năng suất thu hoạch.

Bảng 4. Ảnh hưởng của vị trí hom rễ đến khả năng nhân giống

Chỉ tiêu Công thức	Khối lượng hom rễ (g)	Thời gian từ khi giâm hom đến.... (ngày)		Tỷ lệ hom bật mầm (%)	Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		bật mầm	xuất vườn		
KT1	0,3	290	350	51,1	45,5
KT2	1,2	285	340	55,6	50,8
KT3	1,6	270	320	63,3	61,7
KT4	2,9	265	305	75,7	73,1
KT5	4,7	258	295	96,7	93,7
KT6	>10,0	250	295	97,8	94,7
<i>LSD</i> _{0.05}				8,7	9,2
<i>CV</i> %				4,5	5,3

Ghi chú: KT1 - Hom rễ dài 1 cm; KT2 - Hom rễ kích thước 3 cm; KT3 - Hom rễ dài 5 cm; KT4 - Hom rễ dài 10 cm; KT5 - Hom rễ dài 15 cm. KT6 - Dùng cả rễ làm hom giâm (rễ dài >30 cm)

Khi sử dụng hom rễ làm bộ phận nhân giống, với mỗi loài cây khác nhau thì hom rễ yêu cầu độ dài khác nhau. Đối với cây *Detarium microcarpum* (một cây họ Đậu tại khu vực Tây Phi) khi nhân giống bằng phương pháp giâm hom rễ thì đoạn hom có độ dài (20 cm) có khả năng nhân giống tốt hơn so với đoạn hom ngắn (10 cm) (Dembele *et al.*, 2010).

Độ dài của hom rễ có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân giống Bát giác liên. Kết quả theo dõi sự bật mầm của hom rễ cho thấy rằng: các hom có kích thước từ 1 cm (KT1) đến 15 cm (KT5) hay sử dụng cả rễ làm hom

giâm (KT6) đều có khả năng bật mầm sau thời gian giâm hom từ 250 đến 290 ngày và cây con hoàn chỉnh, đạt tiêu chuẩn xuất vườn sau 295 đến 350 ngày; với tỷ lệ bật mầm 51,1% đến 97,8% và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn 45,5% đến 94,7%. Hom rễ càng dài thì thời gian bật mầm càng sớm và tỷ lệ cây xuất vườn càng cao; trong đó khi sử dụng cả rễ làm vật liệu giâm hom (rễ dài >30 cm) có thời gian bật mầm sớm nhất (sau 250 ngày) và tỷ lệ cây xuất vườn cao nhất (94,7%) (Bảng 4).

Hom rễ Bát giác liên có kích thước dài không những khả năng bật mầm tốt hơn mà

đặc điểm hình thái cây giống cũng vượt trội so với hom có kích thước ngắn. Theo dõi đặc điểm cây giống Bát giác liên từ hom rễ có kích thước khác nhau cho thấy: cây có chiều cao từ $6,0 \pm 1,3$ cm đến $16,5 \pm 1,5$ cm; số lá

từ $1,1 \pm 0,5$ lá đến $2,5 \pm 0,7$ lá và số rễ từ $2,5 \pm 0,6$ rễ đến $6,3 \pm 0,3$ rễ. Các hom có kích thước 1 cm đến 10 cm có 1 nhánh; trong khi hom dài 15 cm và hom là rễ dài >30 cm có từ 1 - 2 nhánh (Bảng 5).

Bảng 5. Đặc điểm của cây giống Bát giác liên từ các vị trí hom rễ

Chỉ tiêu Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số rễ (rễ)	Số nhánh (nhánh)
KT1	$6,0 \pm 1,3$	$1,1 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,6$	1,0
KT2	$7,5 \pm 1,5$	$1,5 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,4$	1,0
KT3	$8,5 \pm 1,5$	$1,5 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,5$	1,0
KT4	$10,1 \pm 1,4$	$1,7 \pm 0,5$	$3,7 \pm 0,3$	1,0
KT5	$14,7 \pm 1,2$	$2,1 \pm 0,5$	$5,5 \pm 0,6$	1,0 - 2,0
KT6	$16,5 \pm 1,5$	$2,5 \pm 0,7$	$6,3 \pm 0,3$	1,0 - 2,0

Ghi chú: KT1 - Hom rễ dài 1 cm; KT2 - Hom rễ kích thước 3 cm; KT3 - Hom rễ dài 5 cm;

KT4 - Hom rễ dài 10 cm; KT5 - Hom rễ dài 15 cm. KT6 - Dùng cả rễ làm hom giâm

(rễ dài >30 cm)

Như vậy độ dài hom rễ có ảnh hưởng đến khả năng nhân giống Bát giác liên. Độ dài của hom càng tăng thì thời gian giâm hom càng ngắn, tỷ lệ bật mầm, tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn càng tăng; đồng thời các chỉ tiêu về chiều cao cây, số lá và số nhánh cũng tăng. Trong đó sử dụng đoạn hom dài 15 cm và sử dụng cả rễ (dài > 30cm) làm hom giâm sẽ cho khả năng nhân giống tốt nhất (96,7% đến 97,8% hom bật mầm và 93,7% đến 94,4% cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn). Tuy nhiên, rễ Bát giác liên cũng là phần thu hoạch làm dược liệu, việc sử dụng hom rễ có độ dài 15 cm sẽ tiết kiệm được >50% năng suất rễ làm dược liệu. Bởi vậy nên chọn đoạn hom dài 15 cm làm hom giống để có thể vừa đạt kết quả nhân giống cao, vừa đảm bảo được năng suất khi thu dược liệu.

IV. KẾT LUẬN

Bát giác liên là cây có hoa lưỡng tính, cấu tạo của hoa gồm có 6(8) đài, 6(8) tràng xếp thành 2 vòng, 6 nhị và 1 nhụy. Hoa có hiện tượng tự bất thụ nên tỷ lệ đậu quả thấp,

khó thu hạt để nhân giống hữu tính. Hạt Bát giác liên gieo ngay sau khi thu hoạch có tỷ lệ nảy mầm 84,4%, thời gian bảo quản càng dài thì tỷ lệ nảy mầm của hạt càng giảm. Rễ của Bát giác liên nhiều, nhỏ; vi phẫu rễ gồm biểu bì, mô mềm vỏ (vỏ), nội bì, trụ bì và mô mềm ruột; lớp tế bào tầng trụ bì có thể phát triển tạo thành mầm bất định nên có thể sử dụng rễ làm vật liệu nhân giống vô tính. Trong các vị trí rễ sử dụng làm hom giống thì hom đầu rễ và giữa rễ cho kết quả nhân giống tốt nhất với tỷ lệ hom bật mầm và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 80,6% và 78,9%. Các hom có độ dài từ 1 cm đến 30 cm (cả rễ) đều có khả năng hình thành cây con hoàn chỉnh; trong đó hom rễ dài 15 cm và 30 cm cho kết quả nhân giống tương đương (tỷ lệ hom bật mầm là 96,7% đến 97,8% và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 93,7% đến 94,4%). Do đó trong sản xuất giống nên sử dụng hom rễ có độ dài 15 cm làm vật liệu nhân giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Hữu Hiến (2005). *Podophyllum* L. - Danh lục các loài thực vật Việt Nam, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội. Tập 2: 162.
- Phạm Hoàng Hộ (1999). *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, Hà Nội. Tập 1: 327.
- Phạm Ngọc Khánh (2017). Đánh giá đặc điểm nông sinh học và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây Bát giác liên tại Sa Pa. Báo cáo nhiệm vụ thường xuyên, Viện Dược liệu.
- Đỗ Tất Lợi (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 544.
- Anandalakshmi R., V. Sivakumar, R. R. Warriar, R. Parimalam, S. N. Vijayachandran and B. G. Singh (2005), Seed storage studies in *Syzigium cuminii*, *Journal of Tropical Forest Science* 17(4), 566-573.
- Dembele C. K., M. Tigabu, J. Bayala, P. Savadogo, I J. Boussim and P. C. Odén (2010), Clonal Propagation of *Detarium micro-carpum* from Root Cuttings, *Silva Fennica* 44(5), 775-786.
- Gagnepain, F., 1938. *Podophyllum* L. – In: Lecomte, P. H. (ed.), *Flore Générale de l'Indo-Chine*. Muséum National d'Histoire Naturelle, 1, 146–147.
- Hiroe M., 1973. The plants of Basho's and Buson's Hokku Literature: The Plants of Buson's Collected Haiku. – *Ariake* 8 (3), 328.
- Pham Ngoc Khanh, Pham Thanh Huyen, Nguyen Quynh Nga, Aaron Polden, Ninh Thi Phip, Phan Ke Long and Tran Thi Viet Thanh, 2020. Characterisation of *Dysosma tonkinense* (Gagnep.) M. Hiroe based on morphological characteristics and ITS sequence. *Nordic Journal Botany* Vol 38(1). pp 1-9.
- Liu K., J. M. Baskin, C. C. Baskin, H. Bu, M. Liu, W. Liu and G. Du (2011), Effect of storage condition on germination of seeds of 489 species from high elevation grasslands of the eastern Tibet plateau and some implications for climate change. *American Journal of Botany* 98(1): pp 12–19.
- Mapongmetsem P. M., G. Fawa, J. B. Noubissie-Tchiagam, B. A. Nkongmeneck, S.S. H. Biaou and Ronald Bellefontaine, 2016. Vegetative propagation of *Vitex doniana* Sweet from root segments cuttings. *Bois et forêts des tropiques*. Vol 2016 (327). 30-37.
- Nadeem M., L. M. S. Palni, A. N. Purohit, H. Pandey and S. K. Nandi, 2000. Propagation and conservation of *Podophyllum hexandrum* Royle: an important medicinal herb. *Biological Conservation*. Vol 92 (2000). pp. 121-129.
- Ying, J. *et al.*, 2011. *Dysosma* Woodson. – In: Wu, Z. Y. *et al.* (eds), *Flora of China*. Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden Press, 19, pp. 783–784.
- Wu, J., 2011. Many facets of stem cells. *J. Mol. Cell Biol.* 3, 75.

TỔNG QUAN: CHỌN TẠO GIỐNG NGÔ CHỐNG CHỊU HẠN VÀ NGẬP ÚNG PHÓ VỚI BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU

REVIEW: MAIZE BREEDING FOR DROUGHT AND SUBMERGENCE TOLERANCE TO RESPONSE TO CLIMATE CHANGE

Vũ Văn Liệt

*Nhóm nghiên cứu mạnh Cây Màu
Reserchers of the Field Crops*

TÓM TẮT

Biến đổi khí hậu gây ra những hiện tượng thời tiết cực đoan ảnh hưởng nghiêm trọng đến kinh tế, xã hội và môi trường, trong đó nông nghiệp có mức độ rủi ro cao nhất. Những khó khăn đó yêu cầu các nhà khoa học nông nghiệp cần có những tiếp cận tổng hợp để đảm bảo cho sản xuất nông nghiệp phát triển bền vững. Hai lĩnh vực khoa học cần tiếp cận mới ứng phó với biến đổi khí hậu là chọn giống chống chịu và kỹ thuật canh tác phù hợp. Cây ngô là một cây trồng chính của Việt Nam, nó cung cấp lương thực cho một số vùng và cung cấp nguyên liệu cho chế biến thức ăn chăn nuôi. Diện tích trồng ngô cả nước năm 2018 là 1.032, 9 nghìn ha, đồng bằng sông Hồng là 78,1 nghìn ha, Trung du miền núi phía Bắc là 455,9 nghìn ha, Bắc trung bộ và Duyên hai Nam Trung Bộ là 184,0 nghìn ha, Tây Nguyên 212,9 nghìn ha và Đồng bằng sông Cửu Long là 33,3 nghìn ha. Như vậy hai vùng ngô lớn là Trung du miền núi phía Bắc và Tây Nguyên, sản lượng ngô năm 2018 giảm so với năm từ 2014 đến 2017. Một trong những nguyên nhân chủ yếu là do thời tiết bất thuận hạn hán và ngập úng. Điều kiện biến đổi khí hậu như vậy cần tiếp cận chọn tạo giống ngô chống chịu bất thuận nước, như di truyền chống chịu bất thuận khác nhau, chọn giống và đánh giá khác nhau. Các nhà khoa học Việt Nam bước đầu nghiên cứu chọn tạo giống ngô chống chịu hạn và ngập úng, tuy nhiên mới dừng lại ở đánh giá nguồn vật liệu, còn rất ít nghiên cứu cơ bản. Bài tổng quan nhằm cung cấp thông tin về nghiên cứu di truyền ngô chịu ngập và hạn, những phương pháp nghiên cứu hiện nay và kết quả nghiên cứu bước đầu của Việt Nam

Từ khóa: Biến đổi khí hậu, hạn, ngập, chọn tạo giống, ngô

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhìn nhận về thay đổi khí hậu toàn cầu trên xu thế vận động về cường độ và tần suất là một vấn đề đáng lo ngại như *El-Nino* ảnh hưởng tăng lên trong tương lai, thông qua những ảnh hưởng của nó những năm gần đây *El-Nino* được định nghĩa “*mức độ thay đổi của chu kỳ nước và gió của Xích đạo và Thái Bình Dương, kết quả của nó là thay đổi và*

tạo ra khí hậu khắc nghiệt, biểu hiện bởi mưa lũ và gió lớn ở một số vùng và hạn hán ở một số vùng khác” “***large scale shift in water currents and winds of the equatorial and tropical Pacific, resulting in extreme climatic changes characterized by excessive rains and strong winds in some areas and drought in others (Tibig, 1995)***”. Những thay đổi như vậy sẽ gây ảnh hưởng bất lợi đến lượng mưa và phân bố mưa, điều đó dẫn

đến kết quả không mưa hoặc ít mưa ở khu vực này là nguyên nhân thiếu hụt nước và lượng mưa lớn ở khu vực khác, gây ra hậu quả kép là dư thừa nước (sũng nước) và rửa trôi dinh dưỡng ở đất nhẹ. Đánh giá toàn cầu về hao hụt sản lượng ngô hàng năm do hạn đầu những năm 90 các vùng trồng ngô ngoài ôn đới là 19 triệu tấn, khoảng 15% sản lượng (Edmeades *et al.*, 1992), sự giảm sản lượng còn lớn hơn ở những vùng hạn khắc nghiệt như Nam Phi 1991-92 giảm sản lượng khoảng 60% (Rosen and Scott, 1992).

Việt Nam những năm gần đây cũng cho thấy thời tiết cực đoan cũng gây hạn hán xâm nhập mặn, mưa bão ngập lụt xảy ra với tần suất cao hơn và ngày càng khốc liệt. Những hiện tượng thời tiết cực đoan ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản xuất nông nghiệp nói chung và với sản xuất ngô nói riêng. Biểu hiện cụ thể, các trận mưa xảy ra với cường độ lớn và khó dự báo trước gây ngập úng cục bộ, lũ ống, lũ quét, trượt lở đất. Sự gia tăng và phân bố không đều về lượng mưa; nhiệt độ tăng trong mùa hè và chênh lệch lớn về nền nhiệt trong mùa đông gây chậm thời vụ, năng suất, chất lượng cây trồng giảm.

Để khắc phục những bất thuận gây giảm năng suất nghiêm trọng như vậy cần sử dụng một tiếp cận tổng hợp những kỹ thuật hiện có bao gồm cả hai nhóm giải pháp là cải tiến di truyền và quản lý cây trồng là cần thiết

2. NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN TÍNH CHỊU HẠN VÀ NGẬP

2.1. Nghiên cứu di truyền chịu hạn ở ngô

Các công cụ di truyền liên quan đến bộ gen mới hơn đang được sử dụng để tạo điều kiện thuận lợi cho việc lựa chọn các dòng chống chịu hạn. Những công cụ này bao gồm

các DNA đánh dấu liên quan, các gen liên quan đến bất thuận đã biết và các gen mới được xác định dựa trên các cách tiếp cận sinh lý và sinh hóa thông thường hơn. Đến nay đã xác định được các gen mục tiêu chính phản ứng với các yếu tố đầu vào chịu bất thuận hạn và là mục tiêu để sàng lọc các biến dị trong quần thể giống.

Di truyền tính chịu hạn vô cùng phức tạp liên quan đến nhiều tính trạng, do nhiều gen và QTL điều khiển. Một số tính trạng quan trọng liên quan đến chịu hạn ở ngô như chênh lệch trỗ cờ - phun râu, độ tàn lá, độ cuốn lá, yếu tố tạo thành năng suất và năng suất

Sự nhận biết SNP không trùng nsSNP liên kết với các gen ứng viên chịu hạn, phân tích biến động chung (CV) và phân tích phân bố SNP theo đề xuất của James Silva và cs, 2012 có cải tiến nhỏ đã sử dụng để phân tách nhận biết nsSNP và các gen ứng viên liên kết của chúng với ngô chịu hạn. Phân tích CV để chú thích các gen ứng viên thực hiện theo các bước 1) sàng lọc SNPs chung trong hai nhóm có 3 dòng cực kỳ chịu hạn (LX9801, Qi319 và Tie7922) và 3 dòng cực kỳ mẫn cảm hạn (B73, Ye478 và Ji853); 2) chọn lọc các nsSNP ứng viên khác nhau giữa hai nhóm chịu hạn; 3) nhận biết các gen ứng viên liên kết với ngô chịu hạn sử dụng các snSNP đã chọn lọc

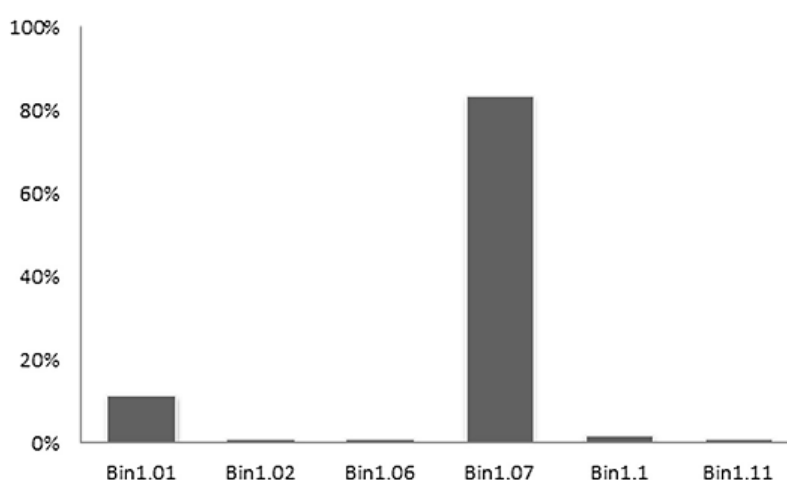
Để nhận biết các nsSNP liên kết với chịu hạn hiệu quả, phân tích phân bố SNP cơ bản cũng thực hiện với tất cả các SNP dò tìm trong tất cả các dòng thuần đánh giá. Phương pháp gồm các bước sau 1) loại bỏ các biến dị chung ngang qua các vật liệu nghiên cứu và chuyển các nsSNP còn lại vào ma trận phân tích (0, 1). Tại mỗi locus tần suất biến dị ghi

nhận là “0” nếu giống như B73 đại diện cho mẫu cảm hạn; ngược lại được ghi là “1”. 2) Phức hợp giá trị đơn (Singular Value Decomposition-SVD) được chuẩn hóa tần suất biến dị trong ma trận. SVD tạo ra ba ma trận, V (cho nsSNPs), D (chéo chứa giá trị riêng) và G (của các vật liệu). phân bố biến dị tối thiểu (Ward’s minimum) thực hiện V ma trận sử dụng phần mềm SAS software (Release 9.3; SAS Institute, Cary, NC, USA). 3) Với mỗi phân bố nhận biết trong bước 2, giá trị trung bình tần suất biến dị được tính cho 16 dòng thuần ngô, phân bố đơn có AVF > 0.8 ở các dòng cực kỳ chịu hạn nhưng < 0.1 ở các dòng cực kỳ mẫn cảm đã chọn lọc ở mỗi nhiễm sắc thể 4) sàng lọc nsSNPs có ý nghĩa trên cơ sở bước và nhận biết các gen ứng viên hoàn chỉnh cho chịu hạn. 5) Tạo GGEbiplot biểu diễn sử dụng phân bố SNP không trùng nsSNPs thông qua phần mềm GGEbiplotGUI (Jie Xu, và cs, 2014).

Trình tự genome của 15 dòng thuần ngô giải trình tự lại và tổng số 4,6 tỷ (407 gigabases) trình tự đọc sắp xếp ngược với B73, kết quả 85% bao phủ genome. Tổng số

6.385.011 SNPs của genome có chất lượng cao thu được từ các dòng thuần và B73 (tham khảo từ cơ sở dữ liệu). Số SNP hầu hết trên NST số 1 (2,511,910) và ít nhất trên NST số 10 (1.205.225) ước tính 15,33% và 7,36% SNP. Mật độ SNP biến động giữa các NST, NST số 1 có mật độ cao nhất 8,34 SNPs/ Kb và NST số 5 mật độ thấp nhất 7,29 SNPs/Kb. (Jie Xu, và cs, 2014).

Phân tích CV nhận biết biến dị 499 nsSNPs (0.24%) liên kết với 259 genes (266 transcripts) nhiễm sắc thể số 1 đến 9 chứa một số gen ứng viên, và hầu hết các gen ứng viên nằm trên NST số 1 và 8. Trong 259 gen, 99 gen chứa nhiều hơn 1 SNP không trùng nsSNPs. Đặc biệt các gen GRMZM2G466563, GRMZM2G070038 và GRMZM2G172320 lần lượt chứa 13, 12 và 12 nsSNPs. gen GRMZM2G466563 một thành viên của họ gen calmodulin-binding superfamily, đã chứng minh là một thành phần quan trọng tín hiệu tế bào tạo bất thuận. GRMZM2G172320 mã hóa một protein liên kết keratin-associated có liên quan đến bất thuận nước.



Hình 1: Vùng phân bố các SNP không trùng nsSNPs chống chịu hạn trên NST số 1 đã nhận biết bằng, trục Y là phần trăm nsSNPs đã nhận biết trong mỗi vùng bin của NST số 1 (nguồn Jie Xu, và cs, 2014)

Bất thuận hạn là một yếu tố chính hạn chế sản xuất ngô, với tham khảo genome dòng ngô B73 và giải trình tự lại toàn bộ genome của 15 dòng ngô thuần, phân tích phương sai (CV) và phân tích phân bố áp dụng để nhận biết SNP không trùng (non-synonymous SNPs (nsSNPs) và các gen ứng viên tương ứng cho khả năng chịu hạn. Kết quả thu được tổng số 524 nsSNPs liên kết với 271 gen ứng viên liên quan đến hormon điều tiết sinh trưởng của cây, carbohydrate và chuyển hóa đường, phân tử điều khiển, phản ứng oxy hóa khử, thích nghi quang hợp với môi trường đã dò tìm bằng phân tích CV và phân bố. Hầu hết các nsSNPs nhận biết là phân bố trong vùng bin 1.07 nơi 6 QTL đã được các báo cáo trước công bố liệt kê với phương sai kiểu hình cao giải thích cho khả năng chịu hạn. các Gen cơ bản Ontology (GO) của các gen ứng viên cho thấy rằng có 35 GO liên quan đến kích thích sinh học và cơ quan hạt trên mang nguyên sinh, sự biểu hiện khác nhau có ý nghĩa giữa các gen ứng viên và nền B73 tham khảo. Sự thay đổi mức biểu hiện của gen ứng viên này về khả năng chịu hạn đã được tìm thấy sử dụng trình tự RNA về bầu nhụy hữu dục, mô phân sinh lá cơ bản và các rễ thu thập dưới điều kiện hạn và đủ nước. Kết quả chỉ ra rằng 70% các gen ứng viên thay đổi biểu hiện dưới hai điều kiện nước và chiến lược khai thác các gen ứng viên là có thể có hiệu quả. Kết quả chứng minh các nsSNPs liên kết với các gen chịu hạn bằng so sánh phân tích trình tự của 16 dòng ngô thuần. Cả hai phương pháp áp dụng đều hiệu quả để nhận biết các gen ứng viên cho những tính trạng phức tạp thông qua kỹ thuật (next-generation sequencing technologies (NGS). Các gen chọn lọc không chỉ hỗ trợ để hiểu biết cơ sở di truyền của

chống chịu bất thuận mà còn thúc đẩy cải tiến di truyền thông qua chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử ở ngô (Jie Xu, và cs, 2014).

Nghiên cứu đánh giá các tính trạng hình thái – sinh lý tương quan với năng suất và yếu tố cấu thành năng suất của 14 giống ngô lai mới trong điều kiện bất thuận nước là SC700, SC704, KSC705, SC706, SC702, SC670, SC647, SC604, K166 x K18, DC370, K48xK19, SC500, K3647 x K18, SC400 ở Iran. Kết quả cho thấy tất cả các đặc điểm trừ đường kính bắp có sự sai khác ở mức có ý nghĩa giữa các giống ngô lai và mức độ bất thuận nước. Theo tương quan Pearson hầu hết các đặc điểm sinh trưởng và năng suất có tương quan cao và hầu hết tương quan dương được nhận biết là số lá trên cây, số hàng ngô, lá cờ và chiều dài lá cờ, độ cuốn lá (%). Phân tích hồi quy cho thấy điều kiện bất thuận trung bình số hàng hạt trên bắp, khối lượng hạt, số hạt trên hàng, số lá trên bắp giải thích 83% phương sai năng suất hạt, kết quả làm cơ sở đánh giá giống ngô lai chịu hạn (Jamileh seyedzavar và cs, 2014).

Tính trạng chênh lệch trổ cờ- phun râu (anthesis-silking interval) rất quan trọng với chịu hạn do vậy CIMMYT đã nghiên cứu nhận biết các QTL điều khiển tính trạng này và các tính trạng liên quan đến năng suất ngô. Sáu QTL đã được nhận biết trên NST số 1, 2, 5, 6, 8 và 10, ước tính cùng đóng góp điều khiển 50% phương sai kiểu hình của ASI. Phân tích các QTL ổn định qua các năm và mức bất thuận hạn. (Ribaut et al. 1996; 1997a; 1997b; 1997c). Kết quả gợi ý rằng cần kết hợp chọn lọc QTL liên quan đến năng suất và ASI có thể là công cụ mạnh cải tiến tính chịu hạn ở ngô

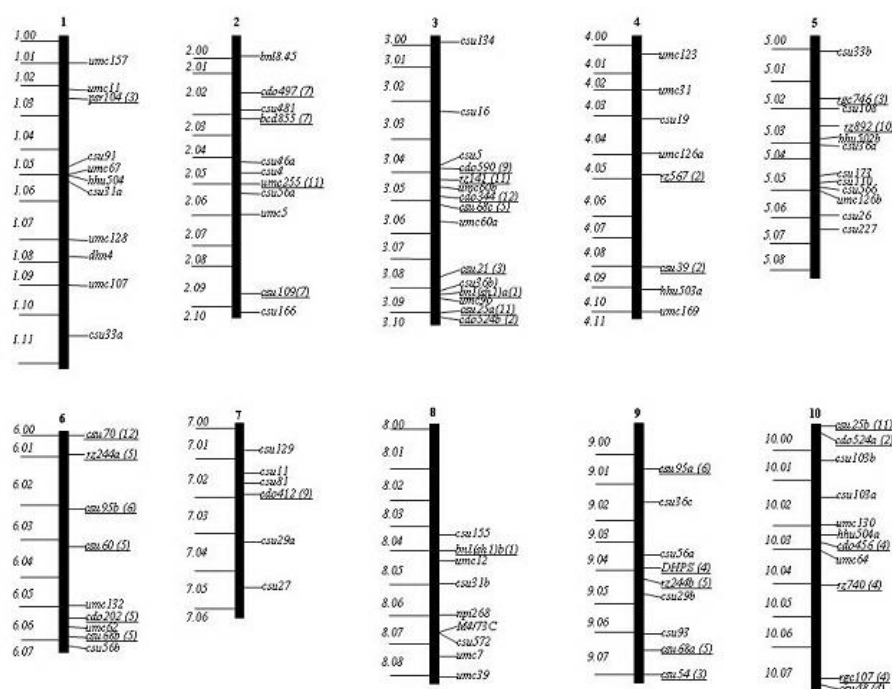
Nghiên cứu di truyền phân tử chịu hạn nhằm phát triển giống ngô cho vùng bán khô hạn trên cơ sở bản đồ di truyền của các locus tính trạng số lượng QTL điều khiển năng suất và các tính trạng nông học. Nghiên cứu của các tác giả nhận biết các QTL liên kết với thời gian nở hoa, chiều cao cây, năng suất và yếu tố cấu thành năng suất đã được đặc điểm hóa với các dòng tái hợp (RIL) bắt nguồn từ tổ hợp lai 5003 × p138 dưới điều kiện hạn và đủ nước ở các năm 2004 và 2005. Một bản đồ liên kết được xây dựng trên cơ sở 101 chỉ thị simple sequence repeat (SSR) bao trùm tổng số 1395.2 cM khoảng cách di truyền, và trung bình khoảng cách 13.81 cM giữa các chỉ thị. Tổng số đã nhận biết 51 QTLs của 10 tính trạng nằm trên 10 NST khác nhau. Dưới chế độ đủ nước, 25 QTLs nhận biết cho 9 tính trạng, trong khi dưới điều kiện bất thuận nước đã nhận biết 22 QTLs với 7 tính trạng. Bốn QTLs cho chỉ số chịu hạn. Phương sai kiểu hình với mỗi QTL trong phạm vi 1.68 đến 13.3%. Kết quả chứng minh hầu hết các tính trạng liên kết phân bố trong các khối của NST: *bnlg1614-bnlg1083* trên NST số 1 và *bnlg1634-bnlg1209* trên NST số 9 cho chiều cao cây, *bnlg1035-bnlg1564* trên NST số 1 cho năng suất và yếu tố tạo thành năng suất và chỉ số chịu hạn, bên cạnh *NC012* và *bnlg2907-bnlg1136* trên NST số 6 cho thời gian ra hoa và chênh lệch trổ cờ- phun râu (ASI), và gần *bnlg1063* trên NST số 5 và *bnlg1241* trên NST số 4 cho thời gian ra hoa. Bốn QTLs cho hoa đực (cờ) nhận biết bằng chỉ thị *bnlg1327-bnlg1812* trên NST số 8 cho hai chế độ nước. Các QTLs này có thể rất hữu ích cho chọn lọc nhờ chỉ thị (MAS) trong chọn tạo giống ngô chịu hạn (Jiufeng Guo và cs, 2008).

Nghiên cứu nhận biết QTL ảnh hưởng đến chịu hạn ở ngô của H.Rahman, S. Pekic, V. Lazic-Jancic, S.A. Quarrie, S.M.A. Shah, A. Pervez and M.M. Shah, 2011, Sử dụng 2 dòng ngô để đánh giá chịu hạn, phát triển bản đồ di truyền sử dụng chỉ thị phân tử RFLP nhận biết QTL liên kết với tính trạng chịu hạn, đã dò tìm được 22 QTL, mỗi QTL liên kết với tối thiểu một và tối đa là 9 tính trạng chịu hạn. Một QTL liên kết với hàm lượng đường giả thích 52.2% phương sai kiểu hình nằm trên NST số 6. Một QTL liên kết với tính trạng mật độ rễ (root density), khối lượng rễ khô (root dry weight), tổng sinh khối (total biomass), hàm lượng nước liên kết (relative water content) và hàm lượng trong lá (leaf abscisic acid content), trên NST 7 và 1 đóng góp 24, 0.2, 0.4, 7, và 19% phương sai kiểu hình. Bốn QTL liên kết với năng suất hạt trên NST số 1, 5, và 9, giải thích 75% phương sai kiểu hình, Bốn QTLs liên kết với tiềm năng thẩm thấu trên NST số 1, 3, và 9, điều khiển 50% phương sai kiểu hình. Chín QTL liên kết diện tích lá trên NST số 3 và 9, phương sai với nhiều mức kiểu hình từ 25.8 đến 42.2%. Bốn nhóm QTLs nhận biết trên NST số 1, 3, 7, và 9. Một QTL liên quan đến năng suất trên NST số 1 được nhận biết liên kết cùng với QTL tính trạng rễ và sinh khối và tiềm năng thẩm thấu trong vùng khoảng 15 cM. Một nhóm QTL điều khiển tính trạng diện tích lá liên kết với QTL điều khiển thẩm thấu trên NST số 3. QTLs diện tích lá cũng phân bố trên NST số 9, Trong khi QTL điều khiển hàm lượng ABA và hàm lượng nước trên NST số 7, Một khoảng 10 cM rất có lợi cho chọn lọc trực tiếp. Liên vị trí QTLs với các tính trạng khác nhau chỉ ra liên kết chặt, chỉ ra có lợi chọn lọc trực tiếp khả năng chịu hạn ở ngô.

Bảng 1. Đặc điểm di truyền và ảnh hưởng của các QTL liên quan đến biểu hiện của các tính trạng phản ứng với hạn, Đã dò tìm với LOD lớn hơn 2.5, trong quần thể 105 gia đình F2:3 từ tổ hợp lai DTP79 x B73 trồng trong điều kiện nhà kính (H.Rahman *et al*, 2011)

Trait	Chromosomal location	Estimated QTL position	Additive effect	Dominance effect	R ² (% variance explained by the QTL)
SUGAR	6	csu60-umc132	0.59	-0.38	52.2
GY	1	umc157-psr104	18.0	2.4	14.0
	5	rgc746-csu108	-18.3	-1.9	14.8
	9	csu29b-csu93	-12.4	26.4	46.2
L-ABA	7	csu129-csu81	-144.8	15.3	19.0
OP	1	umc157-umc11	-0.07	-0.01	10.0
	3	umc96-csu25a	0.04	-0.01	7.0
	9	csu68a-csu54	0.02	-0.10	22.0
	1	umc11-psr104	-16.0	6.0	11.0
RWC	7	csu11-csu81	0.03	0.01	7.0
RD	1	umc157-psr104	-0.78	-0.22	24.2
RDWT	1	umc11-psr104	-0.28	-0.54	0.2
TBMS	1	umc11-psr104	-0.74	-0.88	0.4
LA1	3	umc96-csu25a	-0.49	-0.45	14.5
	9	csu56a-rz244b	0.92	-0.20	27.7
LA2	3	umc96-csu25a	-0.71	1.38	15.7
	9	csu56a-DHPS	1.54	-0.12	14.0
LA3	3	umc96-csu25a	1.00	2.17	5.0
	9	rz244b-csu29b	3.96	-1.24	32.0
LA4	3	umc96-csu25a	6.37	-3.49	30.0
LA5LA5	9	DHPS -rz244b	6.17	-1.17	9.2
	9	csu95a-csu36c	8.91	-1.30	16.6

Ghi chú : SUGAR = sugar concentration; GY = grain yield under drought; L-ABA = leaf abscisic acid content; OP = osmotic potential; RWC = relative water content; RD = root density; RDWT = root dry weight; TBMS = total biomass; LA = leaf surface area.



Hình 2. Bản đồ di truyền liên kết ở ngô từ NST số 1 đến 10, Vai ngắn phía trên, ký hiệu locuss cạnh bên phải theo Gardiner *et al*. (1993). Locus RFLP khoảng tròn và gạch chân bên phải mỗi NST đại diện cho đoạn dò trên bản đồ DTP x B73 cũng tương tự như genome lúa. Các đường bên trái mỗi NST đại diện cho UMC (University of Missouri Columbia) phân chia số bin Gardiner *et al*. (1993).

2.2. Nghiên cứu di truyền chịu ngập ở ngô

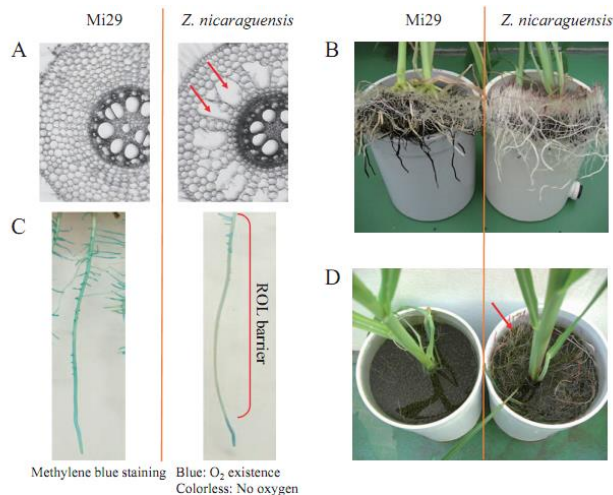
Ngập do biến đổi khí hậu toàn cầu có thể ảnh hưởng trầm trọng đến sản xuất trồng trọt. Để vượt qua ảnh hưởng bất lợi của ngập trong thời gian sinh trưởng của ngô, các tác giả đã phát triển ngô chịu ngập bằng chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử (MAS) sử dụng ngô đại chịu ngập là teosinte, *Zea mays*, như là bố mẹ cho gen. Qua thời gian gần đây locus tính trạng số lượng (QTL) tính trạng chống chịu ngập ở ngô đã nhận được tại Viện nghiên cứu NARO của của khoa học chăn nuôi và đồng cỏ, và các dòng đẳng gen (near-isogenic lines) mang một hay nhiều QTL đã được phát triển và có một số tính trạng chống chịu ngập như hình thành mô khí liên tục (constitutive aerenchyma), chống chịu ngập trong điều kiện giảm đất và khả năng hình thành rễ bất định trên mặt đất. Thí nghiệm trên đồng ruộng các tác giả đã tổng hợp tổng hợp số liệu chứng minh hiệu quả của các QTL từ teosinte đến khả năng chịu ngập và chuẩn bị phóng thích giống ngô lai chịu ngập trong vài năm tới. Ngoài ra các tác giả cũng

bắt đầu dự án nhân Qft-rd4.07-4.11 bằng phương pháp giải trình tự số lượng lớn (next-generation sequencing), có thể mở rộng sử dụng QTL này với cây trồng cận khác.



Hình 3. Phản ứng với ngập trên đồng ruộng của giống ngô Mi29 (trái) và teosinte *Zea mays* (phải). ảnh của Dr. K. Kawaguchi, Dr. A. Oyanagi, and Dr. F. Abe

Đây là những tính trạng về khả năng hình thành mô khí liên tục (Mano et al. 2006b, Mano et al. 2007), chống chịu với ngập trong điều kiện giảm đất (Mano & Omori 2013a), một cản trở thiếu oxy (ROL barrier, Abiko et al. 2012a), và khả năng hình thành rễ bất định trên mặt đất trong thời gian ngập (Mano et al. 2009) (Hình. 2).



Hình 4. Các đặc điểm duy nhất liên quan đến chịu ngập của ngô đại *Z. mays* (A) Khả năng hình thành mô khí liên tục aerenchyma (arrows), (B) Chống chịu với ngập dưới điều kiện giảm đất, (C) Cản trở mất oxy (ROL barrier), and (D) Khả năng hình thành rễ bất định trên mặt đất. Nguồn ảnh (C) K. Watanabe and Prof. M. Nakazono (Nagoya Univ.). Nguồn ảnh (D) tái tạo từ Mano et al. (2009).

3. NHỮNG KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nghiên cứu trên thể giới

Thu thập đa dạng dòng thuần ở ngô với 359 dòng thuần ngô (*Zea mays* L.) từ trung tâm nghiên cứu ngô và lúa mỳ Quốc tế (CIMMYT) và Viện nông nghiệp nhiệt đới quốc tế (IITA) của chương trình chọn giống chịu hạn, đạm thấp, đất chua (SA) và kháng bệnh đã được phân tích kiểu gen sử dụng 1260 chỉ thị SNP (single nucleotide polymorphism) phân chia quần thể trên cơ sở mô hình, phân bố điểm liên kết (neighbor-joining (NJ) và phân tích thành phần nguyên lý (PCA), trên cơ sở số liệu kiểu gen đã phân chia các dòng vào các nhóm phụ. Một nhóm phụ lớn bao gồm các dòng phát triển từ nguồn gen La Posta Sequia (LPS) phù hợp với phân tách từ các dòng khác khi sử dụng phương pháp khác nhau trên cơ sở số liệu của cả SNP và SNP đơn. Các dòng liên quan do phá hệ xu hướng phân bố cùng với nhau. Bộ phụ chính của các dòng thuần đã được xác định thông qua thông tin phá hệ, thích nghi môi trường và sơ đồ chọn tạo. Phân tích biến động phân tử (AMOVA) chứng tỏ rằng phương sai trong các bộ phụ này cao hơn giữa các bộ phụ. Đa dạng di truyền và phân bố liên kết (LD) được kiểm tra cân bằng toàn bộ trong mỗi bộ phụ. Tiềm năng của cân bằng cho lập bản đồ liên kết được đánh giá bằng 999 chỉ thị SNP với tần suất allele thứ (MAF) ≥ 0.05 và số liệu kiểu hình về năng suất GY, số bắp trên cây EPP và chênh lệch trổ cờ-phun râu ASI. Kết quả cho thấy nhóm là tiêu chuẩn lập bản đồ liên kết dạng I sai số có thể điều chỉnh sử dụng mô hình đường hỗn hợp (Q + K). Sử dụng phá hệ, nhóm di truyền và thông tin thích nghi sinh thái cùng với nhau với đặc điểm phân tử của nhóm là

nguồn di truyền có giá trị cho chọn giống ngô chống chịu bất thuận (Weiwei Wen và cs, 2011).

Tần suất xảy ra tổ hợp hạn với mức đạm thấp của đất trồng hạn chế sản xuất ngô (*Zea mays* L.) ở sa mạc sub-Saharan châu Phi. Những kiến thức về di truyền chống chịu bất thuận hạn và mức đạm thấp là rất hữu ích cho phát triển giống ngô lai. Các tác giả nghiên cứu đánh giá dưới điều kiện tối ưu và điều kiện hạn và đạm thấp nhằm (i) xác định ảnh hưởng của liều lượng zero, một và hai của chống chịu hạn ở bố mẹ đến biểu hiện năng suất ở con lai của chúng, (ii) mô hình di truyền năng suất hạt ở các dòng thuần đã chọn lọc phản ứng với hạn, (iii) mối quan hệ giữa biểu hiện của bố mẹ và con lai của chúng. Chín mươi sáu tổ hợp lai của 24 dòng thuần sử dụng sơ đồ lai diallel II. Các dòng và tổ hợp lai được đánh giá trong thí nghiệm điều kiện tối ưu, điều kiện hạn và đạm thấp ở 5 điều kiện môi trường ở Nigeria. Các dòng thuần chịu hạn có năng suất hạt cao qua các môi trường. Hầu hết các con lai có ít nhất một bố mẹ chống chịu thì THL đó chống chịu hạn, trong khi lai giữa hai dòng mẫn cảm hạn tạo ra con lai mẫn cảm. Hoạt động của gen cộng tính tạo ra năng suất dưới điều kiện hạn, trong khi ảnh hưởng của gen không cộng ảnh hưởng đến năng suất hạt trong điều kiện bất thuận đạm thấp. Giá trị trung bình bố mẹ sử dụng để dự đoán biểu hiện năng suất và các tính trạng khác dưới điều kiện bất thuận. Bình phương trung bình của KMKH riêng có ý nghĩa với năng suất hạt ở điều kiện hạn cũng như giá trị hoạt động gen không cộng về năng suất dưới điều kiện đạm thấp gợi ý rằng phát triển giống ngô lai nên khai thác hoạt động gen không cộng tính (non-

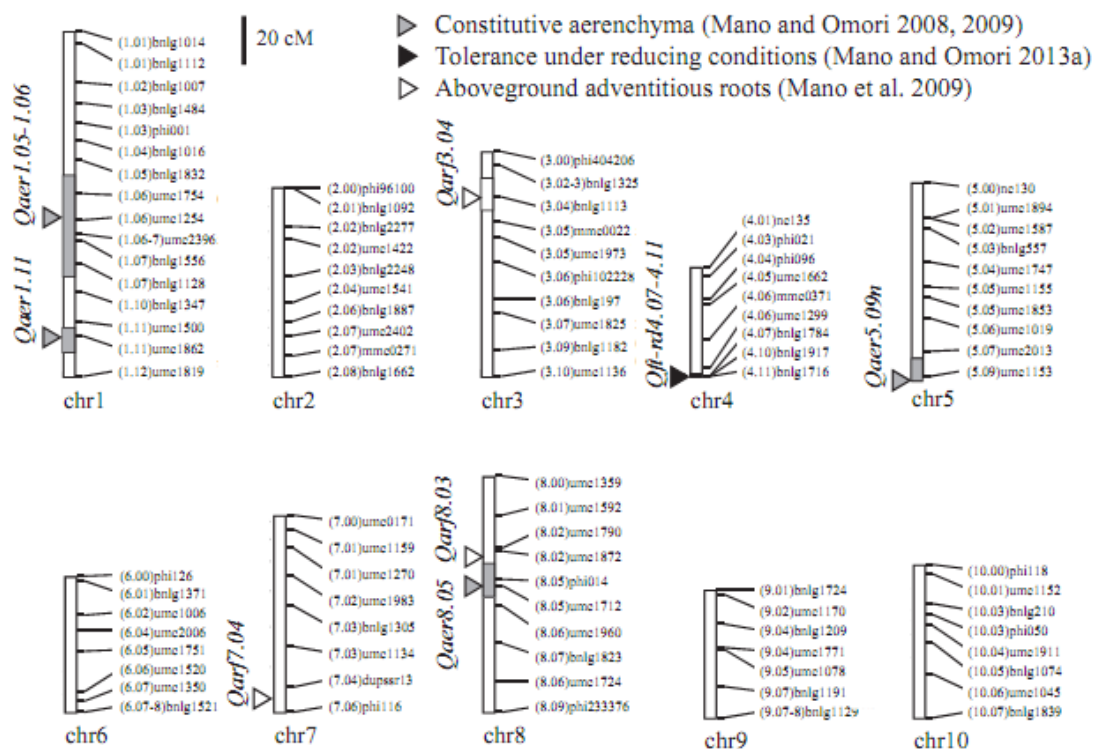
additive gene action) ở môi trường hạn và đậm thấp (Silvestro K. Meseke và cs, 2013).

Mano et al. (2006) lần đầu tiên báo cáo lập bản đồ QTL chịu ngập ở ngô và nhận biết QTL trên NST số 1 bằng sử dụng bản đồ liên kết từng phần. Sau đó nghiên cứu lập bản đồ QTL toàn bộ genome ngô đã được báo cáo của một số nhà khoa học (Osman et al. 2013, Qiu et al. 2007, Zhang et al. 2013). Nhưng thông tin chỉ thị DNA nhưng thông tin của các chỉ thị này chưa được ứng dụng trong chọn tạo giống ngô chịu ngập. Như mô tả trên các tác giả đã phân tích sản phẩm bản đồ QTL một số tính trạng liên quan đến chịu ngập. Các tác giả đã phát triển các dòng NIL, mỗi dòng mang 1 hay một vài QTL có tính

trạng chịu ngập bằng sử dụng ngô đại là bố mẹ cho gen lai với dòng thuần ưu tú Mi29 (Ikegaya et al. 1999) là bố mẹ chu kỳ. Bởi vì Mi29 là dòng mẹ của 2 giống lai F1 ưu tú 'Yumesodachi' (cv. Mi29 × cv. Na50, Ikegaya et al. 1999b) và 'Yumechikara' (cv. Mi29 × cv. Mi47, Ito et al. 2004). Các giống F1 chống chịu ngập (dị hợp QTL allele chịu ngập) có thể thu được nhanh khi lai bằng các dòng NIL (nền di truyền của Mi29) khi mẹ × Na50 hoặc Mi47 làm bố. Bảng 1 hình 3 tóm tắt kết quả lập bản đồ sử dụng Mi29 × *Z. nicaraguensis*. Kết quả bản đồ chỉ ra rằng có 2 tính trạng quan tâm của nghiên cứu là khả năng hình thành mô khí và chịu ngập dưới điều kiện thiếu đất,

Bảng 2: Vị trí của các QTLs liên quan đến tính trạng chịu ngập ở *Zea nicaraguensis* đã dò tìm trên bản đồ quần thể của 3 tổ hợp lai (Mano et al. 2006)

Tính trạng	QTL	Nhiễm sắc thể	Bin	LOD	Var ^a	Quần thể ^b	Tham khảo
Mô khí liên tục	<i>Qaer1.02-1.03</i>	1	1.02-1.03	4.1	0.11	2	Mano et al. 2007
	<i>Qaer1.05-1.06</i>	1	1.05-1.06	8.2-8.5	0.17-0.25	1	Mano and Omori 2008, 2009
	<i>Qaer1.06-1.07</i>	1	1.06-1.07	3.1-5.3	0.08-0.17	2,3	Mano et al. 2007, 2012
	<i>Qaer1.11</i>	1	1.11	5.7	0.12	1	Mano and Omori 2008
	<i>Qaer5.09n</i>	5	5.09	2.9	0.06	1	Mano and Omori 2008
	<i>Qaer7.01</i>	7	7.01	3.7	0.12	3	Mano et al. 2012
	<i>Qaer8.05</i>	8	8.05	2.6	0.07	1	Mano and Omori 2009
Chống chịu dưới điều kiện suy giảm	<i>Qft-rd4.07-</i>	4	4.07-4.11	4.6-19.10	13-0.42	1	Mano and Omori (2013a)
Rễ bắt định trên mặt đất	<i>Qarf3.04</i>	3	3.04	3.9-4.2	0.06	1	Mano et al. 2009
	<i>Qarf7.04</i>	7	7.03	3	0.04	1	Mano et al. 2009
	<i>Qarf8.03</i>	8	8.03	2.6	0.04	1	Mano et al. 2009



Hình 5. Vị trí QTL ở các NST mang tính trạng liên quan đến chịu ngập do thiếu oxy trên bản đồ quần thể từ tổ hợp lai giữa Mi29 × *Z. nicaraguensis*. Mũi tên chỉ điểm logarithm of odds (LOD) của mỗi QTL. Vùng đậm trên NST chỉ vùng của *Z. nicaraguensis* chuyển gen từ NILs hoặc quy tụ QTL vào nền di truyền của Mi29. Hiện nay nghiên cứu đã phát triển 3 loại dòng nữa là: 1) dòng quy tụ QTL Qaer1.05, Qaer1.11, Qaer5.09n, và Qaer8.05 vào nền di truyền của Mi29, 2) Dòng đẳng gen (near-isogenic line) mang Qft-rd4.07-4.11 trong nền di truyền Mi29, và 3) Dòng đẳng gen (near-isogenic line) mang Qarf3.04 trong nền di truyền của Mi29 (K. Kawaguchi, Dr. A. Oyanagi, and Dr. F. Abe, 2016)

Mô khí của rễ hoặc ở khoảng cách ở mô vỏ cây có vai trò quan trọng đã được xác định như là công cụ thích nghi với điều kiện ngập do có thể cung cấp oxy từ đỉnh rễ quan mô khí (tóm tắt của Yamauchi et al. 2013). Ở quần thể lập bản đồ Mi29 × *Z. nicaraguensis*, QTLs hình thành của mô khí liên tục đã được nhận biết ở 4 vùng (Mano & Omori 2008, 2009), và quy tụ 4 QTL này vào Mi29 đã hoàn chỉnh (Mano & Omori, không xuất bản; hình. 3). Trong nghiên cứu này khám phá khả năng hình thành mô khí liên tục tăng khả năng chịu ngập của cây con, đánh giá tỷ lệ thân khô/ rễ khô của mô khí hình thành và không hình thành ở mẫu nguồn

gen *Z. nicaraguensis* (Mano & Omori 2013b) Đánh giá chính xác hơn ảnh hưởng có lợi của mô khí trong cùng một nền di truyền trong sử dụng Mi29 và 4 QTL đã được quy tụ như mô tả trên.

Các gen ứng viên đặc thù cùng phải nhận biết đây là phần cuối, một số gắn thẻ trình tự biểu hiện (expressed sequence tag (EST) nhân bản có thể đã nhận biết gen ứng viên bằng phân tích microarray và SSH đã sắp xếp trên genome ngô, và khẳng định gần vị trí chỉ thị phân tử liên kết chặt với QTLs liên kết với chịu ngập (Osman et al. 2013, Thirunavuk karasu et al. 2013, Zou et al. 2010). Tương tự, miRNAs đã lập bản đồ gần

QTLs phản ứng với chịu ngập. Sự quan tâm vai trò khởi phát của miRNAs trong hình thành rễ bất định, rễ bên, rễ chân kiềng và thích nghi với điều kiện thiếu hụt oxy thông qua điều khiển sao mã của các gen mục tiêu có thể giả thích chức năng của các QTL mục tiêu này (Osman et al. 2013). Gen ứng viên khác tiếp tục tập trung vào hình thành mô khí liên tục cũng đã có sử dụng *Z. nicaraguensis* (Abiko et al. 2012b). Trong nghiên cứu này các tác giả so sánh với thư viện cDNA của Mi29, *Z. nicaraguensis*, và dòng BC4F1 #62, dòng có teosinte có nguồn từ locus *Qaer1.05-1.06* trên NST số 1. 6 gen nằm trên hoặc gần *Qaer1.05-1.06* cũng nhận biết gen ứng viên.

Phân lập *QTL-rd4.07-4.11* (Isolation of *Qft-rd4.07-4.11*)

Ngoài những cố gắng như trình bày trên, các tác giả và các nhà nghiên cứu hợp tác Dr. Hidekazu Takahashi, Đại học Akita đã bắt đầu dự án nhân *Qft-rd4.07-4.11*, một QTL chống chịu ngập nhân tạo, giải trình tự số lượng lớn (next-generation sequencing). Các tác giả sử dụng IL#18, dòng mang *Qft-rd4.07-4.11* của *Z. nicaraguensis* trong nền di truyền của Mi29 (Hình. 3). Các tác giả thu được lượng lớn số liệu trình tự của Mi29, *Z. nicaraguensis*, và IL#18, hiện nay đã đưa vào tham khảo trong trình tự genome của dòng thuần B73 (Schnable et al. 2009), bằng

phương pháp xây dựng bản đồ vật lý của mỗi dòng. Vùng có nguồn từ Teosinte trong genome của IL#18 (đã được nhận biết bằng so sánh với bản đồ vật lý của (Mi29 và B73) mong muốn mang các gen ứng viên. Để nâng cao độ chính xác nhận biết gen các tác giả cũng thực hiện phân tích RNA-seq. Sự liên kết của các trình tự sao mã do tìm bằng RNA-seq với bản đồ vật lý có thể hỗ trợ nhận biết các gen ứng viên. Tiếp cận này sẽ có thể sử dụng các QTL này với các cây trồng cạn khác.

3.2. Nghiên cứu ở Việt Nam

Việt Nam đã có những nghiên cứu bước đầu chọn tạo giống ngô chịu hạn và chịu ngập úng, chủ yếu đánh giá nguồn vật liệu và đánh giá tổ hợp lai. Hầu như chưa có những nghiên cứu cơ bản về ngô chịu hạn và ngập úng

Năm 2016 nghiên cứu đánh giá khả năng chịu hạn của một dòng ngô bằng các phương pháp khác nhau mục đích Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng ngô phát triển bằng tự phối và kích tạo đơn bội nhằm nhận biết dòng ưu tú phục vụ chương trình tạo giống ngô ưu thế lai chịu hạn ở Việt Nam của Vũ Văn Liết và cs với vật liệu gồm 19 dòng kích tạo đơn bội kép ký hiệu DH1 đến DH19 và 10 dòng thuần tự phối đến thế hệ S₅ ký hiệu IL1 đến IL10, 1 đối chứng, chi tiết các dòng như bảng sau:

Bảng 3: Danh sách các dòng trong nghiên cứu đánh giá chịu hạn

Các dòng kích tạo đơn bội và tự phối

STT	Ký hiệu	Tên dòng	Nguồn gốc
1	DH1	HP12.1	Việt Nam
2	DH2	HP1.2	Trung Quốc
3	DH3	HP6.2	Trung Quốc
4	DH4	HP20.1	Việt Nam
5	DH5	HP34.2	Trung Quốc

STT	Ký hiệu	Tên dòng	Nguồn gốc
6	DH6	HP26.1	Trung Quốc
7	DH7	HP13.2	Việt Nam
8	DH8	HP6.2.1	Việt Nam
9	DH9	HP35.2	Việt Nam
10	DH10	HP8.2	Việt Nam
11	DH11	HP25.3	Trung Quốc
12	DH12	HP8.1	Việt Nam
13	DH13	HP11.1	Việt Nam
14	DH14	HP34.4	Trung Quốc
15	DH15	HP22.2	Việt Nam
16	DH16	HP14.1	Việt Nam
17	DH17	HP20.3	Việt Nam
18	DH18	HP8.2.2	Việt Nam
19	DH19	HP25.2	Trung Quốc
20	IL1	33.12131111	Ngô địa phương
21	IL2	122.52121111	Ngô mỹ
22	IL3	123.64211111	Rút dòng từ giống DK 919 của Mỹ
23	IL4	126.11271111	Giống Tiên Việt 2C của Trung Quốc
24	IL5	D22.12131111	Giống địa phương Thai Ái
25	IL6	D29.11312111	Giống địa phương: Quần Cải
26	IL7	D6.12121111	Giống địa phương tẻ Thái Lan
27	IL8	5.5.5.3	Mỹ
28	IL9	162.2.2.1	Trung Quốc
29	IL10	D1.1	Trung Quốc
30	Đối chứng	LCH9	Viện nghiên cứu ngô

Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng tự phối và kích tạo đơn bội bằng thí nghiệm gây hạn nhân tạo trồng trong chậu vại (Phương pháp thí nghiệm theo R.G. Camacho, D.F. Caraballo, 1994, Scientia Agricola, Sci.agric. vol.51, No.3. Brazil).

1) Cách tiến hành:

- Trồng trong chậu nhựa lớn có thể rút được nước (kích thước chậu: chậu cao 35cm, đường kính 20cm)

- Mỗi dòng, giống trồng trong 3 chậu, 30 x 3 = 90 chậu, chậu đặt cách nhau 18cm. Giá thể trồng trong chậu là cát sạch.

- Gieo mỗi chậu 3 cây, sau gieo 4 tuần thu cả cây bằng cách nhổ cả cây và theo dõi chỉ tiêu liên quan đến khả năng chịu hạn.

2) Thời điểm gây hạn: giai đoạn cây con (3 – 4 lá)

3) Theo dõi đánh giá các chỉ tiêu chịu hạn

- Diện tích lá/cây (Leaf area per plant – LA)

- Thể tích rễ (Root volume – RV): cho rễ vào ống đong, đổ nước ngập ghi thể tích,

vót rễ ra ghi thể tích. $RV = V(\text{tổng}) - V(\text{nước})$

- Chiều dài rễ dài nhất cm (Longest root length – LRL)

- Chiều cao cây (Plant height – PH)

- Khối lượng rễ tươi (Fresh root weight – FRW)

- Khối lượng rễ khô (Dry root weight – DRW)

- Khối lượng thân khô (Dry shoot weight – DSW)

- Tỷ lệ RDW/SDW

- Độ cuộn lá (Leaf rolling – LR)

- Khả năng chịu hạn của các dòng ngô nghiên cứu: dựa vào đặc điểm của các dòng ngô nghiên cứu trong thí nghiệm gây hạn nhân tạo chúng tôi nhận thấy một số dòng có các đặc điểm thân lá, rễ thích nghi tốt trong điều kiện hạn là DH12, DH13, IL8, IL9.

- Nhìn chung khả năng chịu hạn của 2 loại vật liệu DH và IL có sự khác biệt. Trung bình chung các đặc điểm chiều cao cây (60,34 cm), số lá (4,07 lá), diện tích lá ($88,44\text{cm}^2$) của 19 dòng DH đều thấp hơn so với dòng tự phối đời 5 IL (tương ứng là: 57,30 cm; 4,22 lá; $107,34\text{cm}^2$), tuy nhiên, trung bình chung về chiều dài rễ của các dòng DH (45,6cm) lại cao hơn so với dòng tự phối IL (41,87), đồng thời thể tích rễ của hai loại vật liệu này chênh lệch ít (DH là 2,17ml và IL là 2,26ml). Từ đó có thể thấy các dòng DH nghiên cứu có đặc điểm tính trạng rễ phù hợp với đặc điểm các dòng chịu hạn tốt hơn so với các dòng IL.

Đối chiếu với kiểu hình của các dòng DH ban đầu về màu sắc đỉnh hạt (không có chấm đen) chúng tôi xác định các dòng

DH16, DH2, DH12, DH7, DH13, DH17, DH19 là các dòng đơn bội kép, phù hợp đưa vào các chương trình tạo giống ưu thế lai. Trong đó, một số dòng như DH7, DH19, DH17,... có năng suất khá trong điều kiện ngoài đồng ruộng, đồng thời 2 dòng DH12, DH13 có đặc điểm tốt về khả năng chịu hạn nên cần được nghiên cứu và đánh giá.

Năm 2013 các tác giả Nguyễn Văn Lộc và cs nghiên cứu khả năng chịu úng của một số dòng ngô thời kỳ cây con, Tạp chí Khoa học và Phát triển 2013, tập 11, số 7: 926-932. Thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của việc ngập nước đến sinh trưởng và khả năng tích lũy chất khô của cây ngô thời kỳ cây con được tiến hành trong các cốc nhựa trong điều kiện nhà lưới. Mười một dòng ngô thuần được xử lý ngập trong thời gian một tuần. Kết quả thí nghiệm đã chỉ ra một số dòng ngô bị ngập nước trong vòng 7 ngày bị giảm các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều dài rễ, chiều cao cây, số lá, diện tích lá, chỉ số SPAD và chất khô tích lũy của cây ngô thời kỳ cây con (2-4 lá). Nghiên cứu này cho thấy các dòng ngô khác nhau có phản ứng với điều kiện nước khác nhau về hình thái, sự phát triển bộ rễ, sinh trưởng phát triển và khả năng tích lũy chất khô. Kết quả đã chọn lọc ra ba dòng ngô triển vọng đó là CLT-T10, CLT-T83 và TB23 có khả năng chịu được điều kiện ngập trong thời gian thí nghiệm. Đây là những dòng ngô có giá trị phục vụ các nghiên cứu chuyên sâu hơn về sinh lý và phân tử. Kết quả thí nghiệm thể hiện sự liên hệ giữa sự phát triển của bộ rễ và khả năng chịu úng, đây là chỉ tiêu quan trọng cần quan tâm trong công tác chọn tạo dòng và giống ngô chịu úng.

4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

4.1. Phương pháp nghiên cứu chịu hạn

1) Phương pháp đánh giá bằng gây hạn nhân tạo theo phương pháp của R.G. Camacho, D.F. Caraballo, 1994, Scienntia Agricola, Sci.agric. vol.51,No.3. Brazil

+ Trồng trong chậu nhựa lớn có thể rút nước được (chậu cao 35 cm, đường kính 20cm)

+ Mỗi giống trồng trong 3 chậu . 6 giống x 3 = 18 chậu, chậu đặt cách nhau 18 cm

+ Đất trong chậu là cát rửa sạch

+ Gieo mỗi chậu 3 cây

+ Sau gieo 4 tuần thu cả cây bằng nhỏ

+ Theo dõi đánh giá các chỉ tiêu chịu hạn

- Diện tích lá /cây (LA) Leaf area per plant

- Thể tích rễ (RV)- root volume = cho rễ vào ống đồng, đổ nước ngập ghi thể tích, vớt rễ ra ghi thể tích. $RV = V(\text{tổng}) - V(\text{nước})$

- Chiều dài rễ dài nhất cm (LRL)- longest root lengh

- Chiều cao cây (PH) – plant height

- Khối lượng rễ tươi-(RFW)- fresh Root weight

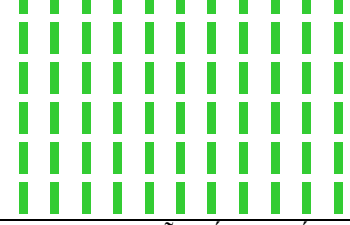
- Khối lượng rễ khô (RDW) – dry root weight

- Khối lượng thân khô (SDW) –dry shoot weight

- Tỷ lệ RDW/SDW

- Kiểu gen nào có chỉ tiêu cao khả năng chịu hạn tốt hơn

2) Thí nghiệm đồng ruộng theo phương pháp của Pervez H. Zaidi, CIMMYT, 2003

			
Thời vụ 1 (mỗi giống 2 luống ngẫu nhiên)	Thời vụ 1 (mỗi giống 2 luống ngẫu nhiên)	Thời vụ 1 (mỗi giống 2 luống ngẫu nhiên)	Thời vụ 1 (mỗi giống 2 luống ngẫu nhiên)

+ Bố trí thí nghiệm

- Trồng mỗi thời vụ 3 hàng/giống

- 10 ngày trồng 1 vụ và tổng số = 4 vụ trồng

- Khi thời vụ 1 bắt đầu chắc hạt, thời vụ 2 đang trổ cờ, thời vụ 3 xoắn nõn, thời vụ 4 = 7-9 lá tháo nước kiệt để gây hạn

- Sau khi trổ cờ hoàn toàn 5 ngày tưới nước

+ Các chỉ tiêu đánh giá chịu hạn

- Thời gian sinh trưởng ngắn – tránh hạn

- Sự phát triển và chiều dài rễ-quan sát, rễ thẳng, dài

- Lớp cutin ở lá

- Góc lá: góc lá hẹp chịu hạn tốt hơn

- Độ tàn lá

- Độ cuộn lá

Điểm 1 = Không cuộn

Điểm 2 = Bắt đầu cuộn

Điểm 3 = Cuộn hình chữ V

Điểm 4 = Lá cuộn tròn lại

Điểm 5 = Lá cuộn tròn như lá hành

- Khả năng nảy mầm khi gieo độ ẩm thấp

- Số bắp trên cây – trong điều kiện có nhiều bắp chịu hạn tốt hơn (sinh sản nhiều)

- Chênh lệch trổ cờ-phun râu (**ASI**): (so sánh hạn và không hạn không thay đổi thời gian này thì chịu hạn tốt hơn)

- Kích thước cờ

Cho điểm 1 đến 5

Điểm 1 = cờ bé ít nhánh

Điểm 5 = Cờ to, nhiều nhánh

- Tỷ lệ đậu hạt

- Tỷ lệ đuôi chuột

- Tỷ lệ hạt chắc mẩy

- Khối lượng 1000 hạt

- Số hạt/bắp (số hàng hạt, số hạt/hàng)

- Năng suất dưới điều kiện hạn

Cho điểm chịu hạn: Những giống (kiểu gen) có điểm như sau được cho là có khả năng chịu hạn)

Năng suất Grain yield	= 5	Ký hiệu =	+	(increased grain yields)
Số bắp/cây Ears per plant	3		+	(increased no. of ears per plants)
Chênh lệch TC-PR (ASI)	2		-	(decreased ASI)
Độ tàn lá Leaf senescence	2		-	(decreased leaf senescence)
Kích thước cờ Tassel size	2		-	(decreased tassel size)
Độ cuộn lá Leaf rolling	1		-	(decreased leaf rolling)

Các chỉ số đánh giá chịu hạn

The drought tolerance indices were calculated as follows:

- Stress Susceptibility Index ([Fischer and Maurer, 1978](#)):

$$SSI = \left[1 - \left(\frac{Y_s}{Y_p} \right) \right] / SI$$

where: $SI = 1 (\overline{Y_s} / \overline{Y_p})$

- Mean Productivity ([Rosielle and Hamblin, 1981](#)):

$$MP = \frac{Y_p + Y_s}{2}$$

- Tolerance ([Rosielle and Hamblin, 1981](#)):

$$TOL = Y_p - Y_s$$

- Stress Tolerance Index ([Fernandez, 1992](#)):

Stress Tolerance Index ([Fernandez, 1992](#)):

$$STI = \frac{(Y_p \cdot Y_s)}{(\overline{Y_p})^2}$$

Geometric Mean Productivity ([Fernandez, 1992](#)):

$$GMP = \sqrt{Y_p \cdot Y_s}$$

Harmonic Mean Productivity ([Farshadfar et al., 2001](#)):

$$HAR = \frac{2(Y_p - Y_s)}{(Y_p + Y_s)}$$

Trong đó

SSI = chỉ số mẫn cảm với hạn

MP= Năng suất trung bình

TOL= chịu hạn

STT= Chỉ số chịu bất thuận

GMP = Năng suất trung bình cấp số

HAR = Năng suất điều hòa

Yp = Năng suất trong điều kiện có tưới

Ys = Năng suất trong điều kiện bất thuận

$\overline{Y}_p$ = Năng suất trung bình trong điều kiện có tưới

$\overline{Y}_s$ = Năng suất trung bình trong điều kiện bất thuận

Như vậy để tính được các chỉ số trên thì đồng thời phải làm cả thí nghiệm chịu

hạn và thí nghiệm có tưới. Có thể không cần trên cùng 01 ô thí nghiệm



Hình 6: Đánh giá chịu hạn trong nhà kính (Vũ Văn Liết và cs, 2016)

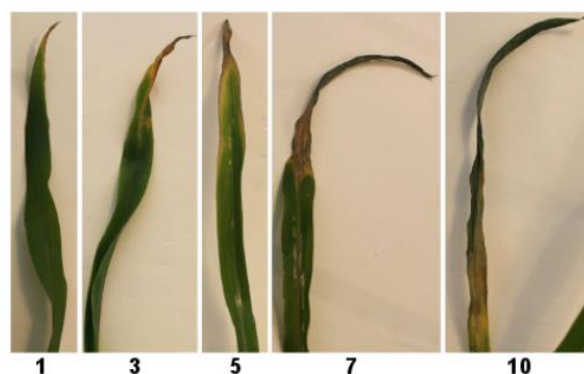
4.2. Phương pháp nghiên cứu chịu ngập

1) Đánh giá chịu ngập bằng gây ngập nhân tạo theo phương pháp của Malachy T. Campbell, Christopher A. Proctor, Yongchao, Dou, Aaron J. Schmitz, Piyaporn Phansak, Greg R.

Kruger, Chi Zhang, and Harkamal Walia, 2015, Genetic and Molecular Characterization of Submergence Response Identifies *Subtol6* as a Major Submergence Tolerance Locus in Maize, Journal List PLoS One, v.10(3); 2015

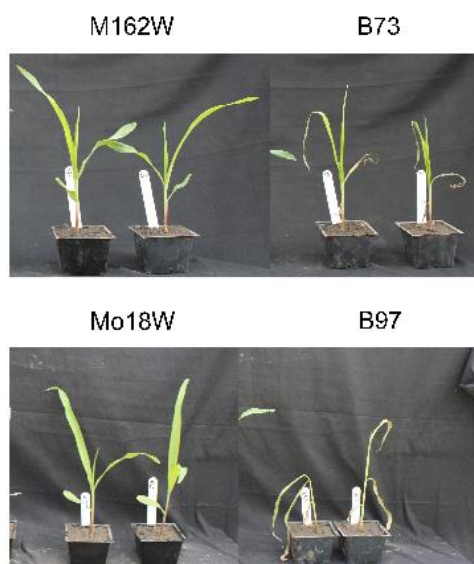


Hình. 7. Phản ứng với ngập dưới điều kiện thiếu đất của ngô Mi29 (trái) và IL#18 (phải)
(A) Phần trên mặt đất của cây tại giai đoạn 5 lá với 1 g/L dung dịch tinh bột trong 2 tuần,
(B) Rễ của các cây ngập tại giai đoạn 3 lá với 1 g/L dung dịch tinh bột trong 4 tuần



Hình 8. Tóm tắt hệ thống quan sát hình thái lá cho điểm sử dụng đánh giá chịu ngập gây ra mức tàn lá. Cho điểm theo thang điểm từ 0 đến 10, với điểm 0 không quan sát thấy triệu chứng bất thuận đến 10 độ tàn lá hoàn toàn

(nguồn Malachy T. Campbell et al, 2015).



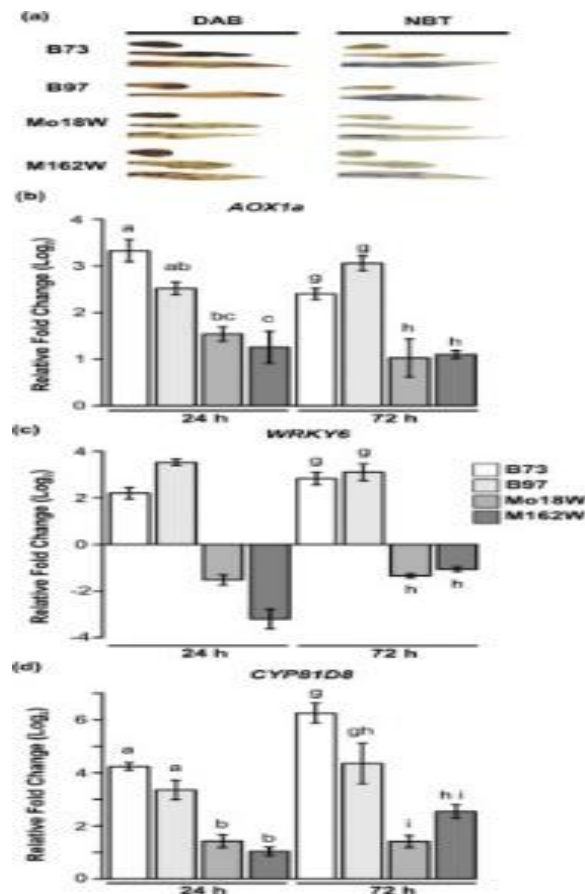
Hình 9. Ảnh minh họa chống chịu các dòng tự phối bên trái cả hình trên và dưới; các dòng mẫn cảm bên phải cả trên và dưới. Ảnh chụp ngày thứ 5 sau ngập 96 giờ

(nguồn Malachy T. Campbell et al, 2015).

2) Đánh giá chịu ngập trên đồng ruộng



Hình 10: Đánh giá chịu ngập trên đồng ruộng



Hình 11. Sự dò tìm biểu hiện của gen chỉ thị ROS của các dòng tự phối tương phản về tính chống chịu ngập (Malachy T. Campbell, et al, 2015).

(a.) Sự dò tìm H_2O_2 và superoxide ở các dòng tự phối đã chọn lọc chống chịu và mẫn cảm với chịu ngập. Một bộ phụ 4 bố mẹ chọn lọc trên cơ sở qua sát điểm lá của nhuộm ROS sau ngập. Hydrogen peroxide được dò tìm bằng nhuộm nitroblue tetrazolium (NBT). Hai phân tích thực hiện sau ngập 96h, dòng B97 lá thứ 3 lúa mạch nảy mầm không sử dụng cho phân tích. (b-d) Real-time quantitative PCR của gen ROS được chọn lọc trên cơ sở nghiên cứu của Gadjev, Vanderauwera và Gechev [30] và cho thấy phản ứng có ý nghĩa ở mức độ nhất tạo ra ROS ở cây Arabidopsis.

(b.) ALTERNATIVE OXIDASE 1a (AOX1a); (c.) WRKY6 (d.) CYTOCHROME P81 D8 (CYP81D8). Tất cả các mẫu chọn sau 24 h và 72 h sau ngập. Sự biểu hiện liên quan đến mô rễ của các cây đối chứng tại 2h sau ngập. Các chữ trên thanh đồ thị chỉ ra sự khác biệt không có ý nghĩa xác định bằng chỉ số Tukey's HSD ($p < 0.05$). Test thống kê biểu hiện phân tách riêng rẽ cho mỗi điểm thời gian. Các ô không có chữ cái (như 2c sau 24 h) đã chỉ ra tất cả so sánh có ý nghĩa khác nhau. Thanh sai số tiêu chuẩn $n = 3$.

Để khẳng định kết quả phân tích bằng nhuộm NBT và DAB các tác giả đã xác định biểu hiện của gen chỉ thị ROS của 4 dòng tự phối sau ngập 24 và 72 h sử dụng quantitative real-time PCR (qPCR). Các gen

chỉ thị ROS bắt nguồn từ bộ số liệu xử lý Arabidopsis trong 4 điều kiện bất thuận xử lý dư thừa oxy (methyl viologen, Alternaria alternata toxin, 3-aminotriazole, và ozone) [30]. Các gen được chọn lọc nếu chúng biểu

hiện tạo ra ít nhất của 2 trong 4 đặc điểm bất thuận và tương ứng với orthologs ngô. Mỗi quan hệ biểu hiện của gen đã được xác định bằng real-time quantitative PCR (qPCR) của *ALTERNATIVE OXIDASE 1a* (*AOX1a*; GRMZM2G125669). Hai dòng tự phối mẫn cảm biểu hiện tạo ra *AOX1a* cao tương ứng với ngập so với M162W tại 24h (Hình. 2B; $p < 0.05$). Trong khi tại 72 h sau ngập, biểu hiện *AOX1a* cao hơn có ý nghĩa ở B73 và B97 so với các dòng tự phối chịu ngập. Ngô *WRKY6* ortholog (GRMZM5G871347) biểu hiện tương phản với phản ứng ngập ở ngô (hình. 2C; $p < 0.05$). Sự biểu hiện của *WRKY6* tạo ra ở cả B73 và B97 cao hơn hai lần tại 24 và 72 h sau khi ngập liên quan đến mẫu đối chứng, trong khi các dòng chống chịu biểu hiện điều khiển *WRKY6* điều khiển đi xuống ở hai điểm thời gian với các đối chứng. Chỉ thị gen thứ 3, *CYP81D8* (GRMZM2G087875) đã biểu hiện mức thấp hơn có ý nghĩa ở các dòng chống chịu tại sau 24 giờ ngập so với các dòng mẫn cảm (hình. 2D; $p < 0.05$). Trong khi sau 72 giờ ngập *CYP81D1* biểu hiện thấp hơn có ý nghĩa ở Mo18W khi so với hai dòng mẫn cảm. Sự thu thập số liệu phân tích nhuộm màu và phân tích gen gợi ý rằng sự sống sót thấp hơn ở các dòng mẫn cảm có thể do mức ROS cao hơn và thay đổi sao mã phù hợp với bất thuận oxy

ERFs là thành phần tổng hợp của phản ứng với ngập ở giai đoạn sớm ở ngô

Các tác giả đã tìm thấy ERFs giàu lên có ý nghĩa ở các gen điều khiển lên khi phản ứng với ngập ($p < 0.001$). Mười tám ERFs điều khiển lên ở tất cả 4 dòng tại 24 h sau khi ngập, Trong khi 72 h, 19 gen ERF điều khiển phản ứng với ngập. Các tác giả cùng tìm thấy ERF tạo ra trong các dòng chống chịu ngập

tại 24 h. Sự biểu hiện chức năng gen ở ngô *REDOX-RESPONSIVE*

TRANSCRIPTION FACTOR (RRTF1; GRMZM2G138396; tạo ra xấp xỉ bằng 7- và 4.6-fold ở Mo18W và M162W. *RRTF1* là thành phần chủ yếu của mạng lưới điều khiển của cân bằng oxy (redox homeostasis) ở cây *Arabidopsis* và có thể đóng vai trò cải thiện cân bằng oxy liên quan đến chịu ngập ở các dòng tự phối chống chịu

5. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Biến đổi khí hậu đã gây ra những hiện tượng thời tiết cực đoan dẫn đến hạn hán ở một số vùng, ngập lụt ở một số vùng và thời điểm, mùa vụ đòi hỏi tiếp cận sản xuất nông nghiệp phải thích ứng để nông nghiệp phát triển bền vững. Trong các giải pháp hai giải pháp quan trọng là chọn giống chống chịu và kỹ thuật canh tác phù hợp

Đối với sản xuất ngô, chọn giống chống chịu với hai điều kiện trái ngược là hạn hán và ngập úng cần quan tâm như nhau. Để tạo giống ngô chống chịu hạn hán và ngập úng phải có phương pháp phù hợp gồm đánh giá sàng lọc vật liệu, lai tạo tổ hợp lai mới sử dụng phương pháp truyền thống, gây bất thuận nhân tạo và sử dụng chỉ thị phân tử nhận biết gen và QTL liên kết với tính trạng chống chịu bất thuận. Các thử nghiệm diện tích lớn cần đặt trong điều kiện bất thuận nước để đảm bảo giống khi phổ biến ra sản xuất

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Văn Lộc, Nguyễn Việt Long, Nguyễn Thế Hùng, Phạm Quang Tuấn, Nguyễn Văn Cường, 2013, Nghiên cứu khả năng chịu úng của một số dòng ngô thời kỳ cây con, Tạp chí Khoa học và Phát triển 2013, tập 11, số 7: 926-932.

- H. Rahman, S. Pekic, V. Lazic-Jancic, S.A. Quarrie, S.M.A. Shah, A. Pervez and M.M. Shah, 2011, Molecular mapping of quantitative trait loci for drought tolerance in maize plants, *Genet. Mol. Res.* 10 (2): 889-901 (2011)
- Jie Xu, Yibing Yuan, Yunbi Xu, Gengyun Zhang, Xiaosen Guo, Fengkai Wu, Qi Wang, Tingzhao Rong, Guangtang Pan, Moju Cao, Qilin Tang, Shibin Gao, Yaxi Liu, Jing Wang, Hai Lan and Yanli Lu, 2014, identification of candidate genes for drought tolerance by whole-genome resequencing in maize, *BMC Plant Biology* 2014, 14: 83
- Jiufeng Guo, Guoqin Su, Jinpeng Zhang and Guoying Wang, 2008, Genetic analysis and QTL mapping of maize yield and associated agronomic traits under semi-arid land condition, *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (12), pp. 1829-1838, 17 June, 2008
- Malachy T. Campbell, Christopher A. Proctor, Yongchao Dou, Aaron J. Schmitz, Piyaporn Phansak, Greg R. Kruger, Chi Zhang, and Harkamal Walia, 2015, Genetic and Molecular Characterization of Submergence Response Identifies *Subtol6* as a Major Submergence Tolerance Locus in Maize, *Journal List PLoS One*, v.10(3); 2015
- Pervez H. Zaidi, 2002, Chịu hạn ở ngô nhưng lý thuyết và thực tế, *Maize Program*, CIMMYT Mexico, D.F., MEXICO
- Wesley B. Bruce, Gregory O. Edmeades, Thomas C. Barker, 2002, Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, No. 366, pp. 13–25, January 2002
- Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K: Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exper Botany* 2007, 58(2):221–227
- Silvestro K. Meseka, Abebe Menkir, Abu Elhassan S. Ibrahim and Sam. O. Ajala, 2013, Genetic analysis of maize inbred lines for tolerance to drought and low nitrogen, *JONARES*, Vol. 1, pp 29-36, June 2013
- Weiwei Wen, Jose Luis Araus, Trushar Shah, Jill Cairns, George Mahuku, Marianne Bänziger, Jose Luis Torres, Ciro Sánchez, and Jianbing Yan, Molecular characterization of a Diverse Maize Inbred Line Collection and its Potential Utilization for Stress Tolerance Improvement, *Crop Sci.* 51 (2011).
- Yoshiro MANO, Fumie OMORI, Hiroyuki TAMAKI, Shohei MITSUHASHI and Wataru TAKAHASHI (2016) REVIEW: DNA Marker-Assisted Selection Approach for Developing Flooding-Tolerant Maize; *JARQ* 50 (3), 175 - 182 (2016) <http://www.jircas.affrc.go.jp>

CHANGES IN MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS, REGENERATION ABILITY, AND POLYSACCHARIDE CONTENT IN TETRAPLOID *DENDROBIUM OFFICINALE*

Phu-Long Pham, Ying-Xue Li, He-Rong Guo, Rui-Zhen Zeng, Li Xie,
and Zhi-Sheng Zhang

BREEDING, CULTIVARS, ROOTSTOCKS, AND GERMPLASM RESOURCES

HORTSCIENCE 54(11):1879–1886. 2019. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14310-19>

Changes in Morphological Characteristics, Regeneration Ability, and Polysaccharide Content in Tetraploid *Dendrobium officinale*

Phu-Long Pham, Ying-Xue Li, He-Rong Guo, Rui-Zhen Zeng, Li Xie,
and Zhi-Sheng Zhang

Guangdong Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, College of
Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University,
Guangzhou, Guangdong 510642, China

Jianjun Chen

Environmental Horticulture Department and Mid-Florida Research and
Education Center, IFAS, University of Florida, Gainesville, FL 32703

Qing-Lian Su and Qing Xia

Guangzhou Flower Research Center, Guangzhou, Guangdong 510360,
China

Additional index words. chromosome doubling, colchicine, *Dendrobium* polysaccharide,
orchids, protocorm-like bodies

Abstract. *Dendrobium officinale* Kimura et Migo is a famous traditional Chinese medicinal plant. It produces various phytochemicals, particularly polysaccharides, which have nutraceutical and pharmaceutical values. To increase its biomass production and polysaccharide content, our breeding program has generated a series of polyploid cultivars through colchicine treatment of protocorm-like bodies (PLBs). The present study compared two tetraploid cultivars, 201-1-T₁ and 201-1-T₂, with their diploid parental cultivar, 201-1, in an established in vitro culture system. Tetraploid ‘201-1-T₁’ and ‘201-1-T₂’ had shorter leaves and shorter and thicker stems and roots, and they produced higher biomass compared with the diploid cultivar. The length and width of stomata significantly increased, but stomatal density decreased in tetraploid cultivars. The PLB induction rates from the stem node explants of the tetraploid cultivars were significantly higher than those of diploid. However, the PLB proliferation of tetraploids was lower than that of the diploid. The mean number of plantlets regenerated from tetraploid PLBs was also lower than that of the diploid after 4 months of culture. Polysaccharide contents in stems, leaves, and roots of 6-month-old tetraploid plantlets were significantly higher than those of diploids. The polysaccharide content in the stem of ‘201-1-T₁’ was 12.70%, which was a 2-fold increase compared with the diploid cultivar. Our results showed that chromosome doubling could be a viable way of improving *D. officinale* in biomass and polysaccharide production.

Dendrobium Sw. is one of the largest genera in the family Orchidaceae, and it comprises more than 1500 species (Cheng et al., 2019) that are widely distributed in Asia, Australia, and Europe and produced as ornamental flowering plants (Lam et al., 2015). In China, *Dendrobium*, commonly known as “Shi Hu,” has been used as traditional Chinese medicine for thousands of years (Cheng et al., 2019). More than 78 species of *Dendrobium* are native to China,

and 50 of them have medicinal value (Chen et al., 2012; Xu et al., 2013). They are a source of tonic, astringent, analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory substances (Cakova et al., 2017). Regarded as one of the most famous *Dendrobium* in China since the Tang dynasty ≈1300 years ago, *D. officinale* Kimura et Migom has been used to eliminate heat evil, remediate stomach problems, moisten the lung, relieve cough, nourish the body, and prolong lifespan (Alonso-Sanchez et al., 2009; Wang et al., 2018; Yuan et al., 2014). More than 190 compounds have been isolated from *D. officinale* (Tang et al., 2017), of which polysaccharide is one of the major active constituents, exhibiting immunomodulatory and cardioprotective activities (Dou et al., 2016; He et al., 2016). Stems usually contain a high concentration of polysaccharide (He et al., 2017). Due to its health benefits and

long growth cycle, wild *D. officinale* has been exploited to near extinction. *D. officinale* has been considered a threatened species and is listed as critically endangered on the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List (Critically Endangered A4c ver. 3.1) (Jin et al., 2016; Qian et al., 2014). Despite previous attempts to revive *D. officinale*, an urgent need for conserving wild *D. officinale* still exists (Li et al., 2018a; Liu et al., 2015; Teixeira da Silva et al., 2014b). To meet the demand for commercial production, new cultivars should be developed and methods for efficient propagation should be established (Ding et al., 2008).

Current efforts regarding *D. officinale* breeding include germplasm collection, identification, evaluation, and conventional hybridization. Breeding objectives are largely focused on improving morphological characteristics and biomass production (Teixeira da Silva et al., 2016). Only a limited number of cultivars have been released thus far (Chen et al., 2018). Chromosome manipulation is an effective way of orchid improvement (Hossain et al., 2013). Because orchid seeds produce protocorm during germination, and because in vitro regeneration induces protocorm-like bodies (PLBs) (Morel, 1960; Teixeira da Silva et al., 2015), protocorms or PLBs can be easily treated with colchicine for manipulation of chromosomes (Yang et al., 2013; Zhan and Cheng, 2011). PLBs are composed of many meristematic centers that differentiate into shoots and roots (Cui et al., 2008). An advantage of propagation through PLBs is that a large number of plantlets can be regenerated, thus enhancing propagation efficiency (Chen and Wei, 2018). Through colchicine treatment, autopolyploids have been induced from several *Dendrobium* species, including *D. chrysotoxum* (Atchart, 2013), *D. devonianum* (Li et al., 2005), *D. nobile* (Vichiato et al., 2014), *D. ochreatum* (Wang et al., 2017), and *D. officinale* (Yang et al., 2013; Zhan and Cheng, 2011). Autopolyploidy results in more floral pieces with larger petals and/or sepals, prolonged flower lifespan, and increased fertility (Chaicharoen, 1995; Chaicharoen and Saejew, 1981; Ketsa et al., 2001; McConnell and Kamemoto, 1993; Vichiato et al., 2014). Furthermore, autopolyploidy enhances plant overall size, including increased leaf width and thickness and biomass production (Chaicharoen and Saejew, 1981; del Pozo and Ramirez-Parra, 2014; Dudits et al., 2016; Jiang et al., 2014; Vichiato et al., 2007).

Chromosome manipulation of *D. officinale* has been primarily centered on morphological changes, and limited attention has been given to the regeneration ability during in vitro culture and active phytochemicals such as polysaccharide. We believe that in addition to morphological changes, polyploidized *D. officinale*, such as tetraploids, should have increased contents of polysaccharide and exhibit differences in plant regeneration during in vitro culture. Our breeding program has produced a series of *D. officinale* cultivars with different ploidy

Received for publication 21 June 2019. Accepted for publication 2 Aug. 2019.

This work was supported by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2015A020209118 and 2015A030302066) and the China Scholarship Council.

L.X. and Z.-S.Z. are corresponding authors. E-mail: xiel@scau.edu.cn or zszhang@scau.edu.cn.

HORTSCIENCE VOL. 54(11) NOVEMBER 2019

1879

levels. The present study was performed to test our hypothesis by comparing two tetraploid cultivars, 201-1-T₁ and 201-1-T₂, with their parental diploid cultivar, 201-1, and to determine if morphological characteristics, regeneration ability, and polysaccharide content were changed due to the induced autopolyploidization.

Materials and Methods

Plant materials. Diploid *D. officinale* hybrid 201-1 ($2n = 38$) and tetraploid cultivars 201-1-T₁ and 201-1-T₂ ($2n = 76$) were used in this study. Their appearance, root tip cell chromosome numbers, and relative DNA contents that were analyzed using flow cytometry (Cui et al., 2009) are presented in Fig. 1. The two tetraploids were selected from a regenerated population of '201-1' after the PLBs were treated with colchicine.

Hybrid 201-1 has a rapid growth rate and a desirable growth form, and it has been used as a new cultivar. The two tetraploids have been stable during in vitro culture and in greenhouse production.

Analysis of morphological characteristics.

Young shoots (≈ 1 cm) derived from PLBs were grown in glass culture vessels (height, 100 mm; diameter, 65 mm; and volume, 330 mL) containing MS medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 2.2 μ M 6-BA (6-benzylaminopurine), 0.5 μ M NAA (naphthaleneacetic acid), 30 g·L⁻¹ sucrose, 0.3 g·L⁻¹ active carbon (AC), and 7 g·L⁻¹ agar with a pH of 5.8. There were five shoots per culture vessel and nine vessels per cultivar. The experiment was arranged as a randomized complete block design (RCBD). Each culture vessel was considered an experimental unit, each block had three vessels per cultivar, and there were three blocks.

Young shoots were maintained in a culture room under fluorescent tube with a light intensity of 20 μ mol·m⁻²·s⁻¹. Six months after culture, plantlet height, stem diameter, leaf number, leaf width and length, root number, root length, and diameter were recorded using an electronic digital caliper. The fresh weight of entire plantlets, after roots were washed to remove agar and blotted on paper towels, was weighed using an electronic balance.

Determination of stomatal dimension and density. Another experiment that was identical to the aforementioned morphological analysis was conducted, but it was used to analyze stomatal dimension and density based on the method described by Stoddard (1965). Briefly, a drop of clear nail polish was applied to the abaxial surface of the third leaf from the meristem per plantlet. After drying, a piece of Scotch 3M transparent tape (Scotch

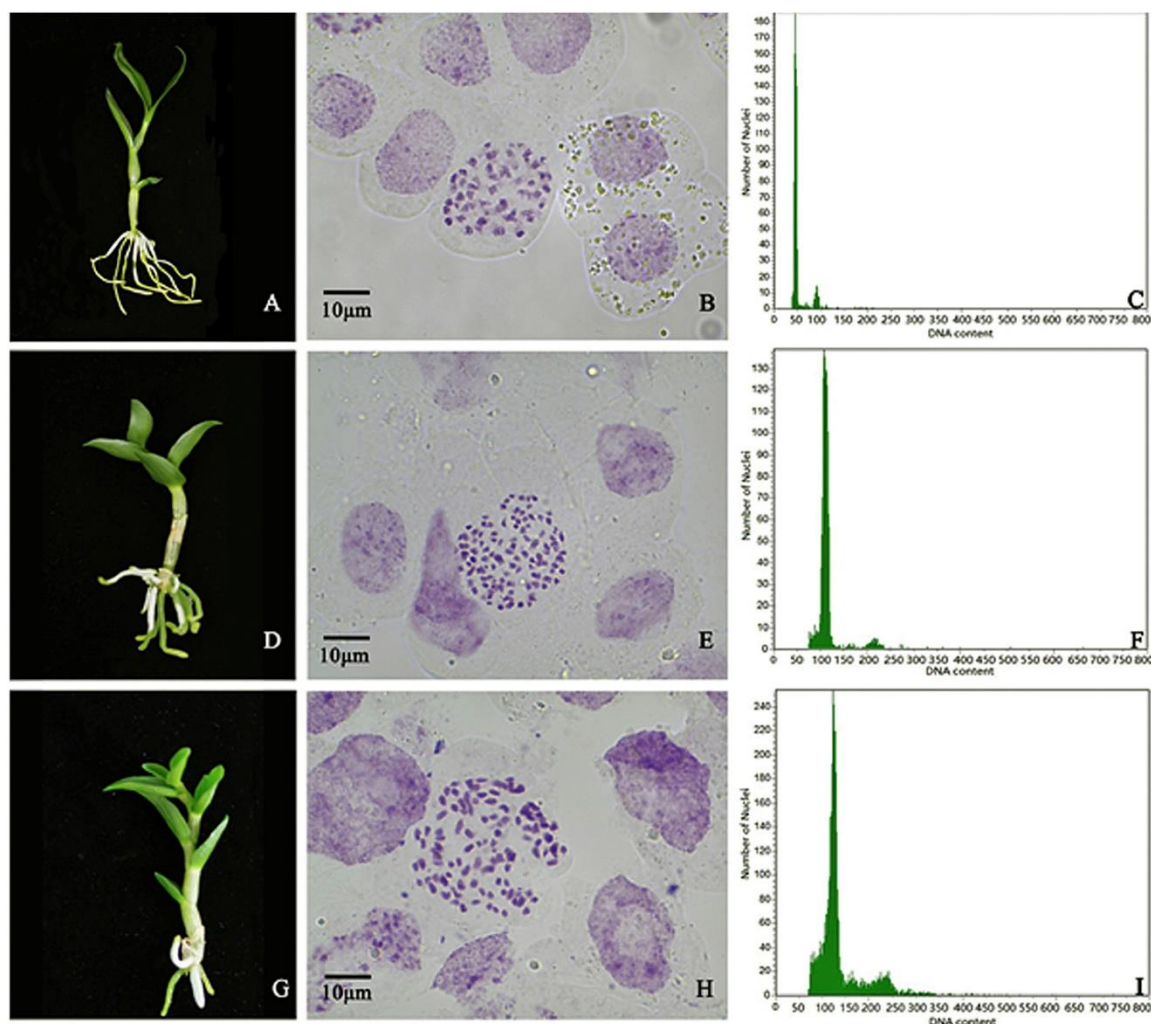


Fig. 1. The plantlet appearance, chromosome number in root tip cell, and relative DNA content in leaves of the diploid ($2n = 38$) parental cultivar 201-1 (A–C) and two tetraploid ($2n = 76$) cultivars 201-1-T₁ (D–F) and 201-1-T₂ (G–I) of *D. officinale*.

3M, St. Paul, MN) was placed on top of dried nail polish. The polish with an imprint affixed to the tape was peeled off and mounted on the microscope slides for observation. Stomata were viewed using a compound biological microscope, and the images were displayed on a computer via the microscope's built-in camera (Moticam2306; 3.0 M Pixel USB 2.0) with Motic Images Advanced 3.2 software (Motic Group, Hong Kong, China). Digital images of the leaf and stomata imprints were viewed at 400 $\times$ and 1000 $\times$ magnification and saved as a digital tagged image file (.tif) with 1024 $\times$ 768-pixel resolution for the later analysis. The images of the leaf imprint were analyzed, and the stomatal lengths were

measured using Image J2 software. Fifteen images per cultivar were observed.

Evaluation of PLB induction, proliferation, and plant regeneration. Stems $\approx$ 4 to 5 cm in length were cut from '201-1', '201-1-T₁', and '201-1-T₂' plantlets. After removal of leaves, the stems were decontaminated with 70% ethanol for $\approx$ 1 min. Then, they were thoroughly rinsed with sterilized distilled water for 30 s. Finally, they were cut into segments $\approx$ 0.4 to 0.5 cm in length and inoculated on half-strength MS medium supplemented with 0.44 μ M 6-BA, 20% coconut water (CW), 30 g·L⁻¹ sucrose, 7 g·L⁻¹ agar, and 0.1 g·L⁻¹ AC with a pH of 5.8. The experiment was also set as an RCBD. Each

block had three vessels per cultivar, nine stem explants per culture vessel, and a total of three blocks. Stem explants were cultured in the dark for 1 month. The number of stem explants with PLBs were counted, and the percentage of PLB induction was calculated based on the number of stem segments with PLBs in each vessel divided by the total number of stem segments in the same vessel.

To assess the growth of PLBs, PLBs of each cultivar were cultured on half-strength MS medium supplemented with 0.88 μ M 6-BA, 0.5 μ M NAA, 20% CW, 30 g·L⁻¹ sucrose, and 7 g·L⁻¹ agar, respectively, with a pH of 5.8. Again, the experiment was an RCBD. There were 9 PLBs with a total fresh weight of 1 g per culture vessel, 10 vessels per block, and a total of 3 blocks. They were initially cultured in the dark for 1 month. Then, the weight of PLBs in each vessel was measured by the electronic balance. The growth or proliferation coefficient of PLBs was calculated based on the weight of PLBs after 1 month of culture divided by the initial weight of PLBs.

For shoot induction, 9 PLBs $\approx$ 0.3 to 0.4 cm in diameter per cultivar were cultured on MS medium supplemented with 0.88 μ M 6-BA, 0.5 μ M NAA, 30 g·L⁻¹ sucrose, 0.1 g·L⁻¹ AC, and 7 g·L⁻¹ agar with a pH of 5.8. The experiment was an RCBD with 10 vessels per block and a total of 3 blocks. They were maintained under a 12-h photoperiod with light intensity of 20 μ mol·m⁻²·s⁻¹ for 2 months. The initial times of shoot formation

Table 1. Morphological and stomatal characteristics of diploid and tetraploid cultivars of *D. officinale* grown under in vitro culture conditions.²

Parameter	Diploid 201-1	Tetraploid 201-1-T ₁	Tetraploid 201-1-T ₂
Stem length (cm)	5.43 $\pm$ 0.36 a ²	4.20 $\pm$ 0.17 b	3.03 $\pm$ 0.24 c
Stem diameter (cm)	0.28 $\pm$ 0.02 b	0.42 $\pm$ 0.02 a	0.44 $\pm$ 0.03 a
Leaf no.	5.70 $\pm$ 0.49 a	5.40 $\pm$ 0.47 a	4.80 $\pm$ 0.35 a
Leaf length (cm)	2.14 $\pm$ 0.11 a	1.55 $\pm$ 0.09 b	1.29 $\pm$ 0.37 c
Leaf width (cm)	0.78 $\pm$ 0.04 a	0.77 $\pm$ 0.03 a	0.73 $\pm$ 0.05 a
Root no.	6.30 $\pm$ 0.63 a	7.00 $\pm$ 0.95 a	7.20 $\pm$ 0.35 a
Root length (cm)	5.74 $\pm$ 0.38 a	2.24 $\pm$ 0.13 b	2.17 $\pm$ 0.14 b
Root diameter (cm)	0.13 $\pm$ 0.006 b	0.19 $\pm$ 0.007 a	0.21 $\pm$ 0.007 a
Fresh weight (g)	0.92 $\pm$ 0.07 b	2.14 $\pm$ 0.17 a	1.95 $\pm$ 0.57 a
Stomata no. (1000 μ m ²)	54.40 $\pm$ 0.83 a	30.30 $\pm$ 1.76 b	30.50 $\pm$ 0.76 b
Stomata cell length (μ m)	37.36 $\pm$ 0.67 c	45.99 $\pm$ 0.74 a	42.13 $\pm$ 0.64 b
Stomata cell width (μ m)	19.10 $\pm$ 0.26 c	25.53 $\pm$ 1.28 a	22.26 $\pm$ 0.74 b
Stomata area (μ m ²)	1535.31 $\pm$ 37.33 b	2392.45 $\pm$ 123.78 a	2172.37 $\pm$ 90.16 a

²All data represent means $\pm$ SE (n = 3).

³Different letters within the same row indicate a significant difference at $P \leq 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

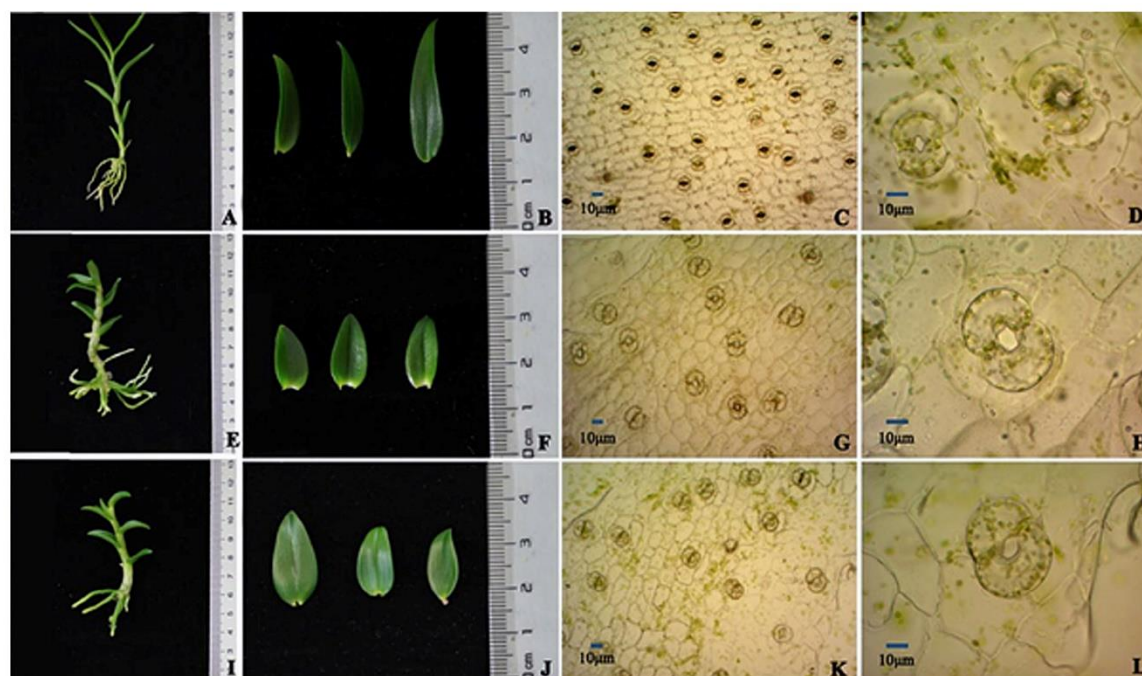


Fig. 2. Six-month-old plantlets, their leaves, stomatal density (400 $\times$ magnification), and stomatal size (1000 $\times$ magnification) of the diploid cultivar 201-1 (A-D) and tetraploid cultivars 201-1-T₁ (E-H) and 201-1-T₂ (I-L) of *D. officinale*.

and root formation were recorded. The numbers of shoots and roots from each PLB were recorded after 2 months of culture.

Analysis of polysaccharides content. To determine the polysaccharide content, an experiment that was the same as the one used for the aforementioned morphological analysis was conducted. After 6 months of growth, polysaccharide contents in leaves,

stems, and roots were measured using the standard protocol published by Chinese Pharmacopoeia (Committee for the Pharmacopoeia of P R China, 2015). Briefly, 50 g of the stems, leaves, and roots of plantlets were placed in a brown envelope and dried in an electrical oven at 60 to 65 °C to a constant weight. After being ground into powder, a 0.3-g sample was mixed in 200 mL of

deionized water and refluxed in a syncore parallel reactor (Büchi, Switzerland) for 2 h at 100 °C; after cooling, the solution was diluted to 250 mL in volumetric flask. The solution was filtered using a vacuum filter; 2 mL of filter solution was transferred to a centrifuge tube after adding 7 mL of absolute ethanol. Then, the tube was kept in refrigeration at 4 °C for 1 h, followed by centrifuging at 6000 rpm for 20 min using a centrifuge (Allegra X-15R; Beckman Coulter, Fullerton, CA). After being washed with 8 mL of 80% ethanol twice, the precipitate was dissolved in heated water and diluted to 25 mL. Then, 1 mL of the solution, 1 mL of 5% phenol, and 5 mL of pure sulfuric acid solution were transferred to a 10-mL glass tube and well-mixed. Next, the tube was boiled in boiling water for 20 min. After being cooled

Table 2. Induction of PLBs from stem explants of diploid and tetraploid cultivars of *D. officinale*.²

Cultivar	Day PLB initiation	PLB induction rate (%)
201-1	13.4 ± 1.20 b ²	40.18 ± 2.95 b
201-1-T ₁	16.6 ± 0.40 a	56.03 ± 7.01 a
201-1-T ₂	17.4 ± 0.74 a	55.75 ± 4.42 a

²All data represent means ±SE (n = 3).

³Different letters within the same column indicate a significant difference at $P \leq 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

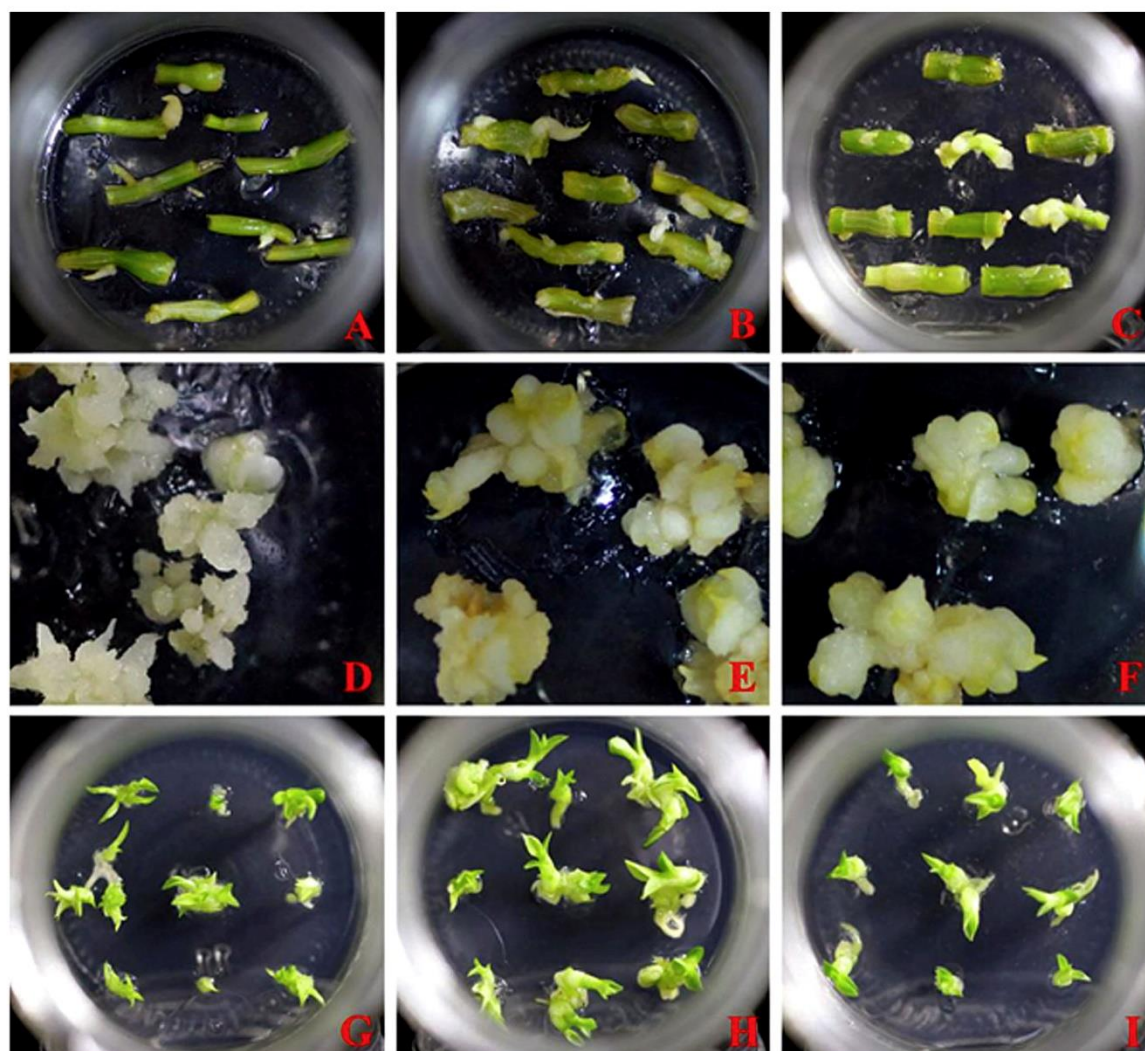


Fig. 3 The induction (A–C) and proliferation (D–F) of protocorm-like bodies (PLBs) and plant regeneration (G–I) from PLBs of the diploid cultivar 201-1 (A, D, G) and tetraploid cultivars 201-1-T₁ (B, E, H) and 201-1-T₂ (C, F, I) of *D. officinale*.

in ice water for 5 min, the solution was transferred to the cuvette to measure the absorbance with an ultraviolet spectrophotometer. The content of polysaccharides was calculated as glucose in the solution. This experiment was repeated three times.

Statistical analysis. Collected data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using SPSS 13.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL). When significant differences occurred, means were separated using Duncan's multiple range test with $P < 0.05$ considered significant.

Results

Morphological changes. Two tetraploid '201-1-T₁' and '201-1-T₂' exhibited marked differences in several morphological characteristics compared to diploid '201-1' (Table 1). Leaf, stem, and root lengths of the tetraploid cultivars were significantly shorter than that of the diploid cultivar (Fig. 2). The stem and root diameters were much greater than those of the diploid. However, leaf number, leaf width, and root number, were similar among the three cultivars. As a result, fresh weights of the tetraploids were 2-fold higher than those of the diploid (Table 1). The length and width of stomata cells as

well as the stomatal area of tetraploid plants were much larger than those of the diploid cultivar, whereas the stomatal density significantly decreased in tetraploid plants (Table 1, Fig. 2).

Differences in PLB induction, proliferation, and regeneration. Significant differences in the induction of PLBs were observed between diploid and tetraploid cultivars. The time required to induce PLBs in the diploid was shorter than that of the tetraploids. The PLB induction rates for tetraploids were 56.03% and 55.75% compared with 40.18% for the diploid (Table 2, Fig. 3A–C). However, there were no significant differences between the two tetraploid lines regarding the PLB induction time and rate.

The proliferation of PLBs among the three cultivars varied significantly. The mass of PLBs produced by the diploid was less compared with that of the two tetraploid cultivars (Fig. 3D–F). The proliferation coefficients of the tetraploid PLBs were significantly higher than that of the diploid: up to 3.69 and 3.03 for the tetraploids compared with 2.31 for the diploid (Fig. 4). Furthermore, tetraploid '201-1-T₁' exhibited a higher PLB proliferation rate than tetraploid '201-1-T₂'.

Shoot regeneration from PLBs were also different between the diploid and tetraploids

(Table 3, Fig. 3G–I). Shoot initiation took ≈ 14 d in the diploid but ≈ 16 d in the tetraploids (Table 3). The mean number of shoots regenerated from diploid PLBs was significantly higher than that regenerated from tetraploid PLBs, and the time of root initiation in the diploid occurred much earlier than that in the tetraploids.

Differences in polysaccharide content. The polysaccharide content in stems was much greater than that in leaves, and the content in leaves was higher than that in roots, regardless of ploidy levels. Polysaccharide contents in stems, leaves, and roots of tetraploid cultivars were significantly higher than those in the diploid (Table 4). The contents of polysaccharide in stems, leaves, and roots of '201-1-T₁' were 2.04-fold, 2.81-fold, and 2.22-fold higher than those in the diploid cultivar. Similarly, polysaccharide contents in stems, leaves, and roots of '201-1-T₂' were 1.61-fold, 2.74-fold, and 3.49-fold higher than those in the diploid line. Additionally, the polysaccharide contents of the two tetraploids were different. In roots, the polysaccharide content of '201-1-T₂' (2.41%) was significantly higher than that of '201-1-T₁' (1.53%); however, in stems, the polysaccharide content of '201-1-T₂' (10.03%) was lower than that of '201-1-T₁' (12.70%).

Discussion

Dendrobium officinale is an important ornamental flowering plant worldwide. It is also a famous traditional Chinese medicinal plant. With the increasing recognition of its nutraceutical and pharmaceutical values, production of *D. officinale* in China increased rapidly from 3900 ha in 2014 to 7066 ha in 2016 (Cheng et al., 2019). The increased production acreage was also accompanied by high demand for new cultivars that can produce higher biomass with increased polysaccharide contents. Our research of *D. officinale* developed as a series of cultivars with different ploidy levels. The present study tested our hypothesis that gene abundance due to chromosome doubling could increase biomass production and polysaccharide contents. The results showed that tetraploid cultivars produced significantly higher fresh weights compared with the diploid cultivar. Polyploidization also changed the regeneration ability of tetraploid cultivars. The polysaccharide contents in stems, leaves, and roots of 6-month-old tetraploid plantlets were either nearly doubled or more than doubled in comparison with that of the diploid parental cultivar. Our study showed that chromosomal doubling is a viable way of

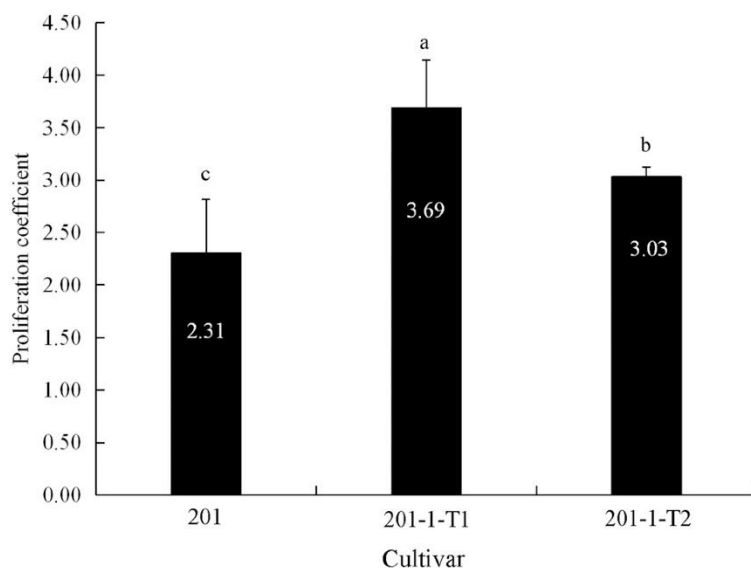


Fig. 4. The proliferation coefficient of the diploid cultivar 201-1 and tetraploid cultivars 201-1-T₁ and 201-1-T₂ of *D. officinale*. Bars represent SE, and letters above the bars indicate significant difference at $P \leq 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

Table 3. Shoot regeneration and root formation from protocorm-like bodies (PLBs) of diploid and tetraploid cultivars of *D. officinale*.^a

Cultivar	Day of initial shoot appearance	Mean number of shoots per PLB	Day of initial root appearance	Mean no. of roots per plantlet
201-1	13.90 $\pm$ 0.46 a ^b	2.90 $\pm$ 0.43 a	28.90 $\pm$ 0.67 b	0.90 $\pm$ 0.23 a
201-1-T ₁	16.50 $\pm$ 0.34 b	1.70 $\pm$ 0.15 b	34.30 $\pm$ 0.58 a	0.70 $\pm$ 0.21 a
201-1-T ₂	15.80 $\pm$ 0.33 b	1.20 $\pm$ 0.13 b	33.50 $\pm$ 0.34 a	0.65 $\pm$ 0.13 a

^aAll data represent means $\pm$ SE (n = 3).

^bDifferent letters within the same column indicate significant difference at $P \leq 0.05$ level based on Duncan's multiple range test.

Table 4. Polysaccharide contents in diploid and tetraploid plantlets of *D. officinale*.^z

Cultivar	Stems (%)	Leaves (%)	Roots (%)
201-1	6.22 ± 0.05 c ^y	1.59 ± 0.12 b	0.69 ± 0.08 c
201-1-T ₁	12.70 ± 0.19 a	4.47 ± 0.14 a	1.53 ± 0.07 b
201-1-T ₂	10.03 ± 0.14 b	4.37 ± 0.15 a	2.41 ± 0.12 a

^zAll data represent means ± SE (n = 3).^yDifferent letters within the same column indicate a significant difference at $P \leq 0.05$ based on Duncan's multiple range test.

improving biomass and polysaccharide production in *D. officinale*.

Chromosome doubling can lead to various morphological and anatomical changes (Corneillie et al., 2018; Sattler et al., 2016; Tantasawat et al., 2012; Teixeira da Silva et al., 2014a). In the present study, tetraploid plantlets had shorter leaf, stem, and root lengths and thicker stem and root diameters as well as increased fresh weights compared with the diploid, representing a phenomenon called the Gigas effect (Knight and Beaulieu, 2008); in other words, chromosome doubling generally causes increased organ size (Osborn et al., 2003). Therefore, tetraploid plants had significantly higher biomass production (Corrêa et al., 2016; Hannweg et al., 2016). Additionally, stomatal size was significantly increased but stomatal density was decreased in tetraploid plants. It has been reported that the number of guard cells per unit area decreased in accordance with the increased level of polyploidy (De Oliveira et al., 2004). Some early studies considered that the lower frequency of stomata in tetraploids was probably due to the larger epidermal and guard cells (Gantait et al., 2011; Mishra, 1997) as well as reduced stomata differentiation (Tu et al., 2018). This phenomenon has also been documented for *Salvia miltiorrhiza* (Gao et al., 1996), *Agastache foeniculum* (Talebi et al., 2017), and *Anoectochilus formosanus* (Chung et al., 2017).

The current study also showed that chromosome doubling changed the regeneration ability through PLBs. The time for PLB initiation from tetraploid stem nodes was longer than that for the diploid. However, the induction rate was higher compared with that of the diploid. Polyploidization can lead to an increased number of internodes (Vichiato et al., 2014). PLBs are generally induced from the nodes of stems. We believe that the increased PLB induction rate could be due to the increased stem nodes in tetraploid plantlets. As a result, the proliferation coefficients of tetraploid PLBs were higher compared with that of the diploid, which was similar to the results of Xie et al. (2017), who indicated that the proliferation rates of tetraploid PLBs were higher than those of triploids and diploids in *Cymbidium hybridum*. This is likely related to the increased cell size of tetraploid plantlets. The time required for shoot appearance from PLBs increased, but the number of shoots produced per PLB piece was reduced in tetraploid cultivars. These results concurred with the results of Sun et al. (2011), who indicated that the polyploid in *Pyrus communis* was accompanied by

reduced in vitro shoot and root organogenesis. The failure of completing cytokinesis (Øvrebo and Edgar, 2018) or difficulty progressing through normal mitosis (Comai, 2005) can result in decreased in vitro organogenesis polyploids. Additionally, chromosome doubling causes chromosomal rearrangements, inversions, translocations, and even loss or retention of the duplicated genes (Blanc and Wolfe, 2004). The rearrangement might directly or indirectly affect regeneration ability (Colijn-Hooymans et al., 1994; Kubalakova et al., 1996; Lin et al., 2001).

In vitro polyploidization has a significant role in boosting vigor and metabolite contents in medical plants (Salma et al., 2017), such as overaccumulated shikimic acid content in tetraploid PLBs of *Dendrobium* hybrid (Grosso et al., 2018), higher polysaccharide and phenolic compounds in tetraploid pseudobulbs of *Bletilla striata* (Li et al., 2018b), richer stevioside in mixoploids leaves of *Stevia rebaudiana* (Hegde et al., 2015), and superior baicalin content in tetraploid roots of *Scutellaria baicalensis* (Gao et al., 2002). Polysaccharide is the major active component in *D. officinale* (Song et al., 2016), and it has an important role in healing some diseases (Luo et al., 2017; Xie et al., 2016). In this study, tetraploid plantlets produced significantly higher polysaccharide contents in leaves, stems, and roots than diploid plantlets. The results suggested that young plantlets produce abundant polysaccharide, as documented by Yuan et al. (2017), and that the polysaccharide contents in tetraploid plantlets were much higher than those in diploid parental plantlets. Similar results were also reported by Jiang et al. (2014). The increased polysaccharide may be partly attributable to the increased cell size and, thus, thicker leaves and roots of tetraploid plantlets, as mentioned by Hegde et al. (2015). The overexpression of genes following chromosome doubling can also enhance secondary metabolites (Comai, 2005; Majdi et al., 2014; Yun-Soo et al., 2004). Recently, Corneillie et al. (2018) reported that polyploidization in *Arabidopsis thaliana* was associated with a proportional reduction in secondary cell wall deposition, such as lignin and cellulose, and concomitantly increased other cell wall polysaccharides. Whether the cell composition changes have contributed to the increased polysaccharides in the tetraploids '201-1-T₁' and '201-1-T₂' requires further investigation. Nevertheless, our study demonstrated that chromosome doubling represents a workable approach to increasing biomass and polysaccharide production in

D. officinale, and its application could potentially increase the supply of *D. officinale* materials for commercial use.

Literature Cited

- Alonso-Sande, M., D. Teijeiro-Osorio, C. Remuñán-López, and M.J. Alonso. 2009. Glucanmannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 72:453–462.
- Atichart, P. 2013. Polyploid induction by colchicine treatments and plant regeneration of *Dendrobium chrysotoxum*. *Thai J. Agr. Sci.* 46:59–63.
- Blanc, G. and K.H. Wolfe. 2004. Functional divergence of duplicated genes formed by polyploidy during *Arabidopsis* evolution. *Plant Cell* 16:1679–1691.
- Cakova, V., F. Bonte, and A. Lobstein. 2017. *Dendrobium*: Sources of active ingredients to treat age-related pathologies. *Aging Dis.* 8: 827–849.
- Chaicharoen, S. 1995. Studies on chromosome number, floral and characteristic fertility of diploid and allotetraploid *Dendrobium superbiens*. *Kasetsart J. Natl. Sci.* 29:150–157.
- Chaicharoen, S. and K. Saejw. 1981. Autopolyploidy in *Dendrobium phalaenopsis*. *J. Sci. Soc. Thailand* 7:25–32.
- Chen, J. and X. Wei. 2018. Thidiazuron in micropropagation of aroid plants, p. 95–113. In: N. Ahmad and M. Faisal (eds.). *Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator*. Springer Nature Singapore Pte Ltd., Singapore.
- Chen, X., L. Tian, T. Shan, L. Sun, and S. Guo. 2018. Advances in germplasm resources and genetics and breeding of *Dendrobium officinale*. *Acta Pharm. Sinica* 53:1493–1503 (In Chinese with English abstract).
- Chen, X.M., F.F. Wang, Y.Q. Wang, X.L. Li, A.R. Wang, C.L. Wang, and S.X. Guo. 2012. Discrimination of the rare medicinal plant *Dendrobium officinale* based on naringenin, bibenzyl, and polysaccharides. *Sci. China Life Sci.* 55:1092–1099.
- Cheng, J., P. Dang, Z. Zhao, L. Yuan, Z. Zhou, D. Wolf, and Y. Luo. 2019. An assessment of the Chinese medicinal *Dendrobium* industry: Supply, demand and sustainability. *J. Ethnopharmacol.* 229:81–88.
- Chung, H.H., S.K. Shi, B. Huang, and J.T. Chen. 2017. Enhanced agronomic traits and medicinal constituents of autotetraploids in *Anoectochilus formosanus* Hayata, a top-grade medicinal orchid. *Molecules* 22:1–13.
- Colijn-Hooymans, C.M., J.C. Hakkert, J. Jansen, and J.B.M. Custers. 1994. Competence for regeneration of cucumber cotyledons is restricted to specific developmental stages. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 39:211–217.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nat. Rev. Genet.* 6:836–846.
- Committee for the Pharmacopoeia of PR China. 2015. *Pharmacopoeia of PR China, Part 1*. China Medical Science and Technology Press, PR China (in Chinese).
- Corneillie, S., N. De Storme, R. Van Acker, J.U. Fangel, M. De Bruyne, R.M. De Rycke, D. Geelen, W.G.T. Willaers, B. Vanholme, and W.A. Boerjan. 2018. Polyploidy affects plant growth and alters cell wall composition. *Plant Physiol.* 179:74–87.
- Corrêa, J.P.O., C.E. Vital, M.V.M. Pinheiro, D.S. Batista, C.W. Saldanha, A.C.F. da Cruz, M.M. Notini, D.M.S. Freitas, F.M. DaMatta, and W.C. Otoni. 2016. Induced polyploidization increases 20-hydroxyecdysone content, *in vitro*

- photoautotrophic growth, and *ex vitro* biomass accumulation in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 52: 45–55.
- Cui, J., J. Chen, and R.J. Henny. 2009. Regeneration of *Aeschynanthus radicans* via direct somatic embryogenesis and analysis of regenerants with flow cytometry. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 45:34–43.
- Cui, J., J. Liu, M. Deng, J. Chen, and R.J. Henny. 2008. Plant regeneration through protocorm-like bodies induced from nodal explants of *Syngonium podophyllum* 'White Butterfly'. *HortScience* 43:2129–2133.
- De Oliveira, V.M., E.R. Forni-Martins, P.M. Magalhães, and M.N. Alves. 2004. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatoriaceae, Asteraceae). *Genet. Mol. Biol.* 27:215–222.
- del Pozo, J.C. and E. Ramirez-Parra. 2014. Deciphering the molecular bases for drought tolerance in *Arabidopsis* autotetraploids. *Plant Cell Environ.* 37:2722–2737.
- Ding, G., D. Zhang, X. Ding, Q. Zhou, W. Zhang, and X. Li. 2008. Genetic variation and conservation of the endangered Chinese endemic herb *Dendrobium officinale* based on SRAP analysis. *Plant Syst. Evol.* 276:149–156.
- Dou, M.M., Z.H. Zhang, Z.B. Li, J. Zhang, and X.Y. Zhao. 2016. Cardioprotective potential of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo against myocardial ischemia in mice. *Mol. Med. Rep.* 14:4407–4414.
- Dudits, D., K. Török, A. Cseri, K. Paul, A.V. Nagy, B. Nagy, L. Sass, G. Ferenc, R. Vankova, P. Dobrev, I. Vass, and F. Ayaydin. 2016. Response of organ structure and physiology to autotetraploidization in early development of energy willow *Salix viminalis*. *Plant Physiol.* 170:1504–1523.
- Gantait, S., N. Mandal, S. Bhattacharyya, and P.K. Das. 2011. Induction and identification of tetraploids using *in vitro* colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 106:485–493.
- Gao, S.L., B.J. Chen, and D.N. Zhu. 2002. *In vitro* production and identification of autotetraploids of *Scutellaria baicalensis*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 70:289–293.
- Gao, S.L., D.N. Zhu, Z.H. Cai, and D.R. Xu. 1996. Autotetraploid plants from colchicine-treated bud culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 47:73–77.
- Grosso, V., A. Farina, D. Giorgi, L. Nardi, G. Diretto, and S. Lucretti. 2018. A high-throughput flow cytometry system for early screening of *in vitro* made polyploids in *Dendrobium* hybrids. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 132:57–70.
- Hannweg, K., G. Visser, A. Sippel, and I. Bertling. 2016. Micropropagation and *in vitro* polyploidisation of *Siphonochilus aethiopicus* (wild ginger) and its effect on selected horticultural characteristics. *Acta Hort.* 1113: 175–181.
- He, C., K. Wu, J. Zhang, X. Liu, S. Zeng, Z. Yu, X. Zhang, J.A. Teixeira da Silva, R. Deng, J. Tan, J. Luo, and J. Duan. 2017. Cytochemical localization of polysaccharides in *Dendrobium officinale* and the involvement of DoCSLA6 in the synthesis of mannan polysaccharides. *Front. Plant Sci.* 8:173, doi: 10.3389/fpls.2017.00173.
- He, T.B., Y.P. Huang, L. Yang, T.T. Liu, W.Y. Gong, X.J. Wang, J. Sheng, and J.M. Hu. 2016. Structural characterization and immunomodulating activity of polysaccharide from *Dendrobium officinale*. *Intl. J. Biol. Macromol.* 83:34–41.
- Hegde, S.N., C.N. Rameshsing, and M. Vasundhara. 2015. Characterization of *Stevia rebaudiana* Bertoni polyploids for growth and quality. *Med. Plant* 7:188–195.
- Hossain, M.M., R. Kant, P.T. Van, B. Winarto, S. Zeng, and J.A. Teixeira da Silva. 2013. The application of biotechnology to orchids. *Crit. Rev. Plant Sci.* 32:69–139.
- Jiang, J.L., W. Ye, Y.Q. Li, J.J. Zhou, F.G. Lei, and D.Z. Wei. 2014. Growth and polysaccharides accumulation in autotetraploid *Dendrobium officinale*. *Plant Physiol. J.* 50:519–526 (in Chinese with English abstract).
- Jin, Q., C.Y. Jiao, S.W. Sun, C. Song, Y.P. Cai, Y. Lin, H.H. Fan, and Y.F. Zhu. 2016. Metabolic analysis of medicinal *Dendrobium officinale* and *Dendrobium huoshanense* during different growth years. *PLoS One* 11:1–17.
- Ketsa, S., A. Uthairatanakij, and A. Prayurawong. 2001. Senescence of diploid and tetraploid cut inflorescences of *Dendrobium* 'Caesar'. *Scientia Hort.* 91:133–141.
- Knight, C.A. and J.M. Beaulieu. 2008. Genome size scaling through phenotype space. *Ann. Bot.* 101:759–766.
- Kubalakova, M., J. Dolezel, and A. Lebeda. 1996. Ploidy instability of embryogenic cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus culture. *Biol. Plant.* 38:475–480.
- Lam, Y., T.B. Ng, R.M. Yao, J. Shi, K. Xu, S.C.W. Sze, and K.Y. Zhang. 2015. Evaluation of chemical constituents and important mechanism of pharmacological biology in *Dendrobium* plants. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2015:841752, doi: 10.1155/2015/841752.
- Li, H., X.S. Zheng, and C.L. Long. 2005. Induction of polyploid of *Dendrobium devonianum*. *Acta Bot. Yunnanica* 27:552–556 (In Chinese with English abstract).
- Li, J., S.W. Gale, P. Kumar, J. Zhang, and G. Fischer. 2018a. Prioritizing the orchids of a biodiversity hotspot for conservation based on phylogenetic history and extinction risk. *Bot. J. Linn. Soc.* 186:473–497.
- Li, M., B. Ding, W. Huang, J. Pan, Z. Ding, and F. Jiang. 2018b. Induction and characterization of tetraploids from seeds of *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. *BioMed Res. Intl. Article ID 3246398*, doi: 10.1155/2018/3246398.
- Lin, H., P.D. Carvalho, D. Kho, C.Y. Tai, P. Pierre, G.R. Fink, and D. Pellman. 2001. Polyploids require Bkl1 for kinetochore-microtubule attachment. *J. Cell Biol.* 155:1173–1184.
- Liu, Q., J. Chen, R.T. Corlett, X. Fan, D. Yu, H. Yang, and J. Gao. 2015. Orchid conservation in the biodiversity hotspot of southwestern China. *Conserv. Biol.* 29:1563–1572.
- Luo, D., C. Qu, G.S. Lin, Z.B. Zhang, J.H. Xie, H.B. Chen, J.L. Liang, C.L. Li, H.F. Wang, and Z.R. Su. 2017. Character and laxative activity of polysaccharides isolated from *Dendrobium officinale*. *J. Funct. Foods* 34:106–117.
- Majdi, M., G. Karimzadeh, and M.A. Malboobi. 2014. Spatial and developmental expression of key genes of terpenoid biosynthesis in feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Biol. Plant.* 58:379–384.
- McConnell, J. and H. Kamemoto. 1993. Morphology and meiotic behavior of three *Dendrobium* Amphidiploids and their diploid counterparts. *HortScience* 28:935–937.
- Mishra, M.K. 1997. Stomatal characteristics at different ploidy levels in *Coffea* L. *Ann. Bot.* 80:689–692.
- Morel, G.M. 1960. Producing virus-free cymbidiums. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 29:495–497.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473–497.
- Øvrebo, J.I. and B.A. Edgar. 2018. Polyploidy in tissue homeostasis and regeneration. *Development* 145:1–16.
- Osborn, T.C., J. Chris-Pires, J.A. Birchler, D.L. Auger, Z.F. Chen, H. Lee, L. Comai, A. Madlung, R.W. Doerge, V. Colot, and R.A. Martienssen. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends Genet.* 19:141–147.
- Qian, X., C. Wang, T. Ouyang, and M. Tian. 2014. *In vitro* flowing and fruiting in culture of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo. (Orchidaceae). *Pak. J. Bot.* 46:1877–1882.
- Salma, U., S. Kundu, and N. Mandal. 2017. Artificial polyploidy in medicinal plants: Advancement in the last two decades and impending prospects. *J. Crop Sci. Biotechnol.* 20:9–19.
- Sattler, M.C., C.R. Carvalho, and W.R. Clarindo. 2016. The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta* 243:281–296.
- Song, T.H., X.X. Chen, S.C.W. Tang, J.C.M. Ho, L.X. Lao, and T.B. Ng. 2016. *Dendrobium officinale* polysaccharides ameliorated pulmonary function while inhibiting mucin-5AC and stimulating aquaporin-5 expression. *J. Funct. Foods* 21:359–371.
- Stoddard, E.M. 1965. Identifying plants by epidermal characters. *Conn. Agr. Exp. Stat. Circ.* 227.
- Sun, Q., H. Sun, R.L. Bell, H. Li, and L. Xin. 2011. Variation of phenotype, ploidy level and organogenic potential of *in vitro* regenerated polyploids of *Pyrus communis*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 107:131–140.
- Talebi, S.F., M.J. Saharkhiz, M.J. Kermani, Y. Sharafi, and F. Raouf Fard. 2017. Effect of different antimicrobial agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). *Caryologia* 70:184–193.
- Tang, H.X., T.W. Zhao, Y.J. Sheng, T. Zheng, L.Z. Fu, and Y.S. Zhang. 2017. *Dendrobium officinale* Kimura et migo: A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and industrialization. *Evid. Based Complement. Altern. Med. Article ID 7436259*, doi: 10.1155/2017/7436259.
- Tantasawat, P., A. Khairum, W. Chaowiset, and W. Wannajindaporn. 2012. Pronamide-induced polyploidy in rhynchostylis and *Dendrobium*. *Acta Hort.* 937:615–620.
- Teixeira da Silva, J.A., J.C. Cardoso, J. Dobra'nszki, and S. Zeng. 2015. *Dendrobium* micropropagation: A review. *Plant Cell Rep.* 34:671–704.
- Teixeira da Silva, J.A., D.T. Giang, J. Dobránszki, S.J. Zeng, and M. Tanaka. 2014a. Ploidy analysis of *Cymbidium*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium* and *Paphiopedilum* (Orchidaceae), and *Spa-thiphyllum* and *Syngonium* (Araceae). *Biologia* 69:750–755.
- Teixeira da Silva, J.A., X. Jin, J. Dobránszki, J. Lu, H. Wang, G. Zolt, J.C. Cardoso, and S. Zeng. 2016. Advances in *Dendrobium* molecular research: Applications in genetic variation, identification and breeding. *Mol. Phylogenet. Evol.* 95:196–216.
- Teixeira da Silva, J.A., S. Zeng, R.F. Galdiano, Jr., J. Dobra'nszki, J.C. Cardoso, and W.A. Vendrame. 2014b. *In vitro* conservation of *Dendrobium* germplasm. *Plant Cell Rep.* 33:1413–1423.
- Tu, H.Y., A.L. Zhang, W. Xiao, Y.R. Lin, J.H. Shi, Y.W. Wu, S.T. Wu, C.H. Zhong, and S.X. Mo. 2018. Induction and identification of tetraploid *Hedychium coronarium* through thin cell layer

- culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 135:395–406.
- Vichiato, M.R.M., M. Vichiato, M. Pasqual, D.M. Castro, and L.F. Dutra. 2007. Tetraploidy induction and identification in *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Rev. Ciênc. Agron. Fortaleza* 38:385–390.
- Vichiato, M.R.M., M. Vichiato, M. Pasqual, F.A. Rodrigues, and D.M. Castro. 2014. Morphological effects of induced polyploidy in *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 14:154–159.
- Wang, A.H., Q.Q. Wu, L. Yang, H.J. Xu, and Z.L. Chen. 2017. Study on polyploid of *Dendrobium ochreatum* induced by colchicine. *J. Southwest Univ. (Natural Science Ed.)*. 39:55–60 (In Chinese with English abstract).
- Wang, K.P., H.X. Wang, Y.G. Liu, W.Z. Shui, J.F. Wang, P. Cao, H.J. Wang, R.X. You, and Y. Zhang. 2018. *Dendrobium officinale* polysaccharide attenuates type 2 diabetes mellitus via the regulation of PI3K/Akt-mediated glycogen synthesis and glucose metabolism. *J. Funct. Foods* 40:261–271.
- Xie, L., S.S. Zhou, M.G. Wang, R.Z. Zeng, H.R. Guo, and Z.S. Zhang. 2017. Creation and micropropagation of polyploids in *Cymbidium hybridum*. *Acta Hort.* 16:107–113.
- Xie, S.Z., B. Liu, D.D. Zhang, X.Q. Zha, L.H. Pan, and J.P. Luo. 2016. Intestinal immunomodulating activity and structural characterization of a new polysaccharide from stems of *Dendrobium officinale*. *Food Funct.* 7:2789–2799.
- Xu, J., Q.B. Han, S.L. Li, X.J. Chen, X.N. Wang, Z.Z. Zhao, and H.B. Chen. 2013. Chemistry, bioactivity and quality control of *Dendrobium*, a commonly used tonic herb in traditional Chinese medicine. *Phytochem. Rev.* 12:341–367.
- Yang, L., S. Shi, and Z.X. Xiang. 2013. *In vitro* induction, identification and physiological characteristics of autotetraploid *Dendrobium officinale*. *Acta Bot. Boreal.-Occident.* 33:2189–2193 (In Chinese with English abstract).
- Yuan, Z., G. Cong, and J. Zhang. 2014. Effects of exogenous salicylic acid on polysaccharides production of *Dendrobium officinale*. *S. Afr. J. Bot.* 95:78–84.
- Yuan, Z.Q., J.Y. Zhang, and T. Liu. 2017. Enhancement of polysaccharide accumulation in *Dendrobium officinale* by exogenously applied methyl jasmonate. *Biol. Plant.* 61:438–444.
- Yun-Soo, K., H. Eun-Joo, N.M. Hosakatte, and P. Kee-Yoeup. 2004. Effect of polyploidy induction on biomass and ginsenoside accumulations in adventitious roots of ginseng. *J. Plant Biol.* 47:356–360.
- Zhan, Z.G. and X.U. Cheng. 2011. Study on colchicoid of *Dendrobium officinale* induced by colchicines. *J. Zhejiang Univ. (Sci. Ed.)*. 38:321–325 (In Chinese with English abstract).

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI ĐIỂM GHEP ĐEN SINH TRƯỞNG CỦA GIỐNG BƠ B3 GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM TẠI PHÚ THỌ

Đỗ Hải Long¹ và Vũ Thanh Hử²

¹ Viện khoa học kỹ thuật Nông lâm miền núi phía Bắc

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định thời điểm ghép phù hợp cho bơ B3. Bơ B3 được ghép trên gốc cây bơ Nước tiến hành vào các thời điểm 15/3, 15/4, 15/6, 15/7 và 15/8 năm 2018 tại Phú Thọ. Trên cơ sở theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng, tỷ lệ bật mầm và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn đã xác định được: Thời điểm ghép thích hợp cho bơ B3 trên gốc ghép bơ Nước giai đoạn vườn ươm tại Phú Thọ vào thời điểm 15/3, 15/4, 15/7 và 15/8 với tỷ lệ xuất vườn đạt trên 70%.

Từ khoá: thời điểm ghép, ghép, giống bơ B3

THE IMPACT OF GRAFTING TIME ON GROWTH OF GRAFTED B3 AVOCADO SEEDLING AT NURSERY

ABSTRACT

An experiment of grafting cultivar B3 onto rootstock Nuoc avocado on 15/3, 15/4, 15/6, 15/7 and 15/8/2018 in Phu Tho province. Data of growth, budding ratio of scion and the grafted seedling ratio matching TCVN 9301:2013 were collected and analysed. The results indicated 15/3, 15/4, 15/7 and 15/8/2018 were appropriate time for grafting B3 onto Nuoc in Phu Tho province.

Keyword: appropriate time grafting, cultivar B3 avocado

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quả bơ (*Persea americana*) có hàm lượng chất béo (10 - 25 %), chất xơ tự nhiên 3%, kali 552 mg/100g, các loại vitamin A, B, C, D, E không chỉ cung cấp năng lượng mà còn có tác dụng tốt đối với sức khỏe con người và hoàn toàn không chứa Cholesterol (Hoàng Mạnh Cường, 2010).

Giống bơ B3 là giống bơ triển vọng cho tỉnh Phú Thọ nói riêng và vùng Trung du miền núi phía Bắc (Hà Tiết Cung, 2015). Giống bơ B3 được Trung tâm nghiên cứu và phát triển rau hoa quả tuyển chọn năm 1999

và xác định đáp ứng đầy đủ các tiêu chí của thị trường thương mại quốc tế. Tuy nhiên, hiện tại chưa có quy trình canh tác phù hợp nhằm phát huy hết tiềm năng của giống. Trong đó việc nhân giống bơ B3 trong vườn ươm và ghép cải tạo cây có sẵn thay bằng bơ B3 cần được nghiên cứu cụ thể trên cơ sở các nghiên cứu về thời vụ ghép của cây bơ và cây ăn quả khác tại miền Bắc Việt Nam. Mục đích của nghiên cứu này xác định thời điểm ghép thích hợp để nhân giống bơ B3 bằng phương pháp ghép đoạn cành tại Phú Thọ.

2. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: năm 2018

Địa điểm nghiên cứu: Vườn tập đoàn cây ăn quả - Viện khoa học kỹ thuật Nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc (Xã Phú Hộ, thị xã Phú Thọ, tỉnh Phú Thọ).

Giống bơ B3 có nguồn gốc nhập nội từ Australia, thời gian ra hoa khoảng tháng 3 - 4 dương lịch, thời gian thu hoạch khoảng tháng 8 dương lịch.

Cây mẹ: Giống bơ B3, 14 năm tuổi. Tiêu chuẩn cành ghép: Cành thành thực ở vị trí ngoài tán, khỏe mạnh, không sâu bệnh. Kích thước cành ghép tương đương với kích thước cây gốc ghép (đường kính 0,6 - 1,0 cm).

Giống bơ Nước làm gốc ghép: Hạt bơ nước được chọn lựa đồng đều, to, mẩy, không sâu bệnh, cây đạt tiêu chuẩn làm gốc ghép sau khi gieo hạt sau 4 - 5 tháng. Sau ghép có lưới đen che nắng, tưới nước đủ ẩm và phòng trừ sâu bệnh hại cho cây ghép.

Tiêu chuẩn cây gốc ghép (theo TCVN 9301:2013): Cây khỏe mạnh, không sâu bệnh, có từ 6-7 lá trưởng thành, chiều cao cây (đo từ mặt bầu tới ngọn) ≥ 30 cm, đường kính thân (đo ở vị trí cách mặt bầu 20 cm) từ 0,6 - 1,0 cm.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Công thức thí nghiệm: Ghép bơ B3 trên gốc bơ Nước vào các thời điểm

CT1: 15/3 dương lịch

CT4: 15/6 dương lịch

CT2: 15/4 dương lịch

CT5: 15/7 dương lịch

CT3: 15/5 dương lịch

CT6: 15/8 dương lịch

Thí nghiệm thực hiện theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCB) với 6 công thức và 3 lần nhắc lại.

Sử dụng 30 cây/công thức x 03 lần nhắc x 6 công thức = 540 cây gốc ghép.

Phương pháp ghép trong vườn ươm: Ghép nối ngọn trên gốc bơ nước.

Cây ghép được theo dõi các chỉ tiêu: Thời gian bật mầm (ngày), tỷ lệ cây bật (%), thời gian cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (ngày), tỷ lệ cây xuất vườn (%), kích thước ngọn ghép (cm).

3. PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ SỐ LIỆU

Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê IRRISTAT 5.0, phần mềm EXCELL.

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến thời gian bật mầm và tỷ lệ sống của cây ghép

Thời điểm ghép phù hợp làm tăng mức độ tương hợp giữa gốc ghép và cành ghép, vết ghép mau liền, cây bật mầm sớm, tỷ lệ bật mầm cao, tạo điều kiện thuận lợi cho cây sinh trưởng tốt, rút ngắn thời gian xuất vườn. Kết quả theo dõi cho thấy thời điểm bật mầm ở các công thức thí nghiệm chênh lệch nhau không đáng kể, dao động từ 16,33 - 20,00 ngày. Trong đó, công thức 3 ghép từ 15/5 có thời gian bật mầm sớm nhất là 16,33 ngày sau ghép, công thức 1 ghép từ 15/3 có thời gian bật mầm muộn nhất là 20,00 ngày sau ghép.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến thời gian bắt mầm và tỷ lệ sống của cây ghép

Công thức	Thời gian ghép	Thời gian bắt đầu bắt mầm sau ghép (ngày)	Tỷ lệ bắt mầm sau ghép 30 ngày (%)	Tỷ lệ bắt mầm sau ghép 60 ngày (%)
1	15/3/2018	20,00	36,67	83,33
2	15/4/2018	18,67	31,11	81,11
3	15/5/2018	16,33	30,00	74,44
4	15/6/2018	17,00	32,22	72,22
5	15/7/2018	17,33	35,55	82,22
6	15/8/2018	17,00	34,44	84,45
CV %				6,0
LSD _{0,05}				8,62

Tỷ lệ sống sau ghép 30 và 60 ngày công thức 15/3 có tỷ lệ sống cao nhất đạt 36,67% và 83,33%. Tỷ lệ sống sau ghép 60 ngày của các công thức dao động từ 72,22 - 84,45%, tỷ lệ này là tương đối thấp khi so sánh với một số

loại cây ăn quả khác như chanh, bưởi, xoài.... Trong đó, công thức 15/3 (83,33%), công thức 15/4 (81,11%), công thức 15/7 (82,22%) và công thức 15/8 (84,45%) cao hơn công thức 15/6 (72,22%) ở mức tin cậy 95%.

4.2. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến khả năng sinh trưởng của cành lộc ghép

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến khả năng sinh trưởng của cành lộc ghép

Công thức	Thời gian ghép	Chiều dài cành lộc (cm)		Đường kính cành lộc (cm)	
		60 ngày	90 ngày	60 ngày	90 ngày
1	15/3/2018	26,53	45,74	0,49	0,84
2	15/4/2018	25,66	47,62	0,45	0,83
3	15/5/2018	20,65	38,46	0,39	0,78
4	15/6/2018	19,33	37,74	0,42	0,74
5	15/7/2018	24,58	44,63	0,48	0,82
6	15/8/2018	25,06	45,57	0,46	0,81
CV %		6,6	4,0	3,5	3,4
LSD _{0,05}		2,82	3,12	0,03	0,05

Tại hầu hết các thời điểm theo dõi, khả năng sinh trưởng của cành lộc ghép ở công thức 15/3 và công thức 15/4 đạt lớn nhất, tại thời điểm này nhiệt độ trung bình ngày diễn biến theo hướng tăng dần, thuận lợi cho sinh trưởng của cành ghép. Ngược lại, ở công thức 15/5, công thức 15/6 cành ghép có xu hướng nhỏ hơn, do nhiệt độ không khí ở giai đoạn này tương đối cao, nắng nóng kết hợp

với ẩm độ thấp, không thuận lợi cho sinh trưởng của cành ghép.

Đến thời điểm ghép 15/7 và công thức 15/8, cây sinh trưởng tốt: Sinh trưởng cành lộc sau ghép 60 ngày: Chiều dài cành lộc ở các công thức sau ghép 60 ngày dao động từ 19,33 - 26,53cm, đồng thời so sánh giữa các công thức 15/3, 15/4, 15/7, 15/8 với công thức 15/5 và 15/6 có sự khác biệt về chiều dài cành lộc ở mức tin cậy 95%. Đường kính

cành lộc là chỉ tiêu đánh giá sự phát triển của cành ghép trên điều kiện gốc ghép mới, qua đó đánh giá được mức độ tương hợp giữa cành ghép và gốc ghép. Theo dõi 60 ngày sau ghép, đường kính cành lộc tại các công thức dao động từ 0,39 - 0,49cm. Trong đó công thức 15/3 (0,49cm) cao nhất và thấp nhất ở công thức 15/5 (0,39cm).

Sinh trưởng cành lộc sau ghép 120 ngày vẫn thể hiện thời điểm ghép 15/5 và 15/6 có sự sinh trưởng kém hơn thời điểm ghép khác về chiều dài và đường kính lộc ở mức tin cậy 95%.

4.3. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến khả năng tiếp hợp của cành ghép và gốc ghép

Bảng 3. Ảnh hưởng thời điểm ghép đến khả năng tiếp hợp của cành ghép và gốc ghép

Công thức	Thời gian ghép	Khả năng tiếp hợp sau ghép 60 ngày			Khả năng tiếp hợp sau ghép 120 ngày		
		ĐK gốc ghép (cm)	ĐK cành ghép (cm)	Chỉ số tiếp hợp	ĐK gốc ghép (cm)	ĐK cành ghép (cm)	Chỉ số tiếp hợp
1	15/3/2018	0,74	0,66	1,12	0,90	0,85	1,06
2	15/4/2018	0,77	0,71	1,09	0,96	0,92	1,04
3	15/5/2018	0,75	0,70	1,07	0,94	0,90	1,04
4	15/6/2018	0,76	0,69	1,10	0,93	0,88	1,06
5	15/7/2018	0,79	0,73	1,08	0,90	0,86	1,05
6	15/8/2018	0,81	0,74	1,10	0,98	0,93	1,05

Ghi chú: ĐK: Đường kính

Tính chỉ số tiếp hợp theo kết quả Bảng 3 cho thấy khả năng tiếp hợp của gốc ghép và cành ghép tương đối tốt ở giai đoạn vườn ươm. Sau 60 ngày ghép, chỉ số tiếp hợp giữa đường kính gốc ghép và đường kính

cành ghép dao động từ 1,07 - 1,12 cm. Tiếp tục theo dõi đến 120 ngày, chỉ số tiếp hợp dao động từ 1,04 - 1,06 cm. Trong quá trình theo dõi chưa có hiện tượng chân voi, chân hương.

4.4. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến tỷ lệ sống và tỷ lệ xuất vườn của cây ghép

Bảng 4.4. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến tỷ lệ sống và tỷ lệ xuất vườn của cây ghép

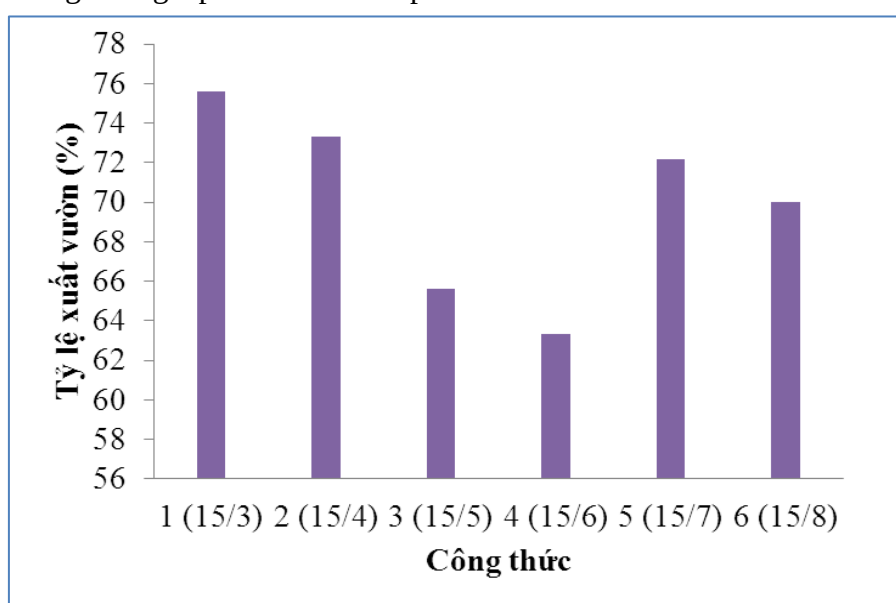
Công thức	Thời gian ghép	Tỷ lệ cây sống (%)	Tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%)
1	15/3/2018	83,3	75,6
2	15/4/2018	81,1	73,3
3	15/5/2018	73,3	65,6
4	15/6/2018	70,0	63,3
5	15/7/2018	82,2	72,2
6	15/8/2018	77,8	70,0
CV %			3,4
LSD _{0,05}			4,35

Dựa trên các chỉ tiêu cây bơ giống theo “Tiêu chuẩn quốc gia về cây giống bơ - yêu cầu kỹ thuật TCVN 9301:2013”, kết quả theo dõi qua 6 thời điểm ghép cho thấy tỷ lệ sống của cây ghép đạt 70,0 - 83,3%. Tuy nhiên không ổn định qua các thời điểm ghép: Ghép vào 15/3 đạt tỷ lệ sống cao nhất (83,3%), trong khi đó ghép vào 15/6 tỷ lệ sống chỉ đạt 70,0%.

Từ Hình 1 cho thấy tỷ lệ xuất vườn đạt đỉnh điểm ở công thức ghép vào 15/3 và thấp

nhất ở công thức ghép vào 15/6. Đồng thời so sánh tỷ lệ xuất vườn của cả 6 công thức ở độ tin cậy 95% thấy có sự khác biệt có ý nghĩa giữa công thức 15/3, 15/4, 15/7, 15/8 với công thức 15/5, 15/6.

Như vậy, thời điểm ghép thích hợp cho cây bơ B3 là vụ xuân - hè (15/3, 15/4) và vụ thu (15/7, 15/8) cho tỷ lệ cây xuất vườn từ 70% trở lên.



Hình 1. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến tỷ lệ cây xuất vườn



Hình 2. Cây bơ mới ghép CT6 ghép (15/8/2018)



Hình 3. Cây bơ đạt tiêu chuẩn xuất vườn CT6 ghép (15/8/2018)

4.5. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến hiệu quả kinh tế

Để lựa chọn được thời điểm ghép mang lại hiệu quả kinh tế cao nhất, chi phí sản xuất

trên 1000 cây gốc ghép qua 6 thời điểm khác nhau đã được tính như bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời điểm ghép đến hiệu quả kinh tế

Công thức	Thời gian ghép	Số lượng cây xuất vườn	Tổng thu (1.000 đồng)	Tổng chi (1.000 đồng)	Lãi thuần (1.000 đồng)
1	15/3/2018	756	22.680	11.800	10.880
2	15/4/2018	733	21.990	11.800	10.190
3	15/5/2018	656	19.680	11.800	7.880
4	15/6/2018	633	18.990	11.800	7.190
5	15/7/2018	722	21.660	11.800	9.860
6	15/8/2018	700	21.000	11.800	9.200

Ghi chú: Giá cây bơ ghép 30.000đ/cây năm 2018

Theo tính toán, chi phí để sản xuất ra 1000 cây bơ gốc ghép trong cả 6 thời điểm đều là 11.800.000 đồng. Tuy nhiên, nếu ghép bơ vào thời gian 15/3 đem lại lãi thuần 10.880.000 đồng, ngược lại, nếu ghép bơ vào 15/6 thu được lãi thuần thấp nhất 7.190.000 đồng, chênh lệch là 3.690.000 đồng.

Các thời điểm ghép 15/4 và 15/7 cũng cho lãi thuần thu được lần lượt là 10.190.000 đồng và 9.860.000 đồng.

5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

5.1. Kết luận

Thời điểm ghép thích hợp cho bơ B3 trên gốc ghép bơ Nước giai đoạn vườn ươm tại Phú Thọ là vào 15/3, 15/4, 15/7 và 15/8 với tỷ lệ xuất vườn đạt trên 70%.

5.2. ĐỀ NGHỊ

Trên cơ sở xác định thời điểm ghép thích hợp ở vườn ươm, cần nghiên cứu thời điểm ghép cải tạo bơ B3 trên gốc bơ Nước 3

năm tuổi ở vườn người dân để cải thiện năng suất và chất lượng quả bơ ngoài sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hà Tiết Cung (2015). Báo cáo tổng kết đề tài Nghiên cứu chọn tạo giống bơ cho các tỉnh phía Bắc. Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Rau hoa quả.
- Hoàng Mạnh Cường (2010). Nghiên cứu đặc tính nông sinh học các dòng, giống bơ phục vụ công tác chọn tạo giống ở Tây Nguyên. Luận văn thạc sỹ nông nghiệp. Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
- Hoàng Mạnh Cường và Đoàn Văn Lư (2009). Kết quả bình tuyển một số cây bơ ưu tú (*Persea americana* Mills.) tại Tây Nguyên. Tạp chí Khoa học và Phát triển. 05. tr. 572-576.
- Tiêu chuẩn quốc gia về cây giống bơ - yêu cầu kỹ thuật TCVN 9301:2013

ẢNH HƯỞNG CỦA VIRUS ẤU TRÙNG TÚI LÊN TUỔI THỌ VÀ MỘT SỐ TẬP TÍNH CỦA ONG MẬT TẠI VIỆT NAM

Phan Thanh Ngọc² và Phạm Hồng Thái^{1,2}

¹ Bộ môn Côn trùng, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trung tâm nghiên cứu Ong và Nuôi ong nhiệt đới, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Địa chỉ email liên hệ: lunamitsuki@gmail.com; lapis.lazuli.2201@gmail.com

TÓM TẮT

Việt Nam thuộc khí hậu nhiệt đới là điều kiện thuận lợi cho phát triển ong, nhưng cũng là môi trường thuận lợi cho các dịch bệnh của ong mật phát triển. Bệnh virus ấu trùng túi (SBV) gây chết ấu trùng và làm biến dạng tuyến hàm tiết sữa của ong thợ. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định tác động ảnh hưởng của SBV lên tuổi thọ và một số tập tính của ong thợ ở 2 loài *Apis cerana* và *Apis mellifera*. Các ong thợ non mới vũ hoá trong 24 giờ được đánh dấu và giới thiệu vào đàn theo dõi thí nghiệm. Kết quả thu được cho thấy tuổi thọ của ong thợ của đàn bệnh ngắn hơn so với đàn khoẻ (*Apis cerana*: $24,64 \pm 0,94$ và $31,47 \pm 1,29$ ngày; *Apis mellifera*: $21,00 \pm 0,28$ và $53,98 \pm 0,46$ ngày) ở mức sai khác có ý nghĩa $p < 0,0001$. Một số tập tính của ong thợ ở đàn bị bệnh và đàn khoẻ là hoàn toàn sai khác (chẳng hạn ở đàn bệnh ong thợ định hướng sớm hơn, vệ sinh lỗ tổ nhiều hơn)

Từ khoá: *Sacbrood virus*, *Apis cerana*, *Apis mellifera*, tập tính, tuổi thọ

ABSTRACT

Vietnam located in the tropical climate in which is a good condition for beekeeping development, but also good environment of pathogen organism for honeybees. Sacbrood virus (SBV) cause larvae dead and deformation of hypopharyngeal gland. This research would like to know the impact of SBV on lifespan and some behaviors of *Apis cerana* and *Apis mellifera* workers. Emerged workers in 24h were marked and introduced into the experimental honeybee hives. The result show that lifespan of workers in SBV infected colonies is shorter than what in healthy one (*Apis cerana*: $24,64 \pm 0,94$ và $31,47 \pm 1,29$ days; *Apis mellifera*: $21,00 \pm 0,28$ và $53,98 \pm 0,46$ days) at significant different level $p < 0,0001$. Some behavior of workers in healthy and diseased colonies are quite difference significantly (such as earlier orientation flight, cleaning cells more often in diseased colonies)

Keywords: *Sacbrood virus*, *Apis cerana*, *Apis mellifera*, behavior, longevity,

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ong cung cấp cho con người các sản phẩm có giá trị như: mật ong, sáp ong, phấn hoa, sữa chúa, keo ong, nọc ong. Ong mật làm tăng năng suất, phẩm chất cây trồng thông qua việc thụ phấn. Hơn 90% các loại

rau, hoa quả, và cây trồng lấy hạt cần ong thụ phấn. Năng suất của các cây ăn quả có ong thụ phấn có thể tăng từ 20 – 30%. Các giá trị ong mang lại là rất lớn. Chúng không những tích cực tham gia vào việc cải tạo môi trường sống, cân bằng hệ sinh thái mà còn góp phần

trong việc đem về cho con người các giá trị về kinh tế (Crane, 1990; Tam and chinh, 2004; Tổng Xuân Chinh, 2008).

Việt Nam nằm trong khu vực nhiệt đới gió mùa, khí hậu nóng ẩm mưa nhiều, thảm thực vật phong phú đa dạng. Đó là điều kiện thuận lợi để ong phát triển, cũng là điều kiện thuận lợi để các bệnh ong phát triển. Bệnh ấu trùng túi ở ong do virus gây ra, có khả năng lây nhiễm rất cao, một ấu trùng bệnh có thể lây nhiễm cho 3000 ấu trùng khỏe thông qua hoạt động chăm sóc ấu trùng của ong thợ (Ball and Bailey, 1991). Khi mắc bệnh nặng, đàn ong có thể bị mất thế đàn, bốc bay và tan rã sớm hơn so với các bệnh khác do ấu trùng bị chết hàng loạt, không có ong non ra đời (Phùng Hữu Chính và Vũ Văn Luyện, 1999). Bệnh virus ấu trùng túi hiện nay gây tổn thất rất lớn cho không những trên các đàn ong nội mà còn các đàn ong ngoại (Phùng Hữu Chính, 2008; Thai et al., 2011).

Sacbrood virus gây chết ấu trùng của ong thợ đã được công bố (Ball and Bailey, 1991), làm thay đổi cấu trúc tuyến hàm (Zhilan & Zongbing, 1985). Tuy nhiên rất ít báo cáo khoa học về tác động đến trưởng thành. Do đó chúng tôi tiến hành đề tài: **“Ảnh hưởng của virus ấu trùng túi (Sacbrood virus) lên tuổi thọ và một số tập tính của ong mật”**. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của virus lên ong thợ làm cơ sở cho việc nâng cao sức khỏe đàn ong để phòng chống bệnh ấu trùng túi trên ong mật.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

* Chuẩn bị đàn ong thí nghiệm: Chọn 12 đàn ong khỏe (6 đàn ong nội *Apis cerana*, 6 đàn ong ngoại *Apis mellifera*), đồng đều về

số lượng (3cầu) được đặt trong thùng ong có mặt kính. Các đàn ong này do Trung tâm nghiên cứu ong và nuôi ong nhiệt đới cung cấp. Đàn ong thí nghiệm được chăm sóc theo quy trình nuôi ong của Trung tâm nghiên cứu ong và nuôi ong nhiệt đới.

* Lây bệnh nhân tạo để có các đàn ong bệnh (3 đàn ong nội *Apis cerana*, 3 đàn ong ngoại *Apis mellifera*): Lấy mẫu bệnh phẩm phun lên các đàn ong để lây bệnh. Khi đàn ong đã nhiễm bệnh, tiến hành thả ong đánh dấu vào, đồng thời cũng thả vào các đàn khỏe (3 đàn ong nội *Apis cerana*, 3 đàn ong ngoại *Apis mellifera*) làm đối chứng. Các đàn khỏe được đặt tại 1 địa điểm cách li với đàn bệnh khoảng 10km (khoa Nông học và phường Bạch Đằng, quận Hai Bà Trưng, TP Hà Nội).

* Cánh đánh dấu và giới thiệu ong non vào các đàn ong:

Chọn 1 cầu có nhộng già sắp nở, loại bỏ ong thợ rồi cho cầu vào buồng sinh thái (nhiệt độ 35°C, ẩm độ 80%), lấy toàn bộ ong non (mới nở trong vòng 24h) ra để đánh dấu:

- Sử dụng sơn đánh dấu vào phần lưng ngực của ong. Chú ý: không để dây sơn vào cánh và mắt ong, hạn chế tối đa việc gây tổn thương cho ong non, dùng các màu khác nhau cho các ngày khác nhau.

- Chờ khoảng 30' cho sơn bay bớt mùi (ong là loài côn trùng rất nhạy cảm với hóa chất nên có thể sẽ bị kích động vì mùi sơn quá nồng), tiến hành đem giới thiệu ong non vào các đàn ong bằng cách thả toàn bộ số ong thợ trên lên mặt cầu và xà cầu (150 – 200 ong đánh dấu/ đàn).

* Quan sát và ghi nhận số lượng ong đã được đánh dấu theo thời gian hàng ngày vào một số giờ nhất định (9h sáng và 4h chiều) tại các vị trí khác nhau trong đàn ong

mà ở đó thể hiện các tập tính của ong thợ (khu vực mật: ong luyện mật; khu vực ấu trùng: ong nuôi dưỡng; khu vực cửa tổ: ong đi lấy phấn lấy mật; tuổi thọ được đánh giá từ khi thả cho đến khi o con trong tổ).

* Toàn bộ số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm MiniTab 16.

Bảng 01: Tuổi thọ của ong thợ ở đàn ong khỏe và bị bệnh ấu trùng túi

	<i>Apis cerana</i>		<i>Apis mellifera</i>	
	Khỏe	Bệnh	Khỏe	Bệnh
Tuổi thọ cao nhất (ngày)	54	47	72	31
Ngày ong bắt đầu giảm số lượng (ngày)	15	13	44	12
Tuổi thọ trung bình (ngày)	31,47 ± 1,29	24,64 ± 0.94***	53,98 ± 0.46	21,00 ± 0.28***

Ghi chú: “***” là mức sai khác có ý nghĩa $P < 0,0001$

Tại bảng 1 cho thấy rằng ong thợ trong các đàn bệnh có tuổi thọ ngắn hơn ong thợ trong các đàn khỏe. Ở *Apis cerana*, tuổi thọ trung bình của ong thợ trong các đàn khỏe là 31,47 ngày tuổi, trong khi ong thợ ở các đàn bệnh chỉ có tuổi thọ trung bình là 24,64. Ở *Apis mellifera*, tuổi thọ trung bình của ong thợ trong các đàn khỏe là 53,98 còn ong thợ ở các đàn bệnh chỉ có tuổi thọ trung bình là 21,00, ngắn hơn rất nhiều so với các đàn khỏe.

Nguyên nhân của việc tuổi thọ ong thợ ở các đàn bệnh bị rút ngắn là do chúng phải làm việc quá nhiều. Việc này thể hiện ở hoạt động của ong thợ ở các khu vực ấu trùng, mật, phấn và hoạt động nghỉ ngơi, bay ra ngoài tổ.

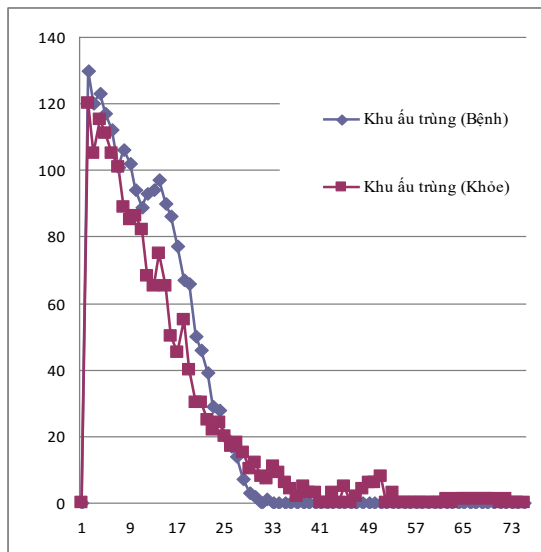
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của Vi rút ấu trùng túi lên tuổi thọ ong thợ

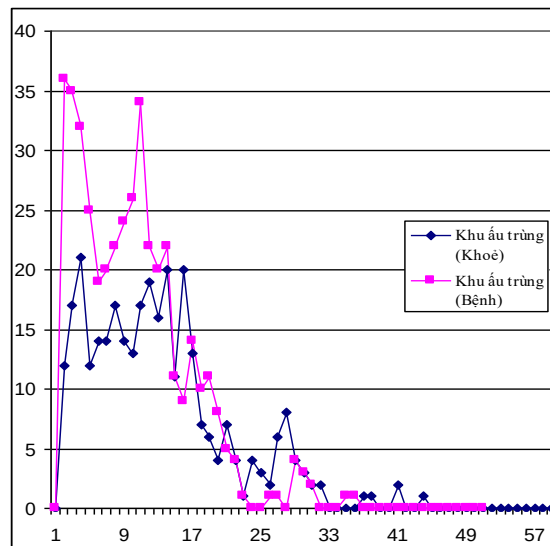
Sau thời gian theo dõi thí nghiệm đàn ong nội *Apis cerana* và đàn ong ngoại *Apis mellifera* cho kết quả được trình bày tại bảng 1.

3.2. Hoạt động ở khu ấu trùng

Hoạt động chủ yếu của ong thợ ở khu ấu trùng là chăm sóc ấu trùng và dọn vệ sinh. Sự khác biệt về tập tính giữa ong thợ ở đàn bị nhiễm virus ấu trùng túi với ong thợ ở đàn khỏe là chúng phải làm việc ở khu vực này nhiều hơn do phải dọn ấu trùng bị chết. Ong thợ ở đàn bị bệnh tập trung làm việc ở khu vực ấu trùng với số lượng nhiều hơn ong thợ ở đàn khỏe. Ở *Apis cerana*, tuổi thọ trung bình của ong thợ làm việc ở khu vực này ở đàn bệnh là 23.51 còn ở đàn khỏe là 20.81; ở *Apis mellifera*, tuổi thọ trung bình của ong thợ làm việc ở khu vực ấu trùng của đàn bệnh là 11.29 trong khi ở đàn khỏe là 12.80.



Hình 01: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis mellifera* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu ấu trùng)

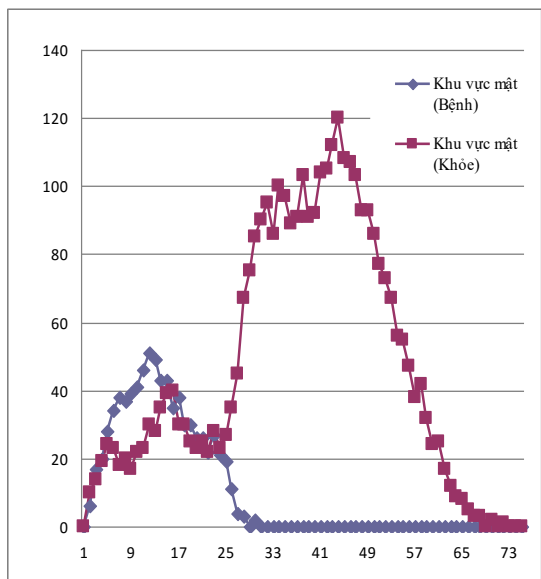


Hình 02: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis cerana* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu ấu trùng)

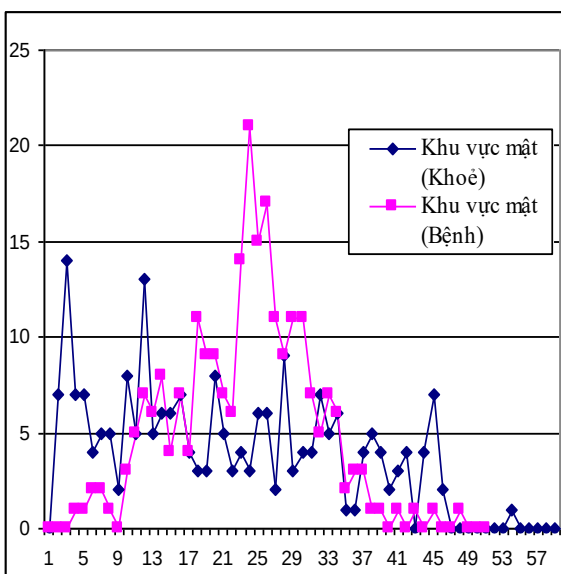
3.3. Hoạt động ở khu vực mật

Sự quan sát ở khu vực mật chỉ chỉ ra

rằng có ong làm việc ở khu vực này nhưng không thể chỉ ra chúng làm việc gì.



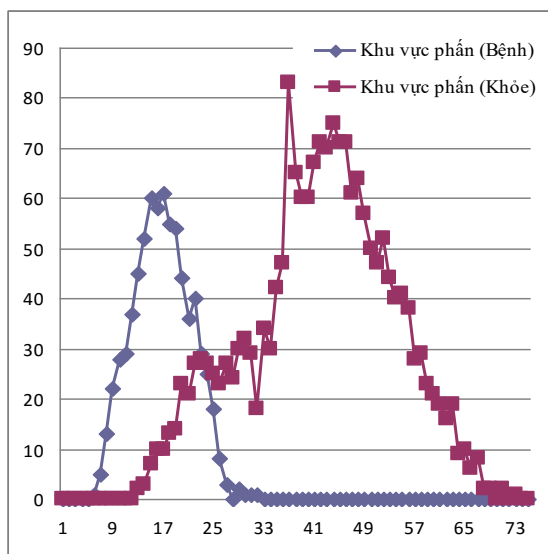
Hình 03: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis mellifera* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu vực mật)



Hình 04: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis cerana* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu vực mật)

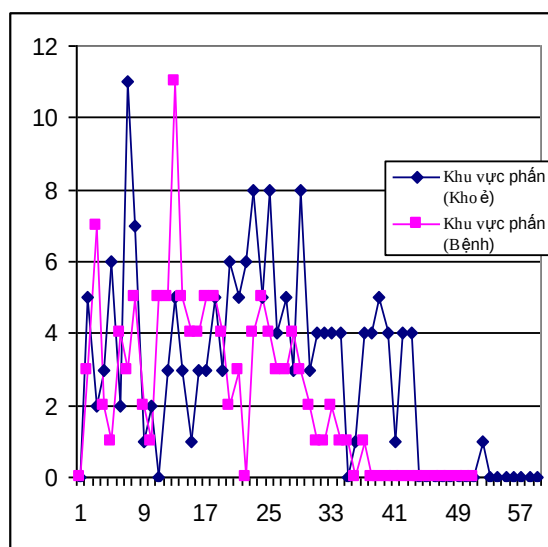
3.4. Hoạt động ở khu vực phần

Hoạt động của ong thợ ở đàn bị nhiễm bệnh virus ấu trùng túi với ong thợ ở đàn



Hình 05: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis mellifera* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu vực phần)

khỏe ở khu vực phần không có nhiều sự khác nhau.

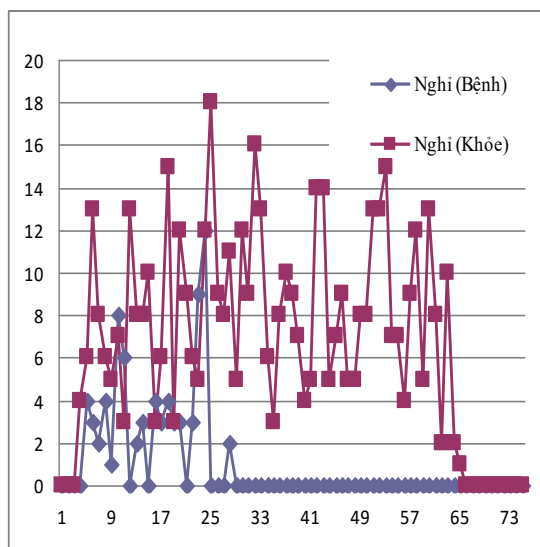


Hình 06: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis cerana* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Khu vực phần)

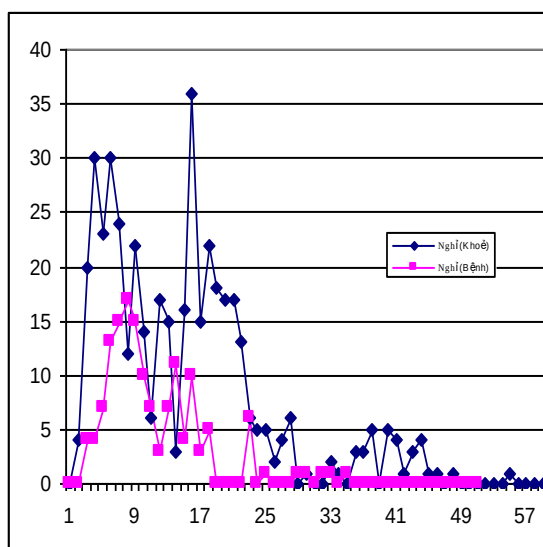
3.5. Hoạt động nghỉ ngơi

Nghỉ ngơi là hoạt động mà qua đó ta có thể biết được lượng công việc mà ong thợ phải làm nhiều hay ít. Số lượng ong thợ ở đàn bị nhiễm bệnh virus ấu trùng túi so với

số lượng ong thợ ở đàn khỏe nghỉ ngơi quan sát được rất khác nhau. Ong thợ ở đàn khỏe nghỉ ngơi nhiều hơn so với đàn bị nhiễm bệnh virus ấu trùng túi ở cả *Apis cerana* và *Apis mellifera*.



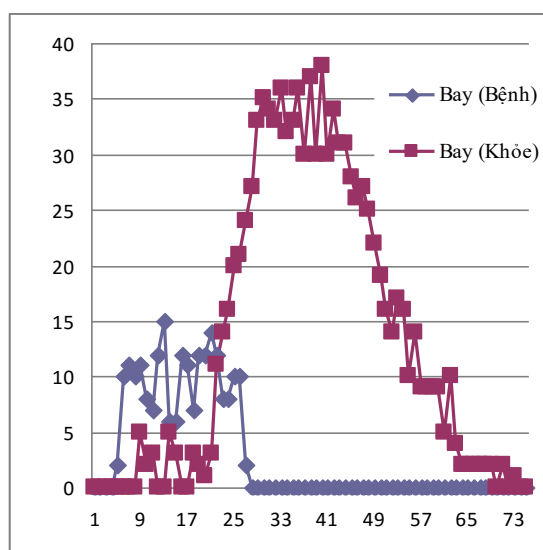
Hình 07: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis mellifera* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Nghỉ ngơi)



Hình 08: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis cerana* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Nghỉ ngơi)

3.6. Hoạt động bay

Hoạt động bay bao gồm cả tập bay, bay định hướng và bay làm việc. Số lượng ong thợ của đàn khỏe bay ra ngoài nhiều hơn hẳn so với đàn nhiễm bệnh virus ấu trùng túi. Số liệu quan sát được về hoạt động bay ra khỏi tổ của ong thợ bao gồm các công việc như bay định hướng, tìm kiếm nguồn phấn hoa, lấy phấn hoa, lấy nước... Số lượng ong thợ

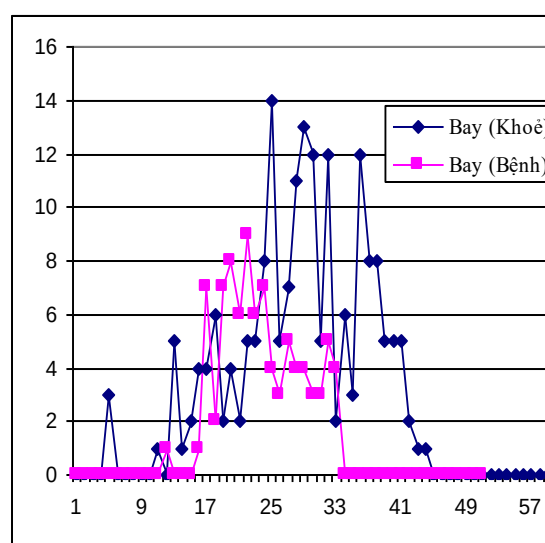


Hình 09: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis mellifera* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Bay)

3.2. Thảo luận

Tuổi thọ của ong thợ là một tính trạng kiểu hình vô cùng quan trọng không chỉ đối với đàn ong mà còn đối với người nuôi ong. Nó liên quan trực tiếp đến thể đàn và năng suất sản phẩm chúng đem lại. Sự tương quan giữa các yếu tố sinh lý và giải phẫu, cùng với các cơ chế di truyền về tuổi thọ đã được nghiên cứu sâu bởi Rockstein & Miquel (1973), Collatz & Sohal (1986). Winston (1987) cũng cho rằng sau khi vũ hóa, tuổi thọ của ong thợ có thể kéo dài chỉ vài ngày cho tới gần 1 năm, phụ thuộc chủ yếu vào các yếu tố thời tiết, nguồn thức ăn, các hoạt động trong vòng đời của chúng và yếu tố di truyền.

ở các đàn khỏe mạnh thường bay ra ngoài nhiều hơn so với đàn bệnh. Ở ong *Apis mellifera*, do thể đàn yếu hơn ở ong *Apis cerana* nên ong thợ ở đàn bệnh bắt đầu bay ra ngoài từ ngày tuổi thứ 3-4 còn ong thợ ở đàn khỏe bắt đầu bay lần đầu ở ngày tuổi 8-9; điều này chỉ ra rằng ong thợ ở đàn bị bệnh phải làm việc nặng nhọc hơn, cụ thể là bay ra ngoài sớm hơn.



Hình 10: Diễn biến số lượng ong thợ *Apis cerana* ở đàn khỏe và đàn bệnh (Bay)

Khi nghiên cứu về vi rút ấu trùng túi Ball & Bailey (1981) đã ghi nhận sự suy giảm tuổi thọ của ong thợ và một số tập tính của chúng cũng bị thay đổi.

Kết quả nghiên cứu trong bài này không phải để kiểm chứng các cơ chế trên mà đã kiểm tra thấy được sự ảnh hưởng của virus ấu trùng túi lên tuổi thọ của ong thợ *A. cerana* và *A. mellifera*. Bệnh ấu trùng túi gây chết ấu trùng nhưng tại sao sự quan sát lại chỉ ra rằng ong thợ của những đàn bị nhiễm vi rút lại có tuổi thọ ngắn hơn so với bình thường. Giả thiết được đưa ra là “Ong thợ trong các đàn bị nhiễm bệnh virus ấu trùng túi có tuổi thọ ngắn hơn bình thường do

chúng phải làm việc cật lực hơn để thu dọn các lỗ tổ chứa ấu trùng chết”. Sự làm việc nhiều hơn này gây ra trạng thái căng thẳng và dẫn đến giảm thọ. Các số liệu thu được từ nghiên cứu cũng cho thấy ong thợ ở đàn bị nhiễm bệnh virus ấu trùng túi được nghỉ ngơi ít hơn so với đàn ong khỏe.

Một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của các hoạt động trong vòng đời ong thợ lên tuổi thọ của chúng cũng cho thấy những con ong phải làm việc nhiều có tuổi thọ ngắn hơn so với những con ong làm việc ít. Cụ thể là, Hemped & Wolf (1988) đã chỉ ra mối tương quan đối nghịch giữa tuổi thọ của ong thợ và số lượt bay của chúng cũng như thời gian rời tổ tương ứng. Họ cũng đã tìm ra mối tương quan cùng chiều giữa thời gian nghỉ ngơi trong tổ của ong thợ với tuổi thọ của chúng.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các đàn ong khỏe và bệnh tuy được cách ly nhau nhưng chúng đều được đặt trong điều kiện sống giống nhau về thời tiết cũng như nguồn thức ăn... sao cho sự đối chứng giữa các đàn khỏe và bệnh được đảm bảo khách quan nhất. Ở các đàn bệnh, ấu trùng bị chết hàng loạt, ong thợ phải liên tục vớt xác ấu trùng chết ra ngoài, dọn vệ sinh lỗ tổ dẫn đến thay đổi tập tính, biểu hiện bất bình thường trong một số hoạt động như bay định hướng, lấy phấn, dọn vệ sinh, luyện mật... và hoàn toàn phù hợp với công bố của Bailey & Ball (1991), Ball & Bailey (1997), Ball (2000), Abeil (2008).

4. KẾT LUẬN

- Tuổi thọ của ong thợ ở đàn ong bị nhiễm virus ấu trùng túi ngắn hơn đàn ong khỏe.

- Virus ấu trùng túi có tác động làm thay đổi tập tính của ong thợ: ở đàn bệnh ít được nghỉ ngơi hơn ở các đàn bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abeil L. 2008. Sacbrood. *The Honeybee. A Handbook to Diseases, Pests and Other Enemies*: 313 – 322.
- Ball B. V.. 2000. An introduction to viruses and techniques for their identification and characterization. *CIHEAM – Options Mediterraneennes*: 69 – 80.
- Ball B. V.. 2000. Sacbrood. *CIHEAM – Options Mediterraneennes*: 91 – 97.
- Bailey. L., Ball, B.V. 1991. Honey Bee Pathology. *Academic Press*.
- Ball, B., Bailey, L. 1997. Viruses. *Honey Bee Pests, Predators and Diseases Third Edition*.
- Crane E. (1990), “Part I: the bees used in beekeeping, and background information”, *Bees and Beekeeping*, Heinemann Newnes, pp. 2-117
- Nicholas Calderone. 2001. Management of Honey Bee Brood Diseases. *The Bee-Files*.
- Paul Schmid-Hempel and Thomas Wolf. 1988. Foraging effort and life span of workers in a social insect. *Journal of Animal Ecology* 57: 500 – 521.
- Phùng Hữu Chính và Vũ Văn Luyện. 1999. *Kỹ thuật nuôi ong nội địa Apis cerana ở Việt Nam*.
- Phùng Hữu Chính. 2008. Một số bệnh và ký sinh trùng hại ong mật ở Việt Nam và một số biện pháp phòng trừ”, *Tạp chí Khoa học và Kỹ thuật Ngành ong*, số 3/2008, tr 2-5.

- Trend B. 2007. Note 247: Sacbrood disease of bees. *Replaces Farm note 57/98*.
- Winston M. L.. 1987. *The biology of the Honey bee*: 64 – 65
- Zhilan D. and Zongbing Z. 1985. Ultra structural Change in the Hypopharyngeal Glands of Worker Honey Bee (*Apis cerana*) infected with Sacbrood virus. *Zoological Research Vol.6, No.2*: 158 – 161.

NGHIÊN CỨU TƯƠNG QUAN TRÊN TOÀN BỘ HỆ GEN VỀ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN CỦA CÂY LÚA Ở GIAI ĐOẠN MẠ TRONG ĐIỀU KIỆN MẶN NHÂN TẠO TRONG NHÀ LƯỚI

Phan Thị Hồng Nhung^{1,2}, Phạm Văn Cường², Pierre Bertin¹

¹ Earth and Life Institute, Université catholique de Louvain, 1348 Louvain la Neuve, Belgium

² Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Gia Lâm, Hà Nội

Tác giả liên hệ: Phan Thị Hồng Nhung (phanhung@vnua.edu.vn)

TÓM TẮT

Xâm nhập mặn đe dọa diện tích và năng suất lúa ở nhiều nước trên thế giới. Vì vậy, nghiên cứu về việc chọn tạo giống lúa chịu mặn mới là rất cần thiết. Chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng chịu mặn (SES) của 1.332 giống lúa ở điều kiện mặn nhân tạo 60 mM NaCl ở giai đoạn mạ. Nghiên cứu tương quan trên toàn bộ hệ gen (GWAS – genome-wide association study) về SES của 1.332 giống và của các loài phụ (gồm 767 giống thuộc *indica*, 375 giống *japonica*, 104 giống *aus*, và 38 giống *aromatic*) được tiến hành bằng phần mềm FaST-LMM. Các SNPs vượt qua ngưỡng ý nghĩa ($p < 0,0001$) và ở gần nhau trên cùng một nhiễm sắc thể (khoảng cách các SNPs nhỏ hơn ngưỡng LD) được coi là một QTL. Kết quả chúng tôi xác định được 12 QTL liên quan đến tính trạng SES được xác định ở các quần thể khác nhau, trong đó có 2 QTL ở quần thể tổng (1.332 giống), 3 QTL ở quần thể *indica*, 7 QTL ở quần thể *japonica*, 1 QTL ở quần thể *aus*, và không có QTL được xác định ở quần thể *aromatic*. Trong số đó, có 3 QTL ở các vùng có các QTL liên quan đến khả năng chịu mặn được công bố trước đây gồm 1 QTL ở NST số 4 (23,21 Mb), 1 QTL ở NST số 5 (28,41 Mb), và 1 QTL ở NST số 12 (24,22 Mb). 3 QTL này ở vùng có mang gen điều khiển khả năng chịu mặn của cây lúa như gen *OsBADH1*, *OsRan2*, và gen *ZFP252*. Những QTL còn lại là các QTL mới được xác định ở các quần thể trong nghiên cứu này. Điều này sẽ cung cấp thông tin hữu ích trong nghiên cứu và chọn tạo giống lúa chịu mặn về sau.

Từ khóa: GWAS, chịu mặn, lúa, QTL, FaST-LMM

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY ON SALT TOLERANCE IN RICE AT SEEDLING STAGE IN GREENHOUSE

ABSTRACT

Salt threatens rice cultivation in many countries. Hence, breeding new varieties with high salt tolerance is important. 1,332 rice accessions from 3K Rice Genome Project were selected to evaluate salt tolerance via the standard evaluation score (SES) in hydroponics under 60 mM NaCl at the seedling stage. The GWAS in the different panels were analyzed by using a Factored Spectrally Transformed Linear Mixed Model (FaST-LMM) by FaST-LLM software. A total of 12 QTLs associated with SES trait in different panels were identified by GWAS.

Among them, three QTLs previously reported as related to salt tolerance were found: one QTL in chromosome 4 (peak position at 23.21 Mb), one QTL in chromosome 5 (peak position at 28.41 Mb), and 1 QTL in chromosome 12 (peak position at 24.22 Mb). They were mapped in intervals containing *OsBADH1*, *OsRan2*, and *ZFP252* gene previously reported regulating salt tolerance, whereas the others were novel QTLs. The identified QTLs, including well-known genes and novel QTLs, would provide useful genetic information for future genetic improvement of salt tolerance in rice.

Keywords: GWAS, salt tolerance, rice, QTL, FaST-LMM

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là cây lương thực quan trọng cho hơn một nửa dân số trên thế giới. Tuy nhiên, diện tích trồng và năng suất lúa đang bị suy giảm nghiêm trọng do xâm nhập mặn, nhất là ở các nước Nam và Đông Nam Á (FAO 2012; Smajgl et al. 2015; Heffer and Prud'homme 2017; Eckstein et al. 2018). Trong khi đó, lúa được coi là cây trồng miễn cảm với mặn, ngưỡng chịu mặn của cây là 3 dS m⁻¹ (Grattan et al. 2002). Các giai đoạn sinh trưởng khác nhau cũng có khả năng chịu mặn khác nhau, trong đó giai đoạn nảy mầm (nảy mầm đến mạ) là giai đoạn miễn cảm nhất với mặn (Lutts et al. 1996; Munns and Tester 2008).

Khả năng chịu mặn của lúa là một tính trạng số lượng và được điều khiển bởi nhiều gen (Munns 2005; Munns and Tester 2008; Shi et al. 2017; Naveed et al. 2018; Liu et al. 2019). Những thập kỉ gần đây, các nghiên cứu về đặc điểm di truyền liên quan đến khả năng chịu mặn của lúa được tập trung nghiên cứu. Tuy nhiên, các nghiên cứu này được tiến hành chủ yếu trên các quần thể lai từ các cặp bố mẹ (Koyama et al. 2001; Sabouri and Sabouri 2008; Alam et al. 2011; Kanawapee et al. 2011; Reddy et al. 2017). Phương pháp này có ưu điểm về mặt thống kê vì sử dụng các cá thể đã có kiểu gen được xác định ở một locus nhất định. Tuy nhiên, phương

pháp này có hạn chế về mức độ phân giải nên khoảng tin cậy của các locus tính trạng số lượng (QTL) lớn. Những năm gần đây, nghiên cứu tương quan trên toàn hệ gen (genome-wide association study - GWAS) được tiến hành và xác định được nhiều QTL/QTN hoặc các gen liên kết với nhiều tính trạng. Ưu việt của GWAS là mức độ phân giải cao do sự kết hợp đa dạng, tự nhiên, và lâu đời giữa các cá thể trong quần thể phân tích. Nhiều QTL/gen liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa đã được xác định bằng phương pháp này (Shi et al. 2017; Naveed et al. 2018; Batayeva et al. 2018; Liu et al. 2019).

Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây phần lớn tập trung vào khả năng chịu mặn của cây lúa ở nồng độ mặn cao, trong khi độ mặn trên đồng ruộng trồng lúa chỉ ở mức trung bình. Hơn nữa, các nghiên cứu trước về GWAS cũng chỉ tiến hành trên một quần thể có số lượng cá thể không quá lớn, chưa có nghiên cứu trên một quần thể lớn trên 1.000 cá thể. Do đó, nghiên cứu này của chúng tôi được tiến hành nhằm xác định các QTL liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa ở điều kiện nhiễm mặn trung bình ở giai đoạn đẻ nhánh trên 1.332 cá thể thuộc các loài phụ khác nhau.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 1.332 giống lúa được thu thập từ 68 nước, được lưu giữ ở Viện Nghiên cứu lúa thế giới, thuộc dự án giải trình tự 3.000 gen lúa trồng. Quần thể này gồm 767 giống thuộc loài phụ *indica*, 375 giống *japonica*, 104 giống *aus*, 38 giống *aromatic*, và 48 giống admixed (nhóm trung gian lai giữa các loài phụ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

+ Thí nghiệm thủy canh được tiến hành ở nhà lưới thuộc Đại học Công giáo Louvain, Vương quốc Bỉ, từ tháng 11 đến tháng 12 năm 2019. Điều kiện thí nghiệm trong nhà lưới được cài đặt ở mức 30°C/25°C ngày/đêm, độ ẩm 85%-95%, 16 giờ chiếu sáng trên ngày, và cường độ ánh sáng 250-

300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD ở phía mặt trên của chậu. Hạt giống được gieo trực tiếp vào các lỗ trên khay được đặt nổi trên chậu có chứa dung dịch Yoshida có bổ sung lượng muối NaCl ở nồng độ 60 mM. Mỗi khay gồm 360 lỗ, mỗi lỗ được gieo 3 hạt rồi sau đó chỉ giữ lại 1 cây/lỗ (sau 5-6 ngày). Tổng số khay thí nghiệm là 4 khay. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp thiết kế bổ sung khối ngẫu nhiên (augmented RCBD, Federer and Raghavarao, 1975, Nguyễn Đình Hiền, 2014), sử dụng 18 giống kiểm tra được lặp lại ở mỗi khay. Các chậu được thay mới dung dịch sau khi gieo 7 và 10 ngày, và được luân chuyển vị trí hai lần/tuần. Sau 2 tuần, tất cả cây mạ ở các chậu được đánh giá chỉ số chịu mặn dựa trên thang điểm SES (Standard Evaluation System, IRRI, 2013) như bảng 1 dưới đây.

Bảng 1 Đánh giá khả năng chịu mặn dựa vào thang điểm SES theo IRRI (2013)

Điểm	Triệu chứng	Xếp loại
1	Sinh trưởng bình thường, không có triệu chứng ở lá	Chịu mặn tốt
3	Sinh trưởng gần như bình thường nhưng đầu lá hoặc một ít lá có màu trắng hoặc bị cuộn lại	Chịu mặn
5	Sinh trưởng bị giảm mạnh, hầu hết các lá bị cuộn lại, chỉ có một ít lá có thể dài ra	Chịu mặn trung bình
7	Sinh trưởng bị ngừng, hầu hết các lá bị khô, một số cây bị chết	Nhiễm mặn
9	Đa số cây bị chết	Nhiễm mặn cao

+ Sự mất cân bằng liên kết (Linkage disequilibrium decay – LD): LD của 5 quần thể gồm quần thể tổng, *indica*, *japonica*, *aus*, và *aromatic* được tính toán dựa trên 20% tổng số SNPs. Chúng tôi tính toán r^2 và dự đoán LD bằng phần mềm PLINK 1.9 (Purcell et al. 2007). Cấu trúc được sử dụng là “--r2 --ld-window-kb 1000 --ld-window 9999 --ld-window-r2 0”. Các cặp chỉ thị nhóm theo nhóm 1 kb và tính trung bình của mỗi nhóm, Giá trị tỉ lệ LD được xác định ở vị trí giá trị trung bình của r^2 giảm xuống một

nửa so với giá trị tối đa của r^2 (Huang et al. 2010; Shi et al. 2017).

+ Tính tương quan trên toàn bộ hệ gen (GWAS – genome-wide association study): Tổng số 1,011,601 GWAS SNPs được tải về từ kho dữ liệu Rice SNP-Seek (<https://snp-seek.irri.org>, (Mansueto et al. 2016)). 588.792 SNPs có tần suất allele hiếm > 5% và tỉ lệ thiếu < 5% được giữ lại để phân tích. Sau đó, chúng tôi lựa chọn ngẫu nhiên 40% tổng số SNPs và thu được 235.210 SNPs.

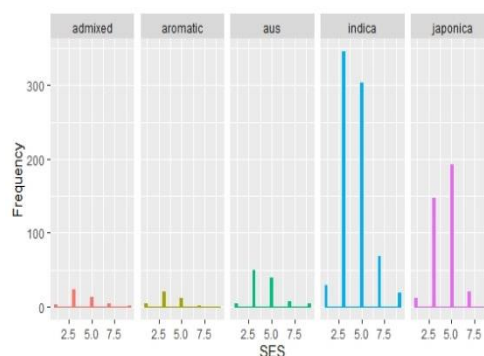
GWAS was được phân tích bằng phần mềm FaST-LMM (Factored Spectrally Transformed Linear Mixed Model, Lippert *et al.* 2011). Trong đó, chúng tôi lựa chọn ngẫu nhiên 1% tổng số SNPs để tính toán sự tương đồng về đặc điểm di truyền giữa các giống. Phân tích thành phần chính (PCA - Principal components analysis) của 588,792 SNPs được tiến hành bằng phần mềm PLINK 1.9 (Purcell *et al.* 2007). Sau đó, các giá trị riêng (eigenvalue) của ba thành phần

chính đầu tiên được lựa chọn và sử dụng như các giá trị hiệp biến (covariate data). Giá trị giới hạn có ý nghĩa (significant threshold) được xác định $p < 0.0001$ ($-\log_{10} p > 4$). Khi các SNPs vượt trên giá trị giới hạn này và cùng nằm trong vùng có khoảng cách nhỏ hơn giá trị LD thì được coi là 1 QTL. SNP có giá trị p nhỏ nhất được gọi là vị trí đỉnh của QTL. Biểu đồ Manhattan và Q-Q được vẽ dựa trên kết quả GWAS bằng phần mềm R 3.4.2, gói “GAPIT” (Zhang *et al.* 2010).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự đa dạng về kiểu hình

Các giống lúa trong thí nghiệm có khả năng chịu mặn khác nhau. Ở mức mặn trung bình 60 mM NaCl như trong thí nghiệm, đa số các giống có khả năng chịu mặn ở điểm 3 (chịu mặn) và điểm 5 (chịu mặn trung bình) (Hình 1). Xét giá trị trung bình, nhóm *aromatic* có khả năng chịu mặn tốt nhất (điểm 3,47), tiếp theo là nhóm *admixed* (điểm 3,96), nhóm *aus* (điểm 4,19), 2 nhóm *japonica* và *indica* có khả năng chịu mặn tương đương nhau (điểm 4,22).



Hình 1 Tần suất xuất hiện kiểu hình (SES) của các giống lúa thí nghiệm

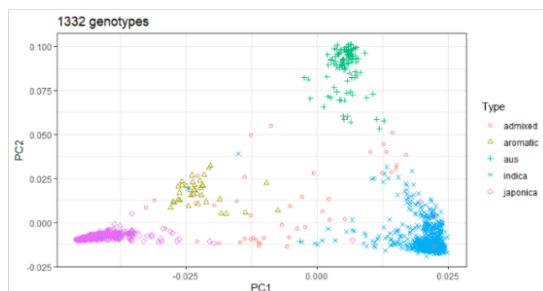
3.2. Phân tích thành phần chính và sự mất cân bằng liên kết của quần thể

Kết quả phân tích thành phần chính (PCA) của quần thể 1.332 giống lúa cho thấy ba thành phần chính đầu tiên PC1, PC2, và PC3 giải thích 43,0%, 17,3%, và 7,4% sự biến động của quần thể, trong khi các thành phần còn lại chỉ giải thích ít hơn 5% sự biến động này. Biểu đồ hai thành phần chính PC1 và PC2 ở Hình 3 cho thấy có 3 cụm giống được hình thành và có đặc tính di truyền học khác nhau là cụm giống *indica*, cụm giống *japonica*, và cụm giống *aus*. Các giống thuộc *aromatic* có đặc điểm di truyền học gần với các giống *japonica*, còn các giống thuộc

nhóm trung gian *admixed* có đặc điểm di truyền học không cố định, phân bố trên toàn biểu đồ. Kết quả này cho thấy khi nghiên cứu sự tương quan trên toàn hệ gen của quần thể 1.332 giống này cần lưu ý đến cấu trúc của quần thể, và ở đây là sử dụng kết quả phân tích thành phần chính như các giá trị hiệp biến.

Kết quả phân tích tỉ lệ mất cân bằng liên kết (LD decay rate) của các quần thể giống lúa cũng cho thấy có sự khác biệt giữa các loài phụ và nhóm giống (Hình 3). Các giống thuộc *indica* có sự mất cân bằng liên kết nhanh nhất (114 kb), sau đó đến các giống thuộc *aus* (200 kb), các giống thuộc

japonica (355 kb), và cuối cùng là các giống thuộc *aromatic* (374 kb). Xét về quần thể tổng 1.332 giống, tỉ lệ mất cân bằng liên kết là 290 kb. Do đó, khi tìm vùng QTL, cần căn

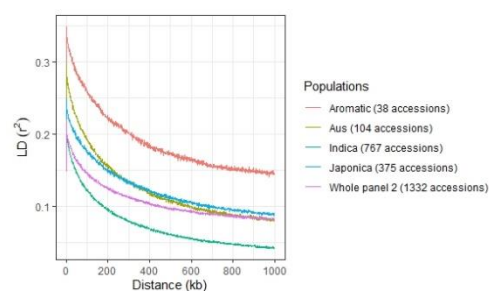


Hình 2 Biểu đồ phân tích thành phần chính (PCA) của hai thành phần PC1 và PC2 của các quần thể lúa thí nghiệm dựa trên phân tích 588.792 SNPs

3.3. Phân tích tương quan trên toàn hệ gen về khả năng chịu mặn

Phân tích tương quan trên toàn hệ gen về khả năng chịu mặn của các quần thể lúa với 235.210 SNPs để phân tích, 59.000 SNPs để tính toán sự tương đồng về mặt di truyền, và 3 thành phần chính đã xác định được các QTL liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ (Hình 4). Kết quả về biểu đồ Q-Q ở Hình 5 cho thấy mô hình sử dụng ở phần mềm FaST-LMM là phù hợp với các dữ liệu ở trong bài, và phù hợp với kết quả ở biểu đồ Manhattan. Khi đặt ngưỡng tối thiểu có ý nghĩa $p < 0.0001$ ($-\log_{10}p > 4$), chúng tôi đã tìm ra các SNP triển vọng. Sau đó, kết hợp giữa các SNPs triển vọng trên cùng một nhiễm sắc thể (NST) và với giá trị LD của các quần thể, chúng tôi đã xác định được 12 QTL triển vọng ở Bảng 2. Trong số này, chỉ có duy nhất 1 QTL (ở NST số 1, vị trí đỉnh 41,18 Mb) được xác định ở cả 2 quần thể tổng và *indica*. 11 QTL còn lại chỉ được

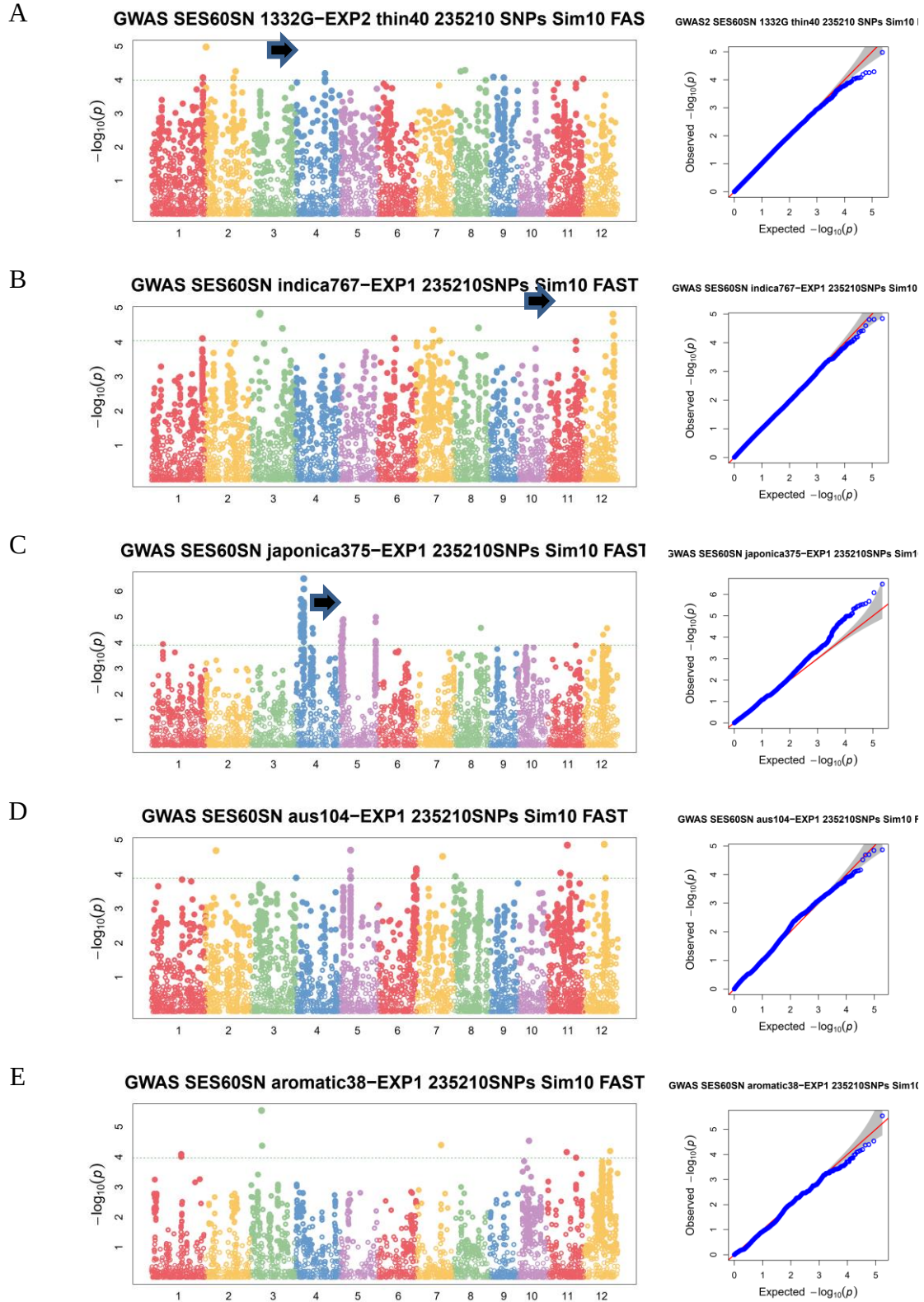
cứ vào giá trị đỉnh của QTL và tỉ lệ mất cân bằng liên kết của mỗi nhóm giống/loài phụ để xác định.



Hình 3 Biểu đồ phân tích sự mất cân bằng liên kết (LD decay) của các quần thể lúa thí nghiệm

xác định ở duy nhất một quần thể. Kết quả phân tích GWAS trên quần thể tổng xác định được 2 QTL, quần thể *indica* xác định được 3 QTL, quần thể *japonica* xác định được 7 QTL, và quần thể *aus* xác định được 1 QTL, trong khi quần thể *aromatic* không xác định được QTL nào.

Chúng tôi tìm kiếm các thông tin liên quan đến các QTL triển vọng này từ nguồn dữ liệu Q-TARO (Yamamoto et al. 2012) và MSU (Kawahara et al. 2013). Kết quả cho thấy 3 trên tổng số 12 QTL này thuộc những vùng đã được công bố là có liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa. *qSES60_4.4* (NST số 4, vị trí đỉnh 23,2 Mb) có chứa gen *OsBADH1*, *qSES60_5.4* (NST số 5, vị trí đỉnh 28,41 Mb) có chứa gen *OsRan2*, và *qSES60_12.3* (NST số 12, vị trí đỉnh 24,22 Mb) có chứa gen *ZFP252* điều khiển khả năng chịu mặn của cây lúa (Hasthanasombut et al. 2011).



Hình 4 Biểu đồ Manhattan và Q-Q của nghiên cứu tương quan toàn bộ hệ gen về khả năng chịu mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ của quần thể tổng 1.332 giống (A), quần thể indica (B), quần thể japonica (C), quần thể aus (D), và quần thể aromatic (E). Mũi tên chỉ vị trí QTL có mang gen chịu mặn được công bố trước đây

Bảng 2. Danh sách 12 QTL liên quan đến khả năng chịu mặn ở giai đoạn mạ được xác định từ các quần thể lúa thí nghiệm

QTL	NST	Vị trí đỉnh (Mb)	Tổng 1332G	Indica 767G	Japonica 375G	Aus 104G	Các gen/QTLs đã xác định
<i>qSES60_1</i>	1	41,18	8.50E-05	7.80E-05			
<i>qSES60_4.1</i>	4	3,96			2.07E-06		
<i>qSES60_4.2</i>	4	6,04			2.66E-06		
<i>qSES60_4.3</i>	4	6,31			8.28E-07		
<i>qSES60_4.4</i>	4	23,21	6.40E-05				<i>OsBADH1</i> , chịu mặn (Hasthanasombut et al. 2011)
<i>qSES60_5.1</i>	5	0,43			5.53E-05		
<i>qSES60_5.2</i>	5	1,76			1.44E-05		
<i>qSES60_5.3</i>	5	8,14				2.01E-05	
<i>qSES60_5.4</i>	5	28,41			1.02E-05		<i>OsRan2</i> , chịu mặn (Zang et al. 2010)
<i>qSES60_12.1</i>	12	15,67			4.89E-05		
<i>qSES60_12.2</i>	12	23,61		1.54E-05			
<i>qSES60_12.3</i>	12	24,22		6.51E-05			<i>ZFP252</i> , chịu mặn và chịu hạn (Xu et al. 2008)

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Nghiên cứu tương quan trên toàn bộ hệ gen của 1.332 giống và các loài phụ bằng phương pháp FaST-LMM, chúng tôi đã xác định được 12 QTL liên quan đến khả năng chịu mặn của lúa ở giai đoạn đẻ nhánh trong điều kiện mặn nhân tạo ở mức trung bình. Trong số đó, có 3 QTL ở vùng có QTL liên quan đến khả năng chịu mặn được công bố trước đó và 9 QTL mới được xác định. Điều này cung cấp thông tin hữu ích trong nghiên cứu và chọn tạo giống lúa liên quan đến khả năng chịu mặn. Tuy nhiên, để đảm bảo tính chính xác và tìm ra các giống mang gen quý, các QTL này cần được tập trung đánh giá, tìm ra các gen liên kết với tính trạng này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ một phần kinh phí bởi dự án Việt – Bỉ thuộc quỹ ARES-CCD.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alam R, Sazzadur Rahman M, Seraj ZI, et al (2011) Investigation of seedling-stage salinity tolerance QTLs using backcross lines derived from *Oryza sativa* L. Pokkali. *Plant Breed* 130:430–437
- Batayeva D, Labaco B, Ye C, et al (2018) Genome-wide association study of seedling stage salinity tolerance in temperate japonica rice germplasm. *BMC Genet* 19:2.

- <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0590-7>
- Eckstein D, Hutfils M-L, Winges M (2018) Global climate risk index 2019. Ger Bonn
- FAO (2012) FAOSTAT Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Accessed 18 Nov 2019
- Grattan SR, Zeng L, Shannon MC, Roberts SR (2002) Rice is more sensitive to salinity than previously thought. *Calif Agric* 56:189–198
- Hashtanasombut S, Paisarnwipatpong N, Triwitayakorn K, et al (2011) Expression of OsBADH1 gene in Indica rice (*Oryza sativa* L.) in correlation with salt, plasmolysis, temperature and light stresses. *Plant Omics* 4:
- Heffer P, Prud'homme M (2017) Fertilizer Outlook 2017–2021. In: Proceedings of the 85th IFA Annual Conference, Marrakech, Morocco. pp 22–24
- Huang X, Wei X, Sang T, et al (2010) Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. *Nat Genet* 42:961–967. <https://doi.org/10.1038/ng.695>
- IRRI (2013) Standard Evaluation System (SES) for Rice, 5th edn. IRRI Los Baños, Philippines, 1099 Manila, Philippines
- Kanawapee N, Sanitchon J, Srihaban P, Theerakulpisut P (2011) Genetic diversity analysis of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) differing in salinity tolerance based on RAPD and SSR markers. *Electron J Biotechnol* 14:1–
17. <https://doi.org/10.2225/vol14-issue6-fulltext-4>
- Kawahara Y, Bastide M, Hamilton J, et al (2013) Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* 6:. <https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-4>
- Koyama ML, Levesley A, Koeber RMD, et al (2001) Quantitative Trait Loci for Component Physiological Traits Determining Salt Tolerance in Rice. *Plant Physiol* 125:406 LP – 422. <https://doi.org/10.1104/pp.125.1.406>
- Lippert C, Listgarten J, Liu Y, et al (2011) FaST linear mixed models for genome-wide association studies. *Nat Methods* 8:833
- Liu C, Chen K, Zhao X, et al (2019) Identification of genes for salt tolerance and yield-related traits in rice plants grown hydroponically and under saline field conditions by genome-wide association study. *Rice* 12:88. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0349-z>
- Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J (1996) Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regul* 19:207–218. <https://doi.org/10.1007/BF00037793>
- Mansueto L, Fuentes RR, Borja FN, et al (2016) Rice SNP-seek database

- update: new SNPs, indels, and queries. *Nucleic Acids Res* 45:D1075–D1081. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1135>
- Munns R (2005) Genes and Salt Tolerance. *New Phytol* 167:645–663
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu Rev Plant Biol* 59:651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Naveed SA, Zhang F, Zhang J, et al (2018) Identification of QTN and candidate genes for Salinity Tolerance at the Germination and Seedling Stages in Rice by Genome-Wide Association Analyses. *Sci Rep* 8:6505. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24946-3>
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al (2007) PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am J Hum Genet* 81:559–575. <https://doi.org/https://doi.org/10.1086/519795>
- Reddy INBL, Kim BK, Yoon IS, et al (2017) Salt Tolerance in Rice: Focus on Mechanisms and Approaches. *Rice Sci* 24:123–144. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2016.09.004>
- Sabouri H, Sabouri A (2008) New evidence of QTLs attributed to salinity tolerance in rice. *African J Biotechnol* 7:4376–4383
- Shi Y, Gao L, Wu Z, et al (2017) Genome-wide association study of salt tolerance at the seed germination stage in rice. *BMC Plant Biol* 17:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1044-0>
- Smaigl A, Toan TQ, Nhan DK, et al (2015) Responding to rising sea levels in the Mekong Delta. *Nat Clim Chang* 5:167–174. <https://doi.org/10.1038/nclimate2469>
- Xu D-Q, Huang J, Guo S-Q, et al (2008) Overexpression of a TFIIIA-type zinc finger protein gene ZFP252 enhances drought and salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *FEBS Lett* 582:1037–1043. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.02.052>
- Yamamoto E, Yonemaru J, Yamamoto T, Yano M (2012) OGRO: The Overview of functionally characterized Genes in Rice online database. *Rice* 5:26
- Zang A, Xu X, Neill S, Cai W (2010) Overexpression of OsRAN2 in rice and Arabidopsis renders transgenic plants hypersensitive to salinity and osmotic stress. *J Exp Bot* 61:777–789. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp341>
- Zhang Z, Ersoz E, Lai C-Q, et al (2010) Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nat Genet* 42:355–360. <https://doi.org/10.1038/ng.546>

NGHỆ THUẬT KIẾN TẠO CẢNH QUAN PHỦ TUY LÝ VƯƠNG, THỪA THIÊN HUẾ, VIỆT NAM

Phạm Thị Bích Phương¹, 陈中义 Chen Zhongyi²

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

² Đại học Trường Giang, Hồ Bắc, Trung Quốc

*Tác giả liên hệ: Phạm Thị Bích Phương (ptbichphuong89@gmail.com)

TÓM TẮT

Phủ Tuy Lý Vương được xây dựng dưới triều Nguyễn (1802-1945), là công trình kiến trúc tiêu biểu cho nghệ thuật kiến tạo cảnh quan Việt Nam thế kỷ XIX. Với mục đích phân tích làm rõ giá trị nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ đệ dưới triều Nguyễn, nhóm nghiên cứu đã tiến hành điều tra nghiên cứu và phân tích tổng hợp nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương trên phương diện bố cục cảnh quan, thủ pháp xử lý không gian cảnh quan, kiến trúc cảnh quan và cây xanh cảnh quan. Kết quả nghiên cứu cho thấy nghệ thuật kiến tạo cảnh quan Phủ Tuy Lý Vương thể hiện rõ nét tính đặc trưng văn hóa của dân tộc Việt Nam trong triều đại nhà Nguyễn và thích nghi với điều kiện tự nhiên của địa phương. Ngoài ra, tư tưởng Nho giáo, Phật giáo và phong cách thiết kế vườn Pháp cũng ảnh hưởng tới nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương thông qua bố cục cảnh quan.

Từ khóa: Cảnh quan, Vườn tư gia, Vườn cảnh Việt Nam.

THE ART OF MAKING GARDEN OF TUY LY VUONG CLASSICAL PRIVATE GARDEN IN HUE, VIETNAM

ABSTRACT

Tuy Ly Vuong garden was built during the Nguyen dynasty (1802-1945), is a typical architectural work for the Vietnamese landscape construction art in the nineteenth century. With the purpose of analyzing and clarifying the value of the tectonic art of the tectonic landscape under the Nguyen dynasty, the research team has conducted research investigations and analyzed the art of landscape tectonic art of Tuy Ly Vuong garden in terms of landscape layout, methods to handle landscape space, landscape architecture and landscape greenery. The research results show that the landscape tectonic art of Phu Tuy Ly Vuong garden clearly shows the cultural characteristics of the Vietnamese nation during the Nguyen Dynasty and is adapted to the local natural conditions. In addition, Confucian thought, Buddhism and French garden design style also influenced the landscape tectonic art of Tuy Ly Vuong garden through landscape layout.

Key words: Landscape, Private garden, Vietnam garden.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kiến trúc cảnh quan là một lĩnh vực thuộc ngành khoa học cảnh quan, đang phát triển mạnh mẽ và đã gặt hái được những thành tựu nghiên cứu nhất định tại các nước phát triển trên thế giới. Bên cạnh sự phát triển của cảnh quan hiện đại, cảnh quan cổ điển mang giá trị đặc trưng văn hóa dân tộc và đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của ngành khoa học cảnh quan. Kiến trúc cảnh quan cổ điển được phân thành hai trường phái chính là cảnh quan cổ điển phương Đông (đại diện có vườn Trung Quốc và vườn Nhật Bản) và cảnh quan cổ điển phương Tây (đại diện có vườn Ý, vườn Pháp và vườn Anh) (Zhou, 2014). Những nghiên cứu trên cảnh quan cổ điển chủ yếu tập trung nghiên cứu bố cục cảnh quan, thủ pháp xử lý không gian cảnh quan, nghệ thuật kiến trúc, cây xanh, giá trị văn hóa nghệ thuật,... (Chen, 2013). Kiến trúc cảnh quan cổ điển Việt Nam được biết đến qua những nghiên cứu về nghệ thuật kiến tạo cảnh quan vườn cung đình Huế (Nguyen, 2013; Phan Thanh Hải, 2013), kinh thành Huế (Phan Thuận An, 2017), nhà vườn xứ Huế (Nguyễn Hữu Thông, 2008; Pham, 2019) và tác phẩm hồi ức về kinh thành Huế của Michel Đức Chaigneau (2016). Kết quả của những nghiên cứu trên chủ yếu đề cập đến khía cạnh lịch sử, văn hóa và kiến trúc cảnh quan. Với mục đích nghiên cứu làm rõ nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ đệ dưới triều Nguyễn, yêu cầu đặt ra là cần tập trung nghiên cứu một cách toàn diện. Ngoài việc phân tích những yếu tố nền tảng lịch sử, văn hóa – xã hội của quốc gia, cần tập trung nghiên cứu bố cục cảnh quan, thủ pháp xử lý không gian kiến trúc cảnh quan và cây xanh cảnh quan.

Vườn cảnh được phân chia thành ba loại chính là vườn hoàng gia, vườn tư gia và vườn tôn giáo. Trong đó, vườn tư gia chủ yếu tập trung xây dựng tại khu vực quanh hoàng cung nơi vua chúa cư trú, là nơi cư trú của tầng lớp quan lại, địa chủ, thương nhân giàu có (Luo et al., 2010). Dưới sự ảnh hưởng của các cuộc kháng chiến chống giặc giữ nước qua các thời kỳ, vườn tư gia Việt Nam đã bị tàn phá và thay đổi khá nhiều. Ngày nay, trong quần thể kiến trúc kinh đô Huế còn bảo tồn được một số nhà vườn tiêu biểu. Một trong số những nhà vườn đó là phủ Tuy Lý Vương, mang trong mình giá trị lịch sử văn hóa và văn học nghệ thuật đặc trưng của triều Nguyễn, được thể hiện rõ nét thông qua nghệ thuật kiến tạo cảnh quan khuôn viên phủ. Năm 1991, phủ Tuy Lý Vương đã được công nhận là di tích quốc gia và được bảo tồn cho đến nay.

Bất nhịp cùng với sự phát triển của ngành kiến trúc cảnh quan tại Việt Nam, đặc biệt trong lĩnh vực cảnh quan cổ điển, nhóm nghiên cứu đã tiến hành nghiên cứu ***“Nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương, Thừa Thiên Huế, Việt Nam”***. Kết quả của nghiên cứu này có những đóng góp nhất định cho sự phát triển chung của ngành kiến trúc cảnh quan, là cơ sở tài liệu tham khảo cho những nghiên cứu trong và ngoài nước.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là cảnh quan khuôn viên phủ Tuy Lý Vương Nguyễn Phúc Miên Trinh, tọa lạc tại số 140 đường Nguyễn Sinh Cung, thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều tra thực địa: sử dụng thiết bị chuyên dụng như thước đo chiều dài, chiều cao, máy định vị vị trí tiến hành đo đạc chính xác kích thước khuôn viên và các hạng mục kiến trúc cảnh quan trong phủ Tuy Lý Vương như nhà chính, cổng tam quan, bình phong, giao thông chính, vườn quả,...

Phương pháp điều tra phỏng vấn: tiến hành điều tra phỏng vấn cán bộ Sở văn hóa và thể thao tỉnh Thừa Thiên Huế - ông Trần Văn Dũng và người chủ tự phủ Tuy Lý Vương - ông Nguyễn Phước Vĩnh Phú. Thu thập thông tin sơ cấp và thứ cấp liên quan đến Tuy Lý Vương và quá trình xây dựng và biến đổi của khuôn viên phủ đệ.

Phương pháp nghiên cứu tài liệu: thông qua việc thu thập tài liệu thứ cấp, tiến hành phân tích đánh giá và tổng hợp những tài liệu trong và ngoài nước trong phạm vi nghiên cứu của đề tài.

Phương pháp xác định tên loài thực vật: thông qua việc điều tra hiện trạng cây xanh trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương, tiến hành xác định chính xác tên khoa học của các loài thực vật dựa theo hệ thống phân loại thực vật học của tác giả Phạm Hoàng Hộ.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu điều tra được xử lý và phân tích bằng các phần mềm vẽ kỹ thuật autocad, dựng hình và xử lý hình ảnh bằng phần mềm photoshop, sketchup và lumion.

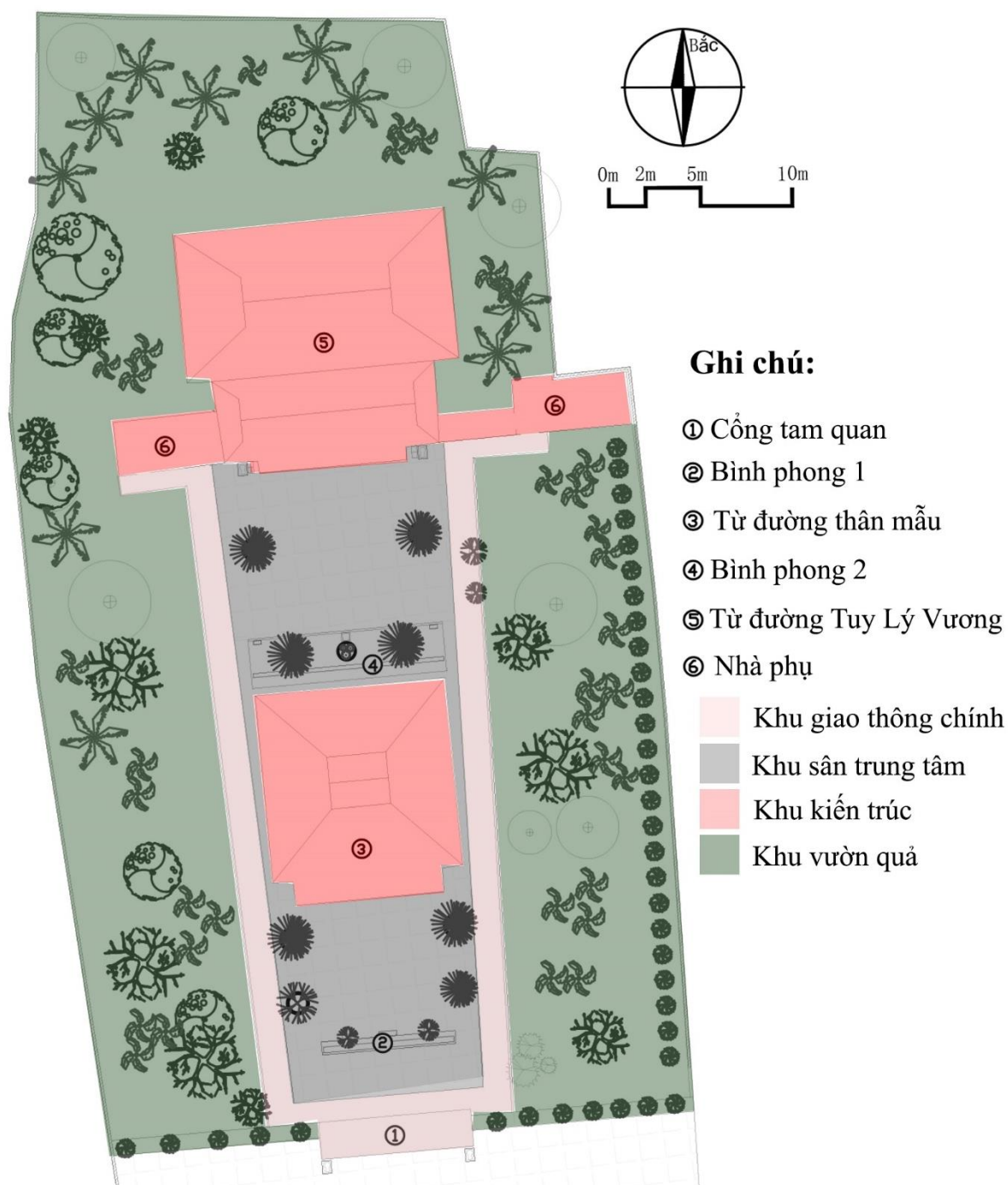
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân tích công năng khuôn viên phủ Tuy Lý Vương

Khuôn viên phủ Tuy Lý Vương có tổng diện tích khoảng 1919m², được phân chia thành 05 khu công năng nhỏ, bao gồm đường giao thông chính, khu sân trung tâm, khu kiến trúc và khu vườn cây (hình 1). Trong đó, diện tích khu giao thông chính là 154m², chiếm 8.03% tổng diện tích khuôn viên phủ đệ. Đường giao thông chính có công năng liên kết cổng tam quan với khu sân trung tâm, khu kiến trúc và vườn quả, được phân thành hai nhánh đường thẳng dài khoảng 35m và chiều rộng 1,5m, nền lát gạch. Trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương có hai khu sân trung tâm nằm ở giữa khu kiến trúc và đường giao thông chính, tổng diện tích 282m², chiếm 14.7% tổng diện tích khuôn viên phủ đệ. Đây là khu vực cảnh quan chính, phối kết bình phong, tiểu phẩm trang trí nghệ thuật và hoa cây cảnh tạo nên tiểu cảnh chính trong khu vực này. Khu kiến trúc bao gồm từ đường, nơi thờ phụng mẫu thân ngài Tuy Lý Vương là bà Lê Thị Ái, từ đường ông Tuy Lý Vương và nhà phụ. Khu vực này có diện tích 342m², chiếm 17,82% tổng diện tích khuôn viên phủ đệ, có chức năng là nơi thờ phụng, nơi sinh hoạt và lưu trữ của gia đình người chủ tự. Khu vườn cây có diện tích 1141m², chiếm 59,46% tổng diện tích khuôn viên phủ Tuy Lý Vương, trồng các loại cây ăn quả và cây cảnh quan tạo lên một hệ sinh thái cây trồng phong phú, có chức năng cải tạo vi khí hậu khuôn viên phủ đệ và cung cấp nguồn trái cây, rau xanh phục vụ sinh hoạt hàng ngày (bảng 1).

Bảng 1: Bảng thống kê diện tích khu công năng trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương (2019)

STT	Khu công năng	Diện tích (m ²)	Tỷ lệ (%)
1	Khuôn viên phủ Tuy Lý Vương	1919	100
2	Khu giao thông chính	154	8,03
3	Khu sân trung tâm	282	14,70
4	Khu kiến trúc	342	17,82
5	Khu vườn quả	1141	59,46

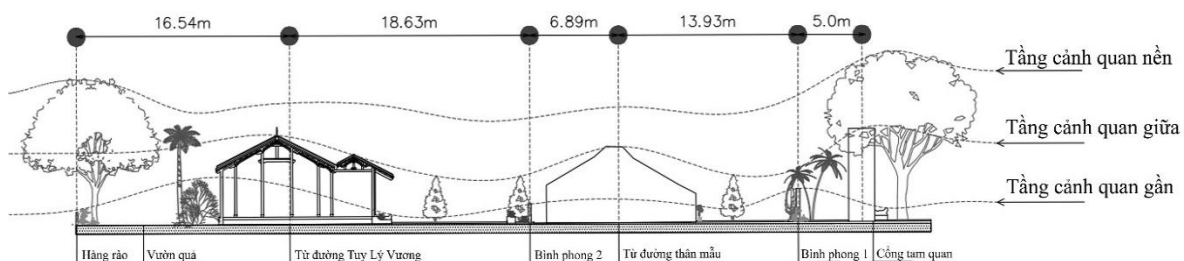


Hình 1: Mặt bằng công năng khuôn viên phủ Tuy Lý Vương

3.2. Phân tích bố cục không gian và thủ pháp nghệ thuật xử lý không gian khuôn viên phủ Tuy Lý Vương

Khuôn viên phủ Tuy Lý Vương được bố trí xây dựng theo bố cục hướng nội. Hạng mục kiến trúc được bố trí trên trục chính của phủ đệ theo phương bắc nam, đây là trục cảnh quan chính của phủ đệ, bố trí cổng tam quan, từ đường mẫu thân, từ đường Tuy Lý Vương, bình phong, tiểu cảnh,... tạo nên một không gian tập trung ở vị trí trung tâm phủ đệ. Không gian râm mát của vườn cây xanh được ví như tấm áo giáp bao bọc bên ngoài khuôn viên phủ đệ. Khu vực này trồng đa dạng chủng loại cây xanh tạo lên một hệ sinh thái thực vật, tạo bóng mát và ngăn cách không gian trong khuôn viên phủ đệ với bên ngoài, kiến tạo không gian yên tĩnh và thanh bình cho nội phủ, tránh xa những xô bồ, ồn ào bên ngoài phủ. Không gian đường giao thông chính giữ vai trò là cầu nối giữa khuôn viên nội phủ với không gian bên ngoài (hình 1).

Với tổng diện tích khuôn viên hạn chế khoảng 1919m², phủ Tuy Lý Vương được xử lý không gian thông qua thủ pháp nghệ thuật so sánh và phân tầng cảnh quan, giúp mở rộng không gian khuôn viên phủ đệ cả về chiều rộng và chiều cao, tránh xa sự nhàm chán và đơn điệu trong không gian cảnh quan. Thủ pháp nghệ thuật so sánh được áp dụng trong bố cục cảnh quan, mật độ các hạng mục công trình tập trung vào trục trung tâm bắc – nam tạo nên sự đối lập với không gian vườn cây bao bọc bên ngoài trên tổng thể bố cục của phủ Tuy Lý Vương. Ngoài ra, không gian thoáng đãng của hai khu sân chính cũng được so sánh đối lập với không gian râm mát của khu vườn cây trong nội phủ. Thủ pháp nghệ thuật phân tầng cảnh quan được áp dụng dựa vào độ cao không gian, phân chia thành 3 tầng cảnh quan, bao gồm tầng cảnh quan nền, tầng cảnh quan giữa và tầng cảnh quan gần. Tầng cảnh quan nền bố trí trồng cây thân gỗ cao to. Tầng cảnh quan giữa bố trí các hạng mục kiến trúc và trồng cây bụi. Tầng cảnh quan gần bố trí tiểu cảnh nhỏ và hoa bụi sát mặt đất (hình 2).



Hình 2: Bản vẽ mặt đứng không gian phủ Tuy Lý Vương

3.3. Nghệ thuật trang trí kiến trúc

Kiến trúc là hạng mục không thể thiếu trong sân vườn cảnh quan. Bên cạnh giá trị công năng, kiến trúc còn mang giá trị thẩm mỹ đặc trưng cho mỗi công trình. Điểm nổi bật của kiến trúc phủ Tuy Lý Vương là hai căn nhà từ đường, cổng tam quan và hai bức

bình phong. Đây là đặc trưng nghệ thuật kiến trúc thời Nguyễn còn lưu giữ cho tới ngày nay.

3.3.1. Nghệ thuật kiến trúc nhà từ đường

Phủ Tuy Lý Vương xây dựng hai nhà từ đường, bao gồm ngôi từ đường một gian hai chái cao 5,8m, diện tích 118m², thờ

phụng mẫu thân ngài Tuy Lý Vương (hình 3) và ngôi từ đường ba gian hai chái cao 6m, diện tích 183m², thờ phụng ngài Tuy Lý Vương (hình 4). Nhà từ đường được xây dựng bằng gạch, sử dụng kết cấu “trùng thiềm điệp ốc” chủ đạo nóc sau nhà cao hơn nóc trước nhà, mái lợp ngói liệt. Kết cấu đặc trưng phần mái nhà thể hiện rõ nét sự thích nghi của kiến trúc với điều kiện khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm của địa phương, giảm thiểu nhiệt độ trong nhà bằng cách mở



Hình 3: Từ đường thân mẫu

Trong bố cục mặt bằng của nhà từ đường, gian chính giữa được bố trí làm gian thờ, thờ phụng Trời, Phật và các bậc tổ tiên, đây là truyền thống tốt đẹp được lưu truyền trong suy nghĩ và hành động của mỗi con cháu trong phủ. Ngài Tuy Lý hết sức chăm nom và phụng dưỡng mẹ già, là tấm gương sáng về đức hiếu hạnh trong hoàng tộc và dân chúng, được người đời ngưỡng mộ, kính phục và tôn xưng ông là “ông Hoàng hiếu” để ca ngợi tấm lòng hiếu nghĩa của một người con thân mang vương tước như ông (Trần Văn Dũng, 2018). Ngoài ra, trong phủ còn lưu giữ được những di sản có giá trị như

rộng hệ thống mái, sử dụng vật liệu ngói liệt cách nhiệt. Ngoài ra, hệ thống cánh cửa bản khoa nhiều cánh, thiết kế nhiều khe cửa có chức năng thông gió và giảm thiểu ánh nắng chiếu trực tiếp vào trong nhà. Phần nóc nhà được trang trí những mô típ trang trí thảo mộc cách điệu thành rồng xen kẽ với mô típ kỷ hà, kết hợp với kỹ thuật khảm sành sứ tạo nên nét độc đáo riêng cho công trình kiến trúc phủ Tuy Lý Vương.



Hình 4: Từ đường Tuy Lý Vương

các lỗ bộ (guơng, chùy, kiếm, kích...), các án thờ, khám thờ được sơn son thếp vàng chạm khắc tinh xảo, với các đồ án tứ linh, bát bửu được bày biện trong nội điện gian thờ từ đường (hình 5). Đặc biệt đáng kể đến là hệ thống di sản Hán Nôm. Ngoài 150 bản mộc là tác phẩm thơ văn của ngài, trong phủ còn lưu giữ khá nhiều văn bản chữ Hán, chữ Nôm được thể hiện trên các hệ thống hoành phi, đối liễn và 12 bức trướng bên trong gian thờ ngài Tuy Lý Vương. Tất cả đều có nội dung ca ngợi công đức, tài năng và sự thể hiện tình cảm của các thế hệ con cháu đối với ông (Nguyễn Văn Cương, 2019).



Hình 5: Nội thất từ đường Tuy Lý Vương



Hình 6: Cổng tam quan

3.3.2. Nghệ thuật kiến trúc cổng tam quan

Cổng tam quan được xây dựng tại vị trí chính nam khuôn viên phủ, cao 7m, rộng 8,3m, xây bằng gạch. Trên cổng tam quan thiết kế ba cửa ra vào dạng vòm, hai cánh cửa bản khoa bằng gỗ. Cửa chính giữa cao 2,7m, rộng 1,7m, hai cửa hai bên cao 2,4m, rộng 1,3m. Đỉnh cổng tam quan được trang trí hình mặt trời với những hoa văn dạng thảo mộc hóa rồng, tất cả đều đắp nổi bằng kỹ thuật khảm sành sứ, trên là hình bát bửu, tứ linh, tứ thời. Ngoài ra, trên cổng tam quan trang trí nhiều câu đối bằng chữ Hán, có ý nghĩa giới thiệu về phủ và ca ngợi công đức, tài năng của Tuy Lý Vương (hình 6).

Hàng chữ Hán ngang chính giữa cổng tam quan là “綏理王祠門”, phiên âm Hán Việt là “Tuy Lý Vương từ môn”, nghĩa là “Cổng nhà thờ Tuy Lý Vương”. Hàng chữ Hán ngang bên trái là “孝忠益茂”, phiên âm Hán Việt là “Hiếu trung ích mậu”, nghĩa là “Trung hiếu dồi dào”. Hàng chữ Hán ngang bên phải là “文質兼優”, phiên âm Hán Việt là “Văn chất kiêm ưu”, nghĩa là “Văn chất đều tốt”. Câu chữ Hán đối hai bên cổng tam quan là “大名垂宇宙- 遺像肅清高”, phiên âm Hán Việt là “Đại danh thùy vũ trụ - Di tượng túc thanh cao”, nghĩa là “Tên lớn vang danh trùm vũ trụ - Hình dáng trang trọng mà thanh cao”. Câu đối chữ Hán chính giữa

cổng tam quan là “文擬魏曹植- 德企漢劉蒼”, phiên âm Hán Việt là “Văn nghĩ Ngụy Tào Thục – Đức xí Hán Lưu Thương”, nghĩa là “Văn theo bước Tào Thục đời Ngụy- Đức đuổi kịp Lưu Thương đời Hán” (Nguyễn Văn Cương, 2019).

3.3.3. Nghệ thuật kiến trúc bình phong

Trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương xây dựng hai bức bình phong. Bức bình phong thứ nhất được đặt ở vị trí đầu tiên ngay sau cổng tam quan (hình 1). Kích thước bức bình phong cao 2,4m, rộng 7,1m, phân thành 3 phần, phần trung tâm cao hơn hai bên một chút. Phía trên bức bình phong được trang trí hoa văn uốn lượn, mô típ bát bửu, chữ Hán, hình tượng Long Mã và Phụng Hoàng (hình 7). Người xưa tin rằng, mô típ Phụng Hoàng biểu tượng cho hình tượng người phụ nữ, Long Mã là hóa thân của Kỳ Lân, là linh vật báo hiệu điềm lành, là biểu tượng của sự thông thái, trường thọ và hạnh phúc. Bức bình phong thứ hai được đặt trước nhà từ đường Tuy Lý Vương, với quy mô khiêm tốn hơn, cao 1,5m, rộng 10,5m, phân thành 3 phần, phần trung tâm cao hơn hai bên. Chính giữa tấm bình phong được trang trí chữ Phúc và biểu tượng dải lụa (hình 8). Bình phong trong khuôn viên phủ để bắt nguồn từ các yếu tố “triều”, “án” trong phong thủy, chức năng chủ yếu là gia tăng

tính bền vững của khu đất ở, ngăn chặn khí xấu và các yếu tố bất lợi xâm nhập vào phủ đệ. Ngoài ra, bình phong còn thực hiện chức



Hình 7: Bình phong 1

năng trang trí mỹ thuật, tạo nên nét đặc trưng trong kiến trúc phủ đệ tại Huế.



Hình 8: Bình phong 2

3.4. Cây xanh cảnh quan

Cây xanh là hạng mục cảnh quan chiếm diện tích lớn nhất trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương, được tuyển chọn từ những loại cây trồng bản địa, cây cho trái ngọt, hoa thơm và mang những giá trị văn hóa tinh thần nhất định. Hệ thống thực vật

trong khuôn viên phủ rất phong phú, bao gồm cây thân gỗ, cây bụi, cây dây leo, cỏ thảm. Cây ăn quả là loại cây trồng chính, được phối hợp với những loại cây có giá trị cảnh quan thông qua hình thức phối kết trồng cây theo hàng, theo khóm, trồng cây trong chậu kiếng,... để đạt được giá trị thẩm mỹ và giá trị sử dụng cao nhất (bảng 2).

Bảng 2: Bảng thống kê chủng loại và phương pháp phối kết cây xanh trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương (2019)

STT	Tên cây	Tên khoa học	Dạng sống thực vật	Giá trị cảnh quan	Hình thức phối kết
1	Cây mai vàng	<i>Ochna integerrima</i> L.	Cây gỗ nhỏ	Hoa đẹp	Trồng điểm
2	Cây tùng sà	<i>Sabina chinensis</i> L.	Cây gỗ lớn	Dáng cây	Trồng điểm
3	Cây cau ta	<i>Areca catechu</i> L.	Cây thân cột	Dáng cây	Hàng cây
4	Cây đu đủ	<i>Carica papaya</i> L.	Cây thân thảo	Dáng cây, quả	Trồng điểm
5	Cây trường sinh	<i>Kalanchoe pinnata</i> L.	Cây cỏ mập	Hoa đẹp	Khóm cây
6	Cây đinh lăng	<i>Polyscias fruticosa</i> L.	Cây gỗ nhỏ	Dáng cây	Chậu cây
7	Cây xương răn	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul.	Cây bụi	Dáng cây, hoa	Khóm cây
8	Cây cau vàng	<i>Chrysalidocarpus lutescens</i>	Cây bụi	Dáng cây	Bụi cây
9	Cây vạn niên thanh	<i>Dieffenbachia seguine</i> Jacq. Schott	Cây thân thảo	Lá cây	Chậu cây
10	Cây na	<i>Annona squamosa</i> L.	Cây gỗ nhỏ	Dáng cây, quả	Trồng điểm

STT	Tên cây	Tên khoa học	Dạng sống thực vật	Giá trị cảnh quan	Hình thức phối kết
11	Cây ngâu	<i>Aglaia duperreana</i> Pierre.	Cây bụi nhỏ	Dáng cây	Trồng điểm
12	Cây dừa	<i>Cocos nucifera</i> L.	Cây thân cột	Dáng cây	Trồng điểm
13	Cây lưỡi hổ	<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain Mabb.	Cây thân thảo	Lá cây	Chậu cây
14	Cây cô tông	<i>Codiaeum Variegatum</i> L.	Cây gỗ nhỏ	Lá cây	Chậu cây
15	Cây trầu không	<i>Piper betle</i> L.	Cây thân leo	Lá cây	Trồng điểm
16	Cây nha đam	<i>Aloe vera</i> L.	Cỏ thân thảo	Lá cây	Khóm cây
17	Cây sanh	<i>Ficus benjamina</i> L.	Cây thân gỗ	Dáng cây	Trồng điểm
18	Cây hoa sứ	<i>Plumeria</i> L.	Cây gỗ nhỏ	Dáng cây, hoa	Trồng điểm
19	Cây lá nốt	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	Cây thân thảo	Lá cây	Khóm cây
20	Cây mít	<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	Cây thân gỗ lớn	Dáng cây, quả	Trồng điểm
21	Cây sung	<i>Ficus racemosa</i> L.	Cây thân gỗ lớn	Dáng cây, quả	Chậu cây
22	Cây trạng nguyên	<i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd.ex Klotzsch	Cây thân gỗ nhỏ	Lá cây	Chậu cây
23	Cây cóc	<i>Spondias dulcis</i> L.	Cây thân gỗ nhỏ	Dáng cây, quả	Trồng điểm
24	Cây phát lộc	<i>Dracaena sanderiana</i> Mast.	Cây bụi	Dáng cây	Khóm cây
25	Cây chuối	<i>Musa acuminata</i> Colla.	Cây bụi	Dáng cây, quả	Khóm cây

Ngoài ra, trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương còn trồng những loại cây mang giá trị văn hóa đặc trưng của dân tộc Việt Nam như cây mai, cây tùng tháp, cây trầu,.... Cây mai tượng trưng cho sự giàu sang phú quý, cây tùng tháp tượng trưng cho khí tiết và sự trường thọ, cây đu đủ và cây sung tượng trưng cho sự đầy đủ và sung túc của gia chủ. Cây trầu và cây cau tượng trưng cho tình cảm anh em keo sơn theo đúng tinh thần trong “sự tích trầu cau” của

dân tộc Việt Nam từ xưa tới nay. “Trước cau sau chuối” và “lấy vợ hiền hòa, làm nhà hướng nam” là hai quan điểm truyền thống trong nghề làm vườn, xây nhà, chọn vợ của người dân Việt Nam. Phân tích trên khía cạnh khoa học, hướng ngôi nhà thường chọn hướng Nam để đón gió Đông Nam mát mẻ vào mùa hè. Mặt khác, cây chuối phát triển thân lá mạnh tạo nên một tấm lá chắn phía sau ngôi nhà, ngăn cản gió lạnh từ hướng bắc và đông bắc khi mùa đông tới,

bảo dưỡng bầu không khí ẩm áp vào mùa đông cho ngôi nhà. Có thể kết luận rằng, việc lựa chọn và phối kết các loài cây trồng trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương là dựa

4. THẢO LUẬN

Trong triều đại nhà Nguyễn (1802-1945), dưới sự du nhập của luồng văn hóa phương Đông và phương Tây, nền văn hóa Việt Nam mang tính chất tổng hợp, vừa thể hiện đặc điểm dân tộc, vừa thể hiện những đặc điểm do ảnh hưởng của luồng văn hóa ngoại lai tác động vào. Nghệ thuật kiến tạo vườn cảnh Việt Nam cũng bị ảnh hưởng và mang những đặc trưng tiêu biểu của thời kỳ này, ngoài việc du nhập những thủ pháp nghệ thuật kiến tạo vườn cảnh của phương Đông và phương Tây, còn thể hiện những nét đặc trưng dân tộc của riêng mình. Nét đặc trưng dân tộc được thể hiện rõ nét trong việc chọn hướng nam là hướng chính của công trình, lựa chọn giống cây trồng bản địa, ứng dụng kỹ thuật khảm sành sứ truyền thống của địa phương và những mô típ nghệ thuật (thảo mộc, tứ linh, tứ thời,...) vào trong trí công trình kiến trúc. Giá trị đạo đức truyền thống cũng được thể hiện rõ nét trong việc bố trí gian thờ là gian chính giữa của các ngôi nhà, thể hiện sự hiếu thảo của con cháu với tổ tiên, trời phật và thần linh. Qua đó cũng thấy được sự ảnh hưởng của đạo Nho và đạo Phật tới nghệ thuật kiến tạo vườn cảnh Việt Nam. Sự ảnh hưởng của nền văn hóa nước Pháp được thể hiện khá rõ nét trong bố cục trục cảnh quan chính trong vườn cảnh Việt Nam và những đường nét hình học trong thiết kế.

Vườn tư gia Trung Quốc là nơi cư trú của tầng lớp quan lại, quý tộc, thương gia Trung Quốc thời xưa. Lấy ví dụ điển hình là vườn tư gia Giang Nam Trung Quốc, sử

vào tính địa phương, tính dân tộc kết hợp với nguyên lý phong thủy, tạo nên một hệ thực vật phong phú trong khuôn viên phủ.

dụng bố cục nội tâm kiến tạo không gian khuôn viên nhà vườn, sử dụng đa dạng các thủ pháp nghệ thuật xử lý không gian tạo nên sự biến đổi và đa dạng không gian, thỏa mãn nhu cầu thưởng ngoạn cảnh quan của con người. Không gian công năng đa dạng, ngoài khu kiến trúc, đường giao thông chính, đường dạo phụ trong khuôn viên, còn phân chia thành nhiều khu nghỉ dưỡng, giải trí, tiệc tùng,...(Peng, 1986; Wang and Fan, 2010; Peng, 2016). Từ ví dụ điển hình chúng ta có thể nhận thấy rằng, phủ Tuy Lý Vương và vườn Trung Quốc đều sử dụng bố cục nội tâm trong thiết kế, đều coi trọng yếu tố biến hóa trong không gian vườn và thỏa mãn nhu cầu cư trú và thưởng ngoạn của con người. Phân tích kỹ thủ pháp nghệ thuật xử lý không gian chúng ta có thể nhận thấy, phủ Tuy Lý Vương chỉ sử dụng thủ pháp nghệ thuật so sánh và phân tầng không gian, phân chia không gian công năng ít hơn, gồm 3 không gian chính là không gian tập trung chính giữa phủ, không gian vườn quả và không gian đường giao thông chính, các hoạt động khác như vui chơi thưởng ngoạn được sử dụng xen kẽ trong ba không gian chính này. Không gian công năng của vườn Trung Quốc được phân chia thành nhiều khu công năng hơn, bao gồm khu kiến trúc, khu nghỉ ngơi, khu giải trí, khu dã ngoại,... thông qua việc sử dụng đa dạng các thủ pháp nghệ thuật xử lý không gian như nghệ thuật so sánh, nghệ thuật phân tầng cảnh quan, nghệ thuật ẩn và hiện trong cảnh quan, nghệ thuật ngắm nhìn và bị ngắm nhìn trong cảnh quan,...

Điền hình vườn cổ điển Pháp là vườn tư gia Vaux-le-Vicomte, được xây dựng vào năm 1657-1661, thiết kế theo đuổi phong cách vĩ đại, bố cục cảnh quan rõ ràng (Mihailo et al., 2015). Quy mô khuôn viên rộng lớn, đường giao thông và các hạng mục cảnh quan như hoa thảm, bậc thang, bồn cây,...đều có kích thước lớn. Bố cục vườn cảnh sử dụng trục cảnh quan chính có chiều dài khoảng 1000m và chiều rộng 200m, bố cục đối xứng và ứng dụng quy tắc hình học trong các công trình kiến trúc, điêu khắc cây xanh và thảm hoa (Ou, 2009). Từ ví dụ điền hình chúng ta có thể nhận thấy rằng vườn Pháp theo đuổi phong cách vĩ đại, bố cục cảnh quan hoàn toàn sử dụng trục cảnh quan chính, bố cục đối xứng và ứng dụng hình học trong thiết kế. Trong khuôn viên phủ Tuy Lý Vương tuy rằng cũng sử dụng bố cục trục cảnh quan chính theo hướng bắc nam và phần nào đã ứng dụng hình học trong các thiết kế kiến trúc như bình phong, cổng tam quan, nhà từ đường,...nhưng không phải hoàn toàn ứng dụng như vườn Pháp, không sử dụng tác phẩm điêu khắc cây xanh hay thiết kế thảm hoa theo khối hình học, đa phần sử dụng hình dáng tự nhiên của thực vật để trang trí cảnh quan.

5. KẾT LUẬN

Nghệ thuật kiến tạo cảnh quan là lĩnh vực nghiên cứu liên quan đến nghiên cứu ngành khoa học. Kết quả của nghiên cứu này đã phân tích nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương dựa trên nền tảng điều kiện tự nhiên, văn hóa - xã hội của địa phương và chỉ ra nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương trên phương diện bố cục cảnh quan, thủ pháp xử lý không gian cảnh quan, kiến trúc cảnh quan và cây xanh cảnh quan.

Nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương thể hiện rõ nét tính đặc trưng dân tộc, đặc trưng văn hóa xã hội của triều đại nhà Nguyễn và thích nghi với điều kiện tự nhiên của địa phương. Bố cục cảnh quan hướng nội, toàn bộ hạng mục công trình kiến trúc bao gồm cổng tam quan, bình phong, nhà từ đường được xây dựng trên trục cảnh quan chính theo hướng bắc nam, tạo nên không gian tập trung ở chính giữa khuôn viên phủ. Không gian bên ngoài được bao bọc bởi hệ thống cây xanh của vườn quả, tạo nên không gian khép kín, tách biệt nội phủ với không gian ồn ào bên ngoài. Nhà từ đường được xây dựng theo mô típ nhà một gian hai chái và ba gian hai chái, cấu trúc nhà đặc trưng của Huế lúc bấy giờ, với hệ thống mái ngói và cánh cửa bản khoa giúp làm thông thoáng và mát mẻ không gian trong nhà. Nghệ thuật khảm sành sứ và trang trí theo các mô típ thảo mộc, tứ linh, tứ thời,...là đặc trưng văn hóa hoàng cung lúc bấy giờ cũng được ứng dụng rộng rãi trong phủ đệ. Hệ thực vật bản địa, phong phú về chủng loại cây trồng và cách phối kết cũng như ý nghĩa văn hóa riêng của các loài thực vật, tạo nên nét đặc trưng trong cảnh quan phủ đệ. Ngoài ra, chúng ta cũng có thể thấy được sự ảnh hưởng của đạo Nho, đạo Phật và vườn Pháp trong nghệ thuật kiến tạo cảnh quan phủ Tuy Lý Vương thông qua bố cục nội tâm, trục cảnh quan chính, nhà từ đường mẫu thân ngài Tuy Lý Vương và gian thờ phụng tổ tiên, trời phật trong kết cấu nhà từ đường.

Điểm mới trong nghiên cứu này là đã nghiên cứu khá toàn diện và tập trung phân tích về bố cục và thủ pháp xử lý không gian cảnh quan, có giá trị làm tài liệu tham khảo cho những định hướng nghiên cứu sâu về

nguyên lý thiết kế cảnh quan cổ điển trong và ngoài nước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chen, Z.H. (2013). 外国造园艺术, 2nd Edition. 河南科学技术出版社. China.

Luo, Y.Y., Chen, H.W. and Qiao, L.F. (2010). 园林艺术概论. 化学工业出版社. China.

Mihailo G., Aleksandar C., Biljana J. and Milos T. (2015). Garden cultural heritage spatial functionalities: The case of anamorphosis abscondita at Vaux-le-Vicomte. 18: 366-369.

Michel, Đ.C. (2016). Hồi ức về kinh thành Huế. Nhà xuất bản Hà Nội.

Nguyễn Văn Cương (2019). Hoành phi và câu đối tại phủ Tuy Lý Vương. Truy cập từ <http://www.vanhoahoc.edu.vn/nghien-cuu/van-hoa-hoc-ung-dung/van-hoa-giao-tiep/3783-nguyen-van-cuong-di-san-van-hoa-han-nom-tai-phu-tuy-ly-vuong-phuong-vy-da-thanh-pho-hue.html>.

Nguyễn Hữu Thông (2008). Nhà vườn xứ Huế. Nhà xuất bản Văn nghệ, thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyen N.A. (2013). Research on the artistic characteristics of the royal gardens in Hue, Vietnam. Ph.D. thesis. South China University of Technology.

Ou, Y. (2009). 17世纪法国园林艺术浅析. 山西建筑. 35(12): 352-354.

Peng, L. (2016). 从山水画境视角解读江南私家园林构图艺术. 华中建筑. 34(08): 182-186.

Peng, Y.G. (1986). 中国古典园林分析. 中国建筑工业出版社. China.

Phạm Hoàng Hộ (1999). Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản trẻ. Thành phố Hồ Chí Minh.

Phan Thuận An (2017). Kinh thành Huế. Nhà xuất bản Hội nhà văn. Hà Nội.

Pham, T.B.P, Chen, Z.Y., Xiao, Q.Z. (2019). 越南顺化园林与地域环境的协同表达. 绿色科技. (21):1-3.

Phan Thanh Hải (2013). Vườn cung đình Việt Nam- Lịch sử, hiện trạng và vấn đề nghiên cứu, phục hồi. Truy cập từ <http://www.vanhoahoc.vn/nghien-cuu/van-hoa-viet-nam/van-hoa-ung-xu-voi-moi-truong-tu-nhien/2436-phan-thanh-hai-vuon-cung-dinh-viet-nam-lich-su-hien-trang-va-van-de-nghien-cuu-phuc-hoi.html>.

Trần Văn Dũng (2018). Gia phong xứ Huế từ góc nhìn di sản phủ đệ. Tạp chí khoa học đại học Huế. 127: 55-64.

Wang, L.L. and Fan, G. T. (2010). 江南私家园林艺术对现代居住区景观营造的启示. 工程与建设. 24(01): 19-21.

Zhou, X.P. (2014). 中外园林史. 中国建筑工业出版社. China.

**ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA BIỆN PHÁP TỈA QUẢ VÀ VẬT LIỆU BAO QUẢ
TỚI KÍCH THƯỚC VÀ CHẤT LƯỢNG QUẢ GIỐNG TÁO 05
(*ZIZIPHUS MAURITIANA* LAMK.) TẠI GIA LÂM – HÀ NỘI**

Nguyễn Thị Phương¹

¹Bộ môn Rau Hoa Quả và Cảnh quan, khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: nguyenthiphuong@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Để đánh giá ảnh hưởng của việc tỉa thưa quả và vật liệu bao quả tới kích thước, chất lượng quả, tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại giống táo 05, hai thí nghiệm độc lập được tiến hành trên cây táo 3 năm tuổi và được thiết kế theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh có 04 công thức và 03 lần nhắc lại. Công thức tỉa quả gồm tỉa 10%, 20%, 30% số quả trên cây và không tỉa (đối chứng). Công thức bao quả gồm: túi nilon, túi xốp, giấy dầu và không bao (đối chứng). Kết quả cho thấy, tỉa quả làm tăng kích thước, khối lượng quả và hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số (TSS), và giảm hàm lượng axit tổng số (TA). Tỉa 30% cho khối lượng quả lớn nhất (99,36 g), TSS cao nhất (17,2 °Brix), TA thấp nhất (0,180%), giảm năng suất (37,8 kg/cây) và tăng lãi thuần (772.000 đồng/cây). Khi bao quả, túi nilon và túi xốp làm tăng kích thước quả, với khối lượng đạt lần lượt 114,30 g và 107,30 g, tăng 25,3% và 17,7% so với đối chứng. Đồng thời, túi nilon làm giảm làm giảm TSS (15,69%), năng suất quả và lãi thuần cao nhất, đạt 47,8 kg/cây và 1.258.000 đồng/cây.

Từ khóa: Táo; hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số; sâu hại; bệnh hại; lãi thuần; hàm lượng axit tổng số

**EFFECTS OF FRUIT PRUNING AND WRAPPING MATERIALS ON FRUIT SIZE
AND QUALITY OF JUJUBE FRUIT (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) VARIETY 05**

ABSTRACT

To evaluate the effects of fruit thinning and fruit wrapping materials on fruit size, fruit quality traits and fruit loss rate due to insects and diseases infecting jujube fruit variety 05, two independent experiments were conducted on 3-year old jujube plants, which was designed as a randomized complete block design with four treatments and three replications per treatment. Fruit thinning treatments included removing 10%, 20%, 30% and zero % (control) of the total number of fruits per plant. Fruit wrapping material treatments included nylon bag, sponge bag, oil bag and no-wrapping (control). The results showed that fruit thinning increased fruit size, fruit weight and total soluble solids content (TSS), and decreased total acid content (TA) of the fruit. Out of fruit thinning treatments, thinning 30% of the total fruit number per plant resulted in the highest fruit weight (99,36 g) and TSS (17,2 °Brix), and the lowest TA (0,180%), at the same time, the treatment reduced actual fruit yield (37,8 kg/plant) and increased the net revenue (772.000 Vietnam dong/kg). In wrapping fruits, nylon bag and sponge bag increased fruit

weight of 25,3% and 17,7% compared to the control treatment, respectively. In the meantime, nylon bag decreased TSS (15,69%), returned the highest fruit yield (47,8 kg/plant) and net revenue (1.258.000 Vietnam dong/plant).

Keywords: Jujube; total soluble solids content; insects; diseases; net revenue; total acid content

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây táo (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) được trồng ở 44 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới, mang lại giá trị kinh tế đặc biệt ở Ấn Độ, Trung Quốc (Yingying & cs., 2016). Ở Việt Nam, cây táo được phát triển ở nhiều tỉnh thành, điển hình là ở Ninh Thuận với điều kiện khí hậu nắng nhiều và khô hanh quanh năm nên rất phù hợp cho trồng táo, với diện tích đạt 5.200 ha và năng suất bình quân đạt 25 tấn/ha (năm 2015). Ở miền Bắc, táo được trồng lâu đời ở Thiện Phiến (Hưng Yên), Gia Lộc (Hải Dương) và Lục Ngạn (Bắc Giang) với các giống táo truyền thống quả nhỏ. Những năm gần đây, cây được mở rộng và phát triển mạnh với các giống quả to, giòn, ngọt, đem lại hiệu quả kinh tế cho người sản xuất (Nguyễn Thị Thu Hương & cs., 2018).

Giống táo 05 được Viện Nghiên cứu Rau quả tuyển chọn thành công từ những dòng táo có triển vọng. Đây là giống táo có sức sinh trưởng khỏe, quả to, ăn giòn, ngọt được thị trường ưa chuộng, do đó đã được công nhận là giống cây trồng nông nghiệp mới vào tháng 2 năm 2019 và mở rộng ra sản xuất ở các tỉnh phía Bắc (Bộ Nông Nghiệp Và Phát Triển Nông Thôn, 2019). Cây táo có số lượng hoa/cây lớn, tỷ lệ đậu quả cao nên số lượng quả/cây nhiều, dẫn tới quả chất lượng thấp do cạnh tranh dinh dưỡng mạnh, quả dễ bị thối hỏng do sâu, bệnh hại do va chạm cơ giới, cành dễ bị gãy, và là nguyên nhân của hiện tượng ra quả cách năm (Rasouli & cs., 2020). Điển hình sâu, bệnh

hại quả táo là ruồi vàng, bệnh phấn trắng và thối quả (Mirzaee, 2014; Ciceoi & cs., 2017). Sâu, bệnh gây hại không những làm giảm mẫu mã quả, giảm năng suất do quả thối, hỏng mà còn giảm niềm tin của người tiêu dùng do nhìn bên ngoài không phát hiện ra quả hỏng khi bị ruồi vàng gây hại. Lý do là ruồi vàng đẻ trứng vào bên sâu bên trong quả, khi quả chín trứng ruồi sẽ nở ra thành sâu non và ăn phần thịt quả bên trong đồng thời thải ra dịch làm hỏng quả nhưng phần vỏ bên ngoài chưa có biểu hiện về triệu trứng gây hại (Trương Huỳnh Ngọc & Nguyễn Thị Thu Cúc, 2010).

Bao quả trước thu hoạch nhằm nâng cao năng suất, chất lượng quả, giảm tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại trên ôi (Nguyễn Văn Tuất & cs., 2015), chuối (Lê Văn Bé & cs., 2014). Thêm vào đó, việc bao quả đối với táo vẫn chưa được áp dụng phổ biến tại miền Bắc Việt nam do đa phần các loại táo truyền thống ở nước ta có quả nhỏ, số lượng quả trên cây lớn. Trên cây ăn quả, biện pháp tia quả được áp dụng làm tăng kích thước, độ ngọt quả trên các giống ôi (Mirzaee, 2014), trên các giống đào, mận, mơ, và táo tây (Greene, 2007; Rasouli & cs., 2020). Trên cây táo, biện pháp quả đã được áp dụng nhưng chỉ dựa theo kinh nghiệm của người trồng và chưa có nghiên cứu cụ thể về ảnh hưởng của phương pháp này. Đối với giống táo 05 có khối lượng và kích thước quả lớn nên có thể gia tăng trị kinh tế cao hơn khi áp dụng biện pháp tia quả và bao quả. Nghiên cứu này là kết quả đánh giá ảnh hưởng của

các mức tia quả và một số vật liệu bao quả tới độ lớn quả và chất lượng quả của giống táo 05.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian nghiên cứu

Vật liệu

Giống táo sử dụng: Giống táo 05 do Viện Nghiên cứu Rau quả tuyển chọn từ giống táo Đài Loan nhập nội, được Bộ Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn công nhận là giống cây trồng nông nghiệp mới theo Quyết định số 502/QĐ-BNN-TT ngày 12/02/2019. Cây táo 3 năm tuổi, được nhân giống bằng phương pháp ghép cành. Cây được trồng tại khu nghiên cứu cây quả, đồng thời được chăm sóc theo Quy trình tạm thời của Viện Nghiên cứu Rau quả cho giống táo 05.

Vật liệu bao quả: Túi nilon kích thước 10 × 19 cm, có ba lỗ nhỏ ở đáy túi kích thước 0,5 × 0,5 cm. Túi xốp bọc quả (kích thước 16 × 20 cm, có túi nilon bọc bên ngoài). Túi giấy dầu không thấm nước (kích thước 15 × 18 cm, có 4 lỗ nhỏ/mặt túi, kích thước lỗ 0,5 × 0,5 cm). Vật liệu bao quả được lựa chọn (túi nilon, túi giấy dầu) dựa trên kinh nghiệm thực tế trồng táo và hiệu quả sử dụng trên ôi (túi xốp).

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Rau quả, Thị trấn Trâu Quỳ - Huyện Gia Lâm - Thành phố Hà Nội. Thời gian: từ tháng 10/2018 - tháng 02/2020.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Vườn thí nghiệm: Cây thí nghiệm được trồng với khoảng cách 5 m × 5 m, làm giàn ngang. Tất cả các cành vượt ra khỏi bề mặt ngang của giàn đều được tỉa bỏ (cắt tỉa

mỗi tuần một lần), chỉ giữ lại những cành leo trên giàn. Cây được chăm sóc như nhau theo quy trình trồng và chăm sóc tạm thời cho giống táo 05 của Viện Nghiên cứu Rau quả.

2.2.1. Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp tỉa quả tới kích thước, chất lượng quả giống táo 05

Cây được lựa chọn ngẫu nhiên trong vườn đảm bảo điều kiện: tổng số quả trên cây đạt từ 700 - 720 quả/cây tại thời điểm bắt đầu tỉa, và không giữ lại quả đậu sau đó. Thời gian bắt đầu tỉa quả từ ngày 01/12/2018 (45 - 50 ngày sau nở hoa). Quả được tỉa là những quả nhỏ, quả bị sâu, bệnh, quả đậu sau đó. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD), gồm 04 công thức, mỗi công thức 03 lần nhắc lại, với 01 cây/1lần nhắc lại. Các mức tỉa quả áp dụng là: tỉa 10% số quả, tỉa 20% số quả, tỉa 30% số quả, và không tỉa (Đôi chứng). Dựa trên kết quả nghiên cứu của Biswas & cs. (1989), khi tỉa tới 38% số quả trên cây, năng suất quả giảm mạnh dù khối lượng quả tăng, do đó mức tỉa trên 30% không được áp dụng trong phạm vi nghiên cứu này.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới kích thước, chất lượng quả giống táo 05

Cây được lựa chọn ngẫu nhiên trong vườn đảm bảo điều kiện: tổng số quả trên cây đạt từ 700 - 720 quả/cây, sau đó được tỉa bớt đi 30% số quả trên cây (tỉa quả bị sâu, bệnh, quả nhỏ, quả đậu sau đó). Quả được bao khi đường kính đạt 3,0 cm, lựa chọn những quả không bị sâu, bệnh hại để bao, trên mỗi cây bao 100 quả/đợt bao. Tiến hành bao đợt 1 ngày 05/12/2018 (50 - 55 ngày sau nở hoa) khi đường kính quả đạt từ 3,0 - 3,5 cm, chia làm 03 đợt bao, mỗi đợt cách nhau 02 tuần.

Tổng số quả bao trong thí nghiệm là 3.600 quả. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ, gồm 04 công thức, mỗi công thức 03 lần nhắc lại, với 01 cây/1 lần nhắc. Các công thức là túi bao quả làm từ vật liệu khác nhau: túi nilon, túi xốp, giấy dầu, và không bọc (Đối chứng).

2.2.3. Chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

* *Nhóm chỉ tiêu vật lý (đo 30 quả/công thức):* Đường kính quả (cm), chiều cao quả (cm): đo định kỳ 10 ngày một lần. Các chỉ tiêu đo khi thu hoạch quả: Khối lượng quả (g), khối lượng quả tăng so với đối chứng (%), tỷ lệ phần ăn được (%); độ cứng quả (kg/cm^2): sử dụng máy đo độ cứng penetrometer (FT 011, Effigi, Alfonsine, Italy), mỗi quả được xác định độ cứng 03 lần ở 03 vị trí khác nhau.

* *Nhóm chỉ tiêu sinh hóa (đo khi thu hoạch quả, đo 30 quả/công thức):* Tổng hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số (TSS; %), không bao gồm phần chất rắn lơ lửng: Lấy một phần thịt quả đã gọt vỏ, xay nhuyễn và tách phần dịch quả, nhỏ dịch quả trên lăng kính của máy chiết quang kế (PAL-1 Pocket refractometer, hãng Atago, Nhật Bản), đọc chỉ số trên bảng điện tử. Hàm lượng axit tổng số (TA) có trong dịch quả (%) được xác định bằng phương pháp trung hòa theo (Lê Thanh Mai & cs., 2009). Hàm lượng nước (%): sấy quả đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105°C , hàm lượng nước (%) = $[(\text{Khối lượng quả trước khi sấy} - \text{Khối lượng quả sau khi sấy}) / \text{Khối lượng quả trước khi sấy}] \times 100$ (Cerniauskiene & cs., 2014).

* *Tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại (%)*: Đánh giá tỷ lệ gây hại trên quả (do sâu hại) và tỷ lệ bệnh hại quả theo phương pháp điều tra và phát hiện dịch hại cây trồng (QCVN

01-38:2010/BNNPTNT). Điều tra theo 04 hướng, mỗi hướng 01 cành (cành cấp 1). Đếm tất cả số quả trên cây bị hư hỏng do sâu hại (ốc sên, sâu róm, ruồi đục quả, sâu ăn quả) hay bệnh hại (bệnh phấn trắng, thối quả) và tính tỷ lệ trên tổng số quả trên cây khi bắt đầu thí nghiệm.

Tỷ lệ quả hỏng do sâu hại (%) = $(\text{Tổng số quả bị hỏng do sâu hại} / \text{Tổng số quả điều tra trên cây}) \times 100\%$

Tỷ lệ quả hỏng do bệnh hại (%) = $(\text{Tổng số quả bị hỏng do bệnh hại} / \text{Tổng số quả điều tra trên cây}) \times 100\%$

* *Năng suất và hiệu quả kinh tế:* Tổng số quả thu (quả/cây) được đếm và cộng dồn sau mỗi đợt thu hoạch; năng suất thực thu (kg/cây) là tổng khối lượng quả thu được sau tất cả các đợt thu hoạch; giá bán (đồng/kg) được tính trung bình của tất cả các lần bán ra thị trường; lãi thuần (đồng/cây) = tổng thu nhập – chi phí lao động – chi phí phân bón, thuốc bảo vệ thực vật (– chi phí vật liệu bao quả, với thí nghiệm bao quả).

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên Excel 2016 và phần mềm thống kê GenStat 19.0 để phân tích ANOVA ở mức ý nghĩa 95% (Payne, 2009).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của biện pháp tia quả tới kích thước và chất lượng quả giống táo 05

3.1.1. Ảnh hưởng của biện pháp tia quả tới kích thước, khối lượng quả

Biện pháp tia quả làm ảnh hưởng rõ rệt đến kích thước quả, trong đó các công thức tia quả ở mức 20% và 30% số quả làm tăng đáng kể đường kính và chiều cao quả so với công thức đối chứng. Đường kính và chiều

cao quả giống táo 05 khi thu hoạch đạt cao nhất (5,31 cm; 5,60 cm) khi tỉa đi 30% số quả, và thấp nhất ở công thức đối chứng (4,63 cm; 6,01 cm) khi không tỉa (Bảng 1).

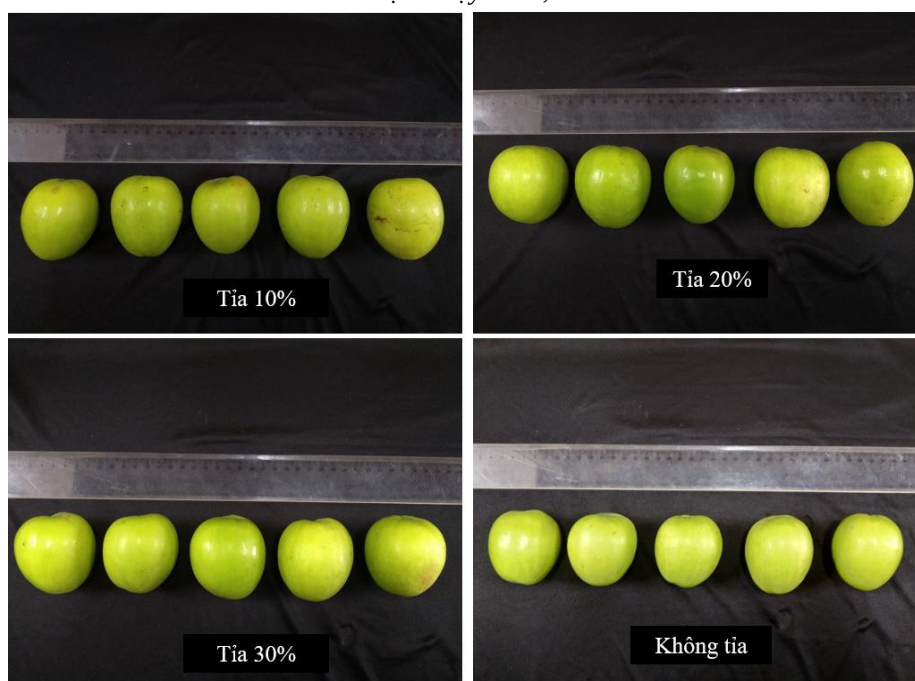
Việc tỉa quả làm tăng khối lượng quả, trong đó khối lượng quả cao nhất (99,36 g) khi 30% số quả được tỉa, tăng 10,14% so với công thức đối chứng. Tỉa 20% số quả làm tăng khối lượng quả 3,70% nhưng tỉa 10% số quả không làm ảnh hưởng tới kích thước và chỉ làm tăng khối lượng của quả 1,54% so với đối chứng (Bảng 1; Hình 1).

Kết quả nhiều nghiên cứu trên một số giống táo và ôi chỉ ra rằng, tỉa quả với mức từ trên 20% tới một nửa số quả trên cây làm tăng kích thước và khối lượng quả. Lý do của hiệu quả này là khi tỉa thừa số quả, làm tăng tỷ lệ số lá/quả, giảm sự cạnh tranh dinh dưỡng giữa các quả, từ đó làm tăng lượng carbohydrates vận chuyển và tích lũy trong quả (Biswas & cs., 1989; Michels & Normand, 2004; Zhen-Gui, 2008).

Bảng 1. Ảnh hưởng của các mức tỉa quả tới kích thước quả giống táo 05

Công thức	Đường kính quả (cm)	Chiều cao quả (cm)	Khối lượng quả (g)	Khối lượng quả tăng số với đối chứng (%)
Tỉa 10%	4,71 a	6,12 a	91,60 a	1,54
Tỉa 20%	4,94 b	6,45 b	93,54 b	3,70
Tỉa 30%	5,31 c	6,80 c	99,36 c	10,14
Không tỉa (Đối chứng)	4,63 a	6,01 a	90,21 a	-
<i>LSD_{0.05}</i>	0,185	0,20	1,639	-
<i>CV%</i>	4,90	5,90	4,31	-

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.



Hình 1. Quả giống táo 05 ở các mức tỉa quả so với tổng số quả trên cây tại thời điểm thu hoạch: tỉa 10% số quả, tỉa 20% số quả, tỉa 30% số quả, và không tỉa (Đối chứng).

3.1.2. Ảnh hưởng của biện pháp tia quả tới các chỉ tiêu chất lượng quả

Kết quả bảng 2 cho thấy các mức tia quả không ảnh hưởng đến tỷ lệ phần ăn được và độ cứng của quả giống táo 05, trong khi đó làm tăng tổng hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số (TSS) so với đối chứng. Cụ thể cả hai mức tia quả (20% và 30% số quả) cho chỉ số TSS tương đương nhau (16,6 và 17,2 °Brix), cao hơn đáng kể so với đối chứng (13,4 °Brix) và tia 10% số quả (14,3 °Brix) (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu của Biswas & cs. (1989) và Michels & Normand (2004) chỉ ra rằng, giảm số quả/cây làm tăng vị ngọt của quả thông qua tăng lượng đường trong quả. Đường tích lũy trong quả là sản phẩm của quá trình thủy phân tinh bột, do đó việc tăng tích lũy carbohydrates trong quả có thể là nguyên nhân trực tiếp dẫn tới hàm lượng đường trong quả tăng (Michels & Normand, 2004).

Hàm lượng axit tổng số trong quả giống táo 05 giảm khi tia quả và nhỏ nhất khi tia 30% số quả, đạt 0,180%. Tia 20% số quả cho hàm lượng axit đạt 0,192%, thấp hơn so với đối chứng (0,240%) và tia 10% (0,234%). Tác giả Jayasena & Cameron (2008) chỉ ra rằng, chỉ số TSS/TA là công cụ hữu hiệu nhất mà không phải là giá trị TSS hay TA riêng biệt trong xác định mức độ chấp nhận của người tiêu dùng đối với sản phẩm quả tươi, cụ thể khi chỉ số TSS/TA tăng, mức độ ưa thích của người tiêu dùng cũng tăng tỷ lệ tương ứng. Trong nghiên cứu này, các mức tia 10 – 30% tổng số quả đều làm tăng đáng kể chỉ số TSS/TA, cao nhất là công thức tia 30% (95,7) tiếp sau đó là tia 20% (86,1) và tia 10% (60,9). Kết quả này có thể cho thấy tiềm năng của việc tăng độ ưa thích của người tiêu dùng với giống táo 05 khi được tia bột quả trên cây ngoài tăng kích thước quả.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các mức tia quả tới chất lượng quả giống táo 05

Công thức	Tỷ lệ phần ăn được (%)	TSS (%)	Hàm lượng axit tổng số (TA) (%)	TSS/TA	Độ cứng quả (kg/cm ²)
Tia 10%	94,66	14,3 a	0,234 c	60,9 b	3,69
Tia 20%	94,33	16,6 b	0,192 b	86,1 c	3,71
Tia 30%	94,51	17,2 b	0,180 a	95,7 d	3,60
Không tia (Đối chứng)	94,68	13,4 a	0,240 c	55,6 a	3,60
<i>LSD_{0.05}</i>	0,50	0,70	0,011	4,90	0,179
<i>CV%</i>	2,25	5,20	5,20	3,50	5,50

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

3.1.3. Ảnh hưởng của biện pháp tia quả tới tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại

Táo thuộc chi *Ziziphus*, quả bị hại bởi nhiều đối tượng sâu, bệnh do quả có hàm lượng đường trong quả cao, vỏ quả mỏng (Mirzaee, 2014). Các đối tượng gây hại

chính gây hỏng quả trong nghiên cứu này ghi nhận được gồm: sâu đục quả hại quả non, ốc sên ăn quả và ruồi đục quả già sắp chín, bệnh phấn trắng và thối quả. Áp dụng tia quả ở các mức khác nhau làm giảm đáng kể số quả bị hỏng do sâu, bệnh. Cụ thể, tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh thấp nhất ở mức tia 30% với 8,88%

hồng do sâu và 11,27% hồng do bệnh, và cao nhất ở công thức đối chứng với 34,48% hồng do sâu và 36,53% hồng do bệnh (Bảng 3). Kết quả cho thấy, việc tỉa thưa quả làm giảm mật độ quả/cây có thể làm tăng độ thông

thoáng trong bộ tán, giảm sự va chạm cơ giới giữa các quả do tảo thường mọc thành chùm nhiều quả, từ đó giảm tổn thương cơ giới và tránh được sự hoạt động, xâm nhập và gây hại do sâu, bệnh đối với quả.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các mức tỉa quả tới tỷ lệ quả hồng do sâu, bệnh hại giống táo 05

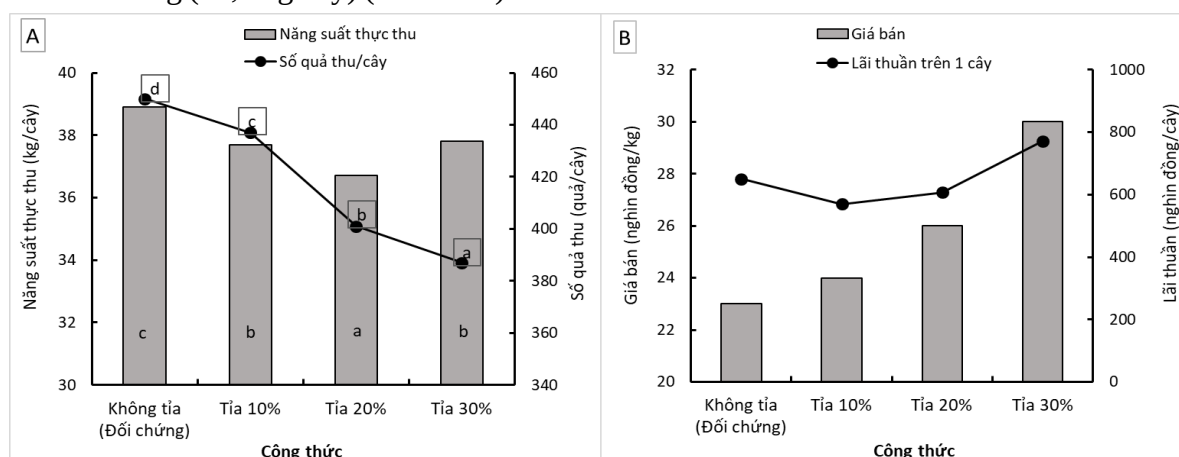
Công thức	Tỷ lệ quả hồng do sâu hại (%)	Tỷ lệ quả hồng do bệnh hại (%)
Tỉa 10%	21,92 c	23,47 c
Tỉa 20%	14,27 b	17,67 b
Tỉa 30%	8,88 a	11,27 a
Không tỉa (Đối chứng)	34,48 d	36,53 d
<i>LSD</i> _{0,05}	1,874	1,664
<i>CV</i> %	4,70	3,70

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

3.1.4. Ảnh hưởng của biện pháp tỉa quả tới năng suất và hiệu quả kinh tế

Năng suất và hiệu quả kinh tế thể hiện tính khả thi trong việc ứng dụng kỹ thuật vào sản xuất. Kết quả cho thấy, mức độ tỉa thưa tăng làm giảm số quả thu hoạch trên cây và thấp nhất khi tỉa 30% (đạt 387 quả/cây), đồng thời làm giảm năng suất thực thu, trừ công thức tỉa 30% cho năng suất thực thu tăng trở lại (đạt 37,8 kg/cây) nhưng vẫn thấp hơn đối chứng (38,9 kg/cây) (Hình 2-A). Khi

tỉa quả, kích thước quả tăng làm tăng giá bán và đạt cao nhất ở tỉa 30% (30.000 đồng/kg). Hiệu quả kinh tế cao nhất khi tỉa 30% với lãi thuần đạt 772.000 đồng/cây, cao hơn đối chứng (650.000 đồng/cây). Tỉa 10% và 20% số quả làm giảm hiệu quả kinh tế so với đối chứng, với lãi thuần đạt được lần lượt là 570.000 đồng và 607.000 đồng trên 1 cây (Hình 2-B).



Hình 2. Ảnh hưởng của các mức tỉa quả tới: (A) số quả thu hoạch và năng suất thực thu; và (B) giá bán và lãi thuần trên giống táo 05 trồng tại Gia Lâm, Hà Nội năm 2018 – 2019. Các giá trị trong cùng một chỉ số có chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$ (A).

3.2. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới kích thước và chất lượng quả giống táo 05

3.2.1. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới kích thước quả

Kết quả bảng 4 cho thấy bao quả làm tăng kích thước và khối lượng quả đáng kể so với đối chứng. Cụ thể, sử dụng túi nilong

bao quả cho đường kính, chiều cao quả lớn nhất (7,24 cm; 8,24 cm) và khối lượng quả cao nhất (114,30 g), tăng 25,5% so với đối chứng. Bao quả bằng túi xốp cũng làm tăng đáng kể đường kính và chiều cao quả (6,65 cm và 7,67 cm), và khối lượng quả đạt 107,30 g, tăng 17,7% so với đối chứng (Bảng 4; Hình 3).

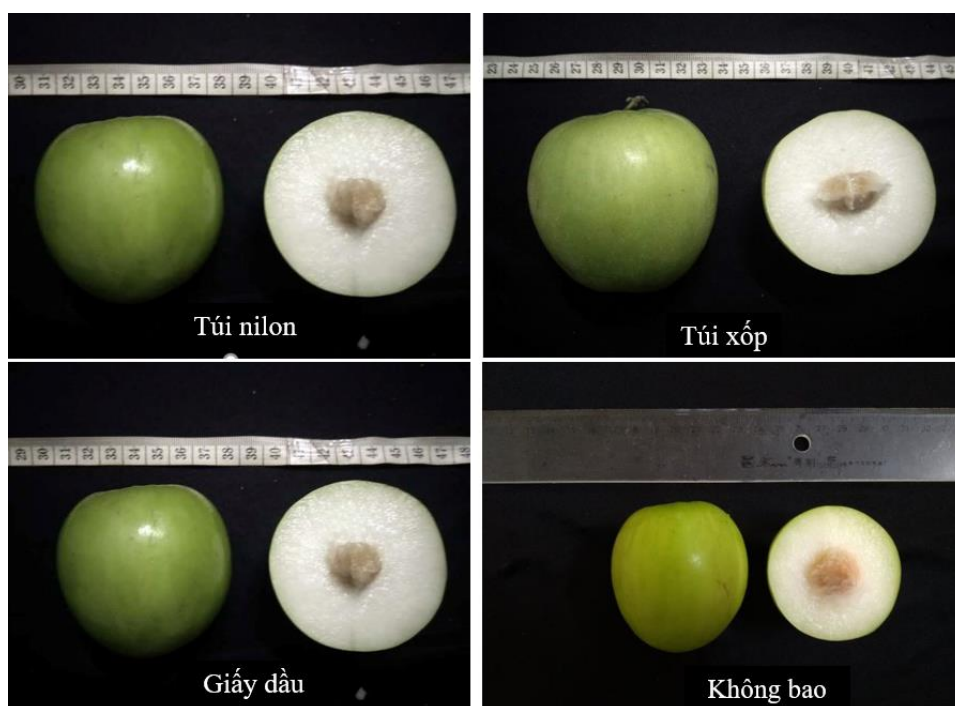
Bảng 4. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới các chỉ tiêu vật lý của quả giống táo 05

Công thức	Đường kính quả (cm)	Chiều cao quả (cm)	Khối lượng quả (g)	Khối lượng quả tăng số với đối chứng (%)	Hàm lượng nước (%)	Khối lượng chất khô (g/quả)
Túi nilon	7,24 d	8,24 d	114,30 d	25,3	88,38 b	13,3 b
Túi xốp	6,65 c	7,67 c	107,30 c	17,7	87,25 b	14,4 b
Giấy dầu	5,59 b	6,73 b	93,30 b	2,3	82,52 a	10,1 a
Đối chứng	5,31 a	6,52 a	91,20 a	-	81,57 a	10,7 a
<i>LSD_{0.05}</i>	0,199	0,20	2,00	-	2,078	1,204
<i>CV%</i>	5,60	5,40	7,10	-	2,20	1,8

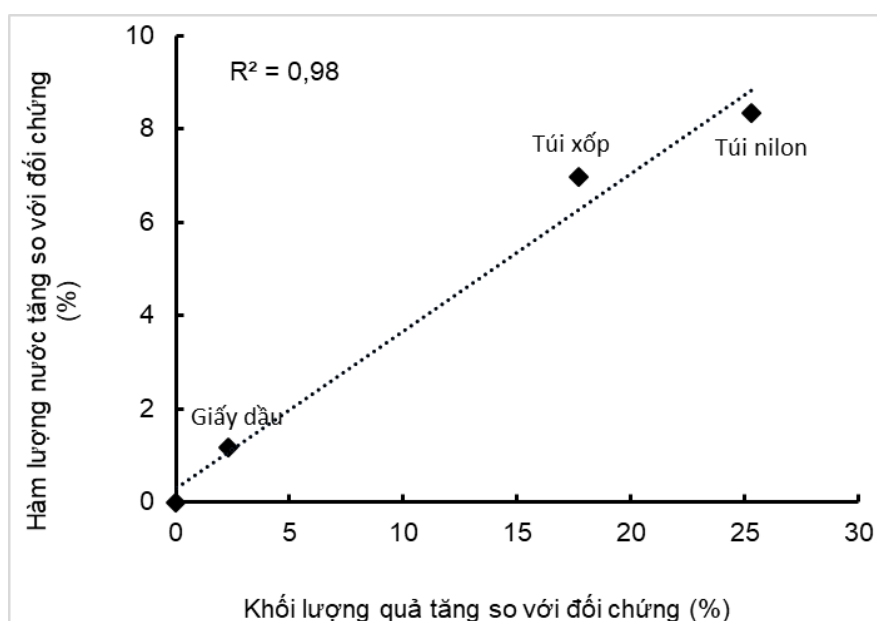
Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

Kết quả bảng 4 cũng cho thấy, hàm lượng nước trong quả tăng đáng kể khi bao quả, cụ thể bao quả bằng túi nilon cho hàm lượng nước trong quả cao nhất (88,38%), tiếp sau là bao túi xốp (87,25%), giấy dầu (82,52%) và thấp nhất là không bao (81,57%). Sự tăng hàm lượng nước có tương quan dương, cụ thể là tỷ lệ thuận với tăng khối lượng quả ($R^2 = 0,98$) (Hình 4) so với đối

chứng. Đồng thời, khối lượng chất khô trong quả tăng khi bao túi nilon (13,3 g) và túi xốp (14,4 g) so với đối chứng. Như vậy, việc tăng khối lượng quả có thể được giải thích chủ yếu do tăng hàm lượng nước và tăng hàm lượng chất khô tích lũy trong quả. Hàm lượng nước trong quả táo cao có thể là ưu thế cho thương mại vì làm quả căng đều, tăng độ bóng của quả.



Hình 3. Quả giống táo 05 khi bao bằng các vật liệu khác nhau tại thời điểm thu hoạch: túi nilon, túi xốp, giấy dầu, không bao (Đối chứng).



Hình 4. Tương quan thuận giữa hàm lượng nước tăng so với đối chứng (%) và khối lượng quả tăng so với đối chứng (%) khi bao quả giống táo 05 bằng các vật liệu bao quả khác nhau: túi nilon, túi xốp, giấy dầu và không bao (Đối chứng)

3.2.2. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới chất lượng quả

Kết quả bảng 5 cho thấy vật liệu bao quả không làm ảnh hưởng tới tỷ lệ phần ăn được của quả giống táo 05, trong khi làm giảm độ cứng quả khi bao bằng túi nilon và

túi xốp so với đối chứng. Cụ thể, độ cứng quả thấp nhất ($3,27 \text{ kg/cm}^2$) khi bao bằng túi nilon và cao nhất khi không bao ($3,72 \text{ kg/cm}^2$). Bao bằng túi xốp cho độ cứng quả ($3,38 \text{ kg/cm}^2$) thấp hơn đối chứng, và giấy dầu ($3,65 \text{ kg/cm}^2$).

Bảng 5. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới chất lượng quả giống táo 05

Công thức	Tỷ lệ phần ăn được (%)	Độ cứng quả (kg/cm ²)	TSS (°Brix)	Hàm lượng axit tổng số (TA) (%)	TSS/TA
Túi nilon	94,89	3,27 a	15,69 a	0,197	82,4 a
Túi xốp	94,93	3,38 a	17,02 b	0,217	102,7 b
Giấy dầu	94,96	3,65 b	15,53 a	0,202	80,7 a
Đối chứng	94,33	3,72 b	17,02 b	0,207	101,7 b
CV%	4,50	2,40	2,80	5,301	2,1

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

Hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số giảm khi bao bằng túi nilon (đạt 15,69 %) và túi giấy dầu (15,53%) so với đối chứng (đạt 17,02%) và túi xốp (với 17,02%). Trong khi đó, vật liệu bao quả không ảnh hưởng đến hàm lượng axit tổng số trong dịch quả, dao động từ 0,197% (bao túi nilon) đến 0,217% (bao túi xốp). Tương ứng, chỉ số TSS/TA giảm ở công thức bao túi nilon (82,4) và giấy dầu (80,7) so với đối chứng, trong khi đó bao túi xốp cho chỉ số TSS/TA (102,7) tương đương với đối chứng (101,7) (Bảng 5).

3.2.3. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại

Kết quả nghiên cứu cho thấy, giống táo 05 bị gây hại bởi một số loại côn trùng và sâu hại như: sâu róm, ốc sên, ruồi vàng, rệp sáp và bọ cánh cứng. Bệnh hại quả bắt gặp trên giống táo 05 phổ biến nhất là bệnh thối quả và phần trắng. Biểu hiện ban đầu của bệnh là

trên vỏ quả xuất hiện các vết đốm nâu hoặc nâu đỏ gây rụng quả sớm, hoặc quả bị thối nhũn. Bệnh phần trắng thường gặp nhất giai đoạn quả sinh trưởng mạnh, tăng nhanh về kích thước và ở những vị trí lá rậm rạp, có nhiều quả. Trên vỏ quả bệnh có một lớp phần màu trắng mịn hoặc trắng xám. Quả bị bệnh dần chuyển sang màu nâu, không lớn được và rụng. Việc bao quả đã làm giảm gần như hoàn toàn việc hỏng quả do sâu và bệnh hại ở giống táo 05 với tỷ lệ quả hỏng chỉ ở mức dưới 1% khi bao bằng túi nilon và túi xốp. Bao giấy dầu có tỷ lệ quả hỏng ở mức chỉ rất thấp 1,14% do sâu hại và 5,25% do bệnh (Bảng 6). Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng việc bao quả đối với giống táo 05 trong sản xuất vì sâu, bệnh hại quả là một trong những vấn đề khó khắc phục đối với cây táo nếu không sử dụng thuốc hóa học, đặc biệt là đối với ruồi đục quả (Mirzaee, 2014).

Bảng 6. Ảnh hưởng của vật liệu bao tới tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh gây hại giống táo 05

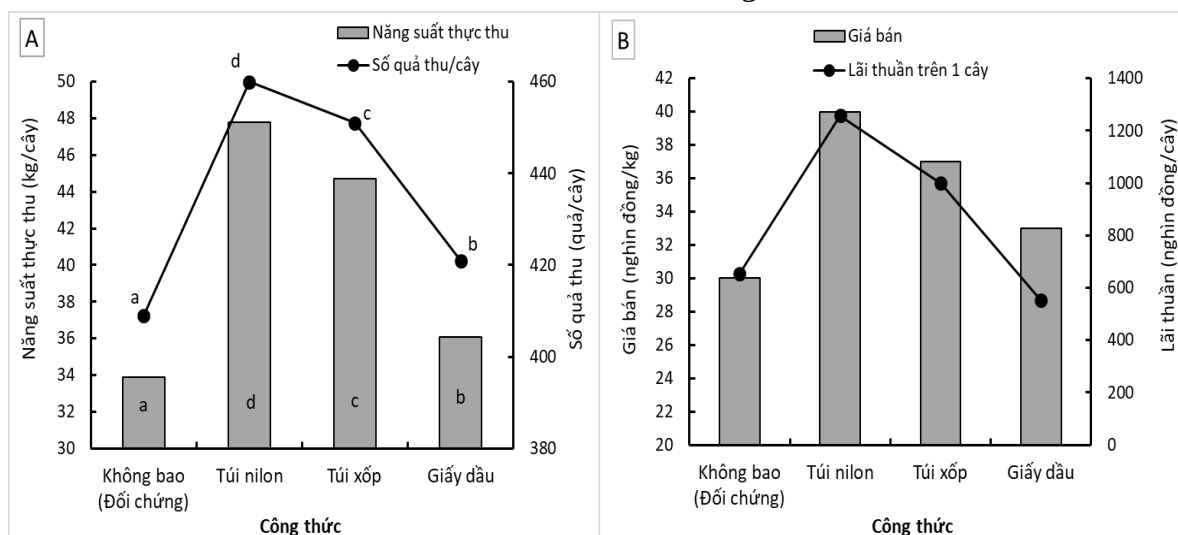
Công thức	Tỷ lệ quả hỏng do sâu hại (%)	Tỷ lệ quả hỏng do bệnh hại (%)
Túi nilon	0,08 a	0,11 a
Túi xốp	0,07 a	0,11 a
Giấy dầu	1,14 a	5,25 b
Đối chứng	21,53 b	31,93 c
CV%	10,70	8,00

Ghi chú: Các giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

3.2.4. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới năng suất và hiệu quả kinh tế

Các vật liệu bao khác nhau cho kết quả số quả thu được trên cây, năng suất thực thu, giá bán và lãi thuần có cùng xu hướng. Cụ thể, bao quả làm tăng số quả thu được trên cây, tăng năng suất thực thu (do tăng khối lượng và giảm tỷ lệ quả hỏng), tăng giá bán (do khối lượng quả tăng), và làm tăng lãi thuần (Hình 5A). Chi phí cho công lao động được bù lại bằng việc tăng năng suất và giá bán. Công thức bao túi nilon cho năng suất thực thu và lãi thuần cao nhất, tương ứng 47,8 kg/cây và 1.258.000

đồng/cây. Bao túi xốp cho năng suất thực thu và lãi thuần đứng thứ hai, tương ứng 44,7 kg/cây và 1.001.000 đồng/cây, cao hơn đáng kể so với đối chứng (đạt 33,9 kg/cây và 552.000 đồng/cây) (Hình 5B). Tuy nhiên, bao túi nilon làm giảm chỉ số TSS/TA trong khi đó túi xốp không ảnh hưởng chỉ số này. Do vậy, để vừa đáp ứng thị hiếu của người tiêu dùng và vẫn đem lại hiệu quả kinh tế cho người nông dân, việc bao túi xốp được khuyến cáo ứng dụng vào sản xuất táo. Bao túi nilon có nên được ứng dụng vào sản xuất hay không cần có đánh giá cảm quan và sự chấp nhận của người tiêu dùng mới có thể kết luận chính xác.



Hình 5. Ảnh hưởng của vật liệu bao quả tới: (A) số quả thu hoạch và năng suất thực thu; và (B) giá bán và lãi thuần trên giống táo 05 trồng tại Gia Lâm, Hà Nội năm 2018 – 2019. Các giá trị trong cùng một chỉ số có chữ cái khác nhau (hình 5-A) thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy $P < 0,05$.

4. KẾT LUẬN

Tỉa thưa 30% số quả trên cây đã tăng khối lượng quả, đạt 99,36 g (tăng 10,14% so với đối chứng), và làm giảm đáng kể tỷ lệ quả bị hỏng do sâu, bệnh hại (11,27%). Tỉa 30% số quả làm tăng tổng hàm lượng chất rắn hòa tan trong quả (17,2 %), giảm hàm lượng axit tổng số (0,180%), và tăng chỉ số TSS/TA (95,7). Đồng thời, tỉa 30% số quả

làm giảm năng suất thực thu (37,8 kg/cây) nhưng tăng lãi thuần (772.000 đồng/cây).

Bao quả bằng túi nilon và túi xốp đều có tỷ lệ quả hỏng do sâu, bệnh hại thấp tương ứng 0,7-0,8% và 0,11%, đồng thời làm tăng khối lượng quả do hàm lượng nước và khối lượng chất khô trong quả tăng. Bao quả bằng túi nilon làm tăng khối lượng quả, đạt 114,30 g (tăng 25,3%) nhưng làm giảm hàm lượng

chất rắn hòa tan tổng số (15,69%) và chỉ số TSS/TA (82,4). Bao quả bằng túi xếp tăng khối lượng quả, đạt 107,30 g (tăng 17,7%) và không ảnh hưởng tới hàm lượng chất rắn hòa tan tổng số (17,02%) và chỉ số TSS/TA (102,7). Túi nion cho năng suất thực thu và lãi thuần cao nhất, tương ứng 47,8 kg/cây và 1.258.000 đồng/cây, và theo sau là bao túi xếp với năng suất đạt 44,7 kg/cây và lãi thuần đạt 1.000.000 đồng/cây.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự tài trợ của Quỹ nghiên cứu khoa học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Biswas M., Azad A., Ahmed A. & Hossain A. (1989). Effect of fruit thinning on fruit size, yield and quality of Guava cv. Kaziipara [in Bangladesh]. Bangladesh Horticulture (Bangladesh).
- Bộ Nông Nghiệp Và Phát Triển Nông Thôn (2019). Quyết định về việc công nhận giống cây trồng nông nghiệp mới. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
- Cerniauskiene J., Kulaitiene J., Danilcenko H., Jariene E. & Jukneviene E. (2014). Pumpkin fruit flour as a source for food enrichment in dietary fiber. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 42(1): 19-23.
- Chen Y., Zhao Z., Zhao J. & Liu M. (2016). Expression profiles of genes and enzymes related to ascorbic acid metabolism in fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. 'Jinsixiaozao'. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*. 3(2): 131-136.
- Ciceoi R., Dobrin I., Mardare E. Ş., Dicianu E. D. & Stanica F. (2017). EMERGING PESTS OF ZIZIPHUS JUJUBA CROP IN ROMANIA. *Sci. Papers Ser. B Hortic*. 61: 143-153.
- Greene D. W. (2007). The effect of prohexadione-calcium on fruit set and chemical thinning of apple trees. *HortScience*. 42(6): 1361-1365.
- Jayasena V. & Cameron I. (2008). °Brix/acid ratio as a predictor of consumer acceptability of Crimson Seedless table grapes. *Journal of Food Quality*. 31(6): 736-750.
- Lê Thanh Mai N. T. H., Thủy P. T., Hằng N. & Chi L. (2009). Các phương pháp phân tích ngành công nghệ lên men. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Lê Văn Bé, Nguyễn Thành Nhân & Trương Hoàng Ninh (2014). XÂY DỰNG MÔ HÌNH THÂM CANH CÂY CHUỐI TẠI HUYỆN LONG MỸ, TỈNH HẬU GIANG. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 1-5.
- Li J.-W., Ding S.-D. & Ding X.-L. (2005). Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*. 40(11): 3607-3613.
- Michels T. & Normand F. (2004). Fruit thinning improves fruit quality and lessen alternate bearing in strawberry guava (# *Psidium Cattleianum*#).
- Mirzaee M. R. (2014). An overview of jujube (*Zizyphus jujuba*) diseases. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47(1): 82-89.

- Nguyễn Thị Thu Hương, Dương Xuân Thường, Nguyễn Quốc Hùng, Đào Quang Nghị, Đinh Thị Vân Lan & Hoàng Thị Minh Lý (2018). Báo cáo Khoa học kết quả thực hiện Đề tài: "Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật và xây dựng mô hình sản xuất thử nghiệm giống táo 05 tại Hưng Yên". Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hưng Yên.
- Nguyễn Văn Tuất, Bùi Thị Huy Hợp, Đỗ Hồng, Đào Quang Nghị, Nguyễn Văn Hòa, Hoàng Long & Lê Thị Liên (2015). QUY TRÌNH SẢN XUẤT ỔI AN TOÀN. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
- Payne R. W. (2009). GenStat. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics. 1(2): 255-258.
- Rasouli M., Khademi O. & Asadi W. (2020). The Impact of New Blossom Thinners and Hand-thinned on Fruit Quality and Quantity in Peach cv. Alberta and Nectarine cv. Sun King. International Journal of Fruit Science. 1-17.
- Trương Huỳnh Ngọc & Nguyễn Thị Thu Cúc (2010). Côn trùng gây hại cây vú sữa (*chrysophyllum cainito* L.) Trên một số địa bàn vùng đồng bằng sông cử long và đặc điểm sinh học của sâu róm *euproctis subnotata* (walker)(lepidoptera: limantriidae). Tạp Chí Khoa học. 13: 11.
- Yingying C., Zhihui Z., Jin Z. & Mengjun L. (2016). Expression profiles of genes and enzymes related to ascorbic acid metabolism in fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. 'Jinsixiaozao'. Frontiers of Agricultural Science and Engineering. 3(2): 131-136.
- Zhen-Gui O. (2008). Study on Suitable Fruit Load of Pearl Guava [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences. 35.

**NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG CÂY BA KÍCH
(*MORINDA OFFICINALIS* HOW) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM HOM
TẠI BẮC GIANG**

Nguyễn Mai Thom, Kim Ngọc Quang, Võ Đại Hải, Thiều Thị Phong Thu

TÓM TẮT

Sử dụng chất kích thích sinh trưởng IBA nồng độ 1000ppm và 1500ppm trong giâm hom Ba kích cho tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất 93,5-94,1%. Thời vụ giâm hom Ba kích tốt nhất ở Lục Nam - Bắc Giang là vụ đông. Sử dụng hom giữa trong nhân giống cho kết quả tốt nhất. Giống Ba kích BK11 và BK9 cho tỷ lệ cây hom đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất 86,6-87,6%.

Từ khóa: Ba kích, nhân giống từ hạt, giâm hom

ABSTRACT

Using IBA with a concentration of 1000ppm and 1500ppm in stem cuttings gave the highest standard plant rate of 93.5-94.1%. The optimal season of cuttings in Bac Giang is winter. Using stem middle position of BK11 and BK9 varieties for stem cutting obtained the highest percentage of the standard planting (86.6-87.6%).

Keywords: *Morinda officinalis* How, seeding propagation, cutting propagation

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ba kích có tên khoa học là *Morinda officinalis* How, họ Cà phê *Rubiaceae*. Tên gọi khác: Ba kích thiên, Dây ruột gà, Châu phóng xì (Hải Ninh), Thau tày cày (Tày), Chồi hoàng kim, Sáy cày (Thái), Chày kiang dò (Dao). Đây là loài cây dược liệu quý hiếm có phân bố tập trung ở các tỉnh Quảng Ninh, Tuyên Quang, Phú Thọ, Nghệ An,... (Lê Mộng Chân, Lê Thị Huyền, 2000). Ba kích có rất nhiều công dụng, trong dân gian Ba kích được dùng phổ biến làm thuốc bổ, tăng lực. có tác dụng bổ thận âm, bổ thận dương, tăng cường gân cốt, khử phong thấp (Đỗ Tất Lợi, 2004); (Đỗ Huy Bích và cs, 2006).

Hiện tại đã có một số công trình nghiên cứu về nhân giống cây Ba kích từ hạt và từ hom nhưng chưa thực sự đầy đủ, hệ thống,

đặc biệt là tại huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang, do đó thiếu các thông tin và cơ sở khoa học cho việc phát triển nhân giống chất lượng cao cũng như trồng Ba kích. Kết quả nghiên cứu trình bày trong tham luận này sẽ cung cấp thêm các thông tin và kỹ thuật nhân giống cây Ba kích góp phần phục vụ sản xuất, phát triển ba kích ở quy mô rộng theo hướng hàng hóa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng và nồng độ đến tỷ lệ nảy mầm của hom Ba kích

- Về loại chất kích thích sinh trưởng: Đề tài sử dụng 3 loại sau: IBA, IAA và NAA.

- Về nồng độ: ứng với mỗi loại chất kích thích sinh trưởng đề tài bố trí 3 mức nồng độ khác nhau là: 500 ppm, 1000 ppm và 1500 ppm.

Tổng cộng có 10 công thức thí nghiệm, trong đó 9 công thức sử dụng chất điều hòa sinh trưởng và 1 công thức đối chứng không sử dụng). Các công thức thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần với 50 hom/công thức/lần lặp.

Hom nghiên cứu là hom giữa lấy từ giống BK11 trong vườn giống Ba kích trên 2 năm tuổi, hom được cắt từ cành bánh tẻ mập, khỏe mạnh, lá dày, xanh không sâu bệnh, hom có chiều dài từ 10-15cm. Hom giữa là hom được lấy sau hom ngọn đến sát hom gốc của cành bánh tẻ. Thời gian xử lý hom kéo dài 30 phút sau đó mới cấy hom vào bầu đất đã được xử lý thuốc diệt nấm Viben-C 0,3 - 0,5%. Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá gồm:

- Thời gian hom bắt đầu nảy chồi (ngày).
- Thời gian hom bắt đầu ra rễ (ngày).
- Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%).
- Thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (ngày).

2.2. Nghiên cứu thời vụ giâm hom cây Ba kích

Bố trí 4 công thức thí nghiệm thời vụ giâm hom khác nhau như sau:

- CT1: Vụ xuân (tháng 3-4).
- CT2: Vụ hè (tháng 5-6).
- CT3: Vụ thu (tháng 8-9).
- CT4: Vụ đông (tháng 11-12).

Các công thức thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, 50 hom/công thức/lần lặp.

Chất kích thích ra rễ trong nghiên cứu này được áp dụng là IBA nồng độ 1000 ppm. Hom nghiên cứu là hom giữa được lấy từ giống Ba kích BK11 tại vườn giống Ba kích trên 2 năm tuổi, hom được cắt từ cành bánh tẻ mập, khỏe mạnh, lá dày, xanh không sâu

bệnh, hom có chiều dài từ 10-15cm. Thời gian xử lý hom kéo dài 30 phút sau đó cấy hom vào bầu đất đã được xử lý thuốc diệt nấm Viben-C 0,3 - 0,5%. Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá giống thí nghiệm trên.

2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại hom đến sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con xuất vườn

Bố trí 3 công thức thí nghiệm về loại hom như sau:

- CT1: Hom ngọn.
- CT2: Hom giữa.
- CT3: Hom gốc

Hom ngọn: Là hom được cắt từ ngọn đến quá đốt thứ 3 dài trung bình khoảng 14 - 20 cm tùy theo khoảng cách giữa các đốt.

Hom giữa: Là hom được lấy sau hom ngọn đến sát hom gốc. Hom giữa dài trung bình 7-10cm. Mỗi cành có thể cắt được từ 7 - 12 hom giữa.

Hom gốc: Là hom đầu tiên của cành bánh tẻ, hom gốc dài từ 7 - 10cm, gồm có 3 đốt.

Các công thức thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, 50 hom/công thức/lần lặp.

Chất kích thích sinh trưởng được sử dụng trong nghiên cứu là IBA nồng độ 1000 ppm. Các hom được lấy từ các giống Ba kích BK11 tại vườn giống Ba kích trên 2 năm tuổi. Thời gian xử lý hom kéo dài 30 phút sau đó cấy hom vào bầu đất đã được xử lý thuốc diệt nấm Viben-C 0,3 - 0,5%. Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá giống các thí nghiệm trên.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu chất kích thích sinh trưởng và nồng độ phù hợp cho nhân giống hom Ba kích

Kết quả thí nghiệm trình bày tại bảng 1 cho thấy thời gian hom bắt đầu nảy chồi biến động không nhiều giữa các loại chất kích thích sinh trưởng và giữa các nồng độ khác nhau, dao động từ 12-15 ngày, trong đó

nồng độ 1000 ppm có thời gian hom nảy chồi sớm nhất, trước các nồng độ 500 ppm và 1500 ppm ở cả 3 chất kích thích sinh trưởng 1-2 ngày.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chất kích thích và nồng độ đến sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn

Loại chất kích thích	Nồng độ (ppm)	Thời gian hom bắt đầu nảy chồi (ngày)	Thời gian hom bắt đầu ra rễ (ngày)	Tỷ lệ hom sống (%)	Tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%)	Thời gian cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (ngày)
IAA	500	15	18	82,3	78,4	121
	1000	14	17	86,6	82,4	117
	1500	15	18	85,6	82,6	118
NAA	500	15	20	80,6	79,5	122
	1000	13	19	85,0	83,1	118
	1500	14	18	85,0	83,5	117
IBA	500	14	18	90,8	85,6	121
	1000	12	17	97,6	93,5	118
	1500	13	17	94,3	94,1	117
LSD0.05 L.		1,46	0,44	1,79	1,47	1,54
LSD0.05ND		1,47	0,44	1,78	1,47	1,53
CV%		10,6	2,4	2,0	1,7	1,3

Thời gian hom bắt đầu ra rễ cũng không có sự biến động lớn giữa các chất kích thích sinh trưởng và giữa các nồng độ khác nhau, dao động từ 17-20 ngày và không có quy luật chung nào. Nhìn chung, thời gian hom bắt đầu ra rễ sau thời gian hom nảy chồi từ 3-6 ngày.

Tỷ lệ hom sống ở các chất kích thích sinh trưởng biến động khá lớn, cao nhất là chất kích thích sinh trưởng IBA có tỷ lệ hom sống 90,8-97,6%, tiếp đến là chất IAA có tỷ lệ hom sống 82,3-86,6% và thấp nhất là chất NAA có tỷ lệ hom sống 80,6-85,0%. Nhìn chung, mức độ biến động về tỷ lệ hom sống giữa IAA và NAA là không lớn. Kết quả tính toán thống kê và kiểm tra sai dị về tỷ lệ hom sống giữa các nồng độ khác nhau cho thấy có sự sai khác rõ rệt, trong đó nồng độ tốt

nhất là 1000 ppm, thứ hai là nồng độ 1500 ppm, thấp nhất là nồng độ 500 ppm.

Chỉ tiêu quan trọng nhất trong tạo cây con chính là tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn ở các chất kích thích sinh trưởng khá cao, đạt trên 78,4%, trong đó cao nhất là chất IBA với tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn 85,6-94,1%, tiếp đến là chất NAA với tỷ lệ 79,5-83,5% và thấp nhất là chất IAA với 78,4-82,6%. Kết quả kiểm tra sai dị cho thấy công thức IBA nồng độ 1000 ppm và 1500 ppm là tốt nhất, cho tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn 93,5-94,1%.

Việc nghiên cứu theo dõi thời gian cây giống đạt tiêu chuẩn xuất vườn cũng rất quan trọng nhằm phục vụ cho việc lập kế hoạch sản xuất giống. Số liệu bảng 4 cho thấy thời

gian cây giống đạt tiêu chuẩn xuất vườn dao động từ 117 - 122 ngày và không có sự khác biệt nhiều giữa các chất kích thích sinh trưởng, trong đó nồng độ 1000 ppm và 1500 ppm có thời gian cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn ngắn nhất 117-118 ngày.

Tổng hợp các kết quả trên đây có thể rút ra kết luận chất kích thích sinh IBA nồng độ 1000 ppm và 1500 ppm là tốt nhất cho giâm hom Ba kích.

Bảng 2. Ảnh hưởng thời vụ giâm hom tới sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn

Công thức	Thời gian hom bắt đầu nảy chồi (ngày)	Thời gian hom bắt đầu ra rễ (ngày)	Tỷ lệ hom sống (%)	Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%)	Thời gian cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn (ngày)
Vụ xuân	16	20	88,2	81,6	117
Vụ hè	15	20	70,7	67,9	120
Vụ thu	16	19	82,4	73,6	120
Vụ đông	18	19	88,0	87,2	118
<i>L0.05SD</i>	1,10	2,55	4,04	4,47	0,66
<i>CV%</i>	3,4	6,3	2,5	2,9	1,3

Tỷ lệ hom sống ở các công thức cũng có sự biến động khá lớn và có ý nghĩa về mặt thống kê. Tỷ lệ hom sống đạt cao nhất ở vụ xuân (88,2%) và vụ đông (88,0%), vụ thu đạt 82,4% và thấp nhất là vụ hè khi chỉ đạt 70,7%.

Về tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn, số liệu bảng 5 cho thấy tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất là ở vụ đông 87,2% và có sự sai khác có ý nghĩa với các vụ khác; tiếp đến là vụ xuân tỷ lệ này đạt 81,6%, vụ thu đạt 73,6% và thấp nhất là vụ hè 67,9%. Thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn ở các thời vụ giâm hom biến động không lớn, dao động 117-120 ngày, trong đó vụ đông là 118 ngày.

Tổng hợp các kết quả phân tích và đánh giá trên đây có thể rút ra thời vụ giâm hom tốt nhất với cây Ba kích là vụ đông.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại hom đến sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn

Kết quả nghiên cứu cho ta một số nhận xét sau đây:

- Thời gian bắt đầu nảy chồi của hom giữa là sớm nhất (ngày thứ 16), trong khi hom ngọn thời gian bắt đầu nảy chồi là ngày 19 và lâu nhất là hom gốc với 28 ngày.

- Thời gian hom bắt đầu ra rễ nhanh nhất vẫn là ở công thức hom giữa với 19 ngày, tiếp đến là hom ngọn với 22 ngày và lâu nhất là hom gốc với 34 ngày.

3.2. Nghiên cứu thời vụ giâm hom Ba kích

Số liệu bảng 2 cho thấy thời gian hom bắt đầu nảy chồi ở vụ xuân, hè và thu là 15-16 ngày, riêng vụ đông do thời tiết lạnh hơn nên thời gian hom bắt đầu nảy chồi cũng chậm hơn so với các vụ khác (ngày thứ 18). Thời gian hom bắt đầu ra rễ không có sự biến động nhiều ở các vụ, dao động từ 19-20 ngày.

Bảng 3. Ảnh hưởng của loại hom đến sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn

Công thức	Thời gian hom bắt đầu nảy chồi (ngày)	Thời gian hom bắt đầu ra rễ (ngày)	Tỷ lệ hom sống (%)	Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%)	Thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (ngày)
Hom ngọn	19	22	84,8	74,3	126
Hom giữa	16	19	95,6	87,2	118
Hom gốc	28	34	74,7	72,0	130
<i>LSD0.05</i>	3,15	4,68	6,89	9,53	4,09
<i>CV%</i>	6,6	8,3	3,6	5,4	1,4

- Về tỷ lệ hom sống Ba kích nhìn chung đạt khác cao, cao nhất là công thức hom giữa đạt 95,6%, tiếp đến là hom ngọn với 84,8% và thấp nhất là hom gốc với 74,7%. Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn cũng có quy luật tương tự như tỷ lệ sống của hom, công thức hom giữa có số cây đạt tiêu chuẩn cây xuất vườn với tỷ lệ 87,2%, hom ngọn và hom gốc có tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn chênh lệch nhau không nhiều với 74,3% và 72,0%. Kết quả kiểm tra sai dị cho thấy các loại hom có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn. Công thức hom giữa là tốt nhất và có thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 118 ngày.

3.4. Nghiên cứu khả năng nhân giống bằng hom của các giống giống Ba kích tại Bắc Giang

Kết quả nghiên cứu bảng 4 cho thấy:

- Thời gian hom bắt đầu nảy chồi ở các giống Ba kích có sự biến động không lớn, hầu hết các giống đều bắt đầu nảy chồi vào ngày thứ 15, riêng giống BK6 nảy chồi ở ngày thứ 14 và giống BK2 nảy chồi ở ngày thứ 16.

- Thời gian hom bắt đầu ra rễ sớm nhất là giống BK11 vào ngày 17 sau khi giâm, tiếp đến là giống BK4 ở ngày 18; các giống BK2, BK3 và BK6 hom bắt đầu ra rễ vào ngày 20; các giống còn lại ra rễ vào ngày 19. Nhìn chung, thời gian hom bắt đầu ra rễ cũng không có sự khác biệt lớn ở các giống Ba kích.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các giống Ba kích đến sự nảy chồi, ra rễ của hom và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn

Công thức	Thời gian hom bắt đầu nảy chồi (ngày)	Thời gian hom bắt đầu ra rễ (ngày)	Tỷ lệ hom sống (%)	Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%)	Thời gian cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (ngày)
BK1	15	19	83,4	82,5	125
BK2	16	20	90,5	82,5	124
BK3	15	20	88,4	81,5	123
BK4	15	18	91,3	81,8	126
BK5	15	19	93,2	82,4	124
BK6	14	20	81,0	80,7	125
BK7	15	19	94,7	83,9	125
BK8	15	19	93,1	82,7	123
BK9	15	19	88,9	86,6	124
BK10	15	19	93,8	83,3	122
BK11	15	17	95,8	87,6	120
<i>LSD0.05</i>	1,79	2,06	3,5	3,2	2,67
<i>CV%</i>	7,0	6,3	5,7	5,5	1,3

- Về tỷ lệ hom sống, số liệu bảng 7 cho thấy giống BK11 đạt tỷ lệ sống cao nhất với 95,8%, tiếp đến là giống BK7 với 94,7%, BK10 với 93,8%; các giống có tỷ lệ hom sống thấp gồm BK6 với 81,0% và BK1 với 83,4%. Kết quả kiểm tra sai dị cho thấy có 5 giống sau đây nằm trong nhóm có tỷ lệ sống cao nhất gồm: BK11, BK7, BK10, BK5 và BK8.

- Các giống có tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao là BK11 (87,6%), BK9 (86,6%), BK7 (83,9%) và BK10 (83,3%). Các giống có tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn thấp là: BK6 (80,7%) và BK3 (81,5%). Kết quả kiểm tra sai dị cho thấy trong 11 giống Ba kích nghiên cứu có 2 giống có tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất là BK11 và BK9, đây cũng là 2 giống mà đề tài kiến nghị áp dụng trong thức tiễn sản xuất.

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu thu được có thể rút ra một số kết luận sau đây:

- Sử dụng chất kích thích sinh trưởng IBA nồng độ 1000ppm và 1500ppm trong ngâm hom Ba kích cho tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất 93,5-94,1%.

- Thời vụ ngâm hom Ba kích tốt nhất ở Bắc Giang là vụ đông.

- Sử dụng hom giữa trong nhân giống cho kết quả tốt nhất.

- Giống Ba kích BK11 và BK9 cho tỷ lệ cây hom đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao nhất 86,6-87,6%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Tất Lợi, 2004. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập và Trần Toàn (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập I, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

Ninh Thị Phíp, 2013. Một số biện pháp kỹ thuật tăng khả năng nhân giống của cây đinh lăng lá nhỏ, *Polyscias fruticosa* (L) Harms. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, Tập 11 số 2: 168-173.