

## XÂY DỰNG KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG *IN VITRO* DƯA LÊ KIM HOÀNG HẬU

Nguyễn Văn Việt<sup>1</sup>, Đoàn Thị Thu Hương<sup>2</sup>, Trần Việt Hà<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

### TÓM TẮT

Dưa lê Kim hoàng hậu thuộc họ bầu bí (*Cucurbitaceae*) là giống lai F<sub>1</sub> thế hệ mới, có thời gian sinh trưởng ngắn, trồng nhiều vụ trong một năm với năng suất cao. Tuy nhiên, Việt Nam chưa tự sản xuất được hạt giống dưa lê Kim hoàng hậu mà phải nhập từ các công ty sản xuất giống của nước ngoài nên giá thành hạt giống khá cao. Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống *in vitro* cây dưa lê Kim hoàng hậu nhằm phục vụ nhu cầu sản xuất quy mô lớn và nâng cao năng suất cây trồng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng bằng dung dịch javen 6% trong 6 phút sau đó nuôi mẫu trên môi trường nuôi cấy khởi đầu cho tỷ lệ mẫu sạch là 96,7%, tỷ lệ mẫu nảy mầm là 93,3%. Cắm ứng tạo đa chồi trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin, 10 g/l glucose, 20 g/l sucrose, 6 g/l agar cho hệ số nhân chồi cao nhất (6,86) sau 4 tuần nuôi cấy. Chồi hữu hiệu được cấy chuyển sang môi trường ra rễ là MS bổ sung 0,4 mg/l NAA, 10 g/l glucose, 20 g/l sucrose, 6 g/l agar sau 4 tuần nuôi cấy, đạt tỷ lệ ra rễ là 100% và số rễ trung bình/chồi đạt 13,7.

**Từ khóa:** Dưa lê Kim hoàng hậu, đa chồi, nuôi cấy *in vitro*.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dưa lê Kim hoàng hậu thuộc họ bầu bí (*Cucurbitaceae*) là giống lai F<sub>1</sub>, được coi là cây trồng mới với năng suất cao hơn gấp nhiều lần so với các giống dưa khác hiện ở Việt Nam. Giống có khả năng sinh trưởng, phát triển khỏe, thích ứng rộng, phù hợp với điều kiện tự nhiên vùng nhiệt đới quanh năm, có thể trồng ở đồng ruộng hay ở các nhà kính tại các khu công nghệ cao mang lại giá trị kinh tế cao cho người dân. Hiện nay, dưa lê Kim hoàng hậu được trồng nhiều nước trên thế giới, là loại thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao. Quả dưa lê Kim hoàng hậu có hàm lượng cao potassium và chất xơ, ngoài ra còn chứa  $\beta$ -carotene, axit folic, kali và vitamin C, A rất có lợi cho sức khỏe con người (Compton M.E. *et al*, 2004).

Mặc dù giá trị dinh dưỡng cũng như giá trị kinh tế cao nhưng hiện nay Việt Nam chưa tự sản xuất được hạt giống dưa lê Kim hoàng hậu mà phải nhập hạt giống lai F<sub>1</sub> từ các công ty sản xuất giống của nước ngoài nên giá thành hạt giống khá cao. Hơn nữa, ở Việt Nam và trên thế giới chưa có nghiên cứu nào về nhân giống *in vitro* dưa lê Kim hoàng hậu. Do vậy, xây dựng quy trình nhân nhanh *in vitro* cây dưa lê Kim hoàng hậu sẽ có ý nghĩa quan trọng trong công tác nhân và tạo giống dưa có nhiều ưu điểm này, góp phần chủ động cung cấp nguồn giống có chất lượng cao, sạch bệnh, đồng đều với số lượng lớn.

Nghiên cứu này được thực hiện với mục

đích bước đầu xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây dưa lê Kim hoàng hậu làm cơ sở cho việc nhân nhanh nguồn vật liệu khởi đầu và tạo ra một số lượng lớn cây giống phục vụ nhu cầu sản xuất quy mô công nghiệp.

### II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt giống dưa lê Kim hoàng hậu (nguồn từ Công ty Nông nghiệp công nghệ cao - Tổng Công ty Mía đường Lam Sơn, Thanh Hóa cung cấp).

Chất khử trùng: ethanol 70%, javen 6%.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Phương pháp chung

Bố trí thí nghiệm theo phương pháp sinh học thực nghiệm, lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại có dung lượng mẫu lớn ( $n \geq 30$ ), kết quả là giá trị trung bình của các lần lặp, khử trùng môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ 118<sup>0</sup>C, áp suất 1 atm, môi trường có pH = 5,8. Cường độ chiếu sáng 2.000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 24  $\pm$  2<sup>0</sup>C.

##### 2.2.2. Tạo mẫu sạch và nuôi cấy khởi động

Mẫu hạt được làm sạch bằng nước xà phòng loãng (10%), rửa lại bằng nước cất vô trùng. Khử trùng mẫu bằng hai loại hóa chất (dung dịch javen 6%, ethanol 70%) với thời gian khác nhau, rửa sạch chất khử trùng bằng nước cất vô trùng, ngâm hạt trong nước cất vô trùng trong 20 phút sau đó cấy hạt trên môi trường nuôi cấy khởi đầu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 18 ngày.

##### 2.2.3. Nhân nhanh chồi *in vitro*

*Thí nghiệm 1:* Ảnh hưởng của môi trường

dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh chồi

Sau khi hạt dừa nảy mầm, chồi đỉnh cây dừa được cấy trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau (MS, MS\*, WPM) bổ sung 6g/l agar, thời gian theo dõi là 4 tuần.

*Thí nghiệm 2:* Ảnh hưởng của loại và hàm lượng đường đến khả năng nhân nhanh

Chồi dừa đạt kích thước 2 - 2,5 cm được nuôi cấy trên các môi trường nhân nhanh với loại và hàm lượng đường khác nhau (glucose, sucrose với hàm lượng 10 - 30 g/l). Thời gian theo dõi là 4 tuần.

*Thí nghiệm 3:* Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh

Chồi đỉnh cây dừa được cấy vào môi trường dinh dưỡng phù hợp được chọn ở 2 thí nghiệm trên và bổ sung BAP với hàm lượng khác nhau (0,1 - 0,7 mg/l). Thời gian theo dõi là 4 tuần.

*Thí nghiệm 4:* Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và kinetin đến khả năng nhân nhanh

Chọn nồng độ BAP phù hợp ở thí nghiệm trên, kết hợp với (0,1 - 0,4 mg/l) kinetin. Thời gian theo dõi là 4 tuần.

#### 2.2.4. Tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi hữu hiệu có chiều cao 2 - 3 cm, phát triển đồng đều được cấy lên môi trường kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh với môi trường dinh dưỡng phù hợp lựa chọn ở thí nghiệm trên, bổ sung NAA (0,2 - 0,8 mg/l). Kết quả được ghi nhận sau 4 - 5 tuần.

#### 2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Thu thập số liệu:

**Bảng 1. Ảnh hưởng của loại hóa chất và thời gian khử trùng đến tạo mẫu sạch**

| Hóa chất | CTTN            | Thời gian (phút) | Tỷ lệ mẫu sạch (%) | Tỷ lệ mẫu nảy mầm (%) | Thời gian nảy mầm (ngày) |
|----------|-----------------|------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------|
| Cồn 70°  | KT <sub>1</sub> | 3                | 40,0               | 26,7                  | 12                       |
|          | KT <sub>2</sub> | 5                | 46,7               | 40,0                  | 12                       |
|          | KT <sub>3</sub> | 7                | 83,3               | 80,0                  | 12                       |
|          | KT <sub>4</sub> | 9                | 90,0               | 46,7                  | 15                       |
|          | KT <sub>5</sub> | 2                | 76,7               | 56,7                  | 12                       |
| Javen 6% | KT <sub>6</sub> | 4                | 83,3               | 73,3                  | 12                       |
|          | KT <sub>7</sub> | 6                | 96,7               | 93,3                  | 12                       |
|          | KT <sub>8</sub> | 8                | 100                | 36,7                  | 18                       |

$$F_{tính} = 191,23 > F_{0,05} = 2,67$$

Tỷ lệ mẫu sạch (%) = số mẫu sạch/số mẫu ban đầu x 100;

Tỷ lệ mẫu nảy mầm (%) = số mẫu nảy mầm/tổng số mẫu ban đầu x 100;

Số chồi trung bình/mẫu = tổng số chồi/số mẫu cấy ban đầu;

Số rễ trung bình/chồi = tổng số rễ/số chồi cấy ban đầu.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phương pháp Duncan, 1995.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU, THẢO LUẬN

#### 3.1. Tạo mẫu sạch và tái sinh chồi *in vitro*

Hạt dừa sau khi được làm sạch và khử trùng bằng dung dịch javen 6% hoặc ethanol 70% với thời gian khác nhau. Sau đó cấy mẫu trên môi trường nuôi cấy khởi đầu, kết quả cho thấy (Bảng 1) khi sử dụng javen 6% để khử trùng mẫu trong thời gian 2 phút (KT<sub>5</sub>), tỷ lệ mẫu sạch đạt 76,7%, với tỷ lệ mẫu nảy mầm đạt 56,7%. Khi tăng thời gian lên 6 phút (KT<sub>7</sub>), tỷ lệ mẫu sạch đạt 96,7%, tỷ lệ mẫu nảy mầm là 93,3%. Với javen 6%, khử trùng trong 8 phút, tỷ lệ mẫu sạch cao nhất là 100% nhưng tỷ lệ mẫu nảy mầm rất thấp 36,7%. Do vậy, khi sử dụng javen 6% thì công thức khử trùng hạt tốt nhất là KT<sub>7</sub> với thời gian khử trùng là 6 phút. Tương tự, khi sử dụng ethanol 70% với thời gian khử trùng khác nhau cho thấy có sự chênh lệch đáng kể. Công thức khử trùng tốt nhất bằng ethanol 70° là công thức KT<sub>3</sub> với thời gian khử trùng là 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch 83,3% và tỷ lệ mẫu nảy mầm đạt 80%.

Từ các kết quả trên, so sánh giữa hai loại hóa chất với thời gian khử trùng khác nhau ta thấy, công thức tốt nhất để khử trùng hạt dưa là sử dụng javen 6% trong 6 phút (KT<sub>7</sub>), cho tỷ lệ mẫu sạch và mẫu này mầm cao với kết quả tương ứng là 96,7% và 93,3%. Phân tích phương sai một nhân tố cho thấy  $F_{tính} > F_{0,05}$ , chứng tỏ thời gian và khác chất khử trùng khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mẫu sạch.

**3.2. Nhân nhanh chồi *in vitro***

**Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh**

| MT dinh dưỡng | Số chồi TB/mẫu | Chiều cao TB/chồi (cm) | Đặc điểm chồi |
|---------------|----------------|------------------------|---------------|
| MS            | 2,3            | 2,2                    | +++           |
| WPM           | 1,7            | 1,5                    | ++            |
| MS*           | 1,6            | 1,4                    | +             |

$F_{tính} = 81,89 > F_{0,05} = 5,14$

*Ghi chú:* +: chồi nhỏ, không đồng đều; ++: chồi cao, thân nhỏ, không đồng đều; +++: chồi cao, thân mập, lá xanh, đồng đều.

Qua kết quả bảng 2 cho thấy, sau 4 tuần nuôi cấy chồi đỉnh cây dưa trên 3 môi trường khoáng cơ bản có sự khác nhau rõ rệt về số chồi TB/mẫu (1,6 - 2,3 chồi) và chiều cao TB/chồi (1,4 - 2,2 cm). Sự khác biệt này là do 3 loại môi trường có hàm lượng các bon, khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin khác nhau. Các thành phần dinh dưỡng sẽ ảnh hưởng trực tiếp tới các quá trình sinh lý, sinh hóa của mẫu nuôi cấy, từ đó cụm chồi phát triển sẽ khác biệt. Kết quả thí nghiệm cho thấy hàm lượng các chất đa lượng và vi lượng ở môi trường MS là phù hợp nhất cho nhân nhanh chồi đỉnh dưa lê Kim hoàng hậu với số chồi TB/mẫu là 2,3, chiều cao trung bình/chồi đạt 2,2 cm, chồi xanh đậm và đồng đều. Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy  $F_{tính} > F_{0,05}$ , chứng tỏ môi trường dinh dưỡng có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi.

**3.2.2. Ảnh hưởng của loại và hàm lượng đường đến khả năng nhân nhanh**

**3.2.1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh**

Môi trường dinh dưỡng là nhân tố quan trọng quyết định tới khả năng nhân nhanh chồi các loại cây. Với mỗi loài cây khác nhau, môi trường dinh dưỡng dùng để nuôi cấy cũng khác nhau. Do vậy, để phát huy tối đa khả năng nhân nhanh chồi, thí nghiệm tiến hành nghiên cứu nuôi cấy chồi dưa trên 3 loại môi trường khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Khả năng quang hợp và sinh trưởng của cây *in vitro* bị hạn chế bởi nồng độ khí CO<sub>2</sub> cung cấp cho cây trong bình nuôi cấy không đủ trong suốt thời gian chiếu sáng (Desjardins Y. *et al.*, 1988; Fujiwara K. *et al.*, 1987; Kozai T., 1991), nên khả năng quang hợp sẽ bị ảnh hưởng, do đó đòi hỏi phải cung cấp nguồn các bon cho các hoạt động sinh trưởng của mẫu cấy. Để tìm ra nguồn các bon và hàm lượng các-bon thích hợp cho môi trường nuôi cấy, chúng tôi tiến hành thí nghiệm với tổ hợp đường glucose và sucrose với nồng độ khác nhau (Bảng 3).

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, khi môi trường chỉ có đường glucose sẽ không cung cấp đủ năng lượng cho sự sinh trưởng và phát triển của chồi nên số chồi TB/mẫu và chiều cao TB/chồi thấp. Với đường sucrose ở hàm lượng cao sẽ làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường gây ức chế đến sinh trưởng và phát triển của chồi. Kết quả thí nghiệm cho thấy có

thể chọn công thức phù hợp nhất để nhân nhanh chồi dưa lê Kim hoàng hậu là K<sub>4</sub> (Môi trường MS bổ sung 10 g/l glucose, 20 g/l sucrose, 6 g/l agar). Kết quả phân tích phương

sai hai nhân tố cho thấy  $F_{tính} > F_{0,05}$  chứng tỏ hàm lượng đường khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi.

**Bảng 3. Ảnh hưởng loại và hàm lượng đường đến khả năng nhân nhanh**

| CTTN           | Hàm lượng đường (g/l) |         | Số chồi TB/mẫu | Chiều cao TB/chồi (cm) | Chất lượng chồi |
|----------------|-----------------------|---------|----------------|------------------------|-----------------|
|                | Glucose               | Sucrose |                |                        |                 |
| ĐC             | 0                     | 0       | -              | -                      | -               |
| K <sub>1</sub> | 30                    | 0       | 1,3            | 1,4                    | +               |
| K <sub>2</sub> | 20                    | 10      | 1,6            | 1,6                    | +               |
| K <sub>3</sub> | 15                    | 15      | 2,2            | 2,1                    | ++              |
| K <sub>4</sub> | 10                    | 20      | 2,8            | 2,6                    | +++             |
| K <sub>5</sub> | 0                     | 30      | 2,1            | 1,5                    | +               |

$$F_{tính} = 64,88 > F_{0,05} = 3,47$$

*Ghi chú:* +: chồi nhỏ, không đồng đều; ++: chồi cao, thân nhỏ, không đồng đều; +++: chồi cao, thân mập, lá xanh đồng đều.

### 3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

Kế thừa kết quả tốt nhất của thí nghiệm ở mục 3.2.1 và 3.2.2, bổ sung BAP với nồng độ khác nhau 0,1 – 0,7 mg/l để xác định sự ảnh

hưởng của chất điều hòa sinh trưởng này đến khả năng nhân nhanh chồi cây dưa lê Kim hoàng hậu. Kết quả thu thập sau 4 tuần được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh**

| CTTN            | BAP (mg/l) | Tỷ lệ tạo cụm chồi (%) | Số chồi TB/mẫu | Chất lượng chồi |
|-----------------|------------|------------------------|----------------|-----------------|
| ĐC              | 0          | 40,0                   | 2,8            | +               |
| MT <sub>1</sub> | 0,1        | 63,3                   | 3,0            | +               |
| MT <sub>2</sub> | 0,3        | 73,3                   | 3,2            | ++              |
| MT <sub>3</sub> | 0,5        | 93,3                   | 4,3            | +++             |
| MT <sub>4</sub> | 0,7        | 80,0                   | 3,1            | ++              |

$$F_{tính} = 76,75 > F_{0,05} = 3,48$$

*Ghi chú:* +: chồi nhỏ, không đồng đều; ++: chồi cao, thân nhỏ, không đồng đều; +++: chồi cao, thân mập, lá xanh đồng đều.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi thấp nhất là công thức đối chứng ĐC (40%) và số chồi TB/mẫu chỉ đạt 2,8. Với các môi trường có bổ sung thêm BAP đều cho tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi cao trên 50%. Từ kết quả thí nghiệm, đã lựa chọn được công thức môi trường MT<sub>3</sub> với 0,5 mg/l BAP có ảnh hưởng tốt nhất đến khả năng nhân nhanh chồi dưa lê

Kim hoàng hậu. Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cũng cho thấy  $F_{tính} > F_{0,05}$ , chứng tỏ kết quả khác biệt giữa các công thức thí nghiệm là có ý nghĩa.

### 3.2.4. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và Kinetin đến khả năng nhân nhanh

Việc bổ sung Kinetin, BAP và NAA kích thích sự phân chia mạnh mẽ của tế bào, đặc biệt ảnh hưởng rõ rệt lên sự hình thành và phân

hóa chồi, làm cho hệ số nhân của chồi tăng lên 4 tuần nuôi cấy, thu được kết quả trình bày ở  
rõ rệt (Nguyễn Văn Kết và cộng sự, 2010). Sau bảng 5.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và kinetin đến khả năng nhân nhanh**

| CT<br>TN        | ĐHST (mg/l) |         | Tỷ lệ tạo cụm chồi (%) | Số chồi TB/mẫu | Chất lượng chồi |
|-----------------|-------------|---------|------------------------|----------------|-----------------|
|                 | BAP         | Kinetin |                        |                |                 |
| CT <sub>1</sub> | 0,5         | 0,1     | 43,3                   | 4,3            | +               |
| CT <sub>2</sub> |             | 0,2     | 70,0                   | 4,7            | ++              |
| CT <sub>3</sub> |             | 0,3     | 96,7                   | 6,9            | +++             |
| CT <sub>4</sub> |             | 0,4     | 76,7                   | 5,4            | ++              |

$F_{tính} = 144,54 > F_{0,05} = 4,07$

*Ghi chú:* +: chồi nhỏ, không đồng đều; ++: chồi cao, thân nhỏ, không đồng đều; +++: chồi cao, thân mập, lá xanh đồng đều.

Thí nghiệm bổ sung đồng thời BAP (0,5 mg/l) và kinetin (0,1 – 0,4 mg/l) vào môi trường nuôi cấy, kết quả thu được có sự khác nhau rõ rệt (bảng 5). Với công thức thí nghiệm CT<sub>1</sub> (0,5 mg/l BAP, kinetin 0,1 mg/l) cho kết quả thấp với tỷ lệ số mẫu tạo cụm chồi chỉ đạt 43,3% và số chồi TB/mẫu là 4,3, chồi nhỏ, không đồng đều. Công thức thí nghiệm CT<sub>3</sub> (bổ sung 0,5 mg/l BAP, kinetin 0,3 mg/l) cho kết quả cao nhất với tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi là 96,7% và số chồi TB/mẫu đạt 6,9, chồi cao, thân mập, lá xanh đồng đều, kết quả này cũng có giá trị tương đương với kết quả của một số công trình khác (Nguyễn Thị Thanh Nga và cộng sự, 2010; Nguyễn Thị Phương Thảo và

cộng sự, 2010). Như vậy, công thức tốt nhất để nhân nhanh chồi dưa lê Kim hoàng hậu là CT<sub>3</sub> (môi trường khoáng MS bổ sung 0,5 mg/l BAP, 0,3 mg/l kinetin, 10 g/l glucose, 20 g/l saccharose, 6 g/l agar). Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy  $F_{tính} > F_{0,05}$ , chứng tỏ nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau đã ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi dưa lê Kim hoàng hậu.

**3.3. Kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh**

Các chồi dưa được tạo ra trên môi trường nuôi cấy nhân nhanh, chọn các chồi hữu hiệu đạt kích thước từ 2 - 3 cm, cấy chuyển sang môi trường kích thích ra rễ có thành phần là môi trường MS bổ sung 0,2 – 0,8 mg/l NAA. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 6.

**Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ**

| CTTN | Nồng độ NAA (mg/l) | Tỷ lệ chồi ra rễ (%) | Số rễ TB/chồi | Đặc điểm rễ |
|------|--------------------|----------------------|---------------|-------------|
| ĐC   | 0                  | 27,3                 | 1,7           | +           |
| R1   | 0,2                | 75,0                 | 8,9           | ++          |
| R2   | 0,4                | 100                  | 13,7          | +++         |
| R3   | 0,6                | 83,7                 | 11,1          | +++         |
| R4   | 0,8                | 66,7                 | 9,8           | +           |

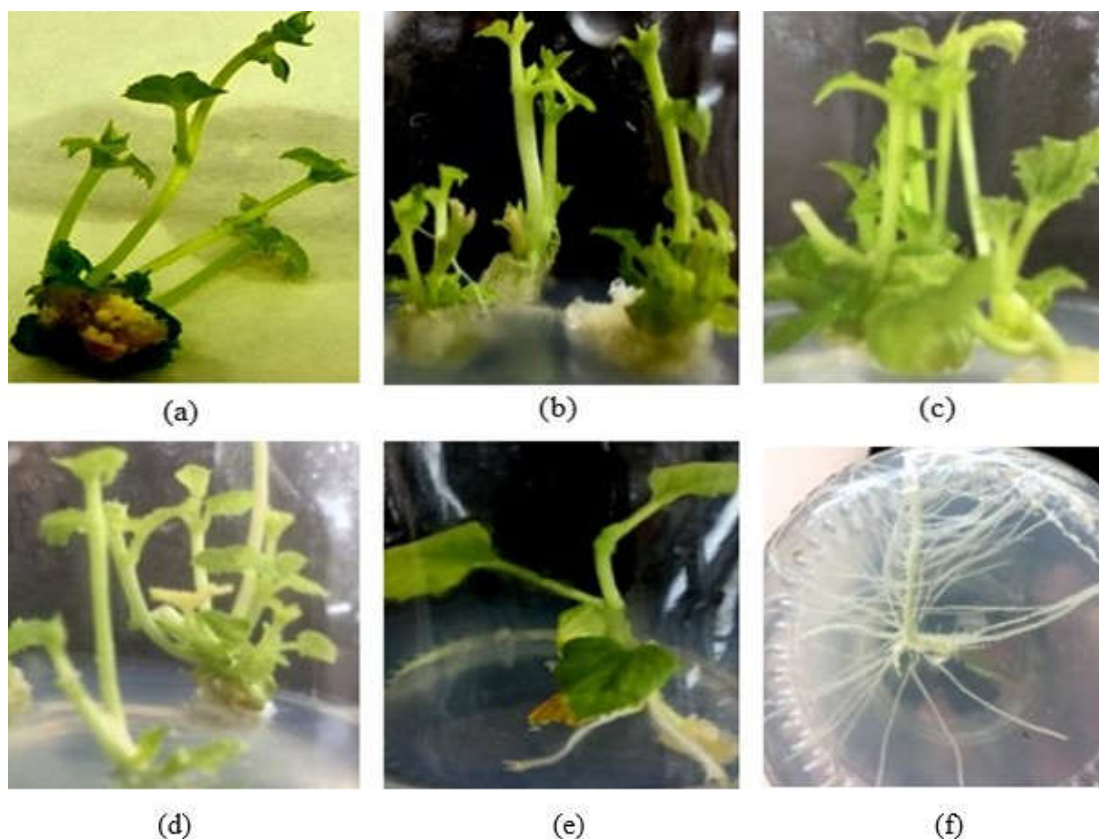
*Ghi chú:* +: rễ mảnh, không có lông hút; ++: rễ mảnh, có lông hút; +++: rễ mập, nhiều lông hút.

Kết quả cho thấy (Bảng 6), tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất là 100% ở công thức môi trường R<sub>2</sub> có bổ sung 0,4 mg/l NAA, số rễ trung bình/chồi

đạt 13,7, rễ mập và có nhiều lông hút sau 4 tuần nuôi cấy. Ở môi trường MS không bổ sung NAA, các chồi dưa vẫn ra rễ tuy nhiên số

rễ ít, số rễ trung bình/chồi đạt 1,7, rễ mảnh, không có lông hút. Khi môi trường bổ sung 0,6 mg/l NAA đặc điểm rễ mập, có nhiều lông hút nhưng tỉ lệ chồi ra rễ thấp hơn (83,7%). Như

vậy, có thể chọn môi trường MS bổ sung 0,4 mg/l là môi trường thích hợp để kích thích chồi dưa lê Kim hoàng hậu ra rễ tạo cây hoàn chỉnh.



Hình 1. Các giai đoạn trong quy trình nhân giống dưa lê Kim hoàng hậu

*Ghi chú:* a) Cụm chồi nuôi cấy trên môi trường CT<sub>3</sub>; b) Nhân nhanh chồi trên môi trường CT<sub>1</sub>; c) Nhân nhanh chồi trên môi trường MT<sub>1</sub>; d) Nhân nhanh chồi trên môi trường MT<sub>4</sub>; e) Chồi dưa đủ tiêu chuẩn ra rễ; f) Môi trường tạo rễ R<sub>2</sub>.

#### IV. KẾT LUẬN

- Khử trùng hạt dưa lê Kim hoàng hậu bằng javen 6% trong 6 phút phù hợp để tạo mẫu sạch và cho tỷ lệ nảy mầm cao, kết quả lần lượt là 96,7% mẫu sạch, 93,3% mẫu nảy mầm.

- Công thức môi trường phù hợp nhất để nhân nhanh chồi dưa lê Kim hoàng hậu là: môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin, 10 g/l glucose, 20 g/l sucrose, 6 g/l agar; với môi trường đó, kết quả là 96,7% mẫu tạo cụm chồi, số chồi tạo ra là 6,9 chồi/mẫu, các chồi đều có chất lượng tốt.

- Với phương pháp kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh dùng môi trường MS bổ sung 0,4 mg/l NAA, 10 g/l glucose, 20 g/l sucrose, 6 g/l

agar, kết quả đạt được là 100% chồi ra rễ, số rễ trung bình/chồi đạt 13,7, chất lượng rễ tốt.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Kết, Nguyễn Văn Vinh (2010). Nghiên cứu khả năng nhân giống loài Lan Hoàng Thảo Sáp (*Dendrobium crepidatum* Lindl. & Paxt.) *in vitro*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 48 (5), tr 89 – 95.
2. Nguyễn Thị Thanh Nga, Nguyễn Tường Vân, Chu Hoàng Hà, Lê Trần Bình (2010). Nghiên cứu quy trình tái sinh *in vitro* cây dưa hấu (*Citrullus lanatus* Thumb.). Tạp chí Công nghệ Sinh học 8(3B): 1353-1359.
3. Nguyễn Thị Phương Thảo, Ninh Thị Thảo, Vũ Thị Hà (2010). Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây dưa hấu (*Citrullus lanatus*). Tạp chí Khoa học và Phát triển 2010: Tập 8, số 3: 418 – 425.
4. Compton M.E., Gray D.J., and Gaba, V.P. (2004). Use of Tissue Culture and Biotechnology for the Genetic Improvement of Watermelon. *Plant Cell Tiss.*

and *Org. Cult.*, 77: 231-243.

5. Desjardins Y., Laforge F., Lussier C, Gosselin A (1988). Effect of CO<sub>2</sub> enrichment and high photosynthetic photon flux on the development of autotrophy and growth of tissue-cultured strawberry, raspberry and asparagus plants. *Acta Hort* 230: 45-47.

6. Fujiwara K., Kozai T., Watanabe I. (1987).

Fundamental studies on environments in plant tissue culture. Measurements of carbon dioxide gas concentration in close vessels containing tissue culture plantlets and estimates of net photosynthetic rates of the plants. *Agr Meteorol* 43: 21-30.

7. Kozai T. (1991). Photoautotrophic micropropagation. *In vitro Cell Dev Biol Plant* 27: 47-51.

## **BUILDING *IN VITRO* CULTURE TECHNIQUES FOR PROPAGATION OF KIM QUEEN MELON**

**Nguyen Van Viet<sup>1</sup>, Doan Thi Thu Huong<sup>2</sup>, Tran Viet Ha<sup>3</sup>**  
<sup>1,2,3</sup>*Vietnam National University of Forestry*

### **SUMMARY**

Kim queen melon of the gourd family (*Cucurbitaceae*) is a new generation of F<sub>1</sub> hybrids with short growth times, growing in crops over a year with high productivity. However, Vietnam has not been able to produce the Kim queen melon seeds which are imported from foreign seed companies, so the cost of seeds is quite high. The study on *in vitro* propagation of Kim queen melon is to serve large-scale production needs and improve crop yield. The study was conducted to initiate the *in vitro* propagation of seedlings from the top of the Kim queen melon. The results showed that sterilization with 6% Javen solution for 6 minutes and culture on initial culture gave a clean sample rate of 96.7% and a germination rate of 93.3%. Forming multi-buds induction on MS medium supplemented with BAP 0.5 mg/l, Kinetin 0.3 mg/l, glucose 10 g/l, sucrose 20 g/l, agar 6 g/l for the highest shoot multiplication (6.8) after 4 weeks of culture. 100% of the shoots produced roots on the MS medium supplemented with NAA 0.4 mg/l, glucose 10 g/l, sucrose 20 g/l, agar 6 g/l with an average of 13.7 roots/shoot after 4 weeks of culture.

**Keywords:** *In vitro* culture, Kim queen melon, multi-buds.

**Ngày nhận bài** : 24/8/2017

**Ngày phản biện** : 15/9/2017

**Ngày quyết định đăng** : 23/9/2017