

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NANO TRONG NUÔI CẤY MÔ CÂY HOA HỒNG CỔ SAPA (*Rosa gallica* L.)

Đồng Huy Giới¹, Dương Thị Mến¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã xác định được: (i) Nồng độ hỗn hợp nano bạc - đồng tốt nhất cho khử trùng đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng cổ Sapa là 200 ppm trong thời gian 1 giờ với tỷ lệ mẫu sống sạch đạt 90%; (ii) 91,7% đoạn thân hoa hồng cổ Sapa bật chồi trong môi trường bổ sung 2ppm nano bạc; (iii) Sự phát sinh callus của mảnh lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa tốt nhất ở môi trường có bổ sung 4 ppm nano bạc; (iv) Môi trường nhân chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa thích hợp nhất là môi trường bổ sung 2 ppm nano bạc với hệ số nhân chồi là 5,77; (v) Trên môi trường có bổ sung 2 ppm nano bạc cho tỷ lệ ra rễ của chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa đạt tỷ lệ 76,7% với trung bình 4,23 rễ/chồi.

Từ khóa: Nano bạc, nuôi cấy mô, hỗn hợp nano bạc-đồng, hoa hồng cổ Sapa

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Hoa hồng cổ Sapa là loài thực vật có hoa tên khoa học là *Rosa gallica* L. thuộc chi *Rosa*, họ *Rosaceae*. Hiện nay, hoa hồng cổ Sapa được nhân giống chủ yếu bằng hạt, giâm hay chiết ghép cành. Tuy nhiên, việc nhân giống bằng các phương pháp gieo hạt gặp nhiều khó khăn như hạt khó thu hoạch và tỷ lệ nảy mầm thấp; phương pháp giâm, chiết ghép cần nhiều công sức, thời gian mà hiệu quả thấp. Ngoài ra, các phương pháp này không nâng cao được chất lượng của giống (chưa tạo được cây sạch bệnh) và thường làm mất đi tính thuần khiết của giống (Việt Chương, Lâm Thị Mỹ Hương, 2006).

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, nuôi cấy mô trên hoa hồng có khả năng tạo ra một lượng cây con trong thời gian ngắn, cây sạch bệnh và tạo được nguồn cây giống quanh năm (Kantamaht *et al.*, 2009; Nguyễn Thị Phương Thảo và *ctv.*, 2005; Nguyễn Thị Kim Thanh và *ctv.*, 2012). Tuy nhiên, trong quá trình nhân giống hoa hồng cũng như các loại cây khác bằng nuôi cấy mô, vấn đề mà các nhà khoa học luôn gặp phải là sự nhiễm nấm và vi khuẩn của mẫu cấy, gây ảnh hưởng lớn tới hiệu suất nuôi cấy và chất lượng cây con; việc sử dụng các hóa chất khử trùng như $HgCl_2$, $CaClO_2$ gây ô nhiễm môi trường, gây độc hại cho người và các sinh vật khác (Kharrazi *et al.*, 2011).

Trong những năm gần đây, chế phẩm nano đang được sử dụng ngày càng nhiều trong trồng trọt giúp làm tăng năng suất, chất lượng nông sản, đảm bảo sự phát triển một nền nông nghiệp sạch, an toàn, hiệu quả và thân thiện với môi trường (Rostami A and Shahsavari A., 2012; Phạm Văn Việt *et al.*, 2016). Mặt khác, chế phẩm nano cũng được sử dụng có hiệu quả trong khử trùng mẫu nuôi cấy *in vitro* tế bào thực vật, bên cạnh đó nano bạc còn có tác dụng

tích cực tới sự phát sinh hình thái của cây *in vitro* (Rostami A.A. and Shahsavari A., 2012; Shokri *et al.*, 2015).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống hoa hồng cổ Sapa (*Rosa gallica* L.) được thu thập tại Sapa, Lào Cai.

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

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

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

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm bộ môn Sinh học, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp khử trùng mẫu bằng hỗn hợp dung dịch nano bạc-đồng

- Khử trùng cơ bản: Đoạn cành bánh tẻ mang mắt ngủ được rửa sạch dưới vòi nước chảy cho sạch bụi đất, sau đó được đưa vào phòng nuôi và rửa lại bằng nước cất vô trùng thêm 2 - 3 lần nữa. Tiếp đó, mẫu được đưa vào box cấy, đổ ngập cồn 70° trong 1 phút và được rửa lại bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần.

- Khử trùng mẫu bằng chế phẩm nano:

Dung dịch hỗn hợp nano bạc - đồng với các nồng độ 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm và 250 ppm lắc mẫu trong vòng trong 60 phút. Lô đối chứng là các mẫu được lắc trong dung dịch Javen 5% trong thời gian 5 phút. Mẫu được nuôi cấy trong môi trường MS cơ bản (Murashige, T. and Skoog, F., 1962) và theo dõi

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

ở thời điểm sau 2 tuần nuôi cấy các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu sống sạch.

2.3.2. Phương pháp bổ sung dung dịch nano bạc vào môi trường nuôi cấy mô hoa hồng *in vitro*

- Tạo chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ: Đoạn thân mang mắt ngủ được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 2 mg/l BA kết hợp nano bạc với nồng độ 0, 2, 4, 6 hoặc 8 ppm để nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ. Mẫu được đánh giá sau 4 tuần trên môi trường nuôi cấy với các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ tái sinh chồi (%), hệ số nhân chồi (lần), chiều cao trung bình của chồi (cm), số lá/ chồi.

- Tạo mô sẹo từ mảnh lá *in vitro*: Lá *in vitro* có kích thước khoảng 0,5 cm - 1,5 cm được cắt bỏ rãnh cửa và tạo vết thương được đưa vào môi trường tạo callus MS + 0,5 mg/l IBA + 30 g/l sucrose bổ sung nano bạc với nồng độ 0, 2, 4, 6 hoặc 8 ppm để nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tạo mô sẹo của mô lá. Kết quả được theo dõi sau 6 tuần trên môi trường nuôi cấy để xác định tỷ lệ tạo callus của chúng.

- Nhân nhanh *in vitro*: Chồi được bật ra từ mắt ngủ có chiều dài khoảng 1,5 - 2,0 cm, số lá là 3 - 4 được cắt ra và nuôi trong môi trường tái sinh chồi *in vitro* MS + 1,5 mg/l BA + 30 g/l sucrose bổ sung nano bạc với nồng độ 0; 2; 4; 6 hoặc 8 ppm để nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tái sinh chồi *in vitro*. Theo dõi sau 6 tuần nuôi cấy xác định các chỉ tiêu: hệ số nhân chồi (lần), chiều cao trung bình của chồi (cm), số lá/chồi.

- Tạo rễ cho chồi *in vitro*: Chồi được bật ra từ mắt ngủ có chiều dài khoảng 1,5 - 2,0 cm, số lá là 3 - 4 lá được cắt ra và nuôi trong môi trường ra rễ ¼ MS + 2 mg/l α -NAA bổ sung nano bạc với nồng độ 0; 2; 4; 6 hoặc 8 ppm để nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi cấp 1. Theo dõi sự ra rễ sau 6 tuần với các chỉ tiêu như tỷ lệ chồi ra rễ, chiều dài trung bình của rễ (cm), số rễ/chồi.

2.3.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Điều kiện thí nghiệm: Các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh giá trị pH từ 5,7 - 5,8 và hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1 atm trong 20 phút; các mẫu nuôi cấy *in vitro* trong phòng được duy trì ở điều kiện: 25°C - 27°C, ánh sáng 2000 lux, 12 h chiếu sáng/ngày; thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 30 mẫu/công thức, tiến hành theo dõi mẫu trong 3, 4 hay 5 tuần (tùy thí nghiệm).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý trên Microsoft Office Excel 2007 và được phân tích trên máy tính theo chương trình IRRISTAT 5.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hỗn hợp nano bạc - đồng đến hiệu quả khử trùng mẫu

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, dung dịch nano bạc và đồng có khả năng khử trùng mẫu ở tất cả nồng độ sử dụng, trong đó CT4 (200 ppm) có tỷ lệ mẫu sạch và mẫu sống sạch cao nhất (90%); công thức đối chứng (sử dụng Javen 5%) có tỷ lệ mẫu sạch mẫu sống sạch thấp nhất (20%). Ở CT5 (250 ppm) có tỷ lệ mẫu sạch là 95%, tuy nhiên tỷ lệ mẫu sống sạch chỉ đạt 70%, thấp hơn đáng kể so với công thức 4 (90%).

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng mẫu đoạn thân của dung dịch nano bạc - đồng

Công thức	Nano bạc - đồng (ppm)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sống sạch (%)
CT1 (javen 5%)	0	20,00 ^d	20,00 ^e
CT2	100	35,00 ^c	35,00 ^d
CT3	150	48,33 ^b	48,33 ^c
CT4	200	90,00 ^a	90,00 ^a
CT5	250	95,00 ^a	70,00 ^b
LSD _{.05}		6,4	9,0
CV%		3,0	4,7

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 30g/l sucrose; Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Như vậy, ở nồng độ hỗn hợp nano bạc-đồng là 200 ppm có tỷ lệ mẫu sống sạch cao nhất, đây là nồng độ hỗn hợp nano thích hợp nhất để khử trùng mẫu hoa hồng cổ Sapa. Kết quả này cũng tương tự với kết quả của (Shokri, Babaei *et al.*, 2015). Khi sử dụng nano bạc ở nồng độ 200 ppm để xử lý (khử trùng) chồi mang mắt ngủ hoa hồng *Rosa hybrida* L, cho tỷ lệ mẫu sạch là 80% và tỷ lệ mẫu sống trong tổng số mẫu sạch là 90%, còn ở nồng độ nano cao hơn cho tỷ lệ mẫu sạch là 90% nhưng tỷ lệ mẫu sống giảm (75%). Một số tác giả khác như Masond Fakhreshani *et al.* (2012) làm thí nghiệm trên mẫu cây hoa nghệ tây cũng cho thấy tỷ lệ mẫu sạch cao nhất là 89,1% khi xử lý mẫu bởi dung dịch nano 200 ppm trong 1 giờ.

3.2. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng cổ Sapa

Đoạn thân mang mắt ngủ được nuôi cấy trên môi trường MS + 2 mg/l BA + 0,05 mg/l α -NAA bổ sung nano bạc với nồng độ từ 0 đến 8 ppm, sau 4 tuần nuôi cấy thu được kết quả ở bảng 2.

Kết quả thí nghiệm ở bảng 2 cho thấy, ở CT2 (2 ppm) và CT3 (4 ppm) cho tỷ lệ bật chồi cao nhất (lần lượt là 91,7% và 88,3%), cao hơn có ý nghĩa thống kê với các công thức còn lại, đồng thời CT2 cũng cho các chỉ tiêu Số lá/chồi, hệ số nhân chồi, chiều cao chồi tốt nhất.

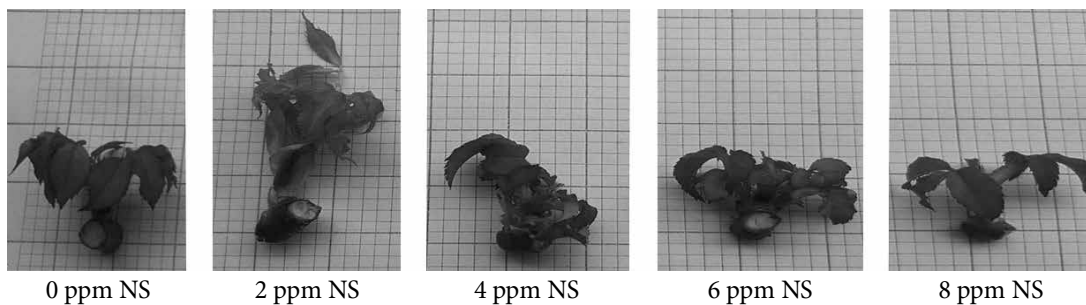
Bảng 2. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ

Công thức	NS (ppm)	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số lá/chồi	Hệ số nhân chồi	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm của chồi
CT1	0	76,7 ^b	4,12 ^b	1,18 ^{ab}	3,23 ^a	lá xanh nhạt
CT2	2	91,7 ^a	5,20 ^a	1,62 ^{6a}	3,62 ^a	lá xanh nhạt
CT3	4	88,3 ^a	5,20 ^a	1,32 ^{ab}	2,10 ^b	lá xanh đậm
CT4	6	71,7 ^d	5,20 ^a	1,05 ^b	1,55 ^{bc}	lá xanh đậm
CT5	8	38,3 ^e	3,73 ^b	1,03 ^b	1,23 ^c	lá xanh đậm
LSD _{.05}		5,1	0,98	0,45	0,74	
CV%		3,7	1,1	1,9	1,7	

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 2 mg/l BA + 0,05 mg/l α -NAA. Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0, 05$.

Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả thí nghiệm của A.A.Rostami và A.Shahsavari (2009) khi bổ sung nano bạc với nồng độ 4 ppm vào môi trường nuôi cấy cành Olive khiến trên 90% mô cấy phát triển bình thường. Tuy nhiên, công bố của Hediati M. H., Salama (2012) lại cho rằng khi môi trường nuôi cấy hạt lạc và ngô được bổ sung nano bạc cao (nồng độ

20 đến 60 ppm) làm tăng chiều dài của chồi, diện tích bề mặt lá, hàm lượng protein và cacbohidrat. Ở nồng độ 40 - 60 ppm NS còn làm tăng tuổi thọ của cành và gốc. Như vậy, với mỗi một đối tượng cây trồng khác nhau thì cần nồng độ nano bạc bổ sung vào môi trường nuôi cấy khác nhau.



Hình 1. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự bật chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ

3.3. Ảnh hưởng của nano bạc đến quá trình tái sinh chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa

Trong nghiên cứu của N. Hameed *et al.*, (2006) trên đối tượng *Rosa indica* L. cũng đề cập đến ảnh hưởng của BA đến hệ số nhân, sinh trưởng, phát triển của chồi, cụ thể là với nồng độ 1,5 mg/l BAP thì chồi phát triển tốt nhất với hệ số nhân cao nhất 2,1 lần. Kết quả này phù hợp với kết quả của Nguyễn Thị Phương Thảo và *ctv.* (2015) ở nồng độ 1,5mg/l BA cho hệ số nhân chồi cao nhất 27,3 lần. Vì vậy, trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng môi trường nền MS + 1,5 mg/l BA có bổ sung NS với các nồng

độ khác nhau để nuôi cấy chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa. Kết quả thể hiện ở bảng 3.

Từ bảng số liệu cho thấy, tất cả các công thức bổ sung NS đều cho hệ số nhân chồi tốt hơn so với đối chứng. Đặc biệt, khi bổ sung 2 ppm NS vào môi trường nuôi cấy cho tỷ lệ vượt trội về hệ số nhân chồi (5,77), sai khác với tất cả các công thức còn lại.

Số lá/chồi ở CT2 (2 ppm) là 6,73, khác biệt có ý nghĩa so với các công thức còn lại; trong khi đó, số lá/chồi ở CT4 và CT5 không sai khác có ý nghĩa với công thức CT1.

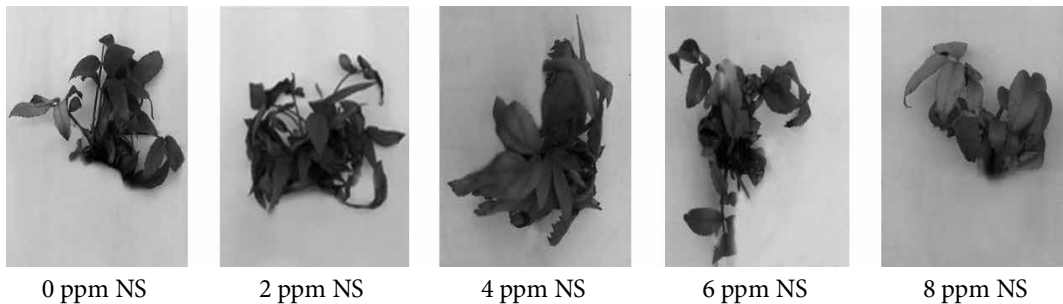
Bảng 3. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự nhân chồi *in vitro*

Công thức	NS (ppm)	Hệ số nhân chồi	Số lá/chồi	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm của chồi
CT1	0	2,37 ^c	3,37 ^{bc}	1,83 ^b	lá xanh
CT2	2	5,77 ^a	6,37 ^a	2,67 ^a	lá xanh
CT3	4	5,23 ^b	4,13 ^b	1,87 ^b	lá xanh
CT4	6	4,33 ^c	3,23 ^{bc}	1,73 ^c	một số lá vàng
CT5	8	2,87 ^d	2,67 ^{bc}	1,37 ^d	hầu hết lá vàng
LSD _{.05}		0,10	0,97	0,08	
CV%		1,3	1,3	2,4	

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 1,5 mg/l BA. Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0, 05$.

Chiều cao của chồi tốt nhất là ở CT2 (2,67 cm) khác biệt có ý nghĩa so với các công thức còn lại; chiều cao của chồi thấp nhất là ở CT4 và CT5, thấp hơn cả so với đối chứng.

Từ kết quả phân tích cho thấy, khi bổ sung 2 ppm NS vào môi trường nuôi cấy *in vitro* cho hệ số nhân chồi cao nhất, số lá/chồi nhiều nhất và chiều cao của chồi lớn nhất.



Hình 2. Ảnh hưởng của nano bạc đến quá trình tái sinh chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa

4.4. Ảnh hưởng nano bạc đến sự ra rễ của chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa

Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Kim Thanh và *ctv.*, (2005) khi tiến hành nhân nhanh *in vitro* trên giống hoa hồng trắng, môi trường bổ sung 2 mg/l α -NAA cho hiệu quả tạo rễ trên 60%. Soomro *et al.* (2003) đã sử dụng 0,6 mg/l IBA và 0,1 mg/l NAA để tạo rễ hoa hồng *Rosa indica*, sau khoảng thời gian 12 tuần thì tỷ lệ chồi ra rễ đạt 50%. Các kết quả này tương tự với kết quả thu được khi các mẫu hồng cổ Sapa nuôi cấy ở môi trường bổ sung 2 mg/l α -NAA (CT1- đối chứng) cho tỷ lệ ra rễ cao nhất ở chồi cấp 1 là 60%, nhiều rễ. Tuy nhiên, các chồi bên được nuôi cấy trong môi trường nền (MS + 2 mg/l α -NAA) bổ sung nano bạc với nồng độ khác nhau (2; 4; 6; 8 ppm) đã cho thấy phản ứng khác nhau của chồi sau 6 tuần nuôi cấy (Bảng 4).

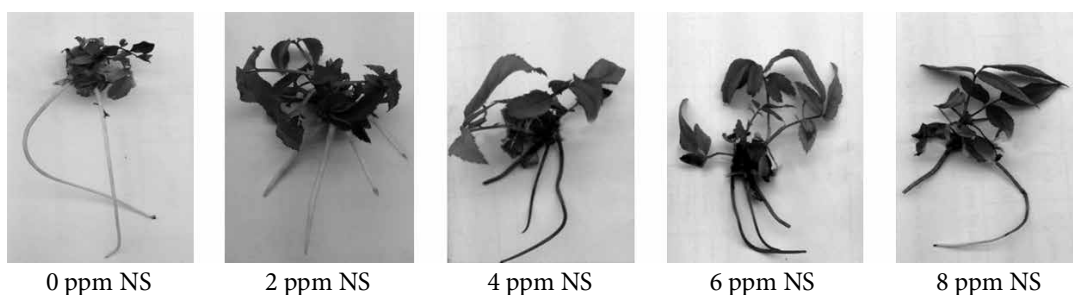
Số liệu bảng 4 cho thấy, ở CT2 (2 ppm) và CT3 (4 ppm) cho tỷ lệ ra rễ cao hơn so với đối chứng, trong đó CT2 có tỷ lệ ra rễ cao nhất (76,67%), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Ở CT4

(6 ppm) và CT5 (8 ppm), tỷ lệ mẫu ra rễ thấp hơn so với công thức đối chứng, điều này chứng tỏ, nồng độ NS cao đã ức chế sự ra rễ chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa. Về số rễ/chồi thấy ở CT2 cho số rễ nhiều nhất 4,23 không khác biệt so với CT3 nhưng khác biệt với CT1, CT4 và CT5. Ở CT1 và CT5 không có sự khác biệt, CT4 và CT1 không có sự khác biệt nhưng CT4 có sự khác biệt so với CT5, CT3 không có sự khác biệt so với CT4 nhưng có sự khác biệt giữa CT3 so với CT1. Ở chiều dài của rễ ở CT2 có chiều dài 4,07 khác biệt 5% so với các công thức còn lại, sau đó đến CT1, CT5 cho chiều dài rễ ít nhất. Như vậy xét tất cả các chỉ tiêu; tỷ lệ ra rễ, số rễ và chiều dài của rễ cho thấy, ở CT2 (2 ppm) có các chỉ tiêu đạt tốt nhất, khác biệt 5% so với công thức đối chứng. Ở CT3 (4 ppm) có tỷ lệ ra rễ và số rễ cao hơn so với CT1 nhưng có chiều dài rễ lại ít hơn. Thí nghiệm cho thấy nồng độ nano bạc có ảnh hưởng lớn tới tỷ lệ ra rễ chồi cấp 1 hoa hồng cổ Sapa. Ở nồng độ nano 2 ppm bổ sung vào môi trường là thích hợp nhất cho quá trình ra rễ chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự ra rễ của chồi *in vitro*

Công thức	NS (ppm)	Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ/ chồi	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm của rễ
CT1	0	60,00 ^c	2,43 ^{cd}	3,10 ^b	màu trắng, nhiều rễ bên
CT2	2	76,67 ^a	4,23 ^a	4,07 ^a	màu trắng, nhiều rễ bên
CT3	4	66,67 ^b	3,57 ^{ab}	2,93 ^c	màu nâu, có ít rễ bên
CT4	6	56,67 ^d	2,80 ^{bc}	2,53 ^d	màu nâu, có ít rễ bên
CT5	8	46,67 ^e	1,53 ^d	2,33 ^e	màu nâu, không rễ bên
LSD _{.05}		0,10	0,97	0,13	
CV%		4,2	1,8	2,4	

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 2mg/l α-NAA. Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức α = 0, 05.



Hình 3. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự ra rễ chồi *in vitro* hoa hồng cổ Sapa (sau 6 tuần)

4.5. Ảnh hưởng của nano bạc lên quá trình tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa

Để đánh giá ảnh hưởng của nano đến sự tạo mô sẹo từ lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa, thí nghiệm khảo sát xác định môi trường nền đã được thực hiện và cho kết quả là ở môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l IBA là tốt nhất để kích thích mô lá hình thành mô sẹo. Sử dụng IBA cũng được cho là kích thích tạo mô sẹo ở mẫu mô hoa hồng *Rosa Indica* (Rashida Soomro *et al.*, 2003). Mặc dù Jala (2014) cũng cho

rằng 2,4 D có khả năng tạo mô sẹo cho giống hoa hồng nghiên cứu, nhưng với mẫu hồng cổ Sapa, 2,4 D lại chưa thể hiện sự kích thích tạo thành mô sẹo từ mảnh lá (không trình bày ở báo cáo). Chính vì vậy, trong thí nghiệm này các mẫu lá được nuôi cấy vào môi trường nền MS + 0,5 mg/l IBA bổ sung với nano bạc với nồng độ khác nhau (0, 2, 4, 6, 8 ppm) tương ứng với 5 công thức (1, 2, 3, 4, 5) trong đó công thức đối chứng là CT1. Kết quả thể hiện ở bảng 5.

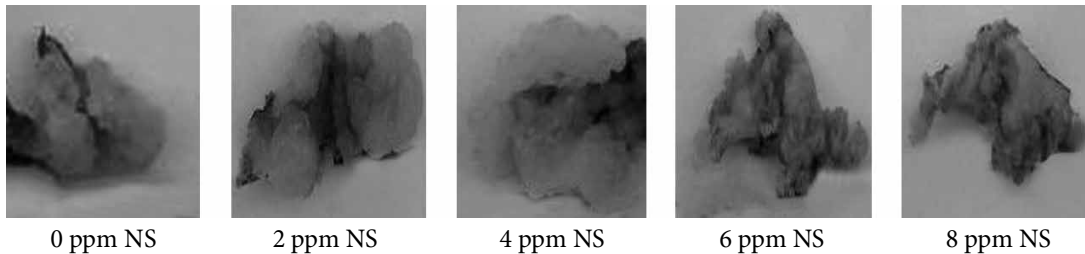
Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ NS đến tỷ lệ tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa (sau 6 tuần)

Công thức	NS (ppm)	Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo
CT1	0	66,7 ^c	Mô sẹo phát triển hết bề mặt lá, xốp, màu trắng
CT2	2	76,7 ^b	Mô sẹo phát triển hết bề mặt lá, xốp, màu trắng
CT3	4	86,7 ^a	Mô sẹo phát triển hết bề mặt lá, xốp, màu trắng
CT4	6	53,3 ^d	Mô sẹo phát triển chưa hết bề mặt lá, chắc, màu nâu
CT5	8	46,7 ^d	Mô sẹo phát triển chưa hết bề mặt lá, chắc, màu nâu
LSD _{.05}		8,7	
CV%		4,1	

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 0,5 mg/l IBA. Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức α = 0, 05.

Từ bảng số liệu cho thấy, nano bạc có ảnh hưởng tới khả năng tạo mô sẹo của mảnh lá *in vitro* giống hoa hồng cổ Sapa, khi bổ sung nồng độ NS từ 2- 4 ppm sẽ làm tăng tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo, nhưng khi nồng độ NS tăng cao hơn 6 ppm sẽ gây ức chế khả năng tạo mô sẹo. Điều này có thể là do nồng độ cao

của NS đã tác động tiêu cực lên màng tế bào của mẫu *in vitro* (Rostami A. and Shahsava A., 2009). Ở CT3 (4 ppm) cho tỷ lệ tạo callus cao nhất (82,9%), khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% so với các công thức còn lại. Bên cạnh đó, mô sẹo ở công thức này có màu trắng, xốp và phát triển rộng khắp bề mặt mảnh lá.



Hình 4. Hình ảnh mô sẹo hình thành từ mẫu lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa khi tác động bằng NS với các nồng độ khác nhau

IV. KẾT LUẬN

- Khử trùng mẫu đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng cổ Sapa bằng hỗn hợp dung dịch nano bạc - đồng ở nồng độ 200 ppm trong 60 phút cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ mẫu sống sạch đạt 90%.

- Bổ sung 2 ppm NS vào môi trường nuôi cấy đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng cổ Sapa cho tỷ lệ mẫu bật chồi cao nhất (91,7%); môi trường MS + 1,5 mg/l BA bổ sung 2 ppm NS cho tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất, hệ số nhân chồi đạt 5,77; môi trường ¼ MS + 2 mg/l α -NAA bổ sung 2 ppm NS cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất (76,7%) với trung bình 4,23 rễ/chồi và chiều dài rễ đạt 4,07 cm.

- Môi trường MS + 0,5 mg/l IBA có bổ sung 4 ppm NS là môi trường tốt nhất để tạo callus từ mẫu lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa, tỷ lệ tạo callus đạt 82,9%, callus có màu trắng, xốp và phát triển rộng khắp bề mặt mảnh lá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Việt Chương, Lâm Thị Mỹ Hương, 2006. *Kỹ thuật giâm, chiết, ghép hoa hồng*. NXB thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyễn Thị Kim Thanh, 2005. Nhân giống cây Hoa hồng bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 1, 39-41.

Nguyễn Thị Phương Thảo, Đặng Quang Bích, Nguyễn Thị Thuý, Nguyễn Thị Thuý Linh, Phạm Thị Thu Hằng, Đặng Thị Thanh Tâm, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Lâm Hải, Nguyễn Thanh Hải, 2015. Nhân nhanh và cảm ứng ra hoa cây hoa hồng cơm (*Rosa sericea* LINDL). *J. Sci. & Devel.*, Vol. 13, No. 4: 606-613.

Hediat M. H. Salama, 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.).

International Research Journal of Biotechnology, Vol. 3, No.10: 190-197

Jala A., 2014. Role of 2,4-D on callus induction and shoot formation to increase number of shoot in miniature rose *in vitro*. *American Transaction on Engineering and Applied Sciences*, Vol. 3, No. 3: 207-213.

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

Kantamaht K., Nonlapan P., Kamnoon K., 2009. In vitro flowering from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L.). *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*, Vol. 37, No. 2: 261-263.

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

Pham Van Viet, Hai Thi Nguyen, Thi Minh Cao and Le Van Hieu, 2016. Fusarium Antifungal Activities of Copper Nanoparticles Synthesized by a Chemical Reduction Method. *Journal of Nanomaterials*, Vol. 2016, No. 6:1-7.

Rashida Soomro, Shamsa Yasmin and Rizwana Aleem, 2003. In vitro propagation of Rosa Indica. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol. 6, No. 9: 826-830.

Rostami A.A. and Shahsavar A., 2012. Nano-Silver Particles the *in vitro* Contaminations of Olive 'Mission' Explant. *Asian Journal of Plant Science*, Vol. 8, No. 7: 505-509.

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

Study on use of nanoparticles in Sapa rose (*Rosa gallica* L.) tissue culture

Dong Huy Gioi, Duong Thi Men

Abstract

This study identified that: (i) 200 ppm of mixed silvernano and coppernano solution was the best treatment in 1 hour for sterilization the Sapa rose explants that made 90% samples clean and survival; (ii) 91.7% of Sapa rose explants formed shoots on the medium supplemented with 2 ppm silvernano; (iii) The formation of callus from the *in vitro* leaf piece of Sapa rose was best in medium added with 4 ppm silvernano; (iv) The optimal medium for micropropagation of Sapa rose was the one containing 2 ppm of silvernano; (v) On the medium supplemented with 2 ppm silvernano, rooting rate of shoots in vitro Sapa rose was 76.7%, with an average of 4.23 roots/shoot.

Key words: Silvernano, tissue culture, mix of silvernano and coppernano, Sapa rose

Ngày nhận bài: 17/5/2017

Ngày phản biện: 22/5/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày duyệt đăng: 29/5/2017

KẾT QUẢ CÁC MÔ HÌNH ỨNG DỤNG CHẾ PHẨM PHÂN BÓN NANO VÀ BIOPLANT FLORA TRONG SẢN XUẤT LÚA GẠO SẠCH, AN TOÀN TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Lê Quý Kha¹, Nguyễn Tiến Dũng²

TÓM TẮT

Các mô hình sản xuất lúa gạo sạch, an toàn được thực hiện tại tỉnh Đồng Tháp (Hè Thu 2015); Kiên Giang (Thu Đông 2016); Trà Vinh, Vĩnh Long và Tây Ninh (Đông Xuân 2016 - 2017). Số lần phun thuốc BVTV ở mô hình xử lý nano giảm từ 2 - 4 lần so với ruộng không xử lý. Giá thành sản xuất 1 kg lúa ở ruộng trình diễn thấp hơn ruộng đối chứng từ 297 đồng/kg (Kiên Giang) đến 964 đồng/kg (Trà Vinh). Lợi nhuận của các ruộng trình diễn đều cao hơn so các đối chứng 3.470.000 đồng/ha (Kiên Giang), 4.870.000 đồng/ha (Vĩnh Long), 6.748.000 đồng/ha (Tây Ninh) đến 9.470.000 đồng/ha (Trà Vinh), tùy theo trình độ canh tác và thổ nhưỡng từng tỉnh. Tỷ lệ gạo nguyên ở mô hình tại Đồng Tháp, xử lý phân nano (58,4 - 59,6%) cao hơn 8,4 - 9,6% mô hình đối chứng. Các chỉ tiêu chất lượng cảm quan và vi sinh vật (VSV), dinh dưỡng, kim loại nặng và dư lượng thuốc BVTV ở các mẫu gạo xử lý phân nano và Bioplant Flora đều đạt tiêu chuẩn an toàn, sạch.

Từ khóa: Bioplant Flora, nano phức, chất lượng gạo, Đồng bằng sông Cửu Long

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phân nano là một tổ hợp các chất vi lượng được sản xuất bằng công nghệ cao, với kích thước rất nhỏ (< 100 nanomet) bao gồm các chất như: Fe, Cu, Zn, Mn, B, Mo và Co (Công ty CP Nông nghiệp Việt Nam UKR, 2017b). Ngoài ra, còn chứa các chất khác như các axit amin, vitamin B₁, Silic và đường. Vi chất dưới dạng nano này được hấp thụ rất nhanh vào các tế bào thực vật với tỷ lệ hấp thụ lên đến trên 90% và chỉ trong vòng 20 - 120 phút. Phân bón sinh học nano làm tăng năng suất (NS) và chất lượng sản phẩm cây trồng thông qua việc kích thích các quá trình sinh hóa trong cây đặc biệt là quá trình tổng hợp các chất dinh dưỡng, thúc đẩy sự phát triển của bộ rễ, tối ưu hóa khả năng hấp thụ dinh dưỡng và tăng khả năng hoạt động của nấm Endophyte sống cộng sinh với cây

trồng. Nấm Endophyte luôn có mặt với mật số khác nhau ở các cây trồng và cây hoang dại, nấm này giúp cây kháng lại những bất thuận phi sinh học (Abiotic stress) khác nhau như đất bị hạn, úng, nhiệt độ cao, nhiễm mặn, phèn v.v... (Satish, 2012; Wikipedia, 2017). Bioplant Flora là phân bón hữu cơ vi lượng dạng lỏng được Viện Hàn lâm Khoa học Nga nghiên cứu sản xuất từ nguồn nguyên liệu than bùn và trầm tích tự nhiên theo công nghệ nano. Thành phần phân bón vi lượng Bioplant Flora chứa nhiều chất hữu cơ và thành phần khoáng vi lượng trung hòa (Green Saigon, 2016) và gồm Axit Humic và Fulvic, N, P₂O₅, K₂O, Cu, Zn, Co, Mn, Mo, Fe, Mg và pH = 7 - 9. Bioplant Flora cũng có các vi lượng kích thích nano sinh học, thích hợp cho nhiều loại cây trồng và thổ nhưỡng; Giúp cho hạt nhanh nảy mầm, bộ rễ phát

¹ Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp miền Nam (IAS)

² Công ty Cổ phần nông nghiệp Việt Nam UKR.