

## NGHIÊN CỨU TÁI SINH CHỒI *IN VITRO* CÂY DƯA LƯỚI (*Cucumis melo* L.)

Trần Thị Triều Hà\*, Lê Thị Thu Hằng, Dương Thanh Thủy

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

\*Tác giả liên hệ: [tranthitrieuha@huaf.edu.vn](mailto:tranthitrieuha@huaf.edu.vn)

Nhận bài: 15/10/2021 Hoàn thành phản biện: 28/11/2021 Chấp nhận bài: 30/11/2021

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để xây dựng quy trình tái sinh chồi cây dưa lưới *in vitro* từ các loại mô của cây dưa lưới mới nảy mầm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian thích hợp để khử trùng hạt dưa lưới bằng dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% là 9 phút với tỷ lệ mẫu sạch là 80%, tỷ lệ hạt sống và sạch nảy mầm là 100%. Mô lá, cuống lá và đốt thân của cây *in vitro* nảy mầm từ hạt có khả năng cảm ứng phát sinh hình thái cao hơn lá mầm, trụ dưới lá mầm và chồi đỉnh. Môi trường thích hợp để tạo mô sẹo từ phiến lá và cuống lá là môi trường cơ bản có bổ sung 0,3 mg/L NAA (naphthaleneacetic acid) hoặc 0,3 mg/L IBA (indole-3 butyric acid) với tỷ lệ tạo mô sẹo đạt từ 80% - 100%. Môi trường cơ bản có bổ sung 0,5 mg/L BAP (6-benzylaminopurine) và 0,1 mg/L NAA là môi trường thích hợp nhất cho quá trình cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo, tỷ lệ tạo chồi là 100% với số chồi/mẫu là 4,3 chồi. Môi trường nuôi cấy cơ bản bổ sung 0,6 mg/L BAP hoặc 0,3 mg/L kinetin là môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi trực tiếp từ đốt thân, tỷ lệ tạo chồi là 100%, số chồi tạo thành lần lượt là 2,2 chồi/mẫu và 1,93 chồi/mẫu.  
**Từ khóa:** Dưa lưới, Mô sẹo, Tái sinh chồi

### STUDY ON *IN VITRO* SHOOTS REGENERATION OF *Cucumis melo* L.

Tran Thi Trieu Ha\*, La Thi Thu Hang, Duong Thanh Thuy

University of Agriculture and Forestry, Hue University

### ABSTRACT

This study was undertaken to establish the *in vitro* shoot regeneration protocol of the *Cucumis melo* L. The seeds of melon were sterilized with 15% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution from 3 to 11 minutes. The results showed that sterilization for 9 minutes gave the best with the clean sample rate of 80% and a germination rate of 100%. The leaves, petioles and nodal segments from *in vitro* grown seedlings were more effective as explants for organogenesis than cotyledons, hypocotyls and apical shoots. The mediums for callus formation from leaves and petioles were basal medium supplemented with 0.3 mg/L NAA (naphthaleneacetic acid) or 0.3 mg/L IBA (indole-3 butyric acid) with the ratio of callus formation of 80-100%. The basal medium supplemented with 0.5 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA was suitable for shoots generation from callus. The ratio of shoot formation was 100% with 4.3 shoots/callus. The basal mediums supplemented with 0.6 mg/L BAP (6-benzylaminopurine) or 0.3 mg/L kinetin were the most suitable for shoot regeneration from nodal segments with 100% shoot formation, 2.2 shoots/explant and 1.93 shoots/explant, respectively.

**Keywords:** Callus, *Cucumis melo*, Shoots regeneration

## 1. MỞ ĐẦU

Dưa lưới (*Cucumis melo* L.) là một trong những loại rau ăn quả quan trọng nhất trên thế giới. Dưa lưới có thời gian sinh trưởng ngắn, trồng được nhiều vụ trong năm với năng suất dao động từ 20 - 30 tấn/ha (CESTI, 2019). Hiện nay, dưa lưới rất được ưa chuộng, có giá trị kinh tế cao do có nhiều chất dinh dưỡng tốt cho sức khỏe (Keng và Hoong, 2006; Lin và cs., 2011).

Dưa lưới đang được trồng phổ biến tại nhiều nước trên thế giới như Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung quốc, Israel, Việt Nam... Mặc dù vậy, dưa lưới hầu hết được trồng từ hạt giống lai F1 có giá thành cao, không chủ động nguồn giống. Vì vậy, để đáp ứng nhu cầu về nguồn giống có chất lượng, đồng đều, không bị sâu bệnh, trên thế giới có nhiều nghiên cứu tập trung ở lĩnh vực nhân giống vô tính *in vitro* cây dưa lưới. Các tác giả đã nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng là BAP (6-benzylaminopurine), kinetin, NAA (naphthaleneacetic acid), acid Gibberellic, IBA (indole-3 butyric acid), IAA (indole acetic acid) đến khả năng tái sinh, nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh *in vitro* chủ yếu thông qua nuôi cấy chồi đỉnh, đoạn thân, đốt thân của cây dưa lưới (Ahmad và Jatoi, 1999; Keng và Hoong, 2005; Lin và cs., 2011; Parvin và cs., 2013; Sebastiani và Ficcadenti, 2015; Bezirganoglu, 2017; Naderi và Mahmoudi, 2017; Grozeva và cs., 2019). Ở Việt Nam, Nguyễn Văn Việt và cs. (2018) cũng đã sử dụng chồi đỉnh của cây dưa lê Kim hoàng hậu, một giống dưa cùng loài với dưa lưới để nghiên cứu ảnh hưởng của BAP, kinetin, NAA các loại đường và nồng độ đường đến khả năng tạo chồi cũng như tạo cây hoàn chỉnh *in vitro* (Nguyễn Văn Việt và cs., 2018). Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu này đều sử dụng vật liệu nuôi cấy là chồi đỉnh và đốt thân. Trong nhân giống vô tính *in vitro*, ngoài chồi đỉnh và đốt thân thường được sử dụng làm mô nuôi cấy để tái sinh chồi trực tiếp còn có

phương thức tạo chồi gián tiếp thông qua giai đoạn mô sẹo từ nuôi cấy các cơ quan sinh dưỡng khác của cây như mô lá, mô thân, mô rễ (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011).

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích tạo nguồn nguyên liệu khởi đầu *in vitro* khỏe mạnh, không bị sâu bệnh từ nuôi cấy các cơ quan sinh dưỡng, góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây dưa lưới để tạo ra một lượng lớn cây giống phục vụ nhu cầu sản xuất ở quy mô công nghiệp.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

**Nguồn mẫu:** nguồn mẫu được sử dụng trong thí nghiệm là hạt giống dưa lưới F1 ORS8H211 nhập khẩu từ Israel do công ty A-Farm (Đà Nẵng) cung cấp.

**Hóa chất khử trùng:** dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nồng độ 15%.

**Chất điều hòa sinh trưởng:** BAP, kinetin, NAA, IBA.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp bố trí và theo dõi thí nghiệm

*Thí nghiệm 1: Nghiên cứu hiệu quả của phương pháp khử trùng*

Mẫu hạt dưa lưới được rửa sạch bằng nước xà phòng loãng, sau đó rửa dưới vòi nước chảy. Trước khi khử trùng hạt bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% với các thời gian 3 phút, 5 phút, 7 phút, 9 phút và 11 phút, hạt được ngâm trong cồn 70% trong 30 giây. Cuối cùng hạt được rửa bằng nước cất vô trùng 4 lần và cấy lên môi trường nuôi cấy cơ bản. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần theo dõi 5 mẫu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 14 ngày. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu sống sạch (%), tỷ lệ mẫu chết (%).

*Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA/IBA đến khả năng cảm ứng tạo mô sẹo của mô nuôi cấy*

Cây con này mầm từ hạt được sử dụng làm vật liệu để nuôi cấy *in vitro* ở thí

thí nghiệm cấy khởi động. Các loại mô: phiến lá, cuống lá, lá mầm, trụ dưới lá mầm được cấy lên môi trường nuôi cấy cơ bản có bổ sung chất kích thích sinh trưởng là NAA (0,0 - 0,5 mg/L) hoặc IBA (0,0 - 0,5 mg/L) với các nồng độ khác nhau. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần theo dõi 10 mẫu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 6 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%); đặc điểm của mô sẹo.

*Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của BAP/kinetin đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo*

Mô sẹo thu được từ nuôi cấy mô lá được cấy vào môi trường cơ bản bổ sung BAP (0,0 - 0,7 mg/L) hoặc kinetin (0,0 - 0,7 mg/L) với các nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng tạo chồi từ mô sẹo. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần theo dõi 10 mẫu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 8 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mô sẹo tạo chồi (%), số chồi/mẫu (chồi).

*Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo*

Mô sẹo thu được từ nuôi cấy mô lá được cấy vào môi trường cơ bản bổ sung BAP với nồng độ tốt nhất của thí nghiệm 3 kết hợp với NAA (0,0 - 0,2 mg/L) để thăm dò khả năng tạo chồi từ mô sẹo. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 8 tuần. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần theo dõi 10 mẫu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 8 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mô sẹo tạo chồi (%), số chồi/mẫu (chồi).

*Thí nghiệm 5: Ảnh hưởng của BAP/kinetin đến khả năng tạo chồi trực tiếp từ chồi đỉnh và đốt thân*

Chồi đỉnh và đốt thân (đoạn thân mang mắt ngủ) có kích thước khoảng 0,5 cm của cây con mới nảy mầm *in vitro* được cấy lên môi trường nuôi cấy cơ bản có bổ sung BAP (0,0 - 0,9 mg/L) hoặc kinetin (0,0 - 0,9 mg/L) với các nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng tạo chồi trực tiếp *in vitro*. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần theo dõi 5 mẫu. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 8 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu tạo chồi (%), số chồi/mẫu (chồi).

*2.2.2. Môi trường và điều kiện nuôi cấy*

**Môi trường nuôi cấy cơ bản:** Môi trường Murashige & Skoog (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung 25 g/L saccharose, 6,5 g/L agar. Môi trường được điều chỉnh pH về 5,8 - 6,0 trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút.

**Điều kiện nuôi cấy:** Tất cả các bình nuôi đều được đặt trong điều kiện nhân tạo với nhiệt độ phòng nuôi là 25 - 27°C, cường độ chiếu sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 12 h/ngày.

**Thời gian và địa điểm nghiên cứu:** Tất cả các thí nghiệm được thực hiện từ tháng 1/2021 đến tháng 8/2021 tại phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô tế bào thực vật, khoa Nông học, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

*2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu*

Các số liệu thu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và Statistis 9.0 bằng phân tích phương sai một nhân tố (One-Way ANOVA) ở mức  $\alpha = 0,05$ .

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Hiệu quả của phương pháp khử trùng

Mẫu hạt được rửa sạch bằng nước xà phòng loãng, sau đó khử trùng bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

15% với các thời gian khác nhau. Hiệu quả khử trùng mẫu bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% sau 14 ngày được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu

Thời gian khử trùng (phút)	Hiệu quả khử trùng		
	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống và sạch (%)
3	93,33 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	6,67 <sup>c</sup>
5	86,67 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	13,33 <sup>c</sup>
7	46,67 <sup>b</sup>	0,00 <sup>b</sup>	53,33 <sup>b</sup>
9	13,33 <sup>c</sup>	6,67 <sup>b</sup>	80,00 <sup>a</sup>
11	6,67 <sup>c</sup>	46,67 <sup>a</sup>	46,67 <sup>b</sup>
LSD <sub>0,05</sub>	21,01	13,29	24,86

Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

Bảng 1 cho thấy, khi tăng thời gian khử trùng mẫu bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% từ 3 phút lên 9 phút thì tỷ lệ mẫu sống và sạch tăng từ 6,67% lên 80,00%. Tiếp tục tăng thời gian khử trùng lên 11 phút thì tỷ lệ nhiễm giảm nhưng đồng thời tỷ lệ mẫu chết cũng tăng nên tỷ lệ mẫu sống và sạch giảm đáng kể chỉ còn 46,67%. Quan sát thí nghiệm chúng tôi nhận thấy rằng, sau 14 ngày nuôi cấy tất cả mẫu sống và sạch nảy mầm thành cây hoàn chỉnh. Nguyễn Văn Việt và cs. (2018) khi sử dụng NaClO 6% để khử trùng hạt dưa lê Kim hoàng hậu trong thời gian 6 phút thu được tỷ lệ mẫu sạch là 96,7% và tỷ lệ hạt nảy mầm là 93,3%. Tỷ lệ mẫu sạch trong thí nghiệm của các tác giả này cao hơn kết quả của chúng tôi tuy nhiên tỷ lệ nảy mầm thành cây hoàn chỉnh của hạt giống khử trùng bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% trong thí nghiệm của chúng tôi đạt 100%. Điều này có thể giải thích là do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> có tác dụng nhẹ hơn và mô nuôi cấy ít bị ảnh hưởng hơn so với NaOCl (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011).



**Hình 1.** Hạt dưa lưới nảy mầm *in vitro*. Thanh bar: 1 cm

#### 3.2. Ảnh hưởng của NAA/IBA đến khả năng tạo mô sẹo của mô nuôi cấy

Các mô phiến lá, cuống lá, lá mầm, trụ dưới lá mầm của cây dưa lưới mới nảy mầm *in vitro* được cấy lên môi trường nuôi cấy cơ bản có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin là NAA hoặc IBA với nồng độ là 0,0 - 0,5 mg/L để thăm dò khả năng tạo mô sẹo. Bảng 2 và Bảng 3 cho thấy, môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thì mô nuôi cấy hoàn toàn không có cảm ứng tạo mô sẹo, sau một thời gian sẽ vàng và chết. Qua quá trình theo dõi thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy trên các môi trường có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, mô sẹo đều bắt đầu hình thành sau 15 ngày nuôi. Mô sẹo xuất hiện đầu tiên ở các vết cắt sau đó mọc đầy trên bề mặt của mô nuôi cấy.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo mô sẹo của mô nuôi cấy (sau 6 tuần)

NAA (mg/L)	Phiến lá		Cuống lá		Lá mầm		Trụ dưới lá mầm	
	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo
0,00 (Đôi chứng)	0,00 <sup>c</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-
0,10	30,00 <sup>b</sup>	++	56,67 <sup>b</sup>	++	40,00 <sup>a</sup>	+	43,33 <sup>a</sup>	+
0,30	91,67 <sup>a</sup>	+++	100 <sup>a</sup>	+++	16,67 <sup>b</sup>	+	23,33 <sup>b</sup>	+
0,50	100 <sup>a</sup>	++	100 <sup>a</sup>	++	13,33 <sup>b</sup>	+	16,67 <sup>b</sup>	+
LSD <sub>0,05</sub>	16,53		5,44		7,69		13,31	

Trong cùng 1 cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

+ : Mô sẹo màu trắng, ướt; ++: Mô sẹo màu trắng, xốp; +++: Mô sẹo xanh, khô; -: Mô nuôi cấy chết

Đối với mô phiến lá và cuống lá, cảm ứng phát sinh mô sẹo tốt nhất trên môi trường cơ bản có bổ sung 0,3 mg/L NAA với tỷ lệ tạo mô sẹo lần lượt là 91,67% và 100%, các mô sẹo hình thành có màu xanh và khô. Khi tăng nồng độ NAA lên 0,5 mg/L thì tỷ lệ tạo mô sẹo từ phiến lá và cuống lá sai khác không có ý nghĩa thống kê so với môi trường có bổ sung 0,3 mg/L NAA, mô sẹo được hình thành xốp và không có màu xanh.

Trên môi trường có bổ sung NAA, lá mầm và trụ dưới lá mầm có tỷ lệ cảm ứng tạo mô sẹo không cao. Tỷ lệ tạo mô sẹo của lá mầm và trụ dưới lá mầm đạt cao nhất là 40,00% và 43,33% ở môi trường có bổ sung

0,1 mg/L NAA. Quan sát thí nghiệm chúng tôi nhận thấy rằng, các mô sẹo được hình thành từ lá mầm và trụ dưới lá mầm đều có màu trắng, mọng nước và sau một thời gian thì không phát triển và chết.

NAA là một chất thuộc nhóm auxin có tác dụng kích thích quá trình cảm ứng tạo mô sẹo trong nuôi cấy *in vitro* nên được nhiều tác giả sử dụng bổ sung vào môi trường nuôi cấy để thăm dò khả năng cảm ứng tạo mô sẹo. Quang và cs. (2019) đã bổ sung 0,3 mg/L NAA vào môi trường nuôi cấy mô lá, mô thân của cây *Adenosma indianum* (Lour.) cho kết quả tạo mô sẹo tốt nhất (Quang và cs., 2019).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo mô sẹo của mô nuôi cấy (sau 6 tuần)

IBA (mg/L)	Phiến lá		Cuống lá		Lá mầm		Trụ dưới lá mầm	
	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo
0,00 (Đôi chứng)	0,00 <sup>d</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-	0,00 <sup>c</sup>	-
0,10	23,00 <sup>c</sup>	++	70,00 <sup>b</sup>	+++	13,33 <sup>bc</sup>	+	16,67 <sup>b</sup>	+
0,30	80,00 <sup>b</sup>	+++	100 <sup>a</sup>	+++	53,33 <sup>a</sup>	+	43,33 <sup>a</sup>	+
0,50	100 <sup>a</sup>	+	100 <sup>a</sup>	+++	16,67 <sup>b</sup>	+	23,33 <sup>b</sup>	+
LSD <sub>0,05</sub>	19,60		9,41		16,31		13,31	

Trong cùng 1 cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

+ : Mô sẹo màu trắng, ướt; ++: Mô sẹo màu trắng, xốp; +++: Mô sẹo xanh, khô; -: Mô nuôi cấy chết

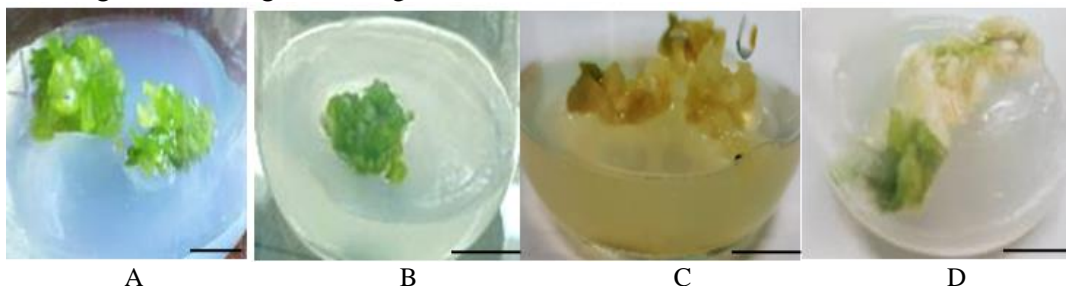
Bảng 3 cho thấy, trên môi trường nuôi cấy cơ bản bổ sung 0,3 mg/L IBA, mô phiến lá, cuống lá, lá mầm và trụ dưới lá

mầm đều có tỷ lệ cảm ứng tạo mô sẹo tốt nhất với tỷ lệ tạo mô sẹo lần lượt là 80%, 100%, 53,33% và 43,33%.

Tương tự như môi trường bổ sung NAA, trên môi trường bổ sung IBA, các mô sẹo được hình thành từ phiến lá và cuống lá có màu xanh và khô trong khi đó mô sẹo hình thành từ lá mầm và trụ dưới lá mầm đều có màu trắng, mọng nước và sau một thời gian nuôi cấy không phát triển thêm và bị chết.

Trong nhóm auxin, bên cạnh NAA, IBA cũng được sử dụng để bổ sung vào môi

trường nuôi cấy *in vitro* nhằm mục đích tạo mô sẹo. Nghiên cứu của Quang và cs. (2019) đối với mô lá, cuống lá, đoạn thân của cây *Adenosma indianum* (Lour.) cho thấy, mô lá, cuống lá trên môi trường bổ sung 0,3 mg/L IBA cho kết quả tạo mô sẹo tốt nhất. Trong khi đó, đối với đoạn thân, môi trường bổ sung 0,5 mg/L cho kết quả tạo mô sẹo tốt nhất (Quang và cs., 2019).



**Hình 2.** Mô sẹo hình thành từ mô phiến lá (Hình A), cuống lá (Hình B) trên môi trường bổ sung 0,3 mg/L NAA và từ lá mầm (Hình C), trụ dưới lá mầm (Hình D) trên môi trường bổ sung 0,1 mg/L NAA. Thanh bar: 1 cm.

### 3.3. Nghiên cứu khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo

Trong nhân giống vô tính *in vitro*, các chất điều hòa sinh trưởng có khả năng điều khiển quá trình phát sinh hình thái của mô nuôi cấy. Nhóm chất điều hòa sinh trưởng cytokinin (BAP, kinetin, zeatin,...) có vai trò kích thích quá trình tạo chồi trong nuôi cấy *in vitro*, trong đó BAP và kinetin thường được sử dụng do chúng có hoạt tính cao và bền với nhiệt (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011).

Trong vi nhân giống, chồi đỉnh và đốt thân thường được sử dụng rộng rãi để làm nguyên liệu nuôi cấy do chồi thường được tái sinh trực tiếp từ các mô này và sinh trưởng tốt. Bên cạnh đó, các loại mô khác

như mô lá, thân, rễ cũng có thể được sử dụng làm nguyên liệu nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, quá trình tạo chồi từ các loại mô này thường là gián tiếp thông qua giai đoạn mô sẹo, là một loại mô có độ biến động di truyền cao. Để khắc phục vấn đề này, mô sẹo được sử dụng để tạo chồi thường là mô sẹo mới được tái sinh (mô sẹo sơ cấp) từ mô nuôi cấy không qua cấy chuyển nhiều lần (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011). Ở nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô sẹo sơ cấp có nguồn gốc từ lá để tái sinh chồi *in vitro*. Mô sẹo được cấy lên môi trường có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng là BAP hoặc kinetin để thăm dò khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo (sau 8 tuần)

BAP (mg/L)	Khả năng tái sinh chồi	
	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
0,00 (Đối chứng)	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>d</sup>
0,10	13,33 <sup>d</sup>	1,67 <sup>c</sup>
0,30	30,00 <sup>c</sup>	2,56 <sup>b</sup>
0,50	80,00 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>
0,70	63,33 <sup>b</sup>	3,26 <sup>a</sup>
<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>	13,29	0,48

Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

Bảng 4 cho thấy, BAP có tác dụng thúc đẩy quá trình tạo chồi từ mô sẹo. Ở môi trường không bổ sung BAP, mô sẹo không có cảm ứng tạo chồi. Khi tăng nồng độ BAP từ 0,1 mg/L đến 0,5 mg/l thì tỷ lệ mô sẹo tạo chồi cũng như số chồi/mẫu đều tăng và đạt giá trị cao nhất ở môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BAP với tỷ lệ mẫu tạo chồi là 80%, số chồi/mẫu là 3,59 chồi. Khi tiếp tục tăng nồng độ BAP lên 0,7 mg/L thì tỷ lệ mô sẹo tạo chồi giảm còn 63,33%, trong khi số chồi tạo thành không sai khác có ý nghĩa thống

kê so với môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BAP.

Chee (1991), nghiên cứu tái sinh chồi giống dưa lưới “Topmark” từ mô sẹo cho thấy môi trường có bổ sung BA hoặc kinetin có tác dụng kích thích quá trình tạo chồi từ mô sẹo. Bổ sung BA với nồng độ 0,75 mg/L và 1,0 mg/L cho tỷ lệ mô sẹo tạo chồi lần lượt là 60% và 80%. Bên cạnh đó, môi trường bổ sung 6,0 mg/L kinetin và 1,5 mg/L IAA cho tỷ lệ mô sẹo tạo chồi là 20% (Chee, 1991).

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo (sau 8 tuần)

Kinetin (mg/L)	Khả năng tái sinh chồi	
	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
0,00 (Đối chứng)	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>d</sup>
0,10	16,67 <sup>d</sup>	1,67 <sup>c</sup>
0,30	33,33 <sup>c</sup>	2,50 <sup>b</sup>
0,50	83,33 <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>
0,70	66,67 <sup>b</sup>	2,85 <sup>b</sup>
<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>	14,85	0,52

*Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$*

Bảng 5 cho thấy, kinetin cũng có tác dụng kích thích quá trình cảm ứng tạo chồi từ nuôi cấy mô sẹo. Khi bổ sung kinetin nồng độ 0,1 - 0,5 mg/L vào môi trường nuôi cấy, tỷ lệ mô sẹo tạo chồi cũng như số chồi tạo thành đều tăng và đạt giá trị cao nhất trên môi trường có bổ sung 0,5 mg/L kinetin với 83,33% mô sẹo tạo chồi và số chồi/mẫu là 3,52 chồi.

thích sự phân chia mạnh mẽ của tế bào, ảnh hưởng đến sự hình thành và phân hóa chồi từ mô nuôi cấy (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011). Vì vậy chúng tôi tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA đến khả năng tái sinh chồi của mô sẹo.

Trong nhân giống *in vitro*, sự kết hợp giữa các chất thuộc nhóm cytokinin và auxin với tỷ lệ thích hợp có tác dụng kích

Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng mô sẹo *in vitro* được tái sinh từ mô lá cây lên môi trường có bổ sung BAP nồng độ 0,5 mg/L kết hợp với NAA với các nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo.

**Bảng 6.** Ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo (sau 8 tuần)

Chất điều hòa sinh trưởng (mg/L)		Khả năng tái sinh chồi	
BAP	NAA	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
0,50	0,00 (Đối chứng)	83,33 <sup>ab</sup>	3,56 <sup>c</sup>
0,50	0,05	90,00 <sup>a</sup>	4,01 <sup>b</sup>
0,50	0,10	100 <sup>a</sup>	4,30 <sup>a</sup>
0,50	0,15	86,67 <sup>a</sup>	3,72 <sup>c</sup>
0,50	0,20	66,67 <sup>b</sup>	3,24 <sup>d</sup>
<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>		18,19	0,28

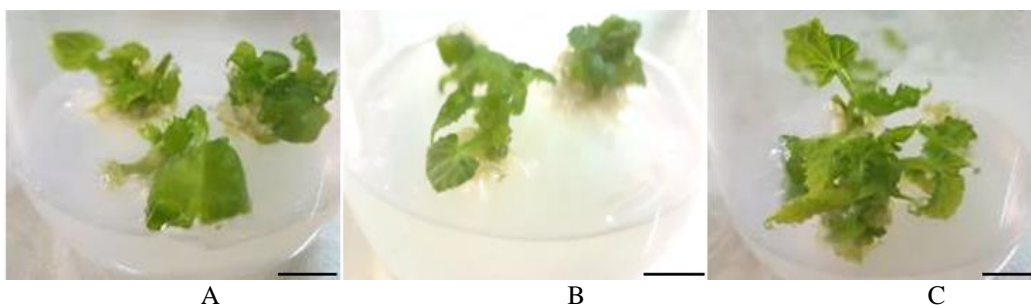
*Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$*



Bảng 6 cho thấy, khi bổ sung NAA kết hợp với BAP với tỷ lệ thích hợp vào môi trường nuôi cấy có tác dụng kích thích quá trình cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo. Trên môi trường có 0,5 mg/L BAP bổ sung thêm NAA (0,05 - 0,1mg/L) thì số chồi tạo thành trung bình cao hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng (không bổ sung thêm NAA) với số chồi/mẫu là 4,01 chồi và 4,30 chồi. Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng nồng độ NAA thì tỷ lệ mô sẹo tạo chồi cũng như số chồi/mẫu có xu hướng giảm. Ở môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BAP và 0,2 mg/L NAA tỷ lệ mẫu tạo chồi giảm chỉ còn 66,67% và số chồi/mẫu là 3,24 chồi. Theo dõi thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy trên môi trường này, một số mô sẹo không có cảm ứng tạo chồi mà có xu hướng tiếp tục

hình thành những tế bào mô sẹo mỏng nước và dần chuyển sang màu trắng trong.

Nghiên cứu của Grozeva và cs. (2019) về khả năng cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo của hai giống dưa lưới là Cantalupensis (dòng 11/9) và Reticulatus (dòng AGY) cho thấy, trên môi trường bổ sung 1mg/L BAP và 0,5 mg/L IAA dòng 11/9 có tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi là 100% với số chồi/mẫu là 1,5 chồi. Dòng AGY có tỷ lệ mô sẹo tái sinh chồi cao nhất là 75% với số chồi/mẫu là 0,75 chồi trên môi trường bổ sung 1,5 mg/L BAP và 0,5 mg/L IAA (Grozeva, 2019). Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi trên giống dưa lưới ORS8H211 có kết quả tốt hơn.



**Hình 3.** Chồi tái sinh từ mô sẹo trên môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BAP (hình A); 0,5 mg/L kinetin (Hình B); và 0,5 mg/L BAP kết hợp với 0,1 mg/L NAA (Hình C). Thanh bar: 1 cm

### 3.4. Nghiên cứu khả năng tạo chồi trực tiếp *in vitro*

Trong nhân giống *in vitro*, chồi đỉnh và đốt thân là hai bộ phận của thực vật thường được sử dụng để làm nguồn mẫu đưa vào nuôi cấy do chúng có nhiều ưu điểm như mô còn non, dễ tái sinh và sinh trưởng tốt. Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng chồi đỉnh và đốt thân có kích thước khoảng 0,5 cm của cây con mới nảy mầm *in vitro* nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng

ơ bản có bổ sung BAP hoặc kinetin để thăm dò khả năng tái sinh chồi.

Đối với chồi đỉnh, trên môi trường bổ sung BAP và kinetin đều không tái sinh thêm chồi mà chỉ có quá trình kéo dài chồi do ảnh hưởng của hiện tượng ưu thế ngọn. Vì vậy, số liệu ở Bảng 7 và Bảng 8 chỉ thể hiện kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP hoặc kinetin đến khả năng tạo chồi từ đốt thân.



**Bảng 7.** Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi trực tiếp từ đốt thân (sau 8 tuần)

BAP (mg/L)	Khả năng tái sinh chồi	
	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
0,00 (Đối chứng)	46,67 <sup>b</sup>	1,00 <sup>c</sup>
0,30	100 <sup>a</sup>	1,53 <sup>b</sup>
0,60	100 <sup>a</sup>	2,20 <sup>a</sup>
0,90	100 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>
<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>	15,37	0,27

Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

Bảng 7 cho thấy, BAP có tác dụng kích thích khả năng tạo chồi trực tiếp từ đốt thân dưa lưới *in vitro*. Trên môi trường không bổ sung BAP, tỷ lệ mẫu tạo chồi thấp (46,67%), các mẫu hầu như chỉ tạo được 1 chồi. Khi bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, số chồi tạo thành tăng cao hơn so với công thức đối chứng. Số chồi tạo thành cao nhất khi nuôi cấy đốt thân trên môi trường bổ sung 0,6 mg/L BAP với 2,20 chồi/mẫu. Nếu tiếp tục tăng hàm lượng BAP lên 0,9 mg/L thì số chồi tạo thành không tăng, kết quả thu được

sai khác không có ý nghĩa so với môi trường có bổ sung 0,6 mg/L BAP. Keng và Hoong (2006), tái sinh chồi trực tiếp từ nuôi cấy đốt thân giống dưa lưới Honey Dew trên môi trường bổ sung 8 mg/L BAP đạt 19,4 chồi. Trong khi đó, Parvin và cs. (2013) nghiên cứu tạo chồi trực tiếp từ chồi đỉnh và đốt thân của giống dưa lưới địa phương cho thấy rằng, trên môi trường bổ sung 0,5 mg/L BAP cả chồi đỉnh và đốt thân đều có sự hình thành chồi với tỷ lệ tạo chồi của chồi đỉnh và đốt thân lần lượt là 10% và 15%, số chồi tạo thành là 3,2 và 3,1 chồi.

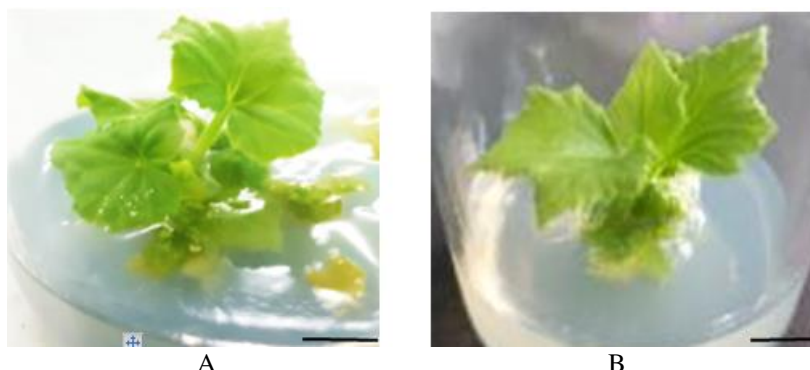
**Bảng 8.** Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tạo chồi trực tiếp đốt thân (sau 8 tuần)

Kinetin (mg/L)	Khả năng tái sinh chồi	
	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)
0,00 (Đối chứng)	33,33 <sup>b</sup>	1,00 <sup>c</sup>
0,30	100 <sup>a</sup>	1,93 <sup>a</sup>
0,60	100 <sup>a</sup>	1,53 <sup>b</sup>
0,90	93,33 <sup>a</sup>	1,65 <sup>b</sup>
<i>LSD</i> <sub>0,05</sub>	15,37	0,26

Trong cùng một cột, các chữ cái <sup>a, b, c</sup> khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các công thức ở mức  $\alpha = 0,05$

Trong các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin, bên cạnh BAP, kinetin cũng thường được sử dụng trong nhân giống *in vitro* vì chúng có tác dụng kích thích quá trình phát sinh chồi tương đương nhau (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011). Trong thí nghiệm này, chúng tôi bổ sung kinetin vào môi trường nuôi cấy với nồng độ 0,3 - 0,9 mg/L để thăm dò khả năng tạo chồi trực tiếp từ đốt thân dưa lưới *in vitro*.

Kết quả ở Bảng 8 cho thấy, môi trường có bổ sung 0,3 mg/L kinetin cho kết quả tạo chồi tốt nhất với 100% mẫu tạo chồi, số chồi tạo thành trên mỗi mẫu là 1,93 chồi. Tăng nồng độ kinetin lên 0,6 - 0,9 mg/L, mặc dù tỷ lệ mẫu tạo chồi vẫn rất cao (trên 93%) nhưng số chồi tạo thành (1,53-1,65 chồi/mẫu) thấp hơn so với môi trường bổ sung 0,3 mg/L kinetin có ý nghĩa thống kê với mức  $\alpha = 0,05$ .



**Hình 4.** Chồi tái sinh trực tiếp từ đốt thân trên môi trường bổ sung 0,6 mg/L BAP (Hình A); Môi trường bổ sung 0,3 mg/L kinetin (Hình B). Thanh bar: 1 cm

#### 4. KẾT LUẬN

Khử trùng hạt dưa lưới ORS8H211 bằng dung dịch  $H_2O_2$  15% trong thời gian 9 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất với 80% mẫu sống và sạch, 100% hạt nảy mầm sau 14 ngày nuôi.

Mô phiến lá và cuống lá là loại mô thích hợp để tạo mô sẹo *in vitro* trên môi trường nuôi cấy cơ bản có bổ sung 0,3 mg/L NAA hoặc 0,3 mg/L IBA tỷ lệ cảm ứng tạo mô sẹo đạt từ 80% - 100%. Mô sẹo có màu xanh, khô, không bị mọng nước.

Môi trường nuôi cấy cơ bản có bổ sung 0,5 mg/L BAP và 0,1 mg/L NAA là môi trường thích hợp nhất cho quá trình cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo. Tỷ lệ mô sẹo tạo chồi là 100% với số chồi/mẫu là 4,3 chồi.

Chồi đỉnh trên môi trường tạo chồi trực tiếp chỉ có quá trình kéo dài chồi. Môi trường nuôi cấy cơ bản bổ sung 0,6 mg/L BAP hoặc 0,3 mg/L kinetin là môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi trực tiếp từ đốt thân. Tỷ lệ tạo mẫu tạo chồi là 100%, số chồi tạo thành trên môi trường có 0,6 mg/L BAP và 0,3 mg/L kinetin lần lượt là 2,2 chồi/mẫu và 1,93 chồi/mẫu.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin được cảm ơn sự hỗ trợ một phần kinh phí của nhóm nghiên cứu mạnh trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, mã số NCM.ĐHNL.2021-1"

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### 1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Hoàng Lộc. (2011). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật - các khái niệm và ứng dụng*. Nhà xuất bản Đại học Huế
- Nguyễn Văn Việt, Đoàn Thị Thu Hương và Trần Việt Hà. (2018). Xây dựng kỹ thuật nhân giống *in vitro* dưa lê Kim hoàng hậu. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, (3), 136-142.
- Trung tâm thông tin và thống kê Khoa học công nghệ (CESTI). (14/11/2019). *Quy trình sản xuất dưa lưới ứng dụng 4.0*. Khai thác từ <https://cesti.gov.vn/chi-tiet/9932/mo-hinh-cong-nghe-ung-dung-vao-san-xuat/quy-trinh-san-xuat-dua-luoi-ung-dung-cong-nghe-40>

##### 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Ahmad, M., & Jatoti, S. A. (1999). Mass Production of Musk Melon (*Cucumis Melo L.*) As Influenced by plant growth regulators and age of explant. *Scientific Khyber Journal*, 2(2), 35-38.
- Bezrganoglu, I. (2017). Tissue culture of *Cucumis melo*. *Agriculture Research & Technology open Access Journal*, 6(2), 35-36.
- Chee, P.P. (1991). Plant Regeneration from Cotyledons of *Cucumis melo* 'Topmark'. *HortScience*, 26(7), 908-910.
- Grozeva, S.Y., Velkov, N.V. & Ivanova, Z.V (2019). *In vitro* Plant Regeneration of Two *Cucumis melo* L. Genotypes Using Different Explant Types and Culture Medium. *Ecologia Balkanica Journal*, 11(2), 193-202.
- Keng, C. L. & Hoong, L. K. (2005). *In vitro* Plantlets Regeneration from Nodal Segments of Musk Melon (*Cucumis melo L.*). *Biotechnology Journal*, 4(4), 354-357.

- Lin, Y.T., Lin, C. W., Chung, H.C., Su, M. H., Ho, H. Y., Yeh, S.D., Jan, F.J. & Ku, H.M. (2011). *In vitro* Regeneration and Genetic Transformation of *Cucumis metuliferus* through Cotyledon Organogenesis. *HortScience*, 46(4), 616–621.
- Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiol*, 15(3), 473–497.
- Naderi, D. & Mahmoudi, E. (2017). *In vitro* Regeneration of Iranian Melon (*Cucumis melo* L. ‘Samsoori’) Using Antibiotic and Benzyl adenine Micropropagation of *Cucumis melo* L. ‘Samsoori’. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 4(1), 117-126, 2322-1461. DOI: 10.22059/ijhst.2017.224186.165.
- Parvin, S., Kausar, M., Enamul, H. M., Khalekuzzaman, M., Sikdar, B. & Asadul, I. M. (2013). *In vitro* propagation of muskmelon (*Cucumis melo* L.) from nodal segments, shoot tips and cotyledonary nodes. *Rajshahi University journal of life & earth and agricultural sciences*, 41, 71-77.
- Quang, H.T., Phuong, T. T. B., Nhu, P. T. T., Thuy, L. T. N., Lan, T. T. & Dung, T. Q. (2019). *In vitro* propagation of *Adenosma indianum* (Lour.). *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 20(5&6), 222-231.
- Sebastian, M. S. & Ficcadenti, N. (2015, September 25). *In vitro* plant regeneration from cotyledonary explants of *Cucumis melo* L. var. cantalupensis and genetic stability evaluation using RAPD analysis. Retrieved from [https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.springer-doi-10\\_1007-S11240-015-0875-3](https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.springer-doi-10_1007-S11240-015-0875-3)