

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH *IN VITRO* CÂY SUNG MAGIC (*Ficus carica* L.) TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC PHÚ YÊN

Nguyễn Thị Phi Loan, Nguyễn Khánh Hy*, Dương Thị Oanh

Trường Đại học Phú Yên

Ngày nhận bài: 27/04/2020; ngày nhận đăng: 08/06/2020

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xây dựng một quy trình hiệu quả cho nhân giống *in vitro* cây Sung Magic (*Ficus carica* L.) cũng như khả năng sinh trưởng và phát triển của cây ở giai đoạn vườn ươm. Sự nhân chồi từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách *in vitro* trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/L BA kết hợp với 10% nước dừa là thích hợp nhất. Môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản có bổ sung 1 mg/l IBA kết hợp với 10% nước dừa tỏ ra hiệu quả trong quá trình tạo rễ. Cây con phát triển khỏe mạnh sau 2 tháng trong vườn ươm khi được trồng và chăm sóc trên giá thể đất cát, xơ dừa và phân chuồng hoai phối trộn với tỉ lệ 1,5:1,5:1 (v:v:v), ở chế độ tưới nước 2 lần/ngày.

Từ khóa: *Ficus carica* L., giai đoạn vườn ươm, nhân giống *in vitro*, tái sinh chồi.

1. Đặt vấn đề

Sung Magic có tên khoa học là *Ficus carica* Linn. thuộc họ Moraceae. Sung (*Ficus carica* L.) là cây bản địa Tây Nam Á và đã được nhân giống trồng quy mô trên khắp khu vực Địa Trung Hải (Phạm S, 2016). Đây là loài cây rụng lá có kích thước nhỏ hoặc vừa phải, cao từ 15-30 feet; lá hình trứng rộng hoặc gần như là hình thoi, phân thùy sâu từ 3-5 thùy, bề mặt lá thô ráp; quả mọc ở nách lá, có nhiều kích thước và màu sắc khác nhau (Vikas & Vijay, 2011). Quả của chúng có hương vị thơm ngon với giá trị thương mại cao. Quả được tiêu thụ ở dạng khô và tươi. Quả Sung rất giàu chất xơ, kali, canxi và sắt cao hơn nhiều so với chuối, nho, dâu tây, táo và cam. Ngoài ra, toàn bộ cây Sung bao gồm cả quả, lá, rễ, mù và cành lá còn có giá trị dược lý khi được dùng để điều trị các bệnh liên quan đến thị lực, tiêu hóa và chứa các đặc tính chống oxy hóa, chống giun sán, chống nấm và chống ung thư (Wan và nnk., 2018).

Cây có thể chịu ngưỡng nhiệt độ từ -10°C đến 40°C , từ sương giá đến khí hậu nóng nhiệt đới (Phạm S, 2016). Cây có thể trồng trên nhiều loại đất: cát nhẹ, mùn giàu, đất sét nặng hoặc đá vôi (Vikas & Vijay, 2011). Đất cát vừa khô vừa chứa lượng vôi phù hợp là môi trường ưa thích của cây. Cây có thể thích ứng với môi trường có độ mặn vừa phải, đây là đặc điểm rất tốt cho việc tận dụng nguồn đất cát ven biển làm đất trồng cây (Phạm S, 2016). Sản xuất Sung đã được thương mại hóa tại các quốc gia ven biển Địa Trung Hải hoặc ở các quốc gia có khí hậu tương tự như California, Úc hoặc Nam Mỹ (Vikas & Vijay, 2011). Các quốc gia sản xuất Sung lớn nhất là Thổ Nhĩ Kỳ, Ai Cập, Iran, Hy Lạp và Algeria (Pasqual & Ferreira, 2007).

Cây Sung được coi là loài cây hội nhập quốc tế với thị trường tiêu thụ khá lớn nhưng chưa được nhiều quốc gia tại khu vực Đông Nam Á và Châu Á trồng ở quy mô sản

* Email: nguyengkhanh237@gmail.com

xuất lớn. Cây Sung là loại cây trồng dễ canh tác, ít bị sâu bệnh, phù hợp cho sản xuất theo tiêu chuẩn có chứng nhận với quy mô lớn chính vì vậy được nông dân và doanh nghiệp ưu tiên lựa chọn. Cây trồng này phù hợp với du lịch canh nông, thúc đẩy du lịch phát triển khai thác các vùng đất bỏ hoang ở ven biển, tạo cảnh quan du lịch nhân tạo hấp dẫn. *Ficus carica* L. mang nhiều đặc điểm ưu việt mà các cây ăn quả khác hiếm có, cho nên Tiến sĩ Phạm S đã du nhập và nhân giống chúng tại Việt Nam, lấy tên Sung Magic (Phạm S, 2016).

Phú Yên hiện có điều kiện thổ nhưỡng và khí hậu ven biển nhiệt đới phù hợp với việc canh tác cây Sung Magic. Việc đầu tư các nguồn lực vào nghiên cứu, thử nghiệm, trồng và sản xuất các loại giống cây trồng mới là sản phẩm công nghệ cao đang được chính quyền địa phương chú trọng, quan tâm, nhằm thúc đẩy phát triển kinh tế địa phương.

Công nghệ nhân giống vô tính *in vitro* hiện nay có thể tạo hệ số nhân giống từ cây mẹ là rất lớn, từ vài ngàn đến một triệu cây con. Để chủ động nguồn cây giống có chất lượng cao, sạch bệnh phục vụ cho phát triển sản xuất, phục vụ nhu cầu nội tiêu cũng như xuất khẩu thì nhiệm vụ nhân giống Sung bằng phương pháp nuôi cấy mô là hướng đi đúng đắn. Với định hướng trên, chúng tôi đã nghiên cứu một quy trình nhân giống vô tính *in vitro* hiệu quả cây Sung Magic tại Trường Đại học Phú Yên nhằm làm cơ sở cho việc nhân giống quy mô lớn loài cây này ở địa phương.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là cây Sung Magic S (*Ficus carica* L.) *in vitro* từ Tiến sĩ Phạm S chuyển giao cho Ban quản lý Khu Công Nghệ Cao tỉnh Phú Yên.

Mẫu vật sử dụng trong nghiên cứu là chồi đỉnh và đoạn thân mang chồi nách từ cây *in vitro* 2 tháng tuổi khỏe mạnh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Môi trường dùng để nuôi cấy là môi trường MS cơ bản (Murashige & Skoog, 1962) có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau tùy theo mục đích của từng thí nghiệm. Nguồn carbon là saccharose. Môi trường được làm đặc bằng agar. pH của môi trường được điều chỉnh đến 5,7. Môi trường nuôi cấy được khử trùng ở 121⁰C (~ 1 atm) trong 20 phút.

Mẫu thí nghiệm được cấy trong các bình thủy tinh chứa môi trường và được đặt trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ 23 ± 2⁰C, cường độ ánh sáng khoảng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

2.2.2. Nghiên cứu khả năng nhân chồi từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách *in vitro*

Đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách khoảng 1 cm tách từ các cây *in vitro* được cấy lên môi trường ½ MS cơ bản chứa 30 g/l saccharose, 8 g/l agar và bổ sung BA (0,25 - 2 mg/l) riêng rẽ hoặc kết hợp với nước dừa với nồng độ 5-20% ở các tổ hợp và nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng nhân chồi. Số chồi tái sinh, chiều cao và số lá của chồi được ghi nhận sau 60 ngày nuôi cấy.

2.2.3. Nghiên cứu khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*

Các chồi *in vitro* khoảng 1,5 cm được tách ra và cấy lên môi trường ½ MS cơ bản chứa 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1mg/l NAA và 1mg/l IBA riêng rẽ hoặc kết hợp với 10% nước dừa để thăm dò khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*. Khả năng tạo rễ được đánh giá sau 60 ngày nuôi cấy thông qua các chỉ tiêu số rễ, chiều dài rễ và chiều cao chồi.

2.2.4. Chuyển cây con *in vitro* ra trồng ngoài vườn ươm

Các cây con *in vitro* 2 tháng tuổi đã phát triển lá và rễ đầy đủ, có chiều cao khoảng 3 cm, gồm 4-5 rễ và 5-7 lá được lấy ra khỏi bình nuôi. Các cây con được rửa sạch agar bám quanh rễ, đặt lên rổ chứa có lót giấy báo để cho ráo nước. Sau đó cây con được trồng vào chậu (12 x 13,5 cm) có chứa giá thể gồm hỗn hợp đất cát, mụn dừa, phân chuồng hoai theo tỷ lệ 1,5:1,5:1 (v:v:v).

Các cây con sau khi trồng vào chậu, được tưới đẫm nước và đặt ở nơi tránh ánh nắng trực tiếp trong vườn ươm. Vườn ươm được thiết kế thoáng mát, được phủ trần với lưới đen. Độ che nắng của lưới là 70%. Tiến hành tưới phun sương đều đặn 2 lần/ngày. Theo dõi và đánh giá khả năng sinh trưởng của cây con sau khi trồng 2, 4, 8 tuần. Số lượng cây con khảo sát là 30 cây cho 1 lần nhắc lại.

2.2.5. Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được tính trung bình và phân tích ANOVA với Duncan's test ($p < 0,05$) bằng phần mềm SPSS 20.0 (IBM).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khả năng nhân chồi từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách *in vitro*

3.1.1. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách của cây *in vitro*

Các chồi *in vitro* có kích thước khoảng 1 cm được cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản chứa 30 g/l saccharose, 8 g/l agar và bổ sung BA ở nồng độ khác nhau từ 0,25 đến 2 mg/l để thăm dò khả năng tạo chồi của đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách. Kết quả thí nghiệm sau 60 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Công thức	Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB chồi
B0	0	100	1,00 ^e	2,26 ^a	4,37 ^a
B1	0,25	100	1,89 ^d	1,31 ^b	4,00 ^b
B2	0,5	100	2,48 ^c	1,29 ^b	3,93 ^b
B3	1	100	3,33 ^b	0,81 ^c	3,69 ^c
B4	1,5	100	3,74 ^a	0,63 ^d	3,38 ^d
B5	2	100	3,22 ^b	0,47 ^e	3,23 ^d

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Với đối tượng là đỉnh chồi *in vitro*, sau 60 ngày nuôi cấy, trên các môi trường có bổ sung 0 - 2 mg/l BA, tỷ lệ tạo chồi đều đạt 100%. Trong đó, môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/l BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây sung Magic *in vitro*. Chồi mới phát triển tốt với số chồi trung bình là 3,74 chồi, chiều cao trung bình của chồi là 0,63 cm và số lá trung bình là 3,38 lá.

Thí nghiệm còn cho thấy số chồi tạo thành tăng khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường tăng từ 0 đến 1,5 mg/l, nhưng lại giảm khi nồng độ BA bổ sung tăng lên 2 mg/l

(Hình 1a). Chiều cao chồi và số lá của chồi tạo thành cũng giảm dần theo chiều tăng của nồng độ BA bổ sung vào môi trường.

Tuy nhiên, khi bổ sung ở nồng độ cao là 2 mg/l BA, số chồi tạo thành giảm và mẫu cấy còn xuất hiện nhiều callus màu vàng nhạt ở bề mặt vết cắt tiếp xúc với môi trường.

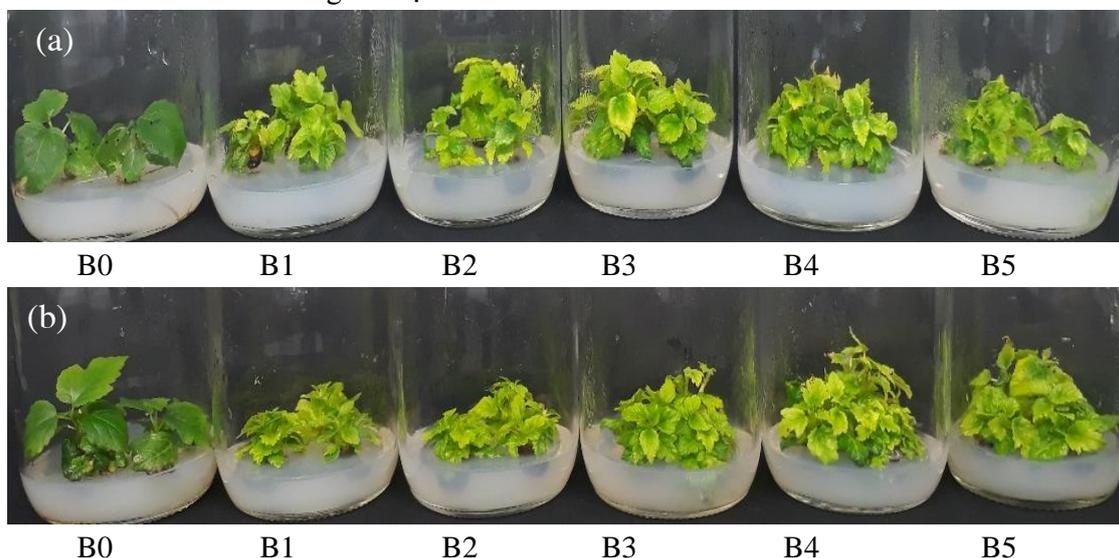
Bảng 2. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Công thức	Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB chồi
B0	0	100	2,00 ^e	1,94 ^a	4,19 ^a
B1	0,25	100	2,89 ^d	1,26 ^b	3,94 ^b
B2	0,5	100	3,22 ^{cd}	1,14 ^c	3,82 ^{bc}
B3	1	100	3,78 ^b	0,75 ^d	3,66 ^c
B4	1,5	100	4,33 ^a	0,48 ^e	3,25 ^d
B5	2	100	3,52 ^{bc}	0,45 ^e	3,18 ^d

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Với đối tượng là đoạn thân mang chồi nách *in vitro*, kết quả cho thấy ảnh hưởng của môi trường ½ MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/l BA là tốt nhất lên sự tạo chồi *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy. Ở môi trường này, chồi mới phát triển tốt với số chồi trung bình là 4,33 chồi, chiều cao trung bình là 0,48 cm và số lá trung bình là 3,25 lá (Hình 1b).

Ở nồng độ bổ sung 2 mg/l BA vào môi trường nuôi cấy cơ bản, bên cạnh giảm khả năng tạo chồi mà còn xuất hiện callus ở bề mặt vết cắt mẫu cấy tiếp xúc với môi trường nhiều hơn ở các môi trường còn lại.



Hình 1. Ảnh hưởng của môi trường cơ bản bổ sung BA (0-2mg/l) lên sự tạo chồi của chồi sung Magic: (a) đỉnh chồi *in vitro* và (b) đoạn thân mang chồi nách *in vitro*.

3.1.2. Ảnh hưởng của nước dừa kết hợp với BA lên khả năng tạo chồi từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách *in vitro*

Để đánh giá ảnh hưởng của nước dừa kết hợp với BA lên khả năng tạo chồi của chồi

in vitro, các mẫu cây có kích thước khoảng 1 cm được cấy lên môi trường ½ MS cơ bản chứa 30 g/l saccharose, 8 g/l agar, bổ sung 1,5 mg/l BA kết hợp với nước dừa ở các nồng độ từ 5-20%. Bên cạnh đó, môi trường ½ MS cơ bản chứa 30 g/l saccharose, 8 g/l agar có bổ sung 1 mg/l BA kết hợp với 10% nước dừa theo kết quả nghiên cứu của tiến sĩ Phạm S (Phạm S, 2016) cũng được chúng tôi tiến hành khảo sát nhằm so sánh hiệu quả của các tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng trên cùng đối tượng là Sung Magic. Kết quả thí nghiệm thu được sau 60 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 3 và bảng 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nước dừa kết hợp với BA lên khả năng tạo chồi từ đỉnh chồi *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Công thức	Nồng độ nước dừa (%)	Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB chồi
BN0	0	0	100	1,00 ^d	2,16 ^a	4,26 ^a
BN1	10	1	100	3,52 ^c	0,93 ^b	3,78 ^b
BN2	5	1,5	100	3,81 ^{bc}	0,81 ^{bc}	3,58 ^c
BN3	10	1,5	100	4,41 ^a	0,85 ^{bc}	3,66 ^{bc}
BN4	15	1,5	100	3,93 ^b	0,75 ^c	3,52 ^c
BN5	20	1,5	100	3,78 ^{bc}	0,73 ^c	3,48 ^c

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Bảng 4. Ảnh hưởng của nước dừa kết hợp với BA lên khả năng tạo chồi từ đoạn thân mang chồi nách *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

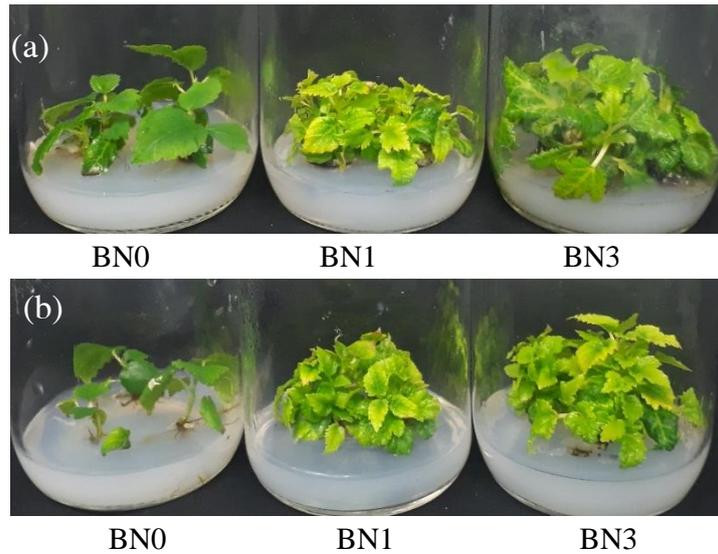
Công thức	Nồng độ nước dừa (%)	Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB chồi
BN0	0	0	100	2,00 ^c	1,91 ^a	4,13 ^a
BN1	10	1	100	4,26 ^{cd}	0,82 ^b	3,71 ^b
BN2	5	1,5	100	4,70 ^b	0,67 ^c	3,52 ^c
BN3	10	1,5	100	5,19 ^a	0,75 ^{bc}	3,62 ^{bc}
BN4	15	1,5	100	4,59 ^{bc}	0,53 ^d	3,36 ^d
BN5	20	1,5	100	4,04 ^d	0,51 ^d	3,34 ^d

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Tỷ lệ tạo chồi trên tất cả các công thức khảo sát đều đạt 100%. Chồi phát triển tốt và tạo thêm chồi mới.

Các mẫu cây trên môi trường cơ bản bổ sung 10% nước dừa kết hợp 1,5 mg/l BA cho số chồi tốt nhất trong các công thức khảo sát, đạt 4,41 chồi/ đỉnh chồi *in vitro* và 5,19 chồi/ đoạn thân mang chồi nách *in vitro*. Số chồi tạo thành từ đoạn thân mang chồi nách *in vitro* cao hơn từ đỉnh chồi *in vitro*. Số chồi tạo thành trên môi trường này cũng cao hơn môi trường bổ sung 10% nước dừa kết hợp 1mg/l BA (Hình 2).

Khi nồng độ nước dừa bổ sung vào môi trường tăng lên 15% và 20%, quá trình tạo chồi bị hạn chế, số chồi trên mỗi mẫu cây giảm dần theo độ tăng nồng độ nước dừa.



Hình 2. Khả năng tạo chồi của (a) đỉnh chồi *in vitro* và (b) đoạn thân mang chồi nách *in vitro* sung Magic trên môi trường cơ bản bổ sung nước dừa kết hợp với BA

3.2. Khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*

Các chồi *in vitro* khoảng 1,5 cm được cấy lên môi trường ½ MS cơ bản có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1 mg/l NAA hoặc 1 mg/l IBA riêng rẽ và kết hợp với 10% nước dừa để khảo sát ảnh hưởng của các chất này lên khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*. Kết quả nghiên cứu sau 60 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của NAA, IBA và nước dừa lên khả năng tạo rễ của chồi *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Công thức	Nồng độ nước dừa (%)	Nồng độ NAA (mg/l)	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ TB/chồi	Chiều dài TB rễ (cm)	Chiều cao TB chồi (cm)
R0	0	0	0	100	1,63 ^e	1,29 ^e	2,43 ^c
R1	0	1	0	100	2,44 ^d	2,54 ^d	2,27 ^d
R2	0	0	1	100	3,07 ^c	2,87 ^c	2,60 ^b
R3	10	1	0	100	3,85 ^b	3,60 ^b	2,49 ^{bc}
R4	10	0	1	100	4,56 ^a	5,13 ^a	3,35 ^a

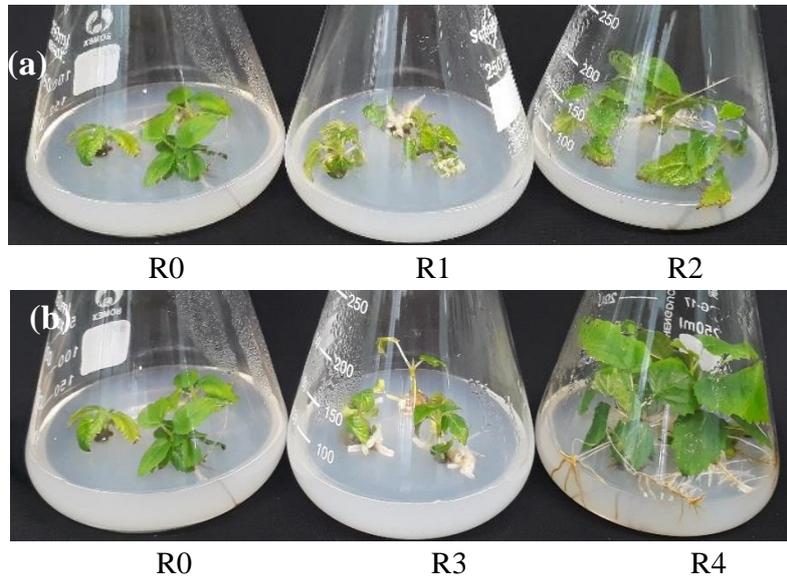
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Sau 60 ngày nuôi cấy, tỷ lệ tạo rễ của mẫu cấy đạt 100%. Trên môi trường cơ bản có bổ sung riêng rẽ 1 mg/l NAA hoặc 1 mg/l IBA (Hình 3a), số rễ tạo thành của mẫu cấy đạt từ 2-5 rễ. Số rễ trung bình của mẫu cấy trên môi trường có bổ sung 1 mg/l IBA, đạt 3,07 rễ, cao hơn trên môi trường có bổ sung 1 mg/l NAA, đạt 2,44 rễ.

Khi bổ sung kết hợp thêm 10% nước dừa vào môi trường cơ bản có chứa 1 mg/l NAA hoặc 1 mg/l IBA, số rễ tạo thành tăng lên so với khi không bổ sung nước dừa lần lượt đạt 3,85 rễ/chồi và 4,56 rễ/chồi. Chiều dài của rễ và chiều cao của chồi cũng được cải thiện (Hình 3b). Trong các môi trường khảo sát, môi trường cơ bản bổ sung 10% nước dừa kết hợp với 1 mg/l IBA ảnh hưởng tốt nhất đến sự phát triển chồi và khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*. Rễ dài, mập mập, ban đầu có màu trắng, mảnh, sau chuyển màu vàng nâu, mập mập,

có nhiều rễ phụ với chiều dài trung bình của rễ là 5,13 cm. Chồi phát triển tốt, lá xanh và to, với chiều cao trung bình của chồi là 3,35 cm.

Ở các môi trường có bổ sung NAA, mẫu cây xuất hiện nhiều callus màu vàng nhạt sau đó hóa nâu ở bề mặt vết cắt của mẫu hoặc bề mặt lá tiếp xúc với môi trường nuôi cấy. Sự tạo rễ chậm hơn (rễ nhỏ, mảnh, ngắn và ít rễ phụ hơn) và sự phát triển chồi kém hơn (lá nhỏ, bị xoắn, chồi thấp hơn) so với môi trường có bổ sung IBA.



Hình 3. Khả năng tạo rễ của chồi *in vitro* Sung Magic S trên môi trường cơ bản bổ sung: (a) NAA hoặc IBA riêng rẽ ở nồng độ 1 mg/l và (b) NAA hoặc IBA ở nồng độ 1 mg/l kết hợp với 10% nước dừa.

3.3. Chuyển cây con *in vitro* ra trồng ngoài vườn ươm

Cây Sung Magic con *in vitro* 2 tháng tuổi được chuyển ra ngoài vườn ươm trên giá thể đất cát: xơ dừa: phân chuồng hoai theo tỉ lệ 1,5:1,5:1 (v:v:v) có tỷ lệ sống 100% sau 2,4,8 tuần trồng và chăm sóc (Hình 4). Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây con được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Khả năng sinh trưởng của cây con *in vitro* khi chuyển ra trồng ngoài vườn ươm

Thời gian	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao TB của cây (cm)	Số lá TB/cây
1 ngày	100%	3,04 ^d	5,89 ^c
2 tuần	100%	5,04 ^c	6,15 ^c
4 tuần	100%	10,97 ^b	7,22 ^b
8 tuần	100%	17,74 ^a	8,74 ^a

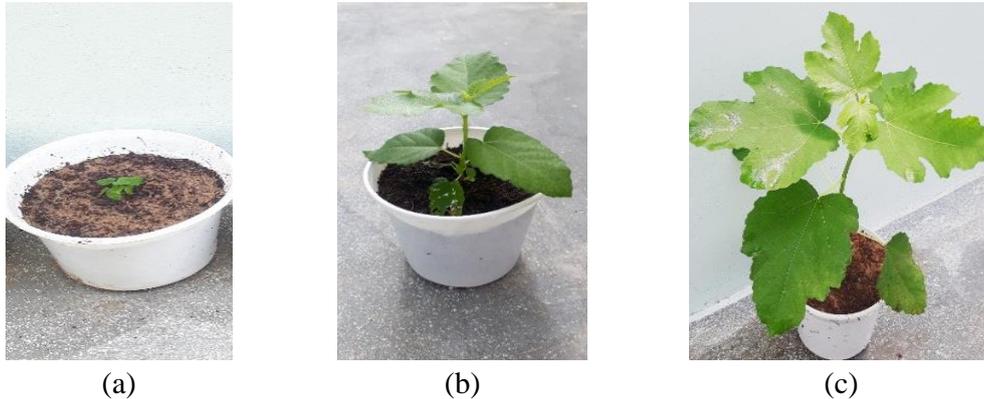
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Sau 2 tuần trồng và chăm sóc, cây con chưa có sự tăng trưởng nhiều về chiều cao và số lá. Cây bắt đầu ra lá mới. Chiều cao trung bình đạt 5,04 cm và số lá trung bình đạt 6,15 lá.

Sau 4 tuần trồng và chăm sóc, cây con tăng trưởng mạnh. Lá mới tiếp tục hình thành từ 1 đến 2 lá, xanh tốt. Chiều cao trung bình của cây lúc này đạt 10,97 cm với số lá trung bình đạt 7,22 lá.

Sau 8 tuần trồng và chăm sóc, cây phát triển xanh tốt. Lá mới hình thành nhiều hơn

và bắt đầu phân thùy rõ ràng và gia tăng về kích thước. Cây đạt chiều cao trung bình là 17,74 cm, số lá trung bình là 8,74 lá.



Hình 4. Cây con phát triển trên giá thể đất cát : xơ dừa : phân chuồng hoai theo tỉ lệ 1,5:1,5:1 (v:v:v) sau khi trồng: (a) 2 tuần, (b) 4 tuần, (c) 8 tuần.

4. Thảo luận

Trên cả hai loại vật liệu nghiên cứu, kết quả thí nghiệm đều cho thấy môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/l BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* Sung Magic. BA tỏ ra là cytokinin hiệu quả đối với nhân giống *in vitro* *Ficus carica* L. khi nó cũng ảnh hưởng tích cực đến sự tạo chồi của Sung trên dòng Roxo de Valinhos (Fráguas và nkk., 2004) hay trên 3 dòng khác là Aboudi, White Adcy và Sultani (Mustafa & Taha, 2012).

Ở nồng độ bổ sung 2 mg/l BA vào môi trường nuôi cấy cơ bản, mẫu cây xuất hiện callus ở bề mặt vết cắt tiếp xúc với môi trường nhiều hơn ở các môi trường còn lại. Sự bổ sung BA ở nồng độ cao cũng dẫn đến sự hình thành callus và hạn chế tạo chồi đối với mẫu cây *Ficus carica* L. dòng Roxo de Valinhos (Fráguas và nkk., 2004).

Sự tạo chồi từ đoạn thân mang chồi nách *in vitro* tốt hơn từ đỉnh chồi *in vitro* với số chồi, chiều cao và số lá cao hơn (bảng 1, 2, 3 và 4). Vật liệu nuôi cấy khác nhau cho hiệu quả tạo chồi cũng khác nhau. Điều này cũng xảy ra đối với đỉnh chồi và chồi nách trên đối tượng *Dianthus caryophyllus* L (Khatun và nkk., 2018).

Trong các môi trường tạo rễ cho chồi *in vitro*, IBA được bổ sung vào môi trường tỏ ra hiệu quả hơn NAA với số rễ và chiều dài rễ cao hơn (bảng 5). Trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS cơ bản có bổ sung 1 mg/l IBA, *Ficus carica* L. cũng tạo rễ hiệu quả với tỷ lệ 83,34% (Bayoudh và nkk., 2015) hay cao hơn là 90% với số rễ trung bình là 5 rễ, chiều dài rễ trung bình là 1,5 cm, sau khi nuôi cấy 30 ngày (Yakushiji và nkk., 2003).

Hiệu quả có lợi của nước dừa đã được quan sát rõ ràng trên các thông số sinh trưởng của cây như số chồi tạo thành, chiều dài chồi và số lượng lá (bảng 3, 4 và 5) cũng như số rễ và chiều dài rễ (bảng 5). Các chỉ số này đều được cải thiện hơn so với khi chỉ bổ sung BA, NAA hay IBA một cách riêng rẽ. Tác dụng cải thiện khả năng tạo chồi của nước dừa trong nuôi cấy *in vitro* đã được chứng minh khi kết hợp với BAP ở *Olea europaea* L. (Peixe và nkk., 2007) và *Dianthus caryophyllus* L. (Khatun và nkk., 2018); hay khi kết hợp với BAP và GA₃ ở *Corylus avellana* L. (Prando và nkk., 2014). Nước dừa có chứa các chất có lợi cho sự sinh trưởng phát triển của cây như các amino acid, các loại vitamin, đường và các chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin tự nhiên chẳng hạn như zeatin và N'-diphenyl urea

(Laurain và nnk., 1993; George, 2008), cũng như các chất khoáng vô cơ như photpho, magiê, kali và natri (Raghavan, 1977). Điều này có nghĩa là việc bổ sung nước dừa vào môi trường nuôi cấy có thể có lợi cho sự tăng trưởng và hình thành mô, không chỉ do nước dừa là nguồn khoáng chất và chất dinh dưỡng hữu cơ mà còn là nguồn cung cấp các chất điều hòa sinh trưởng tự nhiên cần thiết trong quá trình nuôi cấy mô của Sung Magic S.

Tuy nhiên, nghiên cứu nồng độ bổ sung nước dừa của chúng tôi còn cho thấy khi ở nồng độ 15% và 20%, các mẫu cấy có số chồi, chiều cao và số lá giảm dần. Điều này cho thấy, ở các nồng độ này, nước dừa làm giảm khả năng tạo chồi và sự tăng trưởng của chồi Sung Magic. Sự hạn chế trên cũng xảy ra tương tự trên đối tượng *Dianthus caryophyllus* L, khi kết hợp 1mg/l BAP với nước dừa ở nồng độ tương đương (Khatun và nnk., 2018).

Sau 8 tuần ở giai đoạn trồng và chăm sóc trong vườn ươm, trên giá thể khảo sát là hỗn hợp đất cát: xơ dừa: phân chuồng hoai (1,5:1,5:1), cây con *in vitro* cho tỷ lệ sống là 100%. Cây con thích nghi và tăng trưởng nhanh chóng mà không có bất cứ triệu chứng về bệnh virus hay bất thường về hình thái. Trong khi đó, chỉ có khoảng hơn 90% cây con *Ficus carica* L. còn sống và phát triển sau 4 tuần trồng và chăm sóc trên giá thể đất thịt (Yakushiji và nnk., 2003) hay trên giá thể than mùn (Bayoudh và nkk., 2015). Hỗn hợp giá thể mà chúng tôi khảo sát cho thấy sự hiệu quả đối với cây con Sung Magic ở giai đoạn này.

5. Kết luận

Nghiên cứu đưa ra một quy trình nhân giống vô tính *in vitro* hiệu quả cho cây Sung Magic (*Ficus carica* L.). Từ đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách *in vitro*, môi trường ½ MS cơ bản có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1,5 mg/l BA kết hợp với 10% nước dừa thích hợp cho sự nhân chồi sau 60 ngày nuôi cấy. Môi trường ½ MS cơ bản có 2% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1 mg/l IBA kết hợp với 10% nước dừa là môi trường thích hợp cho sự ra rễ *in vitro* tạo cây con hoàn chỉnh sau 60 ngày nuôi cấy. Cây con phát triển tốt và khỏe mạnh khi được trồng và chăm sóc trong điều kiện vườn ươm, trên giá thể gồm đất cát: xơ dừa: phân chuồng hoai (1,5:1,5:1) với chế độ tưới nước 2 lần/ngày. Nghiên cứu đã góp phần tạo ra nguồn giống khỏe mạnh, dồi dào giúp phát triển loại cây trồng có giá trị dinh dưỡng và thương mại này tại địa phương và khu vực □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Fráguas, C.B., Pasqual, M., Dutra, L.F., Cazetta, J.O. (2004). Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) ‘Roxo de Valinhos’ plants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 40, 471-474. DOI: 10.1079/IVP2004562.
- George, E.F. (2008). *Plant propagation by tissue culture*. 3.ed. Great Britain: Exegetics, p.479.
- Khatun, M., Roy, P.K., Razzak, M. A. (2018). Additive effect of coconut water with various hormones on *in vitro* regeneration of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *The Journal Animal Plant Science*, 28(2).
- Laurain D., Chenieux J., Tremouillaux Guiller C. J. (1993). Direct embryogenesis from female haploid protoplasts of *Ginkgo balboa* L., a medicinal woody species. *Plant Cell Rep.*, 12, 656-660.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- Pasqual, M. & Ferreira, E.A. (2007). Micropropagation of Fig Tree (*Ficus carica* L.).

- Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, 409-416.
- Peixe, A., Raposo, A., Lourenço, R., Cardoso, H., Macedo, E. (2007). Coconut water and BAP successfully replaced zeatin in olive (*Olea europaea* L.) micropropagation. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 1-7. Doi: 10.1016/j.scienta.2007.01.011.
- Phạm S (2016), Tài liệu giới thiệu Sung Magic, quy trình nhân giống *in vitro* và kỹ thuật canh tác. Ban quản lý Khu Công Nghệ Cao tỉnh Phú Yên.
- Prando, M.A.S., Chiavazza, P., Faggio, A., Contessa, C. (2014). Effect of coconut water and growth regulator supplements on *in vitro* propagation of *Corylus avellana* L. *Scientia Horticulturae*, 171 (26), 91-94. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.03.052.
- Raghavan, V. (1977). Diets and culture media for plant embryos. In: Rechcigl, M.J.(ed.), CRC handbook series in nutrition and food. *Taylor Francis Publisher*, London, 361- 413.
- Vikas, V.P. & Vijay, R.P. (2011). *Ficus carica* Linn.-An Overview. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5, 246-253. DOI: 10.3923/rjmp.2011.246.253.
- Wan, T.L., Fui, C.L., Wei, Y.L., Subramaniam, S., Bee L.C. (2018). Shoot Induction from Axillary Shoot Tip Explants of Fig (*Ficus carica*) cv. Japanese BTM 6. *Tropical life sciences research*, 29(2), 165–174. DOI: 10.21315/tlsr2018.29.2.11.
- Yakushiji, H., Mase, N., Sato, Y. (2003). Adventitious bud formation and plantlet regeneration from leaves of fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(6), 874-878. DOI: 10.1080/14620316.2003.11511712.
- Bayoudh, C., Labidi, R., Majdoub, A., Mars, M. (2015). *In vitro* Propagation of Caprifig and Female Fig Varieties (*Ficus carica* L.) from Shoot-tips. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 1597-1608.
- Mustafa, N.S., Taha, R.A. (2012). Influence of Plant Growth Regulators and Subculturing on In Vitro Multiplication of Some Fig (*Ficus Carica*) Cultivars. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(8), 4038-4044.

***In vitro* propagation of Magic fig (*Ficus carica* L.) at Phu Yen University**

Nguyen Thi Phi Loan, Nguyen Khanh Hy*, Duong Thi Oanh

Phu Yen University

**Email: nguyengkhanh237@gmail.com*

Received: April 27, 2020; Accepted: June 08, 2020

Abstract

*This experiment is designed to determine the most suitable conditions and media for in vitro propagation Magic S fig (*Ficus carica* L.) and growth of in vitro plants in acclimatization. For shoot regeneration from in vitro shoot tip and axillary node, the half-strength Murashige and Skoog (MS) medium containing 1,5 mg/l and 10% coconut water were the best, whereas, the half-strength MS medium complemented with 1mg/l IBA and 10% coconut water were better in respect to rooting. Rooted plantlets were acclimatized successfully after two months transferred to green-house and grown in a 1,5:1,5:1 (v:v:v) sandy soil, coir and cattle manure mixture with watering 2 times per day.*

Keywords: *Ficus carica* L., acclimatization, in vitro propagation, shoot regeneration