



ĐÁNH GIÁ VÀ CHỌN LỌC CÁC DÒNG MÍA (*Saccharum officinarum* L.) CHỊU MẶN TÁI SINH TỪ MÔ SẸO ĐÃ ĐƯỢC XỬ LÝ ETHYL METHANE SULPHONATE

Phạm Cao Khải, Phạm Văn Thắng, Phạm Thị Thi, Đoàn Thị Quỳnh Hương và Dương Ngọc Kiều Thi

Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao

Thông tin chung:

Ngày nhận: 14/09/2015

Ngày chấp nhận: 25/05/2016

Title:

*Evaluation and selection of salt-tolerant sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) regenerated from ethyl methane sulphonate treated-callus*

Từ khóa:

Saccharum officinarum L., POJ2878, ethyl methane sulphonate (EMS), mía chịu mặn, NaCl, phytigel

Keywords:

Saccharum officinarum L., POJ2878, ethyl methane sulphonate, NaCl, phytigel

ABSTRACT

To produce new sugarcane varieties with high yield, good quality and saltwater resistant, the sugarcane individuals regenerated after mutant treatment were evaluated on two kinds of substances (Agar and Phytigel) at different salt concentrations from 70 ÷ 160mM in in vitro condition. Phytigel was identified as a substance suitable for evaluation and reliable for selection of salt-tolerance sugarcane strain. In addition, the strains of salt-tolerance sugarcane selected in different salt levels to evaluate in ex vitro conditions are D1 (160mM), D2 (135mM) and D3 (120mM). Based on the growth dimensions such as number of leaves, plant height and number of nodes, the D1 line was in sustainable growth and development in the salt concentration of 100 mM.

TÓM TẮT

Nhằm tạo ra giống mía có năng suất cao, phẩm chất tốt và có khả năng kháng mặn. Trong điều kiện in vitro, các cá thể mía được tái sinh sau khi xử lý đột biến được đánh giá lại trên 2 loại chất làm rắn (agar và phytigel) ở các nồng độ muối khác nhau từ 70 ÷ 160 mM. Phytigel đã được xác định là chất làm rắn phù hợp để đánh giá và chọn lọc các dòng mía có khả năng chịu mặn đáng tin cậy. Bên cạnh đó, đã chọn được những dòng mía có khả năng chịu mặn ở các ngưỡng muối khác nhau để khảo sát ở điều kiện trong nhà màng là D1 sử dụng nồng độ muối 160 mM, D2 sử dụng nồng độ muối 135 mM và D3 sử dụng nồng độ muối 120 mM. Qua các chỉ tiêu sinh trưởng như số lá, số đốt và chiều cao cây, cho thấy dòng mía D1 sinh trưởng và phát triển ổn định ở nồng độ muối 100 mM.

Trích dẫn: Phạm Cao Khải, Phạm Văn Thắng, Phạm Thị Thi, Đoàn Thị Quỳnh Hương và Dương Ngọc Kiều Thi, 2016. Đánh giá và chọn lọc các dòng mía (*Saccharum officinarum* L.) chịu mặn tái sinh từ mô sẹo đã được xử lý ethyl methane sulphonate. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 43b: 82-88.

1 MỞ ĐẦU

Mía (*Saccharum officinarum* L.) là một trong số những cây trồng quan trọng ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Mía cung cấp hơn một nửa lượng đường trên thế giới. Ở Việt Nam, mía được trồng ở hầu hết các vùng từ Bắc tới Nam, là cây trồng có

mức độ đa bội và tần số dị bội cao. Đây là một dạng thực vật C4 được sử dụng như là nguồn cung cấp đường chính, gần đây là ethanol nhiên liệu. Mặc dù giá trị kinh tế của mía quan trọng, các nghiên cứu về chọn tạo giống trên đối tượng này chậm hơn so với các cây trồng chủ lực khác. Điều

ngày là vì bộ gen của nó phức tạp, khả năng sinh sản hữu tính kém và chu kỳ chọn giống kéo dài gây ra những khó khăn lớn cho các phương pháp chọn tạo giống truyền thống. Vì vậy, mía là đối tượng thích hợp để áp dụng các tiến bộ khoa học - kỹ thuật trong công tác chọn giống. Ngoài ra, mía là cây chịu mặn kém, năng suất có thể giảm 50% hoặc hơn nếu trồng ở vùng đất mặn. Hơn nữa, tính kháng mặn được chứng minh là đặc điểm do đa gen quy định, vì vậy rất khó khăn cho việc áp dụng phương pháp chuyển gen hay lai tạo (Heinz và Mee, 1969). Vì thế, chọn tạo đột biến trong quá trình nuôi cấy *in vitro* cùng với xử lý các tác nhân gây đột biến như tia X, tia gamma, các chùm tia α , β , các neutron nhanh và chậm, các chất đồng vị phóng xạ ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C và hàng nghìn chất gây đột biến khác nhau (Chu Thị Thơm và *ctv.*, 2006; Patade và *ctv.*, 2008; Kenganal và *ctv.*, 2008; Koch và *ctv.*, 2010) được áp dụng để chọn tạo các dòng mía kháng mặn và hạn. Với xu hướng nóng lên toàn cầu, mực nước biển dâng cao, một diện tích lớn ở miền Tây và Duyên hải miền Trung nước ta có nguy cơ bị nhiễm mặn. Trong số các chất gây đột biến hóa học thì ethyl methane sulfonate (EMS) là phổ biến nhất được sử dụng vì nó tạo ra tần số biến dị cao (Ali Benjavad Talebi và *ctv.*, 2012; Dharman và *ctv.*, 2013). Với các lý do trên, chúng tôi đi đến thực hiện đề tài “Sàng lọc *in vitro* các biến dị kháng mặn của cây mía (*Saccharum officinarum* L.) bằng xử lý Ethyl methane sulphonate trên mô sẹo phát sinh phôi kết hợp với nuôi cấy *in vitro*”.

Mục tiêu của nghiên cứu: Đánh giá khả năng chịu mặn và sự biến dị di truyền của một số dòng mía tái sinh từ mô sẹo đã được xử lý EMS.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Chồi mía *in vitro* (giống POJ 2878, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp.HCM), môi trường MS (Murashige và Skoog). Chất làm rắn là agar (Việt Nam) và phytigel (Sigma Aldrich). Glucose, cồn 70% (Việt Nam) và NaCl₂ (Sigma Aldrich).

Từ cây vô trùng (Shinsaeng, Hàn Quốc), đèn cồn, đĩa, dao, kẹp cây, chậu polyethylene 30 cm (đường kính mỗi chậu: d = 0.3m; bán kính chậu: r = 0.15 m; chiều cao chậu: h = 0.3 m), đất, phân bón (Quy trình sản xuất giống mía tại vùng Đông Nam Bộ, tuyển tập kết quả nghiên cứu khoa học 2007 - 2012).

2.2 Phương pháp

Sàng lọc và phân loại giống mía đã gây đột biến bởi EMS

Chồi mía phát triển từ mô sẹo (chồi cao 3- 4 cm, xanh tốt, phát triển bình thường) đã xử lý EMS được chọn lọc theo quy trình như sau: mô sẹo xử lý EMS 40mM trong 4 giờ được nuôi môi trường MS + 1,5mg/l 2,4-D trong 3 ngày. Sau đó, chuyển sang môi trường chọn lọc MS + 1,5mg/l 2,4-D + 7,02g/l NaCl trong 25 ngày, tiếp theo chọn lọc trên môi trường MS + 9,36g/l NaCl trong 8 tuần). Cây 10 chồi trong một bình tam giác 250 ml chứa 50 ml môi trường MS + 30g/l sucrose + chất làm rắn (phytagel hoặc agar 8g/l) + NaCl (theo Bảng 1), pH môi trường được điều chỉnh về 5,8 (bằng KOH hoặc HCl) và hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút, áp suất 1 atm. Phytigel nên được thêm vào môi trường ở nhiệt độ phòng 1 cách từ từ và khuấy nhanh tay để tránh vón cục trước khi gia nhiệt. Nếu thêm phytigel vào môi trường nóng hoặc ấm, phytigel sẽ bị vón cục và không thể gel hóa sau khi hấp khử trùng.

Bảng 1: Ảnh hưởng của nồng độ muối và chất làm rắn đến sự sinh trưởng và phát triển của mía *in vitro*

Nghiệm thức	Nồng độ NaCl (mM)	Nồng độ NaCl (g/l) = ‰	Chất làm rắn
MA1	70	4	Agar
MA2	100	6	
MA3	120	7	
MA4	135	7.6	
MA5	160	9	
MP1	70	4	Phytigel
MP2	100	6	
MP3	120	7	
MP4	135	7.6	
MP5	160	9	

Khảo sát sự sinh trưởng và phát triển của cây mía *in vitro* trong điều kiện *ex vitro*

Các cây mía con *in vitro* có đủ tiêu chuẩn như có chiều cao 4 ÷ 5 cm, có 3 lá trở lên, có 2 ÷ 3 rễ và chiều dài rễ đạt 2 ÷ 3 cm. Chuyển cây con sang các chậu polyethylene đường kính 30 cm, được chăm sóc và theo dõi trong 6 tháng. Pha dung dịch nước muối NaCl với các nồng độ khảo sát (từ 70, 100, 120, 135 và 160 mM) và tưới cho mía mỗi ngày cho đến khi đạt đến các nồng độ khảo sát. Kiểm tra nồng độ muối trong các chậu bằng cách đo nồng độ điện giải bằng Máy đo EC HI98130

(HANNA - Italya). Các chậu được tưới ngập nước qua đêm đảm bảo muối được phân bố đều trong chậu. Kiểm tra nồng độ muối hàng tuần để duy trì nồng độ mong muốn trong các lô thí nghiệm bằng cách do độ điện giải với máy EC. Bón phân 3 lần cách nhau 2 tháng với tỉ lệ NPK= 16:16:16. Xác định nồng độ muối NaCl thích hợp cho quá trình chọn lọc mô.

Các thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Sàng lọc và phân loại giống mía đã gây đột biến bởi EMS

Thí nghiệm sàng lọc và phân loại giống mía đã gây đột biến bởi EMS được bố trí theo hoàn toàn ngẫu nhiên (Complete Randomized Design, CRD), với 10 nghiệm thức (NT), mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại. Cây 10 chồi/chai, 3 chai/NT. Sau 8 tuần nuôi cây theo dõi các chỉ tiêu về tỷ lệ (%) cây sống và phát triển, tỷ lệ (%) cây bất thường/bình thường, số lá (lá/cây), hình dạng lá.

Thí nghiệm 2: Khảo sát sự sinh trưởng và phát triển của cây mía in vitro trong điều kiện ex vitro.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, hai yếu tố, yếu tố A là các dòng mía (D1; D2; D3), yếu tố B là các nồng độ muối NaCl (0; 70; 100; 120; 135; 160 mM). Trồng 1 cây/chậu, 25 chậu /NT và lặp lại 3 lần. Sau 6 tháng trồng theo dõi các chỉ tiêu theo dõi: số đốt, chiều dài lá (cm), chiều cao cây (cm).

Điều kiện thí nghiệm

Trong phòng thí nghiệm nuôi cấy mô

Các thí nghiệm được thực hiện trong các điều kiện sau: chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2.000 lux, nhiệt độ phòng 26 ± 2⁰C; độ ẩm trung bình: 75 ÷ 80%.

Trong nhà màng

Nhà màng đảm bảo giảm lượng mưa, giảm ẩm độ, giảm nhiệt độ bên trong nhà lưới, ngăn ngừa sự thâm nhập của côn trùng.

Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được bố trí theo kiểu CRD, 2 yếu tố, với 3 lần lặp lại cho mỗi thí nghiệm. Số liệu được xử lý bằng chương trình SAS 9.1.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sàng lọc và phân loại giống mía đã gây đột biến bởi EMS

Theo kết quả Bảng 2 cho thấy, đối với chất làm rắn là agar, các chỉ tiêu sinh trưởng cũng như sự biến dạng về hình thái biến thiên tăng giảm không theo quy luật khi tăng nồng độ muối từ 70 ÷ 160 mM. Nhưng đối với chất làm rắn là phytigel, các chỉ tiêu sinh trưởng giảm dần cũng như sự biến dạng của cây cũng tăng dần khi nồng độ muối tăng dần.

Bảng 2: Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl và chất làm rắn lên sự sinh trưởng của cây mía in vitro

Nghiệm thức	Nồng độ NaCl (mM)	Chất làm rắn	Tỷ lệ cây sống và phát triển (%)	Tỷ lệ cây bất thường/bình thường (%)	Số lá	Hình dạng lá bất thường
MA1	70	Agar	14,86 ^{cd}	1,25 ^a	14,73 ^{ab}	2,15 ^{ab}
MA2	100		25,29 ^{cd}	0,52 ^b	11,23 ^{bc}	1,83 ^{abc}
MA3	120		26,40 ^{cd}	0,52 ^b	11,01 ^{bc}	2,05 ^{ab}
MA4	135		16,52 ^{cd}	0,52 ^b	11,38 ^{bc}	3,52 ^a
MA5	160		30,73 ^{bcd}	0,52 ^b	12,32 ^{abc}	1,01 ^c
MP1	70	Phytigel	76,80 ^a	0,52 ^b	15,23 ^a	1,28 ^{bc}
MP2	100		61,14 ^{ab}	0,52 ^b	14,18 ^{ab}	1,77 ^{abc}
MP3	120		30,73 ^{bc}	0,52 ^b	12,44 ^{abc}	1,99 ^{ab}
MP4	135		15,79 ^{cd}	0,52 ^b	11,75 ^{abc}	2,37 ^a
MP5	160		9,19 ^d	0,52 ^b	8,94 ^c	2,49 ^a
	F tính		8,40 ^{**}	18,90 ^{**}	5,45 ^{**}	6,61 ^{**}
	CV (%)		33,88	14,15	13,19	21,17

Ghi chú: **: Sự khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với p < 0,01; *: Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với p < 0,05; phân hạng AB theo LSD 0,01 (chữ thường); Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Tương tác của các nồng độ muối NaCl và chất làm rắn đến tỷ lệ sống và phát triển của cây ở

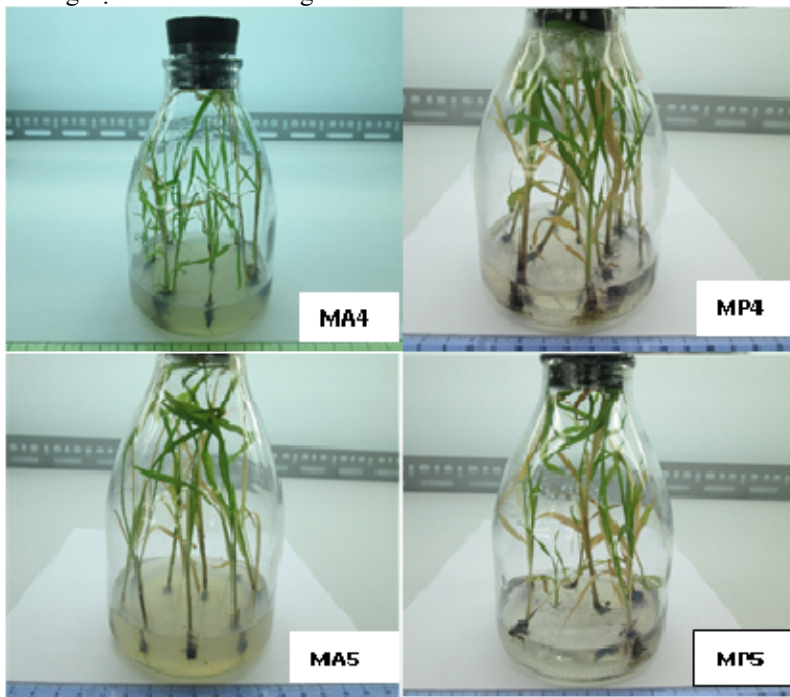
nghiệm thức môi trường chứa phytigel cao hơn so với agar và giảm đáng kể khi tăng nồng độ muối

lên 135 và 160 mM (15,79 và 9,19%). Nghiệm thức MP1 ở nồng độ muối NaCl 70 mM trên môi trường phytigel cho tỷ lệ cây sống và phát triển cao nhất đạt 76,8%. Nghiệm thức MP5 ở nồng độ muối NaCl 160 mM trên môi trường phytigel cho tỷ lệ sống và phát triển của cây thấp nhất đạt 9,19%. Mặt khác, các nghiệm thức trên môi trường agar cho tỷ lệ sống và phát triển của cây thấp và không ổn định ở năm nồng độ muối NaCl.

Tỷ lệ cây bất thường/bình thường cao nhất đạt 1,25% ở nghiệm thức MA1 chứa nồng độ muối NaCl 70 mM và chất làm rắn là agar do nồng độ muối NaCl phân bố không đều. Và đạt 0,52% ở các nghiệm thức trên các nghiệm thức môi trường chứa

phytagel kết hợp với các nồng độ muối NaCl khác nhau không ảnh hưởng đến sự biến đổi về hình thái của cây mía.

Trong quá trình thí nghiệm ghi nhận được, nghiệm thức MP1 trên môi trường phytigel chứa nồng độ muối NaCl 70 mM cho số lá cao nhất đạt 15,23 lá và thấp nhất trên môi trường phytigel có chứa nồng độ muối NaCl 160 mM đạt 8,94 lá. Ở môi trường agar số lá dao động khoảng từ 11 đến 14 lá ở các nồng độ muối NaCl. Tương tự, số lá bất thường tăng khi tăng nồng độ muối NaCl và cao nhất (3,52 lá) ở nghiệm thức MA4 trên môi trường agar chứa nồng độ muối NaCl 135 mM.



Hình 1: Tỷ lệ sống và phát triển của cây mía ở các nghiệm thức chứa agar và phytigel sau 3 tháng (MA4: Agar + 135 mM NaCl; MA5: Agar + 160 mM NaCl; MP4: Phytigel + 135 mM NaCl; MP5: Phytigel + 160 mM NaCl)

3.2 Khảo sát sự sinh trưởng và phát triển của cây mía *in vitro* trong nhà màng

Sau 1 tháng theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây mía *in vitro* trong nhà màng Bảng 3 cho thấy, chiều cao cây trung bình ở các nồng độ muối của dòng mía D1 đạt cao nhất (29,29 cm). Chiều cao cây mía cao nhất ở các nồng độ muối NaCl 100 mM đạt 32,85 cm. Sự tương tác giữa các dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy chiều cao của dòng mía D1 đạt cao nhất tại nồng độ muối

NaCl 100 mM (41,06 cm). Ở dòng D2, chiều cao cây tại nồng độ muối NaCl 70 mM (35,34 cm) cao hơn so với đối chứng (31,96 cm) và giảm tại nồng độ muối NaCl 100 mM (31,94 cm). Ở dòng D3, chiều cao tại nồng độ muối NaCl 70 và 100 mM (25,22 và 25,56 cm) thấp hơn so với đối chứng (26,22 cm). Nồng độ muối NaCl càng tăng đến 160 mM thì chiều cao cây mía càng giảm ở cả 3 dòng mía.

Bảng 3: Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl lên sự sinh trưởng và phát triển của chiều cao cây (cm) trồng trong nhà màng

Thời gian theo dõi	Dòng mía (D)	Nồng độ NaCl (mM)						Trung bình (D)
		0	70	100	120	135	160	
Sau 1 tháng trồng	D1	38,16 ^{ab}	37,32 ^b	41,06 ^a	25,08 ^d	18,36 ^{ef}	15,76 ^f	29,29 ^a
	D2	31,96 ^c	35,34 ^{bc}	31,94 ^c	23,70 ^d	17,80 ^{ef}	17,36 ^{ef}	26,35 ^b
	D3	26,22 ^d	25,22 ^d	25,56 ^d	19,72 ^e	15,60 ^f	11,62 ^g	20,75 ^c
	TB (N)	32,11 ^a	32,81 ^a	32,85 ^a	22,83 ^b	17,25 ^c	14,91 ^d	
CV (%) = 8,25; F(A) = 128,00**; F(B) = 229,92**; F(AB) = 9,10**								
Sau 2 tháng trồng	D1	84,96 ^{abc}	85,32 ^{ab}	88,50 ^a	79,16 ^{bcdef}	64,44 ^{hi}	60,56 ^{ij}	77,16 ^a
	D2	79,88 ^{bcde}	83,58 ^{abcd}	78,46 ^{def}	74,54 ^{ef}	67,62 ^{gh}	63,02 ^{hij}	74,52 ^b
	D3	77,26 ^{ef}	79,00 ^{cdef}	74,50 ^{ef}	73,32 ^{fg}	67,98 ^{gh}	57,20 ⁱ	71,54 ^c
	TB (N)	80,70 ^a	82,63 ^a	80,49 ^a	75,49 ^b	66,68 ^c	60,26 ^d	
CV (%) = 5,02; F(A) = 16,98**; F(B) = 87,36**; F(AB) = 3,77**								
Sau 3 tháng trồng	D1	180,30 ^{bc}	183,12 ^{abc}	200,48 ^a	158,46 ^{def}	130,22 ^{hi}	119,02 ⁱ	161,93 ^a
	D2	173,56 ^{bcd}	187,40 ^{ab}	165,98 ^{cdef}	154,84 ^{defg}	146,82 ^{fgh}	127,28 ^{hi}	159,31 ^a
	D3	159,20 ^{def}	171,88 ^{bcde}	154,34 ^{defg}	151,76 ^{efg}	136,36 ^{ghi}	120,28 ⁱ	148,97 ^b
	TB (N)	171,02 ^a	180,80 ^a	173,60 ^a	155,02 ^b	137,80 ^c	122,19 ^d	
CV (%) = 7,76; F(A) = 9,73**; F(B) = 54,32**; F(AB) = 3,98**								
Sau 4 tháng trồng	D1	187,48 ^{defg}	194,46 ^{bc}	213,80 ^a	183,04 ^{cd}	171,84 ^{def}	163,02 ^{efg}	185,6 ^a
	D2	186,32 ^{defg}	207,32 ^{ab}	190,52 ^{bc}	182,36 ^{cd}	165,28 ^{defg}	154,16 ^{fg}	181,00 ^a
	D3	174,26 ^{efg}	171,36 ^{ef}	180,08 ^{cde}	171,26 ^{def}	159,00 ^{fg}	152,32 ^g	168,05 ^b
	TB (N)	182,69 ^a	191,05 ^a	194,80 ^a	178,89 ^b	165,37 ^c	156,50 ^c	
CV (%) = 6,04; F(A) = 17,80**; F(B) = 31,40**; F(AB) = 3,10**								

Ghi chú: **: Sự khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; Phân hạng yếu tố A và yếu tố B theo LSD_{0,01} (chữ in hoa) và phân hạng DN theo LSD_{0,01} (chữ thường); Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Sau 2 tháng, nhìn chung chiều cao cây trung bình của dòng D1 cao nhất đạt 77,16 cm, và dòng mía D3 thấp nhất đạt 71,54 cm. Xét về sự ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl, chiều cao cây tại nồng độ muối NaCl 70 mM đạt 82,66 cm cao hơn so với đối chứng. Sự tương tác giữa các dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy khi nồng độ muối tăng từ 0 ÷ 100 mM, chiều cao của dòng mía D1 đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (88,50 cm). Ở dòng D2, chiều cao cây tại nồng độ muối NaCl 70 mM (83,58 cm) cao hơn so với đối chứng (79,88 cm) và giảm tại nồng độ muối NaCl 100 mM (78,46 cm). Ở dòng D3, chiều cao tại nồng độ muối NaCl 70 mM (79 cm) cao hơn so với đối chứng (77,26 cm). Nồng độ muối NaCl càng tăng đến 160 mM thì chiều cao cây mía càng giảm ở cả 3 dòng mía.

Sau 3 tháng, chiều cao cây trung bình của dòng mía D1 đạt cao nhất (161,93 cm) và chiều cao cây mía cao nhất ở nồng độ muối NaCl 70 mM đạt 180,80 cm. Chiều cao cây giảm khi tăng nồng độ muối NaCl và thấp nhất tại nồng độ muối NaCl 160 mM (122,19 cm). Sự tương tác giữa dòng mía

và nồng độ muối NaCl cho thấy khi nồng độ muối tăng từ 0 ÷ 100mM, chiều cao của dòng mía D1 đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (200,48 cm). Ở dòng D2, chiều cao cây tại nồng độ muối NaCl 70 mM (187,40 cm) cao hơn so với đối chứng (173,56 cm) và giảm tại nồng độ muối NaCl 100 mM (165,98 cm). Ở dòng D3, chiều cao tại nồng độ muối NaCl 70 mM (171,88 cm) cao hơn so với đối chứng (159,2 cm).

Sau 4 tháng, chiều cao cây của dòng mía D1 đạt cao nhất (185,61 cm), chiều cao cây mía cao nhất ở nồng độ muối NaCl 100 mM đạt 194,80 cm. Chiều cao cây giảm khi tăng nồng độ muối và thấp nhất tại nồng độ muối NaCl 160 mM (156,50 cm). Sự tương tác giữa dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy nồng độ muối NaCl tăng từ 0 ÷ 100 mM, chiều cao của dòng mía D1 đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (213,80 cm). Ở dòng D2, chiều cao cây tại nồng độ muối NaCl 70 mM (207,32 cm) và 100 mM (190,52 cm) cao hơn so với đối chứng (186,32 cm). Ở dòng D3, chiều cao tại nồng độ muối NaCl 100 mM (180,08 cm) cao hơn so với đối chứng (174,26 cm).

Bảng 4: Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl lên sự hình thành lá mía *in vitro* trồng trong nhà màng

Thời gian theo dõi	Dòng mía (D)	Nồng độ NaCl (mM, N)						Trung bình (D)
		0	70	100	120	135	160	
Sau 3 tháng trồng	D1	7,16 ^{bc}	7,28 ^b	8,02 ^a	6,88 ^{cd}	6,24 ^{efg}	5,60 ^{ij}	6,86 ^a
	D2	6,74 ^{cde}	7,16 ^{bc}	6,54 ^{def}	6,20 ^{fgh}	5,80 ^{ghij}	5,40 ^j	6,31 ^b
	D3	6,50 ^{def}	6,60 ^{def}	6,32 ^{efg}	5,96 ^{ghi}	5,68 ^{hij}	4,52 ^k	5,93 ^c
	Trung bình (N)	6,80 ^a	7,01 ^a	6,96 ^a	6,35 ^b	5,91 ^c	5,17 ^d	
CV (%) = 5,03; F(A) = 64,36 ^{**} ; F(B) = 75,72 ^{**} ; F(AB) = 4,09 ^{**}								
Sau 4 tháng trồng	D1	8,18 ^{cd}	8,28 ^c	10,08 ^a	7,90 ^{cd}	6,88 ^{gh}	6,22 ^{ij}	7,92 ^a
	D2	8,18 ^{cd}	9,16 ^b	8,08 ^{cd}	7,62 ^{def}	6,58 ^{hi}	6,22 ^{ij}	7,57 ^b
	D3	7,82 ^{cde}	8,22 ^c	7,90 ^{cd}	7,26 ^{efg}	6,42 ^{hij}	5,92 ^j	7,21 ^c
	Trung bình (N)	8,06 ^b	8,55 ^a	8,56 ^a	7,45 ^c	6,63 ^d	6,12 ^c	
CV (%) = 4,45; F(A) = 33,69 ^{**} ; F(B) = 139,31 ^{**} ; F(AB) = 13,26 ^{**}								

Ghi chú: **: Sự khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; Phân hạng yếu tố A và yếu tố B theo LSD_{0,01} (chữ in hoa) và phân hạng AB theo LSD_{0,01} (chữ thường); Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Kết quả ghi nhận ở Bảng 4 sự tăng trưởng lá mía trồng trong nhà màng cho thấy: Sau 3 tháng, dòng D1 có số lá mía cao nhất ở tất cả các nồng độ muối NaCl với số lá trung bình đạt 6,86 lá và có sự khác biệt rất đáng tin cậy so với nghiệm thức ở dòng mía D2 và D3 với số lá trung bình lần lượt là 6,31 lá và 5,93 lá. Ở các nồng độ muối NaCl, số lá mía cao nhất ở các nồng độ muối NaCl 0; 100; 70 mM lần lượt là 6,80; 6,96; 7,01 lá và giảm tiếp tục khi tăng nồng độ muối NaCl. Sự tương tác giữa dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy khi nồng độ muối NaCl tăng từ 0 ÷ 100 mM, số lá của dòng mía D1 tăng đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (8,02 lá). Ở dòng D2 và D3, số lá tại nồng độ muối NaCl 70 mM (7,16 và 6,60 lá) cao hơn so với đối chứng và giảm tại nồng độ muối NaCl 100 mM.

Sau 4 tháng, số lá của dòng mía D1 cao nhất đạt 7,92 lá, đến dòng mía D2 đạt 7,57 lá, dòng mía D3 đạt 7,21 lá là thấp nhất. Ở các nồng độ muối NaCl, số lá mía cao nhất ở các nồng độ muối NaCl 0; 70; 100 mM lần lượt là 8,06; 8,55 và 8,56 lá và giảm tiếp tục khi tăng nồng độ muối NaCl. Số lá mía thấp nhất đạt 6,12 lá ở nồng độ muối NaCl 160 mM. Sự tương tác giữa dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy khi nồng độ muối NaCl tăng từ 0 ÷ 100 mM, số lá của dòng mía D1 tăng đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (10,08 lá). Ở dòng D3 tại nồng độ muối NaCl 160 mM, số lá đạt thấp nhất (5,92 lá).

Tốc độ tăng trưởng lá mía ở giai đoạn 3 tháng và 4 tháng sau khi trồng của dòng mía D1 tại nồng độ muối NaCl 100 mM cho sự tăng trưởng lá mía là cao nhất và ổn định hơn so với các dòng còn lại.

Bảng 5: Ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl lên sự sinh trưởng và phát triển của số đốt sau 4 tháng

Dòng mía	Nồng độ NaCl (mM)						Trung bình (D)
	0	70	100	120	135	160	
D1	3,80 ^b	3,88 ^b	4,48 ^a	2,54 ^{ghi}	2,42 ^{hi}	2,08 ⁱ	3,20 ^a
D2	3,22 ^{cdef}	3,76 ^{bc}	3,50 ^{bcd}	2,84 ^{fgh}	2,46 ^{ghi}	2,12 ⁱ	2,98 ^{ab}
D3	3,40 ^{bcde}	2,88 ^{efgh}	3,70 ^{bc}	3,00 ^{defg}	2,60 ^{ghi}	2,20 ⁱ	2,96 ^b
Trung bình (N)	3,47 ^b	3,51 ^b	3,89 ^a	2,79 ^c	2,49 ^c	2,13 ^d	
CV (%) = 10,62; F(a) = 4,93 ^{**} ; F(b) = 66,28 ^{**} ; F(ab) = 5,90 ^{**}							

Ghi chú: **: Sự khác nhau rất có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; Phân hạng yếu tố A và yếu tố B theo LSD 0,01 (chữ in hoa) và phân hạng AB theo LSD 0,01 (chữ thường); Các chữ cái giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Qua kết quả Bảng 5 cho thấy, ảnh hưởng của nồng độ muối NaCl đến số đốt mía trung bình của dòng D1 có số đốt cao nhất đạt 3,20 đốt, tiếp đến là dòng D2 (2,98 đốt) và dòng D3 (2,96 đốt). Ở các nồng độ muối NaCl, số đốt mía cao nhất ở các

nồng độ muối NaCl 100 mM (3,89 đốt) và giảm khi tăng nồng độ muối NaCl cao hơn. Sự tương tác giữa dòng mía và nồng độ muối NaCl cho thấy nồng độ muối NaCl tăng từ 0 – 100 mM, số đốt của dòng mía D1 tăng đạt cao nhất tại nồng độ muối NaCl 100 mM (4,48 đốt).

4 KẾT LUẬN

Qua các thí nghiệm đánh giá và chọn lọc các dòng mía (*Saccharum officinarum* L.) chịu mặn tái sinh từ mô sẹo đã được xử lý Ethyl Methane Sulphonate thu được những kết luận sau:

Xác định được phytagel là chất làm rắn phù hợp được sử dụng trong chọn lọc các biến dị chịu mặn của cây mía và nhân cây *in vitro* tạo lượng cá thể lớn để đánh giá ngoài đồng.

Qua các chỉ tiêu chiều cao cây, số lá và số đốt cho thấy dòng mía D1 chịu được ngưỡng muối ở nồng độ 100 mM trồng trong nhà màng. Dòng D2 và D3 chịu được ngưỡng muối thấp hơn 70 mM. Ở cùng nồng độ muối 70 mM, các chỉ tiêu số lá, chiều cao của dòng mía D3 thấp hơn dòng D2 nhưng chỉ tiêu số đốt của dòng D3 cao hơn dòng D2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chu Thị Thơm, Phan Thị Lại và Nguyễn Văn Tô, 2006. Phương pháp chọn giống cây trồng. Nhà xuất bản Lao động Hà Nội.

Ali B.T., Amin B.T., Behzad S., 2012. Ethyl Methane Sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for lethal dose determination. American Journal of Plant Sciences, 3(12), p.1661.

Dhakshanamoorthy D., Selvaraj R. and Chidambaram A., 2013. Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. using ethyl methanesulphonate (EMS) and assessment of DNA polymorphism through RAPD markers. Journal of Crop Science and Biotechnology, 16 (3), p.201-207.

Heinz D.J. and Mee G.W.P., 1969. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. Crop Sci, 9, p.346-348.

Kenganal M., Hanchinal R.R., and Nadaf H.L., 2008. Ethyl methanesulfonate (EMS) induced mutation and selection for salt tolerance in sugarcane *in vitro*. Indian Journal of Plant Physiology, 13, p. 405-410.

Koch A.C., Ramgaree B.S., Snyman S.J., Watt M.P., and Rutherford R.S., 2010. An *in vitro* induced mutagenesis protocol for the production of sugarcane tolerant to imidazolinone herbicides. Proceedings of the International Society for Sugar Cane Technology, 27, p. 1-5.

Patade V.Y., Suprasanna P., and Bapat V.A., 2008. Gamma irradiation of embryogenic callus cultures and *in vitro* selection for salt tolerance in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Agricultural Sciences in China, 7(9), p. 101-105.