

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH IN VITRO GỐC GHÉP ĐỂ TẠO CÂY GIỐNG TIÊU GHÉP CÓ KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU BỆNH CHẾT NHANH TRÊN ĐỊA BÀN TỈNH BR-VT

Cơ quan chủ trì: Trung tâm nghiên cứu cây ăn quả Miền Đông Nam Bộ

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Nguyễn An Đệ

Thời gian thực hiện: Từ tháng 12/2012 đến tháng 8/2015

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồ tiêu là một trong 10 mặt hàng xuất khẩu lớn của Việt Nam đồng thời cũng là cây trồng chủ lực của tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu với diện tích toàn tỉnh vào năm 2014 khoảng 8.061ha. Những năm qua, canh tác tiêu đã mang lại thu nhập lớn cho nhà vườn, tuy nhiên sản xuất hồ tiêu của Việt Nam bị hạn chế do một số dịch hại gây nên, trong đó bệnh chết nhanh (phần lớn do nấm *Phytophthora capsici*) là chủ yếu. Để hạn chế tác hại của bệnh chết nhanh, người trồng tiêu cần phải áp dụng kết hợp nhiều biện pháp hợp lý trong quy trình quản lý dịch hại tổng hợp, trong đó phòng bệnh là quan trọng nhất và giải pháp dùng gốc ghép kháng bệnh là hướng có thể đáp ứng được mục tiêu này. Đa số giống tiêu cho năng suất cao hiện nay đều rất mẫn cảm với bệnh chết nhanh. Những giống kháng bệnh thường có nguồn gốc hoang dại và cho năng suất thấp. Vì vậy để có giống kháng bệnh thì cần phải sử dụng ưu thế của gốc ghép. Trong khi nguồn giống để làm gốc ghép hiện nay chưa được nghiên cứu và những kỹ thuật nhân giống truyền thống (như chiết cành, giâm cành) mất nhiều thời gian, hệ số nhân giống thấp thì kỹ thuật nuôi cấy mô *in vitro* cần được nghiên cứu để khắc phục những nhược điểm trên. Vì vậy việc tuyển chọn và nhân nhanh *in vitro* gốc ghép để tạo cây giống tiêu ghép có khả năng chống chịu bệnh chết nhanh và nghiên cứu quy trình IPM phòng trừ bệnh chết nhanh trên tiêu để sản xuất bền vững, nâng cao thu nhập cho nhà vườn trồng tiêu ở Bà Rịa - Vũng Tàu là rất cần thiết.

II. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

1. Mục tiêu nghiên cứu

- Chọn lọc được 1-2 giống tiêu chống chịu bệnh chết nhanh do *Phytophthora capsici* để làm gốc ghép.
- Xây dựng được quy trình *in vitro* nhân nhanh gốc ghép để tạo cây giống tiêu ghép có khả năng chống chịu bệnh chết nhanh.
- Xây dựng được quy trình ghép giữa giống tiêu triển vọng và gốc ghép chống chịu bệnh chết nhanh.
- Xây dựng được quy trình phòng trừ hiệu quả bệnh chết nhanh và chuyển giao tiến bộ kỹ thuật phòng trừ bệnh chết nhanh trên tiêu cho người dân.

2. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Khảo sát và tuyển chọn giống tiêu chống chịu *Phytophthora* làm gốc ghép.

Chuyên đề 1: Điều tra và thu thập giống tiêu hiện có ở Bà Rịa - Vũng Tàu và lân cận.

Chuyên đề 2: Tuyển chọn và sàng lọc các giống tiêu chống chịu *Phytophthora*.

Nội dung 2: Xây dựng quy trình kỹ thuật nuôi cấy mô *in vitro* giống tiêu chống chịu *Phytophthora* để làm gốc ghép.

Chuyên đề 3: Khảo sát một số môi trường cảm ứng tạo mô sẹo (mẫu cấy là đốt thân, lá và chồi) trên giống *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn.

Chuyên đề 4: Khảo sát một số môi trường cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo lá tiêu trên giống *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn.

Chuyên đề 5: Khảo sát môi trường tạo rễ từ cụm chồi của mô sẹo lá tiêu giống *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn.

Chuyên đề 6: Nghiên cứu quy trình thuần dưỡng cây tiêu con *in vitro* trong vườn ươm.

Nội dung 3: Nghiên cứu xây dựng quy trình ghép giữa giống tiêu Vĩnh Linh và gốc ghép *in vitro* *Piper colubrinum*, Trâu lá tròn.

Chuyên đề 7: Ảnh hưởng của tuổi gốc ghép và phương pháp ghép đến khả năng sống và sinh trưởng cây giống tiêu sau khi ghép.

Nội dung 4: Xây dựng mô hình phòng trừ bệnh chết nhanh cây tiêu.

- Mô hình trồng thử nghiệm giống tiêu ghép với gốc ghép *in vitro* *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn.

- Mô hình tác động kỹ thuật canh tác tổng hợp phòng trừ bệnh chết nhanh trên cây tiêu.

Nội dung 5: Hội thảo đầu bờ chuyển giao kỹ thuật phòng trừ bệnh chết nhanh trên cây tiêu cho nhà vườn.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Khảo sát và tuyển chọn giống tiêu chống chịu *Phytophthora* làm gốc ghép

a) Điều tra và thu thập các giống tiêu hiện có ở Bà Rịa - Vũng Tàu và lân cận

- Qua điều tra, khảo sát bằng phiếu soạn sẵn tại các vùng có trồng nhiều tiêu ở Bà Rịa - Vũng Tàu và Đồng Nai, đã phát hiện 11 giống tiêu và cây cùng họ với tiêu, trong đó 3 giống được đánh giá ít bị bệnh thối rễ chết nhanh gồm: *Piper colubrinum*, Trâu Lá Tròn và Trâu (*Piper betle*); 6 chống chịu bệnh thối rễ chết nhanh mức độ trung bình gồm: Trâu lá dài, Lada Belangtoeng, Panniyua - 1, Karimunda, Sẻ lá nhỏ, Sẻ lá lớn; 2 giống chống chịu kém bệnh thối rễ gồm Vĩnh Linh 3 chia và Vĩnh Linh 2 chia, không may đây là 2 giống cho năng suất cao và đang được thâm canh phổ biến hiện nay. Trong 3 giống ít bị bệnh thối rễ thì *Piper colubrinum* và Trâu Lá Tròn có khả năng tiếp hợp được nên đề nghị có thể làm gốc ghép cho tiêu Vĩnh Linh nhằm hạn chế bệnh thối rễ chết nhanh trên giống này.

- 11 giống tiêu phát hiện đã được thu thập hom thân, giám canh và trồng lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu cây ăn quả miền Đông Nam Bộ, diện tích 1.000m². Sau trồng 24 tháng, các giống phát triển mạnh gồm *Piper colubrinum*, Trâu lá tròn, Trâu lá dài và Trâu (*Piper betle*). Tất cả các giống chưa thấy nhiễm bệnh thối rễ.

b) Tuyển chọn và sàng lọc các giống tiêu chống chịu bệnh *Phytophthora*

- Bằng phương pháp khảo sát ngoài đồng và phân cấp mức độ bệnh, kết quả đánh giá cho thấy trong 11 giống tiêu được khảo sát thì giống ít nhiễm bệnh thối rễ là *Piper colubrinum*, Trâu lá tròn, Trâu lá dài, Lada Belangtoeng, Panniyua - 1 và Trâu (*Piper betle*), tỷ lệ bệnh thấp dưới 6%; chỉ số bệnh thấp dưới 4%.

- Rễ, thân, lá và đất vùng rễ bị bệnh đã được thu thập, đem phân lập nấm gây bệnh bằng kỹ thuật bẫy nguồn bệnh ở trong đất và cấy nấm bệnh trên môi trường CRA (có bổ sung) theo phương pháp của Ho (1995) và Erwin & Ribiero (1996); sau đó định danh nấm gây bệnh theo Leonian (1922); Tsao and Alizadeh (1988), Mchau and Coffey (1995) và Erwin and Ribeiro (1996). Kết quả cho thấy tác nhân chủ yếu gây bệnh thối rễ (chết nhanh) trên tiêu ở Bà Rịa - Vũng Tàu là do nấm *Phytophthora capsici* gây ra. Nấm *Fusarium solani*, *Phytophthora tropicalis* cũng được phát hiện tuy nhiên tần suất rất thấp.

- Qua lây nhiễm nhân tạo nấm *Phytophthora capsici* trên 11 giống tiêu trong phòng thí nghiệm cho thấy *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn là 2 giống chống chịu tốt nhất với *Phytophthora capsici*.

- Kết quả đánh giá nhanh trên cây tiêu ghép trong nhà lưới cho thấy *P. colubrinum* và Trâu lá tròn là 2 giống tiêu có sức chống chịu tốt với *P. capsici* có thể làm gốc ghép để tạo cây giống tiêu ghép chống chịu bệnh thối rễ chết nhanh.

2. Nghiên cứu quy trình nuôi cấy mô giống *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn

- Vật liệu là mẫu lá, đốt thân hoặc chồi đỉnh sau khi khử trùng được cấy trên 7 loại môi trường MS có bổ sung Kin, 2,4D, BA, và IBA để tạo mô sẹo; 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 bình nuôi cấy và 4 mẫu cấy/bình. Kết quả cho thấy trên cả 2 giống *P. Colubrinum* và Trâu Lá Tròn, mẫu cấy đốt thân hoặc chồi đỉnh không hình thành được mô sẹo trên tất cả các môi trường được thí nghiệm. Trên mẫu cấy là lá non, cả 2 giống *P. Colubrinum* và Trâu Lá Tròn, môi trường MS* + Kin 1mg/lít + 2,4D 0,5mg/lít + BA 2mg/lít giúp cho mẫu lá tạo được sẹo với tỷ lệ cao nhất, kích thước to nhất và hình thái mô sẹo đáp ứng được yêu cầu tạo chồi.

- Vật liệu là mô sẹo mẫu lá (từ môi trường MS* + Kin 1mg/lít + 2,4D 0,5mg/lít + BA 2mg/lít) được cấy trên 8 loại môi trường MS có bổ sung BA, IBA, Kin và TDZ để tạo chồi *in vitro*; 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 bình nuôi cấy, 10 mẫu mô sẹo/ bình. Kết quả cho thấy trên cả 2 giống *P. Colubrinum* và Trâu Lá Tròn, mô sẹo khi được cấy chuyển trên môi trường MS* + Kin 1mg/lít + 2,4D 0,5mg/lít + BA 2mg/lít thì cho kết quả tốt nhất về khả năng tạo số lượng và chất lượng chồi so với các nghiệm thức còn lại.

- Vật liệu là cụm chồi (từ môi trường MS* + Kin 1mg/lít + 2,4D 0,5mg/lít + BA 2mg/lít) được cấy trên 9 loại môi trường MS có bổ sung NAA, Than hoạt tính, IAA, IBA để tạo rễ *in vitro*; 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 bình nuôi cấy và 5 chồi cấy/bình. Kết quả cho thấy trên cả 2 giống *P. Colubrinum* và Trâu Lá Tròn, cụm chồi khi được cấy chuyển trên môi trường MS* + NAA 0,5mg/lít + Than HT 1g/lít thì chồi tạo rễ tốt nhất và phát triển được thành cây hoàn chỉnh.

- Cây *in vitro* sau tạo rễ được đưa vào vườn ươm cấy trên 9 loại giá thể khác nhau hỗn hợp từ Đất, Phân hữu cơ và Xơ dừa; 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 20 cây. Kết quả cho thấy trên cả 2 giống *P. colubrinum* và Trâu Lá Tròn, giá thể Đất + xơ dừa + phân Hữu cơ với tỷ lệ 2:1:1 cho kết quả tốt nhất về sinh trưởng và phát triển cây tiêu *in vitro* giai đoạn thuần

duỡng trong vườn ươm.

3. Nghiên cứu tuổi gốc ghép và phương pháp ghép

Cành ghép giống Vĩnh Linh; gốc ghép 2 và 3 tháng tuổi là cây nuôi cấy mô giống *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn; 2 kiểu ghép là ghép nêm và ghép áp; 2 loại cành ghép là đoạn cành hoặc chồi đỉnh; kết hợp thành 8 nghiệm thức phương pháp ghép, 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức 10 cây. Kết quả cho thấy trên cả 2 giống làm gốc ghép (*P. colubrinum* và Trâu Lá Tròn), với tuổi gốc ghép là 3 tháng, phương pháp ghép nêm đoạn cành (cành ghép là giống Vĩnh Linh) giúp cho tỷ lệ cành ghép sống sau khi ghép đạt cao nhất và khả năng sinh trưởng phát triển cây giống tiêu sau ghép tốt nhất.

4. Xây dựng mô hình phòng trừ bệnh chết nhanh cây tiêu

a) Mô hình trồng giống tiêu ghép

Đã trồng cây giống tiêu ghép với diện tích 2.000m² gồm 3 loại cây giống: (1) Giống Vĩnh Linh giâm hom thân (làm đối chứng); (2) Giống Vĩnh Linh ghép trên gốc ghép *P. colubrinum* và (3) Giống Vĩnh Linh ghép trên gốc ghép Trâu Lá Tròn. Sau 18 tháng trồng:

- Đối với giống Vĩnh Linh ghép trên *P. colubrinum* cành ghép phát triển rất nhanh, tán mau định hình, một số cây đã bắt đầu cho quả; cây tiêu ghép chịu úng tốt hơn, chưa thấy triệu chứng bệnh héo rũ do thối rễ. Nhược điểm là nhu cầu nước và dinh dưỡng cao hơn tiêu không sử dụng gốc ghép (cần tưới nước thường xuyên khi không mưa và cần nhiều phân bón hơn 20% so với tiêu không ghép). Mức độ tiếp hợp bước đầu cho thấy gốc ghép này làm cho cành ghép phát triển rất mạnh, có đường kính to hơn so với gốc ghép tại điểm tiếp hợp. Khả năng ra hoa đậu quả và chất lượng hạt tiêu bình thường so với đối chứng Vĩnh Linh không ghép.

- Đối giống Vĩnh Linh ghép trên Trâu Lá Tròn, bước đầu cho thấy ưu điểm là cây sinh trưởng mạnh, chịu hạn tốt, tiếp hợp tốt, tỷ lệ bệnh héo rũ do thối rễ thấp (1,07%) khác biệt so với đối chứng trồng tiêu Vĩnh Linh không ghép (4,56%); khả năng ra hoa đậu quả và chất lượng hạt tiêu bình thường.

b) Mô hình canh tác tổng hợp phòng trừ bệnh chết nhanh trên cây tiêu

Đã thực hiện mô hình với diện tích 5.000m². Qua 2 vụ tác động kỹ thuật, kết quả cho thấy tỷ lệ bệnh héo rũ do thối rễ ở mô hình được ngăn chặn ở mức thấp từ 1,98 đến 2,13%, trong khi ở đối chứng tỷ lệ bệnh từ 6,17 đến 8,36%. Chỉ số bệnh cũng cho kết quả tương tự, ở mô hình chỉ số bệnh thấp từ 1,45 đến 1,77%, trong khi ở đối chứng từ 5,73 đến 8,12%. Năng suất ở mô hình cao khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng ở cả 2 vụ thu hoạch (tăng 38,9%); mặc dù mô hình đầu tư chi phí nhiều hơn đối chứng nhưng lợi nhuận và tỷ suất lợi nhuận cao hơn so với đối chứng. Qua đó cho thấy những kỹ thuật tác động tại mô hình có hiệu quả tốt và có khả năng nhân rộng trong sản xuất.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Kết quả điều tra và khảo sát các giống tiêu hiện có ở Bà Rịa - Vũng Tàu: Đã phát hiện 11 giống tiêu và cây cùng họ với tiêu ở Bà Rịa - Vũng Tàu và vùng lân cận, trong đó, hai giống *Piper colubrinum* và Trâu Lá Tròn có thể tiếp hợp tốt và được chọn làm gốc ghép cho tiêu Vĩnh Linh nhằm hạn chế bệnh thối rễ chết nhanh trên giống này. Kết quả thu thập giống và xây dựng vườn tập đoàn các giống tiêu: 11 giống tiêu phát hiện đã được thu thập

hom thân, giâm cành và trồng lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu cây ăn quả miền Đông Nam Bộ, diện tích 1.000m². Sau trồng 24 tháng, các giống phát triển mạnh gồm *Piper colubrinum*, Trâu lá tròn, Trâu lá dài và Trâu (*Piper betle*). Tất cả các giống chưa thấy nhiễm bệnh thối rễ.

Trong 11 giống tiêu được khảo sát ngoài đồng thì giống ít nhiễm bệnh thối rễ là *Piper colubrinum*, Trâu lá tròn, Trâu lá dài, Lada Belangtoeng, Panniyur - 1 và Trâu (*Piper betle*), tỷ lệ bệnh thấp dưới 6%; chỉ số bệnh thấp dưới 4%. Qua lây nhiễm nhân tạo nấm *Phytophthora capsici* trên 11 giống tiêu trong phòng thí nghiệm cho thấy *Piper colubrinum* và Trâu lá tròn là 2 giống chống chịu tốt nhất với *Phytophthora capsici*. Kết quả đánh giá nhanh trên cây tiêu ghép trong nhà lưới cho thấy *P. colubrinum* và Trâu lá tròn là 2 giống tiêu có sức chống chịu tốt với *P. capsici* có thể làm gốc ghép để tạo cây giống tiêu ghép chống chịu bệnh thối rễ chết nhanh.

2. Kiến nghị

Cần khảo sát thêm để phát hiện thêm những giống tiêu chống chịu với bệnh thối rễ để phục vụ cho nghiên cứu, cần phân lập thêm những mẫu tiêu bị bệnh thối rễ ở các vùng khác ngoài tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu để kết luận tác nhân gây bệnh đầy đủ hơn.

Trên cơ sở 2 giống tiêu chống chịu tốt với *Phytophthora capsici* được đánh giá có thể làm gốc ghép, cần nghiên cứu và đánh giá thêm về mức độ tiếp hợp của gốc ghép với cành ghép, khả năng chịu úng, chịu hạn, khả năng sinh trưởng phát triển, ra hoa, năng suất, chất lượng sau trồng để có kết luận đầy đủ hơn.

Mô hình trồng giống tiêu ghép bước đầu cho thấy 2 loại gốc ghép *Piper colubrinum* và Trâu Lá Tròn có nhiều ưu điểm nhưng cũng có một số nhược điểm, đề nghị cần tiếp tục đánh giá tiếp trước khi khuyến cáo nhân rộng.