

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM
VIỆN CÂY ĂN QUẢ MIỀN NAM

BÁO CÁO TỔNG KẾT
KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI THUỘC DỰ ÁN KHOA HỌC
CÔNG NGHỆ NÔNG NGHIỆP VỐN VAY ADB

Tên đề tài: NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT SẢN XUẤT CÂY GIỐNG ĐU ĐỦ
***IN VITRO* LƯỠNG TÍNH NHẪM PHÁT TRIỂN ĐU ĐỦ HÀNG HÓA**
CHẤT LƯỢNG CAO Ở MIỀN ĐÔNG NAM BỘ

Cơ quan chủ quản: Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn

Cơ quan chủ trì: Viện Cây ăn quả miền Nam

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Phan Đình Kim Thư; ThS. Nguyễn An Độ

Thời gian thực hiện: 2009 – 2011

Tiền Giang, năm 2012

MỤC LỤC

I. ĐẶT VẤN ĐỀ.....	Error! Bookmark not defined.
II. MỤC TIÊU ĐỀ TÀI.....	Error! Bookmark not defined.
1 Mục tiêu tổng quát.....	Error! Bookmark not defined.
2 Mục tiêu cụ thể	Error! Bookmark not defined.
III. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU....	Error! Bookmark not defined.
1. Nội dung nghiên cứu.....	Error! Bookmark not defined.
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu.....	Error! Bookmark not defined.
2.1. Thời gian thực hiện.....	Error! Bookmark not defined.
2.2. Địa điểm thực hiện	Error! Bookmark not defined.
2.3. Vật liệu và phương tiện nghiên cứu	Error! Bookmark not defined.
2.4. Phương pháp	Error! Bookmark not defined.
2.4.1. Khảo sát điều kiện khử trùng mẫu cấy	Error! Bookmark not defined.
2.4.2. Nghiên cứu phương pháp nhân giống <i>in vitro</i> cây đu đủ bằng cụm chồi.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.2.1. Khảo sát các môi trường nhân nhanh cụm chồi từ chồi ngủ.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.2.2. Khảo sát các môi trường tăng trưởng chồi.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.2.3. Khảo sát các môi trường tái sinh của cây có nguồn gốc từ cụm chồi.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.3. Nghiên cứu phương pháp nhân giống <i>in vitro</i> cây đu đủ bằng phôi vô tính.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên khả năng tạo mô sẹo phát sinh phôi từ mẫu mô lá của các giống đu đủ Ruột Vàng và giống 18.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của điều kiện môi trường nuôi cấy lên khả năng nhân nhanh mô sẹo phát sinh phôi	Error! Bookmark not defined.
2.4.3.3. Khảo sát môi trường trưởng thành phôi vô tính.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.3.4. Khảo sát các môi trường tái sinh của cây có nguồn gốc từ phôi vô tính.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.3.5. Khảo sát điều kiện thuần dưỡng cây con <i>in vitro</i> và thành phần môi trường giá thể trồng cây	Error! Bookmark not defined.
2.4.4. Điều kiện nuôi cấy và phương pháp xử lý số liệu.....	Error! Bookmark not defined.
IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	Error! Bookmark not defined.
1. Kết quả nghiên cứu khoa học	Error! Bookmark not defined.
1.1. Điều kiện khử trùng mẫu cấy.....	Error! Bookmark not defined.
1.2. Nhân giống <i>in vitro</i> cây đu đủ bằng cụm chồi	Error! Bookmark not defined.
1.2.1. Khảo sát các môi trường nhân nhanh cụm chồi từ chồi ngủ.....	Error! Bookmark not defined.
1.2.1.1. Ảnh hưởng của NAA, BA và zeatine đến việc nhân nhanh cụm chồi từ chồi ngủ của cây đu đủ lưỡng tính <i>ex vitro</i>	Error! Bookmark not defined.
1.2.1.2. Ảnh hưởng của BA, GA ₃ đến việc nhân nhanh cụm chồi từ chồi ngủ của cây đu đủ <i>ex vitro</i> gieo từ hạt.....	Error! Bookmark not defined.
1.2.2. Khảo sát các môi trường tăng trưởng chồi.....	Error! Bookmark not defined.
1.3. Nghiên cứu phương pháp nhân giống <i>in vitro</i> cây đu đủ bằng phôi vô tính.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.1. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng lên khả năng tạo mô sẹo phát sinh phôi từ mẫu mô lá của các giống đu đủ Ruột Vàng và giống 18.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.2. Ảnh hưởng của điều kiện môi trường nuôi cấy lên khả năng nhân nhanh mô	

seò phát sinh phôi.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.3. Môi trường trưởng thành phôi vô tính	Error! Bookmark not defined.
1.3.4. Môi trường tái sinh của cây có nguồn gốc từ phôi vô tính.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.5. Khảo sát điều kiện thuần dưỡng cây con <i>in vitro</i> và thành phần môi trường giá thể trồng cây	Error! Bookmark not defined.
2. Đánh giá tác động của kết quả nghiên cứu	Error! Bookmark not defined.
3 . Các sản phẩm đề tài	Error! Bookmark not defined.
3.1. Các sản phẩm khoa học:	Error! Bookmark not defined.
3.2. Kết quả đào tạo/tập huấn cho cán bộ hoặc nông dân.....	Error! Bookmark not defined.
4. Tình hình sử dụng kinh phí năm 2010.....	Error! Bookmark not defined.
V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	Error! Bookmark not defined.
1. Kết luận	Error! Bookmark not defined.
2. Đề nghị	Error! Bookmark not defined.

**BẢNG CHÚ GIẢI CÁC CHỮ VIẾT TẮT, KÝ HIỆU, ĐƠN VỊ ĐO LƯỜNG, TỪ
NGẮN, THUẬT NGỮ**

2,4-D	: 2,4-Diclorophenoxyacetic acid
2-iP	: 2-isopentenyladenine
ABA	: Acid abscisic
BA	: Benzyladenine
GA	: Gibberellic acid
IAA	: Indoleacetic acid
IBA	: Indol 3-butyric acid
NAA	: α -Naphthaleacetic acid

THÔNG TIN CHUNG VỀ ĐỀ TÀI

-Thời gian thực hiện: 28 tháng (Từ tháng 9/2009 đến tháng 12/2011)

-Kinh phí: 420 triệu đồng (ngân sách từ nguồn sự nghiệp khoa học)

-Thuộc chương trình: Chương trình nghiên cứu nông nghiệp hướng tới khách hàng - thuộc Dự án Khoa học công nghệ Nông nghiệp vốn vay ADB

-Chủ nhiệm đề tài: ThS. Phan Đình Kim Thư (thay ThS. Nguyễn An Độ từ tháng 1/2011)

-Cơ quan chủ trì đề tài: Viện Cây ăn quả miền Nam

-Cơ quan phối hợp thực hiện: Trường Đại học Khoa học tự nhiên TP. HCM

-Các thành viên thực hiện chính:

ThS. Phan Đình Kim Thư

ThS. Âu Thị Ngọc Ánh

ThS. Nguyễn An Độ

ThS. Đỗ Bích Ngọc

ThS. Bùi Xuân Sơn

KS. Huỳnh Thị Bích Tuyền

KS. Nguyễn Văn Thịnh

KS. Nguyễn Thị Bé

Phần 1: ĐẶT VẤN ĐỀ

Đu đủ được trồng từ hạt và thụ phấn ngoại hoa nên vào giai đoạn cây con rất khó phân biệt được cây đực, cây cái và cây lưỡng tính. Tỷ lệ (%) giới tính (đực : cái : lưỡng tính) được hình thành khi hạt thụ phấn từ hoa lưỡng tính với hoa lưỡng tính là 0 : 33 : 67 và đạt tỷ lệ 50 : 50 : 0 khi hạt được thụ phấn từ hoa cái với hoa đực. Trong khi đó, cây đực hầu hết không cho trái, cây cái cho trái nhưng thường có khoang ruột lớn và phần thịt quả mỏng, chỉ có cây lưỡng tính mới cho trái có phần thịt quả dày, khoang ruột nhỏ, chất lượng ngon ngọt và năng suất cao.

Bên cạnh đó, cây đu đủ lưỡng tính cũng khắc phục được nhược điểm của cây đu đủ cái là nhà vườn cần thụ phấn bổ sung cho hoa cái để gia tăng năng suất, đây là phương pháp thủ công nên hiệu quả còn thấp, lại tốn kém về thời gian và công lao động. Mặt khác, khi đã phân biệt được cây lưỡng tính nhờ quan sát hình thái quả thì nhà vườn thường nhân giống bằng cách giâm hom, nhưng phương pháp này hạn chế về số lượng cây giống, mất nhiều thời gian, khó cung cấp đủ số lượng giống cần thiết cho sản xuất quy mô lớn.

Trên thế giới, việc xác định giới tính của cây đu đủ cũng đã được thực hiện bằng phương pháp PCR ở những cây đu đủ còn trong giai đoạn sinh trưởng, nghiên cứu này được tiến hành bởi hai nhà khoa học Pablito M. Magdalita và Charles P. Mercado (2003) thuộc trường Đại học Nông nghiệp Philippines ở 3 giống đu đủ Cariflora, Cavite và Sinta hybrid. Ở Việt Nam, năm 2004 trường Đại học Nông Lâm TP.HCM cũng đã tiến hành phương pháp này để xác định giới tính của cây đu đủ. Tuy nhiên, phương pháp này chủ yếu là mang tính nghiên cứu cơ bản và tốn kém so với việc xác định giới tính thông qua chọn lọc nhanh các cây đã cho quả ngoài tự nhiên có chất lượng và năng suất cao, sau đó thu thập tuyển chọn giống làm cây đầu dòng để tiến hành nhân giống hàng loạt với số lượng lớn bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*.

Ngoài ra, ở cây đu đủ, do sự xuất hiện của bệnh virus nên các nhà làm vườn có phần bị hạn chế trong sản xuất canh tác, bệnh này lan truyền rất nhanh, nếu như không tạo ra dòng đu đủ có khả năng kháng được bệnh này thì không thể phát triển trên diện tích rộng được (Trần Văn Minh, 1997). Bệnh virus hại cây đu đủ là một bệnh hại phổ biến và nghiêm trọng nhất cho các vườn trồng đu đủ ở nước ta (Lê Lương Tề và Vũ Triệu Mân, 1999). Các nhà khoa học đã nghiên cứu xác định được các loại virus gây bệnh ở đu đủ như bệnh khảm lá, virus gây bệnh đốm vòng, virus gây bệnh quắt ngọn,... Hiện nay, hầu hết các chương trình chọn tạo giống đu đủ đều tập trung sản xuất ra các dòng có khả năng kháng bệnh virus, như bệnh virus đốm vòng (PRV), kháng bệnh nấm và cải thiện tình trạng hao hụt trong bảo quản, tuy nhiên kết quả thu được rất chậm. Ở nước ta cũng như các nước trên thế giới, nhân tố hạn chế việc phát triển cây đu đủ là bệnh đốm vòng do virus (PRV) (Purcifull và cộng sự, 1985) gây bệnh mất màu lá và hoại tử lá, nhũn thân và cành lá, gây đốm vàng trên trái (Adsuar, 1946; Conover, 1964). Bệnh làm giảm năng suất và gây chết cây, đã làm thiệt hại rất nghiêm trọng đến năng

suất và phẩm chất đu đủ ở hầu hết các nước trên thế giới. Bên cạnh đó, bệnh nấm quan trọng nhất ở cây đu đủ gây ra bởi nấm *Phytophthora palmivora* Butl. Nấm xuất hiện ở đu đủ thể hiện 3 loại bệnh, trong đó có bệnh thối rễ (Teakle, 1957), còn hai bệnh khác là bệnh khô cây và thối trái (Parris, 1942). Bệnh do nấm *Phytophthora* là nhân tố chính hạn chế việc trồng đu đủ nơi có mưa kéo dài và độ ẩm đất cao. Để khắc phục những yếu tố hạn chế trên và nâng cao năng suất, phẩm chất trái đu đủ, các nhà khoa học đã tiến hành nhiều biện pháp như: lai tạo để chọn ra giống mới chống chịu bệnh đốm vòng (Siar và cộng sự, 2005; Chan 2005); chuyển gen kháng bệnh đốm vòng vào cây đu đủ (Yang và cộng sự, 1997; Drew và cộng sự, 2005) đã giúp tạo ra các giống đu đủ thương phẩm có giá trị cao trong sản xuất. Ngoài các phương pháp trên, nuôi cấy mô *in vitro* đu đủ, có thể sản xuất cây đu đủ sạch bệnh.

Từ những vấn đề nêu trên, việc nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống sản xuất cây giống đu đủ lưỡng tính, sạch bệnh sẽ giúp nâng cao năng suất và góp phần hình thành vùng trồng đu đủ hàng hóa có chất lượng giống được bảo đảm.

Vì vậy, đề tài cần được thực hiện nhằm nghiên cứu qui trình nhân nhanh cây giống đu đủ lưỡng tính, năng suất cao, phẩm chất ngon, sạch bệnh.

Phần 2: MỤC TIÊU ĐỀ TÀI

2.1. Mục tiêu tổng quát:

Nâng cao năng suất nhằm tăng thu nhập cho người dân trồng đu đủ ở miền Đông Nam bộ thông qua việc xây dựng qui trình nhân nhanh *in vitro* cây giống đu đủ lưỡng tính, triển vọng.

2.2. Mục tiêu cụ thể:

-Chọn được giống đu đủ triển vọng ở miền Đông Nam bộ và phù hợp với kỹ thuật nhân giống vô tính cây lưỡng tính bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*.

-Xây dựng quy trình nhân nhanh giống *in vitro* cây đu đủ lưỡng tính, sạch bệnh từ nguồn cây giống tốt, triển vọng ở miền Đông Nam bộ với hệ số nhân giống cao.

-Trồng thử nghiệm cây đu đủ lưỡng tính được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*.

-Tập huấn chuyển giao quy trình nhân giống cây đu đủ lưỡng tính bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro* cho cán bộ nông nghiệp các tỉnh miền Đông Nam bộ.

Phần 3: TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

Thông tin về cây đu đủ và tình hình sản xuất đu đủ

Cây đu đủ (*Carica papaya* L.) thuộc họ *Caricaceae*, là loại cây ăn trái phổ biến ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới, đu đủ phân bố ở hầu hết các nước trên thế giới thuộc Châu Á, Châu Phi, Châu Mỹ Latin và Châu Úc. Cây đu đủ có nhiều ưu điểm thích nghi với nhiều loại đất đai và khí hậu khác nhau, cây sớm cho trái và mang trái quanh năm, hàm lượng chất dinh dưỡng cao đặc biệt là vitamin A (cao gấp mười lần so với chuối, dứa và gần gấp đôi xoài), đu đủ còn được coi là cây dược liệu quý: rễ, hoa, lá, nhựa cây đều được sử dụng rộng rãi trong Đông y (Vũ Công Hậu, 1999). Nhựa đu đủ có chứa một loại enzyme phân hủy protein mang tên “papain”, rất tốt cho quá trình tiêu hoá. Bởi lý do này, nước ép của trái đu đủ xanh đã được sử dụng trong việc bào chế ra các loại thuốc với mục đích chữa trị và hỗ trợ hệ thống tiêu hoá. Một số nghiên cứu ghi nhận trong trái đu đủ có chứa chất chống ung thư và giúp ngăn ngừa sỏi mật. Chính vì vậy, cây đu đủ rất có giá trị về mặt kinh tế cũng như giá trị y học, giúp cải thiện đời sống người nghèo vùng nông thôn. Tổ chức UNICEF (1999) đã chọn đu đủ là một trong những cây quan trọng nhất để khuyến khích trồng trong vườn gia đình.

Ngoài cung cấp ăn tươi, đu đủ còn phù hợp cho chế biến, sau dứa, xoài thì đu đủ chiếm vị trí thứ ba thế giới về sản lượng đóng hộp xuất khẩu. Những năm gần đây, Việt Nam cũng đã có dây chuyền đóng hộp đu đủ xuất khẩu nhưng không đủ nguyên liệu, ngay cả đu đủ ăn tươi cũng phải nhập một phần từ Thái Lan về để cung cấp đủ cho nhu cầu tiêu thụ ở các thành phố.

Trên thế giới, đu đủ là một trong bốn loại cây ăn quả nhiệt đới có sản lượng và kim ngạch xuất khẩu đạt cao nhất, góp phần chủ yếu trong việc gia tăng 25% kim ngạch xuất khẩu trái cây nhiệt đới trong vòng 5 năm qua. Sản lượng đu đủ đạt 7,8 triệu tấn chỉ đứng sau xoài và dứa. Brazil là nước dẫn đầu trong sản xuất đu đủ với 1,65 triệu tấn chiếm 25% sản lượng toàn cầu, Mexico đứng thứ hai với sản lượng khoảng 1 triệu tấn. Về xuất khẩu đu đủ, Mexico đứng vị trí số một với 96.500 tấn, tiếp đến là Brazil với 58.100 tấn. Trong số các quốc gia nhập khẩu đu đủ, thì Mỹ chiếm 41% thị phần nhập khẩu đu đủ trên toàn cầu, tiếp theo là các nước Châu Âu chiếm 20%, trong đó Netherlands có mức tiêu thụ đu đủ cao nhất chiếm 35% thị phần nhập khẩu toàn Châu Âu (FAO, 2006). Theo USDA (2004), có 10 quốc gia xuất khẩu đu đủ vào thị trường Mỹ, trong đó có Thái Lan và Philippine đứng vị trí thứ 7 và 8. Theo Eurostat (2007), Việt Nam có tham gia xuất khẩu đu đủ vào thị trường Châu Âu (Pháp) năm 2005 với 2 tấn đu đủ sấy khô, trong khi đó Thái Lan xuất khẩu khoảng 1.111 tấn đu đủ đóng hộp và 700 tấn đu đủ tươi vào thị trường các nước Châu Âu vào năm 2006. Theo CIRAD (2005), thị trường tiêu thụ đu đủ đang ngày một gia tăng một cách nhanh chóng, trong

tương lai không xa đu đủ được đánh giá sẽ chiếm vị trí dẫn đầu trong số các loại trái cây nhiệt đới đóng hộp xuất khẩu đến Mỹ và Châu Âu.

Ở Việt Nam, đu đủ được trồng rộng rãi trong phạm vi cả nước. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu về loại cây này. Các giống được trồng hiện nay chủ yếu là giống địa phương đã bị lai tạp nhiều nên không còn giữ đúng đặc tính ban đầu của giống, ngoài ra nhà vườn còn canh tác một số giống nhập nội từ nước ngoài với giá thành hạt giống F1 khá cao. Một số giống đu đủ thương mại trồng phổ biến ở khu vực Châu Á được chia làm hai nhóm: nhóm đầu tiên gồm các giống có trái dài và lớn như: giống Subang 6, Sitiawan, Batu Arang, Kaegdum và Sainampeung, cây đu đủ thuộc nhóm này có kích thước trái trung bình 1-3 kg, thịt quả màu đỏ, chắc; Nhóm thứ hai bao gồm các giống Solo và Eksotika, có kích thước trái nhỏ, hình quả lê hoặc hình tròn, phẩm chất trái rất ngon, có giá trị xuất khẩu cao (Yến, 1996). Ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long và các tỉnh miền Đông Nam bộ có một số giống đu đủ đang được canh tác bao gồm: Hồng Kông Da bông, ĐakLak, Đài Loan tím, Hoàng kim (Việt Nam), Trạng nguyên (Đu đủ lai, Việt Nam), Khakdum, Lionseeds (từ Thái Lan), Tainung 2 (từ Đài Loan), Mã Lai lùn, Paris, Brazil 1414 (từ Mã Lai), Kapoho Solo, Sunrise Solo (từ Mỹ), Niensee (Mã Lai), V20... đây là các giống địa phương hoặc giống nhập nội có phẩm chất ngon và đang được trồng khá phổ biến (Yến, 2003; Nguyễn Văn Hùng và Phạm Thị Mươi, 2005).

Đu đủ là cây thụ phấn ngoại hoa, nông dân thu trái để lấy hạt, không có tập quán trồng đu đủ từ hạt F1 nên cây trồng trong vườn có tỷ lệ cây mang trái lưỡng tính thấp, dạng trái không đồng đều, vì vậy chưa đáp ứng được nhu cầu cho xuất khẩu trái tươi và công nghệ chế biến. Hiện tại ở nước ta, các phương pháp nhân giống ngoài đồng ruộng cho hệ số nhân thấp (như giâm thân), hạt lai F1 lại có giá thành cao. Nhân giống đu đủ bằng phương pháp nuôi cấy mô là một trong những thành tựu của công nghệ sinh học, tạo ra một lượng lớn cây lưỡng tính, đồng đều và nguồn giống ban đầu sạch bệnh.

Các nghiên cứu ứng dụng nuôi cấy mô *in vitro* ở cây đu đủ

Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng

Một phương thức dễ dàng nhằm đạt được mục tiêu trong nuôi cấy mô tế bào thực vật là nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. Sau khi vô trùng mẫu và được nuôi trên môi trường thích hợp. Từ một đỉnh sinh trưởng sau một thời gian nuôi cấy nhất định sẽ phát triển thành một hay nhiều chồi. Sau đó chồi tiếp tục phát triển vươn thân ra lá và rễ để trở thành cây hoàn chỉnh. Cây con được chuyển ra đất có điều kiện sinh trưởng phát triển bình thường. Đây là chu trình ngắn nhất và thuận lợi hơn các phương thức nhân giống thông thường được thực hiện trong điều kiện *in vitro*. Hiện nay một số nước như Mỹ, Australia, Đài Loan, ... đã đạt được những thành tựu đáng kể trong lĩnh vực này.

Khó khăn ở đây là vấn đề nhiễm mẫu, Conover (1978) đã giải quyết các vấn đề này bằng cách ngâm mẫu trong dung dịch chứa 300 mg/l Rifampicin (RIF) trong 21 giờ hay thêm vào trong môi trường nuôi cấy 50 mg/l RIF. Giúp cho sự nhân nhanh và phát triển tốt thì bên trong môi trường MS có 0,5 mg/l Bt, 0,1 mg/l NAA và 160 mg/l Adenin. Giai đoạn vươn thân dùng 1 mg/l Kinetin và dùng 0,5 mg/l NAA trước khi tạo

rễ. Việc tạo rễ thu được tỷ lệ cao trong môi trường có $\frac{1}{2}$ khoáng đa lượng của môi trường cơ bản MS và có bổ sung 1 mg/l IBA.

Trước đây những thí nghiệm sơ khởi cho thấy xử lý mẫu bằng Natri hypochlorit không hiệu quả với phần bên trong mẫu. Việc sử dụng chất kháng sinh RIF có tác động đến bên trong mẫu ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn.

Công nghệ phôi soma

Phôi soma, phôi sinh dưỡng, phôi vô tính hay phôi thể hệ đều là cùng một khái niệm để mô tả một cấu trúc lưỡng cực bất định bao gồm cực chồi và cực rễ, mà dưới những điều kiện thích hợp thì có thể phát triển thành một cơ thể có chức năng hoàn chỉnh. Sự sinh phôi từ một tế bào sinh dưỡng được định nghĩa là một quá trình mà trong đó một hay vài tế bào sinh dưỡng, trong các điều kiện thực nghiệm (bao gồm việc sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật), có thể bước vào một quá trình phân chia theo một trật tự nhất định để cho một phôi, theo kiểu giống hay gần giống như kiểu sinh phôi từ hợp tử (Bùi Trang Việt, 2000).

Quá trình hình thành phôi vô tính đã mang lại nhiều ứng dụng thực tiễn và có tính thương mại to lớn, đặc biệt trong vi nhân giống *in vitro*. (1) Về lý thuyết, từ một mẫu mô được nuôi cấy có thể sản xuất ra vô số tế bào phôi; (2) Tốc độ nhân giống từ phôi cao hơn nhiều so với việc nhân giống từ mô phân sinh. Đây chính là một ưu thế của nhân giống từ phôi so với các phương pháp nhân giống *in vitro* khác (Nguyễn Đức Lượng, 2002); (3) Ngoài ra, số lượng lớn của phôi chính là một nguồn nguyên liệu đáng kể phục vụ cho những ứng dụng thực tiễn quan trọng khác như: sản xuất hạt nhân tạo, cải thiện chất lượng cây trồng thông qua việc chọn lọc tế bào, biến nạp gen, lai sinh dưỡng, tạo dòng cây sạch bệnh virus, sản xuất các chất biến dưỡng *in vitro*, bảo quản *in vitro*,...

Trong công nghệ nuôi cấy phôi vô tính sự tạo thành cây con hoàn chỉnh từ phát sinh phôi vô tính khác với sự tạo cây con bằng con đường phát sinh cơ quan, mặc dù sự phát sinh cơ quan và phát sinh phôi đều diễn ra thông qua quá trình phân biệt hóa và tái biệt hóa. Trong đó, sự phát sinh cơ quan chỉ cho ra các cấu trúc đơn cực không có khả năng phát triển thành cơ thể hoàn chỉnh (ví dụ như phát sinh chồi), để tạo ra một cây hoàn chỉnh thì thể nhân giống cần phải trải qua giai đoạn giãn chồi và kích thích ra rễ, các giai đoạn này gây tốn kém về mặt thời gian và tiền bạc, đồng thời còn dễ phát sinh các biến đổi phân dòng làm ảnh hưởng đến chất lượng cây con. Trong khi đó, phân tích các cây con tái sinh từ phôi vô tính người ta nhận thấy các cây này có sức sống cao, dễ sống khi chuyển ra đất và sinh trưởng tốt nhờ chúng có các trục rễ và chồi mạnh như cây con phát triển từ hạt. Bên cạnh đó, một trong những đặc điểm quan trọng của cây từ phôi là nó không xuất hiện những bất thường về hình thái trong tự nhiên và không có những thay đổi nào về di truyền và tế bào. Điều này có thể là do nguồn gốc một tế bào của phôi và do sự chọn lọc tế bào nghiêm ngặt trong suốt quá trình phát triển thành phôi (Krishnaraj và Vasil, 1995). Về nguyên tắc thì phôi vô tính không giống như phôi hữu tính là nó không trải qua quá trình trao đổi chéo và tái tổ hợp của ADN, do đó phôi vô

tính tiêu biểu cho một hệ thống nhân giống vô tính mà trong đó cây con được tạo thành vẫn duy trì các đặc tính của cây mẹ ban đầu. Điều này rất quan trọng trong nhân giống cây trồng vì phải duy trì tính đồng nhất của các cây nhân giống (Nguyễn Đức Lượng, 2000).

Giai đoạn phát sinh phôi vô tính in vitro

Vật liệu nuôi cấy: Giống Solo, hạt được gieo trong vườn ươm, mẫu nuôi cấy là đỉnh sinh trưởng, cây *in vitro* thu nhận được nuôi cấy trong môi trường tạo rễ, và rễ cây cấy mô được sử dụng làm nguyên liệu nuôi cấy nghiên cứu sự phát sinh phôi. Môi trường nuôi cấy: Môi trường Murashige-Skoog (1962) có bổ sung đường sucrose, nước dừa (CW), chất điều hòa sinh trưởng 2,4D và Glutamine. Cường độ ánh sáng 1000-2000 lux, nhiệt độ nuôi cấy $25 \pm 1^\circ\text{C}$, ẩm độ 60-65%.

Rễ cây đu đủ được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung đường sucrose (60g/l), nước dừa (30%), chất điều hòa sinh trưởng gồm NAA (1 mg/l) và 2,4D (0,5 mg/l). Ngoài ra môi trường nuôi cấy còn được bổ sung glutamine (400 mg/l). Điều ghi nhận đầu tiên là phôi phát sinh từ mô sẹo qua nuôi cấy rễ *in vitro*. Sau một tháng nuôi cấy, bắt đầu xuất hiện những mô sẹo nhỏ trên thân rễ. Mẫu cấy rễ có màu nâu tạo mô sẹo chậm hơn. Sau ba tháng, phôi được hình thành từ mô sẹo có cấu trúc chặt và cứng, đó là những tế bào mô sẹo có khả năng phát sinh phôi. Các giai đoạn phát sinh phôi được ghi nhận trên những mô sẹo có màu vàng. Những tế bào mô sẹo có khả năng phát sinh phôi phát sinh hơn 100 tế bào phôi trên một đơn vị nuôi cấy.

Giai đoạn nhân phôi vô tính in vitro

Trong một đơn vị nuôi cấy (bình tam giác 300ml) bao gồm mô sẹo, tế bào có khả năng phát sinh phôi và phôi. Nghiên cứu môi trường nuôi cấy thích hợp để khả năng nhân sinh khối của tế bào có khả năng phát sinh phôi đồng nhất là cần thiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ đường cao (60g/l), hàm lượng nước dừa cao (30%), glutamine (100-400 mg/l) và nồng độ thích hợp của 2,4D (0,1-0,5 mg/l) là những yếu tố cần thiết để phôi phát sinh đồng nhất. Một đơn vị nuôi cấy cho phép nhân sinh khối 6-8 lần. Trong quá trình nhân sinh khối của tế bào có khả năng phát sinh phôi và tế bào phôi, cho thấy xuất hiện mô sẹo và tế bào tiền phôi mới và một số phôi được tái sinh thành cây có thân, lá, và rễ hoàn chỉnh.

Tế bào tiền phôi được nhân sinh khối trên máy lắc với môi trường phát sinh phôi được điều chỉnh cho thích hợp trong điều kiện tác động trực tiếp trên tế bào. Hệ số nhân sinh khối 8-10 lần. Dịch huyền phù tế bào có khả năng phát sinh phôi được duy trì nhân sinh khối trên máy lắc tạo thành stock mẹ trong nhân giống.

Giai đoạn tái sinh phôi vô tính

Thí nghiệm tái sinh được thực hiện trên đối tượng là tế bào có khả năng phát sinh phôi có nguồn gốc từ môi trường nhân sinh khối trên agar và môi trường lỏng. Kết quả được ghi nhận là khả năng tái sinh từ hai nguồn gốc của tế bào tiền phôi là giống nhau. Môi trường tái sinh là môi trường biệt hóa phát sinh hình thái không có chất điều

hòa sinh trưởng và có bổ sung nước dừa (10%). Sau thời gian một tháng tế bào tiền phôi phát sinh phôi, và trải qua các bước phát triển tế bào phôi và kết thúc là xuất hiện hai lá mầm.

Giai đoạn sinh trưởng và phát triển cây con từ phôi vô tính in vitro

Cây đu đủ từ phôi sinh trưởng phát triển bình thường trong môi trường tái sinh với đầy đủ thân, lá, rễ. Mỗi đơn vị nuôi cấy cho phép tái sinh 15-20 cây đu đủ từ phôi. Tốc độ sinh trưởng của cây từ phôi tương ứng với cây đu đủ thu được qua nhân giống vô tính trong ống nghiệm.

Giai đoạn đồng ruộng

Cây đu đủ từ phôi được trồng trên đồng ruộng cho thấy sinh trưởng và phát triển giống như cây đu đủ qua nhân giống vô tính hay cây đu đủ từ hạt. Trái thu được sau 9 tháng trồng trên đồng ruộng.

Đối với cây ăn trái được nuôi cấy *in vitro* thường sinh trưởng và phát triển chậm. Công nghệ phôi soma mở ra một triển vọng trong công nghệ nhân giống các giống cây ăn trái quý hiếm thông qua con đường phát sinh phôi. Kết quả nhân giống đu đủ qua con đường phát sinh phôi cho thấy với số lượng mẫu nuôi cấy ban đầu ít, thông qua nuôi cấy phôi và nhân sinh khối trên agar hay môi trường lỏng, cho hệ số nhân sinh khối lớn trong một thời gian nuôi cấy ngắn và có hiệu suất tái sinh phôi cao (Trần Văn Minh, 1997).

Maureen, Fitch và Richard (1990) đã nuôi cấy phát sinh phôi vô tính và tái sinh cây từ nuôi cấy phôi hợp tử non ở cây đu đủ (*Carica papaya* L.). Các phôi hợp tử non của quả đu đủ đã tự thụ và thụ phấn chéo, có tuổi từ 90 đến 114 ngày sau khi hoa nở, đã tạo ra từ 2 đến 20 phôi vô tính trên cụm đỉnh chồi, các đốt lá mầm và đỉnh sinh trưởng rễ non đã hình thành sau khi được nuôi cấy 3 tuần trên môi trường 1/2 MS có bổ sung 0,1-25 mg/l 2,4-D, 400 mg/l glutamine, và 6% sucrose. Sau 6 tuần nuôi cấy, khoảng 40 đến 50% các phôi hợp tử đã phát sinh phôi vô tính, và mỗi phôi này lại tạo ra hàng trăm phôi vô tính trong vòng 5 tháng nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 2,4-D. Các phôi vô tính trưởng thành trên môi trường 1/2 MS, đã nảy mầm trong môi trường MS có chứa 5 mg/l kinetin, và phát triển đủ lớn để nuôi cấy bên ngoài trên môi trường MS. Các chồi được ra rễ trên vermiculite và đem trồng trong nhà kính.

Navin, Sharma và Seema (1990) đã cho nảy mầm thành công phôi hợp tử của *Carica papaya* L. trong điều kiện *in vitro* trên môi trường MS có bổ sung 2% than hoạt tính. Các ảnh hưởng của ánh sáng, nhiệt độ, sucrose và nồng độ các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy lên sự sinh trưởng và phát triển của các phôi đã được khảo sát. Nồng độ các chất dinh dưỡng trong môi trường không có ảnh hưởng lên sự sinh trưởng và phát triển của phôi. Các phôi đã nảy mầm của các giống đu đủ khác nhau được nuôi cấy chung với dịch huyền phù bào tử được phân lập của nấm *Phytophthora palmivora*. Trong phép phân tích phương sai, giữa các giống đu đủ khác nhau, sự phân lập và sự khác biệt chủng giống nấm đã có sự tương tác khác biệt đáng kể. Các kết quả

được so sánh với việc gây nhiễm cây con ở giai đoạn sinh trưởng trong vườn ươm cho thấy sự gây nhiễm phôi có thể là phương pháp hữu hiệu để kiểm tra tính kháng ở giai đoạn sớm trong quá trình phát triển của cây đu đủ.

Reuveni (1990) đã nhân giống *in vitro* các cây đu đủ khác gốc thành công. Việc thiết lập quy trình nuôi cấy đạt tỷ lệ thành công cao đã được ghi nhận khi các mẫu cây chồi nách được lấy từ các chồi bên của các cành giâm đu đủ trồng trong nhà kính. Sự nhiễm nấm bệnh được loại trừ bằng cách lacc mẫu cây chồi 24 h trong 300 mg/l rifampicin hoặc bằng cách pha kết hợp rifampicin ở nồng độ 50 mg/l vào môi trường nuôi cấy. Môi trường cơ bản MS có bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA được sử dụng để nuôi cấy và nhân mẫu. Việc bổ sung 160 mg/l adenine sulfate đã cải thiện sự tăng trưởng chồi và nhân chồi. Giai đoạn dẫn chồi trên môi trường MS có bổ sung 1,0mg/l kinetin và 0,05 mg/l NAA là cần thiết trước khi ra rễ. Sự ra rễ thu được với tỷ lệ cao trên môi trường MS1/2 (1/2 đa lượng) có bổ sung 1,0mg/l IBA. Kết quả cuối cùng đã thu được các dòng cây đu đủ thương phẩm thông qua quy trình này.

Miller và Drew (1990) đã nghiên cứu ảnh hưởng của các loại mẫu cây lên sự nhân giống *in vitro* của cây đu đủ *Carica papaya* L. Ba loại mẫu cây đu đủ (các cây con nguyên vẹn, các cây con bị loại bỏ đỉnh ngọn, hoặc các cây con bị loại bỏ rễ) được nuôi cấy trên môi trường có hoặc không bổ sung 2 μ M BAP và 0,5 μ M NAA. Sự tăng trưởng tốt nhất của các chồi bên xảy ra trong sự có mặt của các hormone ngoại sinh, trên các cây đã loại bỏ phần đỉnh chồi nhưng còn rễ nguyên vẹn. Sự có mặt của rễ đã giúp gia tăng số lượng chồi bên tạo thành, bất chấp sự có hay không có đỉnh chồi. Sự khởi tạo rễ trên các chồi bên thu được đã giảm đáng kể ($P < 0.01$) khi chiều dài chồi < 5 mm. Các chồi đã ra rễ phát triển nhanh chóng thành các cây con có ưu thế ngọn trước khi cấy chuyển sang môi trường nhân chồi. Quy trình này đã tạo ra một kỹ thuật mà có thể sản xuất 10.000 cành giâm *in vitro* từ một cây con trong 1 năm, và cây không bị biến đổi về mặt di truyền.

Mousumi (1994) đã nuôi cấy mô sẹo và sản xuất cây con ở giống đu đủ *Carica papaya* Var. Honey Dew. Nhằm phát triển các kỹ thuật để sản xuất và tái sinh mô sẹo hiệu quả ở *Carica papaya* Var. Honey Dew, các mẫu cây TCL cuống lá, rễ và thân từ các cây con *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 2,0 mg/l IBA và 0,5 mg/l BAP. Việc sử dụng các cây con sinh trưởng ở điều kiện *in vitro* làm nguồn mẫu cấy đã giúp tránh việc nhiễm nấm khuẩn thông thường trong nuôi cấy đu đủ. Tạo mô sẹo đạt cao nhất ở các mẫu cây rễ nuôi cấy trên môi trường MS biến đổi. Sự tái sinh chồi là cao nhất ở các mô sẹo nguồn gốc từ rễ đã phát triển trong môi trường MS biến đổi có bổ sung 0,5 mg/l IBA và 1-2 mg/l Kinetin. Nghiên cứu giải phẫu mô cho thấy các đỉnh chồi có nguồn gốc từ các lớp tế bào ngoại vi của mô sẹo. Mỗi chồi tái sinh từ mô sẹo được cấy chuyển trên nhiều môi trường. Sự tạo rễ được cảm ứng ở tất cả các chồi đã xử lý trong môi trường 1/2MS biến đổi có chứa 2 mg/l IBA và các chồi đã ra rễ được chuyển ra trồng đồng ruộng thành công.

Jordan và Velozo (1996) đã cải tiến khả năng phát sinh phôi vô tính ở đu đủ vùng cao bằng nuôi cấy huyền phù tế bào. Các đỉnh chồi nách của các cây đu đủ 3 năm

tuổi đã cho trái thuộc giống *Carica pubescens* Lenn et Koch (đu đủ vùng cao) trồng trong nhà kính được nuôi cấy trên môi trường N-N (Nitsch and Nitsch, 1969) có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau (NAA và IAA phối hợp với Zeatin, BA, Kinetin và TDZ. Các mẫu cây đã có đáp ứng trong vòng 2-3 tháng; cụ thể là, có sự nảy chồi của các chồi nách tạo thành trước, chồi đã đâm nhánh thành cụm đa chồi, bên cạnh đó có sự tạo thành mô sẹo ở phần gốc của mẫu cây và sự phát sinh phôi vô tính từ các cụm mô sẹo ban đầu. Sự phát sinh phôi vô tính thường xảy ra ở hầu hết các nghiệm thức sử dụng phối hợp các chất điều hòa sinh trưởng, ngoại trừ trường hợp với TDZ không cho đáp ứng. Hiệu suất tạo phôi vô tính cao hơn có thể đạt được bằng cách nuôi cấy huyền phù. Sự phát sinh phôi vô tính được thúc đẩy bởi việc xảy ra sự phát sinh phôi ngẫu nhiên ở các phôi đơn như các cụm phôi cầu. Điều này được quan sát thấy ở các huyền phù tế bào ban đầu phát triển trong môi trường WPM (Wood Plant Medium) có bổ sung 2,4-D, hoặc phối hợp với BA hoặc Zeatin, trong 6 ngày, sau đó duy trì nuôi cấy trong môi trường không có chất điều hòa sinh trưởng ở điều kiện nuôi cấy lắc (50 vòng/phút) trên máy lắc trong vòng 3 tháng. Các tế bào đơn đã phát triển trên môi trường không có 2,4-D đã không khởi tạo phôi vô tính và không phân biệt hóa tạo thành mô sẹo. Các cây con đã hồi phục sau khi được chuyển các phôi trưởng thành từ nuôi cấy huyền phù tế bào vào các bình thí nghiệm Magenta. Trong lần cấy chuyển thứ hai, sự phát sinh phôi bất định đã xảy ra tự phát ở các cụm phôi ở giai đoạn phôi cầu dưới cùng điều kiện sinh trưởng, đã tạo ra phôi với số lượng lớn. Các điều kiện nuôi cấy đã mô tả ở trên cho phép khởi đầu việc tạo thành một số lượng lớn phôi vô tính trực tiếp từ các huyền phù tế bào thông qua sự phát sinh phôi ngoại lai (ngẫu sinh) và sự tạo phôi gián tiếp từ mô sẹo trên các chồi nách.

Tsong và cộng sự (2000) đã nâng cao hiệu suất ra rễ của các cây đu đủ con từ vi nhân giống. Một quy trình vi nhân giống chi phí thấp để tạo ra các hệ thống rễ chất lượng cao vốn là cách dễ dàng và tiết kiệm để cây thích nghi là cần thiết đối với các cây đu đủ được vi nhân giống ở quy mô lớn. Trong nghiên cứu này, các chồi riêng biệt (>0.5 cm) có 2-3 lá thu từ các cụm chồi đu đủ *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS có chứa 2,5 μ M IBA trong điều kiện tối 1 tuần để cảm ứng ra rễ. Sau đó chúng được chuyển sang môi trường 1/2 MS có agar hoặc vermiculite, ở điều kiện thông khí hoặc không thông khí để rễ phát triển. Tỷ lệ % ra rễ của chồi nuôi cấy trong 2 tuần trên môi trường vermiculite có thông khí là 94.5%, so với trong môi trường vermiculite không thông khí là 90.0%, môi trường agar có thông khí là 71.1%, và môi trường agar không thông khí là 62.2%. Các chồi có rễ được thuần hóa trên môi trường có vermiculite trong 1 tuần và sau đó ở điều kiện được che chắn 2 tuần trong phòng nuôi có kiểm soát nhiệt độ (28⁰C). Tỷ lệ sống sót của các cây con là 94.5% ở nghiệm thức sử dụng vermiculite có thông khí, nghiệm thức vermiculite không thông khí là 87.8%, môi trường agar có thông khí là 42.2%, và môi trường agar không thông khí là 35.6%. Như vậy, sự cảm ứng tạo rễ trong môi trường agar với nồng độ IBA thấp theo sau là sự phát triển rễ trong môi trường 1/2MS có chứa vermiculite dưới điều kiện có thông khí đã cho kết quả cao trong việc ra rễ ở các chồi đu đủ *in vitro*.

Bhattacharya và Khuspe (2001) đã nghiên cứu ảnh hưởng của các phương pháp khác nhau trong việc xử lý trước khi gieo hạt của 10 giống đu đủ được canh tác phổ biến. Các hạt nguyên vẹn, các phôi được tách ra, các hạt được tách đôi và các phôi tách đôi được nảy mầm trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, sự ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng như thidiazuron (TDZ), 6-benzyl amino purine (BAP), naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichloro phenoxyacetic acid (2,4-D) và 2,4,5-trichloro phenoxyacetic acid (2,4,5-T) ở các nồng độ khác nhau, nhiệt độ và ánh sáng cũng đã được khảo sát. Với nghiệm thức không tiền xử lý, tỷ lệ % nảy mầm trong đất có sự thay đổi giữa 3 và 71% (trung bình 40.2%). Ngâm 24 h trong 200 ppm GA₃ đã làm gia tăng sự nảy mầm đến 12–79% (trung bình 56.5%). Sự khác biệt giữa sự nảy mầm *in vivo* và *in vitro* được quan sát thấy thấp nhất ở giống Honey Dew (6.3%) và cao nhất ở giống Disco (68%). Tóm lại, các điều kiện nuôi cấy *in vitro* đã giúp gia tăng tỉ lệ % hạt nảy mầm ở tất cả các giống đu đủ nghiên cứu. Tỷ lệ nảy mầm cao nhất trung bình 95.5% đã được ghi nhận sau 7–8 ngày đối với các phôi được tách đôi khi nuôi cấy trong điều kiện sáng ở nhiệt độ 30°C trên môi trường MS có bổ sung TDZ (1,0 µM/l).

Bhattacharya và cộng sự (2003) đã tái sinh chồi thành công từ các mẫu cây phôi non ở cây đu đủ. Một phương pháp đơn giản và nhanh chóng để tạo nhiều chồi *in vitro* từ các mẫu cây trụ phôi non của các giống đu đủ *Carica papaya* L. cvs. Honey Dew, Washington và Co2 đã được mô tả. Sự tái sinh chồi đã thu được bằng cách nuôi cấy các mẫu cây trên môi trường MS biến đổi có bổ sung hoặc TDZ ở nồng độ 0,45–22,7 µM hoặc sử dụng phối hợp BAP nồng độ 0,2 - 8,84 µM và NAA ở nồng độ 0,5–2,64 µM. Tần số tái sinh chồi cao nhất xảy ra trên môi trường có bổ sung 2,25 µM TDZ hoặc môi trường có bổ sung BAP (4,4 µM) phối hợp với NAA (0,5 µM). Thành phần của môi trường cơ bản đã ảnh hưởng đến tần suất khởi tạo chồi. Các chồi bị ức chế tái sinh từ nồng độ 4,5 µM và các nồng độ cao hơn của TDZ. Tuy nhiên, các chồi có thể được kéo dài bằng cách chuyển sang môi trường có chứa 5,7 µM GA₃. Sự ra rễ của các chồi tái sinh được ghi nhận với sự có mặt của IBA ở nồng độ 4,92–19,68 µM, tuy nhiên, sự đáp ứng kém nhất là ở môi trường có 14,7 µM IBA. Các cây đã ra rễ thuần dưỡng và chuyển ra trồng chậu.

Wilna (2004) đã nghiên cứu phát triển một quy trình nhân nhanh *in vitro* ở cây đu đủ. Các phương pháp nuôi cấy mô bằng cách sử dụng các đỉnh chồi của những cây đu đủ ở giai đoạn vườn ươm và giai đoạn trồng ngoài đồng của giống đu đủ *Carica papaya* L. cv. Sunrise Solo đã được khảo sát. Các mẫu cây được nuôi trên môi trường cơ bản MT cải tiến (Murashige and Tucker, 1969) với việc giảm 1/2 nồng độ các muối khoáng vô cơ, sử dụng 0,5 mg/l BA và 0,2 mg/l NAA. Các mẫu cây đã tái sinh được chuyển đến môi trường nhân nhanh là môi trường cơ bản MT (1969), có chứa 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA đã giúp gia tăng sự nhân chồi. Sự ra rễ được cảm ứng với tần số cao bằng cách cấy chuyển các cây con lên môi trường có chứa IBA phối hợp với NAA.

Nguyễn Thị Nhẫn (2004) đã áp dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* để nhân nhanh cây đu đủ *Carica papaya* L. bằng cách sử dụng các mẫu cây là đỉnh chồi non. Các mẫu cây được khử trùng bề mặt bằng cách sử dụng 15% Ca(OCl)₂ trong 15 phút và

0,1% HgCl_2 trong 3 phút (khử trùng kép) Các đỉnh chồi non được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung αNAA (0,2 mg/l), BA (0,5 mg/l) và kinetin (0,5 mg/l) để cảm ứng nhân chồi. Sau 3-4 tuần, các đỉnh chồi phát triển và tạo các cụm đa chồi, sau đó các cụm chồi này được cấy chuyển. Môi trường 1/2MS có chứa 0,5 g/l than hoạt tính được sử dụng để tái sinh cây con hoàn chỉnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường MS + αNAA (0,2 mg/l) + BA (0,5 mg/l) và nước dừa (5%) là tối ưu nhất cho quá trình nhân chồi. Sự phối trộn giữa đất và tro trấu với tỉ lệ 1:1 là vật liệu giá thể thích hợp để chuyển các cây đu đủ con ra vườn ươm.

Fredah và cộng sự (2006) đã xác định được giới tính và mức bội thể của các cây đu đủ (*Carica papaya* L.) từ nuôi cấy túi phấn. Để cải thiện hiệu quả của việc nuôi cấy túi phấn đu đủ, Fredah K. Rimberia và cộng sự đã nghiên cứu: (1) Các điều kiện môi trường có chứa các hormon sinh trưởng để cảm ứng các thể đơn bội hoặc đơn bội kép (lượng bội thuận); (2) Xác định được giới tính của các cây con tạo ra bằng cách sử dụng chỉ thị phân tử DNA đặc hiệu giới tính (sex-specific DNA molecular marker); và (3) Đánh giá mức độ bội thể của các cây này bằng phân tích flow cytometry hàm lượng DNA. Các túi phấn với một hỗn hợp các tiểu bào tử đơn nhân, nguyên phân và bào tử hai nhân đã được thu nhận từ cây đu đủ đực, và nuôi cấy trên môi trường MS với các nồng độ khác nhau của CPPU và NAA. Tỷ lệ cảm ứng tạo phôi 13,8% đã đạt được trên môi trường MS với 0,01 mg/l CPPU và 0,1 mg/l NAA. Các phôi đã cảm ứng được cấy chuyển trên môi trường có bổ sung 0.0025 mg/l CPPU. Sự ra rễ của các chồi đã phát triển được thúc đẩy bởi việc xử lý phần gốc của chồi với 1500 mg/l IBA trong dung dịch ethanol 50% trong khoảng 10 giây. Tất cả các cây con thu được từ phôi (27 cây) được xác định là cây cái, điều này cho thấy chúng được bắt nguồn từ các tiểu bào tử - microspore. Ngoài ra, 26 cây được xác định là dạng tam bội và một cây là dạng tứ bội. Fredah K. Rimberia và cộng sự cũng quan sát thấy một loạt các biến dị hình thái (ví dụ như chiều cao cây và kích cỡ trái) trong số các cây đã tạo ra. Dựa trên các kết quả có được cho thấy giá trị đầy tiềm năng của các kỹ thuật nuôi cấy túi phấn trong việc chọn tạo giống đu đủ.

Phần 4: NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

4.1. Nội dung đề tài

Đề tài có 4 nội dung:

-Nội dung 1: Khảo sát hiện trạng sản xuất đu đủ, tuyển chọn và thu thập các cây đu đủ lưỡng tính có năng suất cao, phẩm chất tốt làm nguồn giống gốc để tiến hành nghiên cứu quy trình nhân nhanh.

-Nội dung 2: Nghiên cứu quy trình nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro* trong sản xuất cây giống đu đủ lưỡng tính, sạch bệnh với hệ số nhân giống cao.

-Nội dung 3: Nghiên cứu trồng thử nghiệm cây giống đu đủ lưỡng tính sạch bệnh được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*.

-Nội dung 4: Đào tạo kỹ thuật viên nhân giống cây đu đủ lưỡng tính bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*.

4.2. Phương pháp nghiên cứu

4.2.1. Nội dung 1: Khảo sát hiện trạng sản xuất đu đủ, tuyển chọn và thu thập các cây lưỡng tính năng suất cao, phẩm chất tốt phục vụ nghiên cứu nhân giống *in vitro*

4.2.1.1. Thời gian: Năm 2009

4.2.1.2. Địa điểm: Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu

4.2.1.3. Phương pháp:

-Thực hiện phương pháp thu thập thông tin theo phương pháp truyền thống, kết hợp phỏng vấn nhanh những hộ nông dân đại diện theo kỹ thuật đánh giá nhanh nông thôn - RRA (Rapid Rural Appraisal) bằng phiếu soạn sẵn, kết hợp tham quan khảo sát trực tiếp để đánh giá hiện trạng sản xuất. Số lượng phiếu điều tra là 240 phiếu. Nội dung điều tra gồm:

+Quy mô diện tích canh tác

+Kỹ thuật trồng và chăm sóc

+Năng suất, chi phí đầu tư và hiệu quả kinh tế

-Điều tra giống/cá thể: Tiến hành điều tra tất cả các giống/ cá thể đu đủ đang canh tác tại khu vực, bao gồm các nội dung:

+Mức độ phổ biến của từng giống

+Mức độ nhiễm sâu bệnh hại

+Năng suất, phẩm chất của từng giống

+Đề xuất giống phù hợp cho nhân giống *in vitro* và canh tác ở Đông Nam bộ.

4.2.2. Nội dung 2: Nghiên cứu quy trình nhân giống in vitro

4.2.2.1. Hoạt động 1: Giám định bệnh virus

-Thời gian: Năm 2009

-Địa điểm: Mẫu được thu thập tại Đồng Nai và Bà Rịa Vũng Tàu, đem về giám định bệnh tại Phòng Lab Sinh học Phân tử - Bộ môn Công nghệ sinh học ứng dụng - Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam.

-Vật liệu: Đỉnh sinh trưởng từ cây trưởng thành đại diện cho các giống đang được trồng trong khu vực.

-Phương pháp: Tiến hành kiểm tra giám định bệnh đốm vòng và bệnh khảm do virus bằng phương pháp Test ELISA (Beijesbergen và Van der Hulst, 1980).

4.2.2.2. Hoạt động 2: Nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp in vitro

a)Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của một số môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo mô sẹo

-Thời gian: Năm 2009-2010

-Địa điểm: Phòng thí nghiệm Đại học khoa học tự nhiên và Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Giống đu đủ Ruột vàng. Lấy lá thứ 2 (tính từ dưới lên) của chồi mọc từ thân chính của cây trưởng thành đang cho quả đã xác định là lưỡng tính và được test cho kết quả sạch bệnh đốm vòng và bệnh khảm.

-Phương pháp:

+Môi trường nuôi cấy được sử dụng là môi trường dinh dưỡng khoáng Murashige và Skoog (1962). Môi trường được điều chỉnh pH = $5,8 \pm 0,1$ bằng NaOH 1N và HCl 1N, sau đó hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm, 121°C trong thời gian 20 phút.

+Điều kiện phòng thí nghiệm: Nuôi cấy trong điều kiện tối hoàn toàn; nhiệt độ phòng: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; ẩm độ trung bình: 75 - 80%.

+Bố trí thí nghiệm: Theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 8 nghiệm thức, 6 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức, mỗi lần lặp lại gồm 5 bình nuôi cấy, mỗi bình 2 mẫu cấy.

Bảng 1: Các nghiệm thức của thí nghiệm

Nghiệm thức	Công thức chất điều hòa sinh trưởng bổ sung với MS (*)		
	BAP (mg/lít)	2,4D (mg/lít)	NAA (mg/lít)
Nghiệm thức 1 (Đ/C)	-	-	-
Nghiệm thức 2	0,02	-	-
Nghiệm thức 3	0,02	0,5	-
Nghiệm thức 4	0,02	1	-
Nghiệm thức 5	0,02	2	-

Nghiệm thức 6	0,02	-	0,5
Nghiệm thức 7	0,02	-	1
Nghiệm thức 8	0,02	-	2

Ghi chú: (*) Môi trường MS ½ có bổ sung 30 g/l sucrose + 400 mg/l glutamine + 8g/l agar; (-) không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng.

+Cách tiến hành: Các mảnh lá có chứa gân lá chính có kích thước 4mm x 6mm từ chồi trên thân cây cây đủ trưởng thành đã cho quả, lấy cặp lá thứ 2 tính từ dưới lên. Rửa lá bằng xà phòng và khử trùng kép bằng $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 15% trong 15 phút và HgCl_2 0,1% trong 3 phút trước khi cho vào tủ cấy. Thay môi trường bằng cách cấy chuyển sang môi trường tương tự 2 tuần 1 lần.

-Chỉ tiêu theo dõi:

Sau 4 tuần nuôi cấy theo dõi:

- +Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo
- +Tỷ lệ phần trăm số mẫu lá cảm ứng tạo mô sẹo
- +Đường kính mô sẹo
- +Loại mô sẹo, màu sắc mô sẹo.

b)Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số công thức môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo phôi soma

-Thời gian: Năm 2009-2010

-Địa điểm: Phòng thí nghiệm Đại học khoa học tự nhiên và Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Mẫu mô sẹo được hình thành tốt nhất ở thí nghiệm 2.

-Phương pháp:

+Môi trường cơ bản Murashige và Skoog (1962), được điều chỉnh pH = 5,8 ± 0,1 bằng NaOH 1N và HCl 1N, sau đó hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm, 121 °C trong thời gian 20 phút.

+Điều kiện phòng thí nghiệm: Thời gian chiếu sáng 16 giờ/ ngày. Cường độ sáng 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Nhiệt độ phòng: 25 ± 2 °C; ẩm độ trung bình: 75 - 80%.

+Bố trí thí nghiệm: Theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 nghiệm thức, 6 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại gồm 5 bình nuôi cấy, mỗi bình chứa 2 mẫu cấy.

Bảng 2: Các nghiệm thức của thí nghiệm

Nghiệm thức	Công thức chất điều hòa sinh trưởng bổ sung với MS (*)	
	BAP (mg/lít)	NAA (mg/lít)
Nghiệm thức 1 (Đ/C)	-	-
Nghiệm thức 2	0,05	-

Nghiệm thức 3	0,05	0,02
Nghiệm thức 4	0,05	0,1
Nghiệm thức 5	0,05	0,5

Ghi chú: () Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose + 8 g/l agar; (-) không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng.*

-Chỉ tiêu theo dõi:

Sau 1 tháng theo dõi các chỉ tiêu:

+Tỉ lệ (%) mẫu mô sẹo tạo phôi soma

+Số phôi trung bình trên một mẫu

+Quan sát các giai đoạn phôi: hình cầu, hình tim, hình thủy lô và phôi ở giai đoạn tử diệp

c)Thí nghiệm 3: Khảo sát các công thức và trạng thái môi trường khác nhau lên sự nảy mầm của phôi soma

-Thời gian: Năm 2009-2010

-Địa điểm: Phòng thí nghiệm Đại học khoa học tự nhiên và Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Mẫu phôi soma đã hình thành có được từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm 2.

-Phương pháp:

+Môi trường cơ bản Murashige và Skoog (1962), được điều chỉnh pH = 5,8 ± 0,1 bằng NaOH 1N và HCl 1N, sau đó hấp khử trùng bằng autoclave ở 1 atm, 121⁰C trong thời gian 20 phút.

+Điều kiện phòng thí nghiệm: Thời gian chiếu sáng 16 giờ/ ngày. Cường độ sáng 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Nhiệt độ phòng: 25 ± 2⁰C; ẩm độ trung bình: 75 - 80%.

+Bố trí thí nghiệm: Theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 9 nghiệm thức, 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức, mỗi lần lặp lại gồm 5 bình nuôi cấy, mỗi bình chứa 2 mẫu cấy.

Bảng 3: Các nghiệm thức của thí nghiệm

Nghiệm thức	Trạng thái môi trường	Bổ sung chất ĐHST với MS (*)
Nghiệm thức 1	Đặc	-
Nghiệm thức 2	Đặc	0,5mg/lít BAP + 0,02g/lít NAA
Nghiệm thức 3	Đặc	10% nước dừa
Nghiệm thức 4	Lỏng tĩnh	-
Nghiệm thức 5	Lỏng tĩnh	0,5mg/lít BAP + 0,02g/lít NAA
Nghiệm thức 6	Lỏng tĩnh	10% nước dừa
Nghiệm thức 7	Lỏng lắc	-

Nghiệm thức 8	Lỏng lẻo	0,5mg/lít BAP + 0,02g/lít NAA
Nghiệm thức 9	Lỏng lẻo	10% nước dừa

Ghi chú: (*) Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose; (-) không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

-Chỉ tiêu theo dõi:

Sau 2 tuần theo dõi:

+Tỷ lệ (%) phôi nảy mầm (có cả chồi và rễ);

+Tỷ lệ (%) phôi dị dạng.

d)Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng một số công thức môi trường lên khả năng phát triển phôi (giai đoạn sau nảy mầm đến thành cây hoàn chỉnh)

-Thời gian: Năm 2009-2010

-Địa điểm: Phòng thí nghiệm Đại học khoa học tự nhiên và Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Phôi soma nảy mầm bình thường có được từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm 3.

-Phương pháp:

+Môi trường cơ bản Murashige và Skoog (1962), được điều chỉnh pH = $5,8 \pm 0,1$ bằng NaOH 1N và HCl 1N, sau đó hấp khử trùng bằng nồi hấp ở 1 atm, 121°C trong thời gian 20 phút.

+Điều kiện phòng thí nghiệm: Thời gian chiếu sáng 16 giờ/ ngày. Cường độ sáng $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Nhiệt độ phòng: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; ẩm độ trung bình: 75 - 80%.

+Bố trí thí nghiệm: Theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 9 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại gồm 5 bình nuôi cấy, mỗi bình chứa 2 mẫu cấy.

Bảng 4: Các nghiệm thức của thí nghiệm

Nghiệm thức	Trạng thái môi trường	Bổ sung chất ĐHST với MS (*)
Nghiệm thức 1	Đặc	-
Nghiệm thức 2	Đặc	0,5mg/lít BAP + 0,02g/lít NAA
Nghiệm thức 3	Đặc	0,5mg/lít GA ₃
Nghiệm thức 7	Lỏng lẻo	-
Nghiệm thức 8	Lỏng lẻo	0,5mg/lít BAP + 0,02g/lít NAA
Nghiệm thức 9	Lỏng lẻo	0,5mg/lít GA ₃

Ghi chú: (*) Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose; (-) không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

-Chỉ tiêu theo dõi:

Sau 1 tháng theo dõi: Tỷ lệ (%) cây con phát triển hoàn chỉnh.

4.2.2.3. Hoạt động 3: Khảo sát điều kiện thuần dưỡng cây con in vitro và thành phần môi trường giá thể trồng cây

a) Thí nghiệm 1: Thuần dưỡng cây con

-Thời gian: Năm 2010

-Địa điểm: Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Cây in vitro hoàn chỉnh được chọn ra từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm 4 ở hoạt động 2.

-Phương pháp:

+Điều kiện thí nghiệm: Vườn ươm có lưới che màu đen 50% ánh sáng. Xung quanh được gió bằng nylon trắng. Nhà dưỡng cây xung quanh kín và được che 100% ánh sáng.

+Bố trí thí nghiệm: Theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 lô, mỗi lô 100 cây.

+Cách tiến hành: Các cây đủ tuổi sinh trưởng tốt trong điều kiện in vitro được tuyển chọn và tiến hành thuần dưỡng trước khi chuyển ra vườn ươm. Cây con được thuần dưỡng giai đoạn đầu bằng cách giữ nguyên trong bình thí nghiệm và chuyển từ phòng nuôi ra điều kiện bên ngoài nhà dưỡng cây được che 100% ánh sáng phía trên và chắn gió xung quanh. Để cây thích nghi nhiệt độ cao bên ngoài trong 3 ngày sau đó tiến hành mở nắp bình, tách cây ra khỏi môi trường nuôi cấy, rửa sạch rồi đem trồng vào bầu ươm. Nghiệm thức đối chứng tiến hành chuyển trực tiếp cây con từ điều kiện nuôi cấy in vitro ra bầu ươm ở vườn ươm được che 50% ánh sáng.

-Các chỉ tiêu theo dõi đánh giá:

+Tỉ lệ sống sót của cây con sau giai đoạn thuần dưỡng.

+Khả năng thích nghi của cây con sau khi thuần dưỡng.

b) Thí nghiệm 2: Khảo sát thành phần giá thể trồng cây con giai đoạn vườn ươm

-Thời gian: Năm 2010

-Địa điểm: Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Cây in vitro hoàn chỉnh được chọn ra từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm 1.

-Phương pháp:

+Điều kiện thí nghiệm: Vườn ươm có lưới che màu đen 50% ánh sáng. Xung quanh được gió bằng nylon trắng. Nhà dưỡng cây xung quanh kín và được che 100% ánh sáng. Nhiệt độ trung bình ở vườn ươm 25-35⁰C; Ẩm độ 65-85%.

+Bố trí thí nghiệm: Theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên 4 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 20 cây.

Bảng 5: Các nghiệm thức của thí nghiệm

Nghiem thức	Tỷ lệ Đất:Cát:Tro trấu:Phân hữu cơ
Nghiem thức 1 (Đ/C)	1:0:0:0
Nghiem thức 2	1:1:1:1
Nghiem thức 3	2:1:1:2
Nghiem thức 4	2:1:2:1

+Các cây con được chăm sóc trong nhà lưới có độ chắn sáng 50% với chế độ tưới phun 2 lần/ngày.

-Các chỉ tiêu theo dõi đánh giá:

+Tỷ lệ sống sót của cây con sau 2, 4 và 6 tuần chuyển ra trồng vườn ươm.

+Đánh giá sức sinh trưởng của cây con ngoài vườn ươm: Chiều cao thân, chiều dài rễ, số lá/cây, số rễ/cây sau 1 tháng và 2 tháng trồng trong nhà lưới.

+Đánh giá tình trạng nhiễm bệnh hại do nấm, virus theo các cấp độ khác nhau: (-) hoàn toàn không bị bệnh hại; (+) số cây bị bệnh hại <5% tổng số cây con/giống; (++) số cây con/giống bị bệnh hại chiếm từ 5% đến <25%; (+++) số cây con/giống bị bệnh hại chiếm 25% - 50%; (+++++) số cây/giống bị bệnh hại chiếm >50%.

4.2.3 Nội dung 3: Nghiên cứu trồng thử nghiệm cây giống đủ đủ lượng tính sạch bệnh được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô in vitro.

-Thời gian: Năm 2010-2011

-Địa điểm: Trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ.

-Vật liệu: Cây in vitro sản xuất từ quy trình được đề xuất từ nội dung 2.

-Phương pháp:

+Phương pháp: Mô hình được chia thành 2 lô với diện tích tương đương nhau (0,2ha/lô), mỗi lô trồng 1 giống.

+Các biện pháp kỹ thuật áp dụng trên mô hình: Khoảng cách trồng là 2 x 2 m, tương đương mật độ 2500 cây/ha. Bón phân theo quy trình thâm canh đủ đủ của Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam. Phòng trừ sâu bệnh hại bằng phương pháp quản lý dịch hại tổng hợp. Không tỉa trái.

-Các chỉ tiêu theo dõi:

+Tỷ lệ chết sau trồng;

+Tăng trưởng chiều cao cây;

+Số lá/cây;

+Thời điểm ra hoa;

+Tỷ lệ ra hoa, đậu trái,

- +Sâu bệnh hại: tỷ lệ bệnh đốm vòng, khảm và nấm phytophthora, rệp sáp, nhện.
- +Kích cỡ quả (cm), trọng lượng trung bình quả (kg) và hình dạng quả khi đạt thành thục (quả chín).
- +Số lượng hạt/quả;
- +Đánh giá chất lượng trái khi chín: Kích thước khoang ruột quả, độ dày vỏ quả, màu sắc vỏ quả, màu sắc thịt trái, độ brix, hàm lượng đường tổng số, hương vị cảm quan.
- +Số trái trên cây; Năng suất thực thu.
- +Hiệu quả kinh tế.

4.2.4.Nội dung 4: Đào tạo kỹ thuật viên nhân giống cây đu đủ lưỡng tính bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*

- Đối tượng học viên: Cán bộ nông nghiệp ở các tỉnh miền Đông Nam bộ.
- Địa điểm: Tại trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ
- Quy mô: 1 lớp (10 người).
- Nội dung: Quy trình sản xuất cây đu đủ lưỡng tính trong điều kiện *in vitro*.
- Phương pháp: Sử dụng máy chiếu đa phương tiện, có lý thuyết, thực hành, tham quan thực tế, thảo luận, tổng kết. Giảng viên là những nhà chuyên môn có kinh nghiệm trong lĩnh vực nuôi cấy mô *in vitro* và cán bộ thực hiện đề tài này.

Phần 5: KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

5.1. Kết quả nghiên cứu khoa học

5.1.1. Nội dung 1: Khảo sát hiện trạng sản xuất đủ đủ, tuyển chọn và thu thập các cây lương tính năng suất cao, phẩm chất tốt phục vụ nghiên cứu nhân giống in vitro

5.1.1.1. Hiện trạng sản xuất đủ đủ ở Đông Nam bộ

a) Tình hình chung về sản xuất nông nghiệp ở 2 tỉnh điều tra

- Tỉnh Đồng Nai

Qua số liệu thống kê năm 2000 cho thấy, diện tích cây ăn quả trong toàn tỉnh là 25.995 ha, chiếm tỷ lệ 8,9% diện tích đất nông nghiệp. Huyện có diện tích cây ăn quả lớn nhất là huyện Thống Nhất (9.125,5 ha), các huyện còn lại có diện tích cây ăn quả khá cao, riêng thành phố Biên Hòa có diện tích thấp nhất là 138 ha.

Tỉnh có hơn 15 loại cây ăn quả hiện đang được trồng, trong đó có 6 loại cây được chú trọng phát triển nhiều nhất, trên qui mô diện tích lớn là: chuối, chôm chôm, xoài, măng cầu ta, nhãn và sầu riêng, các loại cây ăn quả còn lại phát triển trên qui mô diện tích nhỏ.

Mặc dù được coi là tỉnh có truyền thống trồng cây ăn quả trong khu vực Đông Nam bộ nhưng diện tích vườn trồng mới gia tăng vào những năm gần đây như: chôm chôm, mít, măng cầu ta, xoài, nhãn và sầu riêng, có tỷ lệ vườn trồng mới lần lượt là: 41,4%; 74,0%; 61,2%; 39,6%; 32,6%; 32%; 3%. Nếu so sánh trong 10 năm thì diện tích trồng cây ăn quả của tỉnh đã tăng lên đáng kể nhất là trong những năm 1999 – 2000. Xu thế này cho thấy việc trồng cây ăn quả trên địa bàn tỉnh ngày càng được chú trọng.

- Tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu

Qua số liệu thống kê năm 1999, diện tích cây ăn quả toàn tỉnh là 7.916,3 ha, huyện có diện tích cây ăn quả lớn bao gồm: Tân Thành, Xuyên Mộc và Thị xã Bà Rịa, huyện có diện tích cây ăn quả thấp nhất là huyện Côn Đảo. Có hơn 12 chủng loại cây ăn quả được trồng phổ biến nhất trên địa bàn tỉnh bao gồm: nhãn (1.944,6 ha), măng cầu ta (1.822,6 ha), xoài (778,5 ha). Những loại cây ăn quả khác như: chôm chôm, sầu riêng, sapôchê, thanh long và một số loại cây có múi cũng được trồng khá phổ biến. Nhìn chung diện tích trồng cây ăn quả trong tỉnh phân bố tương đối tập trung, phân bố gần đường giao thông, thuận lợi cho công tác chăm sóc cũng như vận chuyển và tiêu thụ sản phẩm.

Qua số liệu thống kê năm 1999 cho thấy, chủng loại cây ăn quả trên địa bàn tỉnh trong những năm gần đây gia tăng rất nhanh từ năm 1996 (4.881,69 ha) đến năm 1999 tăng lên 7.916,17 ha. Trong đó, một số chủng loại cây ăn quả năm 1999 có diện tích gia tăng rất nhanh so với năm 1996 như: Nhãn (tăng 217,6 %), xoài (tăng 85%), bưởi (tăng 47,1%), chôm chôm (26,6%) và chuối, bên cạnh đó, còn một số chủng loại cây ăn quả

có diện tích tăng rất ít hoặc có xu hướng giảm dần như: thơm, mít,... Đây là những loại cây được trồng trước đây chủ yếu để che phủ đất, ít được đầu tư chăm sóc nên hiệu quả kinh tế thấp.

Diện tích trồng cây đu đủ trên địa bàn 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu chưa được thống kê do diện tích trồng đu đủ nhỏ lẻ phân tán.

b) Hiện trạng canh tác cây đu đủ

❖ Hiện trạng vườn

- Loại hình canh tác và qui mô vườn trồng

Bảng 6: Loại hình canh tác và qui mô vườn trồng

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Loại hình canh tác đu đủ	
	Vườn tạp	25,00
	Trồng theo bờ ranh	32,50
	Trồng thuần	16,25
	Trồng xen với cây khác	26,25
	Cộng	100,00
2	Qui mô vườn trồng	Tỷ lệ %
	$\leq 0,2$ ha	42,50
	$> 0,2 - \leq 0,5$ ha	31,25
	$> 0,5 - \leq 1$ ha	13,75
	> 1 ha	12,50
	Cộng	100,00

Qua kết quả điều tra hiện trạng canh tác đu đủ tại 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa Vũng Tàu cho thấy phần lớn các nhà vườn trồng theo kiểu xen canh và bờ ranh chiếm đa số với tỷ lệ: trồng theo bờ ranh chiếm tỷ lệ cao (32,5%), trồng xen chiếm (26,25%). Qua nhận xét của nhà vườn trồng đu đủ canh tác theo kiểu trồng thuần nhiều vụ liên tiếp thường dễ bị nhiễm bệnh khảm nên họ đã rút kinh nghiệm bằng cách trồng xen với nhiều loại cây khác (như cà phê, tiêu, bắp, mít, chuối, dứa, xoài, điều, chôm chôm, Ớt và một số cây trồng khác) trong thời kỳ kiến thiết cơ bản hoặc trồng theo bờ ranh. Trồng thuần chiếm tỷ lệ thấp nhất (16,25%) với qui mô diện tích nhỏ từ 0,1 - 0,6 ha.

Qui mô diện tích vườn đu đủ khá nhỏ, vườn có diện tích $\leq 0,2$ ha chiếm (42,5%) vườn điều tra, vườn có diện tích từ $> 0,2 - \leq 0,5$ ha chiếm 31,25%, chỉ có 12,5% hộ điều tra có qui mô vườn > 1 ha và. Qua điều tra ghi nhận ý kiến của nhà vườn ta thấy nguyên nhân dẫn đến qui mô diện tích nhỏ lẻ là do tình trạng nhiễm bệnh khảm nặng. Bệnh này nông dân thường hay gọi là bệnh bạc đầu, hay bệnh chùn đọt, tác nhân do siêu vi khuẩn *Papaya Mosaic Virus* gây ra (theo Nguyễn Danh Vàn). Biện pháp phòng trừ bệnh nói trên bằng cách nhiều nhà vườn đã chặt bỏ cây bệnh hoặc trồng luân canh, trồng xen với cây trồng khác để ít bị nhiễm bệnh. Do đó ít có vườn nào trồng thuần với qui mô lớn, chủ yếu trồng xen, bờ ranh ít bị nhiễm bệnh hơn. Đây chính là nguyên nhân làm cho năng suất, chất lượng đu đủ ở vùng Đông Nam bộ giảm đáng kể.

-Tuổi vườn

Đa số các vườn đu đủ điều tra đang trong thời kỳ kinh doanh (từ 1 – 2 năm tuổi), còn đối với các vườn trồng mới hay trồng trên 2 năm chiếm tỷ lệ rất ít. Trồng các giống địa phương do dễ bị nhiễm bệnh khảm sau một vụ cho trái nên hầu hết các nhà vườn thường chặt bỏ khi đã bị nhiễm virus nặng sau hơn nhiều năm canh tác, do đó ít có vườn đu đủ nào canh tác duy trì trên nhiều năm.

-Loại đất, địa hình

Bảng 7: Loại đất, địa hình trồng

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Loại đất trồng	3,75
	- Đất xám	32,50
	- Đất đen	42,50
	- Đất đỏ Bazan	8,75
	- Đất sỏi côm	0,00
	- Đất đỏ vàng	12,50
	- Đất khác	100,00
	Cộng	
2	Địa hình đất trồng	61,25
	- Bằng phẳng	38,75
	- Đồi dốc	100,00
	Cộng	

Ở Đông Nam bộ, đu đủ trồng trên đất đỏ và đất đen chiếm tỷ lệ cao (42,5% và 32,5%) (bảng 4). Đất sỏi côm chiếm 8,75% chủ yếu tập trung ở Bà Rịa - Vũng Tàu, đất xám chiếm tỷ lệ thấp nhất 3,75%. Qua điều tra thu thập ý kiến nông dân cho rằng đất sỏi côm, đất đỏ và đất đen là loại đất thích hợp trồng đu đủ vì đất này giàu dinh dưỡng, thoát nước tốt nên cây sinh trưởng rất tốt cho năng suất cao.

Về địa hình: Phần lớn các vườn trồng đu đủ trên vùng đất bằng phẳng chiếm 61,25% tập trung ở các vườn trồng thuần, vườn trồng xen chủ yếu ở Bà Rịa - Vũng Tàu, còn lại đất đồi dốc chiếm 38,75% tập trung ở các vườn trồng xen, trồng bờ ranh chủ yếu ở Đồng Nai.

-Tình trạng nước tưới

Bảng 8: Tình trạng nước tưới và nguồn nước tưới

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Tình trạng nước tưới	
	-Không nước tưới	0,00
	-Thiếu nước tưới	0,00
	-Đủ nước tưới	100,00
	Cộng	100,00
2	Nguồn nước tưới	Tỷ lệ %

	-Từ nước mặt (sông, ao, hồ)	1,25
	-Từ nước ngầm (giếng)	97,50
	-Khác	1,25
	Cộng	100,00

Qua điều tra khảo sát các vùng trồng đu đủ ở Đồng Nai và Bà Rịa - Vũng Tàu hầu hết đều đủ nước tưới chiếm tỷ lệ 100% hộ, do đây là loại cây ăn quả có chu kỳ sinh trưởng, khai thác ngắn, cây cần nhiều nước để cho ra hoa đậu quả trong mùa khô mặc khác khả năng chịu hạn của nó rất kém. Đồng thời nguồn nước tưới cũng chủ yếu là nước ngầm (giếng) chiếm tỷ lệ cao 97,5%, còn lại 1,25% hộ tưới nước từ nguồn nước mặt. Đây là một thuận lợi cho việc mở rộng diện tích trồng đu đủ đạt năng suất cao.

-Năng suất thu hoạch

Bảng 9: Năng suất thu hoạch (tấn/ha)

STT	Năng suất thu hoạch (tấn/ha)	Tỷ lệ %
1	<10 tấn/ha	31,25
2	≥10 - <15 tấn/ha	22,50
3	≥15 - <20 tấn/ha	16,25
4	≥20 - <30 tấn/ha	11,25
5	≥30 - <40 tấn/ha	2,50
6	≥40 - <50 tấn/ha	12,50
7	≥50 - <60 tấn/ha	1,25
8	> 60 tấn/ha	2,50
	Cộng	100,00

Do hầu hết các vườn trồng đu đủ là vườn trồng xen, trồng bờ ranh và trồng với khoảng cách trồng xa, mặc khác đa số các nhà vườn canh tác theo kiểu quảng canh và tình hình sâu bệnh hại nhiều đặc biệt là bệnh khảm đã làm giảm năng suất đu đủ đáng kể. Năng suất đu đủ < 10 tấn/ha chiếm tỷ lệ cao 31,25%, kể đến là 22,5% vườn có năng suất từ >10 - ≤15 tấn/ha. Ngoài ra cũng có một số vườn đạt năng suất cao (≥40 - <50 tấn/ha chiếm tỷ lệ 12,5%, vườn đạt năng suất ≥50 tấn/ha chiếm tỷ lệ 3,75%). Những hộ đạt năng suất cao này là thuộc những hộ có kinh nghiệm nhiều trong việc trồng đu đủ lâu năm.

-Hiệu quả kinh tế

Bảng 10: Chi phí thực hiện trên 1 ha/năm (1.333 cây/ha)

Các khoản	Đơn vị tính	Số lượng	Đơn giá (đ)	Thành tiền (đ)
Thiết kế vườn	Sào	10	60.000	600.000
Trồng cây	Công	16	60.000	960.000
Bón phân + phun thuốc	Công	18	60.000	1.080.000
Tưới nước	Công	34	60.000	2.000.000
Làm cỏ	Công	14	60.000	840.000

Vật tư + phân bón + thuốc BVTV				10.008.000
Thu hoạch + thu dọn	Công	25	60.000	1.500.000
Tổng cộng				16.988.000

Ghi chú: 1 sào = 1000 m², Mật độ tính/ha là: 1333 cây/ha, với khoảng cách trồng (2,5 – 3 m).

Qua điều tra hầu hết các nhà vườn chủ yếu trồng xen, vườn tạp và trồng bờ ranh có khoảng cách trồng xa nên số cây/ ha rất thấp, đa số họ ít bón phân, chăm sóc nên thường đạt năng suất thấp trung bình thường ≤ 10 tấn/ha/năm. Do đó lợi nhuận của các vườn này thường thấp hơn nhiều so với các vườn trồng thuần. Tổng chi phí trên 1 ha/năm đối với vườn trồng thuần có khoảng cách trồng (2,5 – 3 m) là: 16.988.000đ/ha/năm. Tổng thu khoảng 29.992.500 đồng. Lãi khoảng 13.004.500đ/ha/năm.

❖ Kỹ thuật canh tác

-Khoảng cách trồng và kích thước hố trồng

Bảng 11: Khoảng cách trồng và kích thước hố trồng

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Khoảng cách cây trên hàng (m)	
	<2 m	1,25
	≥2 - <3 m	23,75
	≥3 - <4 m	28,75
	≥4 - <5 m	22,50
	≥5 - <6 m	21,25
	≥6 m	2,50
	Cộng	100,00
2	Khoảng cách giữa 2 hàng (m)	
	<3 m	7,50
	≥3 - <4 m	25,00
	≥4 - <5 m	30,00
	≥5 - <6 m	31,25
	≥6 m	6,25
	Cộng	100,00
3	Kích thước hố trồng (cm)	
	20 x 20 x 20	13,75
	30 x 30 x 30	52,50
	40 x 40 x 40	33,75
	Cộng	100,00

Qua điều tra cho thấy khoảng cách trồng đủ đủ biến động rất lớn từ từ 2 - 6 m. Khoảng cách trồng đủ đối với vườn trồng thuần khoảng cách trồng từ 2 - 3 m chiếm

tỷ lệ 23,75% hộ theo khoảng cách của (ông Nguyễn Danh Vàn), còn các vườn trồng xen, vườn tạp và vườn trồng theo bờ ranh có khoảng cách trồng xa hơn chủ yếu từ 4 - 6 m chiếm tỷ lệ 61,25%. So với kỹ thuật canh tác ở Brazil thì có sự khác biệt lớn về khoảng cách cây - cây trên hàng, hàng - hàng, đối với giống Golden có khoảng cách từ 1,8 - 3,6 m và từ 2,5 - 4 m đối với giống Tainung 01. Và có sự khác biệt nhau về kỹ thuật trồng đối với kỹ thuật ở Brazil thì họ trồng 3 cây một chỗ cách nhau khoảng 20 cm, sau khi cây phát triển khoảng 1 - 2 tháng tuổi chọn cây khỏe mạnh, sinh trưởng phát triển tốt giữ lại tiếp tục chăm sóc cho ra hoa đậu trái và loại bỏ hai cây sinh trưởng yếu hơn, với kỹ thuật canh tác này tạo điều kiện cho vườn thu hoạch đạt năng suất cao từ 200 - 300 tấn/ha như đã được nêu ở trên.

Hầu hết rẫy đu đủ là rẫy chùm, đâm ngang khi gặp điều kiện thuận lợi, nhưng mọc xuống sâu kém, rễ ăn cạn, phân bố tập trung chủ yếu trên tầng đất mặt từ 0 - 30 cm nên đa số các nhà vườn đều trồng cạn. Kích thước trồng (30 x 30 x 30) cm chiếm tỷ lệ cao 52,5%, kể đến là kích thước (40 x 40 x 40) cm chiếm tỷ lệ 33,75%.

-Kiểu trồng

Kiểu trồng đu đủ được các nhà vườn áp dụng ở vùng đất Đông Nam bộ là 100% hộ điều tra đều theo kiểu trồng bằng với mặt đất, vì đất trồng đu đủ tại tỉnh điều tra phần lớn là vùng đất có địa hình khá cao, thoát nước tốt. Qua điều tra cho thấy hầu hết các nhà vườn đều có kinh nghiệm chọn vùng đất thoát nước tốt để trồng đu đủ vì họ nhận thức được đu đủ là cây không chịu ngập úng. Do đây là vùng đất không thường xuyên ngập úng như khu vực ĐBSCL, mặc khác tại vùng Đông Nam bộ khó áp dụng biện pháp đào mương thoát nước trong mùa mưa nên chưa tìm thấy hộ nào có áp dụng vun mô, lên liếp hay xẻ rãnh thoát nước. Đặc điểm của vùng trồng đu đủ phần lớn là vùng bằng phẳng, mặc dù có đất đồi dốc nhưng với độ dốc nhẹ từ 3^0 - 5^0 chiếm tỷ lệ ít.

-Phòng trừ cỏ dại và tủ đất tại vùng rẫy cây

Bảng 12: Phòng trừ cỏ dại và tủ đất tại vùng rẫy cây

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Phòng trừ cỏ dại	
	Có	68,75
	Không có	31,25
	Cộng	100,00
2	Biện pháp phòng trừ	
	Thủ công (cuốc, nhô)	63,64
	Thuốc hóa học	23,64
	Cả hai	12,73
	Cộng	100,00
3	Tủ gốc tại vùng rẫy cây	
	Không tủ	95,00
	Có tủ	5,00
	Cộng	100,00

Khâu làm cỏ hay phòng trừ cỏ dại nhằm tạo điều kiện cho cây đu đủ sinh trưởng, phát triển tốt, giảm sự cạnh tranh dinh dưỡng cũng như hạn chế sâu bệnh hại. Chính vì vậy qua điều tra chỉ có 31,25% hộ là không phòng trừ cỏ dại chủ yếu là những hộ trồng theo bờ ranh nên ít quan tâm đến việc phòng trừ, còn lại 68,75% hộ điều tra có áp dụng phòng trừ cỏ dại cho cây đu đủ. Việc phòng trừ cỏ dại cho đu đủ chủ yếu là làm cỏ bằng tay (chiếm 63,64% hộ điều tra), do đu đủ là loại cây trồng rất mẫn cảm với thuốc trừ cỏ nhất là thuốc trừ cỏ 2,4 D.

Việc tủ gốc giữ ẩm trong mùa khô là biện pháp rất quan trọng giúp đất đủ ẩm để cây sinh trưởng, phát triển tốt. Đối với đu đủ là loại cây ăn quả có rễ ăn cạn, cây lại cần rất nhiều nước vào giai đoạn mùa khô. Tuy nhiên qua điều tra cho thấy chỉ có 5% hộ điều tra có áp dụng tủ gốc cho đu đủ và vật liệu tủ ở đây là rơm khô, cỏ khô. Trong khi đó tại các vùng trồng đu đủ ở Đồng bằng Sông Cửu Long thì nhà vườn rất chú trọng đến khâu kỹ thuật này, phần lớn các nhà vườn dùng màng phủ nông nghiệp để tủ gốc giúp giữ ẩm đất và hạn chế cỏ dại rất có hiệu quả, do đó kỹ thuật này rất cần áp dụng trong điều kiện mùa khô ở miền Đông Nam bộ.

-Tưới nước cho cây vào mùa khô và chu kỳ tưới

Bảng 13: Tưới nước cho cây vào mùa khô và chu kỳ tưới

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Tưới nước cho cây vào mùa khô	
	Theo chu kỳ đều đặn	50,00
	Thỉnh thoảng khi thấy đất khô	37,50
	Không tưới	12,50
	Cộng	100,00
2	Chu kỳ tưới nước	
	3 - 5 ngày/ lần	3,75
	5 - 7 ngày/lần	32,50
	7 - 10 ngày/lần	30,00
	>10 ngày/lần	21,25
	Không tưới	12,50
	Cộng	100,00

Trong mùa mưa không tưới nước đu đủ vẫn phát triển và cho trái bình thường nhưng trong mùa khô nhất là trong giai đoạn cây đang ra hoa kết trái nếu không tưới nước thì năng suất sẽ giảm đáng kể hoặc nếu đất quá khô nứt thì cây có thể bị chết. Mặc khác do lá lớn, diện tích thoát hơi nước nhiều mà bộ rễ lại không tương xứng. Do đó trong mùa khô muốn có năng suất cao cần phải cung cấp đầy đủ nước để cây tổng hợp chất dinh dưỡng nuôi trái. Chính vì vậy qua điều tra cho thấy chỉ có 12,5% hộ là không tưới (tập trung chủ yếu ở các hộ trồng bờ ranh từ vài cây đến vài chục cây). Còn lại là các hộ đều quyết định tưới nước cho cây trong mùa khô theo chu kỳ đều đặn hay thỉnh thoảng tưới khi thấy đất khô.

Đa số các nhà vườn đều trồng vào mùa mưa nên giai đoạn cây con thường ít hộ tưới. Trong giai đoạn cây trưởng thành cây rất cần nước để tỷ lệ ra hoa đậu trái cao nên số hộ quyết định tưới trong mùa khô chiếm tỷ lệ cao 87,5%, và chỉ có 12,5% số hộ không tưới, tỷ lệ này rơi vào những hộ trồng bờ ranh. Chu kỳ tưới trong giai đoạn này phổ biến nhất là 5 - 7 ngày/lần chiếm 32,5%.

-Tỉa trái:

Bảng 14: Kết quả điều tra về kỹ thuật tỉa trái

STT	Tỉa trái	Tỷ lệ %
1	Có	82,50
2	Không	17,50
	Cộng	100,00

Tỉa trái chủ yếu tỉa bỏ trái đèo, trái eo, trái nhỏ (đối với đu đủ lượng tính thường ra 2 – 3 trái/chùm) để trái phát triển đồng đều và nhằm tạo điều kiện tập trung dinh dưỡng nuôi những trái còn lại trên cây, giúp tăng năng suất. Do đó các hộ điều tra đều áp dụng tỉa trái chiếm tỷ 82,5%, còn lại 17,5% số hộ là không tỉa trái, tỷ lệ không tỉa trái này cũng nằm trong số những hộ trồng bờ ranh ít cây nên ít quan tâm chăm sóc kỹ. Kỹ thuật này được áp dụng rất phổ biến trên thế giới như kỹ thuật canh tác đu đủ ở Brazil mang lại năng suất cao từ (200 – 300 tấn/ha)cũng áp dụng kỹ thuật tỉa trái này.

-Bón phân cho đu đủ

Bảng 15: Bón phân hữu cơ cho đu đủ

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Bón phân hữu cơ	
	Có	67,50
	Không	32,50
2	Loại phân	
	Phân bò	35,00
	Phân gà	7,50
	Phân heo	11,25
	Phân hữu cơ vi sinh	13,75
	Không bón	32,50
	Cộng	100,00

Đu đủ là loại cây ăn quả cần rất nhiều phân hữu cơ nhất là trên vùng đất xám bạc màu, đất sỏi côm. Qua điều tra ghi nhận có 67,5% hộ điều tra có bón phân hữu cơ cho đu đủ, chỉ có 32,5% hộ điều tra là không bón, tỷ lệ này chủ yếu là những hộ trồng bờ ranh ít chú ý đến việc bón phân hữu cơ. Loại phân được sử dụng phổ biến là phân bò (chiếm tỷ lệ 35% hộ điều tra), phân heo chiếm 11,25% hộ điều tra và phân hữu cơ vi sinh chiếm 13,75% hộ điều tra.

Qua điều tra khảo sát tại vườn chúng tôi ghi nhận sau: các hộ có sử dụng phân hữu cơ (phân bò, heo, gà, phân hữu cơ vi sinh và kết hợp trộn trychodermar) chiếm 67,5% có năng suất cao hơn các hộ không sử dụng phân hữu cơ.

Bảng 16: Bón phân vô cơ cho đu đủ

TT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Phân vô cơ	
	Có	90,00
	Không	10,00
2	Loại phân	
	DAP	6,25
	NPK	23,75
	Urê	3,75
	DAP+Urê	3,75
	DAP+NPK	17,50
	NPK+Urê	3,75
	NPK+KCl	5,00
	NPK+Super lân	2,50
	DAP+Urê+KCl	2,50
	DAP+NPK+Urê	5,00
	DAP+NPK+SA	2,50
	NPK+Urê+Super lân	6,25
	DAP+NPK+Urê+SA	3,75
	DAP+NPK+KCl+Lân vi sinh	3,75
	Cộng	100,00

Bón phân vô cơ là một trong những biện pháp kỹ thuật rất quan trọng trong canh tác cây ăn quả nói chung và cây đu đủ nói riêng. Đu đủ là cây có đời sống ngắn, phát triển rất nhanh, chỉ trong một thời gian ngắn đã tạo ra một lượng sinh khối lớn, cho sản lượng cao, ra hoa kết trái quanh năm nên nhu cầu về phân bón rất lớn, đặc biệt là phân đạm. Đu đủ cũng là cây dễ bị nhiều loại bệnh gây hại nên chúng cũng cần nhiều kali và lân. Qua điều tra hầu hết các nhà vườn đều có bón phân hóa học từ một loại phân đơn đến kết hợp nhiều loại phân cùng bón, nhưng cách sử dụng phân của nhà vườn còn tự phát, chủ yếu sử dụng các loại phân phổ biến như: Urê, DAP, NPK. Số hộ có bón phân hóa học chiếm 90%. Trong số những hộ có sử dụng phân vô cơ thì phân NPK chiếm tỷ lệ cao nhất 71,25% hộ, kế đến là phân DAP chiếm 45% và 28,75% hộ sử dụng phân Urê. Theo ghi nhận điều tra có một số hộ cho rằng bón phân dạng hỗn hợp như NPK tốt

hơn dùng phân đơn (Urê) cho nên phân đa nông dân canh tác đều dùng phân NPK bón cho cây vì nó có đủ 3 thành phần (N – P – K).

Nhà vườn sử dụng kết hợp nhiều loại phân để bón cho cây: 2 loại phân chiếm 32,5%; 3 loại phân chiếm 16,25%; 4 loại phân chiếm 7,5%, còn lại số hộ sử dụng 1 loại phân để bón chiếm tỷ lệ 33,75%. Điều này có thể giải thích là do hầu hết các nhà vườn canh tác theo kiểu xen canh, vườn tạp, bờ ranh, trong vườn đủ đủ thường đóng vai trò là loại cây canh tác phụ nên ít chú ý đến việc bón nhiều loại phân. Theo ghi nhận thông tin từ một số nhà vườn trồng nhiều loại cây trong 1 vườn thì họ thường bỏ phân cho đủ đủ khi bón cho cây trồng chính còn dư và chỉ tưới nước khi tưới cho cây trồng chính.

Lượng phân bón và số lần bón cho đủ đủ không nhất định tùy theo vùng đất, tùy điều kiện canh tác và kinh nghiệm canh tác của nhà vườn.

Cách bón phân đạt năng suất cao (56,7 tấn/ ha) của hộ ông Tổng Hùng Cường ở Xuân Tây – Cẩm Mỹ - Đồng Nai:

Bảng 17: Lượng phân cho năng suất cao

Loại phân	Liều lượng (kg/cây/năm)	Thời điểm bón	Số lần bón/năm
Urê	0,05	-Từ lúc trồng được 1 tháng đến 3 tháng bón Urê, 1 tháng bón 1 lần	3
NPK	0,9	-Sau khi trồng nửa tháng bắt đầu bón tới tháng thứ 6; 15 ngày bón 1 lần	11
DAP	0,5	-Bón giai đoạn cây còn nhỏ từ lúc mới trồng đến tháng thứ 4, mỗi tháng bón 1 lần	4
KCl	0,5	-Bón giai đoạn cây con đến trái chín, 1 tháng bón 1 lần	6
Growmore plus	Pha 10 – 15 g/bình 8 lít	-Từ khi đậu trái non đến khi trái chín, phun định kỳ 7 – 10 ngày 1 lần	10
Vôi	0,5	-Bón lót toàn bộ trước trồng 2 ngày	1
Phân chuồng	5- 10	-Bón lót trước trồng 2 ngày	1

Bảng 18: Lượng phân theo khuyến cáo của Đại Học Cần Thơ

Loại phân	Liều lượng (kg/cây/năm)	Thời điểm bón
Urê	0,3	2/3 lượng phân bón trong 4 tháng đầu, 1/3 còn lại bón vào các tháng 5, 6, 7.
Super lân	0,5	
KCl	0,35	
Phân chuồng	3 - 10	Bón lót

Lượng phân bón cho năng suất cao ở Xuân Tây – Cẩm Mỹ - Đồng Nai có hàm lượng P_2O_5 và K_2O cao hơn nhiều so với lượng phân khuyến cáo của Đại Học Cần Thơ. Theo ông Cường cho biết do đất của ông đã canh tác đủ đủ nhiều năm nên độ phì trong

đất giảm, mặc khác đu đủ là cây có chu kỳ ngắn, phát triển nhanh, chỉ trong một thời gian ngắn đã tạo ra một sinh khối lớn. Nhận xét được điều này nên ông đã tăng lượng phân bón cho đu đủ sau mỗi lần trồng mới. Ít được nhà vườn sử dụng vôi chỉ chiếm tỷ lệ thấp 3,75% số hộ điều tra.

Bảng 19: Tình hình sử dụng phân bón lá cho đu đủ

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Phân bón lá	
	Có	13,75
	Không	86,25
	Cộng	100,00
2	Loại phân	
	Grow more plus	6,25
	Liverpool	2,50
	Ba lá xanh	3,75
	Không sử dụng	86,25
	Cộng	100,00

Phân bón lá qua điều tra cho thấy ít được nhà vườn sử dụng, số hộ có sử dụng chiếm 13,75%, còn lại hầu hết không dùng đến phân bón lá chiếm tỷ lệ cao 86,25%. Điều này chứng tỏ nhà vườn ít chú tâm đến việc phun phân bón lá. Chủ yếu sử dụng loại phân loại phân Grow more plus (6-30-30) chiếm 6,25%, phân bón lá ba lá xanh chiếm 3,75% và 2,5% hộ sử dụng Liverpool.

-Biện pháp thu hoạch và xử lý trái sau thu hoạch

Bảng 20: Biện pháp thu hoạch và xử lý trái sau thu hoạch

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Biện pháp thu hoạch	
	Dựa vào hình thái bên ngoài	100,00
	Bên trong	0,00
	Cộng	100,00
2	Làm sạch trái sau khi hái	
	Có	2,50
	Không	97,50
	Cộng	100,00
3	Phân loại trái sau khi hái	
	Có	32,50
	Không	67,50
	Cộng	100,00

Biện pháp thu hoạch trái: Qua điều tra cho thấy hầu hết 100% nhà vườn thu hoạch đu đủ đều dựa vào hình thái bên ngoài, đu đủ bán chín khi trái bắt đầu ửng vàng

lôm đốm trên vỏ, còn đủ bán trái xanh khi trái có màu xanh đậm và bấm vào vỏ thấy mủ có màu trong là trái sắp chín có thể thu hái.

Làm sạch trái sau khi hái ít được nhà vườn thực hiện chỉ chiếm 2,5% số hộ điều tra. Tuy nhiên phân loại trái sau khi hái thì được nhiều hộ áp dụng chiếm 67,5%, vì hầu hết các nhà vườn đều bán trái phân ra thành 2 loại: đủ đủ xanh và đủ đủ chín, ứng vàng.

-Bảo quản trái và tiêu thụ

Bảng 21: Bảo quản trái và tiêu thụ

STT	Nội dung	Tỷ lệ %
1	Bảo quản trái sau thu hoạch	
	Bán ngay sau thu hoạch	100,00
	Ủ chín trước khi bán	0,00
	Trữ nơi mát trong thời gian chờ bán	0,00
	Cộng	100,00
2	Tiêu thụ	
	Bán trái cho thương lái khi trái còn trên cây	10,00
	Bán trái cho thương lái sau thu hoạch trái tại vườn	71,25
	Bán cho các vựa trái cây	0,00
	Sơ chế trước khi bán	0,00
	Khác	18,75
	Cộng	100,00

Sau thu hoạch hầu hết nhà vườn đều bán ngay, vì đủ đủ khó bảo quản sau khi hái để lâu dễ bị thối trái. Về việc tiêu thụ trái phần đa các nhà vườn bán cho thương lái sau thu hoạch trái tại vườn chiếm 71,25% số hộ điều tra.

-Thành phần sâu bệnh hại trên đủ đủ trong vùng điều tra

Bảng 22: Thành phần sâu bệnh hại trên đủ đủ trong vùng điều tra

STT	Đối tượng gây hại	Tên khoa học	Bộ phận bị hại	Thời điểm gây hại	Mức độ gây hại	Tỷ lệ vườn bị hại %
1	Nhện đỏ	<i>Tetranychus</i> sp.	Lá	Quanh năm	+++	62,50
2	Rệp sáp phần	<i>Pseudococcus</i> spp.	Trái	Mang trái	++	56,25
3	Rệp dính	-	Trái	Mang trái	+	13,75
4	Ruồi đục trái	<i>Bactrocera</i> spp.	Trái	Mang trái	+	16,25
5	Rầy mềm	<i>Toxoptera</i> sp.	Lá	Cuối mùa	+	3,75
6	Bệnh khảm	<i>Papaya Mosaic Virus</i>	Lá, thân, trái	Quanh năm	+++	86,25

7	Bệnh đốm lá	<i>Phyllosticta sulata</i>	Lá	Mùa mưa	++	56,25
8	Bệnh đốm vòng	<i>Papaya Ringspot Virus</i>	Lá, thân, trái	Quanh năm	++	51,25
9	Cháy lá	<i>Helminthosporium rostratum</i>	Lá	Mùa khô	+	7,50
10	Phấn trắng	<i>Oidium caricae</i>	Lá	Cuối mưa	+	5,00
11	Nấm bồ hóng	<i>Capnodium spp.</i>	Trái	Mang trái	+	12,50
12	Bệnh thối trái	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Trái	Trái chín	+	10,00
13	Bệnh héo rũ	<i>Phytophthora spp.</i>	Lá	Mùa mưa	+	2,50

Chú thích: + Ít phổ biến, ++ phổ biến, +++ rất phổ biến

Qua điều tra tại các vườn đu đủ ở 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu cho thấy tình hình sâu bệnh hại trên đu đủ xuất hiện hầu hết ở các vườn canh tác, mức độ gây hại từ nhẹ đến nặng, đặc biệt là những vườn trên 1 năm tuổi mức độ bị sâu bệnh phá hại khá nghiêm trọng.

Về côn trùng gây hại: Nhện đỏ là đối tượng gây hại phổ biến và nghiêm trọng nhất trên cây đu đủ, nó gây ảnh hưởng đáng kể đến năng suất, chất lượng của đu đủ, chiếm tỷ lệ cao 62,5% hộ điều tra. Do hầu hết các nhà vườn thường trồng đu đủ vào đầu mùa mưa nên cây trổ hoa và đậu trái vào mùa nắng, đây là điều kiện thuận lợi cho nhện đỏ phát triển và gây hại. Kể đến là rệp sáp, đây là đối tượng gây hại không nghiêm trọng như nhện đỏ chỉ gây hại một vài cây trong vườn, nhưng rất phổ biến chiếm 56,25% hộ điều tra, chích hút nhựa thân, lá, trái làm giảm năng suất, phẩm chất và thẩm mỹ của trái, nếu hiện diện với mật số cao có thể làm chết cây. Đối nhện đỏ việc sử dụng nước phun lên cây thành tia cực mạnh có hiệu quả trừ nhện đỏ tốt hơn so với thuốc hóa học, vì nhện đỏ thuộc loại khó phòng trị và kháng thuốc cao. Tuy nhiên rất ít hộ áp dụng biện pháp phun nước lên mặt dưới của lá nơi nhện trú ẩn mà đa số sử dụng thuốc hóa học. Đối với rệp sáp việc phun nước lên trái thành tia cực mạnh cũng có tác dụng trừ rệp tốt. Ngoài ra còn một số loại sâu hại khác như: rệp dính, rầy mềm, ruồi đục trái xuất hiện rải rác trên một vài vườn.

Về bệnh hại: Chủ yếu là các bệnh do virus : bệnh khảm (*Papaya Mosaic Virus*) chiếm tỷ lệ cao nhất 86,25% số hộ điều tra, đốm vòng (*Papaya Ringspot Virus*) chiếm 56,25% số hộ điều tra. Đây là hai bệnh phổ biến trên đu đủ, chúng được coi là trở ngại lớn nhất cho nghề trồng đu đủ trong nước và ngoài nước, có thể nói ở đâu có đu đủ thì ở đó có bệnh khảm. Bệnh đốm lá do nấm *Phyllosticta sulata* cũng chiếm tỷ lệ khá cao 51,25% hộ điều tra, 3 bệnh này hiện diện hầu hết ở các vườn điều tra. Tuy nhiên mức độ biểu hiện của bệnh nặng hay nhẹ tùy thuộc vào nhiều yếu tố: đất đai, thời tiết, giống, cách chăm sóc. Những vườn bị nhiễm bệnh khảm, bệnh đốm vòng nặng đa số thuộc

những hộ trồng thuần dày, làm cỏ xới xáo vùng rễ cây hoặc trong quá trình chăm sóc sử dụng dụng cụ lao động trên cây bệnh rồi lại dùng trên cây khỏe, điều này vô tình đã truyền virus sang cây khỏe và cứ theo thói quen canh tác như vậy cả vườn sẽ bị nhiễm virus, hoặc những hộ ít chăm sóc, bón những loại phân như (kali, lân). Mặc khác hầu hết các nhà vườn đều tự đề giống, nhân giống bằng hạt giống đu đủ địa phương, không dùng giống kháng bệnh virus nên qua nhiều năm canh tác giống sẽ bị nhiễm bệnh, với phương pháp nhân giống như vậy tỷ lệ nhiễm bệnh do virus sẽ ngày càng cao. Và qua điều tra chưa tìm thấy giống nào kháng bệnh virus. Đối với bệnh đốm lá mức độ gây hại trên các vườn có nhiễm không nghiêm trọng, ảnh hưởng không đáng kể đến năng suất mặc dù xuất hiện phổ biến trên các vườn canh tác, đặc biệt là trong mùa mưa, không khí trong vườn ẩm ướt. Các bệnh cháy lá, bệnh phấn trắng, thối trái, nấm bồ hóng, héo rũ, vàng lá xuất hiện rải rác trên một vài vườn nhưng thiệt hại không đáng kể.

- Biện pháp phòng trừ

Bảng 23: Biện pháp phòng trừ

STT	Biện pháp phòng trừ	Tỷ lệ %
1	Có	61,25
2	Không	38,75
	Cộng	100,00

Bảng 24: Tình hình sử dụng thuốc BVTV trên vườn đu đủ của nông dân điều tra được ở Đồng Nai và Bà Rịa Vũng Tàu

STT	Tên thuốc	Đối tượng phòng trừ	Số lần phun/năm	Tỷ lệ %
1	Comite 73 EC	Nhện	2-3	8,75
2	Danitol 10EC	Nhện	2-3	3,75
3	Kumulus 80WP	Nhện, phấn trắng	2-3	5,00
4	Supracide 40EC	Rệp sáp, rệp dính	1-2	7,50
5	Applaud	Rệp sáp	8	11,25
6	Vertimer 18EC	Nhện	2-3	3,75
7	FM-TOX 50EC	Rầy, rệp sáp	10	2,50
8	Ortus 50SC	Nhện	3	6,25
9	Kitazin 0,2%	Cháy lá	8	3,75
10	Booc-đo	Đốm lá, nấm bệnh	7-8	7,50
11	Acovil 50SC	Vàng lá	3-4	1,25
12	Vôi	Phòng chống nấm bệnh	1	3,75
13	Kasuran 50WP	Khảm, đốm vòng	3	1,25
14	Zineb 80%	Phấn trắng	2	1,25
15	Ridomil MZ 72WWP	Ngừa nấm bệnh, đốm lá, khảm, đốm vòng, cháy lá	5-6	20,00

16	Cabenzin	Đốm lá(hiệu quả nhanh)	5	5,00
17	Anvil 2%	Phân trắng, khảm	3	2,50
18	Maneb 800PM	Thối trái	1-2	5,00
19	Aliette 800WG	Héo rũ, đốm lá	3-4	6,25

Sâu bệnh xuất hiện nhiều nên nhiều nhà vườn có áp dụng biện pháp phòng trừ chiếm tỷ lệ cao 61,25% hộ có phòng trừ, số còn lại không phòng trừ chiếm 38,75% hộ điều tra. Hầu hết những hộ không phòng trừ tập trung chủ yếu là những hộ trồng theo bờ rãnh hoặc những hộ trồng xen với số lượng cây không đáng kể nên họ thường không quan tâm đến việc phòng trừ sâu bệnh hại.

Về tình hình sử dụng thuốc trên đu đủ qua điều tra 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu cho thấy có đến 8 loại thuốc trừ sâu và 10 loại thuốc trừ bệnh đã được nhà vườn sử dụng. Có những loại thuốc rất độc như: Vertimec 18 CE nhóm độc II, Ortus 50SC nhóm độc I, Manzate 800 PM, Kasuran 50 WP nhóm độc III,... được dùng để trừ sâu bệnh như đã nói trên, mặc dù cũng có những hộ biết dùng thuốc gốc vi sinh hữu cơ ít độc như Aliette 800 WG nhóm độc IV, Kumus DF nhóm độc IV.

Qua kết quả điều tra cho thấy tình hình sử dụng thuốc của nhà vườn còn mang tính chất tự phát, sử dụng nhiều loại thuốc trên một loại sâu hoặc bệnh (khi dùng 1 loại thuốc không đạt hiệu quả phòng trừ) và họ bắt đầu phun khi thấy sâu hoặc bệnh vừa mới xuất hiện và phun với liều lượng thường cao hơn so với khuyến cáo trên bao bì thuốc, với suy nghĩ là liều cao sẽ nhanh có tác dụng và đạt hiệu quả phòng trừ cao hơn liều khuyến cáo. Đây cũng là một trong những nguy cơ gây ô nhiễm môi trường cũng như gây tồn dư lượng thuốc trong trái đu đủ.

Nhà vườn sử dụng nhiều loại thuốc để trừ nhện đỏ, rệp sáp như: Ortus 50 SC, FM-TOX 50EC, Vertimer 18 EC, Applaud, Supracide, Comite, Kumulus, Danitol 10EC trong các loại thuốc này theo nhà vườn chỉ có Vertimer 18 EC có hiệu quả trừ nhện đỏ cao và Applaud trừ rệp khá.

Các bệnh do nấm gây ra như: cháy lá, đốm lá, héo rũ, phân trắng có dùng một số thuốc trừ Zineb 80%, Booc-đo, Kitazin 0,2%, Cabenzin, Aliette 800WG ...có tác dụng trừ bệnh khá.

Các bệnh do virus như: khảm, đốm vòng thường nhà vườn không trị, có hộ còn chặt bỏ cây bị bệnh, tuy nhiên trong số những hộ điều tra cũng có một ít hộ có phòng trị chiếm tỷ lệ 21,25% hộ, chủ yếu dùng phân phun qua lá, bón phân chuồng, lân, vôi giúp cây tăng trưởng tốt tăng sức đề kháng. Một số vườn có sử dụng các loại thuốc như: Kasuran, Anvil 2%, Ridomil nhưng không có hiệu quả.

5.1.1.2. Kết quả điều tra giống đu đủ ở miền Đông Nam bộ

Qua điều tra 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu đã thu thập được 7 giống đu đủ như sau:

Bảng 25: Đặc điểm sinh trưởng và hình thái của một số giống đu đủ được khảo sát

Giống	Khả năng ST & PT	Dạng tán	Dạng lá	Màu sắc lá
(1)Ruột vàng	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh đậm
(2)Thái Lan	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh nhạt
(3)Hồng Kong da bông	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh đậm
(4)Đài Loan Tím	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá xanh nhạt, gân lá hơi tím
(5)F1 Hồng phi (786)	Trung bình	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh đậm
(6)F1 Nông Hữu (784)	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh đậm
(7)Trang Nông	Mạnh	Dạng dù	Chóp lá hơi nhọn	Lá màu xanh đậm

Bảng 26: Đặc điểm ra hoa, năng suất trọng lượng trái của một số giống đu đủ được khảo sát

Giống	Thời gian ra hoa sau khi trồng (tháng)	Năng suất (kg/cây)	Trọng lượng trái TB (kg)
(1)Ruột vàng	4 - 5	30 - 45	1-3
(2)Thái Lan	3 - 4	40 - 50	1-2,5
(3)Hồng Kong da bông	4 - 5	30 - 40	3 - 4
(4)Đài Loan Tím	4 - 5	35 - 45	1 - 1,5
(5)F1 Hồng phi (786)	4 - 5	30 - 40	1,5 - 2
(6)F1 Nông Hữu (784)	4 - 5	35 - 40	1 - 2
(7)Trang Nông	4 - 5	30 - 40	1,5 - 2

Bảng 27: Chất lượng trái của một số giống đu đủ được khảo sát

Giống	Dạng trái lưỡng tính	Vỏ trái	Màu sắc thịt trái khi chín	Độ dày thịt trái (mm)
(1)Ruột vàng	Trái có dạng thuôn dài	Vỏ mỏng, màu xanh đậm, khi chín ứng vàng	Vàng	11-13

(2)Thái Lan	Trái dạng thuôn dài	Vỏ dày, màu vỏ xanh đậm, chín ứng vàng	Đỏ vàng	22-2
(3)Hong Kong da bông	Trái dạng thuôn dài	Vỏ dày, màu xanh nhạt, khi chín lốm đốm chỗ đậm chỗ nhạt	Đỏ vàng	21-25
(4)Đài Loan Tím	Trái hơi bầu dục	Vỏ dày, xanh đậm, chín màu vàng	Đỏ sậm	10-12
(5)F1 Hồng phi (786)	Trái dạng thuôn dài	Vỏ mỏng, màu xanh đậm, khi chín ứng vàng	Đỏ tươi	11-13
(6)F1 Nông Hữu (784)	Trái dạng thuôn dài	Vỏ mỏng, màu xanh đậm, khi chín ứng vàng	Vàng	10-12
(7)Trang Nông	Trái dạng thuôn dài	Vỏ mỏng, màu xanh đậm, khi chín ứng vàng	Vàng	10-12

Bảng 28: Chất lượng trái, mức độ ưa chuộng và mức độ phổ biến của một số giống đu đủ được khảo sát

Giống	Độ Brix	Thu trái	Mức độ ưa chuộng	Mức độ phổ biến của giống
(1)Ruột vàng	10 – 11%	Ăn chín	***	+++
(2)Thái Lan	9 – 10%	Ăn chín	*	+
(3)Hong Kong da bông	9 – 10%	Ăn chín	*	+
(4)Đài Loan Tím	10 – 11%	Ăn chín	*	+
(5)F1 Hồng phi (786)	13 – 14%	Ăn chín	*	+
(6)F1 Nông Hữu (784)	10 – 12%	Ăn chín	*	+
(7)Trang Nông	10 – 11%	Ăn chín	**	++

*Chú thích: +ít phổ biến, ++phổ biến, +++rất phổ biến; *ít ưa chuộng, **ưa chuộng, ***rất ưa chuộng*

-Giống đu đủ địa phương ruột vàng: Cây sinh trưởng, phát triển tốt, cho năng suất cao, trọng lượng trái trung bình từ 1 – 3 kg, thịt chắc, màu vàng hấp dẫn, ngọt thơm, độ Brix 10 – 11%.

-Giống đu đủ Thái Lan: Cho năng suất rất cao, năng suất trung bình từ 40 – 50 kg/cây, trọng lượng trái trung bình: từ 1 – 2,5 kg. Tuy nhiên phẩm chất trái kém, vỏ dày, thịt màu đỏ vàng bở và có độ ngọt thấp (Brix: 9 – 10%).

-Giống Hồng Kong da bông: Cho năng suất cao, trọng lượng trái trung bình từ 3 - 4 kg, vỏ dày. Chống chịu khá với nhện đỏ và các bệnh do virus. Thịt trái màu đỏ vàng, bở, độ Brix thấp từ 9 – 10%, ít ngọt.

-Giống Đài Loan tím: Năng suất rất cao, trái nhiều, trọng lượng trái từ 1 – 1.5 kg. Thịt trái có màu đỏ sậm, chắc thịt. Độ Brix từ 10 – 11%. Cây dễ bị nhện đỏ và các bệnh do virus, nhưng vẫn có khả năng cho trái tốt trong những năm đầu.

-Giống Hồng Phi (786): Cây phát triển rất khỏe, cho trái sớm, cây có trái đầu tiên lúc cây cao khoảng 80 cm. Da nhẵn bóng, thịt dày, màu đỏ tươi, độ Brix từ 13 – 14%. Tỷ lệ đậu trái cao, một mùa cây có thể 30 trái trở lên, sản lượng rất cao. Tuy nhiên dễ bị nhiễm bệnh đặc biệt là bệnh khảm, tỷ lệ nảy mầm cũng rất thấp, giá thành hạt giống F1 rất cao.

-Giống F1 nông hữu số 1 (784): Cây đậu trái cao, trung bình cho trái từ 30 – 40 trái/cây, trọng lượng trái từ 1 - 2 kg, thịt trái màu vàng, độ Brix cao từ 10 – 12%. Tuy nhiên dễ bị nhiễm bệnh đặc biệt là bệnh khảm, tỷ lệ nảy mầm cũng rất thấp, giá thành hạt giống F1 rất cao.

-Giống Trang Nông có năng suất cao, chất lượng trái tốt và phát triển phù hợp có thể trồng mang lại hiệu quả kinh tế cao ở Đông Nam bộ.

Qua điều tra, nhận xét đánh giá của bà con nông dân tại vùng Đông Nam bộ, cho thấy: mức độ ưa chuộng của thị trường ở vùng Đông Nam bộ: thì giống đu đủ địa phương ruột vàng được ưa chuộng nhất, kế đến là giống Trang Nông.

Mức độ phổ biến giữa các giống đu đủ đang được trồng ở 2 tỉnh Đông Nam bộ qua khảo sát cho thấy: giống đu đủ địa phương ruột vàng là phổ biến nhất, kế đến là giống Trang Nông, các giống còn lại rất ít phổ biến chỉ một vài vườn trồng.

5.1.1.3. Phương pháp nhân giống đu đủ

-Cách chọn cây mẹ và chọn trái để giống

Hầu hết những nhà vườn tự để giống đều chọn cây mẹ là cây có trái dài, thon đẹp và nhân giống hữu tính bằng cách chọn những trái chín dài thon đó bóc lấy hạt làm giống.

-Cách chọn hạt

Bảng 29: Cách chọn hạt giống trước trồng

Cách chọn hạt	Tỷ lệ (%)
Có chọn	76,25
Không chọn	11,25
Mua hạt	8,75
Mua cây	3,75
Cộng	100,00

Qua điều tra cho thấy: có 9 hộ không chọn hạt chiếm 11,25% hộ điều tra, 3 hộ mua cây con và 7 hộ mua hạt từ các đại lý bán hạt giống, 76,25% hộ có chọn hạt trước khi trồng. Các hộ có chọn hạt đều chọn hạt chìm trong nước từ trái thon dài, phát triển tốt. Tỷ lệ hộ chọn hạt chìm chiếm 45,11%, chọn hạt đen chiếm 32,26%, hạt đen hoặc trắng hạt nào nhiều thì chọn chiếm 12,9%, chọn hạt giữa trái và chìm trong nước chiếm 9,67% số hộ có chọn hạt.

Qua điều tra khảo sát tại vườn, chúng tôi nhận thấy: có sự khác nhau giữa hộ có chọn hạt và không chọn hạt về tỷ lệ cây đực, cây cái và cây lưỡng tính. Các hộ có chọn hạt giữa trái và chìm trong nước có tỷ lệ cây lưỡng tính cao chiếm 85 – 90%, cây cái chiếm 10 – 15% và không có cây đực. Các hộ có chọn hạt đen hoặc trắng và chìm trong nước có tỷ lệ cây lưỡng tính 80 – 85%, cây cái 15 – 20% và không có cây đực. Các hộ không chọn hạt chỉ lấy hạt từ trái thon dài thì tỷ lệ cây lưỡng tính thấp hơn chiếm 70 – 80%, cây cái chiếm 20 – 30%. Các hộ mua cây ở chợ như hộ ông Trương Công Đoàn ở ấp Phước Bình, xã Sông Xoài, huyện Tân Thành có tỷ lệ cây lưỡng tính 70%, cây cái 20% và cây đực 10%. Qua đó cho thấy những hộ nào có chọn hạt và chọn hạt giữa trái chìm trong nước thì tỷ lệ cây lưỡng tính càng cao, còn những hộ không chọn hạt và những hộ mua cây từ chợ thì tỷ lệ cây lưỡng tính thấp và có khả năng xuất hiện cây đực nhiều trong vườn.

-Cách chọn cây con

Qua điều tra có 50% hộ có chọn cây con và chọn những cây khỏe, mập, cao trung bình trong số đó có 24% hộ là chọn cây con cao khoảng 10 – 12 cm và có rễ bàng nhiều. Theo ông Hoàng Văn Thanh ấp Cầu mới – Sông Xoài – Tân Thành chọn cây như sau: hạt được ươm tới khi cây cao khoảng 10 cm thì nhổ lên cho vào bầu, chọn các cây có rễ bàng, gốc hóa nâu có thể đạt trên 95% cây lưỡng tính. Số hộ không chọn cây con chiếm 50%.

5.1.1.4.Kết quả tuyển chọn và thu thập cá thể đủ lưỡng tính năng suất cao, phẩm chất tốt làm vật liệu phục vụ công tác nghiên cứu nhân giống invitro.

Với 7 giống đủ đủ được canh tác ở 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu, mỗi giống đã tuyển chọn được 10 cá thể hội đủ các yêu cầu là cây lưỡng tính, có năng suất cao và phẩm chất tốt. Mỗi cá thể được tiến hành thu lấy mẫu lá mang đi giám định bệnh virus ở phòng thí nghiệm Giám định bệnh của bộ môn Công nghệ sinh học ứng dụng, Viện Cây ăn quả miền Nam. Căn cứ trên kết quả giám định bệnh, đã tuyển chọn được 15 cá thể âm tính với cả 2 bệnh đốm vòng và khảm do virus làm nguồn giống gốc cung cấp vật liệu cho nghiên cứu hoàn thiện qui trình nhân giống *in vitro*.

5.1.1.5.Đánh giá mặt mạnh, mặt yếu, cơ hội và thách thức đối với sản xuất

-Điểm mạnh

- +Đủ đủ là loại cây ăn quả thích nghi rộng, thích nghi trên nhiều loại đất.
- +Chu kỳ sinh trưởng phát triển ngắn nhanh cho thu hoạch và cho thu hoạch với lượng sinh khối quả rất lớn.

- +Thích hợp trồng xen canh với nhiều loại cây ăn quả, cây công nghiệp.
- +Khí hậu, đất đai ở vùng Đông Nam bộ phù hợp cho việc phát triển cây đu đủ.
- +Thích hợp canh tác vùng nghèo, vùng khó khăn qui mô đất nông nghiệp ít.
- +Chi phí đầu tư cho trồng đu đủ không cao phù hợp cho hộ nghèo ở nông thôn.

-Điểm yếu

- +Chưa có giống tốt, kháng bệnh virus.
- +Hầu hết nhà vườn canh tác giống địa phương đã bị lai tạp nhiều, một số hộ có sử dụng giống lai F1 nhập nội nhưng với giá thành hạt giống rất cao.
- +Bệnh khảm, đốm vòng gây hại nghiêm trọng tại vùng sản xuất, ảnh hưởng đáng kể đến năng suất đu đủ.
- +Chưa có vùng trồng chuyên canh.
- +Năng suất, sản lượng còn thấp so với tiềm năng.
- +Thông tin về kỹ thuật canh tác tiến bộ còn thiếu.
- +Tập quán canh tác truyền thống (quảng canh, vườn tạp) khó thay đổi.
- +Lao động ở nông thôn dành cho nông nghiệp ngày càng giảm.

-Cơ hội

- +Trái cây nhiệt đới (trong đó có đu đủ) được ưa chuộng ăn tươi.
- +Đu đủ được sử dụng trong ngành thực phẩm và dược liệu.
- +Thị trường tiêu thụ có nhiều triển vọng nếu có giống tốt, kháng bệnh.

-Thách thức

- +Dịch hại ngày càng nghiêm trọng đặc biệt là bệnh khảm và đốm vòng hiện chưa có thuốc đặc trị.
- +Thị trường đòi hỏi chất lượng sản phẩm đồng nhất và rải vụ.
- +Đầu ra sản phẩm, giá thành sản phẩm.

5.1.1.6. Những giải pháp cho phát triển sản xuất đu đủ

- Cần sử dụng giống sạch bệnh virus để canh tác bền vững và nâng cao năng suất
- Sử dụng giống lưỡng tính, chất lượng đồng đều để đáp ứng yêu cầu thương mại
- Cần đầu tư chống úng và bón phân cân đối cho đu đủ để canh tác bền vững.
- Chú trọng phòng trừ sâu bệnh, đặc biệt là rệp sáp, nhện đỏ.
- Cần Nghiên cứu biện pháp rải vụ để đáp ứng yêu cầu thị trường.
- Cần xây dựng những mô hình thâm canh để chuyển giao tiến bộ kỹ thuật.

5.1.2. Nội dung 2: Nghiên cứu quy trình nhân giống in vitro

5.1.2.1. Hoạt động 1: Giám định bệnh virus

Đã thu thập được 70 mẫu ở 70 cá thể của 7 giống đu đủ ở 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu. Mẫu thu thập được bảo quản và chuyển đến giám định bệnh ở phòng thí nghiệm Giám định bệnh của bộ môn Công nghệ sinh học ứng dụng, viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam. Qua kết quả giám định bệnh cho thấy có 45 mẫu dương tính với các bệnh đốm vòng và bệnh khảm do virus, chỉ có 15 mẫu (trong đó có 5 mẫu thuộc giống ruột vàng và 3 mẫu thuộc giống Trang Nông) cho kết quả âm tính với cả 2 bệnh đốm vòng và khảm do virus.

5.1.2.2. Hoạt động 2: Nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp in vitro

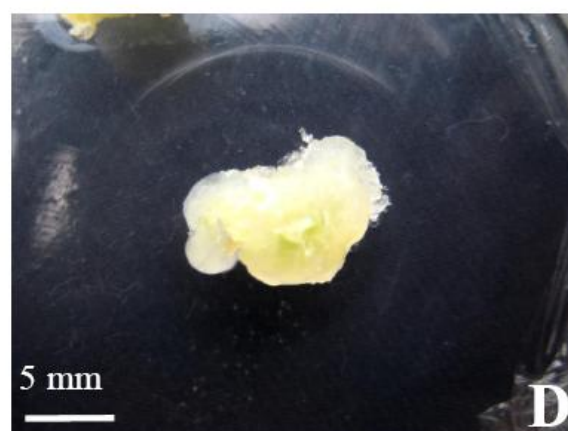
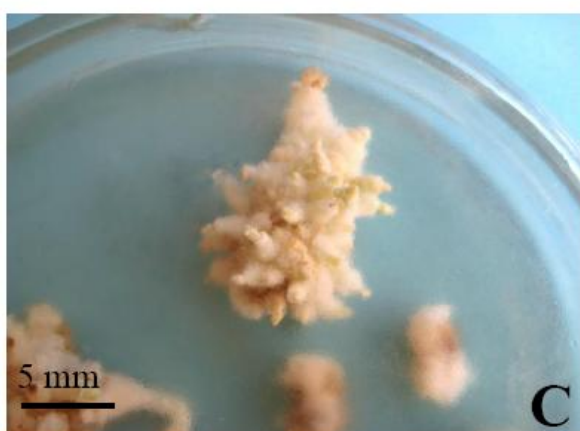
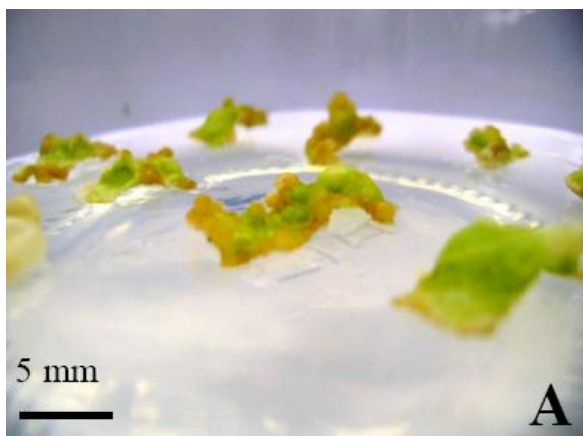
a) Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của một số môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo mô sẹo

Bảng 30: Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo và đường kính mô sẹo

Nghiệm thức	Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Đường kính mô sẹo (mm)
1-MS(*) – Đối chứng	Không tạo mô sẹo	-
2-MS(*)+BAP(0,02)	Chỉ có những mô sẹo nhỏ trên rìa lá	-
3-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (0,5)	100	7,33±0,33b
4-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (1)	100	14,50 ±0,29a
5-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (2)	100	7,67 ±0,33b
6-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (0,5)	Tạo rễ	-
7-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (1)	Tạo rễ	-
8-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (2)	Tạo rễ	-

Ghi chú: (*) Môi trường MS ½ có bổ sung 30 g/l sucrose + 400 mg/l glutamine + 8g/l agar. Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

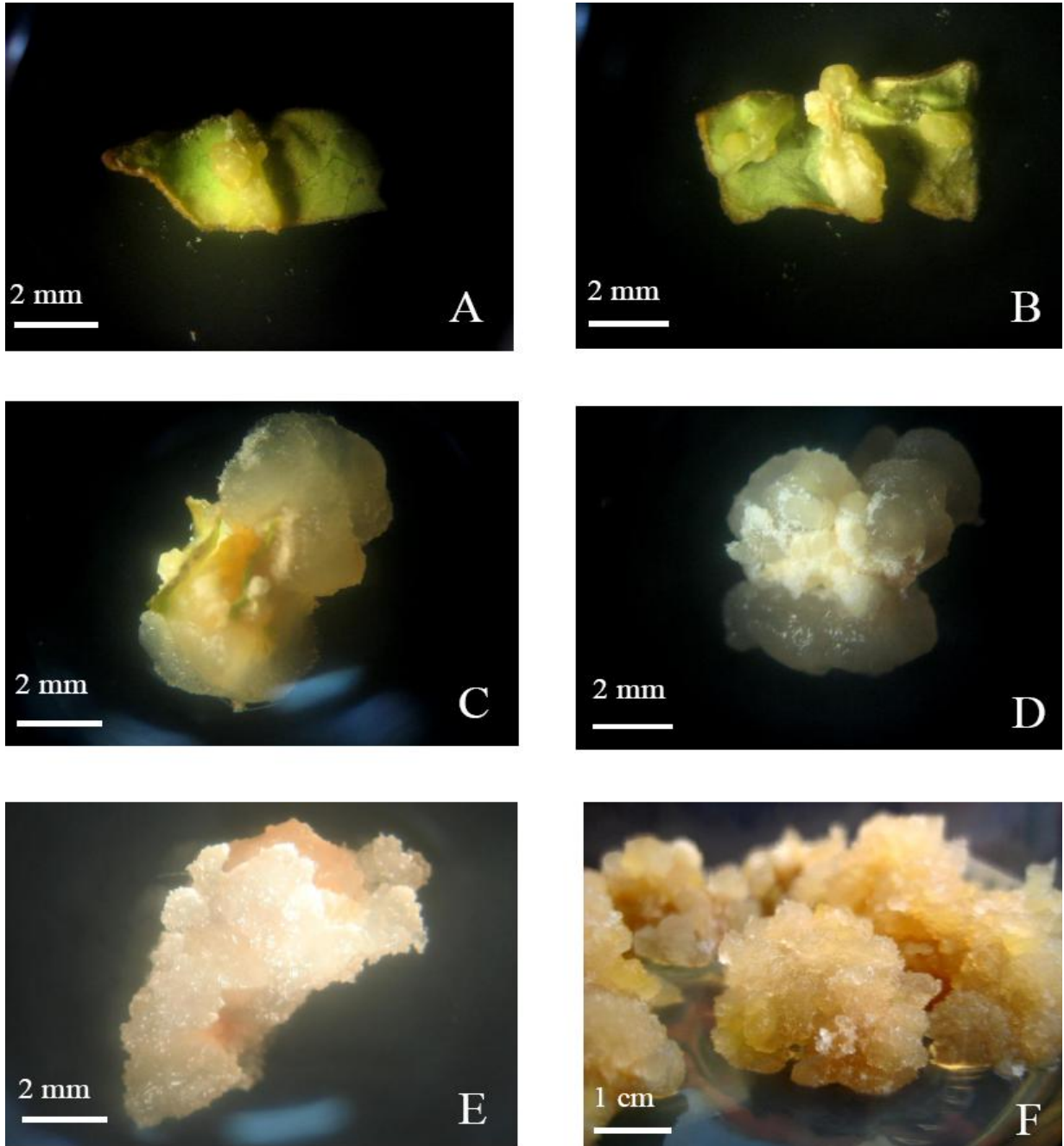
Ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung 0,02 mg/l BAP và 2,4-D ở các nồng độ khác nhau đều có sự hình thành mô sẹo. Mô sẹo hình thành tốt nhất ở nghiệm thức 4 (môi trường MS có bổ sung 0,02 mg/l BAP và 1 mg/l 2,4-D). Đường kính mô sẹo ở nghiệm thức 4 là lớn nhất và khi chuyển sang môi trường MS thì mô sẹo này cũng cho thấy khả năng phát sinh phôi soma tốt nhất. Trên môi trường nghiệm thức 3 (có sự kết hợp giữa 0,02 mg/l BAP và 0,5 mg/l 2,4-D), mô sẹo hình thành có màu trắng xanh, mềm, tăng sinh chậm. Trên môi trường nghiệm thức 4, mô sẹo màu nâu nhạt, hơi bở, tăng sinh nhanh. Trên môi trường nghiệm thức 5 (có sự kết hợp giữa 0,02 mg/l BAP và 2 mg/l NAA), mô sẹo màu nâu đậm, mềm, tăng sinh chậm.



Hình 1: Mẫu cây của các nghiệm thức sau 2 tháng thí nghiệm tạo mô sẹo (A-BAP: 0,02 mg/l; B-BAP-NAA: 0,02-0,5 mg/l; C-BAP-NAA: 0,02-2 mg/l; D-BAP-2,4-D: 0,02-0,5 mg/l; E-BAP-2,4-D: 0,02-1 mg/l; F-BAP-2,4-D: 0,02-2mg/l).

Trong các nghiệm thức chỉ có BAP mẫu lá có sự tăng về kích thước và chỉ tạo được những mô sẹo nhỏ xung quanh rìa lá. Điều này cho thấy sự có mặt của auxin là cần thiết cho quá trình cảm ứng tạo mô sẹo trong trường hợp này. Trong nghiệm thức có sự phối hợp giữa BAP và NAA, mẫu lá không tạo sẹo mà cảm ứng tạo rễ. Trên môi

trường nghiệm thức 6 (có sự kết hợp giữa 0,02 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA), rễ hình thành nhiều và phân nhánh nhiều. Trên môi trường nghiệm thức 8 (có sự kết hợp giữa 0,02 mg/l BAP và 2 mg/l NAA), rễ hình thành nhiều, to, ngắn và không có sự phân nhánh. Điều này giải thích dựa trên khả năng kích thích tạo rễ của auxin. Như vậy có thể kết luận rằng 2,4-D thích hợp cho quá trình cảm ứng mô sẹo trên mẫu cây lá cây đu đủ *Carica papaya*. L hơn NAA.



Hình 2: Sự biến đổi mẫu mô lá của nghiệm thức 4 (A. Sau 1 tuần; B. Sau 4 tuần; C. Sau 6 tuần; D. Sau 8 tuần; E. Sau 8 tuần; F. Sự nhân lên của mô sẹo sau khi cấy chuyển sang môi trường tương tự).

Bảng 31: Loại mô sẹo hình thành và màu sắc mô sẹo

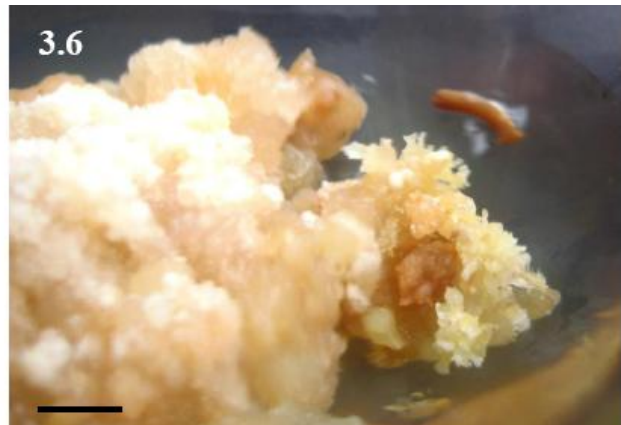
Nghiem thức	Loại mô sẹo	Màu sắc mô sẹo
1-MS(*) – Đối chứng	-	-
2-MS(*)+BAP(0,02)	-	-
3-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (0,5)	Mềm	Trắng xanh
4-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (1)	Bở	Nâu nhạt
5-MS(*)+BAP(0,02)+2,4D (2)	Mềm	Nâu đậm
6-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (0,5)	Tạo rễ	-
7-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (1)	Tạo rễ	-
8-MS(*)+BAP(0,02)+NAA (2)	Tạo rễ	-

Ghi chú: (*) Môi trường MS ½ có bổ sung 30 g/l sucrose + 400 mg/l glutamine + 8g/l agar

Quan sát sự biến đổi của mẫu mô lá qua các giai đoạn khi nuôi cấy trên môi trường MS ½ có bổ sung 400 mg/l glutamine; 0,02 mg/l BAP và 1 mg/l 2,4-D (thí nghiệm 4): Sau một tuần, mẫu cấy bắt đầu có sự hình thành mô sẹo. Mô sẹo hình thành đầu tiên ở phần gân lá, sau đó mới bắt đầu lan rộng ra toàn bộ lá. Quá trình cảm ứng mô sẹo diễn ra chậm. Loại mô sẹo được hình thành là mô sẹo bờ và có khả năng tái sinh. Sau một thời gian nuôi cấy, nếu không cấy chuyển kịp thời, các mô sẹo tăng trưởng chậm và bắt đầu hóa nâu. Sau 8 tuần nuôi cấy, nếu tiếp tục được cấy chuyển, các mô sẹo tăng sinh nhanh, các mô sẹo từ dạng bờ có màu nâu nhạt sẽ chuyển sang màu nâu đậm.



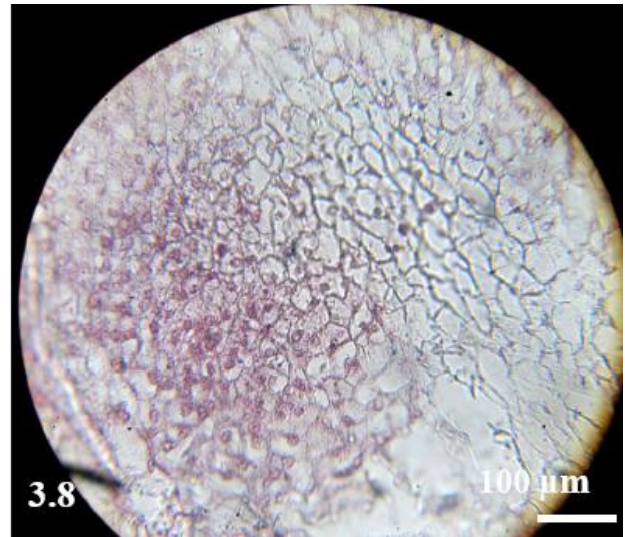
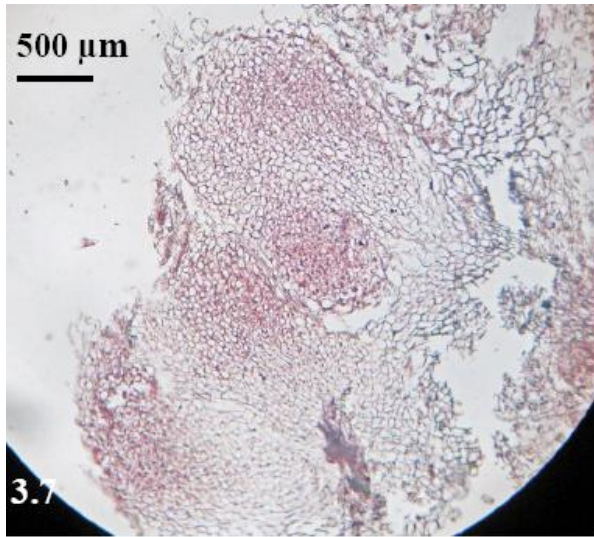
Hình 3: Mô sẹo tiếp tục tăng sinh khi được cấy chuyển trên môi trường tương tự của thí nghiệm 4 ở tuần thứ 12.



Hình 4: Mô sẹo cảm ứng phát sinh phôi soma khi không được cấy chuyển sang môi trường mới.

Những mô sẹo có khả năng phát sinh phôi (embryogenic callus) sau khi thành lập sẽ tiếp tục duy trì và tăng trưởng sinh nếu tiếp tục được cấy chuyển sang môi trường tương tự. Nếu những mô sẹo phát sinh phôi này không được cấy chuyển kịp thời thì sau khoảng 2 tuần, phôi soma sẽ khởi động ngay sự phát triển của nó. Quan sát lát cắt ngang mẫu lá đang hình thành mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS ½ có bổ

sung 400mg/l glutamine, 30 g/l sucrose, 0,02 mg/l BAP và 1 mg/l 2,4-D, có thể nhìn thấy những vùng tế bào tròn, đẳng kính, vách mỏng, có nhân to và đậm màu.



Hình 5: Lát cắt ngang mảnh lá đu đủ đang hình thành mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy ở nghiệm thức 4

Hình 6: Chi tiết vùng tế bào có nhân to và đậm màu của hình 5

b)Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số công thức môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo phôi soma

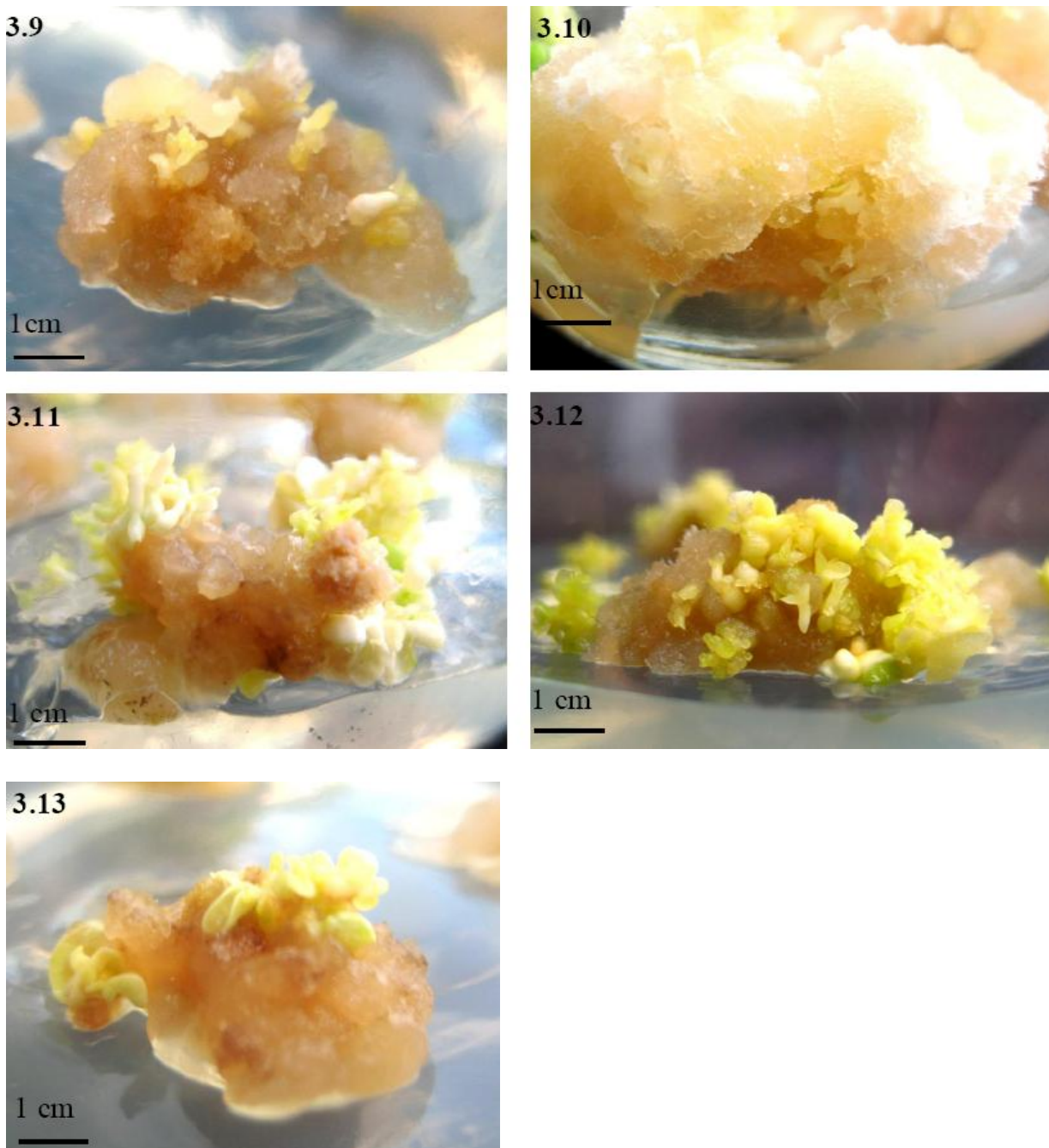
Bảng 32: Tỷ lệ phần trăm mẫu mô sẹo tạo phôi soma và số phôi trên một mẫu

Nghiệm thức	(%) mẫu mô sẹo tạo phôi soma	Số phôi trung bình trên một mẫu
1-MS(*) – Đối chứng	93,33±3,33a	45,33±3,48d
2-MS(*)+BAP(0,05)	93,33±3,33a	74,00 ±4,35c
3-MS(*)+BAP(0,05)+NAA (0,02)	96,67± 3,33a	108,67±7,69b
4-MS(*)+BAP(0,05)+NAA (0,01)	96,67±3,33a	218,33±11,05a
5-MS(*)+BAP(0,05)+NAA (0,05)	53,33±3,33b	29,33±1,76d

Ghi chú: (*) Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose + 8 g/l agar; (-) không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng. Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

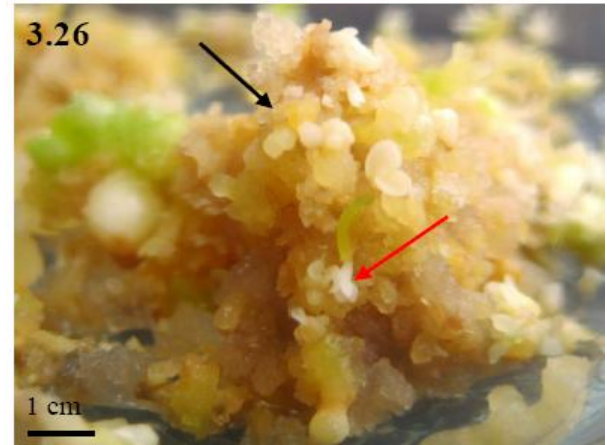
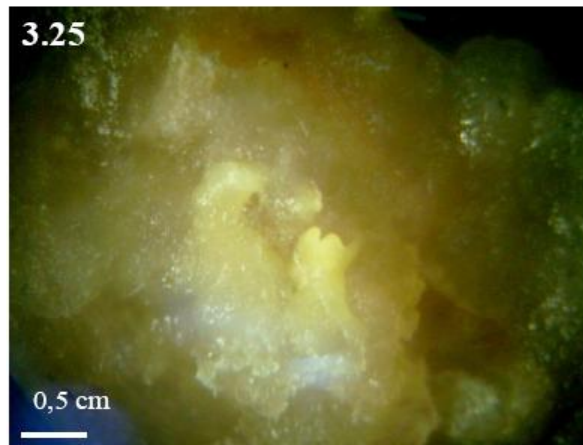
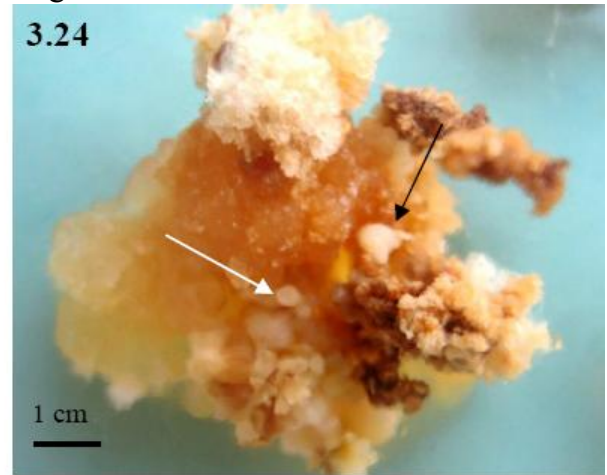
Tất cả các nghiệm thức đều có khả năng cảm ứng tạo phôi soma. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA (nghiệm thức 4) có phần trăm mẫu sinh phôi và số phôi trung bình trên một mẫu mô sẹo cao nhất (218 phôi/mẫu mô sẹo). Các nghiệm thức 1, 2, 3, 4 đều có phần trăm mẫu mô sẹo sinh phôi cao tuy nhiên số lượng phôi đạt được trên mỗi nghiệm thức là khác nhau. Ở nghiệm thức 1 (môi trường MS), sự phát sinh phôi diễn ra chậm hơn so với các nghiệm thức khác. Ở nghiệm thức 2 (môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP), mặc dù có sự tăng sinh khối mô sẹo tuy nhiên số lượng phôi soma đạt được không cao. Số phôi trên một mẫu mô sẹo tăng dần khi tăng

nồng NAA từ 0 đến 0,1 mg/l. Khi tăng nồng độ NAA lên đến 0,5 mg/l, phần trăm mẫu mô sẹo sinh phôi và số phôi trên một mẫu giảm.



Hình 6: Sự phát sinh phôi soma ở các nghiệm thức (3.9 môi trường MS; 3.10 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP; 3.10 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP; 3.11 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,02 mg/l NAA; 3.12 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA; 3.13 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA).

Quan sát các tế bào mô sẹo bằng kính hiển vi quang học vào ngày 0 và ngày 15 sau khi chúng được chuyển sang môi trường cảm ứng tạo phôi soma, ta nhận thấy có sự thay đổi hình dạng tế bào mô sẹo trong quá trình phát sinh phôi soma. Ở ngày 0, mô sẹo là những tế bào dài và không thấy sự phân chia tế bào. Ở ngày thứ 15, tế bào mô sẹo có ba loại hình dạng khác nhau là hình cầu, hình oval, hình dài và có sự phân chia tế bào. Theo Komamine và cộng sự, những tế bào hình cầu và những tế bào hình oval hoặc hình dài đều có khả năng phát triển thành phôi. Các tế bào hình oval và hình dài, thường là có nhiều không bào đã phát triển thành phôi vô tính từ các cụm tế bào bất đối xứng. Các tế bào hình cầu, thường thuộc hai loại hoặc giàu tế bào chất, hoặc giàu không bào, phát triển thành phôi từ cụm tế bào đối xứng.



Hình 7: Các biến đổi của mô sẹo trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA (3.23 mô sẹo có cấu trúc giống phôi quan sát ở ngày thứ 7 sau nuôi cấy; 3.24 xuất hiện các phôi hình cầu và hình tim ở ngày thứ 14 sau nuôi cấy; 3.25 phôi soma phát triển trên cụm mô sẹo ở ngày thứ 15 sau nuôi cấy; 3.26 xuất hiện phôi hình cầu và phôi trưởng thành có hai tử diệp ở ngày thứ 21 sau nuôi cấy).



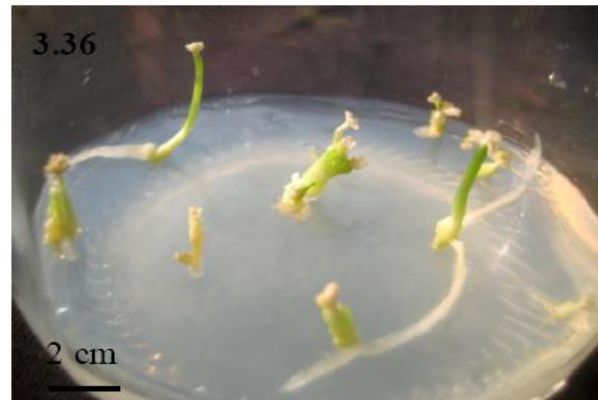
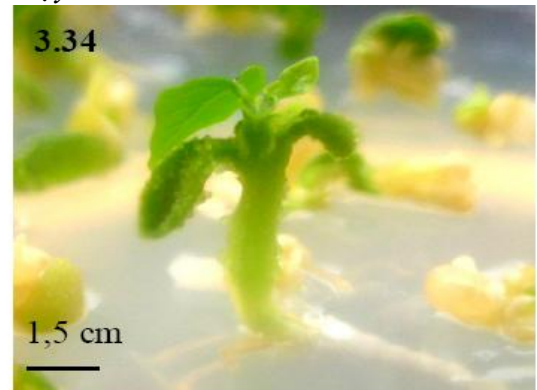
Hình 8: Các giai đoạn phát triển của phôi soma trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA (3.27 giai đoạn hình cầu; giai đoạn thủy lồi; 3.29 giai đoạn tử diệp; 3.30 giai đoạn cây mầm; 3.31 sự phát triển rễ khi nuôi cấy lỏng lác trên môi trường MS; 3.32 phôi soma bất thường với sự kém phát triển của lá mầm).

c)Thí nghiệm 3: Khảo sát các công thức và trạng thái môi trường khác nhau lên sự nảy mầm của phôi soma

Bảng 33: Tỷ lệ phần trăm phôi nảy mầm và tỷ lệ phần trăm phôi dị dạng

Nghiệm thức	Tỷ lệ (%) phôi nảy mầm	Tỷ lệ (%) phôi dị dạng
1-MS(*) – Đặc (Đối chứng)	10,00 ± 0,00c	11,67 ± 1,67d
2-MS(*)+BAP(0,5)+NAA (0,02) – Đặc	5,00 ± 0,00d	8,33 ± 1,67e
3-MS(*)+Nước dừa – Đặc	-	-
4-MS(*) – Lỏng tĩnh	3,33 ± 1,67d	5,00 ± 0,00e
5-MS(*)+BAP(0,5)+NAA (0,02) – Lỏng tĩnh	-	1,67 ± 1,67f
6-MS(*)+Nước dừa– Lỏng tĩnh	-	-
7-MS(*) – Lỏng lắc	60,00 ± 2,89a	31,67 ± 1,67a
8-MS(*)+BAP(0,5)+NAA (0,02) – Lỏng lắc	18,33 ± 1,67b	28,33 ± 1,67b
9-MS(*)+Nước dừa – Lỏng lắc	11,67 ± 1,67c	15,00 ± 0,00c

Ghi chú: (*) Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose; (-) không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.



Hình 9: 3.33 nuôi cấy lỏng lắc trong môi trường MS sau 1 tuần; 3.34 môi trường MS đặc sau 2 tuần; 3.35 nuôi cấy lỏng tĩnh trong môi trường MS sau 1 tuần; 3.36 môi trường đặc MS có bổ sung 10% nước dừa sau 2 tuần).

Phôi nảy mầm tốt nhất khi nuôi cấy lỏng lắc trên môi trường MS. Khi sử dụng môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,02 mg/l NAA hoặc 10% nước dừa thì mặc dù tỉ lệ ra rễ cũng khá cao, nhưng chồi không phát triển, lá mầm không phát triển hoặc chỉ có một lá mầm phát triển.

Khi so sánh về cách nuôi cấy, có thể thấy rằng nuôi cấy lỏng lắc kích thích sự nảy mầm của phôi tốt nhất, tiếp theo là nuôi cấy trên môi trường đặc và nuôi cấy lỏng tĩnh đem lại kết quả thấp nhất. Cùng một môi trường MS, tỉ lệ nảy mầm bình thường của phôi soma khi nuôi cấy lỏng lắc là 60%, phôi soma phát triển đầy đủ chồi, rễ và lá mầm, thân ốm và dài. Khi nuôi cấy trên môi trường MS đặc, sự nảy mầm của phôi diễn ra rất chậm, tỉ lệ nảy mầm thấp, những phôi nảy mầm bình thường không có sự kéo dài của thân. Khi nuôi cấy bằng phương pháp lỏng tĩnh, phôi soma có rễ phát triển khá dài, tuy nhiên lá mầm dị dạng và chồi kém phát triển.

Mặc dù phương pháp nuôi cấy lỏng lắc tỏ ra vượt trội hơn so với hai phương pháp còn lại, tuy nhiên bên cạnh đó nó vẫn có những hạn chế. Vì là môi trường lỏng nên sự lây nhiễm vi sinh vật sẽ xảy ra rất nhanh và gây hậu quả nghiêm trọng hơn so với môi trường đặc.

d)Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng một số công thức môi trường lên khả năng phát triển phôi (giai đoạn sau nảy mầm đến thành cây hoàn chỉnh)

Bảng 34: Các nghiệm thức của thí nghiệm

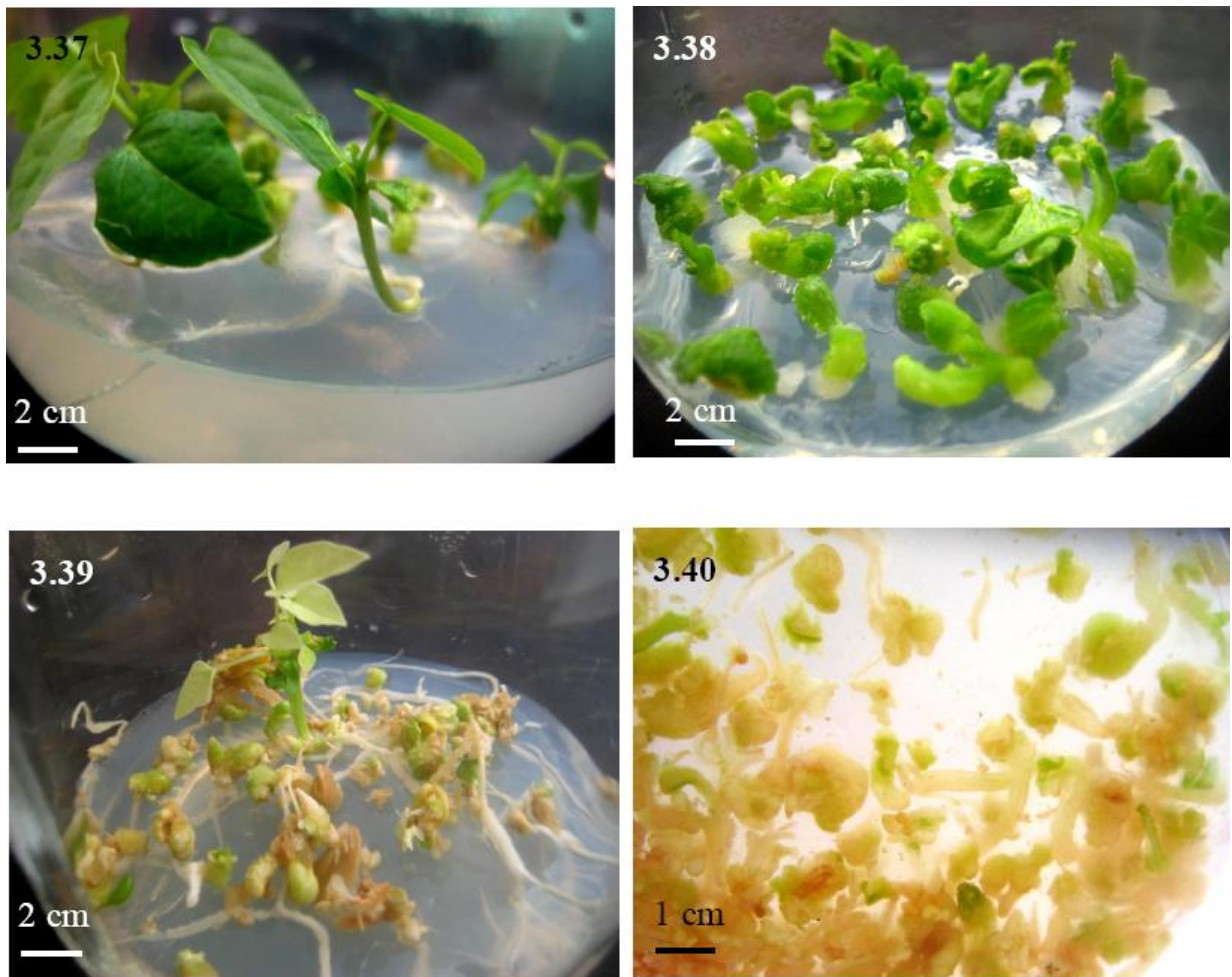
Nghiệm thức	Tỷ lệ cây con phát triển bình thường	Mô tả sự phát triển không bình thường
1-MS(*) – Đặc	46,67 ± 3,33a	Chỉ có rễ phát triển, lá mầm xoắn lại, chồi dị dạng hoặc không phát triển.
2-MS(*)+BAP(0,5)+NAA(0,02) – Đặc	7,87 ± 1,11b	Chỉ có rễ phát triển, lá mầm xoắn lại, chồi dị dạng
3-MS(*)+GA3(0,5)– Đặc	-	Rễ kém phát triển, phần gốc phình to, lá mầm và chồi phát triển không bình thường
4-MS(*)–Lỏng lắc	-	Phôi soma không tiếp tục phát triển mà hóa nâu
5-MS(*)+BAP(0,5)+NAA(0,02)– Lỏng lắc	-	Phôi soma không tiếp tục phát triển mà hóa nâu
6-MS(*)+GA3(0,5)– Lỏng lắc	-	Phôi soma không tiếp tục phát triển mà hóa nâu

Ghi chú: () Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose; (-) không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.*

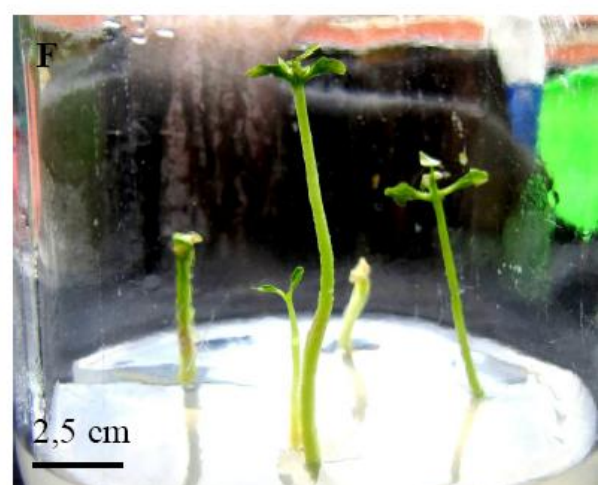
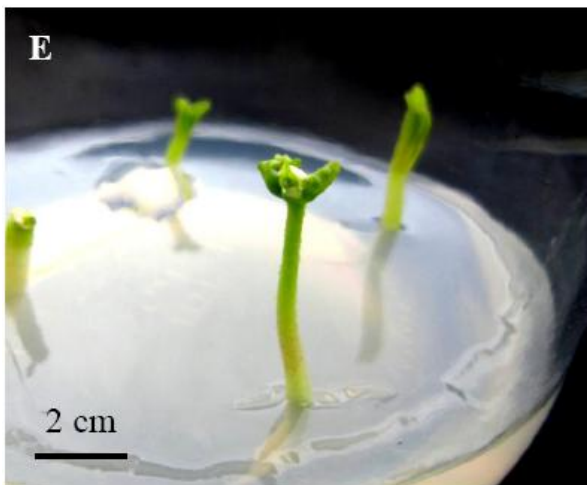
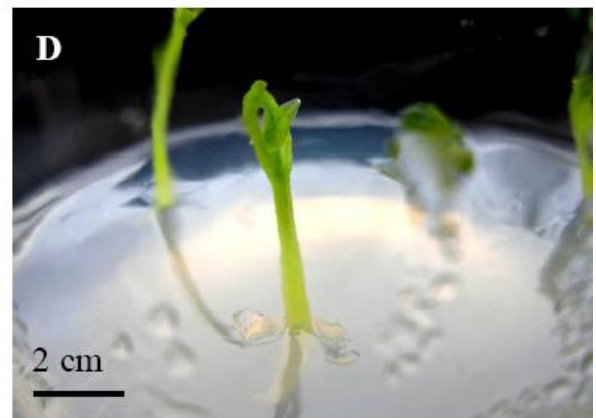
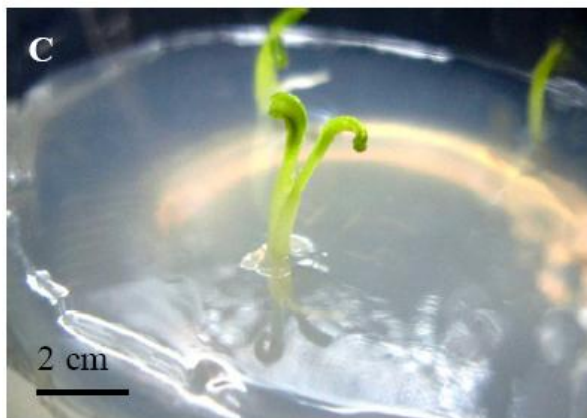
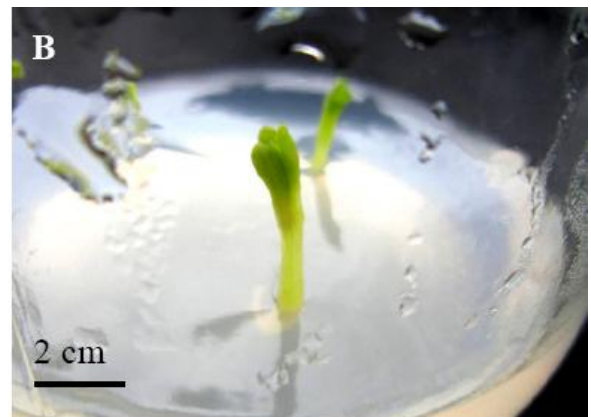
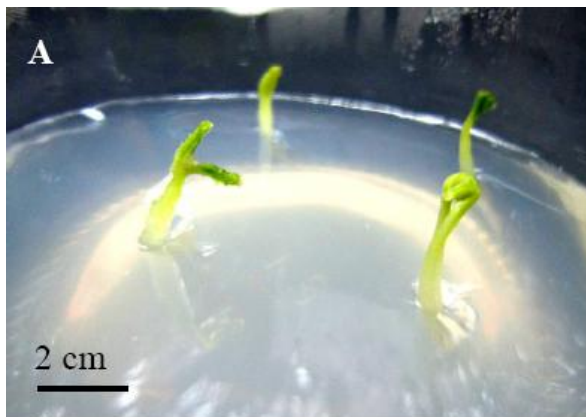
Kết quả từ thí nghiệm trên cho thấy rằng 60% phôi soma nảy mầm khi nuôi cấy lỏng lắc trên môi trường MS. Tuy nhiên, nếu tiếp tục nuôi cấy trong môi trường lỏng

lắc, những phôi soma này xuất hiện hiện tượng thủy tinh thể, chúng bị trương nước. Sau một thời gian, chúng bắt đầu hóa nâu và chết. Vì vậy thí nghiệm này được tiến hành để xác định môi trường và cách nuôi cấy thích hợp cho sự phát triển của phôi soma đã nảy mầm thành cây con hoàn chỉnh. Kết quả cho thấy tỷ lệ phôi soma phát triển thành cây con bình thường đạt được cao nhất trên môi trường MS đặc (46,67%). Trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,02 mg/l NAA, phần lớn cây con phát triển bất thường, chúng chỉ có rễ phát triển, lá mầm xoắn lại, chồi dị dạng. Còn khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l GA₃, cây con có rễ kém phát triển, phần gốc phình to, lá mầm và chồi phát triển không bình thường. Khi nuôi cấy bằng phương pháp lỏng lắc, trên tất cả các môi trường, phôi soma không phát triển mà từ từ hóa nâu. Phôi bị trương nước và bị hiện tượng thủy tinh thể do ngập quá lâu trong môi trường.

Sau hai tháng nuôi cấy trên môi trường MS đặc, các phôi soma đã nảy mầm tiếp tục phát triển thành cây con hoàn chỉnh, có chiều cao 10 -15 cm với bộ rễ phát triển mạnh, đủ lớn để chuyển từ điều kiện nuôi cấy *in vitro* ra vườn ươm.



Hình 10: Hình ảnh phôi soma nảy mầm sau 1 tháng (3.37 môi trường MS; 3.38 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l GA₃; 3.39 môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP và 0,02 mg/l NAA; 3.40 tiếp tục nuôi cấy lỏng lắc trong môi trường MS sau 2 tuần).



Hình 11: Sự phát triển của cây con (từ phôi soma được cho nảy mầm trong môi trường MS lỏng lẻo sau khi được chuyển sang môi trường MS đặc).



Hình 12: Cây đủ đủ từ phôi soma (sau 1 tháng nuôi cấy trên môi trường MS đặc)



Hình 13: Cây đủ đủ từ phôi soma (sau 2 tháng nuôi cấy trên môi trường MS đặc)

5.1.2.3. Hoạt động 3: Khảo sát điều kiện thuần dưỡng cây con in vitro và thành phần môi trường giá thể trồng cây

a) Thí nghiệm 1: Thuần dưỡng cây con

Bảng 35: Tỷ lệ cây sống và tình hình sinh trưởng cây in vitro sau khi thuần dưỡng

Chỉ tiêu	Đối chứng		Thuần dưỡng		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
(%)cây sống sau thuần dưỡng	54,3	8,4	93,7	4,7	6,67**
Số lá / cây sau 4 tuần	8,2	4,3	12,8	3,5	4,52**
Chiều cao cây sau 4 tuần (cm)	12,6	4,7	15,7	3,6	4,63**
Đường kính thân sau 4 tuần (mm)	5,3	2,3	7,2	2,7	4,48**

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Trong điều kiện có thuần dưỡng, tỷ lệ cây sống sau thuần dưỡng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng không thuần dưỡng. Các chỉ tiêu về sinh trưởng cũng cho thấy cây phát triển tốt hơn. Ở nghiệm thức không thuần dưỡng cây có chiều hướng chậm hình thành lá, cũng như rễ phát triển chậm.

b) Thí nghiệm 2: Khảo sát thành phần giá thể cây con giai đoạn vườn ươm

Bảng 36: Tỷ lệ cây sống sau khi chuyển ra vườn ươm

Nghiệm thức	Tỷ lệ cây sống sau khi chuyển ra vườn ươm		
	2 tuần	4 tuần	6 tuần
1-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:0:0:0)- Đ/C	65,3c	62,7c	58,1c
2-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:1:1:1)	88,7b	83,6b	78,4b
3-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:1:2)	94,3a	91,6a	88,5a
4-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:2:1)	88,5b	82,8b	75,1b
F test	*	*	*
CV (%)	8,95	9,12	10,45

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

Tất cả các thời điểm theo dõi, nghiệm thức 3 luôn cho tỷ lệ cây sống trong vườn ươm cao và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Các nghiệm thức khác đều có tỷ lệ cây sống cao hơn khác biệt so với chứng.

Bảng 37: Chiều cao cây, số lá và đường kính thân ở các nghiệm thức thí nghiệm sau 2 tháng trồng trên giá thể

Nghiệm thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Đường kính thân (mm)
1-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:0:0:0)- Đ/C	12,7c	6,8c	4,3c
2-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:1:1:1)	14,8b	6,8c	5,7b
3-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:1:2)	17,1a	10,4a	6,9a

4-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:2:1)	14,5b	8,2b	5,5b
F test	*	*	*
CV (%)	12,85	11,38	8,93

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

Tình hình sinh trưởng của cây cũng có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức 3 cho kết quả tốt nhất, có chiều cao cây, số lá và đường kính thân cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 38: Số rễ và chiều dài rễ của các nghiệm thức thí nghiệm

Nghiệm thức	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)
1-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:0:0:0)- Đ/C	8,4	2,2c
2-Đất:Cát:Tro trâu:HC (1:1:1:1)	15,1	2,9b
3-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:1:2)	22,7	3,8a
4-Đất:Cát:Tro trâu:HC (2:1:2:1)	16,3	2,8b
F test	*	*
CV (%)	13,84	11,69

Ghi chú: Trong cùng một cột các số có ít nhất một ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

Khảo sát sự phát triển rễ cũng cho kết quả tương tự. Nghiệm thức 3 cho kết quả tốt nhất và khác biệt có ý nghĩa về sự hình thành rễ và phát triển rễ. Tóm lại môi trường của nghiệm thức 3 (Đất:Cát:Tro trâu:HC = 2:1:1:2 là phù hợp cho cây con in vitro phát triển.

5.1.3 Nội dung 3: Nghiên cứu trồng thử nghiệm cây giống đủ đủ lượng tính sạch bệnh được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô in vitro.

Bảng 39: Số lá/ cây sau khi trồng

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
(%) cây sống sau trồng 1 tháng	85,1	13,6	87,4	9,3	0,78ns
Số lá / cây sau 2 tháng	14,4	2,1	15,5	1,8	0,24ns
Số lá / cây sau 4 tháng	19,7	3,6	20,9	1,4	0,19ns
Số lá / cây sau 6 tháng	24,4	4,8	26,8	2,6	0,38ns

*Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test*

Bảng 40: Chiều cao cây (m) sau khi trồng

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
Chiều cao cây sau 2 tháng	0,95	0,24	0,88	0,11	0,45ns

Chiều cao cây sau 4 tháng	1,27	0,45	1,22	0,14	0,21ns
Chiều cao cây sau 6 tháng	1,54	0,35	1,48	0,12	0,27ns

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Bảng 41: Đường kính gốc (cm) sau khi trồng

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
Đường kính gốc sau 2 tháng	3,63	0,89	3,54	0,58	0,45ns
Đường kính gốc sau 4 tháng	5,26	0,93	5,55	0,49	0,38ns
Đường kính gốc sau 6 tháng	8,47	1,07	8,59	0,53	0,77ns

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Kết quả theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng như số lá, chiều cao cây, đường kính gốc cho thấy khác biệt không nhiều giữa cây trồng hạt và được nhân giống in vitro. Các số liệu thu được khác biệt không ý nghĩa qua t – Test.

Bảng 42: Tình hình ra hoa, đậu quả sau khi trồng

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
Thời điểm ra hoa (ngày sau trồng)	227	38	208	16	3,12*
Số hoa/ cây	63,6	15,7	88,9	8,3	3,24*
Tỷ lệ hoa lưỡng tính (%)	46,4	10,3	83,7	7,4	4,52**
Tỷ lệ đậu quả (%)	22,7	9,4	34,6	5,7	2,84*

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Cây in vitro có thời gian ra hoa sớm hơn, số hoa nhiều hơn, tỷ lệ hoa lưỡng tính cũng như tỷ lệ đậu quả cao hơn khác biệt có ý nghĩa so với cây ương hạt qua thống kê t-Test. Cây in vitro ra hoa ở 208 ngày sau trồng, trong khi cây ương hạt ra hoa ở 227 ngày sau trồng.

Bảng 43: Tình hình bệnh, yếu tố cấu thành năng suất và năng suất

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
Tỷ lệ cây nhiễm đốm vòng (%)	56,7	13,7	8,6	1,8	4,26**
Tỷ lệ cây nhiễm bệnh khảm (%)	63,2	23,4	13,2	2,4	3,76**
Số trái/ cây	14,4	3,4	16,7	1,2	4,52*
Trọng lượng trái (kg)	1,3	0,5	1,5	0,3	3,23*
Năng suất (kg/ cây)	18,72	3,5	22,05	2,7	4,27*

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Ở lô trồng cây in vitro có tỷ lệ nhiễm bệnh đốm vòng và bệnh khảm ở mức thấp khác biệt rất có ý nghĩa so với đối chứng. Số trái/ cây và trọng lượng trái đều cao khác

biệt so với đối chứng, từ đó năng suất gia tăng (ở lô mô hình đạt 28,05kg/cây, trong khi đó đối chứng chỉ đạt 18,72kg/ cây).

Bảng 44: Chất lượng quả

Chỉ tiêu	Đối chứng		Cây in vitro		t – Test (so với đối chứng)
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	
Chiều dài quả (cm)	30,2	7,7	33,6	4,3	0,63ns
Đường kính quả (cm)	13,2	3,5	13,4	2,3	1,15ns
Số hạt / quả	385	48	489	37	4,28**
Độ dày thịt quả	17,4	2,4	19,8	1,8	2,82*
Độ brix thịt quả khi chín	12,3	3,4	13,8	2,6	1,26ns
Màu sắc thịt quả khi chín	Vàng		Vàng		

Ghi chú: (ns) khác biệt không có ý nghĩa, (**) khác biệt ở mức 0,01 qua phép thử t-Test

Cây in vitro cho quả không khác biệt về chiều dài quả, đường kính quả, độ brix và màu sắc thịt quả khi chín. Tuy nhiên số hạt/ quả nhiều hơn, độ dày thịt quả nhiều hơn khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng.

Bảng 45: Hiệu quả kinh tế trồng cây in vitro so với đối chứng (quy ra 1ha)

Hạng mục	Lô đối chứng	Lô trồng cây in vitro
Chi phí cây giống (ngàn đồng)	3	5
Tổng chi phí (ngàn đồng)	41.675	46.283
Doanh thu (ngàn đồng)	58.605	84.181
Lợi nhuận (ngàn đồng)	16.930	37.898
Tỷ suất lợi nhuận (lần)	0,41	0,82

Tổng chi phí ở lô thực nghiệm cao hơn (46.283.000 đ/ha) so với lô đối chứng (41.675.000 đ/ha), do tốn chi phí cây giống tăng thêm. Tuy nhiên do năng suất tăng nên doanh thu (84.181.000 đ/ha), lợi nhuận (37.898.000 đ/ha) và tỷ suất lợi nhuận (0,82 lần) cao hơn so với lô đối chứng. Hiệu quả kinh tế đạt cao ở lô mô hình chủ yếu là do năng suất cao kết hợp với tỷ lệ trái loại 1 cao, nên giá bán cao.

5.1.4. Nội dung 4: Đào tạo kỹ thuật viên nhân giống cây đu đủ lưỡng tính bằng phương pháp nuôi cấy mô in vitro

Đã tổ chức xong lớp đào tạo kỹ thuật viên về nhân giống đu đủ bằng kỹ thuật nuôi cấy mô invitro vào tháng 8/2011.

-Đối tượng học viên: cán bộ nông nghiệp ở các tỉnh miền Đông Nam bộ.

-Địa điểm: Tại trung tâm Nghiên cứu Cây ăn quả miền Đông Nam bộ

-Số lượng: 10 người (gồm Trung tâm Khuyến nông Bà Rịa Vũng Tàu 4 cán bộ kỹ thuật nông nghiệp; Trung tâm Khuyến nông Đồng Nai 2 cán bộ kỹ thuật nông nghiệp; công ty Giống Cây trồng Đồng Nai 2 cán bộ kỹ thuật nông nghiệp và Trung tâm khuyến nông Bình Dương 2 cán bộ kỹ thuật nông nghiệp).

5.2. Tổng hợp các sản phẩm đề tài

5.2.1. Các sản phẩm khoa học:

TT	Tên sản phẩm	Đơn vị tính	Số lượng theo kế hoạch phê duyệt	Số lượng đạt được	% đạt được so với kế hoạch	Ghi chú
1	Giống đu đủ phù hợp được đề xuất để sản xuất cây giống lưỡng tính in vitro	Giống	1	1	100%	
2	Quy trình nhân giống in vitro cây đu đủ lưỡng tính, sạch bệnh với hệ số nhân giống cao.	Quy trình	1	1	100%	
3	Bài báo khoa học	Bài	2	2	100%	

5.2.2. Kết quả đào tạo/tập huấn cho cán bộ hoặc nông dân

TT	Số lớp	Số người/lớp	Ngày /lớp	Tổng số người			Ghi chú
				Tổng số	Nữ	Dân tộc thiểu số	
1	01	10	10	10	4	1	

5.3. Đánh giá tác động của kết quả nghiên cứu

5.3.1. Hiệu quả môi trường

-Cung cấp nguồn giống sạch bệnh giúp hạn chế việc sử dụng các loại thuốc BTVTV giúp giảm tác động không tốt đối với môi trường tự nhiên và sức khỏe của người tiêu dùng và người sản xuất.

-Cây giống đồng đều và chất lượng tốt, sau trồng sẽ giảm tỷ lệ chết do đó tăng độ che phủ đất.

5.3.2. Hiệu quả kinh tế - xã hội

-Cây giống *in vitro* lưỡng tính năng suất cao dần dần thay thế các giống đu đủ đang canh tác hiện tại đang bị thoái hóa, cho năng suất thấp và dễ bị nhiễm sâu bệnh.

-Đề tài góp phần trong công tác giảm nghèo cho vùng nông thôn, vùng sâu nằm trong chiến lược giảm nghèo của nước ta.

-Canh tác đu đủ ổn định về kinh tế kéo theo hạn chế các vấn đề tàn phá rừng và các nguồn tài nguyên khác tại địa phương.

5.4. Tổ chức thực hiện và sử dụng kinh phí.

5.4.1. Tổ chức thực hiện

-Có sự phối hợp nghiên cứu với Trường Đại học Khoa học tự nhiên TP. Hồ Chí Minh.

-Có sự phối hợp chặt chẽ với địa phương và cơ quan khuyến nông tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu, Đồng Nai trong việc khảo sát hiện trạng, đào tạo kỹ thuật viên và giới thiệu mô hình thử nghiệm để chuyển giao tiến bộ kỹ thuật từ đề tài.

5.4.2. Sử dụng kinh phí

-Kinh phí theo dự toán: 420 triệu đồng

-Kinh phí đã sử dụng: 420 triệu đồng

Phần 6: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

6.1. Kết luận

6.1.1. Hiện trạng sản xuất đu đủ tại miền Đông Nam bộ

-Đu đủ được trồng rải rác khắp nơi ở miền Đông Nam bộ, tuy nhiên hầu hết các vườn trồng đều ở qui mô diện tích nhỏ lẻ phân tán, ít có vườn đu đủ thâm canh. Đa số các nhà vườn trồng theo kiểu xen canh hoặc trồng theo bờ ranh. Hầu hết các vườn đu đủ được nhân giống bằng hạt. Nguồn giống phần ít là hạt giống F1 được nông dân mua từ các công ty, phần còn lại đa số nông dân tự chọn trái trong vườn, lấy hạt và tự nhân giống để trồng. Do vậy đa số vườn đu đủ của nông dân không đồng nhất về giống, tỷ lệ cây bị nhiễm virus khá cao do nguồn giống không đảm bảo sạch bệnh.

-Về kỹ thuật canh tác: Đa số vườn chưa áp tiến bộ kỹ thuật một cách đồng bộ, đặc biệt là khâu thiết kế hàng trồng, bón lót, bón phân và phòng trừ sâu bệnh.

-Ghi nhận có 7 giống đu đủ hiện đang được trồng (giống địa phương ruột vàng; đu đủ Thái Lan; Hồng Kông da bông; Đài Loan tím; Hồng Phi 786; Giống F1 nông hữu số 1 – 784 và Trang nông 18). Trong đó giống đu đủ ruột vàng được trồng phổ biến nhất.

-Giống có thể phục vụ tốt cho nhu cầu sản xuất và đề xuất làm vật liệu cho nhân giống *in vitro* là Ruột vàng và Trang Nông 18. Tuy nhiên giống Ruột vàng qua nhiều năm canh tác với đặc tính thụ phấn chéo nên cây con bị biến dị nhiều, không còn giữ đúng đặc tính ban đầu của giống nên việc tuyển chọn cây có năng suất cao, phẩm chất tốt và nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cho giống này là rất cần thiết.

6.1.2. Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro*

-Trong số 70 mẫu ở 70 cá thể của 7 giống đu đủ ở 2 tỉnh Đồng Nai và Bà Rịa – Vũng Tàu được thu thập và giám định bệnh thì có 45 mẫu dương tính với các bệnh đốm vòng và bệnh khảm do virus, chỉ có 15 mẫu (trong đó có 5 mẫu thuộc giống ruột vàng và 3 mẫu thuộc giống Trang Nông) cho kết quả âm tính với cả 2 bệnh đốm vòng và khảm do virus.

-Đối với vật liệu là lá trên chồi thân từ cây trưởng thành, trong môi trường ủ tối, MS ½ có bổ sung 30 g/l sucrose + 400 mg/l glutamine + 8g/l agar; Chất điều hòa sinh trưởng bổ sung thêm gồm 0,02 mg/l BAP và 1 mg/l 2,4-D cho kết quả tốt nhất trong tạo mô sẹo.

-Môi trường để nuôi cấy kích thích hình thành phôi soma được pha chế theo công thức: MS bổ sung 30 g/l sucrose + 8 g/l agar; Chất điều hòa sinh trưởng bổ sung thêm gồm 0,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA cho kết quả tốt nhất trong kích thích mô sẹo hình thành phôi.

-Môi trường để nuôi cấy kích thích phôi nảy mầm được pha chế theo công thức: MS bổ sung 30 g/l sucrose; Không cần bổ sung thêm chất điều hòa sinh trưởng, trạng thái lỏng lẻo cho kết quả tốt nhất trong kích thích phôi nảy mầm.

-Môi trường để nuôi cấy kích thích phôi đã nảy mầm phát triển thành cây hoàn chỉnh được pha chế theo công thức: MS bổ sung 30 g/l sucrose; Không cần bổ sung thêm chất điều hòa sinh trưởng, trạng thái đặc cho kết quả tốt nhất trong kích thích phôi đã nảy mầm phát triển thành cây hoàn chỉnh.

-Áp dụng thuần dưỡng 3 ngày ở môi trường bên ngoài phòng thí nghiệm trước khi tách cây ra giá thể bầu ươm thì cho tỷ lệ cây sống cao, trong khi chuyển trực tiếp không thuần dưỡng tỷ lệ cây sống rất thấp.

-Môi trường giá thể phù hợp cho cây con phát triển là đất, cát, tro trấu, phân hữu cơ với tỉ lệ 2:1:1:2.

6.1.3.Thử nghiệm trồng cây giống đủ đủ lượng tính được nhân giống *in vitro*

Cây được nhân giống bằng phương pháp invitro và ương hạt không khác biệt nhiều về mặt sinh trưởng. Tuy nhiên năng suất cây invitro cao hơn thể hiện qua sự tăng trọng lượng trái và số trái/ cây. Chất lượng trái không khác biệt. Tỷ lệ nhiễm bệnh khảm và đốm vòng rất thấp so với đối chứng.

6.1.4.Đào tạo kỹ thuật viên nhân giống cây đủ đủ bằng phương pháp *in vitro*

Đã tổ chức xong lớp đào tạo kỹ thuật viên về nhân giống đủ đủ bằng kỹ thuật nuôi cấy mô *in vitro* cho 10 học viên là cán bộ kỹ thuật nông nghiệp từ Trung tâm Khuyến nông Bà Rịa Vũng Tàu (4 người); Trung tâm Khuyến nông Đồng Nai (2 người); Công ty Giống Cây trồng Đồng Nai (2 người); Trung tâm Khuyến nông Bình Dương (2 người).

6.2.Đề nghị

Ứng dụng quy trình sản xuất cây giống đu đủ bằng kỹ thuật *in vitro* để tạo cây giống đồng đều, sạch bệnh, lưỡng tính nhằm tăng năng suất và tính bền vững trong canh tác đu đủ ở Đông Nam bộ.

Tiền Giang, ngày tháng năm 2011

Chủ nhiệm đề tài

(Họ tên, ký)

Cơ quan chủ trì

(Họ tên, ký và đóng dấu)

ThS. Nguyễn An Đệ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Bùi Trang Việt, 2000. Sinh lý thực vật đại cương - tập 2. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Tp. Hồ Chí Minh.
2. Lê Lương Tề và Vũ Triệu Mân, 1999. Bệnh vi khuẩn và virus hại cây trồng. Nhà xuất bản Giáo Dục.
3. Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên, 2002. Công nghệ tế bào. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia, Tp. Hồ Chí Minh.
4. Nguyễn Thị Nhẫn, 2004. Nghiên cứu quy trình nhân nhanh *in vitro* cây đu đủ (*Carica papaya* L.) Tạp chí Khoa học Nông nghiệp tập 2, số 3/2004.
5. Nguyễn Trịnh Nhất Hằng, 2008. Xác định mối quan hệ di truyền một số giống đu đủ bằng phương pháp RAPD markers – đánh giá khả năng chịu ngập liên quan giữa các giống. Báo cáo khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 2008.
6. Nguyễn Trịnh Nhất Hằng, Huỳnh Văn Chánh và Nguyễn Minh Châu, 2008. Nghiên cứu cải thiện một số đặc tính giống đu đủ địa phương Đài Loan tím bằng xử lý đột biến tia gamma. Báo cáo khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 2008.
7. Nguyễn Trịnh Nhất Hằng, Nguyễn Hữu Hoàng và Nguyễn Minh Châu, 2000. Ảnh hưởng của một số gốc ghép đến sự sinh trưởng, sự ra hoa và năng suất đu đủ Trạng nguyên. Kết quả nghiên cứu khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 1999-2000.
8. Nguyễn Văn Hùng và Phạm Thị Mười, 2005. Khảo nghiệm các giống đu đủ tại Bà Rịa Vũng Tàu. Báo cáo khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 2005.
9. Trần Kim Cương, Phạm Hồng Quảng, 2000. Giữ dòng thuần một số giống đu đủ và khảo sát tổ hợp lai đu đủ. Kết quả nghiên cứu khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 1999-2000.
10. Trần Thế Tục, 1999. Kỹ thuật trồng xoài, na, đu đủ, hồng, xiêm. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
11. Trần Thế Tục, Đoàn Thế Lư, 2002. Cây đu đủ và kỹ thuật trồng. Nhà xuất bản Lao Động.
12. Trần Thị Mỹ Hạnh, Trần Thị Oanh Yến, 2004. Kết quả đánh giá các tổ hợp lai đu đủ. Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ cây ăn quả 2003-2004. Trang 123-132.

13. Trần Thị Oanh Yến, 2003. Khảo nghiệm các giống đu đủ tại Tiền Giang. Báo cáo khoa học Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam 2003.
14. Trần Thị Oanh Yến, Trần Thị Kim Cương, 2001. Chọn tạo giống đu đủ. Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ cây ăn quả 2000-2001. Nhà xuất bản nông nghiệp. Trang 128-135.
15. Trần Văn Minh, 1997. Công nghệ sinh học cây ăn trái. Nhà xuất bản Trẻ.
16. Võ Thế Truyền, 2004. Một số cải thiện trong kỹ thuật canh tác cây ăn quả. Hội thảo “Hiệu quả 10 năm trong hợp tác Pháp – Việt trong cải thiện sản xuất cây ăn quả ở Việt Nam” tổ chức tại Viện Nghiên cứu Cây ăn quả miền Nam, tháng 5/2005.
17. Vũ Công Hậu, 1999. Trồng cây ăn quả Việt Nam. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

Tiếng Anh

1. Balakrishnamurthy G. and Saraswathi M.S., 2000. Biotechnology of Horticultural Crops. Naya Prokash, India. 256-276.
2. Bhattacharya J. and Khuspe S., 2001. *In vitro* and *in vivo* germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. Scientia Horticulturae, Volume 91, Issues 1-2, 30, Pages 39-49.
3. Bhattacharya J., Renukdas N.N., Khuspe S.S. and Rawal S.K., 2003. Multiple shoot regeneration from immature embryo explants of papaya. Biologia Plantarum. 47 (3): 327-331.
4. Chen M.H., Wang P.J. and Maeda E., 1987. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Carica papaya* L. tissue cultures derived from root explants. Plant Cell Rep. 6:348-351
5. Chuo C.L., 1998. Enhancement of *in vitro* growth of papaya multishoots by aeration. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Volume 53, Number 3, 221-225.
6. Drew R.A. and Miller RM, 1989. Nutritional and cultural factors affecting rooting of papaya (*Carica papaya* L.) *in vitro*. J. Hortic. Sci. 64: 767–773
7. Drew R.A. and Smith NG, 1986. Growth of apical and lateral buds of papaw (*Carica papaya*, L.) as affected by nutritional and hormonal factors. J. Hortic. Sci. 61: 535–543.
8. Drew R.A., 1987. The effects of medium composition and cultural conditions on *in vitro* root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.) J. Hortic. Sci. 62: 551–556
9. Drew R.A., 1988. Rapid clonal propagation of papaya *in vitro* from mature field grown trees. HortScience 23: 609–611

10. Drew R.A., 1992. Improved techniques for *in vitro* propagation and germplasm storage of papaya. HortScience 27: 1122–1124
11. Fredah K. R., 2007. Morphology of papaya plants derived via anther culture. Scientia Horticulturae. Volume 111, Issue 3, pages 213-219.
12. Fredah K., Rimberia, Shinichi A, Takeomi E and Yukio I, 2006. Sex and ploidy of anther culture derived papaya (*Carica papaya* L.) plants. Euphytica. 149: 53–59.
13. Jiwu Z., 1990. Micropropagation and cryopreservation of *in vitro* shoot tips of 'Suizhonghong' papaya. Annals of Botany, 66: 597-603.
14. Jordan M. and Velozo J., 1996. Improvement of somatic embryogenesis in highland-papaya cell suspensions. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 44: 189-194.
15. Kataoka I. and Inoue H., 1992. Factors influence ex vitro rooting of tissue culture papaya shoots. Acta Hort. 321: 589–586.
16. Krishnaraj S. and Vasil I. K., 1995. Somatic embryogenesis in herbaceous monocots. In: *In vitro* embryogenesis in plants, Thorpe T. A. (ed), 11: 417-470.
17. Lai C.C., Yu Y., Yeh S.D. and Yang J.S., 1998. Enhancement of *in vitro* growth of papaya multishoots by aeration. Plant Cell, Tiss Organ Cult. 53:221-225.
18. Litz R.E. and Conover R.A., 1982. *In vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration from *Carica papaya* L. ovular callus. Plant Sci Lett. 26:153-158.
19. Litz R.E. and Conover R.A., 1983. High-frequency somatic embryogenesis from *Carica* suspension cultures. Ann Bot. 51:683-686.
20. Litz R.E. and O'Hair S.K., Conover R.A., 1983. *In vitro* growth of *Carica papaya* L. cotyledons. Sci Hort. 19:287-293.
21. Litz R.E., Conover R.A., 1981. *In vitro* polyembryony in *Carica papaya* L. ovules. Z Pflanzenphysiol. 104:285-288.
22. Litz R.E., Conover R.A., 1982. *In vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration from *Carica papaya* L. ovular callus. Plant Sci Lett. 26:153-158.
23. Magdalita P.M., Godwin I.D., Drew R.A. and Adkins S.W., 1997. Effect of ethylene and culture environment on development of papaya nodal cultures. Plant Cell Tiss Organ Cult. 49: 93–100.
24. Manshardt R.M. and Wenslaff T.F., 1989. Zygotic polyembryony in interspecific hybrids of *Carica papaya* and *C. cauliflora*. J Amer Soc Hort Sci. 114:684-689.

25. Maureen M.M., Fitch and Richard M., 1990. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of papaya (*Carica papaya* L.). Plant Cell Reports. 9:320-324.
26. Miller R.M. and Drew R.A., 1990. Effect of explant type on proliferation of *Carica papaya* L. *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 21: 39-44.
27. Mousumi M., Sukumar G. and Barid B. M., 1994. Callus culture and plantlet production in *Carica papaya* (Var. Honey Dew). Plant Cell Reports. 13:390-393.
28. Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15: 473–497.
29. Navin K., Sharma and Seema B., 2001. Effects of *Phytophthora palmivora* on Zygotic Embryos of Papaya *In vitro*. Scientia Horticulturae, Volume 91, Issues 1-2, Pages 39-49.
30. Pablito M., Magdalita and Charles P. M., 2003. Determining the Sex of Papaya for Improved Production. University of the Philippines at Los Banos, Philippines.
31. Reuveni O., Shlesinger D.R. and Lavi U., 1990. *In vitro* clonal propagation of dioecious *Carica papaya*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 20: 41-46.
32. Rimberia F.K., Sunagawa H., Urasaki N., Ishimine Y. and Adaniya S., 2005. Embryo induction via anther culture in papaya and sex analysis of the derived plantlets. Sci Hortic. 103: 199–208.
33. Tsong A.Y., Shyi D.Y., Ying H., Cheng and Yang J.S., 2000. Efficient rooting for establishment of papaya plantlets by micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 61: 29–35.
34. Wilna D.W., 2004. Clonal propagation of papaya *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 12: 3, 305-310.
35. Yang J.S. and Ye C.A., 1992. Plant regeneration from petioles of *in vitro* regenerated papaya (*Carica papaya* L.) shoots. Bot. Bull Acad. Sin. 33: 375–381.

CÁC BÀI BÁO ĐÃ GỬI ĐĂNG TẠP CHÍ

1. Nguyễn An Đệ, Bùi Xuân Sơn, Huỳnh Thị Bích Tuyên và Âu Thị Ngọc Ánh, 2011. Kết quả nghiên cứu bước đầu quy trình nuôi cấy mô nhân giống cây đu đủ lưỡng tính. Tạp chí Khoa học và Công nghệ tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu (ISSN 1859-91264).
2. Đỗ Bích Ngọc, Bùi Xuân Sơn và Bùi Văn Lệ, 2012. Phát sinh phôi sinh dưỡng từ mô sẹo có nguồn gốc từ lá cây đu đủ (*Carica papaya* L.). Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm Tp. HCM.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1: Thành phần môi trường Murashige & Skoog (1962)

Khoáng đa lượng	Nồng độ (mg/l)
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
NaH ₂ PO ₄	170
Khoáng vi lượng	Nồng độ (mg/l)
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ .2H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ .4H ₂ O	8,6
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Dung dịch Fe-EDTA	Nồng độ (mg/l)
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA	37,3
Vitamin MS	Nồng độ (mg/l)
Glycine	2
Myo-inositol	100
Thiamin	0,1

Phụ lục 2: Danh sách học viên tham gia lớp đào tạo kỹ thuật viên nhân giống cây đu đủ bằng kỹ thuật *in vitro*.

TT	Họ và tên	Địa chỉ
1	Huỳnh Bạch Vân	Trung tâm Khuyến nông BRVT
2	Nguyễn Thị Duyên	Trung tâm Khuyến nông BRVT
3	Lê Minh Tâm	Trung tâm Khuyến nông BRVT
4	Trần Thị Thiện	Trung tâm Khuyến nông BRVT
5	Lưu Thế Đức	Trung tâm Khuyến nông Bình Dương
6	Vương Đình Nhân	Trung tâm Khuyến nông Bình Dương
7	Nguyễn Văn Linh	Trung tâm Khuyến nông Đồng Nai
8	Đặng Trọng Dũng	Trung tâm Khuyến nông Đồng Nai
9	Mai Thị Huệ	Công ty Giồng cây trồng Đồng Nai
10	Đỗ Văn Tuất	Công ty Giồng cây trồng Đồng Nai

