

# VAI TRÒ CỦA CHẤT ĐIỀU TIẾT SINH TRƯỞNG, ÁNH SÁNG VÀ GIÁ THỂ TRONG NHÂN GIỐNG INVITRO CHUỐI TIÊU HỒNG

Đặng Thị Mai, Trịnh Thị Nhất Chung và cộng sự

## TÓM TẮT

Công nghệ nhân giống invitro chuối tiêu Hồng đã được ứng dụng rộng rãi trong những năm gần đây. Nhằm góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống chuối tiêu Hồng bằng phương pháp nuôi cấy invitro chúng tôi đã nghiên cứu vai trò của chất điều tiết sinh trưởng, ánh sáng và giá thể trong nhân giống invitro chuối tiêu Hồng. Kết quả cho thấy, nồng độ 3,0 ppm BAP + 20 mg/lít cao nấm men cho hệ số nhân và chất lượng chồi tốt nhất; môi trường ra rễ tạo cây hoàn chỉnh bổ sung 0,4 ppm  $\alpha$ -NAA là thích hợp hơn. Cây sau khi được cấy vào môi trường ra rễ được nuôi trong điều kiện nhân tạo 1 tuần sau đó đưa cây ra điều kiện chiếu sáng tự nhiên với cường độ 10% trong 3 tuần cho tỷ lệ cây sống cao, cây mau ra rễ và ra lá mới ở khi đưa cây ra vườn ươm 1; giai đoạn vườn ươm II cây chuối tiêu Hồng sinh trưởng phát triển tốt nhất trên giá thể Đất phù sa + Phân chuồng (2:1).

**Từ khóa:** nhân giống chuối, nuôi cấy Invitro chuối, chất điều tiết sinh trưởng, điều kiện ánh sáng.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chuối *Musa* spp. được trồng phổ biến trên 100 nước và có diện tích trồng hàng năm khoảng 10 triệu ha sản lượng là 88 triệu tấn. Ở Việt Nam, chuối tiêu là một trong những mặt hàng rất được quan tâm đặc biệt là sản xuất chuối phục vụ xuất khẩu, tuy nhiên vẫn gặp khó khăn do tính chất trồng phân tán, có quá nhiều nguồn giống dẫn đến quy cách quả xuất khẩu không đồng đều, thiếu giống tốt. Kỹ thuật nhân giống bằng nuôi cấy mô là phương pháp nhân giống mới, hiện đại tạo ra số lượng lớn cây con đồng đều, sạch bệnh mà không có phương pháp nào có thể thay thế được. Trước tình hình đó, việc nghiên cứu quy trình nhân nhanh cây chuối giống bằng phương pháp nuôi cấy mô nhằm nhân nhanh và đưa ra thị trường một số lượng lớn cây giống đồng đều, sạch bệnh trồng đại trà trên quy mô công nghiệp đối với một số giống chuối tiêu đã và đang được đẩy mạnh. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu nhân giống chuối bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào đã được tiến hành tại nhiều cơ sở, việc áp dụng kỹ thuật nuôi cấy mô vào sản xuất cây chuối giống đã mau chóng trở thành một biện pháp nhân giống quan trọng nhằm cung cấp số lượng lớn cây chuối giống theo yêu cầu của thực tiễn sản xuất. Nhằm góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống vô tính cây chuối tiêu Hồng bằng phương pháp nuôi cấy in vitro, việc nghiên cứu “Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng, ánh sáng và giá thể trong nhân giống in vitro chuối tiêu Hồng” là cần thiết.

## II. MỤC TIÊU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định được nồng độ chất điều tiết sinh trưởng thích hợp nhất trong giai đoạn nhân nhanh và giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh giống chuối tiêu Hồng.
- Xác định được thời gian chiếu sáng tự nhiên tốt nhất cho cây chuối tiêu Hồng invitro ra rễ và sinh trưởng phát triển.
- Xác định được loại giá thể đóng bầu thích hợp cho chuối tiêu Hồng invitro ở giai đoạn vườn ươm II trên cơ sở các giá thể sẵn có, dễ triển khai và nhân rộng vào sản xuất.

### 2. Nội dung nghiên cứu

- *Nội dung 1:* Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP, casein hydrolysate; cao nấm men đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng *in vitro*.
- *Nội dung 2:* Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ  $\alpha$ -NAA và thời gian chiếu sáng tự nhiên đến sự sinh trưởng phát triển và sự ra rễ của cây chuối tiêu Hồng *in vitro*.
- *Nội dung 3:* Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể bầu cây tới sinh trưởng phát triển của cây chuối tiêu Hồng *in vitro* giai đoạn vườn ươm II.

### 3. Phương pháp nghiên cứu

#### 3.1. Công thức và cách bố trí

\* *Nội dung 1:* Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP, casein hydrolysate; cao nấm men đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng *in vitro*.

Sử dụng chồi chuối tiêu Hồng *in vitro* cấy trên nền môi trường MS + 30 g/l đường + 5,6g/l agar + 15% nước dừa và bổ sung BAP với nồng độ khác nhau. Sau thí nghiệm 1 tìm ra nồng độ BAP thích hợp nhất phối hợp với casein hydrolysate ở thí nghiệm 2 và cao nấm men ở thí nghiệm 3. Các công thức được với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 10 bình tam giác, mỗi bình cấy 5 mẫu.

- *Thí nghiệm 1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP (Benzyl adenin purine) đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng invitro*

Công thức 1: MS + BAP 2,0 ppm.

Công thức 2: MS + BAP 2,5 ppm.

Công thức 3: MS + BAP 3,0 ppm.

Công thức 4: MS + BAP 3,5 ppm.

Công thức 5: MS + BAP 4,0 ppm.

- *Thí nghiệm 2. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và casein hydrolysate đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng invitro*

Công thức 1: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + casein hydrolysate 10 mg/lít.

Công thức 2: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + casein hydrolysate 20 mg/lít.

Công thức 3: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + casein hydrolysate 30 mg/lít.

Công thức 4: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + casein hydrolysate 40 mg/lít.

Công thức 5: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + casein hydrolysate 50 mg/lít.

- *Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và cao nấm men đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng invitro*

Công thức 1: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + CNM 10 mg/lít.

Công thức 2: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + CNM 20 mg/lít.

Công thức 3: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + CNM 30 mg/lít.

Công thức 4: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + CNM 40 mg/lít.

Công thức 5: MS + BAP (TN<sub>1</sub>) + CNM 50 mg/lít.

\* **Nội dung 2:** Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ  $\alpha$ -NAA và thời gian chiếu sáng tự nhiên đến sự sinh trưởng phát triển và ra rễ của cây chuối tiêu Hồng in vitro.

Sau khi chồi đạt 3 - 4 lá cây chuyển sang môi trường tạo cây hoàn chỉnh MS + nước dừa 15% + đường 30 gr/l + agar 5,6 gr/l + than hoạt tính 2 gr/l và bổ sung  $\alpha$ -NAA ở nồng độ khác nhau.

Các công thức được bố trí với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 10 túi, mỗi túi cấy 15 cây.

- *Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ  $\alpha$ -NAA tới khả năng ra rễ của cây chuối tiêu Hồng in vitro*

Công thức 1- ĐC: MS

Công thức 2: MS + 0,2 ppm  $\alpha$  - NAA.

Công thức 3: MS + 0,4 ppm  $\alpha$  - NAA.

Công thức 4: MS + 0,6 ppm  $\alpha$  - NAA.

Công thức 5: MS + 0,8 ppm  $\alpha$  - NAA.

Công thức 6: MS + 1,0 ppm  $\alpha$  - NAA.

- *Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng tự nhiên đến chất lượng cây ra rễ chuối tiêu Hồng in vitro.*

Công thức 1: thời gian chiếu sáng tự nhiên 4 tuần.

Công thức 2: thời gian chiếu sáng tự nhiên 3 tuần.

Công thức 3: thời gian chiếu sáng tự nhiên 2 tuần.

Công thức 4: thời gian chiếu sáng tự nhiên 1 tuần.

Công thức 5 - ĐC: không chiếu sáng.

+ Cây ra rễ trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên: túi cây để trong nhà lưới có che lưới đen để cường độ ánh sáng còn 10% (che 2 lớp lưới đen có chiều dài mắt lưới 1,0 cm) trong khoảng thời gian khác nhau trước khi đưa ra vườn ươm.

+ Cây ra rễ trong điều kiện nhân tạo được chiếu sáng 2000 lux bằng đèn huỳnh quang. Thời gian chiếu sáng 8 giờ mỗi ngày. Nhiệt độ 25 - 27°C.

\* **Nội dung 3:** Ảnh hưởng của giá thể bầu cây tới sinh trưởng phát triển của cây chuối tiêu Hồng giai đoạn vườn ươm II.

- *Thí nghiệm 6: Ảnh hưởng của giá thể bầu cây tới sinh trưởng phát triển của cây chuối tiêu Hồng giai đoạn vườn ươm II.*

Cây chuối invitro được trồng trong bầu kích thước 8 x 12 cm với các nền giá thể khác nhau. Thí nghiệm được bố trí với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 60 cây.

Các công thức thí nghiệm:

CT1: đất (ĐC).

CT2: đất + phân chuồng (1:1).

CT3: đất + phân chuồng (2:1).

CT4: đất + phân chuồng + xơ dừa (1:1:1).

Tưới nước giữ ẩm, che phủ nilon giữ ẩm trong những ngày nhiệt độ < 20°C

Bón thúc: tưới dung dịch urê và clorua kali định kỳ 5 ngày/lần, với lượng 1 lít/m<sup>2</sup>, nồng độ 0,05%.

+ Điều kiện thí nghiệm

Các thí nghiệm tiến hành trong điều kiện nhân tạo, điều kiện ánh sáng 2000 lux, nhiệt độ 25 - 27°C.

+ Chuẩn bị môi trường:

Môi trường cơ bản MS (Muraskige & Skoog 1962) có bổ sung 3% đường saccarose + 15% nước dừa và 0,56% agar.

Giá trị pH của môi trường nuôi cấy trước khi hấp khử trùng là 5,8. Môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1,1 atm trong vòng 25 phút.

Thể tích dung dịch dinh dưỡng (môi trường nuôi cấy) trong bình, túi nuôi cấy là 50 - 70 ml/bình.

### 3.2. Chỉ tiêu theo dõi

#### \* Chỉ tiêu theo dõi trong

Hệ số nhân chồi (lần); số rễ trung bình (rễ); chiều cao trung bình chồi (cm); số lá trung bình/chồi (lá); chiều dài rễ (cm).

#### \* Chỉ tiêu theo dõi ngoài vườn ươm

Tỷ lệ cây sống (%); chiều cao cây trung bình (cm); số lá trung bình/cây (lá); số rễ trung bình/cây (rễ).

- Đường kính thân giả (mm): đo cách mặt đất 1 cm. Sử dụng thước kẹp để đo, các lần đo được tiến hành cùng với việc đo chiều cao cây và theo dõi số lá.

Khối lượng chất khô: cây sau khi xuất vườn và đo đếm các chỉ tiêu sinh trưởng được đưa vào túi sấy mẫu, sấy ở 105°C trong thời gian 12 tiếng, sấy lại đến khối lượng không đổi.

Xác định hàm lượng diệp lục: xác định bằng máy Spad.

- Diện tích lá/cây (dm<sup>2</sup>): đo theo phương pháp cân gián tiếp (lá được in trên giấy báo).

+ Cân toàn bộ lá: P<sub>1</sub> (g).

+ Cân 1 dm<sup>2</sup>: P<sub>2</sub> (g).

Diện tích lá (dm<sup>2</sup>) = P<sub>1</sub>/P<sub>2</sub>.

Khối lượng tươi (gam).

#### \* Một số chỉ tiêu đánh giá chất lượng

Chất lượng chồi ở mức xấu (+); Chất lượng chồi ở mức trung bình (++); Chất lượng chồi ở mức tốt (+++); Chất lượng rễ ở mức xấu (\*); Chất lượng rễ ở mức trung bình (\*\*); Chất lượng rễ ở mức tốt (\*\*\*)

