

XÁC ĐỊNH KỸ THUẬT VÀO MẪU IN VITRO HIỆU QUẢ CHO GIỐNG CHUỐI TÂY BÀN ĐỊA BẮC KẠN (*MUSA X PARADISIACA*)

Hà Minh Tuấn*, Trần Minh Quân, Nguyễn Thế Huân, Phạm Thị Thanh Huyền
Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Giống chuối tây bản địa Bắc Kạn (*Musa x paradisiaca* var. "Bac Kan") (Musaceae) là một trong những cây ăn quả đem lại thu nhập cao cho người dân của tỉnh Bắc Kạn, và có tiềm năng phát triển cho khu vực phía Bắc. Tuy nhiên, hiện nay giống chuối có xu hướng bị thoái hóa do biện pháp canh tác không bền vững, tác động bất lợi của thời tiết và sâu bệnh, cũng như sự không quan tâm, định hướng và đầu tư đúng mức của chính quyền địa phương. Đề tài được triển khai nằm trong hợp phần xây dựng quy trình nhân giống và thâm canh phục vụ bảo tồn nguồn gen bản địa và phát triển sản xuất hàng hóa của giống chuối cho vùng. Nội dung nghiên cứu kỹ thuật vào mẫu giống in vitro được triển khai trong thời gian từ tháng 3 - 8 năm 2013, với mục đích xác định được kỹ thuật vào mẫu hiệu quả nhất cho giống chuối nghiên cứu. Bốn thí nghiệm trong phòng được triển khai nhằm đánh giá ảnh hưởng của mẫu cây con từ các vườn cây mẹ có tuổi khác nhau, vị trí lấy mẫu và các nồng độ của chất khử trùng H_2O_2 , $HgCl_2$ đến tỷ lệ sống và tỷ lệ tái sinh chồi. Kết quả cho thấy, dùng chồi đỉnh của vườn cây mẹ 01 năm tuổi để vào mẫu đem lại hiệu quả cao nhất. Việc sử dụng hóa chất khử trùng H_2O_2 và $HgCl_2$ không cải thiện tỷ lệ tái sinh chồi, trong khi nồng độ hóa chất cao có thể gây giảm tỷ lệ tái sinh chồi của giống chuối nghiên cứu.

Từ khóa: Chuối tây bản địa, Hiệu quả vào mẫu, In vitro, Tuổi cây, Tỷ lệ sống, Tỷ lệ tái sinh

DẶT VẤN ĐỀ

Cây chuối tây bản địa Bắc Kạn (*Musa x paradisiaca* var. "Bac Kan") (Musaceae) (Hà Minh Tuấn và cs., 2014; Valmayor và cs., 2000) là một trong những loại cây trồng đem lại thu nhập đáng kể cho các hộ dân tại Bắc Kạn, đặc biệt là hai xã Nông Thượng và Xuất Hóa. Tuy nhiên, hiện nay việc sản xuất còn mang tính tự phát, năng suất và chất lượng giống ngày càng bị suy giảm và có xu hướng bị thoái hóa do các biện pháp kỹ thuật canh tác không bền vững cùng với những tác động của sâu bệnh hại và điều kiện bất thuận của thời tiết (Hà Minh Tuấn và cs., 2014; Lao Hồng Đăng, 2013; Nông Thị Hồ Bắc, 2009).

Trong những năm gần đây, công nghệ nhân giống bằng in vitro (nuôi cấy mô tế bào) được ứng dụng phổ biến cho một số loại cây ăn quả, trong đó điển hình là cây chuối. Công nghệ này được đánh giá là biện pháp nhân giống hiệu quả với hệ số nhân giống cao trong thời gian ngắn, tạo giống sạch bệnh, độ đồng đều về giống, năng suất và chất lượng cao, ổn

định, đồng thời bảo tồn và lưu giữ được nguồn gen của cây mẹ ban đầu (Đỗ Văn Giáp và cs., 2012; Trần Thanh Hương và cs., 2009).

Nhằm góp phần thực hiện nhiệm vụ bảo tồn và phát triển nguồn gen của Tỉnh Ủy tỉnh Bắc Kạn giai đoạn 2013 - 2020 (Vũ Tuấn Sơn, 2013), đề tài được triển khai nằm trong hợp phần nghiên cứu quy trình kỹ thuật nhân giống và thâm canh hàng hóa của giống chuối tây bản địa Phấn Vàng Phú Thọ và chuối tây Bắc Kạn cho khu vực trung du và miền núi phía Bắc giai đoạn 2013-2015 của nhóm nghiên cứu. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày và thảo luận các kết quả của nội dung nghiên cứu kỹ thuật vào mẫu in vitro của giống chuối tây Bắc Kạn với mục đích xác định được kỹ thuật vào mẫu hiệu quả nhất cho giống chuối nghiên cứu.

NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng, vật liệu và thời gian nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu: Giống chuối tây bản địa Bắc Kạn (*Musa x paradisiaca* var. "Bac Kan") (Musaceae), là giống chuối bản địa có nguồn gốc xuất xứ từ thôn Khuổi Trang (vĩ độ 22°06'07"; kinh độ: 105°49'41") thuộc xã

* Email: haminhantuan@tuat.edu.vn

Nông Thương - thị xã Bắc Kạn (Hà Minh Tuấn và cs. 2014).

Vật liệu nghiên cứu: chồi chuối được lấy từ vườn cây mẹ 1, 2 và 3 năm tuổi.

Thời gian nghiên cứu: tháng 3 - 8/2013.

Nội dung nghiên cứu: Nội dung nghiên cứu gồm 04 thí nghiệm sau:

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi cây đến hiệu quả vào mẫu;

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của vị trí lấy mẫu đến hiệu quả vào mẫu;

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của H_2O_2 đến hiệu quả vào mẫu;

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của $HgCl_2$ đến hiệu quả vào mẫu.

Phương pháp nghiên cứu: Phương pháp nghiên cứu được áp dụng theo phương pháp hiện hành của Viện nghiên cứu Rau Quả (Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội).

Các thí nghiệm được bố trí một cách ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại gồm 10 bình, mỗi bình chứa 1 mẫu. Sau 04 tuần, cây chuyển một lần

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi cây đến hiệu quả vào mẫu. Gồm 03 công thức (CT): CT1: Chồi chuối của vườn cây mẹ 1 năm tuổi; CT2: Chồi chuối của vườn cây mẹ 2 năm tuổi; và CT3: Chồi chuối của vườn cây mẹ 3 năm tuổi.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của vị trí lấy mẫu đến hiệu quả vào mẫu, gồm 02 công thức. CT1: Đỉnh sinh trưởng; CT2: Chồi nách.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của H_2O_2 đến hiệu quả vào mẫu. Gồm 04 CT. CT1: Đối chứng; CT2: Khử trùng H_2O_2 nồng độ 20%; CT3: Khử trùng H_2O_2 nồng độ 25%; và CT4: Khử trùng H_2O_2 nồng độ 30%.

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của $HgCl_2$ đến hiệu quả vào mẫu gồm 04 công thức CT1: Đối chứng; CT2: Khử trùng $HgCl_2$ nồng độ 0.05%; CT3: Khử trùng $HgCl_2$ nồng độ 0.1%; và CT4: Khử trùng $HgCl_2$ nồng độ 0,15%.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Tỷ lệ mẫu sống (%) = (Số cây sống/Số cây ban đầu) x 100.

+ Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) = (Số mẫu tái sinh/Số mẫu sống) x 100.

Điều kiện thí nghiệm: Các thí nghiệm được thực hiện trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Công nghệ Sinh học - Viện Nghiên cứu Rau quả với các điều kiện: Mẫu được cấy trên môi trường đã được khử trùng ở 1.4atm, 121°C trong thời gian 20 phút. pH môi trường: 5,7-5,8. Thể tích môi trường: 65mL/l bình. Cường độ ánh sáng: 2.000lux. Thời gian chiếu sáng 16h/ngày. Nhiệt độ: $25 \pm 2^\circ C$. Môi trường cơ bản dùng trong nội dung thí nghiệm này là môi trường MS + 6g L⁻¹ BA + 5,5g L⁻¹ agar + 30g L⁻¹ sucrose.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tạo nguồn vật liệu ban đầu là một khâu hết sức quan trọng quyết định sự thành công trong việc nuôi cấy mô. Tuổi cây mẹ, vị trí lấy mẫu và điều kiện vô trùng trong quá trình nuôi cấy mô đóng vai trò quan trọng trong thành công và hiệu quả nhân giống (Phạm Thị Xuân Quỳnh, 2009). Mặc dù phương pháp nhân giống in vitro sử dụng chồi cây làm vật liệu khởi đầu có ưu điểm cây con vẫn giữ được đặc tính di truyền của cây mẹ, hệ số nhân giống cao hơn so với các phương pháp nhân giống vô tính truyền thống (Trần Thanh Hương và cs., 2009). Tuy nhiên, do chồi được lấy ngoài tự nhiên nên cần phải khử trùng đảm bảo cho mẫu đưa vào nuôi cấy sạch, có khả năng phát sinh hình thái. Do vậy, việc nghiên cứu xác định tuổi cây mẹ, vị trí lấy mẫu và loại chất khử trùng phù hợp sẽ góp phần xây dựng quy trình nhân giống in vitro cho giống chuối nghiên cứu.

Ảnh hưởng của nguồn vật liệu đến hiệu quả vào mẫu

Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả ở Bảng 1 cho thấy, tuổi cây có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ sống và tỷ lệ mẫu tái sinh khi vào mẫu. cụ thể: Ở CT1 (Chồi chuối của vườn cây mẹ một

năm tuổi) có tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất, với giá trị lần lượt là 76,67% và 95,65%. Tuổi cây tỷ lệ nghịch với tỷ lệ sống và tỷ lệ tái sinh của mẫu. Khi chồi chuối lấy từ vườn cây mẹ 2 năm tuổi (CT2) thì tỷ lệ mẫu sống chỉ là 66,67%; tỷ lệ mẫu tái sinh là 85,00%. Và khi tuổi cây là cao nhất (CT3: chồi lấy từ vườn cây mẹ 3 năm tuổi) có tỷ lệ mẫu sống và số mẫu tái sinh là thấp nhất lần lượt là 33,33% và 70,00%.

Từ kết quả trên cho thấy, lựa chọn chồi cây chuối tây Bắc Kạn từ vườn cây mẹ 1 năm tuổi để vào mẫu sẽ đạt hiệu quả cao nhất.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tuổi cây đến hiệu quả vào mẫu (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Tổng số mẫu cấy	Số mẫu sống	Tỷ lệ (%)	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ (%)
CT1	30	23	76,67	22	95,65
CT2	30	20	66,67	17	85,00
CT3	30	10	33,33	07	70,00

Ghi chú: CT1: Chồi chuối của vườn cây mẹ 1 năm tuổi; CT2: Chồi chuối của vườn cây mẹ 2 năm tuổi, và CT3: Chồi chuối của vườn cây mẹ 3 năm tuổi.

Bảng 2. Ảnh hưởng của vị trí lấy mẫu đến hiệu quả vào mẫu (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Tổng số mẫu cấy	Số mẫu sống	Tỷ lệ %	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ %
CT1	30	23	76,67	22	95,65
CT2	30	20	66,67	10	50,00

Ghi chú: CT1: Đinh sinh tương; CT2: Chồi nách

Bảng 3: Ảnh hưởng của H_2O_2 đến hiệu quả vào mẫu (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Tổng số mẫu cấy	Số mẫu sống	Tỷ lệ %	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ %
CT1	30	23	76,67	22	95,65
CT2	30	23	76,67	19	82,60
CT3	30	25	83,33	21	84,00
CT4	30	27	90,00	15	55,55

Ghi chú: CT1: Không chất khử trùng; CT2: H_2O_2 nồng độ 20%; CT3: H_2O_2 nồng độ 25%; CT4: H_2O_2 nồng độ 30%

Bảng 4: Ảnh hưởng của $HgCl_2$ đến hiệu quả vào mẫu (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Các chỉ tiêu theo dõi				
	Tổng số mẫu cấy	Số mẫu sống	Tỷ lệ %	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ %
CT1	30	23	76,67	22	95,65
CT2	30	24	80,00	19	79,17
CT3	30	26	86,67	21	80,76
CT4	30	28	93,33	17	60,71

Ghi chú: CT1: Không chất khử trùng; CT2: $HgCl_2$ nồng độ 0,05%; CT3: $HgCl_2$ nồng độ 0,1%; CT4: $HgCl_2$ nồng độ 0,15%

Ảnh hưởng của H_2O_2 đến hiệu quả vào mẫu

Kết quả thí nghiệm trình bày trong Bảng 3 cho thấy việc sử dụng chất khử trùng H_2O_2 với nồng độ khác là có hiệu quả không rõ rệt. Ở CT1 (không sử dụng chất khử trùng), tỷ lệ mẫu sống tương đối cao (76,67%) và tỷ lệ mẫu tái sinh là cao nhất 95,65%. Khi sử dụng chất khử trùng H_2O_2 ở nồng độ 20% (CT2), tỷ lệ mẫu sống chỉ tương đương CT1 nhưng tỷ lệ mẫu tái sinh chỉ đạt 82,60%, thấp hơn CT1. Tăng nồng độ chất khử trùng nên tới 25% và 30% (CT3, CT4), tỷ lệ mẫu sống có tăng lần lượt là 83,33% và 90,00%, tuy nhiên tỷ lệ mẫu tái sinh lại giảm và thấp nhất ở CT4 (55,55%).

Do vậy, có thể kết luận, việc sử dụng chất khử trùng H_2O_2 không có hiệu quả đối với giống chuối tây Bắc Kạn.

Ảnh hưởng của $HgCl_2$ đến hiệu quả vào mẫu

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4.

Tương tự như nghiên cứu 3.3, chất khử trùng $HgCl_2$ không có ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu quả vào mẫu chuối Bắc Kạn. Ở CT1 (không sử dụng chất khử trùng), tỷ lệ mẫu sống khá cao (76,67%) và tỷ lệ mẫu tái sinh đạt cao nhất (95,65%). Khi sử dụng chất khử trùng $HgCl_2$ ở nồng độ 0,05% (CT1); 0,1% (CT2); 0,15% (CT3), tỷ lệ mẫu sống tăng cao hơn CT1, với giá trị lần lượt là 80,00%; 86,67%; 93,33%. Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu tái sinh lại tỷ lệ nghịch với tỷ lệ mẫu sống, lần lượt là 79,17%; 80,76%; 60,71%. Kết quả này có thể ám chỉ, việc sử dụng hóa chất ở nồng độ cao có thể gây ảnh hưởng không tốt đến khả năng tái sinh của cây.

Qua kết quả Bảng 3 và 4 cho thấy, phương pháp khử trùng chồi chuối bằng hóa chất khử trùng H_2O_2 và $HgCl_2$ không có hiệu quả, trong khi giống chuối Bắc Kạn không cần khử trùng vẫn có tỷ lệ sống và tỷ lệ tái sinh cao. Do vậy, tính về hiệu quả nhân giống và chi phí, đối với giống nghiên cứu, không cần thiết phải sử dụng các hóa chất khử trùng chồi chuối. Mặc dù vậy, trong trường hợp nguồn vật liệu có

nguy cơ bị nhiễm bệnh, việc xử lý hóa chất khử trùng ở nồng độ thích hợp là cần thiết.

KẾT LUẬN

Kết luận: Qua nội dung nghiên cứu về kỹ thuật vào mẫu giống chuối tây Bắc Kạn, có thể kết luận, dùng chồi dinh của vườn cây mẹ 01 năm tuổi để vào mẫu đem lại hiệu quả cao nhất. Việc sử dụng hóa chất khử trùng H_2O_2 và $HgCl_2$ không đem lại hiệu quả rõ nét, nồng độ hóa chất cao có thể gây ảnh hưởng đến tỷ lệ tái sinh chồi của giống chuối nghiên cứu. Mặc dù vậy, trong trường hợp nguồn vật liệu có nguy cơ bị nhiễm bệnh, việc xử lý hóa chất khử trùng ở nồng độ thích hợp là cần thiết.

Đề nghị: Cần có những nghiên cứu tiếp theo về các loại chất khử trùng trong quá trình vào mẫu in vitro để đánh giá toàn diện và hoàn thiện quy trình vào mẫu giống chuối nghiên cứu.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được triển khai dưới sự hỗ trợ về tài chính của Bộ Giáo dục và Đào tạo. Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Bộ môn Công nghệ Sinh học - Viện Nghiên cứu Rau Quả, Trầu Quý, Gia Lâm, Hà Nội đã cộng tác và hỗ trợ trong quá trình triển khai thí nghiệm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Văn Giáp, Phạm Ngọc Vinh, Trần Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Huyền Trang, Phạm Ngô Ánh Thư, Thái Xuân Du (2012). "*Tăng hệ số nhân nhanh chồi chuối Laba (Musa sp.) nuôi cấy in-vitro bằng cách sử dụng ánh sáng, myo-inositol và adenin sulphate*" Tạp chí sinh học, 34 (03): 180-187.
2. Hà Minh Tuấn, Trần Minh Quân, Nguyễn Thế Huân, Lao Hồng Đăng (2014). "*Đặc điểm sinh học và đặc trưng giống chuối tây bản địa Bắc Kạn (Musa x paradisiaca)*". Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Chuyên đề Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc (tháng 6, 2014).
3. Lao Hồng Đăng (2013) "*Đánh giá tình hình sản xuất, tiêu thụ của giống chuối Bắc Kạn tại tỉnh Bắc Kạn và nghiên cứu tình hình sinh trưởng, đặc trưng của giống chuối tại địa bàn Thái Nguyên*". Luận văn tốt nghiệp Đại học, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.
4. Nguyễn Thị Hồ Bắc (2009). "*Ứng dụng hóa học công nghệ trong xây dựng mô hình thâm canh chuối tây tại Thị xã Bắc Kạn*". Báo cáo đánh giá dự án Khoa học công nghệ, Sở KH&CN tỉnh Bắc Kạn.

5. Phạm Thị Xuân Quyên (2009). "Môi số nguyên tắc, kỹ thuật ứng dụng trong nuôi cấy mô". Trung tâm Giống nông nghiệp Đồng Tháp.
6. Trần Thanh Hương, Bùi Trang Việt, Feng Teng-Yung (2009). "Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự hình thành rễ bất định từ các khúc cắt mang chồi ở một vài giống chuối (*Musa sp.*)". Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ, 12 (09): 23-30.
7. Valmayor, R. V., Jamaluddin, S. H., Silayoi B., Kusumo, S., Danh, L. D., Pascua, O. C., Espino,

- R. R. C. (2000). *Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia*. International Network for the Improvement of Banana and Plantain. Asia and the Pacific Office. Los Banos. Laguna, Philippines.
8. Vũ Tuấn Sơn (2013), "Bảo tồn những nguồn gen quý trên địa bàn tỉnh Bắc Kan", Báo điện tử Bắc Kan. Website: <http://www.baobackan.org.vn/channel/1104/201311/bao-ton-nhung-nguon-gen-quy-tren-dia-ban-tinh-bac-kan-2274865>

SUMMARY

DEFINING APPROPRIATE TECHNIQUES AT CULTURE INITIATION STAGE OF MICROPROPAGATION FOR NATIVE BAC KAN BANANA (*MUSA X PARADISIACA* Var. "BAC KAN")

**Ha Minh Tuan*, Tran Minh Quan,
Nguyen The Huan, Pham Thi Thanh Huyen**
College of Agriculture & Forestry - TNU

The native Bac Kan banana (*Musa x paradisiaca* var. "Bac Kan") (Musaceae) is amongst the important fruit crops that bring high income for growers in Bac Kan province. It has a high potential for large-scale production in the Northern region of Vietnam. However, the crop has been gradually degraded due to unsustainable production techniques, unfavourable impacts of weather conditions, diseases as well as the inadequate orientation and support of the local government. Under a component of propagation and intensive production for gene conservation and commercial development of native banana varieties for the region, this study was conducted during March – August 2013 to determine the most effective techniques at culture establishment stage of micropropagation for the variety. Four lab experiments were carried out to investigate influences of sucker sources from different mother plants' ages, positions of explant materials, and concentrations of two sterilizing chemicals, H_2O_2 and $HgCl_2$, on alive and regeneration rates of shoots. As a result, shoot tips of suckers from one-year old mother plants were found to be the most effective materials among other. The use of the disinfectants did not increase regeneration rate, while high their concentrations seemed to have negative impacts.

Key words: Native banana, Effective establishment, In vitro. Plant age. Alive rate. Regeneration rate

Ngày nhận bài: 12/6/2014, Ngày phản biện: 02/7/2014, Ngày duyệt đăng: 20/8/2014

Phản biện khoa học: TS Nguyễn Thùy Hà – Trường Đại học Nông Lâm – ĐHTH Nguyễn

* Email: haminhantuan@taif.edu.vn