

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 Nhật 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 α-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 “*Ánh 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 α-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 tối 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 (TN₁) + casein hydrolysate 10 mg/lít.

Công thức 2: MS + BAP (TN₁) + casein hydrolysate 20 mg/lít.

Công thức 3: MS + BAP (TN₁) + casein hydrolysate 30 mg/lít.

Công thức 4: MS + BAP (TN₁) + casein hydrolysate 40 mg/lít.

Công thức 5: MS + BAP (TN₁) + 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 (TN₁) + CNM 10 mg/lít.

Công thức 2: MS + BAP (TN₁) + CNM 20 mg/lít.

Công thức 3: MS + BAP (TN₁) + CNM 30 mg/lít.

Công thức 4: MS + BAP (TN₁) + CNM 40 mg/lít.

Công thức 5: MS + BAP (TN₁) + CNM 50 mg/lít.

* *Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ α-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 cấy 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 α-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 α-NAA tới khả năng ra rễ của cây chuối tiêu Hồng in vitro*

Công thức 1- DC: MS

Công thức 2: MS + 0,2 ppm α - NAA.

Công thức 3: MS + 0,4 ppm α - NAA.

Công thức 4: MS + 0,6 ppm α - NAA.

Công thức 5: MS + 0,8 ppm α - NAA.

Công thức 6: MS + 1,0 ppm α - 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 - DC: 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/m², 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 saccharose + 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 (dm²): đo theo phương pháp cân gián tiếp (lá được in trên giấy báo).

+ Cân toàn bộ lá: P₁ (g).

+ Cân 1 dm²: P₂ (g).

Diện tích lá (dm²) = P₁/P₂.

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 (***)

3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thu được đều được xử lý bằng chương trình thống kê sinh học IRRISTAT version 4.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

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

1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP (Benzyl adenin purine) đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4.1.

BẢNG 1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến hệ số nhân và sinh trưởng phát triển của chồi chuối tiêu Hồng (sau 4 tuần nuôi cấy)

CTTD BAP (ppm)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá tb/chồi (lá)	Chất lượng chồi
2,0 ppm BAP	3,13	2,47	3,49	++
2,5 ppm BAP	4,08	2,25	3,37	+++
3,0 ppm BAP	4,50	2,20	3,26	+++
3,5 ppm BAP	4,08	2,35	3,33	++
4,0 ppm BAP	4,07	2,25	3,46	++
CV%	2,70	5,00	0,90	
LSD _{0,05}	0,20	0,22	0,60	

Bảng 1 cho thấy: BAP có tác dụng quyết định tới hệ số nhân chồi chuối tiêu Hồng. Khi tăng nồng độ BAP thì hệ số nhân chồi tăng. Tuy nhiên, các chỉ tiêu về chiều cao chồi và số lá trung bình có xu hướng giảm. Trong các công thức nghiên cứu chúng tôi thấy: cả chỉ tiêu về hệ số nhân chồi và chất lượng chồi có xu hướng tăng từ công thức 2,0 ppm đến 3,0 ppm, tiếp tục tăng đến 4,0 ppm BAP hệ số nhân giảm và chất lượng chồi cũng giảm. Cụ thể, khi tăng nồng độ BAP từ 2,0 - 3,0 ppm thì hệ số nhân chồi tăng từ 3,13 đến 4,50 lần sau đó tiếp tục tăng đến 4,0 ppm BAP thì hệ số nhân giảm còn 4,07 lần. Khi bổ sung chất điều tiết sinh trưởng vào môi trường nuôi cấy càng tăng sự sinh trưởng phát triển của chồi càng giảm thể hiện qua các chỉ tiêu về sinh trưởng phát triển như: chiều cao chồi giảm từ 2,47 - 2,20 cm, số lá giảm từ 3,49 - 3,26 lá.

Như vậy, trong giai đoạn nhân nhanh cây chuối tiêu Hồng việc bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy là rất cần thiết và nồng độ 3,0 ppm BAP cho hệ số nhân chồi cao nhất (đạt 4,50 lần) và đồng thời chất lượng chồi cũng được đánh giá tốt.

1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và casein hydrolysate đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và casein hydrolysate đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng được thể hiện ở bảng 4.2.

Bảng 2 cho thấy: tổ hợp BAP và casein có ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển và hệ số nhân của chồi chuối tiêu Hồng, các công thức bổ sung nồng độ Casein khác nhau có ảnh hưởng khác nhau tới hệ số nhân chồi ở mức ý nghĩa 5%. Khi bổ sung 10 mg/lít casein và 3,0

ppm BAP vào môi trường nuôi cấy hệ số nhân đạt 5,15 lần, chiều cao chồi đạt 3,28 cm và số lá 4,14 lá và chất lượng chồi tốt. Khi tăng nồng độ casein từ 10 mg/lít đến 50 mg/lít thì hệ số nhân chồi tăng từ 5,15 lần lên 7,00 lần nhưng chiều cao chồi và số lá trung bình /chồi giảm, chồi sinh trưởng phát triển kém, chất lượng chồi giảm. Đặc biệt, ở công thức 3 bổ sung 3,0 ppm BAP + 50 mg/l casein vào môi trường nuôi cấy chồi sinh trưởng phát triển kém, chồi nhỏ vàng, số lượng chồi bất định nhiều không sử dụng được cho giai đoạn nuôi cấy tiếp theo. Vậy, trong tổ hợp với BAP nồng độ casein càng tăng hệ số nhân chồi càng tăng nhưng sự sinh trưởng phát triển và chất lượng chồi giảm.

BẢNG 2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và casein hydrolysate đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng(sau 4 tuần nuôi cấy)

CTTN	CTTD	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá trung bình/chồi	Chất lượng chồi
3,0 ppmBAP + 10 mg/l casein		5,15	3,28	4,14	+++
3,0 ppmBAP + 20 mg/l casein		5,52	2,55	4,01	++
3,0 ppmBAP + 30 mg/l casein		6,17	2,17	4,07	++
3,0 ppmBAP + 40 mg/l casein		6,42	2,33	4,07	++
3,0 ppmBAP + 50 mg/l casein		7,00	2,29	3,77	+
CV%		1,80	5,70	1,50	
LSD _{0,05}		0,21	0,27	0,11	

1.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và cao nấm men đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng

Để tìm được nồng độ cao nấm men có ảnh hưởng tốt nhất cho sự sinh trưởng, phát triển và chất lượng của chồi chuối tiêu Hồng in vitro, chúng tôi tiến hành bổ sung các nồng độ cao nấm men từ 10 mg/lít đến 50 mg/lít vào môi trường MS có 3% saccarose, 0,56% agar và 3 ppm BAP. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 3.

BẢNG 3. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và cao nấm men đến khả năng nhân nhanh của chồi chuối tiêu Hồng (sau 4 tuần nuôi cấy)

CTTN	CTTD	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá tb/chồi (lá)	Chất lượng chồi
3,0 ppm BAP + 10 mg/l CNM		6,66	2,30	3,93	+++
3,0 ppm BAP + 20 mg/l CNM		7,00	2,13	4,14	+++
3,0 ppm BAP + 30 mg/l CNM		6,42	2,67	4,14	+++
3,0 ppm BAP + 40 mg/l CNM		6,17	2,31	4,29	++
3,0 ppm BAP + 50 mg/l CNM		6,10	2,67	4,40	++
CV%		2,40	6,30	2,20	
LSD _{0,05}		0,29	0,27	0,17	

Kết quả cho thấy: tổ hợp 3,0 ppm BAP và cao nấm men có tác dụng rất tốt tới sinh trưởng, phát triển và hệ số nhân chồi chuối tiêu Hồng. Trong tổ hợp với 3,0 ppm BAP khi tăng nồng độ cao nấm men từ 10 mg/lít đến 20 mg/lít thì hệ số nhân tăng từ 6,66 lần lên 7,0 lần, số lá/chồi tăng, chiều cao trung bình giảm. Tiếp tục tăng nồng độ cao nấm men lên 50 mg/lít các chỉ tiêu về chiều cao chồi và số lá đều tăng nhưng hệ số nhân chồi giảm. Theo dõi sự sinh trưởng phát triển của chồi chúng tôi nhận thấy, trong tổ hợp 3,0 ppm BAP và nồng độ cao nấm men càng tăng sự sinh trưởng phát triển của chồi càng tăng, cụ thể: khi nồng độ casein tăng từ

10 mg/l đến 50 mg/l số lá trung bình/chồi tăng từ 3,93 đến 4,40 lá, chiều cao chồi tăng từ 2,13 đến 2,67 cm nhưng sự sai khác chưa đạt mức ý nghĩa 5%.

Như vậy, trong tổ hợp với 3,0 ppm BAP cao nấm men ở nồng độ thích hợp kết hợp với BAP không những có tác dụng làm tăng hệ số nhân chồi mà còn nâng cao chất lượng chồi và tổ hợp thích hợp nhất đối với chuỗi tiêu Hồng là 3,0 ppm BAP + 20 mg/l cao nấm men cho hệ số nhân chồi đạt 7,00 lần, chất lượng chồi cũng được đánh giá tốt.

Tóm lại, hai tổ hợp 3,0 ppm BAP + casein và 3,0 ppm BAP + cao nấm men đều ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của chồi chuỗi tiêu Hồng. Nhưng tổ hợp 3,0 ppm BAP + cao nấm men cho hệ số nhân chồi chuỗi tiêu Hồng cao, chồi sinh trưởng, phát triển tốt hơn trong môi trường bổ sung tổ hợp 3,0 ppm BAP casein.

2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ α -NAA và thời gian chiếu sáng tự nhiên đến sự sinh trưởng phát triển và ra rễ của cây chuỗi tiêu Hồng in vitro

2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng ra rễ và chất lượng rễ cây chuỗi tiêu Hồng in vitro

Để xác định được nồng độ α -NAA thích hợp cho khả năng ra rễ và chất lượng rễ cây chuỗi tiêu Hồng, chúng tôi bổ sung nồng độ từ 0,2 - 1,0 ppm so sánh với công thức đối chứng không bổ sung α -NAA. Kết quả thí nghiệm được ghi ở bảng 4.

BẢNG 4. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng ra rễ và chất lượng rễ cây chuỗi tiêu Hồng (sau 4 tuần nuôi cấy)

CTTN	CTTD	Ngày bắt đầu ra rễ (ngày)	Số rễ trung bình/ cây(rễ)	Chiều dài rễ TB (cm)	Chất lượng rễ
	0 ppm α -NAA(Đ/C)	3	4,0	7,2	**
	0,2 ppm α -NAA	3	4,3	8,3	***
	0,4 ppm α -NAA	3	5,9	8,2	***
	0,6 ppm α -NAA	4	4,3	7,2	**
	0,8 ppm α -NAA	5	4,0	7,7	**
	1,0 ppm α -NAA	5	3,8	7,1	*
	CV%		2,6		
	LSD _{0,05}		0,21		

Bảng 4 chúng tôi thấy, α -NAA có ảnh hưởng tới khả năng ra rễ và chất lượng bộ rễ của cây chuỗi tiêu Hồng. Công thức đối chứng (không có α -NAA) cây vẫn ra rễ, chứng tỏ cây chuỗi tiêu Hồng có thể ra rễ ngay cả trong điều kiện không bổ sung chất kích thích sinh trưởng nhưng chất lượng rễ được đánh giá ở mức trung bình. Khi tăng nồng độ α -NAA với từ 0,2 ppm đến 0,4 ppm số rễ tăng từ 4,3 rễ đến 5,9 rễ và trong khi công thức đối chứng đạt 4,0 rễ, chất lượng rễ được đánh giá tốt (****) rễ mập, trắng và nhiều lông hút. Tiếp tục tăng nồng độ α -NAA từ 0,6 ppm đến 1,0 ppm thì số rễ lại giảm từ 4,3 rễ xuống 3,8 rễ.

Thời gian bắt đầu ra rễ: khi tăng nồng độ α -NAA từ 0 - 0,4 ppm chỉ sau 3 ngày cây bắt đầu ra rễ nhưng tiếp tục tăng nồng độ α -NAA sau 5 ngày cây mới bắt đầu ra rễ. Như vậy, bổ sung nồng độ α -NAA thích hợp có tác dụng kích thích sự ra rễ và làm tăng chất lượng rễ của chồi chuỗi tiêu Hồng, nếu α -NAA quá cao sẽ ức chế sự hình thành rễ làm cho số rễ, chiều dài rễ và chất lượng rễ giảm.

Như vậy, bổ sung vào môi trường nuôi cấy 0,4 ppm α -NAA có tác dụng tốt đến số lượng và chất lượng rễ mới ra, sau 3 ngày cây bắt đầu ra rễ, số rễ đạt 5,9 rễ và chiều dài đạt 8,2 cm, chất lượng tốt.

2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng tự nhiên đến chất lượng cây ra rễ

BÀNG 5. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng tự nhiên tới một số chỉ tiêu sinh lý của cây chuối tiêu Hồng giai đoạn ra rễ (sau 4 tuần)

CTTN \ CTTD	Hàm lượng diệp lục	Khối lượng TB/cây(g)	Số lá TB/cây(lá)	Chiều cao TB/cây(cm)	Số rễ TB/cây(rễ)	Chiều dài TB/rễ (cm)
4 Tuần	22,43	1,45	4,5	8,81	6,46	3,98
3 Tuần	25,39	2,47	6,99	9,69	7,39	4,43
2 Tuần	22,33	2,05	5,32	9,74	6,17	3,43
1 Tuần	22,31	1,69	5,33	10,5	6,09	3,6
Đ/C	21,68	1,76	5,44	13,61	6,16	3,75
CV%	3,5	4,1	2,1	3,4	4,9	6,5
LSD _{0,05}	1,47	0,14	0,22	0,65	0,57	0,45

Để cây ra rễ trong điều kiện ánh sáng, nhiệt độ tự nhiên là một giải pháp làm giảm chi phí sản xuất nâng cao hiệu quả kinh tế, tuy nhiên, đối với cây chuối tiêu Hồng vấn đề đặt ra là thời gian bao nhiêu cho phù hợp. Để giải quyết vấn đề này chúng tôi tiến hành các thí nghiệm, kết quả trình bày bảng 5.

Kết quả bảng 5 cho thấy: chiếu sáng tự nhiên có ảnh hưởng tốt đến sự sinh trưởng phát triển của cây. Các công thức khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến sự sinh trưởng phát triển của cây. Khi được nuôi trong môi trường ánh sáng tự nhiên hàm lượng diệp lục ở tất cả các công thức đều cao hơn so với đối chứng, số rễ và chiều dài rễ cao hơn so với công thức đối chứng. Cây nuôi 3 tuần ngoài tự nhiên có số rễ đạt 7,39 rễ, chiều dài rễ đạt 4,43 cm trong khi cây trong môi trường nhân tạo số rễ chỉ đạt 6,16 và chiều dài rễ đạt 3,75 cm.

Để đánh giá chất lượng cây ra rễ chúng tôi tiến hành giám chung trên nền cát trong thời gian 3 tuần. Kết quả được trình bày ở bảng 6.

BÀNG 6. Ảnh hưởng của thời gian chiếu sáng tự nhiên tới một số chỉ tiêu sinh lý, tỷ lệ sống của cây chuối tiêu Hồng giai đoạn vườn ươm 1 (sau 3 tuần)

CTTN \ CTTD	Tỷ lệ cây sống (%)	Hàm lượng diệp lục	Khối lượng TB/cây (g)	Số lá TB/cây (chiếc)	chiều cao TB/cây (cm)	Số rễ TB/cây (chiếc)	Chiều dài rễ TB/cây (cm)
4 Tuần	96,67	44,44	1,74	5,04	11,17	4,39	4,03
3 Tuần	98,63	44,79	3,96	7,94	12,03	4,71	5,5
2 Tuần	97,67	43,93	3,06	6,03	12,84	4,68	4,71
1 Tuần	97,33	43,41	2,28	5,92	12,95	4,71	4,56
Đ/C	90,11	40,03	2,45	5,88	13,21	4,58	4,96
CV%	0,8	2,1	3,7	4,5	7,3	4,8	5,3
LSD _{0,05}	1,36	1,65	0,18	0,51	1,65	0,41	0,46

Số liệu bảng 6 cho thấy, khi được trồng ra vườn ươm sự khác biệt lớn nhất có thể nhận thấy rõ rệt là tỷ lệ cây sống, sự ra rễ và lá mới. Trong các công thức nghiên cứu cây chuối nuôi cấy mô nuôi trong điều kiện 10% ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên 3 tuần cuối cùng trước khi mang ra trồng ngoài vườn ươm có tỷ lệ sống cao nhất đạt 98,63%, so với đạt 90,11% trong điều kiện nhân tạo.

Tóm lại, sau khi cây chuối tiêu Hồng invitro cấy trên môi trường tạo cây hoàn chỉnh nuôi trong điều kiện nhân tạo 1 tuần sau đó chuyển ra nhà lưới có che 2 lớp lưới đèn để được 10% ánh sáng và nhiệt độ tự nhiên 3 tuần trước khi đưa ra vườn ươm, cho tỷ lệ cây sống cao và cây sinh trưởng phát triển tốt nhất.

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

Trong giai đoạn vườn ươm, ngoài yếu tố về thời vụ thì giá thể bầu cũng ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng, phát triển của cây. Để tìm ra giá thể trồng cây phù hợp, giá thành thấp nhất cho cây chuối tiêu Hồng chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các nền giá thể khác nhau tới sự sinh trưởng phát triển của cây trong giai đoạn vườn ươm II. Kết quả được trình bày bảng 7.

**BẢNG 7. Ảnh hưởng của giá thể tới sinh trưởng phát triển
của cây chuối tiêu Hồng giai đoạn vườn ươm II**

Công thức	Chỉ Tiêu	Chiều cao TB/cây (cm)	Số lá HD TB/cây (lá)	Đường kính thân TB/cây (mm)	Diện tích lá TB/cây (dm ²)	Hàm lượng diệp lục	Khối lượng tươi TB/cây (g)	Khối lượng khô TB/cây (g)
Đất phù sa (ĐC)		8,50	5,78	6,68	0,95	38,48	5,73	0,47
ĐC + Phân chuồng (1:1)		14,30	6,56	12,20	2,99	39,98	19,18	1,55
ĐC+ Phân chuồng (2:1)		15,20	6,44	12,18	3,00	40,44	19,22	1,57
ĐC+ Phân chuồng + Xơ dừa (1:1:1)		16,01	6,67	13,38	3,01	35,23	20,34	1,46
CV%		3,1	4,7	2,2	2,8	4,4	4,5	4,2
LSD _{0,05}		0,85	0,60	0,49	0,14	3,35	1,44	0,10

Bảng 7 cho thấy, các nền giá thể khác nhau có ảnh hưởng rất khác nhau đến sinh trưởng phát triển cây chuối tiêu hồng trong giai đoạn vườn ươm II. Cây chuối tiêu Hồng giai đoạn vườn ươm II sinh trưởng phát triển trên giá thể Đất phù sa + Phân chuồng + Xơ dừa (1:1:1) có khối lượng tươi TB/cây và diện tích lá là lớn nhất tuy nhiên khả năng tích lũy chất khô và hàm lượng diệp lục trên lá của cây thấp, cây vàng và xốp. Trong khi cây trồng trên giá thể Đất phù sa + Phân chuồng (2:1) sinh trưởng phát triển rất tốt có hàm lượng diệp lục (40,44), khối lượng khô TB/cây cao nhất (1,57 g), khối lượng tươi TB/cây (19,20 g), diện tích lá TB/cây (3,00 dm²) tương đương với cây trồng trên giá thể Đất phù sa + Phân chuồng + Xơ dừa (1:1:1), cây phát triển cân đối mập đanh khi đưa ra sản xuất cây sinh trưởng phát triển tốt hơn.

Như vậy, đối với cây chuối tiêu Hồng trong giai đoạn vườn ươm II sử dụng giá thể Đất phù sa + Phân chuồng (2:1) là thích hợp nhất.

IV. KẾT LUẬN

1. Nồng độ BAP thích hợp cho giai đoạn nhân nhanh chồi chuối in vitro là 3 ppm, hệ số nhân đạt 4,5 lần.

2. Trong 2 tổ hợp (BAP + casein hydrosate và BAP + cao nấm men) bổ sung vào môi trường nhân nhanh chồi chuối tiêu Hồng, tổ hợp BAP + cao nấm men có hiệu quả hơn. Tổ hợp thích hợp nhất cho sự sinh trưởng phát triển và hệ số nhân chồi là 3,0 ppm BAP + 20

mg/lít cao nấm men. Ở tổ hợp này cho hệ số nhân chồi đạt 7,0 lần đồng thời chất lượng chồi cũng được đánh giá tốt.

3. Môi trường ra rễ tạo cây hoàn chỉnh của chuối tiêu Hồng có bổ sung 0,4 ppm α-NAA là thích hợp nhất, sau 3 ngày cây bắt đầu ra rễ, số rễ trung bình đạt 5,9 rễ và chiều dài rễ đạt 8,2 cm.

4. Chiều sáng tự nhiên với cường độ 10% trong 3 tuần cuối cùng trước khi đưa ra vườn ươm là thích hợp nhất cho cây chuối tiêu Hồng invitro ra rễ và sinh trưởng phát triển, biểu hiện là khi đưa ra vườn ươm tỷ lệ cây sống cao, cây mau ra rễ và ra lá mới.

5. Chuối tiêu Hồng nuôi cấy mô ở giai đoạn vườn ươm II sinh trưởng phát triển tốt nhất trên giá thể Đất phù sa + Phân chuồng (2:1): chiều cao TB/cây đạt 15,20 cm; số lá HĐ TB/cây đạt 6,44 lá; khối lượng tươi TB/cây đạt 19,22 g; khối lượng khô TB/cây đạt 1,57 g; đường kính thân TB/cây đạt 12,18 mm; diện tích lá TB/cây đạt 3,0 dm²; hàm lượng diệp lục đạt 40,44.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Ngọc Phượng, Hoàng Thị Phòng, Thái Xuân Du, Trịnh Mạnh Dũng, 2009, *Nhân giống invitro cây chuối (cavendis sp) trên quy mô công nghiệp*, Báo cáo khoa học, Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2009, tr.319 - 332.
2. Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Nhã, Nguyễn Thị Kim Thanh, Mai Thị Tân, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Minh Tấn, *Nghiên cứu xây dựng quy trình vi nhân giống một số cây trồng có giá trị kinh tế*, tuyển tập công trình nghiên cứu khoa học kỹ thuật Nông nghiệp 1956 - 1996, nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội - 1996.
3. Phạm Kim Thu và Đặng Thị Vân, *Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất cây giống chuối bằng phương pháp nuôi cấy in vitro*, kết quả nghiên cứu khoa học về Rau Quả 1990 - 1994, nhà xuất bản nông nghiệp Hà Nội - 1995.
4. Đỗ Năng Vịnh, Lê Huy Hàm, Nguyễn Bình Phú và Đỗ Văn Cát (1994), “Một số yếu tố ảnh hưởng tới hệ số nhân chồi chuối bằng phương pháp nuôi cấy mô”, Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm số 4 tr.143-147
5. Kawit Wanichkul; Benchamas Silayoi; Chalongchai Babpraserth (1993), *Evaluation and comparative study of potential of banana varieties from tissue culture propagation in several location of Thailand*, Bangkok(Thailand), 147 leaves.
6. Rodriguez. M.J; Lorenzo Martin. JR (1987), “Significance of the physiological history of the explant in the vegetative proparagation of banana shoot tips”, Acta Horticulturae, No.212, vol.I, p.61-68.
7. Weathers; Cheetham. R.D; Giles. K.L (1988), “Dramatic increases in shoot number and lengths for Musa, Cordyline and Nephrolepis using nutrient mists”, Acta Horticulturae, Symposium on High technology in Protected cultivation, hamamatsu, japan (230),p. 39- 44