

NHÂN NHANH CHỒI VÀ TẠO CÂY CHUỐI GIÀ NAM MỸ (*Musa acuminata* Cavendish) HOÀN CHỈNH BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Mai Hải Châu

Trường Đại học Lâm nghiệp - Phân hiệu Đồng Nai

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2023.1.012-023>

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành khảo sát nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng thực vật phù hợp cho nhân giống *in vitro* cây chuối già Nam Mỹ, tác động của giá thể và phân bón đến quá trình ươm trồng cây con *in vitro* bên ngoài vườn ươm. Chồi cây chuối nhân nhanh tốt nhất trên môi trường MS bổ sung BA 4 mg/L, đường 30 g/L, agar 6 g/L. Sau 30 ngày nuôi cấy, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, số chồi thu được là 5,3 chồi/mẫu, chiều cao 2,08 cm. Chồi thu được ở giai đoạn nhân nhanh sau đó được chuyển sang giai đoạn tạo rễ cho thấy môi trường bổ sung hay không bổ sung IBA đều cho khả năng ra rễ. Tuy nhiên môi trường MS bổ sung IBA 1,5 mg/L, đường 30 g/L, 6 g/L agar cho kết quả tạo rễ tốt nhất (7,73 rễ), chiều dài rễ và chiều cao cây lần lượt là 5,67 cm và 7,47 cm. Cây chuối già Nam Mỹ *in vitro* sau đó được đưa ra trồng bên ngoài vườn ươm và sinh trưởng tốt nhất trên giá thể đất : mụn dừa (tỷ lệ 1:1), tỷ lệ sống đạt 93,3%, cây cao 16,5 cm và có số lá trung bình là 5,4 lá. Bón phân NPK (20-15-5) nồng độ 5g/L, 7 ngày/lần sau khi trồng cây ra vườn ươm giúp cây sinh trưởng tốt, tỷ lệ cây sống là 93,3%, cây đạt chiều cao 16,2 cm và 5,2 lá.

Từ khóa: giá thể, *in vitro*, *Musa acuminata* Cavendish, nhân giống, vườn ươm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chuối già Nam Mỹ (*Musa acuminata* Cavendish) được trồng ở nhiều tỉnh thành của Việt Nam, với diện tích lớn nhất trong số các loại cây ăn quả. Năm 2019, diện tích chuối của cả nước xấp xỉ 150 ngàn ha, chiếm hơn 19% tổng diện tích cây trồng ăn quả của cả nước, với sản lượng đạt 2.140 ngàn tấn, là mặt hàng trái cây xuất đứng thứ 3 sau trái thanh long và trái xoài. Trung Quốc là thị trường xuất khẩu chính (lớn nhất) hàng rau quả của Việt Nam, trong 9 tháng đầu năm 2022 giá trị xuất khẩu sang thị trường này đạt 1,06 tỷ USD, chiếm 43,3% tổng giá trị xuất khẩu ngành hàng rau quả. Do cây chuối già Nam Mỹ có giá trị kinh tế cao, thị trường xuất khẩu tương đối ổn định nên nhiều đơn vị đã và đang xây dựng vùng chuyên canh ổn định, canh tác theo một quy trình sạch, khép kín, kết hợp công nghệ tự động giúp cho các khâu làm việc nhanh chóng và chính xác hơn. Nhân giống chuối già Nam Mỹ bằng phương pháp nuôi cấy mô không chỉ đóng góp và quy trình sản xuất giống chuối thương mại nói chung mà hiện còn đang trở thành một mắt xích quan trọng trong quá trình sản xuất kinh doanh theo chuỗi giá trị.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng việc bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật (CĐHSTTV) loại BA có tác dụng trong thúc đẩy sự sản sinh chồi cây chuối với tốc độ cao, đồng thời quá trình tạo rễ cũng diễn ra mạnh mẽ khi sử dụng các loại chất điều hòa sinh trưởng thực vật thuộc nhóm auxin như NAA, IBA, IAA [5, 9, 12, 16, 17, 21]. Việc khảo sát mức nồng độ CĐHSTTV phù hợp trong tái sinh chồi và ra rễ cây chuối, hạn chế tối đa việc hình thành các biến dị bất thường không mong muốn cũng đã được Shiraini và cộng sự (2009), Al-amin và cộng sự (2009) nghiên cứu [10, 22]. Bên cạnh đó, kỹ thuật đưa cây chuối nuôi cấy mô ra vườn ươm và đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố ngoài môi trường như ánh sáng, độ ẩm, giá thể, phân bón... cũng đã được nhiều tác giả công bố [7, 8, 14, 19, 20].

Ngoài ra, việc đưa cây *in vitro* ra vườn ươm là giai đoạn khó khăn vì cây nuôi cấy mô đang sống trong điều kiện ổn định về dinh dưỡng, ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm... Khi chuyển trực tiếp ra môi trường với các điều kiện tự nhiên hoàn toàn khác như dinh dưỡng ít ổn định, nhiệt độ cao, ánh sáng mạnh, độ ẩm thấp khiến cây con dễ mất nước, héo và chết. Để đảm bảo cây có tỉ lệ

sống cao, vườn ươm cây phải mát, có độ che phủ cao để giảm cường độ ánh sáng, duy trì độ ẩm. Do vậy, việc chọn giá thể thích hợp cũng là công việc quan trọng để tăng tỉ lệ sống của cây con khi đưa ra vườn ươm.

Để phát huy những ưu điểm của phương pháp nhân giống chuối cây mô là cho năng suất cao, tạo cây sạch bệnh, tuổi cây đồng đều, giúp người trồng có thể đáp ứng nguồn giống trồng quy mô lớn, nghiên cứu đã được thực hiện.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của 6-Benzyl adenine purine (BA) lên khả năng nhân nhanh chồi chuối già Nam Mỹ nuôi cấy *in vitro*

Vật liệu thí nghiệm: Chồi cây chuối già Nam Mỹ 30 ngày tuổi có chiều dài $1,0 \pm 0,1$ cm được nuôi cấy *in vitro* trên môi trường nền MS [19] bổ sung 30 g/l đường sucrose, 6 g/l agar, pH=5,8±0,1 (Hình 1).



Hình 1. Chồi cây chuối già Nam Mỹ dùng trong thí nghiệm 1

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 1 yếu tố khảo sát là các nồng độ khác nhau của BA, trong đó có một nghiệm thức đối chứng không bổ sung BA, các nghiệm thức còn lại bổ sung BA với các nồng độ 2 mg/L (B2), 4 mg/L (B4) và 6 mg/L (B6). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mẫu cấy đặt trong bình trụ (V = 250 ml) chứa 40 ml môi trường nuôi cấy. Các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu tạo chồi (%), số chồi, chiều

cao chồi (cm) được theo dõi và ghi nhận ở ngày nuôi cấy thứ 30.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của Indole-3-butyric acid (IBA) đến khả năng ra rễ của chồi cây chuối già Nam Mỹ nuôi cấy *in vitro*

Vật liệu thí nghiệm: chồi *in vitro* mang 2 lá mở có kích thước $2,5 \pm 0,2$ cm (Hình 2) thu được từ thí nghiệm 1.



Hình 2. Chồi cây chuối già Nam Mỹ dùng trong thí nghiệm 2

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn

ngẫu nhiên với 1 yếu tố khảo sát là nồng độ CDHSTTV IBA (0 mg/L (I0); 0,5 mg/L (I0,5);

1 mg/L (I1); 1,5 mg/L (I1,5); 2 mg/L (I2) và 2,5 mg/L (I2,5)). Thí nghiệm lặp lại 3 lần, mẫu cây được đặt trong chai trụ ($V = 130 \text{ ml}$) chứa 20 ml môi trường nuôi cấy. Các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu ra rễ (%), số rễ, chiều dài rễ (cm) và chiều cao cây (cm) được theo dõi và ghi nhận ở ngày nuôi cấy thứ 30.

Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của các loại giá thể đến sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ đưa từ *in vitro* ra ngoài vườn ươm

Vật liệu thí nghiệm: cây giống chuối già cây

mô có chiều cao 5 cm (hình 3) được cấy vào bầu đất chứa 300 dm³ giá thể. Nguồn đất sử dụng là đất nâu pha sỏi có sẵn tại khu vực Trảng Bom (Đồng Nai) trấu và mụn dừa mua ở các cửa hàng trên địa bàn.

Bố trí thí nghiệm: giá thể được phối trộn với các tỷ lệ theo Bảng 1. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức, được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố, 3 lần lặp lại. Các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu sống (%), chiều cao cây (cm) và số lá được theo dõi và ghi nhận ở ngày 45 sau khi nuôi trồng.

Bảng 1. Các nghiệm thức ở thí nghiệm 3

Nghiệm thức	Tỷ lệ phối trộn
G0 (ĐC)	100% Đất
G1	Đất : trấu = 1 : 1
G2	Đất : mụn dừa = 1 : 1
G3	Đất : trấu : mụn dừa = 1 : 1 : 1



Hình 3. Vật liệu thí nghiệm 3, 4

Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ phân bón đến sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ giai đoạn vườn ươm

Vật liệu thí nghiệm: cây giống chuối già cây mô có chiều cao 5 cm (Hình 3) được cấy vào bầu đất chứa 300 dm³ giá thể có kết quả tốt nhất trong thí nghiệm 3. Sau khi ươm 1 tuần bắt đầu tưới phân mỗi 7 ngày/lần. Phân bón sử dụng trong thí nghiệm là phân bón NPK (20-15-5) được cung cấp bởi công ty Phân bón Bình Điền.

Bố trí thí nghiệm: phân bón NPK được sử

dụng ở các nồng độ pha loãng 5 g/L (P2), 10g/L(P3), 15g/L (P4) và 1 nghiệm thức đối chứng không sử dụng phân bón (P1). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố, 3 lần lặp lại. Các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu sống (%), chiều cao cây (cm) và số lá được theo dõi và ghi nhận ở ngày 45 sau khi nuôi trồng.

2.2. Điều kiện thí nghiệm

Môi trường nuôi cấy *in vitro*: là môi trường khoáng MS có bổ sung 30 g/L sucrose, 6 g/L agar, chất điều hòa sinh trưởng thực vật theo

bảng 2.1 và 2.2. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh đến pH = 5,8 ± 0,1 và hấp khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 20 phút. Sau khi cấy, mẫu cấy được nuôi ở điều kiện 25±2 °C; độ ẩm 55±5%; cường độ ánh sáng 3000 Lux; thời gian chiếu sáng 12 giờ trong 30 ngày.

Điều kiện nuôi trồng ngoài vườn ươm: cây giống *in vitro* được mang ra khỏi túi cấy mô, rửa sạch môi trường dinh dưỡng còn dính vào rễ, phun nấm đối kháng *Trichoderma* theo liều lượng 5g/L, để ráo, sau đó đem trồng vào bầu. Mẫu được trồng trong vườn ươm có nhiệt độ 27 - 31°C, độ ẩm vườn 60 – 90%, được kiểm soát thông qua chế độ tưới. Che sáng 50% trong tuần đầu tiên, 75% trong tuần thứ 2 sau đó chiếu sáng hoàn toàn với ánh sáng tự nhiên. Cây được nuôi trồng trong 45 ngày.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA đến tỷ lệ mẫu tạo chồi, số chồi và chiều cao của chồi cây chuối già Nam Mỹ nuôi cấy *in vitro* ở ngày thứ 30

Nghiệm thức	Tỉ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)
ĐC	100	2,40d	3,02a
B2	100	4,43c	2,13b
B4	100	8,43a	2,08b
B6	100	6,43b	1,88b

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái a,b,c... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$

Môi trường nuôi cấy có bổ sung BA 4 mg/L cho số chồi cao nhất, đạt 8,43 chồi/mẫu (Hình 4c), môi trường không chứa BA (ĐC) có số chồi hình thành thấp nhất, chỉ đạt 2,40 chồi/mẫu (Hình 4a). Sự thay đổi nồng độ BA từ không bổ sung lên bổ sung 2mg/L và 4 mg/L đã làm tăng số chồi thu được từ 2,40 chồi lên 4,43 chồi và 8,43 chồi. Tuy nhiên, việc tiếp tục tăng nồng độ BA đến 6 mg/L đã khiến số chồi chuối già Nam Mỹ giảm xuống còn 6,43 chồi. Điều này chứng tỏ rằng việc tăng nồng độ BA lên một ngưỡng quá cao gây ảnh hưởng đến khả năng phát sinh chồi của cây chuối già Nam Mỹ.

Shiraini và cộng sự (2009) đã ghi nhận rằng khi tăng nồng độ BA ≥ 22,2 µM (tương đương 5 mg/L) thì số lượng chồi của các giống chuối tăng tương ứng, nhưng khi tăng nồng độ lên

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel và Statgraphic Centurion XVI và phân hạng bằng trắc nghiệm Duncan's Multiple Range Test.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi cây chuối già Nam Mỹ

Sau 30 ngày nuôi cấy, tỷ lệ mẫu tạo chồi ở tất cả các nghiệm thức không có sự khác biệt, đều đạt 100%, chứng tỏ việc có hay không BA trong môi trường nuôi cấy đều kích thích mẫu tạo chồi. Tuy nhiên, sự khác biệt về nồng độ BA sử dụng đã dẫn đến số chồi và chiều cao chồi thu được ở các nghiệm thức khác biệt nhau một cách có ý nghĩa (Bảng 2).

33,3 µM (tương đương 7,5 mg/L) gây ra tần số tái sinh chồi bất thường khá cao. Đỗ Đăng Giáp và cộng sự (2012) cũng cho rằng nồng độ BA cao hơn 5 mg/L trong môi trường làm cho cây chuối xuất hiện các nốt sần, cây cong queo, còi cọc [1]. Cũng trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã chứng minh môi trường MS bổ sung 5 mg/L BA + 100 mg/L adenin sulphate hoặc 100 mg/L myo-inositol cho số lượng chồi cao nhất (lần lượt là 6,9 và 8,0 chồi). Bùi Thị Thu Hương và cộng sự (2020) đã báo cáo rằng môi trường thích hợp nhất ở giai đoạn nhân chồi chuối *Musa spp.* là môi trường MS có bổ sung 3 mg/L BA, với hệ số nhân chồi là 3,03 lần và chiều cao chồi đạt 2,06 cm [2].

Sự gia tăng nồng độ BA trong môi trường nuôi cấy khiến cho chiều cao chồi giảm đi ở tất

cả các nghiệm thức. Tất cả các mẫu nuôi trong môi trường có BA đều có chiều cao chồi thấp so với mẫu đối chứng. Điều này có thể lý giải do sự có mặt của BA trong môi trường nuôi cấy nên đã ức chế hiện tượng ưu thế ngọn, kích thích phát triển mầm bên, cảm ứng sự hình thành các

chồi mới [11]. Nghiên cứu của Mehnaz Qamar và cộng sự (2015) cho thấy rằng thay vì sử dụng đơn lẻ một chất thì sự kết hợp BA 4 mg/L và IAA 0,5 mg/L không chỉ thu được số chồi cao nhất (8,75 chồi) mà còn có chiều cao chồi lớn nhất (5,16 cm) [15].



Hình 4. Chồi *in vitro* ở ngày nuôi cấy 30
a: BA 0 mg/l; b: BA 2 mg/l; c: BA 4 mg/l; d: BA 6 mg/l

Trong quá trình theo dõi nhận thấy ở nghiệm thức B4 (Hình 4c) chồi có màu xanh mướt, lá phát triển tốt, thân chồi mập trong khi các nghiệm thức B2 và B6 màu sắc chồi hơi ngả vàng, lá bị quăn, chồi cong, lá có nhiều đốm đen (Hình 4b,d). Điều này có thể là do CĐHSTTV sử dụng chưa phù hợp với mẫu cây chuối già Nam Mỹ *in vitro*.

Nhìn chung, trong thí nghiệm này, môi trường MS bổ sung BA 4 mg/L là thích hợp nhất cho quá trình nhân chồi cây chuối già Nam Mỹ *in vitro*.

3.2. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của cây chuối già Nam Mỹ

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3) cho thấy tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức.

Tuy nhiên việc bổ sung ở các mức nồng độ IBA khác nhau có ảnh hưởng đến số rễ, chiều dài rễ và chiều cao cây ở tất cả các nghiệm thức. Khi không bổ sung IBA (nghiệm thức ĐC), cây chuối già Nam Mỹ vẫn có khả năng tạo rễ, tuy nhiên số rễ (5,37 rễ) và chiều dài rễ (3,90 cm) ít hơn hẳn so với các nghiệm thức còn lại (có chứa IBA). Nghiệm thức I1,5 và I2 đều có số rễ cao nhất và không có sự khác biệt về mặt thống kê, lần lượt đạt 7,73 rễ và 6,90 rễ. Tuy nhiên, nghiệm thức I1,5 có chiều dài rễ lớn nhất so với

các nghiệm thức còn lại (5,67 cm). Khi nồng độ IBA tăng từ 0 mg/L lên 1,5 mg/L thì số rễ tăng từ 5,37 rễ (ĐC) lên 7,73 rễ (I1,5) và chiều dài rễ tăng từ 3,90 cm (ĐC) lên 5,67 cm (I1,5). Khi nồng độ IBA tăng từ 1,5 mg/L lên 2,5 mg/L thì số rễ, chiều dài rễ giảm xuống còn 6,13 rễ và 4,52 cm (nghiệm thức I2,5). Điều này chứng tỏ khi sử dụng IBA ở mức nồng độ quá cao hoặc không phù hợp với chuối già Nam Mỹ nuôi cây *in vitro* thì quá trình tạo rễ của cây bị ảnh hưởng (Bảng 3; Hình 5).

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA đến tỷ lệ mẫu ra rễ, số rễ và chiều dài rễ cây chuối già Nam Mỹ *in vitro*

Nghiệm thức	Tỉ lệ ra rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)
I0 (ĐC)	100	5,37c	3,90d	7,38a
I0,5	100	6,00bc	4,39c	6,97a
I1	100	6,70ab	4,82bc	6,97a
I1,5	100	7,73a	5,67a	7,47a
I2	100	6,90ab	4,86b	7,17a
I2,5	100	6,13bc	4,52bc	7,30a

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái a,b,c... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$.

Subandi và cộng sự (2018) cũng thấy rằng nhân giống cây con Cavendish (*Musa acuminata* L.) thì môi trường bổ sung 1,5 mg/L IBA là tối ưu cho sự phát triển rễ cây chuối nhóm Cavendish [24]. Quá trình nhân giống chuối *Musa acuminata* L. *in vitro* cũng được Kaberi Maharana và cộng sự (2017) báo cáo rằng nghiệm thức cho kết quả tốt nhất với 5,08 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 5,30 cm khi cây được nuôi cấy với 1 mg/L IBA [13]. Năm 2018 nhóm nghiên cứu của Sinha khảo sát và thấy rằng cây chuối *Musa* sp. Cultivar Gopi (một loại chuối ngon ở Tripura, Ấn Độ) tạo rễ và sinh trưởng tốt nhất ở nồng độ IBA 2mg/L [23]. Như vậy, việc bổ sung IBA vào môi trường nuôi cây mô chuối già Nam Mỹ (*Musa acuminata* Cavendish) là rất quan trọng. Nếu bổ sung IBA

vào môi trường nuôi cấy thích hợp sẽ có tác dụng kích thích sự ra rễ, tăng số lượng rễ, chiều dài rễ và chiều cao cây. Sự kết hợp của hai hay nhiều CĐHSTTV nhóm auxin có tác dụng mạnh mẽ trong việc tăng trưởng rễ của cây chuối.

Ngoài ra, trong quá trình thí nghiệm chúng tôi nhận thấy nghiệm thức I1,5 không chỉ có số rễ và chiều dài rễ lớn nhất mà rễ rất rễ mập, khỏe, đâm xiên trong môi trường tốt (hình 5d). Các nghiệm thức khác, đặc biệt là đối chứng không bổ sung IBA rễ bị đen, rễ mảnh và nhỏ hơn (hình 5a).

Từ kết quả trên có thể thấy sử dụng nồng độ IBA 1,5 mg/L là thích hợp nhất cho quá trình ra rễ cây chuối già Nam Mỹ, số rễ đạt 7,3 rễ; chiều dài rễ đạt 5,67 cm và chiều cao cây đạt 7,47 cm.



Hình 5. Cây chuối già Nam Mỹ sau 30 ngày nuôi cấy
 a: IBA 0 mg/l; b: IBA 0,5 mg/l; c: IBA 1 mg/l;
 d: IBA 1,5 mg/l; e: IBA 2 mg/l; f: IBA 2,5 mg/l

3.3. Ảnh hưởng của các loại giá thể đến sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ

Nhìn chung, việc sử dụng các loại giá thể khác nhau cho kết quả khác biệt về các chỉ tiêu sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ đưa từ *in vitro* ra vườn ươm (Bảng 4). Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi được trồng trên các loại giá thể phù hợp, cây chuối có tốc độ sinh trưởng vượt trội hơn hẳn so với những điều kiện không tương thích [3, 5, 6]. Kết quả nghiên cứu cho

thấy tỷ lệ sống khi đưa cây con từ điều kiện *in vitro* ra ngoài vườn ươm đạt tương đối cao. Nghiệm thức đối chứng (chỉ sử dụng đất) có tỷ lệ mẫu sống thấp nhất (76,7%). Sự phối trộn trấu (G1) hoặc cả trấu và mụn dừa (G3) cùng với đất đã cho tỷ lệ mẫu sống cao hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, việc sử dụng đất và mụn dừa phối trộn theo tỷ lệ 1:1 (nghiệm thức G2) cho kết quả tỷ lệ sống cao nhất (đạt 93,3%).

Bảng 4. Ảnh hưởng của giá thể đến quá trình huấn luyện cây chuối *in vitro* thích nghi với điều kiện tự nhiên

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá
G0 (ĐC)	76,7	12,0c	3,8b
G1	80,0	13,1b	4,3b
G2	93,3	16,5a	5,4a
G3	86,7	14,5b	4,7a

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái a,b,c... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$.

Chiều cao cây và số lá ở tất cả các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa. Trong đó, nghiệm thức đối chứng (ĐC) có chiều cao cây và số lá thấp nhất (lần lượt là 12,0 cm và 3,8 lá). Các nghiệm thức có bổ sung thêm trấu hoặc mụn dừa đều cho kết quả chiều cao cây và số lá cao hơn so với đối chứng. Nghiệm thức G2 cho kết quả chiều cao cây và số lá cao nhất (165 cm và 5,4 lá), gấp lần lượt 1,38 và 1,42 lần so với nghiệm thức đối chứng.

Sự phối trộn giữa đất và mụn dừa (1:1) mang lại hiệu quả cao nhất trong quá trình xuống giống. Đất nâu được sử dụng có đặc tính kết dính cao, thành phần dinh dưỡng thấp. Khi tưới nhiều nước đất dẻo trở nước dễ gây thối rễ, ngược lại khi khô thì kết cấu cứng chắc gây bó rễ làm hư bộ lông hút khiến cây nhanh héo và chết. Mụn dừa là loại giá thể tro, xốp tạo độ thông thoáng cho bộ rễ cây trồng. Đối với cây con còn nhỏ như chuối cây mô thì việc cân đối lượng nước vô cùng quan trọng. Việc phối trộn mụn dừa và đất theo tỷ lệ 1:1, giúp tận dụng được hai ưu thế đó là xốp và giữ nước, đất xốp giúp bộ rễ bên trong được thông thoáng, các lông hút của rễ men theo các lỗ trống giữa các hạt giá thể và đất có thể hút nước và các chất dinh dưỡng dễ dàng, đất giúp giữ kết cấu để cây đứng hạn chế mất nước. Bộ rễ cây phát triển khoẻ mạnh giúp cây hấp thu các chất dinh dưỡng tốt nhất, là nền tảng để tạo sức bật khi ươm trồng ngoài đồng ruộng.

Nghiệm thức đối chứng G0 cho các kết quả về tỷ lệ sống, chiều cao cây và số lá thấp nhất; chiều cao trung bình của các cây trong cùng một nghiệm thức không đồng đều. Trong kiểu canh tác nông nghiệp truyền thống, các loại cây đều sử dụng nguồn giá thể duy nhất là đất, cho đến hiện nay việc nhân giống cây lâm nghiệp như bạch đàn, keo lai vẫn được ươm trong đất do giá thành rẻ. Tuy nhiên, đối với chuối nuôi cấy mô, chỉ ươm trong đất bộ rễ của cây không thông thoáng, các lông hút khó hút chất dinh dưỡng ảnh hưởng đến việc tạo rễ mới. Cây có bộ rễ phát triển kém dẫn đến sự hoà hợp

và sinh trưởng của cây khi ươm trồng cũng kém, dẫn đến cây phát triển không đồng đều và tỷ lệ chết cao.

Vũ Thị Bạch Phương và cộng sự (2018) khi nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đưa cây chuối sấp từ *in vitro* ra bên ngoài vườn trồng cũng thấy rằng tỷ lệ chết khi trồng chuối trên giá thể đất lên đến 55,56% [4]. Rashid và cộng sự (2013) khi nghiên cứu gieo hạt cây chuối hoang dại trên giá thể đất cũng thu được kết quả chỉ có 22/2000 hạt nảy mầm thành cây con. Tuy nhiên khi phối trộn giá thể đất và cát thì tỷ lệ này tăng lên tới 7 lần (152/2000). Điều này một lần nữa cho thấy rằng sự phối trộn các loại giá thể đã có tác động đáng kể đến quá trình sinh trưởng của cây chuối con ngoài vườn ươm [18].

Trấu là một loại giá thể tro, được các nông hộ ở miền Tây sử dụng rất nhiều trong trồng các loại cây hoa kiểng. Khi kết hợp riêng với đất hay kết hợp chung với đất và mụn dừa đều cho tỷ lệ sống xấp xỉ 80%, nhờ yếu tố thông thoáng cho việc phát triển bộ rễ, tuy nhiên lại không đạt được hiệu quả cao bằng sự phối trộn giữa mụn dừa và đất. Nguyên nhân có thể là do vỏ trấu có kích cỡ lớn, khi phối trộn làm độ thoát nước tăng lên, cây không giữ được ẩm làm mất nước khiến tỷ lệ chết tăng.

Năm 2020, Hồ Thanh Tâm và cộng sự cũng khảo sát một số loại giá thể sử dụng cho trồng cây chuối Laba từ *in vitro* ra vườn ươm và thấy rằng cây trồng trên giá thể xơ dừa, đất đen theo tỷ lệ 1:1 phát triển tốt hơn cây chỉ trồng trên giá thể xơ dừa hoặc đất không, chiều cao cây, số lá và trọng lượng tươi tăng nhanh. Tuy nhiên, cũng trong nghiên cứu này việc kết hợp nhiều loại giá thể khác nhau, trong đó có tro, trấu và phân bò cho tỷ lệ sống và các chỉ tiêu sinh trưởng cao nhất [6]. Đặng Thị Mai và cộng sự (2015) cũng đã chỉ ra rằng, các nền giá thể khác nhau có ảnh hưởng rất khác nhau đến sự sinh trưởng của cây chuối trong giai đoạn vườn ươm. Cây chuối sinh trưởng trưởng phát triển trên giá thể đất phù sa + phân chuồng + xơ dừa có khối lượng tươi trung bình/cây và diện tích lá lớn nhất [3].



Hình 6. Cây chuối ở nghiệm thức G2

Quan sát trong quá trình thực hiện thí nghiệm, mẫu cây ở tất cả các nghiệm thức nhìn chung đều có sự tăng trưởng tốt, cây to khỏe. Tuy nhiên ở nghiệm thức G2 cây con sinh trưởng tốt hơn hẳn so với các nghiệm thức còn lại, cây cao, khỏe, mập mạp, màu sắc lá tươi tốt (hình 6). Như vậy, sự phối hợp giữa đất và mụn dừa với tỷ lệ 1:1 cho tỷ lệ sống, chỉ tiêu về chiều cao và độ dài lá với kết quả lớn nhất lần lượt là 93,3%; 16,5 cm và 5,4 lá.

3.4. Ảnh hưởng của phân bón đến sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ giai đoạn vườn ươm

Phân bón là một trong những yếu tố vô cùng quan trọng, đóng vai trò quyết định đối với quá trình tăng trưởng của cây. Mỗi giai đoạn sinh

trưởng của cây chuối cần một chế độ dinh dưỡng và chế độ chăm sóc khác nhau, do đó, nếu đáp ứng đúng và đủ cho cây thì mới cho năng suất và chất lượng chuối cao nhất. Việc sử dụng các loại phân bón với liều lượng khác nhau đã cho kết quả khác biệt rõ rệt về các chỉ tiêu sinh trưởng của cây chuối già Nam Mỹ khi trồng trong vườn ươm (Bảng 5).

Bảng 5 cho thấy nghiệm thức P2 (5g/L) có kết quả tốt nhất với tỷ lệ sống đạt 93,3%, chiều cao cây đạt 16,2 cm và số lá trung bình 5,2 lá. Các nghiệm thức P1 (0g/L), P3 (10 g/L), P4 (15g/L) cho kết quả khá tương đương nhau, không có khác biệt ý nghĩa về chiều cao cây và số lá. Tuy nhiên, các cây ở nghiệm thức P4 có tỷ lệ sống thấp nhất, chỉ đạt 66,7%.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ phân bón NPK (20-15-5) đến tỷ lệ mẫu sống, chiều cao cây và số lá của cây chuối già Nam Mỹ

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá
P1	76,7b	10,0b	3,5b
P2	93,3a	16,2a	5,2a
P3	73,3b	11,1b	3,6b
P4	66,7b	10,8b	3,4b

Ghi chú: trong cùng một cột, các chữ cái a,b,c... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$.

Khi không bón phân, cây còi cọc chậm lớn (nghiệm thức P1) tỷ lệ cây chết cao (23,3%), chiều cao cây và số lá chỉ đạt 10,0 cm và 3,4 lá (Hình 7). Khi ươm trồng tại vườn ươm, bầu cây chứa 300ml giá thể, trong đó có 50% là mụn dừa trợ không chứa dinh dưỡng, vì vậy khi không bón phân trong quá trình gieo ươm cây chỉ hấp thụ lượng ít dinh dưỡng có sẵn, điều này chỉ giúp cây chống chịu được trong tuần đầu tiên, sau thời gian dài (45 ngày) cây dần còi cọc và chết đi do thiếu dinh dưỡng.

Lượng phân bón tăng lên thì cây cũng sinh trưởng và phát triển tốt hơn, trong đất bộ rễ cây hấp thụ dinh dưỡng và truyền đi các bộ phận trong cơ thể thực vật, giúp cây luôn ở trạng thái

khỏe mạnh. Khi sử dụng phân có nồng độ 5 g/L (nghiệm thức P2), cây đạt chiều cao 16,5 cm và số lá cao nhất là 5,2 lá. Chiều cao cây ở nghiệm thức P2 gấp 1,65 lần và số lá gấp 1,49 lần so với đối chứng. Tuy nhiên, khi liều lượng phân tăng cao (10g, 15g) đã dẫn đến sự ức chế đối với sự phát triển của cây trồng. Trong thí nghiệm này, việc ức chế thể hiện rõ ở nghiệm thức P3 và P4. Ở nghiệm thức P3, tỷ lệ cây chết 23,3% đến nghiệm thức P4 tỷ lệ chết chiếm 43,3%, tức là gần một nửa số cây thí nghiệm; chiều cao cây và số lá ở hai nghiệm thức P3 (11,1 cm; 2,6 lá) và P4 (10,8 cm; 3,4 lá) cũng giảm xuống rõ rệt so với nghiệm thức P2 (16,5 cm; 5,2 lá) (Bảng 5; Hình 7).



Hình 7. Cây chuối già Nam Mỹ ở các nghiệm thức P1, P2, P3, P4 sau 45 ngày ươm trồng
P1: không bón NPK; P2: NPK 5g/L; P3: NPK 10 g/L; P4: NPK 15 g/L.

Theo Kawit - Wanichkul và cộng sự (1993) hỗn hợp xơ dừa + cát + phân chuồng + compost + đất (tỷ lệ 1:1:1:0,5:0,5) là môi trường tốt nhất cho chuối nuôi cấy mô bền rễ, cứng cây, thời gian để ở giai đoạn vườn ươm tốt nhất là 7 tuần; nếu để quá, khi đưa cây ra ruộng cây sẽ mọc chậm [14]. Tác giả Phạm Kim Thu và Đặng Thị Vân (1997) cho biết, nền đất + phân hữu cơ + cát đen (tỷ lệ 1:1:1) là tốt nhất để đưa chuối nuôi cấy mô ra vườn ươm [8]. Có thể thấy, việc sử dụng phân bón trong quá trình trồng chuối nuôi cấy mô ngoài vườn ươm đóng vai trò quan trọng và quyết định đến sinh trưởng của cây chuối. Trong nghiên cứu này, việc bón phân NPK (20-15-5) ở nồng độ 5 g/L giúp cây đạt tỷ lệ sống cao đến 93,3%, chiều cao cây đạt 16,2 cm và số lá đạt 5,2 lá, là lượng phân bón hiệu quả trong ươm trồng chuối già Nam Mỹ cấy mô.

4. KẾT LUẬN

Mẫu cây chồi cây chuối già Nam Mỹ nhân nhanh tốt nhất trên môi trường MS bổ sung BA 1 mg/L, đường 30 g/L, agar 6g/L. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, số chồi thu được là 5,30 chồi/mẫu với chiều cao trung bình 2,08 cm. Môi trường MS bổ sung IBA 1,5 mg/L, đường 30 g/L, 6g/L agar cho kết quả nuôi cấy tạo rễ từ mẫu cây chồi cây chuối già Nam Mỹ *in vitro* tốt nhất (7,73 rễ), chiều dài rễ và chiều cao cây đạt lần lượt 5,67 cm và 7,47 cm. Quá trình đưa cây con *in vitro* ra ngoài vườn ươm có tỷ lệ sống cao nhất (93,3%), chiều cao cây và số lá lớn nhất đạt 16,5 cm và 5,4 lá. Phân bón NPK (20-15-5) với nồng độ 5g/L giúp cây sinh trưởng tốt bên ngoài vườn ươm, tỷ lệ cây sống là 93,3%, cây đạt chiều cao 16,2 cm và 5,2 lá.

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]. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới, Phùng Thị Hồng Linh & Trần Hiền Linh (2020). Nghiên cứu vi nhân giống cây chuối ngự Đại Hoàng (*Musa spp.*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 1: 45-46.

[3]. Đặng Thị Mai & Trịnh Nhất Chung (2015). Vai trò của chất điều tiết sinh trưởng, ánh sáng và giá thể trong nhân giống *in vitro* chuối tiêu hồng. Kết quả nghiên cứu khoa học và chuyển giao công nghệ về rau, hoa, quả, cây cảnh giai đoạn 2011-2015. Viện Khoa học Nông nghiệp miền Nam.

[4]. Vũ Thị Bạch Phương, Triệu Thị Yến Nhi, Dương Công Kiên & Quách Ngô Diễm Phương (2018). Khảo sát quy trình vi nhân giống cây chuối sáp (*Musa balbasiana* nhóm BBB). Tạp chí Phát triển Khoa học & Công nghệ: Chuyên san khoa học tự nhiên. 2(3): 56-64.

[5]. Vũ Ngọc Phương, Hoàng Thị Phòng, Thái Xuân Du & Trịnh Mạnh Dũng (2009). Nhân giống *in vitro* cây chuối (*Cavendish SP.*) trên quy mô công nghiệp. Báo cáo khoa học – Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc năm 2009. Viện Công nghệ Sinh học Việt Nam. 319-322.

[6]. Hồ Thanh Tâm, Trần Thị Nhung, Hoàng Thị Như Phương, Nguyễn Thị Kim Cúc & Lê Thành Đô (2020). Nâng cao hệ số nhân giống *in vitro* và khảo sát quá trình thích nghi ngoài vườn ươm giống chuối laba (*Musa sp.*). Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc 2020. 903-908.

[7]. Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Nhẫn & Hoàng Thị Nha (1995). Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân nhanh *in-vitro* giống chuối Tiêu Trung. Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng. 2: 10-13.

[8]. Phạm Kim Thu & Đặng Thị Vân (1997). 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. NXB Nông nghiệp Hà Nội.

[9]. Đỗ Năng Vịnh (1996). Báo cáo nghiệm thu đề tài KC-08-13, Chương trình công nghệ sinh học KC08 giai đoạn 1991 -1995, Khu vực miền núi phía Bắc. Viện Di truyền Nông nghiệp, Hà Nội. 6-7.

[10]. Al-amin M.R., Karim M.R., Amin S. R. & Mamun A.N.M. (2009). *In vitro* micropropagation of banana (*Musa spp.*). Bangladesh J. Agril. Res. 34(4). 645-659.

[11]. George E.F., Hall M.A. & Klerk G.D. (2008). Plant Propagation by Tissue Culture. 205-226.

[12]. Govindaraju S., Saravanan J., Jayanthi B., Nancy D. & Indra Arulselvi P. (2012). *In vitro* propagation of Banana (*Musa sp.*-Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. Research in Plant Biology. 2(5): 01-06.

[13]. Kaberi M., Sashikala B. & Partha S.M. (2017). A Fast Protocol for *in vitro* Cloning of Banana (*Musa acuminata*) cv. Amritpani. International Journal of

Current Microbiology and Applied Sciences. 6 (10): 586-594.

[14]. Kawit W., Benchamas S. & Chalongsai B. (1993). Evaluation and comparative study of potential of banana varieties from tissue culture propagation in several location of Thailand. Research report. Kasetsart University, Bangkok (Thailand).

[15]. Mehnaz Q., Sadaf T.Q, Imtiaz A.K & Saboohi R. (2015). Optimization of *in vitro* multiplication for exotic banana (*Musa spp.*) in Pakistan. African journal of Biotechnology. 14 (24): 1989-1995.

[16]. Munguatosha N., Emerald M. & Patrick N. (2013). The Effects of Auxins and Cytokinin on Growth and Development of (*Musa sp.*) Var. “Yangambi” Explants in Tissue Culture. American Journal of Plant Sciences. 4: 2174-2180.

[17]. Rahman S., Biswas N., Hassan M., Ahmed G., A.N. Mamun, Islam R., Moniruzzaman & Haque E. (2013). Micro propagation of banana (*Musa sp.*) cv. Agnishwar by *in vitro* shoot tip culture. Intl. Res. J. Biotech. 4(4): 83-88.

[18]. Rashid K., Mamat M., Daran A.B.M., Nezhadahmadi A., Ruslan F. & Kayat F. (2013). Seed progeny population of wild banana *Musa acuminata* ssp. malaccensis for Fusarium screening. Life Science Journal. 10(3): 671-680.

[19]. Recel M. R., Coronel R.E., Payot J.A. & Cardona E.C. (2004). Banana production manual. PCARRD Book series No.175/2004. Philippines Council for Agriculture, Forestry and Natural resources Research and Development – Department of Science and Technology (PCARRD-DOST), Las Banos, Laguna, Philippines. 129-148.

[20]. Reuveni O., Israeli Y., Degany H. & Eshdat Y. (1986). Genetic Variability in Banana Plants Multiplied by *In Vitro* Techniques. Research Report AGPG, IBPGR/85/216. International Board for Plant Genetic Resources. 1-36.

[21]. Safarpour M., Uma R. S., Sreeramanan S. & Mallappa K.S. (2017). A novel technique for *Musa acuminata* Colla ‘Grand Naine’ (AAA) micropropagation through transverse sectioning of the shoot apex. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 53: 1-13.

[22]. Shirani S., Mahdavi F. & Maziah M. (2009). Morphological abnormality among regenerated shoots of banana and plantain (*Musa spp.*) after *in vitro* multiplication with TDZ and BA from excised shoot tips. African Journal of Biotechnology. 8(21): 5755-5761.

[23]. Sinha R.K., Saha P.R.S., Das A.B., Jena S.N. & Sinha S. (2018). *In vitro* clonal propagation of *Musa sp.* cultivar Gopi: A palatable banana of Tripura, India. American J. Plant Biol. 3(1): 12-16. doi: 10.11648/j.ajpb.20180301.13

[24]. Subandi M., Arkhan J. & Sofiya H. (2018). Growth induction of Cavendish buds (*Musa acuminata* L.) on difference concentration of IBA and BA *in vitro*. Asian Journal of Agriculture and rural Development, Asian Economic and Social Society. 8(2): 178-187.

SHOOT MULTIPLICATION AND PLANT REGENERATION FROM IN VITRO CULTURES OF BANANA (*Musa acuminata* Cavendish)

Mai Hai Chau

Vietnam National University of Forestry – Dong Nai Campus

ABSTRACT

With an aim at the propagation of the *Musa acuminata* Cavendish, the effects of the plant growth regulation on the shooting and the rooting stage, growing media and fertilizer concentrations in the greenhouse stage were investigated. The *in vitro* single shoots were planted on the MS medium supplemented with BA 4 mg/l, sucrose 30 g/l, agar 6g/L. After 30 days of culture, the highest number of shoots was 5.3 shoots/explants and the shoots' average height was 2.08 cm. Afterwards, the *in vitro* shoots were inoculated for the rooting stage on the MS medium which was supplemented or not with IBA. The results of root production showed that MS medium supplemented with IBA 1:5 mg/l, sucrose 30 g/l, 6g/L agar created the highest number of roots (7.73 roots), root length and plant's height was 5.67 cm và 7.47 cm respectively. The *in vitro* plants were planted in the greenhouse with different combinations of growing media and fertilizer concentrations. The mixture of soil and coconut fiber with the ratio 1:1 were acquired in 93.3% of *in vitro* plants successfully planted and growing, the plants' height and average leaf were 16.5 cm and 5.4 leaves, respectively. 5 g/l of NPK (20-15-5) lead to the best growth of the *Musa acuminata* Cavendish, which were 93,3% successfully planting; 16.2 cm height and 5.2 leaves/explant.

Keywords: greenhouse, growing media, *in vitro*, *Musa acuminata* Cavendish, propagation.

Ngày nhận bài : 08/11/2022

Ngày phản biện : 10/12/2022

Ngày quyết định đăng : 16/01/2023