

NGHIÊN CỨU VI NHÂN GIỐNG CÂY CHUỐI NGỰ ĐẠI HOÀNG (*Musa spp.*)

Bùi Thị Thu Hương¹, Đồng Huy Giới¹, Phùng Thị Hồng Lịch¹, Trần Hiền Linh¹

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Chuối ngự Đại Hoàng (*Musa spp.*) hay còn gọi chuối Tiên Vua, có nguồn gốc từ làng Đại Hoàng, huyện Lý Nhân, tỉnh Hà Nam, là một giống chuối bản địa Việt Nam, có nhiều đặc điểm quý hiếm, nên rất được ưa chuộng ngày nay. Chính vì vậy, nhu cầu về chuối ngự Đại Hoàng trong nước cũng như xuất khẩu ngày càng tăng, dẫn đến nhu cầu sản xuất về chuối giống ngày càng cao. Việc nghiên cứu nhân giống *in vitro* loại chuối này sẽ góp phần bảo tồn và phát triển nhanh chóng nguồn gen chuối quý hiếm của Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường thích hợp nhất cho giai đoạn nhân chồi chuối ngự Đại Hoàng là môi trường MS có bổ sung 3 mg/l BA, với hệ số nhân là 3,03 lần và chiều cao chồi đạt 2,06 cm. Đối với giai đoạn ra rễ tạo cây hoàn chỉnh, chồi chuối ngự nuôi cấy vi thủy canh trên môi trường ½MS có bổ sung 0,1 mg/l αNAA có khả năng tạo rễ tốt nhất với số rễ trung bình đạt 3,03 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình là 3,32 cm. Cây chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* hoàn chỉnh có tỉ lệ sống 100%, tạo 4,2 lá mới/cây, chiều cao trung bình đạt 8,63 cm sau 28 ngày trồng trên giá thể cát và cây được tưới dung dịch nano bạc 4 ppm hai ngày một lần vào buổi sáng và chiều tối.

Từ khóa: Chất điều tiết sinh trưởng thực vật, chuối ngự Đại Hoàng, nano bạc, vi nhân giống.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuối ngự (chuối Tiên Vua) là giống chuối ngon xếp đầu bảng trong hơn 30 giống chuối ở Việt Nam. Trong các loại chuối ngự thì chuối ngự Đại Hoàng có nguồn gốc ở làng Đại Hoàng, phủ Lý Nhân xưa, nay là xã Hòa Hậu, huyện Lý Nhân, tỉnh Hà Nam là có vị ngon ngọt và thơm hơn cả, màu sắc và hình dáng cũng đẹp nên loại chuối này đang được nhiều người quan tâm (Võ Văn Chi, Dương Đức Tiến, 1978). Tuy nhiên, việc nhân giống loại chuối này chủ yếu được người dân thực hiện bằng phương pháp truyền thống có hiệu quả nhân giống thấp, ngoài ra chất lượng chuối bị giảm sút do bị nhiễm vi rút, dẫn đến nguy cơ thoái hóa giống. Trong khi đó, vi nhân giống đã và đang được công nhận là một kỹ thuật nhân giống với nhiều ưu điểm như khả năng nhân giống nhanh với số lượng lớn, tỷ lệ sống cao, cây sinh trưởng phát triển tốt, đồng đều, thời gian thu hoạch được rút ngắn (Hamill, 2016).

Hiện nay, do nhu cầu cây giống chuối rất cao, nên ở trong và ngoài nước đã có khá nhiều

các nghiên cứu về vi nhân giống chuối (Ansar and Yusuf, 2017; Vu *et al.*, 2018; Bello-Bello *et al.*, 2019). Tuy nhiên, các nghiên cứu về vi nhân giống chuối ngự Đại Hoàng còn rất ít, công bố năm 2017 của chúng tôi mới bước đầu tìm hiểu phản ứng của các mẫu mô chuối ngự Đại Hoàng trong điều kiện *in vitro* (Bùi Thị Thu Hương và cộng sự, 2017). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra các điều kiện thích hợp nhất trong qui trình vi nhân giống cây chuối ngự Đại Hoàng với việc xác định môi trường thích hợp nhất cho sự nhân chồi, ra rễ tạo cây hoàn chỉnh, ra cây vườn ươm, làm cơ sở cho việc hoàn thiện qui trình vi nhân giống cây chuối ngự Đại Hoàng đáp ứng nhu cầu của sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* được nuôi cấy và bảo quản tại phòng thí nghiệm khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* *Nhân chồi in vitro*: Chồi chuối ngự Đại

Hoàng *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung 30 g/l đường saccarose, 7 g/l agar và BA ở các nồng độ từ 0 - 5 mg/l. Sau 14 ngày nuôi cấy, đánh giá các chỉ tiêu như hệ số nhân chồi, chiều cao chồi và chất lượng chồi mới.

* **Tạo cây hoàn chỉnh:** Chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* có từ 3 - 5 lá được nuôi cấy trên môi trường vi thủy canh có hàm lượng khoáng khác nhau là MS; ½MS; ¼MS có bổ sung 0,1 mg/l αNAA (Bello-Bello et al., 2019). Theo dõi ngày bắt đầu ra rễ; sau 14 ngày theo dõi tỉ lệ chồi ra rễ, số rễ trung bình và chiều dài rễ trung bình.

* **Giai đoạn thích ứng cây ngoài vườn ươm:** Cây chuối ngự Đại Hoàng vi thủy canh có đủ rễ và lá, cao khoảng 4 cm đem trồng trong giá thể cát được hấp khử trùng. Sau đó phun nano bạc 2 ngày 1 lần với các nồng độ khác nhau là 0; 2; 4; 6; 8 ppm. Sau 28 ngày, theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu sống sót, số lá mới hình thành và chiều cao cây.

* **Điều kiện thí nghiệm:**

- Môi trường nuôi cấy *in vitro* được điều

chỉnh giá trị pH dao động 5,7 - 5,8 trước khi hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1 atm trong 20 phút.

- Môi trường vi thủy canh được điều chỉnh giá trị pH dao động từ 5,7 - 5,8, không hấp khử trùng, đặt vào hộp nhựa hình trụ có nắp đậy, thể tích 400 ml, đường kính đáy 5,5 cm, đường kính miệng 8,5 cm, chiều cao 10 cm. Sử dụng ống hút nhựa làm giá thể với đường kính là 1 cm, chiều cao đoạn ống là 2 cm và 9 đoạn ống này được gắn với nhau, bên trong đoạn ống đặt bông hút.

- Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 30 mẫu/công thức. Số liệu thí nghiệm được thu thập và xử lý theo chương trình IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhân nhanh chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro*

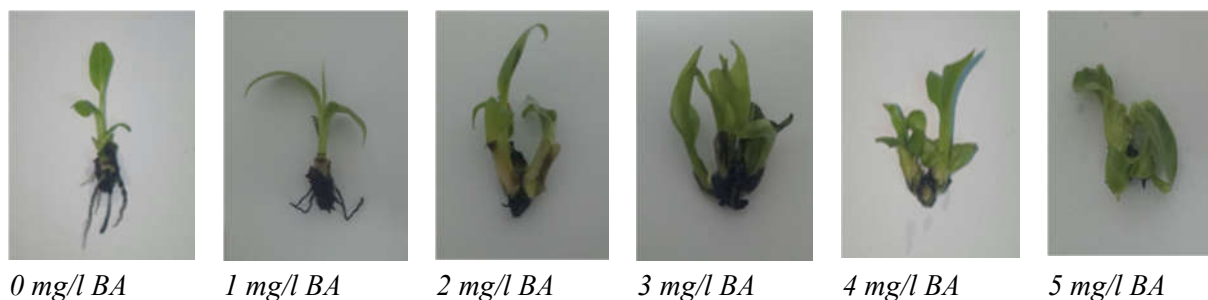
Chồi chuối ngự *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau (0 - 5mg/l). Sau 14 ngày nuôi cấy, kết quả thu được ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* (sau 14 ngày)

CT	BA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Chất lượng chồi
CT1 (ĐC)	0	1,05 ^c	1,69 ^d	++
CT2	1	1,47 ^d	1,94 ^c	++
CT3	2	2,28 ^c	2,26 ^b	+++
CT4	3	3,03 ^a	2,60 ^a	+++
CT5	4	2,68 ^b	2,32 ^b	+++
CT6	5	2,00 ^c	2,02 ^c	-
LSD _{0,05}		0,12	0,24	
CV%		3,2	1,7	

Ghi chú: +++ chồi mập lá xanh; ++ chồi gầy lá xanh; - xuất hiện chồi dị dạng;

So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang khác chữ cái thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 1. Chồi chuối ngự Đại Hoàng trong môi trường có bổ sung BA với các nồng độ khác nhau sau 14 ngày nuôi cấy

Kết quả ở bảng 1 và hình 1 cho thấy, khi tăng nồng độ BA từ 0 đến 3 mg/l thì hệ số nhân chồi chuối ngự Đại Hoàng cũng tăng lên, cụ thể hệ số nhân là 1,05 ở môi trường 0 mg/l BA và tăng lên 3,03 ở môi trường bổ sung 3 mg/l BA. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ BA thì hệ số nhân chồi chuối ngự Đại Hoàng lại giảm xuống, cụ thể hệ số nhân chồi ở môi trường có 5 mg/l BA là 2,0 và còn xuất hiện chồi dị dạng. Hệ số nhân chồi đạt tối đa là 3,03 lần ở môi trường bổ sung 3 mg/l BA, chồi có chất lượng tốt. Đối với chỉ tiêu chiều cao chồi, tất cả các nồng độ BA nghiên cứu đều có ảnh hưởng tích cực đến chiều cao chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro*. Trong đó công thức bổ sung 3 mg/l BA có chiều cao chồi trung bình tốt nhất (2,60 cm), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại. Kết quả này khác với Al-Amini và cộng sự khi nuôi cấy chuối BARI đạt hiệu quả nhân chồi đạt cao nhất khi nuôi cấy trong môi trường bổ sung 7,5 mg/l BAP (Al-Amini M.D. *et al.*, 2009). Sự sai khác này có thể là do hàm lượng

phytohormone nội sinh trong các giống chuối là khác nhau (Rahaman *et al.*, 2004).

3.2. Kết quả ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Vi thủy canh (microponic) là sự kết hợp nuôi cấy *in vitro* và điều kiện thủy canh thoáng khí, có thể khiến cây tăng trưởng nhanh hơn và khỏe mạnh hơn vì tránh sự thủy tinh hóa của mẫu cây. Ngoài ra, kỹ thuật này cũng không đòi hỏi phải tiến hành những bước nuôi cấy phức tạp (cấy trong buồng vô trùng) như trong nuôi cấy *in vitro*. Mặt khác, giai đoạn ra rễ vi thủy canh còn giúp cây thích ứng dần với môi trường tự nhiên vì nuôi cấy thoáng khí. Hệ thống vi nhân giống giúp cây sinh trưởng tốt hơn với các chỉ tiêu về chiều cao cây, số rễ/cây, chiều dài rễ, chiều dài lá, chiều rộng lá, khối lượng tươi và khối lượng khô (Hoàng Thanh Tùng và cộng sự, 2015). Trong thí nghiệm này, chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* được nuôi cấy trong 3 loại môi trường vi thủy canh có hàm lượng khoáng khác nhau có bổ sung 0,1 mg/l α NAA. Kết quả sau 14 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng khác nhau đến sự ra rễ chuối ngự Đại Hoàng vi thủy canh

Công thức	Môi trường	Số ngày bắt đầu ra rễ	Sau 14 ngày		
			Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ TB (rễ/chồi)	Chiều dài rễ TB (cm)
1	MS	4	80	1,53 ^c	2,51 ^c
2	½MS	3	100	3,00 ^a	3,32 ^a
3	¼MS	3	100	2,17 ^b	2,88 ^b
LSD _{0,05}				0,19	0,25
CV%				3,7	1,00

Ghi chú: So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang khác chữ cái thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả cho thấy có sự khác nhau rõ rệt khi nuôi cấy chuối ngự Đại Hoàng trong môi trường vi thủy canh ở các loại môi trường khác nhau. Cụ thể, đối với môi trường MS, mặc dù đã qua 14 ngày nuôi cấy nhưng tỉ lệ ra rễ chỉ đạt 80% trong khi đối với môi trường ½MS và ¼MS tỉ lệ này đạt 100%. Số rễ trung bình/chồi của cây khi nuôi cấy trong môi trường MS cũng thấp hơn hẳn so với hai loại môi trường còn lại, cụ thể đối với môi trường MS, số rễ trung bình đạt 1,53 rễ/chồi, thấp hơn rất nhiều so với môi trường ½MS số rễ trung bình đạt 3 rễ/chồi và môi trường ¼MS số rễ trung bình đạt 2,17 rễ/chồi. Đối với chỉ tiêu chiều dài rễ

trung bình cũng có kết quả tương tự, trong 3 môi trường nuôi cấy, môi trường ½MS cho mẫu cây có chiều dài rễ trung bình dài nhất (3,32 cm), dài hơn có ý nghĩa thống kê so với 2 môi trường còn lại. Ngoài ra, quan sát cho thấy số rễ ở môi trường có hàm lượng khoáng cao (MS và ½MS) mập hơn so với rễ cây ở môi trường có hàm lượng khoáng thấp (¼MS) (hình 2). Kết quả thí nghiệm này cho thấy, môi trường thích hợp nhất cho việc ra rễ của chồi chuối ngự Đại Hoàng *in vitro* là môi trường ½MS có bổ sung 0,1 mg/l NAA với tỉ lệ mẫu ra rễ đạt 100%, rễ nhiều, dài và chất lượng tốt.



Hình 2. Chồi chuối ngự Đại Hoàng ra rễ trong các môi trường khác nhau sau 14 ngày nuôi cấy

3.3. Ra cây giai đoạn vườn ươm

Ra cây ngoài vườn ươm là bước quan trọng cũng là bước cuối cùng để tạo ra cây giống, trong thí nghiệm này, các cây chuối ngự Đại

Hoàng *in vitro* hoàn chỉnh được trồng trên giá thể cát và tưới dung dịch nano bạc. Kết quả sau 28 ngày trồng được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nano bạc đến cây chuối ngự Đại Hoàng giai đoạn vườn ươm (sau 28 ngày)

CT	Nano bạc (ppm)	Tỉ lệ mẫu sống sót (%)	Số lá mới (lá/cây)	Chiều cao cây trung bình (cm)
CT1(ĐC)	0	93	2,70 ^d	8,29
CT2	2	100	3,47 ^{bc}	8,87
CT3	4	100	4,20 ^a	8,63
CT4	6	100	3,73 ^b	8,68
CT5	8	100	3,40 ^c	8,49
LSD _{0,05}			0,27	
CV%			4,1	

Ghi chú: So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang khác chữ cái thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Ở tất cả các công thức bổ sung nano bạc thì số lá trung bình/cây đều cao hơn công thức đối chứng. Điều này có thể được giải thích là, nano bạc giúp cây hấp thu nước và dinh dưỡng từ môi trường tốt hơn, khả năng quang hợp mạnh hơn (Kim *et al.*, 2017), nhờ đó cây sinh trưởng, phát triển tốt hơn. Cụ thể là, ở các công thức xử lý nano bạc, số lá trung bình dao động từ 3,4 lá/cây (CT5) đến 4,2 lá/cây (CT3), trong khi đó công thức không xử lý nano bạc (CT1) số lá trung bình chỉ đạt 2,7 lá/cây. Công thức cho hiệu quả ra lá mới tốt nhất là công thức xử lý 4ppm nano bạc. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, xử lý nano bạc ở các công thức thí nghiệm không làm ảnh hưởng đến chiều cao cây của chuối ngự Đại Hoàng ở giai đoạn này.

4. KẾT LUẬN

1. Môi trường thích hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi chuối ngự Đại Hoàng là môi trường MS có bổ sung 30 g/l đường saccarose, 7 g/l agar và 3,0 mg/l BA với hệ số nhân là 3,03 và chiều cao chồi mới đạt 2,06 cm, chất lượng chồi tốt sau 14 ngày nuôi cấy.

2. Đối với giai đoạn ra rễ, chồi chuối ngự Đại Hoàng ra rễ tốt nhất trong môi trường vi thủy canh ½MS bổ sung 0,1 mg/l αNAA. Sau 14 ngày nuôi cấy, tỉ lệ chồi *invitro* ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 3,0 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình là 3,32 cm.

3. Sử dụng nano bạc ở nồng độ 4 ppm tưới hai ngày/lần qua lá giúp cây chuối ngự Đại Hoàng ở giai đoạn vườn ươm sinh trưởng, phát triển tốt nhất với tỉ lệ mẫu sống đạt 100%, số lá mới là 4,2 lá/cây sau 28 ngày.

Lời cảm ơn:

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ tài chính của Dự án Việt Bỉ (ARES) cho Đề tài mã số T2019-12-30VB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ansar, M., Yusuf, R., 2014. Acclimatization/test adaptation of abaca banana (*Musa textilis*) seedling derived from tissue culture. *Agroland Agric. Sci. J.* Vol 1, No 1.
2. Al-Amini MD., M.R.Karim, M.R. Amin., Rahman and AN.M. Mamun, 2009. In vitro micropropagation of banana (*Musa spp.*). *Bangladesh J. Agril*, 34(4): 645- 659.
3. Ali A., Sajid A., Naveed N. H., Majid A., Saleem A., Khan U. A., Jafery F. I. and Naz S, 2011. Initiation, Proliferation and Development of Micro-Propagation System for Mass Scale Production of Banana through Meristem Culture. *African Journal of Biotechnology*, 10: 15731-15738.
4. Bello-Bello, J.J., Cruz-Cruz, C.A., Pérez-Guerra, J.C., 2019. A new temporary immersion system for commercial micropropagation of banana (*Musa AAA cv. Grand Naine*). *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 55: 313–320.
5. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới, Phí Thị Cẩm Miện, Trần Hiền Linh, Trịnh Khắc Quang, 2017. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến mô tế bào cây chuối Tiến Vua *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. Số 5 (78): 72 -77.
6. Hamill, S.D., 2016. Processes, costs and traits of plants produced in tissue culture must be considered to develop effective crop production systems. *Acta Hort.* 1113: 85–92.
7. Hoàng Thanh Tùng, Trương Thị Bích Phượng, Dương Tấn Nhựt, 2015. Hệ thống vi thủy canh trong nhân giống cây Cúc trắng (*Chrysanthemum morifolium*). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 13(4): 1127-1137.
8. Kim D. H., Gopal J., & Sivanesan I., 2017. Nanomaterials in plant tissue culture: the disclosed and undisclosed. *RSC Advances*, 7(58), 36492-36505.
9. Murashige T. and Skoog F., 1962. A resied medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*.15(3): 473-479.
10. Rani, S.P., Mani, K., 2016. Impact of credit on investment in tissue culture banana cultivating farms. *Int. Res. J. Agric. Econ. Stat.* 7(1): 7-14.
11. Vu P.T.B., Trieu N.T.Y., Duong K.C., Quach P.N.D., 2018. Micropropagation of *Musa balbasiana* (BBB group). *Sci. Technol. Dev. J. - Nat. Sci.* 2: 23–29.
12. Võ Văn Chí, Dương Đức Tiến, 1978. Phân loại thực vật bậc cao. NXB Đại học và THCN, Hà Nội. 548 trang.

RESEARCH ON MICROPROPAGATION OF DAI HOANG BANANA (*Musa spp.*)

Bui Thi Thu Huong¹, Dong Huy Gioi¹, Phung Thi Hong Lich¹, Tran Hien Linh¹

¹*Vietnam National University of Agriculture*

SUMMARY

The Dai Hoang king banana (*Musa spp.*) is a native banana originated from Dai Hoang village of Ly Nhan district, Ha Nam province. In the past, the farmers in Dai Hoang village used to donate the banana to the Vietnam's Kings because it was delicious and special taste. Nowadays, it is said that The Dai Hoang king banana is a precious banana variety of Vietnam with many other valuable characteristics. Therefore, they are becoming widely well - known and the demand for the bananas is increasing not only in local but also in the other areas. It leads to an increase of the banana production with several methods. The research on micro propagation of this banana will contribute to the conservation and development of rare and valuable banana genetic resources. The data of the experiments illustrates the remarkable results for the banana breeding. Firstly, in the shoot multiplication, the MS medium supplemented with 3 mg/l BA caused the *in vitro* shoots to multiply with a coefficient of 3.03 and the average height of 2.06 cm. Beside, in the rooting stage, the shoots were cultured on 1/2MS with 0.1 mg/l α -NAA, being rooted with a high average number of root, 3.03 and the average root length was 3.32 cm. Lastly, in the acclimatization phase, being planted on the sand substrate and watered with 4 ppm silver nano solution two times daily, bananas plantlets get an 100% survival rate and produced 4.2 new fresh leaves per plant with an average height of over 8 cm after 28 days cultivating.

Keywords: Dai Hoang banana, micropropagation, plant growth regulator, silver nano.

Ngày nhận bài : 14/02/2020

Ngày phản biện : 17/3/2020

Ngày quyết định đăng : 24/3/2020