

## KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU VỀ NGHIÊN CỨU NUÔI CÂY MÔ PHÂN SINH (MERISTEM) VÀ NHÂN NHANH GIỐNG KHOAI SỌ NGẮN NGÀY KS4 BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY *INVITRO*

Nguyễn Thị Tuyết, Nguyễn Thị Mỹ Châu,  
Nguyễn Hoài Thu, Nguyễn Phùng Hà,  
Lã Tuấn Nghĩa

### SUMMARY

#### Results of studying on meristem and reproduction KS4 taro by in - vitro

The most common reproduction method for taro is by vegetative cuttings, with low propagation rates and disease dissemination. Therefore, requiring the of pathogen free plants of taro is needed. The aim of this work was to identify optimal conditions for *invitro* micropropagation of taro plants. In order to reach the aim, corms were surface sterilized with  $HgCl_2$  0,1%. To establish the *invitro* plantlets, meristems were cultured in MS + 0,1 ppm BA - 0,01 ppm NAA+ 20g/l sucrose + 6g/l agar. The best proliferation rates were obtained with MS + 3ppm BA + 0,5ppm IAA + 30g/l sucrose + 6g/l agar (3,0 plants/explant/4 weeks). The highest survival percentage of plantlets was recorded in media with alluvium and burned rice husk mixture (1:1 ratio) with 96,2%.

**Keywords:** Taro, KS4, invitro, meristem

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai môn sọ (*Colocassia esculenta* (L.) Schott) là cây trồng phổ biến và có ý nghĩa quan trọng trong đời sống hàng ngày ở nước ta. Cây khoai môn sọ được sử dụng với nhiều mục đích như làm lương thực, thực phẩm, làm thức ăn gia súc, làm nguyên liệu cho công nghiệp chế biến. Bên cạnh đó, khoai sọ còn là một loại cây trồng có khả năng thích ứng, sinh trưởng và phát triển trong nhiều vùng sinh thái khác nhau.

Do đặc điểm của cây khoai môn sọ là cây sinh sản vô tính và được nhân giống trên ruộng của người dân từ rất lâu đời nên nguy cơ thoái hóa nguồn gen lớn, hệ số nhân giống thấp. Theo Limasset và Cornnel (1949), những loài cây trồng nhân giống vô tính đều chứa các *virus* nội hấp (systemic virus) làm ảnh hưởng xấu tới năng suất. Vì vậy, việc sản xuất ra các nguyên liệu thực vật sạch *virus* là cần thiết. Công nghệ sinh học đã và đang được ghi nhận là giải pháp hiệu quả, góp phần đáng kể vào công tác phục tráng và nhân nhanh nguồn gen cây

trồng. Các cây có củ như khoai lang, khoai tây v.v... đã được phục tráng thông qua kỹ thuật nuôi cấy đỉnh sinh trưởng (meristem). Ngoài ra, nhiều giống cây trồng có hệ số nhân giống thấp đã được khắc phục bằng việc ứng dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật. Hàng loạt các cá thể mới mang những tính trạng di truyền giống với cá thể mẹ ban đầu đã được đưa ra thị trường trong một khoảng thời gian rất ngắn.

Giống khoai sọ KS4 là giống có thời gian sinh trưởng ngắn, chất lượng củ thơm ngon. Nhưng hiện tại diện tích trồng giống khoai này còn thấp do gặp khó khăn trong việc cung cấp giống. Xuất phát từ thực tế đó nên rất cần tiến hành phục tráng và nhân nhanh giống khoai sọ ngắn ngày KS4 bằng kỹ thuật nuôi cấy mô phân sinh.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Vật liệu nghiên cứu

Giống khoai sọ ngắn ngày KS4: Chọn lọc những cá thể mang đặc điểm hình thái giống với mô tả nguồn gốc giống.

Môi trường nuôi cấy: MS (Murashine and Skoog, 1962) có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

## **2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Phục tráng giống khoai sọ ngắn ngày KS4**

Phương pháp khử trùng bề mặt mẫu: Chồi đỉnh của củ cái hoặc củ con sau 10 ngày ủ mầm trên cát được khử trùng bề mặt bằng HgCl 0,1% trong 10 phút. Sau đó mẫu được rửa lại 3 lần bằng nước cất vô trùng.

Phương pháp tách đỉnh sinh trưởng và tái sinh chồi: Dưới kính hiển vi soi nổi có độ phóng đại 30 lần, lần lượt từng lớp bẹ lá (sheath) được tách bỏ. Mầm với kích thước 3 - 5 mm gồm 1 lớp bẹ lá bao bọc toàn bộ mô phân sinh đỉnh và một phần mô xung quanh được tách, sau đó mầm được cấy vào môi trường nuôi cấy mô phân sinh MS1 (MS + 0,5 ppm BA + 0,01ppm IAA + 20g/l sucrose + 6g/l agar). Mầm được duy trì ở nhiệt độ 24 - 25<sup>0</sup>C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng với cường độ 2000 lux.

### **2.2. Nhân nhanh và tạo cây con hoàn chỉnh giống khoai sọ ngắn ngày KS4**

Khi chồi được tái sinh từ mô phân sinh thì tiến hành cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh. Ba công thức được bố trí trong thí nghiệm (MS + 30g/l sucrose + 6g/l agar có bổ sung nhiều thành phần chất điều hòa sinh trưởng khác nhau). Sau 4 tuần nuôi cấy ở nhiệt độ 24 - 25<sup>0</sup>C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng, số chồi mới hình thành được xác định trên mỗi công thức.

Để tạo cây con hoàn chỉnh, chồi được chuyển sang môi trường MS + 0,25 ppm NAA + 0,01 ppm IAA + 30g/l sucrose + 6g/l agar. Mầm được duy trì ở nhiệt độ 24 - 25<sup>0</sup>C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng. Trong khoảng thời gian 4 - 5 tuần khi rễ xuất hiện nhiều, cây có 2 - 3 lá hoàn chỉnh thì tiến hành

đưa cây ra bên ngoài phòng nuôi cấy để cây tiếp xúc với nhiệt độ và ánh sáng tự nhiên nhằm tối luyện cây thích nghi dần với điều kiện bên ngoài trước khi cho cây ra nhà lưới.

### **2.3. Phương pháp cho ra cây con ra nhà lưới**

Thí nghiệm đưa cây con ra nhà lưới được tiến hành theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với 3 công thức: CT1 - đất phù sa + trấu hun với tỷ lệ 1:1; CT2 - đất phù sa + sơ dừa với tỷ lệ 1:1 và CT3: 100% đất phù sa. Mỗi công thức gồm 20 bầu cây (mỗi bầu được tính là một lần nhắc lại) và mỗi bầu được trồng một cây con *in vitro*. Đất phù sa mới sau khi được đập nhỏ và xử lý thuốc trừ nấm Dithan M 45 - 80WP tiến hành đóng vào túi bầu. Bầu đất luôn được giữ ẩm. Dưới vòi nước, cây con từ bình nuôi cấy được rửa sạch phần môi trường còn dính trên rễ. Sau đó cây được trồng vào bầu đất. Cây con được che nắng, che mưa, chắn gió và tưới nước 3 - 4 lần/ngày.

## **III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **1. Kết quả phục tráng giống khoai sọ ngắn ngày KS4**

Sau 3 - 4 tuần nuôi cấy ở nhiệt độ 24 - 25<sup>0</sup>C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng trên môi trường MS + 0,5 ppm TDZ + 0,01ppm IAA + 20g/l sucrose + 6g/l agar (MS1), mô phân sinh chuyển sang màu xanh và tái sinh chồi. Sau đó các chồi tái sinh từ mô phân sinh được cấy chuyển sang môi trường MS1 mới. Kết quả sau 8 tuần nuôi cấy số mầm có khả năng tái sinh chồi bất định là 58/170 mẫu ban đầu, tỷ lệ tái sinh chồi chỉ đạt 35%. Tỷ lệ chồi tái sinh thấp có thể do mô phân sinh được tách quá nhỏ. Vật liệu ban đầu được vào nuôi cấy *in vitro* trong nghiên cứu này là những chồi đỉnh từ củ cái và củ con được phá ngủ nghỉ bằng GA3 và ngâm trên cát. Tỷ lệ chồi tái sinh phụ thuộc rất nhiều vào vật liệu khởi đầu cũng như chất lượng và kích thước của mầm. Theo kết

quả nghiên cứu của Yongwei Li, Cheng Xu and Jishuang Chen (2002), 28% mẫu đỉnh sinh trưởng có khả năng tái sinh chồi trên môi trường MS + 2mg/l BA.

Từ 58 chồi tái sinh được sử dụng cho thí nghiệm nhân nhanh chồi.

**2. Kết quả nhân nhanh giống khoai sọ ngắn ngày KS4**

Ba công thức môi trường được bố trí để đánh giá ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo chồi của giống khoai sọ KS4. Sau 4 tuần nuôi cấy ở 24 - 25°C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng, số chồi hình thành ở mỗi công thức được theo dõi. Kết quả nghiên cứu nhân nhanh khoai sọ ngắn ngày KS4 được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến hệ số nhân

Chất điều hòa sinh trưởng (ppm)			Trung bình số chồi/mẫu
TDZ	BA	IAA	
1,0	0	0,5	2,1 <sup>a</sup>
1,0	1,0	0,5	4,1 <sup>c</sup>
0	3	0,5	3,0 <sup>b</sup>

Các chữ theo sau số trung bình ở cùng cột cho biết sự khác biệt có ý nghĩa theo Tukey's test (P < 0.05)

Sự kết hợp chất điều hòa sinh trưởng TDZ và BA cho trung bình số chồi trên mẫu nuôi cấy là cao nhất, đạt 4,1 chồi/mẫu. Tuy nhiên, TDZ là một chất thuộc nhóm cytokinin có hoạt tính cao nên khi dùng ở nồng độ cao có thể gây biến dị soma (Stieve et al., 1992). Quá trình vi nhân giống bền vững là duy trì chất lượng của sản phẩm nên đòi hỏi sự kiểm soát về tần suất cấy chuyển định kỳ, phân mô nuôi cấy, hoạt chất của chất điều hòa sinh trưởng, cơ sở di truyền của giống cây trồng cùng với tất cả các đặc tính. Vì vậy, môi trường MS + 3ppm BA + 0,5ppm IAA + 30g/l sucrose + 6g/l agar được dùng để nhân nhanh khoai sọ KS4. Để tạo cây con hoàn chỉnh, các chồi được cấy trên môi trường MS + 0,25ppm NAA + 0,01 ppm IAA + 30g/l sucrose + 6g/l agar. Sau 4 tuần nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 24 - 25°C, độ ẩm 40% và 16 giờ chiếu sáng, 100% số chồi đều ra rễ và phát triển thành cây con hoàn chỉnh với chiều cao từ 4 - 6cm.

**3. Kết quả đưa cây con ra nhà lưới**

Sau 2 tuần trồng trên bầu đất, tỷ lệ cây sống sót được theo dõi. Kết quả tỷ lệ cây sống sót được ghi trong Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ cây khoai sọ KS4 sống sót trên các giá thể khác nhau trong nhà lưới

Thành phần giá thể	Tỷ lệ	Số cây sống sót (%)
Đất phù sa + trấu hun	1:1	96,2
Đất phù sa + sơ dừa	1:1	91,1
Đất phù sa	1	84,5

$$\text{Số cây sống sót (\%)} = \frac{\text{số cây sống}}{\text{tổng số cây}} \times 100$$

Tỷ lệ cây sống sót trên cả 3 giá thể đều cao. Tuy nhiên, ở giá thể đất phù sa và trấu hun cho số cây sống sót cao nhất, đạt 96,2%. Sau 4 tuần chăm sóc ngoài nhà lưới, cây con đạt chiều cao khoảng 5 - 7cm với 3 - 4 lá thật được đem trồng ngoài đồng ruộng.

**IV. KẾT LUẬN**

Đinh sinh trưởng của khoai sọ KS4 có tỷ lệ tái sinh chồi trong môi trường MS1

(MS + 0,5 ppm TDZ + 0,01ppm IAA + 20g/l sucrose + 6g/l agar) đạt 35%.

Thành phần môi trường MS + 3ppm BA + 0,5ppm IAA + 30g/l sucrose + 6g/l agar dùng để nhân nhanh khoai sọ KS4, đạt trung bình 3,0 chồi/mẫu.

Giá thể đất phù sa và trấu hun với tỷ lệ 1:1 có số cây sống sót cao hơn đất phù sa và sơ dừa.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Nguyễn Hữu Bình (1963). *Cây khoai nước*. Trong: Bùi Công Trùng, Nguyễn Hữu Bình, Trần Văn Doãn: *Khoai nước dong riêng trong vấn đề lương thực*. NXB Khoa học Hà Nội.
2. Nguyễn Thị Ngọc Huệ, Nguyễn Tất Cảnh, Nguyễn Phùng Hà, Phạm Hùng Cường, Đặng Văn Niên, Lưu Ngọc Trình, Trương Văn Tuyển, Nguyễn Thị Mừng, Nguyễn Ngọc Đệ, Chu Anh Tiệp, Bhuwon Sthapit và Devra Jarvis (2004), *Cơ sở khoa học và bảo tồn nông trại đa dạng khoai môn - sọ: Những vấn đề liên quan đến xây dựng*

*chính sách bảo tồn ở Việt Nam*. Trong: Nguyễn Thị Ngọc Huệ, Hà Đình Tuấn. *Bảo tồn nội vi đa dạng sinh học nông nghiệp: Bài học kinh nghiệm và tác động đến chính sách*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.

3. Phạm Văn Vang (1990), *Phương thức kết hợp sản xuất nông nghiệp với lâm nghiệp ở Việt Nam*. NXB Khoa học Xã hội, Hà Nội.
4. Stieve SM, Stimart DP, Yandell BS (1992), *Heritable tissue culture induced variation in Zinnia marylandica*. Euphytica. 64: 81 - 89.
5. Yongwei Li, Cheng Xu and Jishuang Chen (2002). *Establishment of Virus - Free Taro (Colocasia esculenta cv. Fenghuayunaitou) by Meristem - Tip Culture Combined with Thermotherapy*. Plant Pathology Journal, 1: 40 - 43.

Ngày nhận bài: 20/7/2013

Người phản biện: TS. Đào Huy Chiên,  
ngày 25/7/2013

Ngày duyệt đăng: 10/8/2013

## **KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ MẪU GIỐNG KHOAI MÔN CÓ TRIỂN VỌNG TẠI ĐÀ BẮC, HÒA BÌNH**

Dương Thị Hạnh, Trần Thị Ánh Nguyệt,  
Nguyễn Phùng Hà, Nguyễn Thị Ngọc Huệ,  
Nguyễn Anh Vân

### **SUMMARY**

#### **Results on evaluation of some promising taro varieties at Dabac district, Hoabinh province**

In Vietnam, taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta* (L.) Schott) is just used as food as well as vegetables. It is considered as a traditional crop and plays a significant role in livelihood of the farmers in many ecological regions, and Dabac district of Hoabinh is one of them. With objectives of selection and introduction of new potential taro varieties for taro production in Dabac, which have high yield, good cooking quality and pest - disease tolerance. The twenty taro accessions selected from National taro collection were evaluated on agro - morphological traits, yield and pest - disease tolerance in Muongchieng commune, Dabac district of Hoabinh in 2011. The research results showed, there is the diversity in agro - morphological traits between 20 studied accessions. The