

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG MỘT SỐ THÀNH PHẦN MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY ĐẾN KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG CÂY CHUỐI ĐỎ DACCA (*Musa acuminata*) IN VITRO

STUDY ON SEVERAL MEDIUM COMPONENTS OF IN VITRO PROPAGATION RED BANANA (*Musa acuminata*)

VÕ THỊ XUYẾN^(*), HUỲNH KIM BÌNH^(**), NGUYỄN DUY KHÁNH^(**), TRẦN HUỲNH THIÊN AN^(**),
NGUYỄN NGỌC HUNG THỊNH^(**) và LỮ HOÀNG KHANG^(***)

THÔNG TIN	TÓM TẮT
<p>Ngày nhận bài: 23-7-2024 Ngày biên tập xong: 04-9-2024 Ngày duyệt đăng: 31-9-2024 Mã số: TCKH47-08-2024 ISSN: 2525 – 2429</p>	<p>Chuối đỏ Dacca (<i>Musa acuminata</i>) có chứa lượng lớn calo và đặc biệt rất giàu các tiền vitamin A, nằm trong top 10 loài chuối giàu carotenoid được trồng ở Úc. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện khảo sát việc vô trùng mẫu và ảnh hưởng của một số thành phần môi trường đến các giai đoạn nhân giống chuối đỏ Dacca in vitro. Kết quả cho thấy, mẫu chồi đỉnh chuối Dacca được khử trùng bằng NaClO 10% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất với tỷ lệ mẫu sống lên đến 56,67% trên môi trường Murashige and Skoog 1962 (MS) bổ sung 1 g/L than hoạt tính. Môi trường MS có bổ sung 15% nước dừa, 5 mg/L BA và 0,1 mg/L NAA cho hiệu quả tái sinh chồi cao nhất đạt 100%, số chồi 10,78 chồi/mẫu và chiều cao chồi đạt 4,53 cm sau 60 ngày nuôi cấy. Môi trường tương tự như môi trường tái sinh chồi nhưng không bổ sung NAA là môi trường phù hợp để nhân chồi với 100% mẫu cấy tạo chồi, số chồi đạt 5,53 chồi/mẫu và chiều cao chồi 1,86 cm sau 30 ngày nuôi cấy. Chuối đỏ Dacca tạo rễ thích hợp nhất trên môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1 mg/L NAA và 1 g/L than hoạt tính. Tỷ lệ phát sinh rễ 100%, số rễ 14,51 rễ/mẫu, chiều dài rễ 9,34 cm và chiều cao cây đạt 4,72 cm.</p>
<p>Từ khóa: chuối đỏ; <i>Musa acuminata</i>; nuôi cấy mô thực vật. Key words: red banana; <i>Musa acuminata</i>; plant tissue culture.</p>	<p>ABSTRACT: Dacca red banana (<i>Musa acuminata</i>) contains many calories, is especially rich in provitamin A, and is among the top 10 carotenoid-rich banana species grown in Australia. In this study, we investigated sample sterilization and the effects of some medium components on the stages of in vitro Dacca red banana propagation. The results showed that Dacca red banana shoot tip samples sterilized with 10% NaClO solution for 10 minutes had the highest disinfection efficiency with a survival rate of up to 56.67% on Murashige and Skoog 1962 (MS) medium supplemented with 1</p>

(*) TS. Trường Đại học Văn Lang, xuyen.vt@vlu.edu.vn

(**) SV. Trường Đại học Văn Lang

(***) ThS. Trung tâm Nghiên cứu phát triển – Công ty Cổ phần Phân bón Dầu khí Cà Mau

g/L activated carbon. MS medium supplemented with 15% coconut water, 5 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA gave the highest shoot regeneration efficiency of 100%, the number of shoots was 10.78 shoots/sample and the shoot height was 4.53 cm after 60 days of culture. A medium similar to the bud regeneration environment but without the addition of NAA is a suitable medium for shoot multiplication with 100% of the explants generating buds, the number of buds reaching 5.53 buds/explant, and bud height of 1.86 cm after 30 days. Dacca red bananas are best rooted on MS medium supplemented with 15% coconut water, 1 mg/L NAA, and 1 g/L activated carbon. The root generation rate is 100%, the number of roots is 14.51 roots/sample, the root length is 9.34 cm and the explant height is 4.72 cm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuối là tên gọi chung các loài thuộc chi *Musa*, một trong những loại cây ăn quả quan trọng hàng đầu thế giới và là cây lương thực quan trọng xếp thứ 4 sau lúa, lúa mì và ngô. Cây chuối được trồng ở hơn 135 quốc gia trên toàn thế giới, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Là loài cây góp phần duy trì an ninh lương thực toàn cầu bởi hàm lượng tinh bột cao, quả chuối được xem là nguồn lương thực chính đối với người dân ở các vùng kém phát triển [13]. Chuối đỏ Dacca (*Musa acuminata*) là một trong những giống chuối giàu calo, khoáng chất, vitamin B6, vitamin C, và đặc biệt là các tiền chất thuộc nhóm vitamin A, nằm trong top 10 loại chuối giàu các carotenoid được trồng ở Úc. Việc sử dụng quả chuối đỏ Dacca trong khẩu phần dinh dưỡng hàng ngày có thể đáp ứng được một nửa hoặc toàn bộ nhu cầu về vitamin A cho phụ nữ và trẻ em. Giống chuối đỏ Dacca được đề xuất quảng bá, trồng trọt và tiêu ở các vùng thiếu vitamin A như một giải pháp cung cấp vitamin A cho con người ở đó [5].

Khí hậu nhiệt đới gió mùa tại Việt Nam phù hợp để trồng chuối nói chung và chuối Dacca nói

riêng. Trong đó, tổng diện tích trồng chuối ước đạt 100 ngàn hecta, với sản lượng trung bình trên 1,2 triệu tấn/năm và giá chuối xuất khẩu cho thị trường Trung Quốc (thị trường chính) có giá trị 491 USD/tấn [3], [16]. Chuối đỏ Dacca (hay còn gọi là chuối Dacca, chuối Úc) là một giống chuối mới du nhập vào Việt Nam. Chuối Dacca có màu quả đỏ đặc biệt, sắc tố đỏ trên vỏ có thể sậm hoặc nhạt màu hơn phụ thuộc vào điều kiện thổ nhưỡng vùng trồng, hương vị ngọt, ngon, thịt quả mềm hòa lẫn hương thơm của quả mâm xôi [10]. Với giá trị dinh dưỡng mà chuối đỏ Dacca mang lại và tiềm năng sẽ trở thành một sản phẩm chuối xuất khẩu mới của nước ta. Hiện nay, tại Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu về nhân giống các giống chuối bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*. Tuy nhiên, trên đối tượng chuối đỏ Dacca vẫn có rất hạn chế.

Từ những vấn đề đã nêu trên, chúng tôi đã thực hiện đề tài nghiên cứu: “Nghiên cứu ảnh hưởng một số thành phần môi trường nuôi cấy đến khả năng nhân giống cây chuối đỏ Dacca (*Musa acuminata*) *in vitro*” nhằm tìm ra môi trường nhân giống *in vitro* phù hợp cho cây chuối đỏ Dacca hướng tới góp phần xây dựng trình nhân giống *in vitro* cho loài cây này.

2. NỘI DUNG

2.1. Vật liệu

Nguồn mẫu: Mẫu củ chuối đở Dacca được thu từ những cây chuối đang sinh trưởng tốt, không sâu bệnh, có từ 4 đến 5 tháng tuổi được trồng ở huyện Chợ Lách, tỉnh Bến Tre, có chiều cao từ 1 - 1,5 m và đường kính củ khoảng 8 - 10 cm.

Dụng cụ và thiết bị: Bình tam giác (250, 500 và 1000 mL), bình nước biển 500 mL, kệ nuôi cấy, hệ thống đèn chiếu sáng, nồi hấp khử trùng, tủ cấy vô trùng... Chất khử trùng mẫu: Dung dịch NaClO 10% được pha loãng từ Sodium hypochlorite solution (NaClO – CAS: 7681-52-9) của hãng Xilong, Trung Quốc. Chất điều hòa sinh trưởng thực vật: Benzyl adenine (BA), Naphthalene acetic acid (NAA) của hãng Duchefa, Hà Lan.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường Murashige and Skoog 1962 (MS) [8] và có bổ sung các thành phần khác theo các thí nghiệm được bố trí. Tất cả môi trường đều được điều chỉnh pH = 5,8 bằng dung dịch KOH 1N trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1,2 atm trong 20 phút [4].

Điều kiện nuôi cấy: Thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2.000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2°C và độ ẩm 75 - 80%.

2.2. Phương pháp

2.2.1 Khảo sát ảnh hưởng thời gian khử trùng của NaClO 10% đến mẫu đỉnh chồi chuối đở Dacca

Mẫu củ chuối đở Dacca (chứa đỉnh) xử lý loại bỏ rễ và các bẹ lá úa bên ngoài và rửa sạch bằng xà phòng loãng và rửa lại dưới vòi nước chảy. Tiếp tục loại bỏ các bẹ lá cho đến khi đường kính còn khoảng 4 cm và cao khoảng 6 cm. Chuyển mẫu vào tủ cấy, khử trùng sơ bộ bằng cồn 70° trong 1 phút. Ngâm và lắc mẫu trong dung dịch NaClO 10% ở các mốc thời gian khác nhau: 5, 10, 15, 20 và 15 phút. Rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng. Chuyển mẫu ra đĩa cấy, loại bỏ các mô bị tổn thương do chất khử trùng, đặt mẫu có kích thước đường kính 1,5 - 2 cm và cao khoảng 2 cm vào môi trường nuôi cấy. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần 10 bình, mỗi bình 1 mẫu. Mẫu được đặt

trong tối 3 ngày đầu và có bổ sung vào môi trường nuôi cấy 1 g/L than hoạt tính nhằm giảm hiện tượng mẫu nâu hóa do tiết nhiều phenolic. Theo dõi mẫu sau 14 ngày với các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu chết và tỷ lệ mẫu sống [4], [14], [15].

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng tái sinh chồi cây chuối đở Dacca in vitro

Mẫu đỉnh chồi chuối đở Dacca sống từ thí nghiệm trước được cắt thành 4 phần bằng cách cắt theo chiều dọc, loại bỏ thêm các bẹ lá giúp để lộ các phần mô chứa chồi ngủ và đặt vào môi trường tái sinh chồi. Nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lần 12 bình, mỗi bình 1 mảnh mẫu.

Môi trường tái sinh là môi trường MS + 15% nước dừa tươi, bổ sung kết hợp 1; 3; 5; 7 mg/L BA và 0; 0,1; 0,5; 1 mg/L NAA theo các nghiệm thức đã thiết lập. Theo dõi mẫu sau 60 ngày nuôi cấy với các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu phát sinh chồi, số chồi, chiều cao chồi [3], [6].

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng nhân chồi cây chuối đở Dacca in vitro

Các chồi chuối đở Dacca từ thí nghiệm trước đó được tách thành từng chồi đơn và cắt bỏ bớt phần ngọn còn lại 3 - 5 mm, loại bỏ các lớp bì nâu hóa xung quanh mẫu, cấy vào môi trường các nghiệm thức đã bố trí. Mỗi thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 bình, mỗi bình cấy 5 mẫu.

Môi trường nhân chồi là môi trường MS + 15% nước dừa, bổ sung kết hợp 1; 3; 5; 7 mg/L BA và 0; 0,1; 0,3; 0,5 mg/L NAA theo các nghiệm thức đã thiết lập. Theo dõi mẫu sau 30 ngày nuôi cấy với các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu phát sinh chồi, số chồi, chiều cao chồi [1], [4].

2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây chuối đở Dacca in vitro

Tách các chồi chuối Dacca sinh trưởng tốt từ thí nghiệm trước đó, kích thước 2 - 3 cm cấy vào môi trường theo các nghiệm thức đã bố trí. Mỗi thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 bình, mỗi bình cấy 5 mẫu.

Môi trường tạo rễ là môi trường MS + 15% nước dừa, bổ sung 0; 0,2; 0,5; 0,7; 1; 1,2; 1,5; 1,7 mg/L NAA và 1 g/L than hoạt tính. Theo dõi mẫu sau 30 ngày nuôi cấy với các chỉ tiêu tỷ lệ mẫu phát sinh rễ, số rễ, chiều dài rễ và chiều cao cây [4], [14].

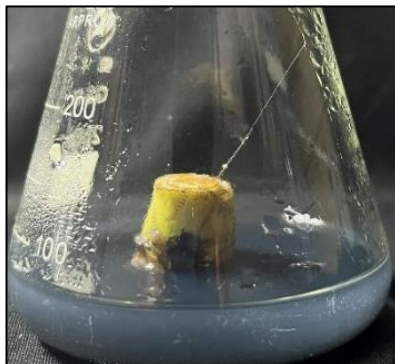
2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý, phân tích và so sánh bằng phần mềm Minitab phiên bản 16.

Bảng 1. Ảnh hưởng thời gian khử trùng của NaClO 10% đến đỉnh chồi chuối đỏ Dacca sau 14 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống (%)
A1 (5 phút)	73,33 ^a	6,67 ^c	20 ^{bc}
A2 (10 phút)	30^b	13,33^{bc}	56,67^a
A3 (15 phút)	20 ^b	36,67 ^b	43,33 ^{ab}
A4 (20 phút)	13,33 ^b	70 ^a	16,67 ^{bc}
A5 (25 phút)	13,33 ^b	80 ^a	6,67 ^c

Chú thích: Các chữ cái trong cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$



Hình 1. Mẫu đỉnh chồi chuối Dacca sống sau 14 ngày của nghiệm thức A2

Trong thí nghiệm này, chúng tôi phát hiện mẫu nhiễm xuất hiện sớm nhất là ngày thứ 3 ở các nghiệm thức (NT) A1 và A2 và muộn nhất là ngày thứ 5 ở NT A5. Số mẫu nhiễm có xu hướng tăng cho đến ngày nuôi cấy thứ 10, chúng tôi tiếp tục theo dõi đến ngày thứ 14 và không phát hiện thêm mẫu nhiễm mới. Nghiệm thức A1 có tỷ lệ nhiễm cao nhất 73,73%. Nghiệm thức có tỷ lệ nhiễm thấp nhất là A4 và A5 đều là 13,33%. Tuy nhiên, về mặt thống kê các NT A2, A3, A4 và A5 không có sự khác biệt có ý nghĩa.

Hai NT A4 và A5 có tỷ lệ nhiễm thấp nhưng tỷ lệ mẫu chết cao (70% và 80%) dẫn đến tỷ lệ mẫu sống thấp, lần lượt là 16,67% và

2.4. Kết quả và thảo luận

2.4.1. Khảo sát ảnh hưởng thời gian khử trùng của NaClO 10% đến mẫu đỉnh chồi chuối đỏ Dacca

Mẫu đỉnh chồi chuối đỏ Dacca được khử trùng bằng NaClO 10% với các mốc thời gian khác nhau, được nuôi cấy trong môi trường MS + 1 g/L than hoạt tính, tiến hành theo dõi sau 14 ngày nuôi cấy, kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

6,67%. Nghiệm thức A1 có tỷ lệ mẫu chết thấp (6,67%) và tỷ lệ mẫu sống thấp chỉ đạt 20% do phần lớn mẫu của nghiệm thức này đã nhiễm. Trong khi đó, nghiệm thức A2 tuy không phải là nghiệm thức có tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ mẫu chết thấp nhất nhưng có tỷ lệ mẫu sống cao nhất 56,67%. Tỷ lệ mẫu sống ở NT A2 không khác biệt có nghĩa với NT A3 (43,33%).

Sodium hypochlorite (NaClO) là một chất khử trùng mẫu cây được sử dụng rộng rãi trong nuôi cấy mô thực vật. Tuy nhiên, NaClO cũng gây ảnh hưởng không tốt đến sức sống mẫu cây, mức độ ảnh hưởng sẽ tùy thuộc vào nồng độ và thời gian thực hiện quá trình khử trùng [15]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi

nhận rằng dung dịch NaClO 10% và thời gian xử lý là 10 phút (NT A2) cho hiệu quả cao nhất trong việc khử trùng đỉnh chồi chuối Dacca bởi tỷ lệ mẫu sống cao (56,67%) và trạng thái mẫu tốt. Trong khi đó, tỷ lệ mẫu sống ở nghiệm thức A3 không khác biệt với A2 nhưng trạng thái mẫu kém hơn. Các nghiệm thức xử lý trong thời gian lâu hơn 15 phút (A4 và A5) cho kết quả mẫu bị tổn thương và chết dần.

Kết quả thu được có phần tương đồng với các nghiên cứu trước đó, đều ghi nhận NaClO có hiệu quả khử trùng mẫu chồi đỉnh chuối tốt. Tuy nhiên, giữa các nghiên cứu có sự khác biệt về nồng độ và thời gian, điều này có thể là do điều kiện thu mẫu, kích thước mẫu... Nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương và cộng sự, nhóm tác giả khử trùng mẫu chuối Sáp (*Musa balbasiana*) bằng NaClO 3% với thời gian tối ưu là 12 đến 15 phút. Nhóm tác giả cũng ghi nhận hiện tượng

mẫu dễ nhiễm khi xử lý thời gian ngắn và ngược lại mẫu bị úng, chết khi xử lý với thời gian lâu hơn [14]. Nhóm nghiên cứu của Huỳnh Thị Huệ Trang và cộng sự cũng công bố đỉnh chồi chuối Sáp được khử trùng hiệu quả nhất với NaClO 5% với 15 phút xử lý [4]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Htut cũng công bố rằng trên cùng đối tượng chuối Dacca với chúng tôi lại đề xuất rằng xử lý mẫu bằng dung dịch Clorox 1% trong thời gian là 15 phút [6].

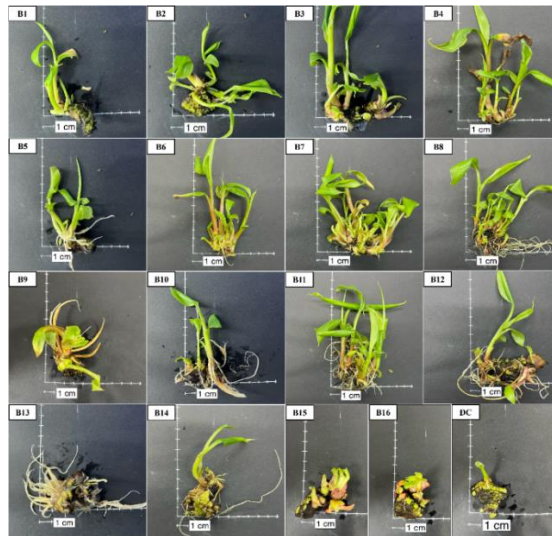
2.4.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng tái sinh chồi cây chuối đở Dacca *in vitro*

Mẫu đỉnh chồi chuối được cắt thành 4 mảnh nhỏ, các mảnh mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS + 15% nước dừa và chứa các nồng độ BA, NAA khác nhau, theo dõi mẫu cấy sau 60 ngày, kết quả chi tiết được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng tái sinh chồi cây chuối đở Dacca *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức BA:NAA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu phát sinh chồi (%)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)
ĐC (0:0)	11,11 ^f	0,14 ⁱ	0,28 ^{fg}
B1 (1:0)	72,22 ^{abc}	2,58 ^{ef}	1,54 ^e
B2 (3:0)	100 ^a	5,25 ^d	3,03 ^c
B3 (5:0)	100 ^a	6,25 ^{cd}	4,34 ^{ab}
B4 (7:0)	100 ^a	6,11 ^{cd}	4,74 ^a
B5 (1:0,1)	83,33 ^{abc}	2,89 ^e	1,81 ^{de}
B6 (3:0,1)	100 ^a	7,03 ^c	4,06 ^b
B7 (5:0,1)	100^a	10,78^a	4,53^{ab}
B8 (7:0,1)	100 ^a	8,58 ^b	4,30 ^{ab}
B9 (1:0,5)	38,89 ^{def}	0,78 ^{hi}	0,84 ^{fg}
B10 (3:0,5)	66,67 ^{bcd}	1,94 ^{efg}	2,28 ^d
B11 (5:0,5)	94,44 ^{ab}	7,03 ^c	4,43 ^{ab}
B12 (7:0,5)	61,11 ^{cde}	1,78 ^{fgh}	0,86 ^f
B13 (1:1)	22,22 ^f	0,31 ⁱ	0,19 ^g
B14 (3:1)	22,22 ^f	0,42 ⁱ	0,25 ^{fg}
B15 (5:1)	38,89 ^{def}	0,97 ^{ghi}	0,56 ^{fg}
B16 (7:1)	33,33 ^{ef}	0,61 ⁱ	0,25 ^{fg}

Chú thích: Các chữ cái trong cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$.



Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng tái sinh chồi cây chuối đỏ *Dacca* *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

Kết quả ở Bảng 2, việc bổ sung tăng đơn lẻ BA từ 1 đến 5 mg/L, cho thấy tỷ lệ tái sinh chồi, số chồi và chất lượng chồi tăng và khác biệt hoàn toàn với đối chứng. Khi tăng nồng độ BA lên đến 7 mg/L thì các chỉ tiêu đánh giá có dấu hiệu suy giảm nhưng về mặt thống kê thì nghiệm thức có bổ sung 5 mg/L và 7 mg/L BA (NT B3 và B4) không có sự khác biệt có ý nghĩa. Khi bổ sung BA kết hợp NAA nồng độ thấp (0,1 mg/L) có tác dụng kích thích mẫu đỉnh sinh trưởng chuối đỏ *Dacca* tạo chồi tốt hơn khi chỉ bổ sung đơn lẻ BA. Nghiệm thức bổ sung 5 mg/L BA và 0,1 mg/L NAA (NT B7) cho kết quả tái sinh chồi từ mẫu đỉnh sinh trưởng chuối *Dacca* tốt nhất, số chồi đạt 10,78 chồi/mẫu và chiều cao chồi 4,53 cm. Các nghiệm thức có bổ sung NAA với nồng độ cao (0,5 và 1 mg/L) cho thấy ức chế mạnh mẽ khả năng tạo chồi được thể hiện qua sự suy giảm nghiêm trọng của các chỉ tiêu đánh giá. Theo quan sát hình thái mẫu, chúng tôi ghi nhận mẫu đỉnh chuối sẽ có các xu hướng phát triển khác nhau khi bổ sung BA kết hợp với nồng độ cao NAA. Khi kết hợp giữa BA (1, 3, 5 và 7 mg/L) với NAA (0,5 mg/L) mẫu có xu hướng hình thành nhiều rễ và phát sinh ít chồi hoặc hoàn toàn không nảy chồi. Khi kết hợp giữa BA (1

và 3 mg/L) với NAA (1 mg/L) mẫu sẽ phát triển rễ là chủ yếu, ít mẫu phát sinh chồi. Trong khi đó, việc kết hợp giữa nồng độ cao BA (5 và 7 mg/L) và nồng độ cao NAA (1 mg/L) mẫu sẽ phát triển theo hướng phù nề, phòng, dị dạng, chồi phát sinh cũng bất thường và chồi được hình thành rất muộn. Ở nghiệm thức kết hợp giữa nồng độ BA bất kỳ và 1 mg/L NAA điều cho các chỉ tiêu đánh giá không khác biệt với NT đối chứng (ĐC). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với cơ sở lý thuyết về chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Theo nguyên lý chung của nuôi cấy tế bào thực vật, BA và NAA là hai chất điều hòa sinh trưởng thực vật thuộc nhóm cytokinin và auxin, chúng đều có tác động tích cực kích thích phân chia tế bào thực vật. Khi kết hợp với nhau ở nồng độ phù hợp sẽ mang lại hiệu quả cao trong nuôi cấy mô. Ngược lại, nếu ở nồng độ không phù hợp sẽ gây ức chế đến sự phát triển của mô cây [9]. Tóm lại, qua thí nghiệm này chúng tôi nhận thấy nghiệm thức chứa 5 mg/L BA và 0,1 mg/L NAA là phù hợp nhất để tái sinh chồi chuối đỏ *Dacca*.

Kết quả này có phần tương đồng với nghiên cứu của Kadam và cộng sự trên cùng đối tượng chuối đỏ (*Musa acuminata*), với môi trường MS có bổ sung 5 mg/L BA cũng được

xác định là nồng độ tối ưu để tái sinh chồi từ đỉnh sinh trưởng chồi đở [7]. Trong nghiên cứu của Hồ Thanh Tâm và cộng sự ghi nhận, sự kết hợp giữa BA và NAA có thể tái sinh chồi tốt trên đối tượng mẫu hoa chồi Laba (*Musa acuminata*) [3]. Bên cạnh đó, nghiên cứu trên đối tượng chồi đở Ấn Độ (*Musa acuminata*) của Rajoriya và cộng sự cũng ghi nhận môi trường nuôi cấy có bổ sung 3 mg/L BA và 0,2 mg/L NAA cho hiệu quả cao tái sinh chồi từ đỉnh chồi chồi [12].

2.4.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng nhân chồi cây chồi đở *Dacca in vitro*

Mẫu chồi đơn sau 30 ngày nuôi cấy trên môi trường MS chứa các nồng độ BA và NAA khác nhau, chúng tôi ghi nhận có sự khác nhau đáng kể giữa các nghiệm thức, kết quả trình bày ở bảng 3.

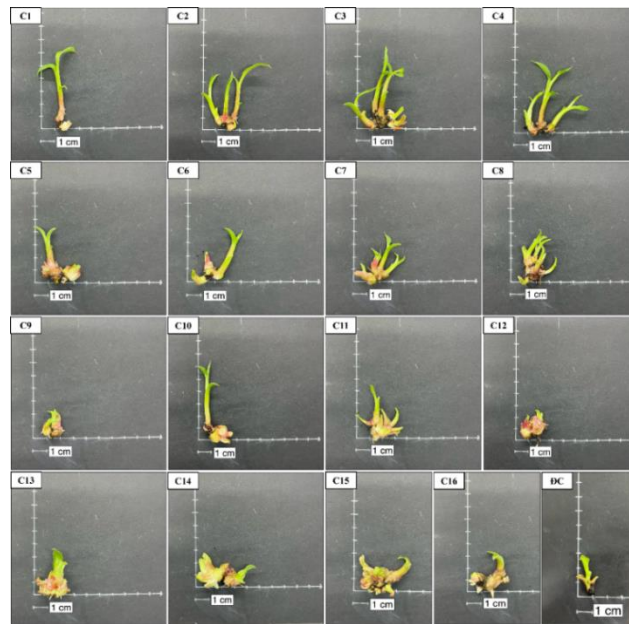
Theo kết quả, môi trường MS bổ sung đơn lẻ 5 mg/L BA (NT C3) là môi trường phù hợp để nhân nhanh chồi chồi đở *Dacca in vitro*, số

chồi đạt cao nhất đạt 5,53 chồi/mẫu và chất lượng chồi rất tốt với chiều cao chồi đạt 1,86 cm. Cao hơn hoàn toàn và khác biệt đáng kể so với đối chứng (NT ĐC) và các nghiệm thức còn lại. Theo cơ sở lý thuyết, cả BA và NAA đều có tác động kích thích phân chia tế bào thực vật *in vitro* khi được bổ sung ở nồng độ thích hợp, tuy nhiên trong thí nghiệm này chúng tôi ghi nhận hiện tượng ức chế tăng sinh số chồi khi môi trường có bổ sung thêm NAA, ngay cả khi bổ sung với nồng độ thấp 0,1 mg/L NAA. Khi bổ sung nồng độ cao NAA (0,3 và 0,5 mg/L) sẽ gây ức chế sự phát sinh chồi, hình thái chồi cũng bất thường (phồng, xốp như mô sẹo), thậm chí gây chết mẫu cây và các chỉ tiêu theo dõi hầu như không có sự khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng (NT ĐC). Điều này có nghĩa lượng nhỏ auxin nội sinh của mẫu khi kết hợp với lượng BA mà ta bổ sung là phù hợp để nhân chồi chồi đở *Dacca in vitro* vì thế không cần bổ sung NAA vào môi trường nhân chồi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng nhân chồi cây chồi đở *Dacca in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức BA:NAA (mg/L)	Tỷ lệ phát sinh chồi (%)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)
ĐC	80 ^{bc}	1,53 ^{efg}	1,23 ^{de}
C1 (1:0)	100 ^a	2,20 ^{de}	1,92 ^a
C2 (3:0)	100 ^a	4,33 ^b	1,78 ^{abc}
C3 (5:0)	100^a	5,53^a	1,86^a
C4 (7:0)	100 ^a	4,31 ^b	1,79 ^{ab}
C5 (1:0,1)	100 ^a	2,02 ^{def}	1,51 ^d
C6 (3:0,1)	100 ^a	3,13 ^c	1,52 ^{cd}
C7 (5:0,1)	100 ^a	4,76 ^b	1,53 ^{bcd}
C8 (7:0,1)	100 ^a	4,22 ^b	1,28 ^{de}
C9 (1:0,3)	91,11 ^{abc}	1,56 ^{efg}	1,02 ^{ef}
C10 (3:0,3)	95,56 ^{ab}	2,44 ^{cd}	1,13 ^{ef}
C11 (5:0,3)	95,56 ^{ab}	3,02 ^c	1,17 ^{ef}
C12 (7:0,3)	88,89 ^{abc}	1,71 ^{efg}	1,00 ^f
C13 (1:0,5)	77,78 ^{bc}	1,13 ^g	0,71 ^g
C14 (3:0,5)	84,44 ^{abc}	1,67 ^{efg}	1,00 ^f
C15 (5:0,5)	73,33 ^c	1,44 ^{fg}	0,65 ^g
C16 (7:0,5)	73,33 ^c	1,51 ^{efg}	0,59 ^g

Chú thích: Các chữ cái trong cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ BA:NAA đến khả năng nhân chồi cây chuối đỏ *Dacca in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

BA là chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin, có tác động ức chế hiện tượng ưu thế ngọn của mô phân sinh đỉnh và kích thích các chồi nách, chồi ngủ ở mẫu đỉnh chuối phát triển [11]. Kết quả nghiên cứu trên tương tự với của Huỳnh Thị Huệ Trang và cộng sự, nồng độ 5 mg/L BA được xác định là nồng độ tối ưu nhất để nhân chồi chuối sáp (*Musa balbasinana*) và môi trường MS bổ sung 5 mg/L BA [4]. Nghiên cứu của Đỗ Đăng Giáp và cộng sự cũng công bố rằng nồng độ 5 mg/L BA là thích hợp nhất để nhân chồi giống chuối Laba (*Musa sp.*) [1]. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Hồ Thanh Tâm và cộng sự, môi trường nuôi cấy bổ sung 2,5 mg/L BA phù hợp nhất để nhân chồi trên đối tượng chuối Laba, số chồi đạt 8,9 chồi/mẫu và chiều cao chồi 3,76 cm [3]. Nghiên cứu của Đinh Trường Sơn và cộng sự cũng ghi nhận bổ sung 2 mg/L BA vào môi trường nuôi cấy có hiệu quả nhân chồi chuối tiêu Nam Mỹ (*Musa acuminata*) [2].

2.4.4. Khảo sát ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây chuối đỏ *Dacca in vitro*

Mẫu chồi chuối đỏ *Dacca* được nuôi cấy trong môi trường tạo rễ, MS bổ sung 15% nước

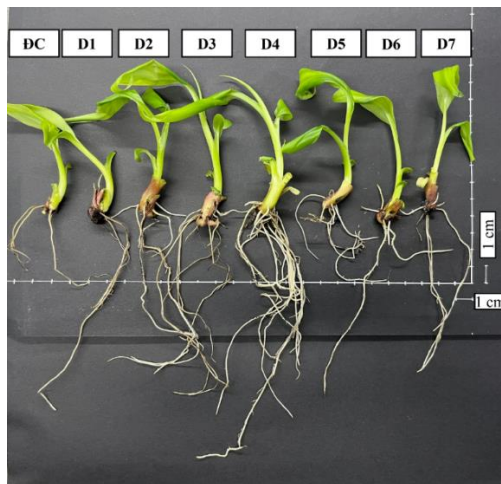
dừa, 1 g/L AC và các nồng độ NAA khảo sát, sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả cho thấy, tất cả các mẫu trong thí nghiệm đều hình thành rễ kể cả các mẫu của nghiệm thức đối chứng không chứa NAA. Điều này chứng tỏ với lượng nhỏ auxin nội sinh của mẫu chồi chuối đỏ *Dacca* cũng có thể làm mẫu phát triển và hình thành rễ tự nhiên. NAA là một chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin được sử dụng rộng rãi trong việc kích thích phát triển trong nhiều công trình nhân giống chuối *in vitro*. Hiệu quả kích thích phát triển rễ trong vi nhân giống chuối của NAA cũng đã được ghi nhận rằng ưu việt hơn so với IBA và IAA [14]. Điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi, khi NT D4 chứa 1 mg/L NAA trong môi trường nuôi cấy cho hiệu quả tạo rễ tối ưu nhất với số rễ rất cao lên đến 14,51 rễ/mẫu, chiều dài rễ 9,34 cm và chiều cao cây là 4,72 cm. Trong khi đó, nghiệm thức không bổ sung NAA cho các chỉ tiêu đánh giá thấp nhất, số rễ 3,47 rễ/mẫu, chiều dài rễ 4,54 cm, chiều cao cây 3,35 cm. Nghiệm thức bổ sung 0,2 mg/L NAA cho kết quả cũng không có sự khác biệt đáng kể với nghiệm thức không bổ sung NAA.

Bảng 4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng NAA đến khả năng tạo rễ cây chuối đỏ *Dacca in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Tỷ lệ mẫu phát sinh rễ (%)	Số rễ (Rễ/mẫu)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)
D1 (0,2)	100	3,64 ^e	6,35 ^c	3,42 ^e
D2 (0,5)		8,11 ^b	6,83 ^{bc}	4,47 ^b
D3 (0,7)		8,40 ^b	6,93 ^b	4,51 ^b
D4 (1)		14,51^a	9,34^a	4,72^a
D5 (1,2)		5,49 ^c	6,53 ^{bc}	3,98 ^c
D6 (1,5)		4,87 ^{cd}	5,13 ^d	3,77 ^d
D7 (1,7)		4,38 ^d	4,80 ^{de}	3,73 ^d
DC (0)		3,47 ^e	4,54 ^e	3,35 ^e

Chú thích: Các chữ cái trong cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$

**Hình 4.** Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng NAA đến khả năng tạo rễ cây chuối đỏ *Dacca in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

Kết quả này hoàn toàn tương đồng với nghiên cứu của Htut trên cùng đối tượng chuối *Dacca*, tác giả cũng ghi nhận nồng độ 1 mg/L NAA là mức nồng độ phù hợp nhất để tạo rễ [6]. Trong nghiên cứu của Hồ Thanh Tâm và cộng sự, môi trường có bổ sung 0,2 mg/L NAA là môi trường thích hợp nhất để tạo rễ giống chuối Laba [3]. Nghiên cứu của Huỳnh Thị Huệ Trang và cộng sự cũng cho thấy môi trường nuôi cấy bổ sung 0,5 mg/L NAA là thích hợp để tạo rễ đối tượng chuối Sáp (*Musa balbasiana*) [4]. Trong khi đó, nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phượng và cộng sự lại ghi nhận môi trường nuôi cấy không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật là môi trường phù hợp

để tạo rễ cây chuối Sáp (*Musa balbasiana* nhóm BBB) [14].

3. KẾT LUẬN

Đã xác định được mẫu đỉnh chồi chuối *Dacca* được khử trùng bằng NaClO 10% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất. Mẫu đỉnh chồi chuối đỏ *Dacca* tái sinh tốt nhất ở môi trường MS chứa 15% nước dừa, có bổ sung kết hợp 5 mg/L BA và 0,1 mg/L NAA. Môi trường MS bổ sung 15% nước dừa và 5 mg/L BA là môi trường cho hiệu quả nhân chồi cao nhất. Tương tự như môi trường nhân chồi nhưng không sử dụng BA thay vào đó bổ sung 1 mg/L NAA và 1 g/L than hoạt tính là môi trường thích hợp nhất để tạo rễ cây chuối đỏ *Dacca in vitro*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Đăng Giáp, Phạm Ngọc Vinh, Trần Trọng Tuấn, Nguyễn Thị Huyền Trang, Phạm Ngô Anh 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.
- [2] Đinh Trường Sơn, Đặng Thu Hòa, Vũ Công Sơn, Nguyễn Thị Hoa, Vũ Thị Hiền, Đặng Thị Thanh Tâm (2023), *Đánh giá tác động của các chất hữu cơ đến giai đoạn nhân nhanh in vitro chuối tiêu Nam Mỹ*, Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
- [3] Hồ Thanh Tâm, Trần Thị Nhung, Hoàng Thị Như Phương, Nguyễn 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.
- [4] Huỳnh Thị Huệ Trang, Phan Hồng Ngọc (2021), *Nghiên cứu nhân giống chuối sáp (Musa Balbasiana) bằng phương pháp nuôi cấy mô*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam.
- [5] Englberger, L., Wills, R. B., Blades, B., Dufficy, L., Daniells, J. W., & Coyne, T. (2006), *Carotenoid content and flesh color of selected banana cultivars growing in Australia*, Food and nutrition bulletin.
- [6] Htut, H. A. (2014), *In Vitro Propagation of Red Banana Musa acuminata (AAA) cv. Red Dacca*, Doctoral dissertation, MERAL Portal.
- [7] Kadam, M. S., Chinche, A. V., Chopade, S. J., Gond, P. P., & Tattapure, V. M. (2023), *Effect of Growth Regulators, Sterilization Treatments, and Potting Mixtures on in vitro Micropropagation of Red Banana (Musa acuminata)*, Biological Forum – An International Journal.
- [8] Murashige, T., & Skoog, F. (1962), *A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures*, Physiologia plantarum.
- [9] Phillips, G. C., & Garda, M. (2019), *Plant tissue culture media and practices: an overview*, In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*.
- [10] Piatti-Farnell, L. (2016), *Banana: A global history*, Reaktion Books.
- [11] Priyanka, K. (2020). *Impact of Growth Regulators on in Vitro Growth of Banana (Musa Spp) Cultured: a Review*, International Journal on Agricultural Sciences.
- [12] Rajoriya, P., Singh, V. K., Jaiswal, N., & Lall, R. (2018), *Optimizing the effect of plant growth regulators on in vitro micro propagation of Indian red banana (Musa acuminata)*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.
- [13] Sidhu, J. S., & Zafar, T. A. (2018), *Bioactive compounds in banana fruits and their health benefits*, Food Quality and Safety.
- [14] Vu, P. T. B., Trieu, N. T. Y., Duong, K. C., & Quach, P. N. D. (2018), *Micropropagation of Musa balbasiana (BBB group)*, Science & Technology Development Journal: Natural Sciences.
- [15] Yildiz, M., Fatih Ozcan, S., T Kahramanogullari, C., & Tuna, E. (2012), *The effect of sodium hypochlorite solutions on the viability and in vitro regeneration capacity of the tissue*, The Natural Products Journal.
- [16] Food and Agriculture Organization (2023). *Banana Market Review Preliminary results 2023*, <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/db25a6ba-e947-4755-b5f0-cb1ee643f266/content>, ngày truy cập: 16-04-2024.