

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
VIỆN NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN CÔNG NGHỆ SINH HỌC



HỒNG THỊ KIỀU LINH

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ GIAI ĐOẠN HAI CỦA VI NHÂN GIÓNG
VÀ VIỆC XỬ LÝ TIA GAMMA ^{60}Co LÊN SỰ SINH TRƯỞNG
CỦA MÔ SẸO MÔN CAO (*Colocasia esculenta* L. Schott)

LUẬN VĂN TỐT NGHIỆP THẠC SĨ
Chuyên ngành : CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Mã số : 60-42-80

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC
TS. NGUYỄN BẢO TOÀN
TS. VŨ ANH PHÁP

Cần Thơ, năm 2010

Luận văn đính kèm theo đây, với tên đề tài: “**Đánh giá hiệu quả giai đoạn hai của vi nhân giống và việc xử lý tia gamma ^{60}Co lên sự sinh trưởng của mô sẹo mông Cao (*Colocasia esculenta* L. Schott)**” do Hồng Thị Kiều Linh thực hiện và báo cáo đã được hội đồng chấm luận văn thông qua.

Thư ký

(ký tên)

TS. Trương Trọng Ngôn

Ủy viên

(ký tên)

TS. Nguyễn Bảo Toàn

Phản biện 1

(ký tên)

TS. Phạm Thị Mùi

Phản biện 2

(ký tên)

TS. Trần Đình Giới

Cần Thơ, ngày 06 tháng 11 năm 2010

Chủ tịch hội đồng

(ký tên)

TS. Trần Nhân Dũng



BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
-oOo-

NGÔ THẢO TRÂN

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG TÁI SINH CHỒI VÀ
TẠO ĐỘT BIỂN BẰNG TIA GAMMA ^{60}CO
VÀ TIA X TRÊN CÂY MÔN ĐỒM
(Caladium bicolor (Ait.) Vent.) IN VITRO

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP
Chuyên ngành: TRỒNG TRỌT
Mã ngành: 60 62 01

Người hướng dẫn khoa học
TS. NGUYỄN BẢO TOÀN
TS. VŨ ANH PHÁP

Luận văn kèm theo đây, với tên đề tựa là “ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG TÁI SINH CHỒI VÀ TẠO ĐỘT BIỂN BẰNG TIA GAMMA ^{60}CO VÀ TIA X TRÊN CÂY MÔN ĐÓM (*Caladium bicolor* (Ait.) Vent.) *IN VITRO*”, do học viên NGÔ THẢO TRÂN thực hiện và báo cáo đã được hội đồng chấm luận văn thông qua.

Thư ký

Trần Ngọc Thạch

Phản biện 1

Nguyễn Văn
Lý
Trân Ngọc Thạch

Ủy viên

Trần
Nguyễn Văn

Phản biện 2

Nguyễn
phản biện trưởng Nguyễn

Cần Thơ, ngày 30 tháng 8 năm 2010.

Chủ tịch hội đồng

P. -
bacu
Ng. Bảo Văn

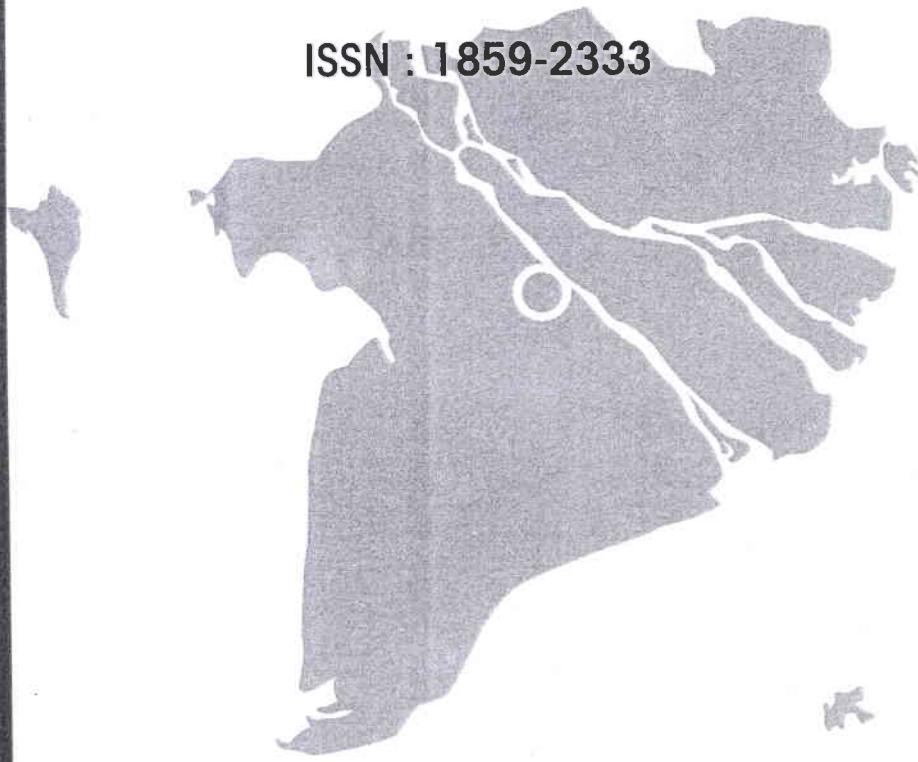


TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
CANTHO UNIVERSITY

Tạp chí
KHOA HỌC

Journal of Science

ISSN : 1859-2333



Số định kỳ 15b năm 2010
Volume: 15b - 2010

VI NHÂN GIỐNG CÂY MÔN KIỀNG (*CALADIUM BICOLOR*)

Nguyễn Thị Mỹ Phương¹, Nguyễn Bảo Toàn² và Vũ Anh Pháp¹

ABSTRACT

*Micropropagation of elephant's ear (*Caladium bicolor*) was carried out to establish a protocol for micropropagation of this plant. Experiments were conducted (1) surface sterilization, (2) shoot proliferation, (3) rooting and acclimatization. Results of experiments showed that tubers were sterilized twice with Clorox 20% for 15 minutes, then rinsed with sterilized distilled water and added HgCl₂ 0,05% for 30 minutes. Results obtained 91,67% completely clean explants. Shoots were multiplied on MS medium supplemented with 0,5 – 2,0 mg/l BA or 0,1 mg/l NAA (4,3 – 6,0 shoots/explant). Root ratio obtain highly (13,7 roots/shoot) on the medium supplemented 0,5 mg/l NAA. On MS medium added 0,5 – 1,0 mg/l BA or 0,1 mg/l NAA alone, plantlets obtained high number of leaves (12 - 16 leaves/explant). A substrate for acclimatization consisted of degraded rice straw + rice hull ash, degraded rice straw + coconut powder and fiber or degraded rice straw + rice hull ash + coconut powder and fiber with equal mixed ratio in nylon covered condition to maintain high relative humidity obtained highly survival ratio.*

Keywords: *Caladium bicolor*, surface sterilization, shoot proliferation, rooting, acclimatization

Title: *Micropropagation of elephant's ear (*Caladium bicolor*)*

TÓM TẮT

*Vi nhân giống cây môn kiêng (*Caladium bicolor*) nhằm xác định thiết lập quy trình vi nhân giống của giống cây này. Các thí nghiệm được tiến hành bao gồm (1) Khử trùng bề mặt mẫu cây, (2) nhân chồi, tạo rễ và (3) thuần dưỡng cây con. Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng, củ cây môn kiêng được khử trùng 2 lần bằng Clorox 20% trong 15 phút, sau đó khử trùng bằng HgCl₂ 0,05% trong 30 phút cho tỉ lệ sinh trưởng sạch là 91,7%. Chồi cây môn kiêng nhân nhanh trong môi trường MS có bổ sung 0,5 - 2,0 mg/l BA hoặc chỉ bổ sung 0,1 mg/l NAA (4,3 - 6,0 chồi/mẫu cây). Cây con ra nhiều rễ (13,7 rễ/chồi) khi bổ sung 0,5 mg/l NAA. Chồi có số lá cao (12 - 16 lá/mẫu cây) khi bổ sung 0,5 - 1,0 mg/l BA hoặc chỉ bổ sung 0,1 mg/l NAA vào môi trường MS. Thuần dưỡng cây môn kiêng có thể sử dụng phân rơm hay phân rơm - tro trấu, phân rơm - xơ dừa hay phân rơm - tro trấu - xơ dừa với tỉ lệ bằng nhau trong điều kiện trùm nilon để duy trì ẩm độ tương đối cao đạt được tỉ lệ sống cao.*

Từ khóa: *Caladium bicolor*, khử trùng bề mặt, nhân chồi, tạo rễ và thuần dưỡng

1 GIỚI THIỆU

Môn kiêng (*Caladium bicolor*) còn gọi là môn đốm, là một loài kiêng được dùng làm cây cảnh, trang trí trong và quanh nhà (Võ Văn Chi, 1997). Môn kiêng là cây mọc tự nhiên có củ, nhưng củ không được sử dụng làm thực phẩm. Đây là cây thân thảo, một lá mầm và sinh sản vô tính. Lá có nhiều màu đỏ, trắng và xanh rất đẹp.

¹ Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long

² Khoa NN & SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

Hiện nay, do vấn đề đô thị hóa, nhu cầu cây cảnh để trang trí sân vườn rất lớn; vì vậy, các cây cảnh có nguồn gốc tự nhiên đang bị khai thác quá mức và có nguy cơ tuyệt chủng, trong đó có cây môn kiêng. Trong tự nhiên, cây này sinh sản theo kiểu vô tính bằng củ nhờ vào lượng củ nhỏ (củ giáo) cấp 2 - 3 mọc từ củ cái. Môn kiêng rất khó ra hoa trong điều kiện tự nhiên. Số củ trung bình của một bụi của cây môn là 6 - 8 củ (Nguyễn Thị Ngọc Huệ và Đinh Thế Lộc, 2005). Thời gian sinh trưởng của cây môn kiêng thì khá dài, khoảng 6 tháng, cho nên số củ thu hoạch hàng năm khoảng 40 củ. Do thời gian sinh trưởng của cây môn dài, phụ thuộc nhiều vào mùa vụ nên hệ số nhân giống của cây này còn thấp (Juan et al., 2006). Việc tìm một kỹ thuật nhân nhanh cây này sẽ giải quyết được vấn đề khai thác tự nhiên và bảo tồn nguồn giống môn kiêng một cách bền vững. Trong các kỹ thuật nhân giống vô tính thì vi nhân giống là kỹ thuật nhân nhanh các giống cây trồng và có tính khả thi hơn do nó cung cấp một số lượng lớn cây giống sạch bệnh, đồng nhất và không lệ thuộc vào mùa vụ (Rachael et al., 1993). Vi nhân giống được Debergh và Zimmerman (1991) đã chia thành 4 giai đoạn khác nhau; trong đó, giai đoạn 0 là chuẩn bị vật liệu cây mẹ, giai đoạn 1 là khử trùng bề mặt mẫu vật để nuôi cây, giai đoạn 2 là nhân mẫu cây, giai đoạn 3 là giai đoạn kéo dài và tạo rễ, giai đoạn 4 là thuần dưỡng cây con. Mỗi giai đoạn có một chức năng riêng. Sự thành công của vi nhân giống phụ thuộc vào tất cả các giai đoạn. Nghiên cứu “Vi nhân giống cây môn kiêng (*Caladium bicolor*)” nhằm mục đích xác định một số giai đoạn trong quy trình vi nhân giống cây môn.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Củ giống môn kiêng (*Caladium bicolor*) do Viện Nghiên cứu Phát triển đồng bằng sông Cửu Long cung cấp.

Môi trường nuôi cây được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog, 1962) bổ sung các thành phần như đường sucrose 30 g/l, agar 8 g/l. Tùy thuộc vào các thí nghiệm mà có hoặc không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng như NAA và BA ở các nồng độ khác nhau. Môi trường khi pha xong được chỉnh pH = 5,8 và rót vào keo có đường kính 8 cm, cao 12 cm. Mỗi keo chứa 30 ml môi trường và được đậy lại bằng nắp nhựa. Môi trường được khử trùng ướt ở 121°C, áp suất 1 atm trong 20 phút.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu dựa trên các thí nghiệm.

2.2.1 Thí nghiệm 1: Hiệu quả của BA và NAA lên sự nhân chồi môn kiêng

Khử trùng mẫu vật nuôi cây

Phần đầu củ môn kiêng được vô trùng mẫu cây bằng clorox 20% 15 phút, rửa lại bằng nước cát vô trùng 3 lần. Cho mẫu vật đã rửa vào $HgCl_2$ 0,5% 30 phút. Rửa lại bằng nước cát vô trùng 3 lần. Mẫu vật được tách lấy đỉnh sinh trưởng và cấy vào môi trường MS. Chồi phát triển từ những đỉnh sinh trưởng này được sử dụng làm nguồn vật liệu trong thí nghiệm.

Chồi mòn kiêng *in vitro* 50 ngày tuổi, cao khoảng 50 mm và có 2-3 lá. Chồi được cắt bỏ rễ, lá, còn lại đoạn thân khoảng 15 mm. Các chồi này được cấy vào môi trường cơ bản MS có bổ sung BA. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, thừa số 2 nhân tố (BA ở nồng độ 0; 0,5; 1 và 2 mg/l và NAA 0; 0,1 và 0,5 mg/l.), 12 nghiệm thức, 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 3 mẫu.

Chỉ tiêu theo dõi bao gồm (1)- chiều cao thân: đo từ mặt môi trường đến rốn lá cao nhất, số chồi mới hình thành, (2)- Số lá: đếm lá hình thành và đã mở hoàn toàn và (3)- Sự hình thành rễ được tính khi rễ dài từ 5 mm.

2.2.2 *Thí nghiệm 2: Hiệu quả của các loại giá thể và điều kiện thuần dưỡng lên sự phát triển của cây con mòn kiêng sau giai đoạn in vitro*

Vật liệu: cây con mòn kiêng được chọn thuần dưỡng có chiều cao trung bình từ 60-65 mm, có từ 2-3 lá và 5-7 rễ. Các cây con được cho vào các ly nhựa có kích thước (4 cm x 4 cm x 3 cm), bên trong chứa các giá thể trồng cây gồm:

Nghiệm thức 1: 100% phân rơm + không trùm nylon

Nghiệm thức 2: 50% phân rơm + 50% tro trấu + không trùm nylon

Nghiệm thức 3: 50% phân rơm + 50% mùn dừa + không trùm nylon

Nghiệm thức 4: 40% phân rơm + 30% mùn dừa + 30% tro trấu + không trùm nylon

Nghiệm thức 5: 100% phân rơm + có trùm nylon

Nghiệm thức 6: 50% phân rơm + 50% tro trấu + có trùm nylon

Nghiệm thức 7: 50% phân rơm + 50% mùn dừa + có trùm nylon

Nghiệm thức 8: 40% phân rơm + 30% mùn dừa + 30% tro trấu + có trùm nylon

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khói hoàn toàn ngẫu nhiên, một nhân tố, 8 nghiệm thức, 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp 12 chồi, trong nhà lưới, với hai điều kiện có và không trùm nylon.

Chỉ tiêu theo dõi:

Quan sát trong 4 tuần liên tiếp:

Tỉ lệ cây sống (%) = (Số cây sống/tổng số cây thuần dưỡng) x 100

Chiều cao thân gia tăng: đo từ gốc đến rốn lá cao nhất của cây và được tính theo công thức.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phần mềm thống kê MSTATC, kiểm định F và Duncan.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả của BA và NAA lên sự nhân chồi môn kiêng

3.1.1 Sự gia tăng chiều cao chồi môn kiêng

Kết quả bảng 1 cho thấy sự gia tăng chiều cao chồi trong từ 15-55 ngày chịu sự tác động đơn và tương tác của BA và NAA. Chồi phát triển tốt nhất 88,7 mm khi chỉ bổ sung NAA hay kết hợp 0,5 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA vào môi trường nuôi cấy. Việc sử dụng đơn BA hay kết hợp BA ở nồng độ cao với NAA không thích hợp cho sự phát triển chiều cao môn Kiêng.

Ở nghiệm thức đối chứng, chiều cao cây luôn thấp hơn (32,4 mm) có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác (Bảng 1). Như vậy, sự không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng cũng không thích hợp cho sự phát triển của môn Kiêng.

Bảng 1: Sự gia tăng chiều cao trung bình (mm) của thân cây môn kiêng theo thời gian nuôi cấy

| Hóa chất | Nồng độ (mg/l) | Thời gian nuôi cấy (ngày) | | | | |
|------------------------------------|-------------------|---------------------------|---------|----------|---------|----------|
| | | 15 | 25 | 35 | 45 | 55 |
| BA | 0 | 14,6 b | 25,6 ab | 43,8 a | 56,4 a | 69,0 a |
| | 0,5 | 20,5 a | 28,2 a | 37,6 b | 56,0 a | 67,6 a |
| | 1,0 | 19,1 a | 22,2 b | 28,4 c | 39,8 b | 49,1 b |
| | 2,0 | 15,8 b | 20,8 b | 24,7 c | 37,9 b | 44,1 b |
| NAA | 0 | 13,7 b | 19,4 b | 29,3 b | 41,1 b | 53,0 b |
| | 0,1 | 18,2 a | 27,8 a | 37,5 a | 50,6 a | 62,1 a |
| | 0,5 | 20,6 a | 25,3 a | 34,2 ab | 50,8 a | 57,3 ab |
| | 0 + 0 | 13,1 de | 18,8 bc | 22,8 ef | 27,6 cd | 32,4 ef |
| BA + NAA | 0 + 0,1 | 19,7 a-c | 37,0 a | 59,5 a | 75,6 a | 91,7 a |
| | 0 + 0,5 | 11,2 e | 20,9 bc | 49,3 b | 66,1 a | 83,0 a |
| | 0,5 + 0 | 12,6 de | 21,8 bc | 37,5 cd | 51,7 b | 65,8 b |
| | 0,5 + 0,1 | 23,7 ab | 34,8 a | 44,6 bc | 70,2 a | 88,7 a |
| | 0,5 + 0,5 | 25,3 a | 28,1 ab | 30,8 d-f | 46,2 b | 48,3 cd |
| | 1,0 + 0 | 17,3 cd | 20,3 bc | 32,1 de | 50,1 b | 68,2 b |
| | 1,0 + 0,1 | 19,1 bc | 22,3 bc | 26,0 d-f | 33,9 cd | 41,8 de |
| | 1,0 + 0,5 | 20,9 a-c | 24,0 bc | 27,2 d-f | 35,4 c | 37,3 d-f |
| | 2,0 + 0 | 12,0 de | 16,8 c | 24,8 ef | 35,1 c | 45,4 de |
| | 2,0 + 0,1 | 10,5 e | 17,3 bc | 19,8 f | 22,9 d | 26,3 f |
| | 2,0 + 0,5 | 24,9 a | 28,2 ab | 29,6 d-f | 55,7 b | 60,8 bc |
| F _{BA} | | ** | * | ** | ** | ** |
| F _{NAA} | | ** | ** | ** | ** | * |
| F _{BA} x F _{NAA} | | ** | * | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 20,6 | 27,9 | 21,2 | 15,3 | 15,7 |

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định Duncan, (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. (I) Sự gia tăng chiều cao (mm) = Chiều cao sau - chiều cao ban đầu

3.1.2 Sự gia tăng số chồi môn kiêng

Kết quả bảng 2 cho thấy sự gia tăng số chồi chịu ảnh hưởng của BA và NAA. Ở giai đoạn 15 ngày sau khi cấy, sự nhân chồi chỉ chịu ảnh hưởng nhân tố của NAA nhưng số chồi hình thành trên mẫu cây không khác biệt giữa 12 nghiệm thức. Từ

ngày thứ 25-55, sự gia tăng số chồi chịu ảnh hưởng đơn của BA (35 ngày sau khi cấy) hay NAA (45 và 55 ngày sau khi cấy) và có ảnh hưởng tương tác của 2 chất điều hòa sinh trưởng này (25-55 ngày sau khi cấy). Ở 55 ngày nuôi cấy, sự gia tăng số lượng chồi cao nhất là ở các nghiệm thức chỉ bổ sung đơn 0,5-2,0 mg/l BA và cao hơn các nghiệm thức còn lại ở mức ý nghĩa 0,5%. Tại thời điểm 55 ngày sau khi cấy, số chồi/mẫu cấy ở nghiệm thức 0,1 mg/l NAA cũng cao tương đương với 3 nghiệm thức 0,5-1,0- 2,0 mg/l BA.

Bảng 2: Số lượng chồi hình thành (chồi) từ mỗi chồi đơn mòn kiếng trong điều kiện *in vitro*

| Hóa chất | Nồng độ (mg/l) | Thời gian nuôi cấy (ngày) | | | | |
|-------------------------|----------------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | | 15 | 25 | 35 | 45 | 55 |
| BA | 0 | 1,1 | 1,4 b | 1,9 b | 2,8 | 3,2 |
| | 0,5 | 1,1 | 1,3 b | 1,9 b | 2,9 | 3,5 |
| | 1,0 | 1,4 | 1,9 a | 2,6 a | 3,3 | 4,0 |
| | 2,0 | 1,2 | 1,8 a | 2,3 ab | 2,8 | 3,0 |
| NAA | 0 | 1,4 a | 1,8 a | 2,5 | 3,4 a | 4,3 a |
| | 0,1 | 1,1 b | 1,4 b | 2,0 | 2,9 ab | 3,2 b |
| | 0,5 | 1,2 b | 1,6 ab | 2,0 | 2,5 b | 2,8 b |
| BA + NAA | 0 + 0 | 1,0 | 1,0 e | 1,0 d | 1,1 d | 1,1 d |
| | 0 + 0,1 | 1,3 | 1,7 bd | 2,8 ac | 4,5 a | 5,3 a |
| | 0 + 0,5 | 1,2 | 1,6 be | 2,1 bd | 2,7 bc | 3,2 bc |
| | 0,5 + 0 | 1,4 | 1,8 ad | 2,8 ac | 4,5 a | 6,0 a |
| | 0,5 + 0,1 | 1,0 | 1,3 de | 1,8 cd | 2,4 bd | 2,5 bd |
| | 0,5 + 0,5 | 1,0 | 1,0 e | 1,2 d | 1,7 cd | 2,0 cd |
| | 1,0 + 0 | 1,5 | 2,3 a | 3,3 a | 4,3 a | 5,8 a |
| | 1,0 + 0,1 | 1,3 | 1,4 ce | 1,8 cd | 2,5 bd | 3,0 bd |
| | 1,0 + 0,5 | 1,4 | 2,0 ac | 2,8 ac | 3,2 ac | 3,3 bc |
| | 2,0 + 0 | 1,6 | 2,2 ab | 3,0 ab | 3,8 ab | 4,3 ab |
| | 2,0 + 0,1 | 1,1 | 1,3 de | 1,8 cd | 2,0 cd | 2,1 cd |
| | 2,0 + 0,5 | 1,0 | 1,8 ad | 2,1 bd | 2,4 bd | 2,8 bd |
| F_{BA} | | ns | ** | * | ns | ns |
| F_{NAA} | | * | * | ns | * | ** |
| $F_{BA} \times F_{NAA}$ | | ns | ** | ** | ** | ** |
| CV (%) | | 21,6 | 23,7 | 31,3 | 32,3 | 36,0 |

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan, (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.1.3 Sự hình thành rễ mòn kiếng ở điều kiện *in vitro*

Kết quả bảng 3 cho thấy có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1% về số rễ hình thành giữa 12 nghiệm thức ở giai đoạn 55 ngày sau khi cấy. Bên cạnh sự tác động đơn của BA, sự hình thành rễ còn chịu ảnh hưởng tương tác của BA và NAA. Trong đó, số rễ hình thành cao nhất ở nghiệm thức chỉ bổ sung 0,5 mg/l NAA (43,5 rễ/3,2 chồi ứng với 13,7 rễ/chồi) và thấp nhất là ở nghiệm thức đối chứng (2,5 rễ/1,1 chồi).

Nhìn chung, sự bổ sung kết hợp NAA (0,1-0,5 mg/l) và BA (1-2 mg/l) với nhau thì không thích hợp cho sự ra rễ của cây mòn kiếng, sự bổ sung đơn một trong 2 loại BA hay NAA sẽ tạo nhiều rễ hơn không bổ sung hoặc bổ sung nhiều 2 hóa chất này. Trong đó, số rễ hình thành nhiều nhất khi chỉ bổ sung 0,5 mg/l NAA.

Tóm lại, trong thí nghiệm nhân chồi và tạo rễ, chồi mòn kiêng phát triển khá nhanh. Cây tạo nhiều chồi nhất (ở 55 ngày) trong môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA hoặc 1 mg/l BA (Bảng 2). Số chồi đạt được sau 55 ngày nuôi cấy là 5,8-6,0 chồi/con. Như vậy, hệ số nhân chồi được tính theo công thức của George (1993) đạt được 14.800-145.913 chồi. Trong đó, số rễ hình thành ở 2 nghiệm thức 0 và 0,5 mg/l BA đạt tỉ lệ ra rễ khá cao (Bảng 3). Do đó, có thể chọn 2 nghiệm thức này để vừa nhân chồi vừa tạo cây hoàn chỉnh, cung cấp nguồn vật liệu cho thí nghiệm thuần dưỡng cũng như tiết kiệm thời gian và tăng hiệu quả kinh tế trong vi nhân giống.

Bảng 3: Số rễ mòn kiêng *in vitro* hình thành ở 55 ngày sau khi cấy

| BA (mg/l) | NAA (mg/l) | | | Trung bình |
|------------------------------------|------------|---------|--------|------------|
| | 0 | 0,1 | 0,5 | |
| 0 | 2,5 e | 28,5 bc | 43,5 a | 24,8 a |
| 0,5 | 32,8 b | 21,8 c | 11,1 d | 21,9 a |
| 1,00 | 33,9 b | 8,8 de | 9,6 de | 17,4 b |
| 2,00 | 12,2 d | 6,5 de | 11,2 d | 9,9 c |
| Trung bình | 20,3 | 16,4 | 18,8 | |
| F _{BA} | | | ** | |
| F _{NAA} | | | Ns | |
| F _{BA} x F _{NAA} | | | ** | |
| CV (%) | | | 27,43 | |

Ghi chú: Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan, (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.2 Hiệu quả của các loại giá thể và điều kiện thuần dưỡng lên sự phát triển của cây mòn kiêng sau giai đoạn *in vitro*

3.2.1 Tỉ lệ sống của chồi mòn kiêng

Trong tuần thuần dưỡng đầu tiên, một số chồi có hiện tượng thối nhũn ngang cuống lá và có xuất hiện tơ nấm. Tuy nhiên, điều này không ảnh hưởng đến khả năng sống của cây con. Kết quả là 100% chồi trong 8 nghiệm thức đều sống và phát triển sau 4 tuần thuần dưỡng.

3.2.2 Sự gia tăng chiều cao thân của mòn kiêng

Kết quả bảng 4 cho thấy sự gia tăng chiều cao chồi có sự khác biệt giữa 8 nghiệm thức trong cả 4 tuần theo dõi ở mức ý nghĩa 1%. Trong 2 tuần đầu, chiều cao cây tăng chậm và sự gia tăng cao nhất đều hiện diện ở 2 điều kiện có và không có trùm nylon.

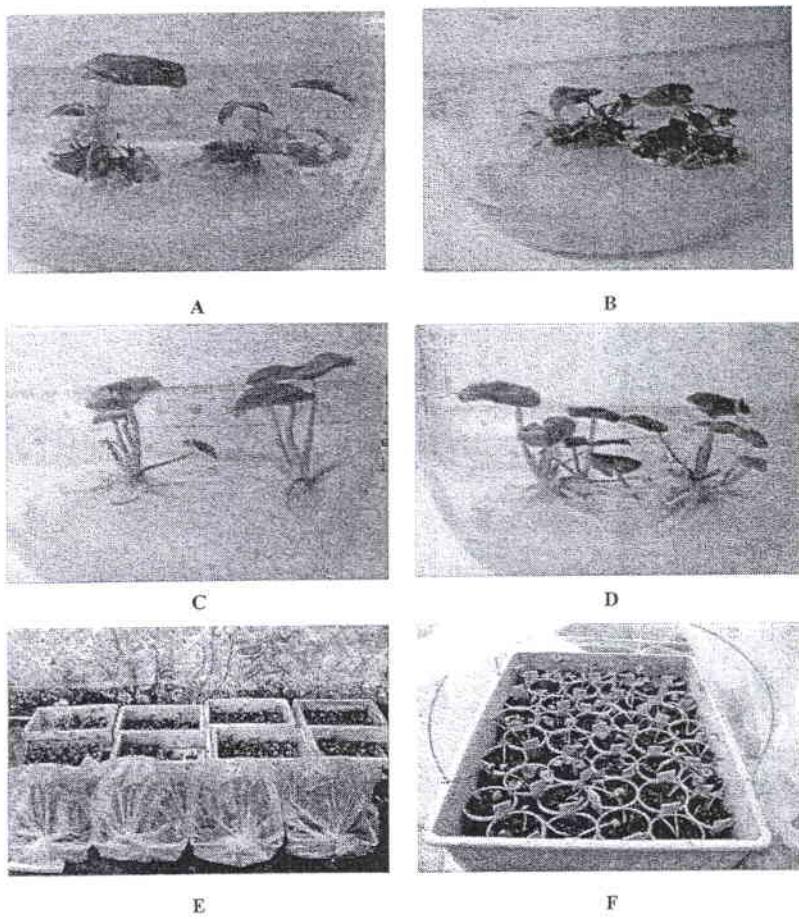
Từ tuần thứ 3 trở đi, chiều cao thân gia tăng mạnh và có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Trong đó, các nghiệm thức có trùm nylon gia tăng chiều cao lớn hơn có ý nghĩa so với các nghiệm thức không trùm nylon. Phần trăm chiều cao gia tăng trong điều kiện có trùm nylon cao hơn các nghiệm thức không trùm nylon 3-4 lần (108,8-120,6%). Đó là do cây đã thích nghi với điều kiện sống mới nên bắt đầu gia tăng kích thước thân, lá, rễ,...

Bảng 4: Chiều cao gia tăng tương đối (%) của thân mòn kiêng sau 1- 4 tuần thuần dưỡng

| Nghiệm thức | Thời gian thuần dưỡng (tuần) | | | |
|--|------------------------------|--------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Phân rơm + không trùm nylon | 9,5 ab | 13,4 b | 13,1 c | 19,5 bc |
| Phân rơm + tro trấu + không trùm nylon | 7,9 cd | 8,5 b | 10,8 c | 17,9 c |
| Phân rơm + mùn dừa + không trùm nylon | 8,3 bc | 22,1 a | 18,0 c | 38,2 b |
| Phân rơm + mùn dừa + tro trấu + không trùm nylon | 6,9 d | 9,9 b | 13,5 c | 32,1 bc |
| Phân rơm + có trùm nylon | 9,5 ab | 23,7 a | 59,0 a | 120,6 a |
| Phân rơm + tro trấu + có trùm nylon | 10,4 a | 13,5 b | 63,9 a | 114,6 a |
| Phân rơm + mùn dừa + có trùm nylon | 7,8 cd | 13,0 b | 44,6 b | 127,0 a |
| Phân rơm + mùn dừa + tro trấu + có trùm nylon | 7,1 d | 12,4 b | 54,8 ab | 108,8 a |
| F | ** | ** | ** | ** |
| CV (%) | 7,8 | 21,3 | 17,1 | 14,5 |

Ghi chú: (1): Chiều cao gia tăng tuyệt đối = [(chiều cao san - chiều cao ban đầu)/chiều cao ban đầu]x 100

Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định Duncan, (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%



Hình 1: Sự phát triển của mẫu cây mòn kiêng và hình thành cụm tiền chồi (A và B), sự phát triển chồi đơn và ra rễ (C và D), cây con mòn kiêng được thuần dưỡng 3 tuần trong điều kiện nhà lưới (E và F)

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Kết quả vi nhân giống cây mòn kiêng cho thấy:

- Trong giai đoạn nhân chồi và tạo cây hoàn chỉnh: bổ sung 0,5 - 1,0 mg/l BA hoặc 0,1 mg/l NAA sẽ giúp cây nhân chồi nhanh và bổ sung 0,5 mg/l NAA để tạo cây hoàn chỉnh.
- Giai đoạn thuần dưỡng ở nhà lưới: cây con cần được trùm nylon. Giá thể thuần dưỡng có thể là phân rom hay phân rom - tro trấu, phân rom - xo dùa hay phân rom - tro trấu - xo dùa với tỉ lệ bằng nhau trong mỗi công thức giá thể.

4.2 Đề nghị

Sử dụng các kết quả trên trong việc vi nhân giống cây mòn kiêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Debergh P. C. and R. H. Zimmerman (1991), Micropropagation, Kluwer Academic Publishers, pp. 71-93.

George, E.F. (1993). Plant propagation by tissue culture. Second Edition. Exergetics Limited.

Juan M., Gustavo R., María A.S. (2006), In vitro micropropagation of cocoyam and taro, Agronomía Tropical, V.56 N.4

Murashige and Skoog (1962), A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture, Pthysiologia Plantarum, Vol, 15, pp 473-497,

Nguyễn Thị Ngọc Huệ và Đinh Thế Lộc (2005), Cây có củ và kỹ thuật thảm canh cây khoai môn, khoai sọ, NXB Lao động xã hội, 80 trang.

Rachael K., Suzanne S. and James R.H., (1993). Hand book for Commercial - Scale Taro (*Colocasia esculenta*) tissue culture in Hawai'i with Notes on sample preparation for disease testing. Research extemsion series 145 - 12.93 (1.2 M). 22 pages.

Võ Văn Chi (1997), Tự điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y Học, trang 618 - 619, 766 - 767 và 969 - 974.