

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ BẾN TRE
TRUNG TÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Báo cáo tóm tắt đề tài:

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHÂN
GIỐNG CHUỐI SÁP NGHỆ (*Musa. Sp*) BẰNG
PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ**

**Chủ nhiệm đề tài: Võ Thanh Truyền
Đơn vị chủ trì thực hiện: Trung tâm KH&CN**

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ BẾN TRE
TRUNG TÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Báo cáo tóm tắt đề tài:

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHÂN
GIỐNG CHUỐI SÁP NGHỆ (*Musa. Sp*) BẰNG
PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ**

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

HỘI ĐỒNG KHCN CƠ SỞ

CƠ QUAN CHỦ TRÌ

CƠ QUAN QUẢN LÝ ĐỀ TÀI

Bến Tre, 08-2020

TÓM TẮT KẾT QUẢ THỰC HIỆN CỦA ĐỀ TÀI

Đề tài: “Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống chuối sáp nghệ (*Musa Sp*) bằng phương pháp nuôi cấy mô” được thực hiện trong thời gian 12 tháng (từ tháng 2 năm 2019 đến tháng 2 năm 2020) với mục tiêu ứng dụng kỹ thuật nhân giống *in vitro* nhằm nâng cao chất lượng cây giống chuối sáp trên địa bàn tỉnh Bến Tre. Để thực hiện mục tiêu chung, nhóm thực hiện cần phải xây dựng được quy trình nhân giống cây chuối sáp phương pháp nuôi cấy mô. Xây dựng Quy trình nhân giống cây chuối sáp có hệ số nhân là 10. Số lượng cây ra ngôi bầu đất từ đề tài khoảng 3.000 cây, sinh trưởng và phát triển tốt. Tỷ lệ cây ra ngôi sống đạt 70%. Các thí nghiệm bao gồm vô trùng mẫu cấy, tái sinh chồi, nhân nhanh chồi và tái sinh cây hoàn chỉnh. Đề tài gồm 4 thí nghiệm, các nghiệm thức được lập lại 3 lần và số liệu được xử lý theo phần mềm thống kê: STATGRAPHICS plus 3.0.

Kết quả đạt được ở thí nghiệm vô trùng mẫu cấy là: mẫu cấy sau khi được rửa sạch dưới nước máy sau đó sẽ được khử trùng bề mặt bằng Sodium Hypochloride 10% trong thời gian 25 phút, cho tỷ lệ vô trùng mẫu tốt nhất 56,6%. Đối với thí nghiệm tái sinh chồi từ đỉnh sinh trưởng, kết quả thí nghiệm cho thấy rằng môi trường thích hợp tái sinh chồi: MS+BA 4 mg/l + IAA 0,1 mg/l+30g đường. Môi trường thích hợp nhân nhanh chồi: MS+BA 3 mg/l + NAA 0.1 mg/l 30g đường, cho hệ số nhân 16,4. Môi trường thích hợp tái sinh cây hoàn chỉnh: MS+1,5mg/l IAA+30g đường (bổ sung 2 g/l than hoạt tính).

Trên cơ sở đó đề tài đã tìm ra và xây dựng thành công quy trình nhân giống cây chuối sáp bằng phương pháp nuôi cấy *in-vitro* có hệ số nhân 16,4 chồi/mẫu. Số lượng cây ra ngôi bầu đất từ đề tài trên 3.000 cây, tỷ lệ cây ra ngôi sống đạt trên 90%. Từ kết quả của đề tài có thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất tạo ra số lượng lớn cây giống chuối sáp tại Bến Tre.

CHƯƠNG I

TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Sơ lược về nhóm thực vật

Họ: *Musaceae*.

Chi: *Musa*

Tên khoa học: *Musa sapientum* L

Chuối thuộc loại cây thảo, cao từ 5-6m, sống lâu năm, thân cây tròn, mềm, thẳng, có bẹ lá. Cuống hình tròn có khuyết rãnh, lá to, dài.

Chuối là loại cây ăn quả nhiệt đới, ngắn ngày, dễ trồng và cho sản lượng khá cao, trung bình có thể đạt năng suất 20-30 tấn/ha. Chuối có giá trị kinh tế khá lớn và là mặt hàng xuất khẩu của nhiều nước.

Chuối được trồng ở ít nhất 107 quốc gia. Chuối được thuần hóa ở Đông Nam Á. Nhiều loài chuối dại vẫn còn mọc lên ở New Guinea, Malaysia, Indonesia, và Philippines. Nhiều chứng cứ khám phá cho rằng cao nguyên New Guinea là nơi mà chuối được thuần hóa đầu tiên.

Hiện nay, nuôi cấy mô cây chuối và trồng chuối nuôi cấy mô ở quy mô công nghiệp là công nghệ rất được phổ biến ở các nước như Ấn Độ, Úc, ...

1.1. Cây chuối sáp

Chuối sáp là loại chuối quả nhỏ và mập, khi chín màu vàng, chuối sáp hình dạng giống chuối sứ nhưng trái không tròn mà hơi có góc cạnh, gân chuối nổi rõ hơn, to và trông mập hơn trái chuối cau một tí, trong khi chuối cau có màu vàng tươi thì vỏ chuối sáp khi chín có màu vàng sẫm, khi trưởng thành chuối sáp cao khoảng 5m, phải 8 tháng sinh trưởng thì chuối sáp trở buồng ra trái. Chuối sáp là loại chuối không giống với bất kỳ những loại chuối thông thường vì chuối sáp không thể ăn sống mà trước khi sử dụng phải luộc chín hoặc chế biến. Khi ăn, chuối có cảm giác giòn sần sật, vị ngọt thanh rất dễ ăn.

Đặc điểm thực vật học cây chuối sáp

Rễ:

Số lượng rễ thay đổi tùy theo tình trạng sinh trưởng của cây, củ chuối mạnh có khoảng 200 – 300 rễ. Từ khi trồng đến khi cây có trái chín, cây chuối có khoảng 600 – 800 rễ cái.

Thân:

Thân chuối hay còn gọi là củ chuối, nằm dưới mặt đất. Đầu phía trên xung quanh củ chuối được bao phủ bởi những vết sẹo từ bẹ lá có dạng vòng cung. Ở đây mỗi bẹ lá đều có một chồi mầm, nhưng chỉ các chồi ở từ phần giữa củ đến ngọn củ phát triển được vì vậy thân chuối có hiện tượng mọc trời dần lên.

Chồi:

Khi mới mọc, cây chuối con mọc thẳng góc với thân cây mẹ (củ chuối), sau đó hướng dần lên. Khi cây con cao được 0,6 – 0,8m thì phần dính với thân mẹ teo lại. Cây mẹ có ảnh hưởng ngăn cản sức lớn của các phiến lá trên cây chuối con. Bẹ lá (thân giả): mọc từ thân thật, vươn dài lên cao, cắt ngang bẹ lá thấy có dạng hình lưỡi liềm, giữa phình to 2 – 3cm, mỏng dần về hai bên.

Lá, phiến lá:

Cây chuối sáp thân cao, lá dựng đứng chĩa lên trời không giống như các loại chuối bình thường. Phiến lá dày 0,35 – 1mm, có các gân phụ song song nhau và thẳng góc với gân chính. Một cây chuối sáp đang phát triển tốt thường có từ 10 – 15 lá bàng, trong đó có 4 – 5 lá trên ngọn là quang hợp mạnh nhất.

Cuống lá:

Đỉnh bẹ lá hẹp dần, dày lên tạo thành cuống lá, các bó sợi trong bẹ xếp chặt hơn, nhưng vẫn còn các lỗ thông khí. Cuống lá thường dai, chắc để mang nổi phiến lá. Cuống lá mọc sau dài hơn cuống các lá mọc trước. Phiến lá cuối lớn dần mãi cho đến khi chuối sáp trở buồng.

Hoa:

Buồng hoa: là một phát hoa, trên buồng hoa mọc thành từng chùm (nải hoa) trên chóp của thân thật theo đường xoắn ốc. Hoa chuối sáo thuộc loại hoa đũa, có đầy đủ các bộ phận: đế, đài, tràng, nhị, nhụy.

Trái:

Sự phát triển của trái: trọng lượng trái, tỷ lệ thịt trái/vỏ tăng đều trong suốt quá trình tăng trưởng của trái. Kích thước trái giảm dần từ nải thứ nhất đến nải cuối cùng, thường nải cuối cùng chỉ đạt 50 – 60% so với nải thứ nhất. Trong cùng một nải, trái ở hàng trên lớn hơn trái ở hàng dưới.

Phân loại:

Cây chuối sáo có hai loại là chuối sáo trắng và chuối sáo nghệ. Chuối sáo trắng là cây chuối Sáo có ruột màu trắng, còn chuối sáo nghệ có ruột màu vàng. Chuối sáo nghệ dẻo ngọt, ngon ăn, lại có màu sắc bắt mắt hơn chuối sáo trắng theo đánh giá của người tiêu dùng, vì thế người dân cũng gần như không trồng cây chuối Sáo trắng nữa, mà chuyển sang trồng chuối Sáo Nghệ.

1.2. Giá trị về dinh dưỡng cây chuối Sáo

Chuối sáo vốn rất giàu kali, vì thế những người bị huyết áp cao nên ăn 2 quả chuối mỗi ngày sẽ giúp ích cho cơ thể.

Giảm căng thẳng: Ăn khoảng 2 quả chuối sáo mỗi ngày sẽ giúp cơ thể chúng ta cảm thấy thoải mái, giảm căng thẳng, mệt mỏi.

Ngăn ngừa ung thư: Nghiên cứu từ trường Đại học Tokyo cho thấy những quả chuối sáo chín có chứa hợp chất hóa học giúp ngăn ngừa sự phát triển của các tế bào ung thư.

Những người có dạ dày kém, hay bị nôn, tiêu chảy hoặc táo bón thì ăn chuối sáo là một trong những biện pháp tích cực giúp dễ tiêu hóa hơn và chữa khỏi những triệu chứng này. Hàm lượng chất xơ và các khoáng chất dồi dào trong chuối sáo sẽ giúp nhuận tràng, tránh táo bón.

Trong chuối sáo có chứa nhiều chất vitamin B6 giúp tế bào thần kinh khỏe mạnh.

Lượng kali có trong một quả chuối sáp có thể giúp tránh khỏi những cơn chuột rút cơ bắp, những ai yêu thích thể thao như chạy bộ, đạp xe ... thì nên ăn chuối trước khi chạy bộ, hoặc đạp xe thể dục ...

Giảm nguy cơ thiếu máu: Chuối sáp có chứa hàm lượng sắt dồi dào, giúp kích thích quá trình sản sinh hemoglobin, từ đó giúp giảm chứng thiếu máu.

1.3. Tình hình trồng chuối sáp

Cây chuối sáp được bà con nông dân trồng ở các tỉnh miền Tây Nam bộ như: Bến Tre, Trà Vinh, Cần Thơ, Tiền Giang, An Giang... Tuy nhiên cây chuối sáp được trồng ở Bến Tre có chất lượng thường cao hơn các vùng khác, cụ thể là nó có kích thước lớn hơn, do khí hậu thuận lợi, đất đai màu mỡ thích hợp cho cây ăn trái phát triển tốt nhất. Tuy nhiên các vùng khác nếu chuối sáp được trồng ở nơi đất tốt, nước đầy đủ chuối sẽ có trái lớn, tuy nhiên hiện nay chuối sáp được xem là loài chuối trồng phụ, không được chú trọng làm kinh tế, người dân các tỉnh miền tây trồng chuối trước nhà như cây đại, để mặc cho chuối sáp tự phát triển, đến khi chuối ra hoa, trổ quày rồi thu hoạch. Nguyên nhân cũng là do người dân Việt Nam chưa quen với việc ăn chuối sáp thường xuyên. Tuy nhiên trong thời gian giữa năm 2018 chuối sáp bắt đầu bùng nổ, những người buôn bán luôn tìm kiếm những sản phẩm độc đáo để bán ra ngoài thị trường làm tăng tính cạnh tranh, chuối sáp thời điểm này cung không đủ cầu, giá lên cao, trong khi đó chất lượng chuối thì không được đẹp, cụ thể là bị rầy, quả nhỏ. Nguyên nhân cũng là do bà con không chăm sóc chu đáo loại chuối này.

1.4. So sánh hiệu quả kinh tế-kỹ thuật trồng chuối theo phương pháp cấy mô và phương pháp truyền thống.

Phương pháp trồng truyền thống	Phương pháp trồng cây cấy mô
- Cây giống dễ bị nhiễm các bệnh virus.	- Cây giống có khả năng sạch các bệnh virus.
- Cây giống không đồng đều.	- Cây giống đồng đều, có thể trồng qui mô lớn.
- Cây giống sinh trưởng và phát triển	- Cây giống sinh trưởng và phát triển

kém, có thể bị thoái hóa giống. - Kỹ thuật trồng đơn giản. - Thu hoạch không đồng loạt. - Năng suất giữa các cá thể không đồng đều. - Năng suất thấp, chất lượng trái chưa đạt tiêu chuẩn cao, năng suất thấp	tốt, đồng đều, không bị thoái hóa giống. - Kỹ thuật trồng khoa học dựa trên từng giai đoạn sinh lý của cây. - Thu hoạch tập trung và đồng loạt. - Năng suất giữa các cây gần như nhau. - Năng suất cao, chất lượng và số lượng trái tốt, đủ tiêu chuẩn xuất khẩu, năng suất tăng từ 18-25%
---	--

1.5. Nghiên cứu trong nước

Năm 1991-1998, công ty Pan Viet hợp tác với phòng công nghệ tế bào thực vật, viện Sinh học Nhiệt Đới đã sản xuất 4 triệu cây chuối cấy mô nhờ ứng dụng kết quả nghiên cứu của Hwang (1983).

Trần Văn Minh (2007) đã xây dựng thành công quy trình nhân giống cây *Musa spp.* và một số lưu ý khi sản xuất giống chuối bằng phương pháp nhân giống *in vitro*. Nghiên cứu cho thấy nồng độ BA 5mg/l cho hệ số nhân chồi tốt nhất.

Năm 2009, Vũ Ngọc Phượng, Hoàng Thị Phòng, Thái Xuân Du đã xây dựng thành công qui trình nhân giống *in vitro* cây chuối (*Cavendish sp.*) trên quy mô công nghiệp. Nghiên cứu cho thấy nhiệt độ và ánh sáng có ảnh hưởng quan trọng đến hệ số nhân chồi của cây chuối.

Năm 2012, Đỗ Đăng Giáp, Trần Ngọc Vinh, Trần Trọng Tuấn, nghiên cứu tăng hệ số nhân chồi cây chuối Laba (*Musa sp.*) nuôi cấy *in vitro* bằng cách sử dụng ánh sáng, Myo- Inositol và Adenin sulphate. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung Myo- Inositol và Adenin sulphate vào môi trường nhân nhanh chồi cây chuối Laba (*Musa sp.*) sẽ làm tăng hệ số nhân chồi và tăng 10% số chồi tạo thành so với khi không sử dụng Myo- Inositol và Adenin sulphate bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

1.6. Nghiên cứu ngoài nước

Việc sử dụng đỉnh sinh trưởng nuôi cấy *in vitro* cây chuối được tiến hành vào năm 1972 do hai nhà khoa học Ma và Shii. Các tác giả đã nghiên cứu phương pháp tối ưu để tạo mẫu vô trùng có tỷ lệ sống, tái sinh chồi và nhân nhanh chồi. Sau đó đã có nhiều nhà nghiên cứu nhân giống loại cây này từ các vật liệu khác nhau như thân hành, chồi đỉnh, chồi rễ và có rất nhiều những nghiên cứu khác nhằm cải tiến qui trình nhân giống loại cây này. Việc khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hoà sinh trưởng như BA, BAP, IAA, NAA... trong vi nhân giống, trên các giống chuối khác nhau cũng được tiến hành.

Năm 1983, Hwang và cộng sự (Đài Loan) đã xây dựng thành công hệ thống vi nhân giống thương mại cho việc sản xuất giống cây chuối già. Ứng dụng kết quả nghiên cứu trên từ năm 1993 đến năm 2004, trên 43 triệu cây chuối giống khoẻ mạnh được tạo ra cung cấp giống cho nông dân để thúc đẩy ngành sản xuất chuối ở Đài Loan.

Năm 2000, Arinaitwe khi nghiên cứu ảnh hưởng của BA, Zeatin, Kinetin cho rằng, các giống chuối *Musa* spp cảm ứng đối với BA tốt hơn so với các loại Cytokinin khác. Công trình nghiên cứu trên được ứng dụng cho tới ngày hôm nay khi nhân giống các giống chuối, các nhà nghiên cứu khác chỉ sử dụng BA là Cytokinin cho việc nhân giống cây chuối. Cronauer cùng với nhóm cộng sự 1999, đã khảo sát nồng độ của BA trên môi trường nhân giống và kết luận tỷ lệ phát sinh chồi tốt nhất với nồng độ BA 5 mg/l. Trong báo cáo của Wong (1986) cho thấy ngoài việc phụ thuộc vào Cytokinin ngoại sinh thì hệ số nhân chồi chuối còn phụ thuộc vào tuổi mẫu và một số yếu tố khác.

Cho đến nay, việc sử dụng chồi đỉnh cây chuối làm nguyên liệu cho nuôi cấy mô vẫn là biện pháp phổ biến nhất vì sử dụng chồi đỉnh dễ thành công, ít nhiễm bệnh, có hiệu quả cao hơn so với việc sử dụng các bộ phận khác của cây chuối để nuôi cấy.

1.7. Luận giải về việc đặt ra mục tiêu và những nội dung cần nghiên cứu của đề tài

Hiện tại, cho đến thời điểm này nông dân vẫn sử dụng phương pháp tách cây con chuối Sáp từ cây mẹ để trồng. Cây chuối sáp con tách ra từ cây mẹ được trồng và tiếp tục tách lấy con qua nhiều thế hệ, từ năm này qua năm khác sẽ làm giảm chất

lượng cây giống. Trên thực tế, nhân giống cây chuối sáp bằng phương pháp tách cây con từ cây mẹ vẫn còn nhiều hạn chế: hệ số nhân không cao, thời gian dài và phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên. Nhân giống bằng phương pháp tách cây con qua nhiều lần và không phục tráng giống sẽ làm giảm chất lượng cây giống. Hiện tượng này làm giảm chất lượng cây giống: cây dễ bị các bệnh do Virus, năng suất thấp, chất lượng trái giảm ...vì vậy chưa đáp ứng được nhu cầu của thị trường, khả năng cạnh tranh kém.

Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy *In vitro* có nhiều ưu điểm hơn so với nhân giống bằng phương pháp truyền thống. Vì vậy cây chuối Sáp nuôi cấy mô có nhiều ưu điểm vượt trội hơn: chất lượng giống cây mô cao hơn, kích cỡ cây giống đồng đều, sức đề kháng của cây giống tốt hơn, bệnh giảm đáng kể, nông dân có thể trồng theo qui mô công nghiệp và chủ động được lịch thời vụ... Đặc biệt các loại chuối cấy mô rất được thị trường ưa chuộng. Ngoài ra, ưu điểm của phương pháp nhân giống *In vitro* là hệ số nhân giống cao, từ một cây chuối con sau một năm có thể cho ra đời từ 1.500-2.000 cây (Trần Văn Minh, 2003). Các cây con này sạch bệnh, chất lượng tương đối đồng đều và đồng nhất về mặt di truyền.

Vì vậy phương pháp nhân giống nuôi cấy *In vitro* tỏ ra ưu thế hơn. Trong thời gian ngắn có thể tạo được số lượng lớn cây con sạch bệnh, đồng nhất về di truyền. Để giải quyết những vấn đề trên thì việc nhân giống cây chuối Sáp bằng phương pháp nhân giống *In vitro* là một giải pháp có tính khả thi và cần thiết.

CHƯƠNG II

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu.

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.

Giống chuối sáp trên địa bàn tỉnh Bến Tre (sáp nghệ) được sử dụng làm nguồn nguyên liệu nghiên cứu.

Chọn cây lấy mẫu.

Cây lấy mẫu có các đặc điểm sau:

- Cây chuối sáp sinh trưởng tốt, phát triển khỏe mạnh. Tuổi cây từ 1-3 tháng, cây cao từ 0,2-0,5m đang trong giai đoạn sinh trưởng .

- Chọn lọc cây mẹ đầu dòng là một trong những bước quan trọng đảm bảo chất lượng cây con sau này.

2.1.2. Nguyên vật liệu

3.3.2.1 Trang thiết bị và dụng cụ

- Phòng nuôi cấy vô trùng (tủ cấy vô trùng....)
- Phòng đặt bình nuôi cấy
- Nồi áp suất hấp môi trường
- Cân điện tử, palm, đèn cồn, kéo, đĩa nhôm, bình tam giác...

Hoá chất

NAA: thuộc nhóm auxin trong nuôi cấy mô NAA được sử dụng để kích thích tạo sơ khởi rễ (phát thể non của rễ) nhưng lại cản trở sự tăng trưởng.

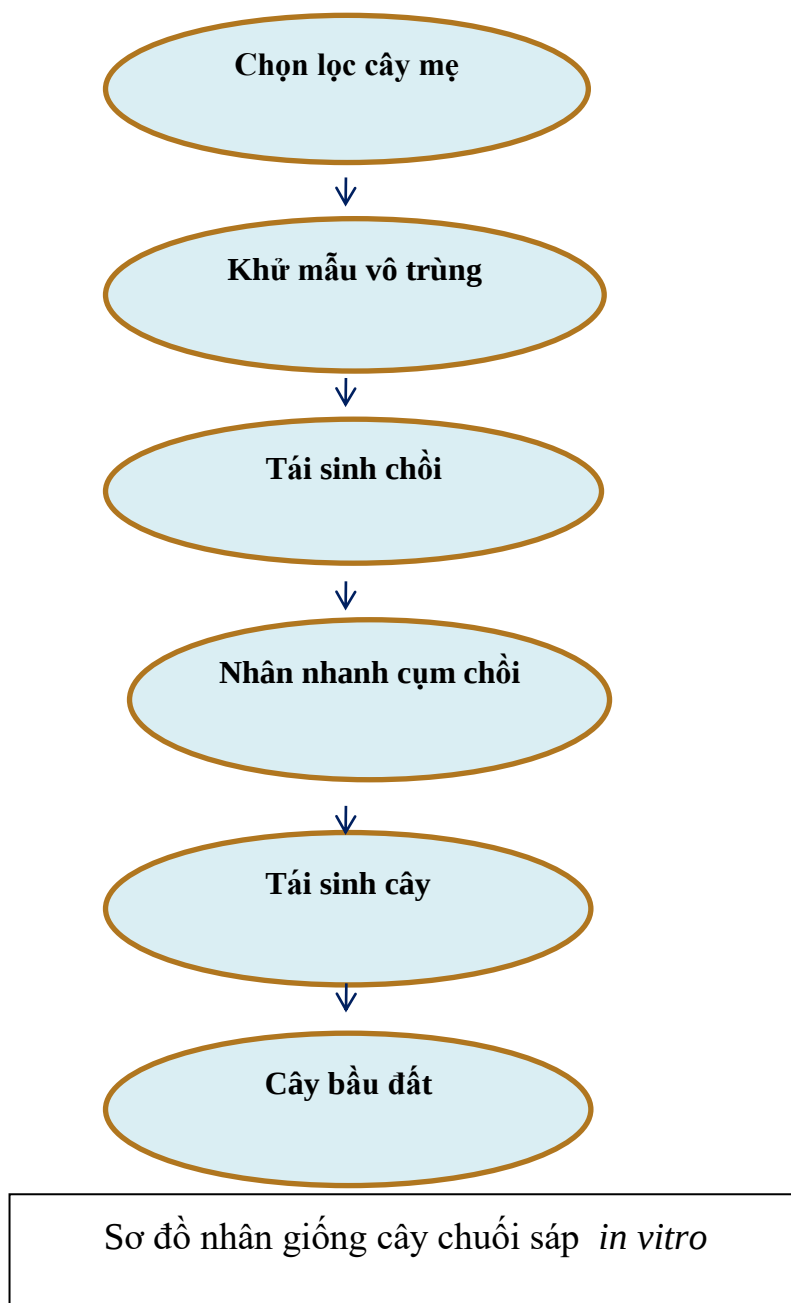
BA: thuộc nhóm Cytokinin có khả năng tác động mạnh vào quá trình tổng hợp axit nucleic và protein vì vậy nó kích thích sự phân chia tế bào mạnh mẽ. Cytokinin ảnh hưởng rõ rệt lên sự hình thành và phân hóa cơ quan của thực vật, đặc biệt là sự phân hóa chồi.

Môi trường nuôi cấy:

Sử dụng môi trường chính là MS (Murashighe-Skoog, 1962).

2.2. Quy trình thí nghiệm.

Sơ đồ nhân giống cây chuối sáp sơ lược gồm các bước như sau:



2.3. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1 : Nghiên cứu đánh giá tổng quan, viết thuyết minh

- *Mục đích:* Đánh giá tổng quan lĩnh vực có liên quan đến đề tài nhằm tạo cơ sở cho việc xây dựng thuyết đề cương và đề xuất các nội dung nghiên cứu để thực hiện đề tài

- *Phương pháp nghiên cứu:*

Phương pháp tổng quan tài liệu: Tổng quan các tài liệu liên quan đến các vấn đề.

- *Công việc:*

+ Công việc 1: Nghiên cứu tài liệu trong nước và nước ngoài

+ Công việc 2: Xây dựng thuyết minh đề cương đề tài

- *Sản phẩm dự kiến*

Các tài, liệu số liệu phục vụ cho việc nghiên cứu đề tài;

Thuyết minh đề cương đề tài được phê duyệt.

Nội dung 2 : Xây dựng quy trình nhân giống chuối sáp bằng phương pháp nuôi cấy mô

+ **Công việc 1: Ảnh hưởng của nồng độ chất khử trùng và thời gian ngâm mẫu lên khả năng sống vô trùng của mẫu cấy.**

- Mục đích thí nghiệm: tạo ra nguồn mẫu chuối Sáp sống vô trùng phục vụ cho các thí nghiệm kế tiếp.

- Mục tiêu thí nghiệm: tìm ra được nồng độ Sodium Hypochloride và thời gian thích hợp vô trùng mẫu cấy cây chuối Sáp.

- Phương tiện nghiên cứu: đỉnh sinh trưởng chuối Sáp và tác nhân vô trùng mẫu là Sodium Hypochloride nguyên chất được pha theo các nồng độ 5%, 10%, 15%.

- Phương pháp nghiên cứu: thí nghiệm gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu, và được lập lại 03 lần. Lập các nghiệm thức bố trí thí nghiệm như sau (bảng 1).

Bảng 1: Các nghiệm thức khử trùng mẫu theo nồng độ chất khử trùng và thời gian.

Thời gian ngâm mẫu (phút)	Nồng độ chất khử trùng (tỷ lệ%) Sodium Hypochloride		
	5%	10%	15%
10	NT1	NT5	NT9
15	NT2	NT6	NT10
20	NT3	NT7	NT11
25	NT4	NT8	NT12

- Chỉ tiêu theo dõi: số mẫu sống vô trùng.
- Thời gian theo dõi mẫu: Sau 7, 14, đến 21 ngày.
- Điều kiện nuôi mẫu: mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-280C, cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10h trên ngày trên ngày và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0.

- Mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu, và được lặp lại 03 lần.
- Phương pháp thu thập số liệu và xử lý số liệu: STATGRAPHICS plus 3.0.

+ Công việc 2: Ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng tái sinh chồi cây chuối Sáp .

- Mục đích thí nghiệm: tạo ra nguồn chồi *In vitro* cây chuối Sáp phục vụ cho các bố trí thí nghiệm nhân nhanh cụm chồi.

- Mục tiêu thí nghiệm: tìm ra được nồng độ BA, IAA (mg/l) thích hợp tái sinh chồi cây chuối Sáp.

- Phương tiện nghiên cứu: chồi *In vitro* cây chuối Sáp và môi trường nuôi cấy Ms có bổ sung các mức nồng độ BA, IAA (mg/l) .

- Phương pháp nghiên cứu: thí nghiệm gồm 14 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức

được tiến hành trên 4 mẫu, và được lập lại 03 lần. Các nghiệm thức trong thí nghiệm được bố trí như sau (bảng 2).

- Các bước thực hiện: mẫu chồi sống vô trùng từ thí nghiệm 1 được huỷ đỉnh làm sạch phần mô chết và chuyển qua môi trường tái sinh. Môi trường tái sinh chồi có nồng độ BA (mg/l), IAA (mg/l) khác nhau. Thời gian giữa 2 lần cấy chuyển là 3 tuần (21 ngày). Số lần cấy chuyển tối đa là 7 lần.

Bảng 2: Ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng tái sinh chồi cây chuối Sáp .

Thí nghiệm thứ		Nồng độ IAA (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Số lượng mẫu /NT
1	3	0	0	4
2	3	0	1	4
3	3	0	2	4
4	3	0	3	4
5	3	0	4	4
6	3	0	5	4
7	3	0	6	4
8	3	0,1	0	4
9	3	0,1	1	4
10	3	0,1	2	4
11	3	0,1	3	4
12	3	0,1	4	4
13	3	0,1	5	4
14	3	0,1	6	4

- Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi tạo thành

- Thời gian theo dõi mẫu: Sau 7, 14, đến 21 ngày đã đếm được chồi.

- Điều kiện nuôi mẫu: mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28 0C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10h trên ngày và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0, bổ sung nước dừa 10% vào môi trường nuôi cấy.

- Phương pháp thu thập số liệu và xử lý số liệu: STATGRAPHICS plus 3.0.

+ Công việc 3: Ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng nhân nhanh chồi cây chuối Sáp.

- Mục đích thí nghiệm: nhân nhanh số lượng lớn chồi *In vitro* cây chuối Sáp phục vụ cho giai đoạn tái sinh cây hoàn chỉnh và sản xuất.

Mục tiêu thí nghiệm: tìm ra được nồng độ BA, IAA (mg/l) thích hợp nhân nhanh chồi cây chuối Sáp.

- Phương tiện nghiên cứu: chồi đỉnh *In vitro* cây chuối Sáp và môi trường nuôi cấy Ms có bổ sung các mức nồng độ BA, IAA (mg/l) .

- Phương pháp nghiên cứu: thí nghiệm gồm 14 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu, và được lập lại 03 lần. Các nghiệm thức trong thí nghiệm được bố trí như sau (bảng 3).

Bảng 3: Ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng nhân nhanh chồi cây chuối Sáp

Nghiệm thức		Nồng độ	Nồng độ BA (mg/l)	Số lượng mẫu /NT
Số lần lập lại		IAA (mg/l)		
1	3	0	0	4
2	3	0	1	4
3	3	0	2	4
4	3	0	3	4
5	3	0	4	4
6	3	0	5	4
7	3	0	6	4
8	3	0,1	0	4
9	3	0,1	1	4
10	3	0,1	2	4
11	3	0,1	3	4
12	3	0,1	4	4
13	3	0,1	5	4
14	3	0,1	6	4

- Các bước tiến hành: chồi trong cụm được tách ra thành từng cụm có từ 2-3 chồi. Các chồi trong cụm được làm sạch và huỷ đỉnh sau đó cấy qua môi trường nhân nhanh cụm chồi. Môi trường nhân cụm chồi cũng giống như môi trường tái sinh chồi nhưng có nồng độ BA (mg/l), IAA (mg/l) khác nhau. Thời gian giữa 2 lần cấy chuyển là 3 tuần (21 ngày). Số lần cấy chuyển tối đa là 7 lần.

- Chỉ tiêu theo dõi: số chồi tạo thành, chiều cao chồi

- Điều kiện nuôi mẫu: mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28°C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10h trên ngày và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0, bổ sung nước dừa 10% vào môi trường nuôi cấy.

- Thời gian theo dõi mẫu: sau 7, 14, 21, ngày.

- Phương pháp thu thập số liệu và xử lý số liệu: STATGRAPHICS plus 3.0

+ Công việc 4: Ảnh hưởng của nồng độ IAA và môi trường MS lên sự hình thành rễ cây chuối Sáp.

- Mục đích thí nghiệm: nhằm tạo ra cây chuối Sáp có rễ, thân, lá phát triển tốt phục vụ cho giai đoạn trồng và sản xuất cây giống.

- Mục tiêu thí nghiệm: tìm ra được nồng độ IAA (mg/l) thích hợp tái sinh cây chuối Sáp hoàn chỉnh có rễ, thân, lá phát triển tốt.

- Phương tiện nghiên cứu: đốt thân *in vitro* cây chuối Sáp và môi trường nuôi cấy MS có bổ sung các mức nồng độ IAA từ 0-1,5(mg/l) .

- Phương pháp nghiên cứu: thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu, và được lặp lại 03 lần. Môi trường có bổ sung IAA, ở các nồng độ khác nhau, bổ sung than hoạt tính 1 mg/l. Các nghiệm thức trong thí nghiệm được bố trí như sau (bảng 4).

Bảng 4: Ảnh hưởng của nồng độ IAA lên sự hình thành rễ ở cây chuối Sáp .

Nghiệm thức	Môi trường nuôi cấy	Nồng độ IAA (mg/l)	Số lần lặp lại	Số mẫu/TN
1	MS	0	3	4
2		0,5	3	4
3		1	3	4
4		1,5	3	4

- Các bước tiến hành thí nghiệm: các chồi trong cụm được tách ra từng chồi riêng sau đó được làm sạch và cấy sang môi trường trái sinh cây hoàn chỉnh theo các bố trí của thí nghiệm.

- Chỉ tiêu theo dõi: chiều cao cây, số rễ hình thành.

- Điều kiện nuôi mẫu: mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28°C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10h trên ngày và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0.

- Thời gian theo dõi mẫu: sau 7, 14, 21, ngày

- Mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu, và được lặp lại 03 lần

- Phương pháp thu thập số liệu và xử lý số liệu: STATGRAPHICS plus 3.0.

+ Công việc 5: Xây dựng quy trình chuỗi cấy mô hoàn chỉnh từ các kết quả thí nghiệm trên.

Mục đích: Hoàn thành mục tiêu đề ra của đề tài.

Phương pháp: tổng hợp các kết quả nghiên cứu bằng cách đánh giá, phân tích và hệ thống thành một quy trình nhân giống hoàn chỉnh.

Sản phẩm: quy trình nhân giống chuối sáp Bến Tre (*Musa sp.*) bằng phương pháp nuôi cấy mô

+ Công việc 6: Ra ngôi nhà trồng

Nội dung 3: Tổ chức hội thảo khoa học đánh giá quy trình nhân giống chuối sáp Bến Tre (*Musa sp.*) bằng phương pháp nuôi cấy mô

Nội dung 4 : Viết báo cáo tổng kết và nghiệm thu đề tài

18.4. Phương pháp phân tích thí nghiệm

Phương pháp xác định sự vô trùng mẫu

- Quan sát mẫu cấy
- Đếm số mẫu sống vô trùng
- Đếm số mẫu nhiễm và mẫu chết.

Phương pháp xác định sự tái sinh chồi, cụm chồi.

- Đếm số chồi tái sinh trên một mẫu cấy.

18.5. Phương pháp phân tích số liệu thí nghiệm

- Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần.
- Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm thống kê sinh học

STATGRAPHICS plus 3.0.

CHƯƠNG III

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thí nghiệm 1: Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ dung dịch Sodium Hypochloride và thời gian lên khả năng vô trùng mẫu cấy.

Vô trùng mẫu cấy là một giai đoạn vô cùng khó khăn và vất vả, có khi vô hàng trăm mẫu vẫn không có được mẫu sống vô trùng phải làm đi làm lại nhiều lần. Do mẫu tồn tại ngoài môi trường chứa nhiều tác nhân như: nấm, vi khuẩn. Vì vậy, cần loại trừ các tác nhân gây nhiễm để vô trùng thành công đối với mẫu cấy chuỗi sấp cần tìm được nồng độ Sodium Hypochloride và thời gian thích hợp nhất để vô trùng mẫu cấy.

Bảng 3.1. Kết quả ảnh hưởng của tỷ lệ dung dịch Sodium Hypochloride và thời gian lên khả năng vô trùng mẫu cấy.

NT	Sodium Hypochloride %	Thời gian (phút)	Kết quả tỷ lệ % mẫu sống vô trùng
1	5%	10	0 ^d
2	5%	15	0 ^d
3	5%	20	8,3 ^c
4	5%	25	8,3 ^c
5	10%	10	0 ^d
6	10%	15	8,3 ^c
7	10%	20	33,3 ^b
8	10%	25	56,6^a
9	15%	10	33,3 ^b
10	15%	15	33,3 ^b
11	15%	20	41,6 ^b
12	15%	25	33,3 ^b
F(A)			**
F(B)			**
F(AxB)			**

**Ghi chú: Các chữ cái không cùng kí tự thì có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê; ns = khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%*

Trong đó, sự điều chỉnh nồng độ Sodium Hypochloride và thời gian phù hợp hay không phù hợp sẽ được thể hiện qua số lượng phần trăm mẫu sống vô trùng. Thí nghiệm 1 với mục đích tạo ra nguồn mẫu chuối sáp sống vô trùng phục vụ cho các thí nghiệm kế tiếp. Trên cơ sở tìm ra được nồng độ Sodium Hypochloride và thời gian phù hợp nhất vô trùng mẫu cây chuối sáp. Trong nghiên cứu nguyên liệu được sử dụng là đỉnh sinh trưởng cây chuối sáp sau khi đã xử lý vô trùng sẽ được cấy vào môi trường. Mẫu cấy sẽ được theo dõi mẫu từ 3-7 ngày, sau đó tiến hành loại bỏ các mẫu nhiễm giữ lại các mẫu sống và ghi nhận số liệu. Thí nghiệm gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 4 mẫu và được lặp lại 03 lần. Mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28°C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0

Kết quả bảng 3.1 cho thấy khi mẫu cấy được xử lý ở nồng độ 5% Sodium Hypochloride cho kết quả mẫu sống vô trùng thấp. Mẫu cấy được vô trùng bằng Sodium Hypochloride ở nồng độ 10% trong thời gian 25 phút cho tỷ lệ phần trăm mẫu cấy vô trùng tốt nhất. Khi tăng nồng độ Sodium Hypochloride lên 15% thì phần trăm mẫu cấy vô trùng giảm đi. Khi kiểm tra mẫu cấy được xử lý bằng Sodium Hypochloride 15% ở thời gian 25 phút thì sẽ nhận thấy có một số mẫu chết. Mẫu chết, nhiễm điều ảnh hưởng không tốt đến kết quả của từng nghiệm thức. Vì vậy sự kết hợp giữa thời gian và nồng độ Sodium Hypochloride ảnh hưởng quan trọng đến kết quả phần trăm mẫu sống vô trùng. Trần Văn Minh (2003) đã đưa ra quy trình nhân giống chung đối với cây chuối và một số lưu ý khi sản xuất cây chuối bằng phương pháp nhân giống *In vitro*. Nghiên cứu cho thấy nồng độ Sodium Hypochloride 10% trong thời gian 25 phút cho kết quả vô trùng mẫu tốt nhất. Kết quả cho thấy mẫu cấy ở thời gian 25 phút và nồng độ Sodium Hypochloride 10% cho tỷ lệ mẫu sống vô trùng cao nhất. Điều này được

ghi nhận ở kết quả tỷ lệ mẫu sống vô trùng ở các mức nồng độ Sodium Hypochloride khác nhau (bảng 3.1).

Vì vậy, dựa trên các số liệu thí nghiệm có thể kết luận rằng nồng độ Sodium Hypochloride 10% thời gian 25 phút cho tỷ lệ phần trăm mẫu sống vô trùng là tốt nhất (56,6%).

3.2. Thí nghiệm 2: Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng tái sinh chồi cây chuối sáp.

Các mẫu sống vô trùng từ thí nghiệm 1 được nuôi cấy trong môi trường MS sẽ phát sinh chồi. Khi chồi có chiều cao từ 3-7 cm sẽ được tách riêng rẽ, chồi được hủy đỉnh và sau đó cấy vào môi trường tái sinh cây.

Bảng 3.2. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ BA (mg/l), IAA (mg/l) lên khả năng tái sinh chồi cây chuối sáp.

Thí nghiệm thứ		Nồng độ IAA (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Trung bình số chồi tạo thành (chồi/mẫu)
Số lần lặp lại				
1	3	0	0	1 ^g
2	3	0	1	2,5 ^{eg}
3	3	0	2	3,7 ^{de}
4	3	0	3	5,0 ^{cd}
5	3	0	4	6,4 ^{bc}
6	3	0	5	6,8 ^b
7	3	0	6	4,1 ^{de}
8	3	0,1	0	1,0 ^g
9	3	0,1	1	3,0 ^e
10	3	0,1	2	7,3 ^{ab}
11	3	0,1	3	7,5 ^{ab}
12	3	0,1	4	8,3 ^a
13	3	0,1	5	5,2 ^{cd}
14	3	0,1	6	3,0 ^e
F(A)				*
F(B)				**
F(AxB)				**

**Ghi chú: Các chữ cái không cùng kí tự thì có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê; ns = khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28⁰C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0. Mẫu cấy sẽ được theo dõi cho đến 28 ngày sau đó tiến hành ghi nhận số liệu.

Mục đích của giai đoạn tái sinh chồi chính là tạo nguồn nguyên liệu phục vụ cho bước nhân nhanh chồi. Để tìm ra môi trường tái sinh chồi tốt nhất trước tiên phải xác định được nồng độ auxin và cytokinin thích hợp nhất cho việc tái sinh chồi.

Trong quá trình nuôi cấy, các chất điều hoà sinh trưởng có tác dụng điều chỉnh sự phát sinh chồi bất định, quan trọng nhất là sự có mặt của cytokinin. cytokinin sẽ hoạt hoá sự phân chia tế bào bằng cách kích thích sự tổng hợp mạnh mẽ các chất cần thiết cho quá trình phân chia tế bào với điều kiện có auxin. Sau sự phân chia là giai đoạn dẫn tế bào giúp tế bào giai tăng kích thước và sự lớn lên của cơ quan. Ở giai đoạn này thì auxin đóng vai trò quan trọng, kích thích sự dẫn nở của tế bào theo chiều ngang. Với hàm lượng cytokinin cao sẽ hoạt hoá hình thành chồi bất định (Vũ Văn Vụ, 1999). Như vậy, việc phối hợp auxin và cytokinin sẽ kích thích mạnh sự tái sinh chồi của mẫu cấy. Sự kết hợp giữa auxin ở nồng độ thấp và cytokinin ở nồng độ cao sẽ giúp sự tăng trưởng chồi non và khởi phát sự tạo mô mới (Bùi Trang Việt, 2000). Do đó, trên môi trường MS có sự phối hợp giữa auxin ở nồng độ tương đối thấp (IAA 0,1 mg/l) và cytokinin ở nồng độ cao (BA 4 mg/l) có tác dụng tích cực trong việc tạo chồi từ đó giúp gia tăng số lượng chồi từ mẫu cấy.

Từ số liệu thu nhận được cho thấy cây chuối sáp được nuôi cấy ở môi trường có bổ sung BA và IAA cho số lượng chồi hình thành đạt khá cao. Bên cạnh đó, các nghiệm thức không có bổ sung IAA cho số chồi hình thành thấp. Kết quả này phù hợp với nhận định của Gaspar et al. (2003) cho rằng các thí nghiệm tái sinh chồi thường cho kết quả cao khi sử dụng nồng độ cytokinin cao và nồng độ auxin thấp. Dựa trên kết quả đạt được 8,3 chồi/mẫu nếu so sánh với nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương (2018) đạt 4,7 chồi/mẫu thì kết quả đạt được là khá cao. Vấn đề này, có thể lý giải bởi nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương (2018) chỉ sử dụng BA kết hợp với Kinetin để nhân nhanh chồi mà không có sự kết hợp Auxin ngoại sinh là IAA.

Tỷ lệ IAA/BA thay đổi có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình phát sinh chồi. Nghiệm thức có bổ sung IAA cho khả năng tái sinh chồi tốt hơn so với nghiệm

thức không có bổ sung IAA. Điều này cho thấy sự bổ sung IAA ngoại sinh ở mức độ thấp là cần thiết cho quá trình phát sinh chồi.

Việc sử dụng kết hợp BA và IAA cho kết quả tạo chồi tốt, điều này có thể được giải thích qua vai trò kết hợp giữa auxin và cytokinin nội sinh và ngoại sinh. Như vậy Nồng độ BA 4 mg/l kết hợp với IAA 0,1 mg/l cho số chồi tạo thành là cao nhất. (*bởi trắc nghiệm LSD*)

3.3. Thí nghiệm 3: Kết quả ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA (mg/l) lên khả năng nhân nhanh chồi cây chuối sáp.

Trong quy trình nhân giống *in vitro*, giai đoạn nhân nhanh quyết định hiệu quả của cả quá trình nhân giống vô tính. Mục đích của thí nghiệm là nhân nhanh số lượng lớn chồi *in vitro* cây chuối sáp phục vụ cho giai đoạn tái sinh cây hoàn chỉnh và sản xuất. Các mẫu chồi từ thí nghiệm tái sinh chồi sẽ được tách riêng rẽ, hủy đỉnh và được cấy vào môi trường nhân nhanh chồi.

Bảng 3.3. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ BA, IAA lên khả năng nhân nhanh chồi cây chuối sáp.

Thí nghiệm thứ		Nồng độ IAA (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Trung bình số chồi tạo thành (chồi/mẫu)
Số lần lặp lại				
1	3	0	0	1,0 ⁱ
2	3	0	1	1,7 ^h
3	3	0	2	4,9 ^h
4	3	0	3	6,5 ^g
5	3	0	4	9,5 ^f
6	3	0	5	11,8 ^{cd}
7	3	0	6	10,3 ^{ef}
8	3	0,1	0	1,0 ⁱ
9	3	0,1	1	4,5 ^h
10	3	0,1	2	12,3 ^{cd}
11	3	0,1	3	16,4^a
12	3	0,1	4	14,0 ^b
13	3	0,1	5	13,3 ^{bc}

14	3	0,1	6	11,4 ^{de}
F(A)				*
F(B)				**
F(AxB)				*

**Ghi chú: Các chữ cái không cùng kí tự thì có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê; ns = khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Mẫu được đặt trong phòng dưỡng cây có nhiệt độ từ 25-28⁰C cường độ chiếu sáng là 3.000 lux, và ẩm độ là 70-80%, pH môi trường 5,8-6,0. Mẫu cấy sẽ được theo dõi cho đến 21 ngày sau đó tiến hành ghi nhận số liệu.

Để có được hệ số nhân giống cao, đồng nhất thì việc xác định nồng độ các chất kích thích sinh trưởng ngoại sinh là quan trọng nhất. Đối với cây chuối sáp thì sự kết hợp giữa BA và IAA là yếu tố quyết định làm tăng số chồi trên mẫu và tăng hệ số nhân. Kết quả bảng 3.3 cho thấy ở các nghiệm thức có kết hợp BA và IAA (16,4 chồi mẫu) cho số chồi tạo thành cao hơn nhiều so với các nghiệm thức chỉ bổ sung BA (7,08 chồi/mẫu). Kết quả này là phù hợp với những nghiên cứu của Miller và Skoog (1963) cho thấy các chất điều hòa sinh trưởng nội sinh và ngoại sinh phối hợp với nhau trong việc phân hóa và biệt hóa các tế bào. Như vậy, kết quả bảng 3.3 cho thấy mức nồng độ BA 3 mg/l có kết hợp IAA 0,1mg/l cho số chồi tạo thành tốt nhất so với các nghiệm thức khác, điều đó đúng với nhận định trên. Dựa trên kết quả đạt được 16,4 chồi/mẫu nếu so sánh với nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương (2018) đạt 10,7 chồi/mẫu thì kết quả đạt được là khá cao. Vấn đề này có thể lý giải bởi nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương (2018) chỉ sử dụng BA 1 mg/l kết hợp với Kinetin để nhân nhanh chồi mà không có sự kết hợp Auxin ngoại sinh là IAA.

Trên cơ sở đó có thể kết luận rằng sự kết hợp giữa BA và IAA là yếu tố quyết định làm tăng số chồi trên mẫu và tăng hệ số nhân chồi ($K = (N/N_0)^{T/t}$ với $N = 16,4$, $N_0 = 1$, $T = 28$, $t = 28$, cho hệ số nhân chồi 16,4). Như vậy nghiệm thức 13 với nồng độ BA 3 mg/l kết hợp với IAA 0,1 mg/l cho khả năng nhân nhanh chồi tốt nhất ở cây chuối sáp. (bởi trắc nghiệm LSD).

3.4. Thí nghiệm 4: Kết quả ảnh hưởng của nồng độ IAA và môi trường MS, lên sự hình thành rễ cây chuối sáp .

Các Auxin thường được bổ sung vào môi trường tái sinh cây hoàn chỉnh giúp kích thích tạo rễ. Ở đây, IAA ngoại sinh được bổ sung vào môi trường giúp kích thích tạo rễ. Kết quả thí nghiệm bảng 3.4 cho thấy nồng độ IAA càng thấp thì số rễ tạo thành càng giảm. Đánh giá kết quả thí nghiệm 1 cho thấy ở nồng độ IAA 0 (mg/l) cho số rễ thấp nhất, và chiều cao cây cũng cho kết quả thấp nhất, có thể giải thích đó là do Cytokinin nội sinh còn trong mẫu gây ra hiện tượng chồi thấp và có sự phát sinh thêm chồi con. Do hàm lượng Cytokinin nội sinh trong mẫu còn cao nên gây ức chế quá trình tạo rễ.

- Khi so sánh kết quả giữa hai nghiệm thức 1 và nghiệm thức 4 có thể nói rằng số rễ tạo thành nghiệm thức 1 (3,0 rễ) và nghiệm thức 4 (7,16 rễ) rất có sự khác biệt ý nghĩa về thống kê. Dựa trên kết quả bảng 3.5 có thể kết luận rằng sự tăng hay giảm nồng độ IAA trong môi trường tái sinh cây hoàn chỉnh có ảnh hưởng rất lớn đến số rễ tạo thành/ mẫu cây.

Bảng 3.4. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ IAA và môi trường MS lên sự hình thành rễ cây chuối sáp.

Nghiệ m thức	Môi trường nuôi cấy	Nồng độ IAA (mg/l)	Số lần lập lại	Trung bình chiều cao cây	Trung bình số rễ (rễ/mẫu)
1	MS	0	3	7,61 ^d	3,0 ^d
2		0,5	3	9,27 ^{bc}	4,33 ^c
3		1	3	10,38 ^b	5,58 ^b
4		1,5	3	12,33 ^a	7,16 ^a
F(A)				**	**

**Ghi chú: Các chữ cái không cùng kí tự thì có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê; ns = khác biệt không có ý nghĩa thống kê; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ** = khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Từ sự so sánh giữa các nghiệm thức cho thấy, ở môi trường MS với IAA 1,5 mg/l cho kết quả tốt nhất (7,16 rễ/mẫu) để tái sinh hoàn chỉnh cây chuối sáp. Kết quả này tương đối tốt hơn kết quả nghiên cứu của Vũ Thị Bạch Phương (2018) 4,53 rễ/mẫu.. Qua kết quả thu được, có thể kết luận rằng môi trường MS có nồng độ IAA 1,5 mg/l là thích hợp nhất cho sự tái sinh cây chuối sáp hoàn chỉnh.

Kết quả thí nghiệm cho thấy một số chỉ tiêu theo dõi là vượt so với các dự kiến ban đầu thuyết minh đề ra. Tỷ lệ cây con ra ngôi sống là trên 90% cao hơn so với chỉ tiêu dự kiến ban đầu (ra ngôi là 3.500 cây có khoảng 3.090 cây sống sinh trưởng tốt đạt trên 90%).

Hiệu quả kinh tế : 3.000 cây con ra ngôi sau 8 tuần.

Stt	Đơn Vị	Đơn vị tính	Số lượng	Đơn giá (đ)	Thành tiền	Ghi chú
1	Mẫu giống	Cây	50	12.000	600.000	
2	MS	Lít	50	2.842	142.100	
3	MS bổ sung	Lít	100	3.400	340.000	
	Giá thể trồng					
4	Tro trấu	Bao	30	14.000	420.000	
5	Trấu	Bao	30	14.000	420.000	
6	Mụn dừa	Bao	60	20.000	1.200.000	
	Phân bón:					
7	Antonik	Gói	30	12.000	360.000	
8	NPK (30-10-10)	Kg	25	25.000	625.000	
9	Antracol	Gió	4	50.000	200.000	
10	Thuốc dưỡng cây rong biển	Chai	4	80.000	320.000	
11	Túi ny lon	Kg	9	120.000	1.080.000	
12	Công ra cây	Ngày	3	150.000	450.000	
13	Công trộn giá thể	Ngày	1	150.000	150.000	
14	Công vô bầu,	Ngày	60	150.000	9.000.000	

	chăm sóc					
15	Nước,điện	Kw			500.000	
16	Linh tinh				300.000	
	Tổng chi				16.107.100	
	Chi phí cho 1 cây con				5.369	
	Khấu hao nhiễm, chết 5%				1.500.000	
	Tổng thu		3.000	10.000	30.000.000	
Lợi nhuận(=TT-TCKHN- KH)					12.393.000	

CHƯƠNG IV

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận:

Sodium Hypochloride nồng độ 10% với thời gian 25 phút cho tỷ lệ phần trăm mẫu sống vô trùng là tốt nhất với 56,6% mẫu sống vô trùng.

Đề tài đã tìm ra nồng độ BA 4 mg/l kết hợp với IAA 0,1 mg/l cho khả năng tái sinh chồi cây hoa chuối sấp là tốt nhất.

Môi trường nuôi cấy có bổ sung nồng độ BA 3 mg/l kết hợp với IAA 0,1 mg/l cho khả năng nhân nhanh chồi cây chuối sấp là tốt nhất.

Kết quả đề tài cho thấy môi trường nuôi cấy MS + IAA 1,5 mg/l + 30g đường (bổ sung 2g/l than hoạt tính) thích hợp cho sự tái sinh cây hoàn chỉnh.

Đề tài đã xây dựng thành công quy trình nhân giống cây chuối sấp bằng phương pháp nuôi cấy *in-vitro* có hệ số nhân khoảng 16,4 chồi/mẫu. Số lượng cây ra ngoài bầu đất từ đề tài 3.000 cây, tỷ lệ cây ra ngoài sống đạt trên 90%, vượt so với mục tiêu đề ra ở thuyết minh.

4.2. Kiến nghị:

Khả năng ứng dụng vào thực tế sản xuất của đề tài là rất cao, vì vậy cần có thêm dự án sản xuất thực nghiệm để đề tài đi vào sản xuất giống chuối sấp nuôi cấy mô đại trà.

4.3. Đề xuất kế hoạch hoặc biện pháp áp dụng kết quả nghiên cứu.

Đề tài thành công góp phần tạo ra quy trình sản xuất giống cây chuối sáp bằng phương pháp nuôi cấy mô cho giới chuyên môn trong ngành, đồng thời cũng là tài liệu tham khảo cho các cá nhân khác có liên quan. Trung tâm Khoa học và Công N Bền Tre có thể liên kết với các trại sản xuất giống trong và ngoài tỉnh đặc biệt là làng sản xuất cây giống Cái Mơn – Chợ Lách. Với mục đích cung cấp cây chuối sáp có chất lượng cho nông dân. Đề tài thành công đã góp phần giải quyết vấn đề nâng cao chất lượng cây giống, phủ tráng giống cây chuối sáp .

Hiện tại Khu Sinh học Cái Mơn đang tiến hành sản xuất cây giống chuối sáp cung cấp cho nông dân trong và ngoài tỉnh. Khu Sinh học Cái Mơn đã cung cấp cho thị trường gần 10.000 cây giống chuối sáp cấy mô có chất lượng.

Bên cạnh việc ứng dụng kết quả đề tài vào sản xuất là đẩy mạnh chuyển giao công nghệ nhân giống, kỹ thuật trồng và chăm sóc cây chuối sáp cho nông dân.

