

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* GIỐNG KHOAI TÀNG VÀNG (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) THU THẬP TẠI HUYỆN THANH SƠN TỈNH PHÚ THỌ

Nguyễn Thị Lâm Hải^{1*}, Phạm Thị Thu Hằng¹, Đinh Trường Sơn¹, Đặng Thị Thanh Tâm¹,
Nguyễn Thanh Hải¹, Đỗ Thị Kim Ngọc², Nguyễn Thị Thanh Thủy¹

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc

*Tác giả liên hệ: ntlhai@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.06.2020

Ngày chấp nhận đăng: 22.09.2020

TÓM TẮT

Giống khoai tàng vàng (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) thuộc nhóm khoai sọ, đây là một loại khoai đặc sản bản địa của huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ hiện đang bị thoái hóa do việc nhân giống vô tính qua nhiều thế hệ, mục tiêu của nghiên cứu nhằm nhân nhanh *in vitro* để phục tráng giống khoai tàng vàng này. Mất ngủ của củ khoai tàng vàng trưởng thành được sử dụng làm vật liệu để nuôi cấy tạo mẫu sạch *in vitro*. Chồi *in vitro* được hình thành sau quá trình nuôi cấy khởi động được cắt để cấy sang môi trường nhân nhanh MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau nhằm tìm ra môi trường phù hợp nhất để nhân nhanh chồi. Chồi sau quá trình nhân nhanh được cấy chuyển sang môi trường ra rễ MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường nhân nhanh tối ưu đối với chồi khoai tàng vàng là môi trường MS + 1,0 mg/l BAP cho hệ số nhân cao với 9,65 chồi/mẫu. Môi trường ra rễ phù hợp nhất với các chồi *in vitro* là môi trường MS + 0,3 mg/l α -NAA cho tỉ lệ ra rễ 100%, số lượng rễ nhiều, rễ mập, nhiều lông hút. Ra ngôi trên giá thể đất + xơ dừa (1:1) cho tỉ lệ cây sống đạt 90%, cây phát triển tốt và bắt đầu ra lá mới sau 2 tuần ra ngôi.

Từ khóa: Khoai tàng vàng, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, nhân nhanh *in vitro*.

In Vitro Propagation of Yellow-Flesh Taro (*Colocasia Esculenta* (L.) Schott) Collected in Thanh Son District, Phu Tho Province

ABSTRACT

The yellow-flesh taro belongs to the group of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) and is the native taro of Thanh Son district, Phu Tho province with high nutritional and economic value. The yellow-flesh variety is now being degenerated due to clonal propagation for many generations, therefore this study aims to rejuvenate this taro variety using plant tissue culture. The mature tubers were used as a material to initiate *in vitro* culture. The *in vitro* shoots formed after the initial culture were cut and cultured in MS medium supplemented with the different plant growth hormones for rapid shoot multiplication. The shoots were subcultured to MS medium supplemented with growth regulators belonging to the auxin group for rooting. The results showed that the optimal medium for rapid shoot multiplication was MS medium supplemented with 1.0 mg/L BAP which would multiply 9.65 shoots/sample. The rooting medium for *in vitro* shoots was MS medium supplemented with 0.3 mg/L α -NAA with a rooting rate of 100%. The *in vitro* plants were transferred to the greenhouse and grown in soil substrate and coconut fiber in 1: 1 ratio, the survival rate was 90%, the plantlets showed vigorous growth and produced new leaves after 2 weeks of acclimatization.

Keywords: Yellow-flesh taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, *in vitro* propagation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống khoai tàng vàng (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) là giống cây trồng truyền thống của dân tộc Mường, Dao tại huyện Thanh Sơn và

Tân Sơn, Tân Lập, tỉnh Phú Thọ (Trịnh Thị Thanh Hương & cs., 2011). Khoai tàng vàng thuộc chi *Colocasia*, cùng chi với khoai sọ và khoai môn nên chúng mang nhiều đặc điểm hình thái giống nhau như kết cấu thân chính -

thân giả, lá hình tim. Điểm khác biệt chủ yếu là ở củ, khoai tăng vàng cũng có củ cái to nặng như khoai môn, nhưng củ con xung quanh lại mọc theo tầng, loe ra như hình phễu. Vỏ củ có màu nâu sẫm như khoai sọ, ruột khoai có màu vàng nghệ, củ càng già sắc vàng càng đậm. Khi chế biến, khoai có màu vàng, bở mịn, dẻo quánh và thơm mùi đặc trưng. Đây là giống khoai có tiềm năng kinh tế để phục vụ cho mục tiêu phát triển kinh tế, xã hội của tỉnh Phú Thọ (Đỗ Thị Kim Ngọc & cs., 2018). Khoai tăng vàng được canh tác và lưu giữ giống theo phương pháp truyền thống qua nhiều thế hệ nên giống khoai này hiện đang bị thoái hóa và cho năng suất thấp, mặt khác do hàm lượng dinh dưỡng cao trong củ nên sau khi thu hoạch, khoai bị thối hỏng rất nhanh, bắt đầu từ phần đáy củ rồi tiến dần lên cao (Trịnh Thị Thanh Hương & cs., 2011). Nghiên cứu cho thấy việc thối củ có nguyên nhân chủ yếu do nấm mốc chủng *Athelia rolfsii* gây ra. Một số giải pháp kỹ thuật để xử lý nguồn nấm mốc này bao gồm xử lý đất trồng, nguồn củ giống và bảo quản củ giống sau thu hoạch đã được đề xuất nhưng chưa xử lý được tận gốc vấn đề (Đỗ Thị Kim Ngọc & cs., 2018).

Để phục tráng các giống cây trồng đã bị thoái hóa do sinh sản vô tính và lưu giữ nguồn cây giống để chủ động trong sản xuất, kỹ thuật nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào đã được nhiều nhóm nghiên cứu thực hiện và áp dụng thành công trên nhiều cây trồng, đặc biệt là trên đối tượng cây họ khoai môn - sọ. Malamug & cs. (1992) đã thành công trong việc tái sinh chồi từ callus cây khoai sọ; Chand & cs. (1998) đã công bố môi trường MS bổ sung 1mg/l Kinetin và 1mg/l α -NAA thích hợp cho việc nhân nhanh chồi khoai sọ *in vitro*; Việc tái sinh cây khoai sọ thông qua phương pháp tạo phôi vô tính cũng đã được nghiên cứu (Deo & cs., 2009); Janhangir (2012) cũng đã thành công khi điều khiển sự phát sinh cơ quan đối với các dòng khoai môn trong điều kiện *in vitro*. Tại Việt Nam, các dòng khoai môn - sọ bản địa cũng là đối tượng được chú ý nghiên cứu đặc biệt. Trần Thị Lệ (2009) đã xây dựng thành công quy trình nhân giống cây khoai môn *in vitro*, theo đó môi trường MS bổ sung BAP 10 mg/l + IBA 0,6 mg/l thích hợp cho việc nhân

nhân chồi. Đặng Trọng Lương (2011) đã công bố kết quả nuôi cấy mô tế bào trong nhân nhanh cây khoai môn Bắc Kạn. Quy trình nhân giống *in vitro* các giống khoai môn-sọ bản địa thu thập tại Lạng Giang, Sa Pa và Hòa Bình đã được Nguyễn Quang Thạch & cs. (2010) nghiên cứu thành công. Trần Thị Lệ & Trần Thị Triệu Hà (2013) cũng thành công trong việc nhân nhanh *in vitro* những giống khoai sọ thu thập tại Hà Tĩnh và Tây Nguyên.

Trên cơ sở các nghiên cứu đã công bố trên chi khoai môn - sọ, việc áp dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật để cải tiến phương pháp nhân giống, giữ giống và phục tráng giống khoai tăng vàng là rất phù hợp, đây là việc rất cấp bách và có ý nghĩa thiết thực. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu xây dựng thành công quy trình nhân nhanh *in vitro* giống khoai tăng vàng thu thập tại huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ, chủ động cung cấp nguồn giống khỏe mạnh, sạch bệnh cho sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống khoai tăng vàng (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) thu thập tại huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tạo nguồn vật liệu khởi đầu *in vitro*

Củ khoai tăng vàng được ngâm rửa trong nước xà phòng 30 phút, sau đó cắt miếng kích thước 2cm³ được tách ra khỏi củ và tiến hành khử trùng bề mặt theo quy trình được mô tả bởi Nguyễn Quang Thạch & cs. (2010). Miếng củ được cấy vào môi trường khởi động MS (Murashige & Skoog, 1962) có bổ sung 1,5 mg/l TDZ trong 6 tuần để thu chồi sạch cho các nghiên cứu nhân nhanh tiếp sau.

2.2.2. Môi trường nhân nhanh chồi thích hợp

Chồi khoai tăng vàng thu được từ quá trình cấy khởi động có chiều cao khoảng 2cm, đường kính gốc 0,3cm được cấy vào môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng BAP,

Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* giống khoai tây vàng (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) thu thập tại huyện Thanh Sơn tỉnh Phú Thọ

Kinetin, TDZ, α -NAA một cách đơn lẻ hoặc kết hợp để nghiên cứu sự nhân nhanh chồi.

có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng α -NAA ở các nồng độ khác nhau.

2.2.3. Môi trường tạo rễ thích hợp

Cây *in vitro* ở trạng thái sinh trưởng và phát triển tốt được làm sạch gốc bằng dao nhọn trong điều kiện vô trùng sau đó cấy vào môi trường ra rễ để tạo cây hoàn chỉnh. Môi trường ra rễ là môi trường MS nồng độ 100% hoặc 50%

2.2.4. Ra ngôi cây *in vitro*

Cây con có chiều cao 3-4cm, 4-5 rễ và có từ 3 lá trở lên được sử dụng để ra ngôi. Cây con được đưa ra nhà lưới có mái che trong 1 tuần, sau đó rửa sạch môi trường bám ở rễ và trồng vào giá thể đất trộn xơ dừa hoai mục với tỉ lệ 1:1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BAP, Kinetin, TDZ lên sự nhân nhanh chồi khoai tây vàng sau 6 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	Kinetin (mg/l)	TDZ (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
1	0,00	-	-	4,23 $\pm$ 0,35	0,98 $\pm$ 0,07	2,64 $\pm$ 0,11	++
2	0,50	-	-	8,18 $\pm$ 0,94	0,87 $\pm$ 0,05	2,35 $\pm$ 0,07	+++
3	1,00	-	-	9,65 $\pm$ 0,68	0,92 $\pm$ 0,03	2,15 $\pm$ 0,09	+++
4	1,50	-	-	8,78 $\pm$ 0,54	1,12 $\pm$ 0,07	2,11 $\pm$ 0,09	++
5	2,00	-	-	7,07 $\pm$ 0,69	1,18 $\pm$ 0,05	2,28 $\pm$ 0,14	+++
6	3,00	-	-	6,41 $\pm$ 0,59	1,1 $\pm$ 0,07	2,47 $\pm$ 0,12	+++
7	-	0,50	-	2,68 $\pm$ 0,33	0,72 $\pm$ 0,05	2,54 $\pm$ 0,16	++
8	-	1,00	-	6,66 $\pm$ 0,73	0,70 $\pm$ 0,10	2,27 $\pm$ 0,08	+
9	-	1,50	-	5,53 $\pm$ 0,51	0,46 $\pm$ 0,03	2,35 $\pm$ 0,12	+
10	-	2,00	-	5,59 $\pm$ 0,40	0,81 $\pm$ 0,07	2,46 $\pm$ 0,11	+
11	-	2,50	-	5,57 $\pm$ 0,40	0,78 $\pm$ 0,05	2,28 $\pm$ 0,09	+
12	-	-	1,00	3,30 $\pm$ 0,19	1,06 $\pm$ 0,07	2,61 $\pm$ 0,07	+++
13	-	-	1,50	6,43 $\pm$ 0,32	2,15 $\pm$ 0,19	2,63 $\pm$ 0,09	+++
14	-	-	2,00	5,28 $\pm$ 0,41	2,24 $\pm$ 0,27	2,50 $\pm$ 0,10	+++

Ghi chú: (+): chồi nhỏ, màu xanh; (++): chồi to trung bình, màu xanh đậm (+++): chồi to, xanh đậm.



(a)



(b)



(c)

Hình 1. Chồi *in vitro* khoai tây vàng Phú Thọ trên môi trường có bổ sung 1,0 mg/l BAP (a); 1,0 mg/l Kinetin (b) và 1,5 mg/l TDZ (c)

2.2.5. Điều kiện thí nghiệm

Các thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhân tạo, điều kiện ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm luôn được giữ ổn định: cường độ ánh sáng: 2.000Lux; thời gian chiếu sáng: 16h sáng/8h tối; độ ẩm: 70-80%; nhiệt độ: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Môi trường nuôi cấy: MS + 6,5 g/l agar + 30g/l Sucrose có bổ sung các chất khác nhau tùy thuộc điều kiện thí nghiệm, pH = 5,8. Môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút, áp suất 1atm.

2.2.6. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, mỗi lần 30 bình, mỗi bình 01 mẫu. Số liệu thí nghiệm được xử lý trên phần mềm Microsoft Office Excel và biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình cộng/trừ độ lệch chuẩn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của BAP, Kinetin, TDZ đến sự nhân nhanh chồi khoai tây

Trong kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật, các hormone sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin như BAP, Kinetin, TDZ thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tăng cường sự hình thành các sản phẩm thứ cấp và tăng kích thước tế bào ở lá mầm, kích thích sự nảy mầm của hạt và quá trình trao đổi chất, làm tăng sự hình thành chồi. Trong thí nghiệm này, chồi khoai tây vàng *in vitro* thu được từ quá trình cấy khởi động được cấy vào môi trường nhân nhanh có bổ sung BAP, Kinetin, TDZ với các nồng độ khác nhau (Bảng 1) để theo dõi sự hình thành chồi và sự nhân nhanh chồi khoai tây vàng *in vitro*. Kết quả theo dõi sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Kết quả được trình bày ở bảng 1 cho thấy việc bổ sung BAP có ảnh hưởng tích cực đến quá trình phát sinh chồi. Môi trường có bổ sung BAP cho chất lượng chồi tốt, chồi xanh, mập, các chồi bên phát triển tốt. Môi trường bổ sung BAP ở nồng độ 1,0 mg/l cho số chồi trung

bình cao nhất đạt 9,65 chồi/mẫu với chiều cao trung bình 0,92cm và số lá trung bình 2,15 lá/chồi (Hình 1a). Kinetin và TDZ đều ảnh hưởng đến sự hình thành chồi khoai tây vàng *in vitro* ở những khía cạnh khác nhau. Hệ số nhân chồi cao nhất là 6,66 chồi/mẫu được quan sát ở các công thức môi trường có bổ sung 1,0 mg/l Kinetin và 6,43 chồi/mẫu trên môi trường bổ sung 1,5 mg/l TDZ. Tuy nhiên chất lượng chồi ở các môi trường có bổ sung các chất này có sự khác biệt rõ rệt. Ở các môi trường có bổ sung Kinetin thì chồi thường nhỏ, màu xanh nhạt, chiều cao thấp, khó quan sát (Hình 1b), nếu tiếp tục nuôi cấy thêm 2 tuần trong điều kiện *in vitro* thì các chồi này thường bị thủy tinh hóa hoặc héo lá, lụi chồi. Ngược lại ở môi trường có bổ sung TDZ chồi thường có màu xanh đậm, chồi mập, cao, sinh trưởng phát triển tốt và dễ đo đếm (Hình 1c). Như vậy, ngoại trừ Kinetin, việc sử dụng BAP và TDZ một cách đơn lẻ đều có tác dụng tốt trong việc nhân nhanh chồi khoai tây vàng trong điều kiện *in vitro*. Các tác giả Malamug & cs. (1992) và Janhangir (2012) khi sử dụng BAP ở nồng độ 1,0 mg/l hoặc 1,5 mg/l để nhân nhanh chồi khoai tây *in vitro* đều thu được tỉ lệ bật chồi và tạo cụm chồi cao hơn hẳn so với các công thức bổ sung BAP ở nồng độ thấp hơn và cao hơn. Kết quả này một lần nữa khẳng định việc bổ sung BAP ở khoảng nồng độ từ 1,0 đến 1,5 mg/l vào môi trường nhân nhanh *in vitro* chồi khoai tây nói chung và khoai tây vàng nói riêng cho hiệu quả rõ rệt trong việc nhân nhanh chồi và tạo cụm chồi.

3.2. Ảnh hưởng kết hợp của BAP, Kinetin và α -NAA tới sự nhân nhanh chồi khoai tây vàng Phú Thọ

Trong nghiên cứu này, môi trường nuôi cấy MS với nồng độ BAP và Kinetin tốt nhất trong thí nghiệm 1 được bổ sung kết hợp α -NAA với nồng độ lần lượt là 0,2; 0,4; 0,8 mg/l để nghiên cứu sự hình thành chồi hiệu quả trên cây khoai tây vàng. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP, Kinetin và α -NAA lên nhân nhanh khoai tây vàng sau 6 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	Kinetin (mg/l)	α -NAA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
1	1,0	1,0	0,0	2,57 $\pm$ 0,26	1,55 $\pm$ 0,06	2,530,16	+++
2	1,0	1,0	0,2	5,03 $\pm$ 0,46	1,43 $\pm$ 0,06	2,450,09	++
3	1,0	1,0	0,4	3,93 $\pm$ 0,38	2,41 $\pm$ 0,13	2,500,15	++
4	1,0	1,0	0,8	2,96 $\pm$ 0,36	1,69 $\pm$ 0,11	2,670,14	++

Ghi chú: (+): chồi nhỏ, màu xanh; (++) : chồi to trung bình, màu xanh đậm (+++): chồi to, xanh đậm.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l Kinetin + 0,2 mg/l α -NAA cho hệ số nhân cao nhất là 5,03 chồi/ mẫu, chiều cao 1,43 cm và số lá là 2,45 lá. Các môi trường bổ sung thêm α -NAA ở các nồng độ cao hơn thì hệ số nhân chồi càng giảm, môi trường bổ sung α -NAA với nồng độ 0,4 mg/l và 0,8mg/l cho hệ số nhân lần lượt là 3,93 chồi/ mẫu và 2,96 chồi/ mẫu. Tuy nhiên việc bổ sung α -NAA ở nồng độ cao khiến việc tạo rễ và phát triển lá của các chồi khoai tây vàng có xu hướng tăng lên rõ rệt. Hai môi trường bổ sung 0,4 và 0,8 mg/l α -NAA đều có tỉ lệ ra rễ cao, trong đó công thức bổ sung 0,8 mg/l α -NAA tạo rễ mập, dài (Hình 2d).

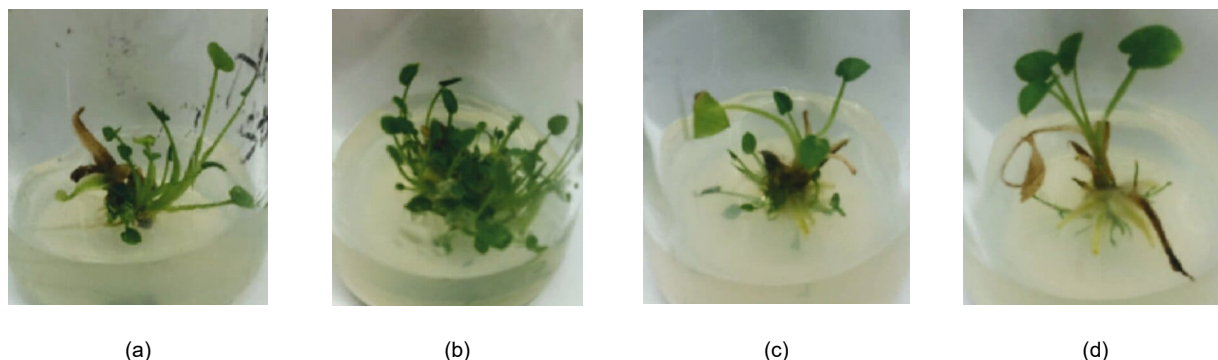
Việc chồi *in vitro* xuất hiện rễ trong quá trình nhân nhanh cũng được nhóm tác giả Đặng Thị Thanh Mai & Nguyễn Xuân Viêt (2012) quan sát được khi nhân nhanh 4 giống khoai môn - sọ bản địa, cây khoai môn - sọ *in vitro* có bộ rễ chất lượng tốt, mọc khỏe trên môi trường MS có bổ sung 0,1mg/l NAA và 0,5 mg/l BAP. Việc tạo rễ sớm trong quá trình nhân nhanh chồi khiến cho cụm chồi không phát triển mà chỉ phát triển chồi đơn, điều này không có lợi cho giai đoạn nhân nhanh tạo cụm chồi ở cây khoai tây vàng.

Nhiều nhóm tác giả khi nghiên cứu sự kết hợp bổ sung giữa các nhóm chất hormone thực vật để nâng cao hiệu quả nhân nhanh *in vitro* cây khoai môn - sọ đều cho thấy việc kết hợp giữa các nhóm chất này ở nồng độ khác nhau ảnh hưởng nhiều đến hệ số nhân chồi và chất lượng cụm chồi khoai môn - sọ nhân giống trong điều kiện *in vitro*. Trịnh Thị Thanh Hương & cs.

(2011) kết luận rằng môi trường thích hợp cho việc nhân chồi khoai tây vàng Phú Thọ là môi trường MS bổ sung 2 tổ hợp chất kích thích sinh trưởng, tổ hợp 0,1 mg/l α -NAA và 1 - 1,5 mg/l BAP; tổ hợp 0,1 mg/l α -NAA và 2 mg/l Kinetin, cả hai công thức này đều cho hệ số nhân chồi cao và chất lượng chồi tốt. Chand & cs. (1998) cũng khẳng định môi trường MS bổ sung 1 mg/l Kinetin và 1 mg/l α -NAA thích hợp cho việc nhân nhanh chồi khoai sọ *in vitro*. Tổ hợp môi trường MS bổ sung BAP 1,0 mg/l + IBA 0,6 mg/l thích hợp cho việc nhân nhanh chồi khoai môn *in vitro* (Trần Thị Lệ, 2009). Đặng Thị Thanh Mai và Nguyễn Xuân Viêt (2012) kết luận hệ số nhân đạt 4,5 lần sau 4 tuần nuôi cấy với 4 giống khoai môn - sọ thu thập từ Sơn La, Lạng Sơn, Nam Định, Bắc Kạn trong môi trường MS bổ sung 0,1 mg/l α -NAA và từ 2,5-3 mg/l BAP. Trong nghiên cứu của chúng tôi, việc kết hợp 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l Kinetin + 0,2 mg/l α -NAA trong môi trường MS để nhân nhanh chồi khoai tây vàng cũng cho hiệu quả tương tự với nghiên cứu đã công bố của các tác giả này, điều đó cho thấy việc sử dụng kết hợp các hormone thực vật để nhân nhanh *in vitro* chồi khoai môn - sọ là phù hợp và cho hiệu quả cao.

3.3. Ảnh hưởng của BAP, TDZ và α -NAA tới sự nhân nhanh *in vitro* khoai tây vàng Phú Thọ

Trong nghiên cứu này, môi trường nuôi cấy MS với nồng độ BAP và TDZ tốt nhất trong thí nghiệm 1 được bổ sung kết hợp α -NAA với nồng độ lần lượt là 0,2; 0,4;0,8 mg/l để nghiên cứu sự hình thành cụm chồi khoai tây vàng. Kết quả được trình bày trong bảng 3 và hình 3.

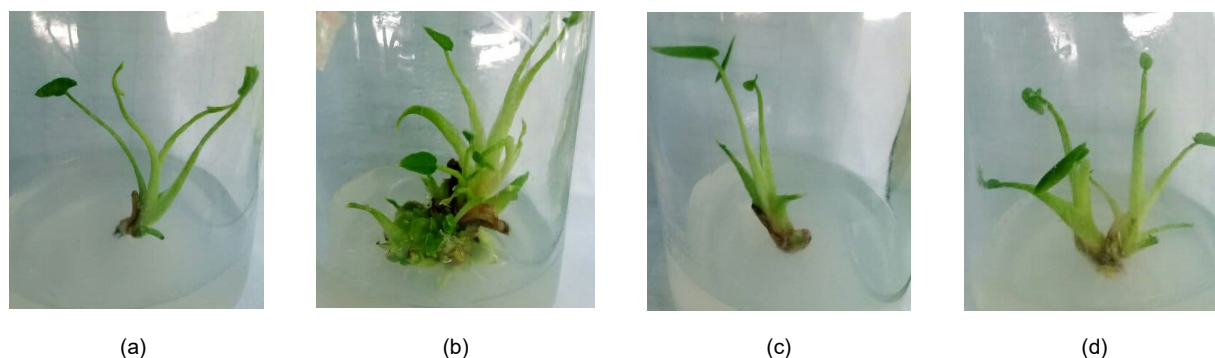


Hình 2. Chồi khoai tây vàng sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS + 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l Kinetin không bổ sung α -NAA (a) và bổ sung 0,2 mg/l α -NAA (b), 0,4 mg/l α -NAA (c), 0,8mg/l α -NAA (d)

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP, TDZ và α -NAA tới sự nhân nhanh khoai tây vàng sau 6 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	TDZ (mg/l)	α -NAA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
1	1,0	1,5	0,0	1,00 $\pm$ 0,00	3,28 $\pm$ 0,26	3,48 $\pm$ 0,14	+
2	1,0	1,5	0,2	2,70 $\pm$ 0,28	2,75 $\pm$ 0,18	3,01 $\pm$ 0,15	+
3	1,0	1,5	0,4	1,35 $\pm$ 0,09	3,14 $\pm$ 0,16	3,20 $\pm$ 0,11	+
4	1,0	1,5	0,8	2,14 $\pm$ 0,24	2,73 $\pm$ 0,16	2,68 $\pm$ 0,10	+

Ghi chú: (+): chồi nhỏ, màu xanh; (++): chồi to trung bình, màu xanh đậm (+++): chồi to, xanh đậm.



Hình 3. Chồi khoai tây vàng *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS + 1mg/l BAP + 1,5 mg/l TDZ không bổ sung α -NAA (a) và bổ sung 0,2 mg/l α -NAA (b), 0,4mg/l α -NAA (c), 0,8mg/l α -NAA (d)

Kết quả trình bày ở bảng 3 và hình 3 cho thấy, việc kết hợp các cytokinin bao gồm BAP và TDZ với một auxin là α -NAA không mang lại hiệu quả kích thích tạo chồi như dự đoán. Các công thức bổ sung kết hợp các chất này cho hệ số nhân cao nhất chỉ đạt được 2,7 chồi/mẫu, thấp hơn rất nhiều so với hệ số nhân ở các công thức chỉ bổ sung cytokinin một cách đơn lẻ.

Nguyễn Quang Thạch & cs. (2010) đạt hệ số nhân từ 7,89 lần đến 9,12 lần đối với 04 giống khoai môn được nuôi cấy khi nhân nhanh chồi *in vitro* khoai môn - sọ trên môi trường MS + 1,5 mg/l TDZ. Chand & cs. (1998) cũng kết luận rằng chồi *in vitro* khoai sọ nhân nhanh hiệu quả trên môi trường bổ sung 1,0 mg/l TDZ với hệ số nhân đạt 15-20 lần sau 4 tuần nuôi cấy. Trong

nghiên cứu của chúng tôi, chồi khoai tây vàng *in vitro* cũng đạt hệ số nhân là 6,43 lần trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l TDZ (Bảng 1). Tuy nhiên kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy, việc kết hợp TDZ với BAP và α -NAA không đem lại hiệu quả nhân chồi cao như dự đoán ban đầu.

Qua các thí nghiệm về việc bổ sung các hormone thực vật như BAP, Kinetin, TDZ và α -NAA một cách đơn lẻ hoặc kết hợp với nhau để tiến hành nhân nhanh *in vitro* khoai tây vàng Phú Thọ, kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng BAP là phù hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi khoai tây vàng, hệ số nhân đạt cao nhất là 9,65 chồi/mẫu trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l BAP.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ môi trường MS và α -NAA tới sự tạo rễ *in vitro* của cây khoai tây vàng Phú Thọ

Chồi khoai tây vàng được cấy vào môi trường phù hợp để nghiên cứu sự hình thành rễ *in vitro* nhằm tạo cây hoàn chỉnh. Trong thí nghiệm này, môi trường MS cơ bản với nồng độ 100% (MS) hoặc 50% (1/2MS) được sử dụng kết hợp với α -NAA ở các nồng độ khác nhau để khảo sát sự hình thành rễ của chồi *in vitro*. Việc giảm nồng độ môi trường MS cơ bản nhằm mục đích giảm lượng môi trường tiêu thụ trong quá trình tạo rễ cho chồi, tiết kiệm chi phí sản xuất (Nguyễn Quang Thạch & cs., 2010). Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 4.

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 4 cho thấy, chồi khoai tây vàng *in vitro* hình thành rễ nhiều nhất với chất lượng rễ tốt nhất ở công thức 3 (MS + 0,3 mg/l α -NAA) và công thức 7 (1/2MS + 0,3 mg/l α -NAA) với tỉ lệ tạo rễ đạt 100% tương ứng với 11,07 rễ/chồi và 7,00 rễ/chồi ở hai công thức này. Việc giảm nồng độ của môi trường MS chỉ còn một nửa cũng khiến cho số lượng rễ tạo ra giảm đi rõ rệt. Bên cạnh đó, α -NAA cũng cho thấy vai trò quan trọng trong việc kích thích sự hình thành rễ ở chồi khoai tây vàng. Nồng độ α -NAA thích hợp nhất để kích thích tạo rễ trên môi trường có nồng độ MS khác nhau đều là 0,3 mg/l. 88% đến 100% chồi khoai tây vàng tạo rễ trên môi trường không

bổ sung α -NAA nhưng rễ rất mảnh, không có lông hút, dễ bị đứt gãy khi tiến hành ra ngôi cây, điều đó cho thấy α -NAA ảnh hưởng đến chất lượng rễ được tạo ra. Ở môi trường tối ưu nhất (MS + 0,3 mg/l α -NAA), chồi khoai tây vàng ra rễ mập, ngắn và có lông hút, thích hợp cho việc ra ngôi cây (Hình 4).

Như vậy, môi trường thích hợp nhất để tạo rễ cho chồi khoai tây vàng Phú Thọ là môi trường MS + 0,3 mg/l α -NAA với tỉ lệ tạo rễ 100%, số rễ tạo ra trung bình 11 rễ/chồi, rễ mập, khỏe, nhiều lông hút. Nghiên cứu này cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu được công bố của Trần Thị Lệ và Trần Thị Triệu Hà (2009), Đặng Trọng Lương (2011), Trịnh Thị Thanh Hương & cs. (2011) với cùng kết luận rằng môi trường MS bổ sung α -NAA nồng độ 0,5 mg/l hoặc 0,3 mg/l α -NAA thích hợp nhất cho việc tạo rễ *in vitro* chồi khoai tây thu thập tại các địa phương của Việt Nam.

3.5. Ra ngôi cây *in vitro*

Cây khoai tây vàng hoàn chỉnh có chiều cao 3-4cm, 4-5 rễ và có từ 3 lá trở lên được tiến hành ra ngôi tại nhà lưới. Cây con được đưa ra nhà lưới có mái che trong 1 tuần, sau đó cây được lấy ra khỏi lọ rồi rửa sạch môi trường bám vào rễ và trồng vào giá thể đất + xơ dừa hoai mục với tỉ lệ 1:1. Sau 2 tuần trồng, cây bắt đầu thích nghi và bắt đầu hình thành lá mới. Cây con sau 4 tuần trồng đạt tỉ lệ sống trên 90%, hình thành 2-3 lá mới, cây khỏe, cứng cáp, rễ ăn kín giá thể, đủ điều kiện trồng sang bầu lớn để trồng trên đồng ruộng (Hình 5).

4. KẾT LUẬN

Môi trường MS + 1,0 mg/l BAP + 6,5 g/l agar + 30 g/l sucrose, pH = 5,8 là môi trường tối ưu để nhân nhanh *in vitro* chồi khoai tây vàng Phú Thọ. Môi trường MS + 0,3 mg/l α -NAA + 6,5 g/l agar + 30 g/l sucrose, pH = 5,8 thích hợp để ra rễ tạo cây hoàn chỉnh đối với chồi khoai tây vàng Phú Thọ trong điều kiện *in vitro*. Cây khoai tây vàng hoàn chỉnh được ra ngôi trên giá thể đất + xơ dừa hoai mục tỉ lệ 1:1 trong thời gian 4 tuần đủ điều kiện để đóng sang bầu lớn và trồng trên đồng ruộng.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ môi trường MS và α -NAA tới sự hình thành rễ của chồi khoai tây vàng sau 4 tuần nuôi cấy

Công thức	Nồng độ MS	α -NAA (mg/l)	Số rễ TB	Chiều dài rễ (mm)	Chất lượng rễ	Tỉ lệ ra rễ (%)
1	MS	0,0	2,35 $\pm$ 0,20	8,26 $\pm$ 0,34	+	88
2	MS	0,1	7,77 $\pm$ 0,26	8,42 $\pm$ 0,21	++	100
3	MS	0,3	11,07 $\pm$ 0,44	8,43 $\pm$ 0,62	+++	100
4	MS	0,6	6,69 $\pm$ 0,46	4,38 $\pm$ 0,19	+++	90
5	1/2MS	0,0	2,90 $\pm$ 0,32	14,1 $\pm$ 2,43	+	100
6	1/2MS	0,1	3,00 $\pm$ 0,33	2,1 $\pm$ 0,26	++	93
7	1/2MS	0,3	7,00 $\pm$ 0,57	3,3 $\pm$ 0,19	++	100
8	1/2MS	0,6	6,72 $\pm$ 0,38	7,8 $\pm$ 0,37	+++	93

Ghi chú: (+) rễ mảnh, không có lông hút; (++) rễ mập, không có lông hút; (+++): rễ mập, có lông hút.



Hình 4. Rễ cây khoai tây tăng trên môi trường MS + α -NAA sau 4 tuần nuôi cấy



Hình 5. Cây khoai tây tăng vàng sau 4 tuần ra ngôi tại vườn ươm trên giá thể đất:xơ dừa tỉ lệ 1:1

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chand H., Pearson M.N. & Lovell P.H. (1998). Rapid vegetative multiplication in *Colocasia esculenta* (L) Schott (taro). Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 55: 223-226.
- Deo P.C., Harding R.M., Taylor M., Tyagi A.P. & Becker D.K. (2009). Somatic embryogenesis,

organogenesis and plant regeneration in taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta*). Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 99: 61-71.

- Đặng Thị Thanh Mai & Nguyễn Xuân Viêt (2012). Nghiên cứu nhân nhanh 4 giống khoai sọ quý địa phương bằng phương pháp nuôi cấy mô *in vitro*. Tạp chí Khoa học, Đại học Sư phạm Hà Nội. 3: 135-147.

Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* giống khoai tắng vàng (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) thu thập tại huyện Thanh Sơn tỉnh Phú Thọ

- Đặng Trọng Lương (2011). Ứng dụng công nghệ nuôi cấy *in vitro* để nhân giống khoai môn Bắc Kạn. Tạp chí Khoa học Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ. 6(625): 62-66.
- Đỗ Thị Kim Ngọc, Nguyễn Thị Thanh Thủy, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Phạm Thanh Bình, Lê Trung Hiếu & Vũ Ngọc Tú (2018). Nghiên cứu xác định các loại nấm gây thối hỏng và đề xuất hướng bảo quản khoai tắng vàng tại huyện Thanh Sơn, tỉnh Phú Thọ. Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 10(2): 73-78.
- Janhangir H.M. (2012). *In vitro* Organogenesis of *Colocasia esculenta* cv. *antiquorum* L. American J. Plant Sci. 3: 709-713.
- Nguyễn Quang Thạch, Đào Duy Chiên, Đỗ Thị Bích Nga, Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Thị Phương Thảo, Ngô Thị Huệ & Trịnh Văn Mỹ (2010). Nghiên cứu nhân giống cây khoai môn sọ bằng phương pháp *in vitro* và *in vivo*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 3: 72-79.
- Malamug J.J.F., Haruhisa I., Susumu Y. & Tadashi A. (1992). Plantlet regeneration from Taro (*Colocasia esculenta* Schott) callus. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 60(4): 935-940.
- Murashige T. & Skoog. F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiol. 15: 473-497.
- Trần Thị Lệ (2009). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* một số giống khoai môn (*Cococasia esculenta*). Tạp chí Khoa học, Đại học Huế. 55: 65-72.
- Trần Thị Lệ, Trần Thị Triệu Hà (2013). Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* một số giống khoai sọ (*Colocasia antiquorum*). Tạp chí Khoa học, Đại học Huế. 67: 45-54.
- Trịnh Thị Thanh Hương, Hồ Thị Thanh Hoa, Lê Thanh Nhuận & Đặng Trọng Lương (2011). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô để nhân nhanh giống khoai môn Tắng vàng Phú Thọ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 21: 53-59.
- Vũ Ngọc Lan, Nguyễn Thị Phương Dung & Nguyễn Văn Phú (2015). Lưu giữ *in vitro* nguồn gen khoai môn bản địa (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). Tạp chí Khoa học và Phát triển. 13(4): 623-633.