

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO* HAI GIỐNG DỨA KIỂNG THƠM SƠN (*ANANAS BRACTEATUS*) VÀ LONG PHỤNG (*ANANAS COMOSUS*)

NGUYỄN THỊ ĐIỆP*, PHẠM ĐÌNH DŨNG*,
KHA NỮ TÚ UYÊN**, NGUYỄN THỊ HỒNG TÚ**

TÓM TẮT

Đề tài nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống in vitro hai giống dứa kiểng Thom Sơn (Ananas bracteatus) và Long Phụng (Ananas comosus), tạo cây con trực tiếp từ chồi bên của cây dứa mà không qua tạo mô sẹo. Kết quả thu được, đối với cây dứa Thom Sơn, môi trường thích hợp để nhân chồi là môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l NAA và 2 mg/l BA. Chồi được tạo rễ trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l NAA và tỉ lệ sống của cây ngoài vườn ươm đạt 90%. Đối với cây dứa Long Phụng, môi trường thích hợp để nhân chồi là môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l NAA và 0,5 mg/l BA. Chồi được tạo rễ trên môi trường MS có bổ sung 2,0 mg/l NAA và tỉ lệ sống của cây ngoài vườn ươm đạt 82%.

Từ khóa: nhân giống in vitro, dứa Thom Sơn, dứa Long Phụng.

ABSTRACT

In vitro micropropagation of the ornamental pineapple plant Ananas bracteatus AND Ananas comosus

This research investigates the in vitro propagation for Ananas bracteatus and Ananas comosus, creating direct seedlings from the buds of pineapple without any callus. The results showed that, Ananas bracteatus, suitable medium for buds proliferation was on MS medium supplemented with BA 2.0 mg/l and NAA 0.1 mg/l, buds induced roots on MS medium supplemented NAA 1.0 mg/l and survival rate of plantlets in nursery garden was 90%. For Ananas comosus, suitable medium for bud proliferation was on MS medium supplemented with BA 0.5 mg/l and NAA 0.1 mg/l, buds induced roots in MS medium complemented NAA 2.0 mg/l and survival rate of plantlets in nursery garden was 82%.

Keywords: In vitro propagation, Ananas bracteatus, Ananas comosus.

1. Mở đầu

Ở TP Hồ Chí Minh phong trào trồng cây kiểng đã hình thành và phát triển từ rất lâu. Đến cuối năm 2011, diện tích gieo trồng hoa, cây kiểng là 2010 ha. Việc phát triển sản phẩm hoa cây kiểng đã tạo nên một nét đặc trưng rất riêng biệt trong quá trình chuyển đổi nông nghiệp của một thành phố lớn. Dứa kiểng là một loài cây trồng có giá trị kinh tế cao, đáp ứng nhu cầu tiêu dùng giải trí, thưởng thức của người dân đô thị.

* ThS, Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao TPHCM

** CN, Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao TPHCM

Dứa Long Phụng là một loài cây cảnh có trái phân thành nhiều nhánh, nhiều tầng tạo thành hình chim phượng hoàng đang xòe cánh. Đây là loại trái đẹp, độc đáo chung trên mâm ngũ quả ngày Tết hoặc kết hình rồng phụng trong các hội thi chung mâm ngũ quả, hội hoa xuân. Hơn nữa, cây dứa Long Phụng rất ít mọc nhánh con, khả năng nhân chồi thấp nên khó mở rộng diện tích trồng trong một thời gian ngắn, bởi thiếu nguồn cây giống tốt. Còn dứa Thơm Sơn là loại cây cảnh có màu sắc rất đẹp, rực rỡ như màu son nên được ưa chuộng dùng để chưng trên mâm ngũ quả ngày Tết. Trong những năm gần đây nhu cầu tiêu thụ dứa kiếng của thị trường đang rất lớn. Vì vậy, việc nghiên cứu nhân giống *in vitro* tạo được nguồn giống dứa kiếng với số lượng lớn, đồng đều về mặt di truyền và không nhiễm bệnh là việc cần thiết đáp ứng nhu cầu về cây giống chất lượng tốt kịp thời phục vụ sản xuất.

Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* hai giống dứa kiếng Thơm Sơn (*Ananas bracteatus*) và Long Phụng (*Ananas comosus*), nhằm tạo ra nguồn cây con đồng nhất làm cây giống đồng thời tạo nguồn cây *in vitro* phong phú dùng làm nguồn vật liệu cho những nghiên cứu sau này.

2. Vật liệu, phương pháp

2.1. Vật liệu

Chồi nách cây dứa Thơm Sơn (*Ananas bracteatus*) và cây dứa Long Phụng (*Ananas comosus*) có chiều cao khoảng 15cm được lựa chọn để vô mẫu tạo nguồn vật liệu ban đầu.

2.2. Phương pháp

Môi trường nuôi cấy: Môi trường khoáng cơ bản MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung đường saccharose 20g/l, agar 8g/l và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng theo các nghiệm thức thí nghiệm, pH môi trường được điều chỉnh về 5,8 trước khi hấp khử trùng.

Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ phòng sáng là 26 ± 2 °C, ẩm độ tương đối phòng là $60 \pm 5\%$, thời gian chiếu sáng là 12 h/ngày, cường độ ánh sáng là 2000 lux.

Phương pháp khử trùng mẫu dứa Thơm Sơn và Long Phụng:

Chồi nách dứa được thu từ cây mẹ không dính bùn đất. Loại bỏ một phần lá bên ngoài. Cho mẫu vừa cắt vào erlen và lắc đều với xà phòng đã được pha loãng trong 10 phút, rửa sạch xà phòng bằng nước. Đưa mẫu vào tủ cấy vô trùng, chuyển mẫu vào erlen có chứa cồn 70°, lắc đều mẫu trong 1 phút, rửa lại 3 lần bằng nước cất vô trùng.

Khử trùng mẫu được thực hiện 2 lần. Lần 1, mẫu được lắc theo tỉ lệ javen: nước cất vô trùng = 1:1 (Javen Mỹ Hảo 5%). Bổ sung 3 giọt Tween 20 nhằm nâng cao hiệu quả khử trùng, lắc đều mẫu trong 30 phút. Sau đó rửa mẫu bằng nước cất vô trùng 5 - 6 lần và chế dịch mẫu làm 6. Khử trùng mẫu lần 2 theo tỉ lệ javen : nước cất vô trùng = 1:3, lắc đều mẫu trong 15 phút. Rửa mẫu lại bằng nước cất vô trùng từ 4 - 6 lần. Mẫu được loại bỏ phần bị tổn thương, cấy mẫu vào môi trường MS có bổ sung 20g/l sucrose

và 8g/l agar. Mẫu sạch thu được sau 4 tuần nuôi cấy sẽ được sử dụng làm nguồn vật liệu ban đầu cho các thí nghiệm. Các thí nghiệm được bố trí như sau:

Nghiên cứu ảnh hưởng của BA kết hợp với NAA lên sự sinh trưởng và khả năng nhân chồi của giống dứa Thơm Sơn ở giai đoạn nhân nhanh. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hai yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên với 9 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại cấy 3 mẫu. Nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, các nghiệm thức còn lại có bổ sung 0,1 – 0,2 mg/l NAA và 0,5 – 3,0 mg/l BA. Theo dõi các chỉ tiêu sau 60 ngày: Chiều cao chồi (cm), số chồi (chồi/mẫu), tỉ lệ mẫu nhân chồi (%), đặc điểm chồi (đánh giá cảm quan).

Nghiên cứu ảnh hưởng của BA kết hợp với NAA lên sự sinh trưởng và khả năng nhân chồi của giống dứa Long Phụng ở giai đoạn nhân nhanh. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hai yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên với 9 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại cấy 3 mẫu. Nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, các nghiệm thức còn lại có bổ sung 0,1 – 0,2mg/l NAA và 0,3 – 1,0mg/l BA. Theo dõi các chỉ tiêu sau 60 ngày: Chiều cao chồi (cm), số chồi (chồi/mẫu), tỉ lệ mẫu nhân chồi (%), đặc điểm chồi (đánh giá cảm quan).

Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA lên sự hình thành rễ của giống dứa Thơm Sơn và dứa Long Phụng. Thí nghiệm bố trí theo kiểu một yếu tố hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại cấy 3 mẫu. Nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, các nghiệm thức còn lại có bổ sung 0,5 – 2,0mg/l NAA. Thí nghiệm sử dụng các chồi dứa Thơm Sơn và chồi dứa Long Phụng *in vitro* có chiều cao từ 1 - 1,5cm ở môi trường nhân chồi tốt nhất làm nguồn vật liệu thí nghiệm. Theo dõi các chỉ tiêu sau 45 ngày: Chiều cao chồi (cm), số rễ (rễ/mẫu), chiều dài rễ (cm), tỉ lệ mẫu ra rễ (%), đặc điểm rễ (đánh giá cảm quan).

Chăm sóc cây con dứa Thơm Sơn và dứa Long Phụng hậu nuôi cấy mô. Khảo sát khả năng thích ứng của cây dứa Thơm Sơn và cây dứa Long Phụng *in vitro* với điều kiện ngoài vườn ươm. Theo dõi chỉ tiêu sau 28 ngày: tỉ lệ cây sống (%) và quan sát hình thái của cây con ngoài vườn ươm.

Kỹ thuật trồng và chăm sóc cây in vitro ngoài vườn ươm: Khi cây dứa Thơm Sơn và cây dứa Long Phụng *in vitro* ở thí nghiệm 2 có rễ phát triển đầy đủ, cây cao từ 3 – 4cm, tiến hành rửa sạch môi trường và trồng cây trên giá thể đất tro trộn với xơ dừa, tro trấu theo tỉ lệ đất: xơ dừa: tro trấu = 1: 1:1. Tổng số cây con mang ra vườn trồng là 50 cây. Nước tưới: ngày tưới 2 lần vào các thời điểm 8h30 và 15h. Mỗi lần tưới trong khoảng 2 phút, 0,5lít/m².

Xử lý số liệu. Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng chương trình Statgraphic 3.0. Đọc kết quả dựa vào bảng ANOVA, bảng trung bình và bảng so sánh khác biệt giữa các nghiệm thức.

3. Kết quả thảo luận

3.1. Đối với giống dưa Thơm Sơn

Giai đoạn nhân nhanh

Thí nghiệm sử dụng BA kết hợp với NAA để kích thích quá trình phân chia tế bào và phát sinh chồi dưa Thơm Sơn (hình 1) và sau 60 ngày nuôi cấy kết quả thu được như ở bảng 1.

Nghiệm thức bổ sung NAA 0,1mg/l và BA 2,0mg/l có số chồi và chiều cao chồi là cao nhất, tương ứng với 3,8 chồi/mẫu và 1,02cm. Hầu hết khi nuôi cấy trên các nghiệm thức khác nhau có bổ sung NAA và BA, các mẫu cấy đều hình thành chồi mới. Trong đó, nghiệm thức có bổ sung NAA 0,1mg/l và BA 2,0mg/l có tỉ lệ mẫu hình thành chồi là cao nhất (100%). Các nghiệm thức còn lại có tỉ lệ mẫu hình thành chồi thấp hơn từ 80 – 95%. Mặt khác, trong quá trình quan sát các nghiệm thức nuôi cấy thì ở nghiệm thức có bổ sung 0,1mg/l NAA và 2mg/l BA chồi dưa Thơm Sơn có lá màu xanh non, chồi sinh trưởng khỏe và thân mập hơn (hình 1) so với các chồi dưa phát triển ở các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức NAA 0,1mg/l; BA 3mg/l và nghiệm thức NAA 0,2mg/l; BA 3mg/l là hai nghiệm thức có chồi bị chết sau 60 ngày nuôi cấy.

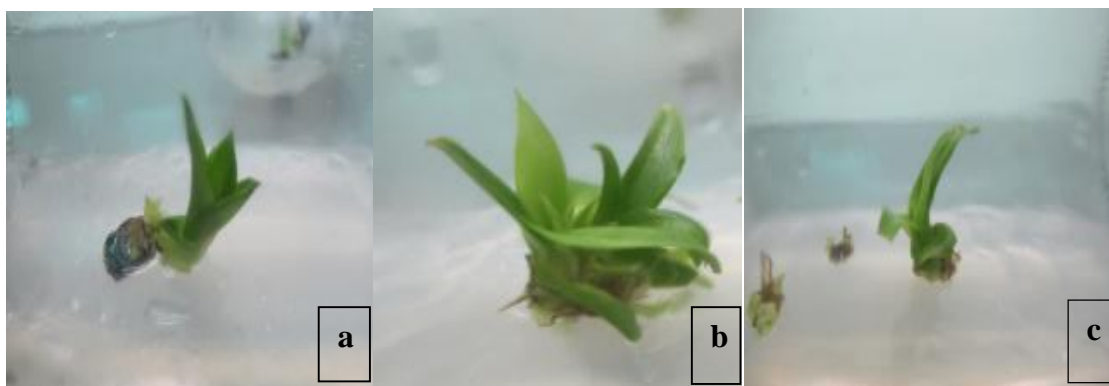
Bảng 1. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự nhân chồi dưa Thơm Sơn 8 tuần sau khi nuôi cấy

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Tỉ lệ mẫu hình thành chồi (%)	Đặc điểm chồi
0	0	2,0 ^c	0,67 ^{bc}	86,67	Chồi phát triển bình thường, lá màu xanh non
0,1	0,5	2,22 ^c	0,56 ^{cd}	93,33	Chồi nhỏ, lá có màu xanh non
	1,0	2,87 ^b	0,74 ^b	93,33	Chồi nhỏ, yếu, lá màu xanh non
	2,0	3,8^a	1,02^a	100	Chồi to, khỏe, lá màu xanh non
0,2	3,0	1,33 ^d	0,41 ^d	80	Có chồi bị chết
	0,5	2,2 ^c	0,7 ^{bc}	93,33	Chồi ít phát triển, nhỏ, lá màu xanh non
	1,0	2,33 ^c	0,51 ^d	93,33	Chồi phát triển bình thường, lá màu xanh non
	2,0	2,4 ^c	0,78 ^b	96,67	Chồi phát triển bình thường, lá màu xanh non
	3,0	1,47 ^d	0,52 ^d	93,33	Có chồi bị chết
F _{tính}		26,8**	12,61**	0,71 ^{ns}	
CV (%)		13,82	17,27		

Ghi chú: *: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$; **: khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$; ns: không có sự khác biệt; a, b, c, d, e: sự khác biệt của các nghiệm thức theo trắc nghiệm phân hạng LSD

Theo Bùi Trang Việt (2002) [1], tỉ lệ auxin/cytokinin cao giúp sự tạo rễ, còn auxin/cytokinin thấp giúp sự tạo chồi. Do đó, hầu hết ở thí nghiệm của chúng tôi đều sử dụng tỉ lệ auxin/cytokinin thấp nên sự tái sinh chồi dễ dàng.

Theo kết quả nghiên cứu của Amin (2005) [7], sự tái sinh chồi từ mô sẹo nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung BA 1,0mg/l và NAA 0,1mg/l cho tỉ lệ tái sinh chồi là 100%, với số lượng chồi và chiều cao chồi tương ứng là 18,5 chồi/mẫu và 5,28cm (Alvard, 1993) [6]. Trong khi ở thí nghiệm này, tỉ lệ mẫu tạo chồi cao nhất là 100%, nhưng số chồi và chiều cao chồi chỉ đạt 3,8 chồi/mẫu và 1,02 cm. Có sự khác biệt này có thể do nguồn vật liệu cấy ban đầu của thí nghiệm khác nhau nên thu được kết quả khác nhau.



Hình 1. Chồi dừa Thơm Sơn (*A. Bracteatus*) *in vitro* 8 tuần sau khi nuôi cấy trên các môi trường khác nhau.

a. BA 0 mg/l; NAA 0 mg/l; b. BA 2,0 mg/l; NAA 0,1 mg/l; c. BA 3,0 mg/l; NAA 0,2 mg/l

Giai đoạn tạo rễ của cây dừa Thơm Sơn

Chọn các cây con cao từ 2 - 3cm từ nghiệm thức nhân chồi 0,1mg/l NAA và 2mg/l BA tốt nhất cấy vào các môi trường tạo rễ được khảo sát và kết quả thu được sau 45 ngày sau khi cấy như ở bảng 2. Nghiệm thức có bổ sung NAA 1mg/l thu được chiều cao chồi 5,19cm, số rễ 13,27 rễ/mẫu và chiều dài rễ 0,93cm có sự khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức nuôi cấy còn lại.

Bảng 2. Ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ của cây dứa Thom Son 6 tuần sau khi nuôi cấy

NAA (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ (rễ/mẫu)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
0	3,72 ^d	6,33 ^d	2,55 ^a	Rễ dài, rất mảnh, rễ màu hơi nâu
0,5	4,56 ^b	9,73 ^c	0,75 ^c	Rễ ngắn, khỏe, màu trắng và có nhiều chồi ở gốc
1,0	5,19^a	13,27^b	0,93^b	Rễ ngắn, khỏe, màu trắng và có nhiều chồi ở gốc
1,5	4,5 ^b	14,4 ^a	0,74 ^c	Rễ ngắn, đầu rễ to tròn, giòn, màu trắng và có nhiều chồi ở gốc
2,0	4,11 ^c	14,73 ^a	0,69 ^c	Rễ ngắn, đầu rễ to tròn, giòn, màu trắng và có nhiều chồi ở gốc
F _{tính}	19,57**	119,03**	410,99**	
CV (%)	6,28	6,39	7,8	

Ghi chú: *: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$; **: khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$; ns: không có sự khác biệt; a, b, c, d, e: sự khác biệt của các nghiệm thức theo trắc nghiệm phân hạng LSD.

Ở các nghiệm thức bổ sung NAA 1,5mg/l và NAA 2,0mg/l, quan sát được rễ ngắn, đầu rễ to tròn, giòn, màu trắng và có nhiều chồi ở gốc. Điều này có thể là do nồng độ NAA cao ảnh hưởng đến sự hình thành rễ, chiều dài rễ và còn làm cho rễ phát triển có hình dạng không bình thường. Hơn nữa, ở các nghiệm thức có bổ sung NAA, sau 8 tuần nuôi cấy hầu hết các cây dứa đều đẻ chồi xung quanh, 7 – 8 chồi/mẫu. Điều này có thể do trên môi trường chỉ bổ sung NAA, thời gian đầu cây cảm ứng và tạo rễ nhưng nồng độ NAA càng cao thì rễ không thể kéo dài được. Vùng gần chóp rễ là cơ quan quan trọng tổng hợp cytokinin (Mai Trần Ngọc Tiếng, 2001) [2] cho nên làm mẫu cảm ứng tạo chồi, điều này giải thích tại sao ở các môi trường cảm ứng tạo rễ nhưng vẫn có sự tạo chồi.

Theo kết quả thu được của Amin và cộng sự (2005) [7], chồi dứa *in vitro* được cảm ứng tạo rễ trên môi trường ½ MS với các nồng độ khác nhau giữa các chất NAA, IBA hoặc IAA. Rễ hình thành tốt trên môi trường MS có bổ sung 0,2mg/l IBA và 0,2mg/l NAA (Alvard, 1993) [6]. Cũng tương tự như kết quả của (Atique, 2003) [8], khi chuyển chồi dứa *in vitro* vào nuôi cấy trong môi trường rắn có bổ sung NAA hoặc IBA riêng lẻ, hoặc phối trộn NAA và IBA thì chồi cho ra rễ. Tuy nhiên, khi chồi dứa nuôi cấy trong môi trường có bổ sung phối trộn NAA và IBA cho kết quả tốt hơn nếu như chồi dứa nuôi cấy trên môi trường bổ sung riêng lẻ NAA hoặc IBA (Duval, 2001) [9].



Hình 2. Ảnh hưởng của NAA lên sự hình thành rễ của cây dứa Thơm Sơn 6 tuần sau khi nuôi cấy

- | | |
|-----------------|-----------------|
| a. NAA 0 mg/l | b. 0,5 mg/l NAA |
| c. 1,0 mg/l NAA | d. 1,5 mg/l NAA |
| e. 2,0 mg/l NAA | |

Chăm sóc cây dứa Thơm Sơn hậu nuôi cấy mô

Các cây dứa Thơm Sơn *in vitro* thu được của thí nghiệm tạo rễ có từ 5 rễ trở lên, rễ dài 0,5cm, rễ khỏe, cây cao từ 3 – 4 cm đem ra trồng ngoài vườn ươm để khảo sát khả năng thích ứng của cây dứa Thơm Sơn *in vitro* với điều kiện ngoài vườn ươm. Tổng số cây con mang ra vườn trồng là 50 cây. Sau 4 tuần trồng cây ngoài vườn, quan sát có 90% cây con dứa Thơm Sơn phát triển bình thường. Cây con có hình dạng lá bình thường, hình dạng cây và sự sinh trưởng bình thường, không có biến dị hình thái. Do thời gian làm thí nghiệm hạn chế nên không thể khảo sát các điều kiện tự nhiên: ánh sáng, độ ẩm, chất dinh dưỡng, lượng nước tưới, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây dứa Thơm Sơn *in vitro* ngoài vườn ươm.

Kết quả tỉ lệ sống sót của dứa Thơm Sơn ngoài vườn ươm phù hợp với kết quả nghiên cứu của Amin (2005) [7], những cây dứa con *in vitro* tái sinh thành công được chuyển ra đất trồng và tỉ lệ sống sót đạt 90 % (Alvard, 1993). [6]



Hình 3. Cây dứa Thơm Sơn 4 tuần sau khi trồng ngoài nhà lưới

3.2. Đối với giống dứa Long Phụng

Giai đoạn nhân nhanh chồi

Cây dứa Long Phụng rất ít mọc cây con, khả năng nhân chồi thấp nên khó mở rộng diện tích trồng trong một thời gian ngắn, bởi thiếu nguồn cây con giống tốt. Để có thể cung cấp cây giống phục vụ cho nhu cầu sản xuất, chúng tôi tìm hiểu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng lên khả năng tạo chồi và nhân nhanh trong nuôi cấy *in vitro*. Do đó, trong thí nghiệm này sử dụng BA kết hợp với NAA để kích thích quá trình phân chia tế bào và phát sinh chồi dứa Long Phụng (*A. comosus*), sau 8 tuần nuôi cấy kết quả thu được như ở bảng 3.

Nghiệm thức có bổ sung BA 0,5mg/l và NAA 0,1mg/l có số chồi tạo ra cao nhất (5,4 chồi/mẫu) và chiều cao chồi cao nhất (2,80cm/cây).

Bảng 3. Ảnh hưởng của sự kết hợp BA và NAA lên sự nhân chồi dứa Long Phụng (*A. comosus*) 8 tuần sau khi nuôi cấy

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Tỉ lệ hình thành chồi (%)	Đặc điểm chồi
0	0	1,2 ^e	0,75 ^f	100	Chồi chậm phát triển, lá màu xanh đậm
0,3	0,1	2,8 ^b	2,04 ^b	93,33	Chồi phát triển tốt, lá có màu xanh non
0,5	0,1	5,4^a	2,8^a	100	Chồi mập, phát triển khỏe, lá màu xanh non
0,7	0,1	2,4 ^{bc}	1,2 ^d	100	Chồi chậm phát triển, lá màu xanh non
1,0	0,1	2,33 ^c	0,78 ^f	100	Xuất hiện cụm chồi nhỏ, lá màu xanh nhạt
0,3	0,2	2,47 ^{bc}	1,04 ^{de}	100	Chồi khỏe, lá màu trắng xanh
0,5	0,2	2,33 ^c	1,52 ^c	100	Chồi phát triển bình thường, lá

					màu xanh non
0,7	0,2	1,87 ^d	0,92 ^{ef}	93,33	Chồi ít phát triển, lá màu xanh non
1,0	0,2	1,53 ^{de}	0,95 ^{ef}	100	Có một số chồi phát triển không bình thường
F _{tính}		59,02 ^{**}	80,91 ^{**}	0,87 ^{ns}	
CV (%)		14,12	12,8		

Ghi chú: *: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$; **: khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$; ns: không có sự khác biệt; a, b, c, d, e, f: sự khác biệt của các nghiệm thức theo trắc nghiệm phân hạng LSD

Theo kết quả của Majid (2013) [11] khảo sát ảnh hưởng của cytokinin đến khả năng hình thành chồi của dứa Queen (*Ananas comosus* ‘Queen’) cho thấy, cụm chồi tăng trưởng trong môi trường MS bổ sung BA 0,5mg/l cho tỉ lệ hình thành số chồi cao (7,0 chồi/cụm). Tuy nhiên, chồi trong môi trường này nhỏ, với chiều cao của chồi là 2,72cm, ít lá và lá có diện tích nhỏ (1,74cm²). Trong khi ở thí nghiệm này, số chồi bên tạo ra cũng khá cao (cao nhất là 5,33 chồi/cụm). Chồi tạo ra phát triển tốt với chiều cao chồi (2,8 cm/chồi), chồi có nhiều lá.

Theo kết quả của Khan (2004) [10], chồi đỉnh dứa nuôi cấy trong môi trường MS hoặc ½ MS có bổ sung 5,0 mg/l BA cho số lượng chồi cao và chiều dài chồi tốt. Kết quả nghiên cứu của Abul – Soad (2006) cũng cho kết quả giống nhau khi nuôi cấy chồi dứa *in vitro* từ nách lá trong môi trường MS bổ sung 1mg/l BA và kinetin. Cũng như vậy, theo Adel (2011) [5], đã nghiên cứu sự tái sinh của cây dứa và sự phát triển chồi dưới sự ảnh hưởng của BAP 2,0 mg/l và NAA 0,2 mg/l trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Kết quả cho thấy BAP 2,0 mg/l cho hiệu quả tốt đến sự sinh trưởng và phát triển chồi cây dứa (Abul-Soad, 2006). [4]



Hình 4. Chồi cây dứa Long Phụng 8 tuần sau khi nuôi cấy

a. NAA 0 mg/l; BA 0 mg/l; b. NAA 0,1 mg/l; BA 0,5 mg/l; c. NAA 0,2 mg/l; BA 1,0 mg/l

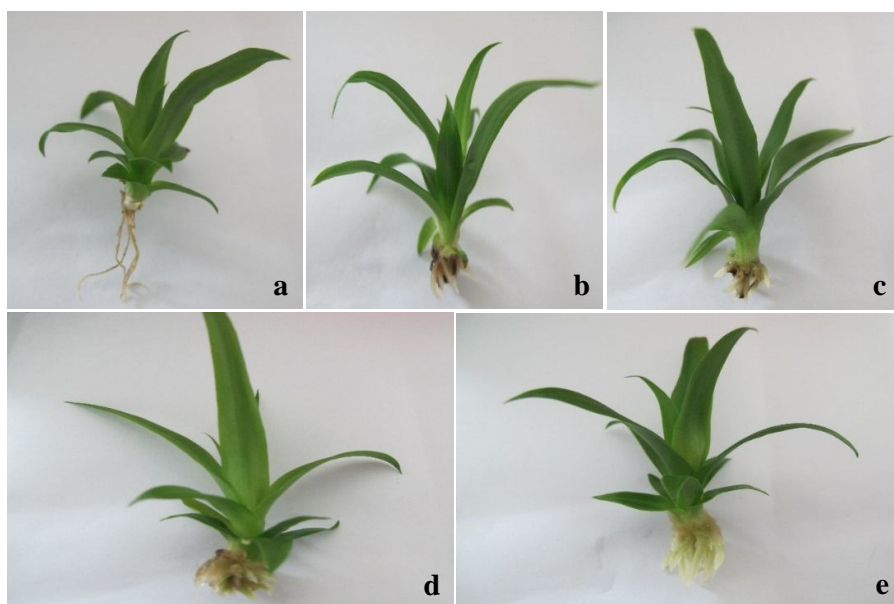
Sự tạo rễ của giống dưa Long Phụng

Kết quả thu được sau 45 ngày nuôi cấy như ở bảng 4. Nghiệm thức có bổ sung NAA 2mg/l thu được chiều cao chồi là 5,58cm, số rễ là 24,07 rễ/mẫu và chiều dài rễ là 1 cm, có sự khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức nuôi cấy còn lại.

Bảng 4. Ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ của dưa Long Phụng 6 tuần sau khi nuôi cấy

NAA (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ (rễ/chồi)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
0	3,79 ^c	3,97 ^d	1,93 ^a	Rễ dài, mảnh, rễ màu hơi nâu
0,5	3,67 ^b	19,8 ^b	0,83 ^c	Rễ khỏe, rễ màu trắng
1,0	4,37 ^b	16,27 ^c	0,87 ^c	Rễ khỏe, rễ màu hơi nâu
1,5	4,09 ^{bc}	19,2 ^b	0,77 ^c	Rễ khỏe, phân nhánh, rễ màu nâu
2,0	5,58^a	24,07^a	1,11^b	Rễ khỏe, phân nhánh, rễ màu hơi nâu
F _{tính}	12,99**	198,97**	49,54**	
CV (%)	9,35	7,25	13,74	

Ghi chú: *: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$; **: khác biệt rất có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,01$; ns: không có sự khác biệt; a, b, c, d, e, f: sự khác biệt của các nghiệm thức theo trắc nghiệm phân hạng LSD



Hình 5. Ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ của dưa Long Phụng 6 tuần sau khi nuôi cấy
 a. NAA 0 mg/l
 b. NAA 0,5 mg/l
 c. NAA 1,0 mg/l
 d. NAA 1,5 mg/l
 e. NAA 2,0 mg/l

Chăm sóc cây con dứa Long Phụng hậu nuôi cấy mô

Các cây dứa Long Phụng *in vitro* thu được của thí nghiệm 4 có từ 5 rễ trở lên, rễ dài 0,5cm, rễ khỏe, cây cao từ 3 – 4cm đem ra trồng ngoài vườn ươm để khảo sát khả năng thích ứng của cây dứa Long Phụng *in vitro* với điều kiện ngoài vườn ươm. Tổng số cây con mang ra vườn trồng là 50 cây. Sau 4 tuần trồng cây ngoài vườn, quan sát có 82% cây con dứa Long Phụng phát triển bình thường. Cây con có hình dạng lá bình thường, hình dạng cây và sự sinh trưởng bình thường, không có biến dị hình thái. Do thời gian làm thí nghiệm hạn chế nên không thể khảo sát các điều kiện tự nhiên: ánh sáng, độ ẩm, chất dinh dưỡng, lượng nước tưới, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây dứa Long Phụng *in vitro* ngoài vườn ươm.



Hình 6. Cây dứa Long Phụng sau 4 tuần trồng ngoài nhà lưới

4. Kết luận

Đối với dứa Thơm Sơn, môi trường để nhân chồi *in vitro* là môi trường MS có bổ sung 0,1mg/l NAA và 2mg/l BA, môi trường để ra rễ và tạo cây con hoàn chỉnh là môi trường MS có bổ sung NAA 1mg/l và tỉ lệ sống ngoài vườn ươm đạt 90%. Đối với dứa Long Phụng, môi trường thích hợp để nhân chồi *in vitro* là môi trường MS có bổ sung 0,1mg/l NAA và 0,5 mg/l BA, môi trường thích hợp để cảm ứng ra rễ và tạo cây con hoàn chỉnh là môi trường MS có bổ sung NAA 2,0mg/l và tỉ lệ sống ngoài vườn ươm đạt 82%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Trang Việt (2002), *Sinh lí Thực vật Đại cương*, phần I, Nxb Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
2. Mai Trần Ngọc Tiếng(2001), *Thực vật cấp cao*, Nxb Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
3. Võ Thị Bạch Mai (2004), *Sự phát triển chồi và rễ*, Nxb Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
4. Abul-Soad, A. A., Boshra, E. S. và Ali, H. S (2006), “An improved protocol for the micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.)”, *Assiut J. Agric. Sci.*, 37(3), pp.13-30.
5. Adel, M. A., Sharif, H. A. B. M. và Rosna, M. T (2011), “Effects of benzylaminopurine and shoot growth of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) *in vitro*”, *African Journal of Biotechnology*, 10(27), pp.5291 – 5295.
6. Alvard, D., Cote, F. và Teisson, C(1993), “Comparison of methods of liquid medium cultures for banana micropropagation, Effect of temporary immersion of explants”, *Plant Cell Tissues*, 32, 555-60.
7. Amin, M. N., Rahman, M. M., Rahman, K. W., Ahmed, R., Hossain, M. S., Ahmed, M. B (2005), “Large scale plant regeneration *in vitro* from leaf derived callus cultures of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr. Cv. Giant Kew)”, *International journal of botany*, 1(2), pp.128 – 132.
8. Atique, A. M., Biplab, K. K. và Shyamal, K. R(2003), “Callus induction and high-frequency plant regeneration of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.)”, *Plant tissue culture*, 13(2), pp.109 – 116.
9. Duval, M. F., Coppens, d'Eeckenbrugge G., Fontaine, A. và Horry, J. P. (2001), “Ornamental Pineapple: Perspective from Clonal and Hybrid Breeding”*Newsletter of the Pineapple Working Group, International Society for Horticultural Science*, 8, pp.13 – 14.
10. Khan, S.; Nasib, A. và Saeed, B.A. (2004), “Employment of *in vitro* technology for large scale multiplication of pineapples (*Ananas comosus*)”, *Pak. J. Bot.*, 36(3), pp.611-615.
11. Majid, A. I. et al. (2013), “Effect of cytokinin type and concentration, and source of explant on shoot multiplication of pineapple plant (*Ananas comosus* ‘Queen’) *in vitro*”, 10.2478/acas-2013-0002.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 02-6-2014; ngày phản biện đánh giá: 14-7-2014;
ngày chấp nhận đăng: 20-8-2014)