

NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN QUY TRÌNH NHÂN *IN VITRO* MỘT SỐ GIỐNG MÍA PHỤC VỤ PHÁT TRIỂN VÙNG NGUYÊN LIỆU TẠI KHU CÔNG NGHỆ CAO LAM SƠN, HUYỆN THỌ XUÂN, TỈNH THANH HÓA

Nguyễn Thị Minh Hồng¹, Lê Thị Hoài Linh²

TÓM TẮT

Ở nước ta cây mía là loại cây trồng cung cấp nguyên liệu chính cho ngành mía đường và được coi là một trong những cây trồng quan trọng trong cơ cấu cây trồng của vùng đồi, vùng trung du và miền núi. Trong nghiên cứu này, quy trình nhân giống in vitro giống mía gồm: LS1, LK92-198 và VN001 có năng suất, hàm lượng đường cao đã được hoàn thiện. Nguồn vật liệu đưa vào nuôi cấy khởi động ở cả 3 giống cần sử dụng là chồi đỉnh trên nền môi trường MS. Quá trình nhân nhanh chồi mía in vitro phù hợp nhất của cả 3 giống mía trên môi trường MS + 1 mg/l K + 1,5 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi đạt từ 4,6 - 5,7 chồi/cây. Tỷ lệ cây sống đưa ra ngoài vườn ương là 97,7% trên nền giá thể: 70% đất mùn +15% cát +10% trấu hun +5% lân.

Từ khóa: *Cây mía, giống, môi trường, in vitro.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây mía được trồng rộng rãi tại nhiều địa phương ở nước ta như các tỉnh Đồng bằng sông Hồng, Đồng bằng sông Cửu Long, Thanh Hóa, Nghệ An, Đồng Nai. Tuy nhiên, những năm gần đây ngành mía đường đang đứng trước nhiều khó khăn và thách thức do thiếu nguồn nguyên liệu phục vụ cho các nhà máy sản xuất đường, bên cạnh đó nhiều giống mía tại các địa phương cũng cho năng suất, chữ đường thấp, nguồn cây mẹ bị thoái hóa ảnh hưởng đến việc sản xuất lâu dài [5]. Nhiều giống mía nhập nội hoặc chọn lọc đã và đang nhiễm các bệnh nấm, vi khuẩn, virus, trùn của các loài sâu... dẫn đến thoái hóa giống, giảm năng suất và tăng chi phí thuốc phòng trừ sâu bệnh [2][3].

Nuôi cấy mô tế bào *in vitro* là một phương pháp hiện đại cho phép sản xuất giống sạch bệnh với quy mô lớn, sản xuất trong thời gian ngắn, cây con giống giữ được các đặc tính di truyền, hệ số nhân cao, độ đồng đều lớn, thể hiện tính ưu việt so với các phương pháp nhân giống truyền thống khác [1][6]. Sử dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào như một mắt xích ổn định, hiệu quả kinh tế cao trong hệ thống giống [7]. Nuôi cấy mô còn là phương pháp an toàn trong cung cấp giống sạch bệnh, giảm chi phí thuốc hoá học, an toàn cho việc nhập nội giống và thuận tiện trao đổi nguồn gen [3][4][6][7].

Trước tình hình đó, Trung tâm nghiên cứu và Phát triển nông nghiệp công nghệ cao Lam Sơn đã đi vào hoạt động với nhiều phòng chuyên môn phục vụ cho phát triển vùng mía

¹ Khoa Nông - Lâm - Ngư nghiệp, Trường Đại học Hồng Đức; Email: nguyenthiminhhong@hdu.edu.vn

² Công ty TNHH Trung tâm NC&PT Nông nghiệp Công nghệ cao Lam Sơn

nguyên liệu. Phòng nuôi cấy mô thực hiện nghiên cứu, chọn tạo, phục tráng các loại giống mía chất lượng cao để cung cấp cho vùng nguyên liệu và đã chọn được 3 giống mía mới (LS1, LK92-198 và VN001). Qua quá trình theo dõi, đánh giá cho thấy đây là những giống mía có năng suất, chất lượng cao, phù hợp với điều kiện sinh thái, khí hậu trong vùng. Ngoài ra trung tâm đã sản xuất hơn 4,3 triệu cây mía giống từ phương pháp nuôi cấy mô để phục tráng, nhân nhanh các giống mía tốt, chất lượng cao, sạch sâu bệnh và cung cấp trồng được gần 3.000 ha mía nguyên liệu. Do vậy chúng tôi đã tiến hành *nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân in vitro một số giống mía phục vụ phát triển vùng nguyên liệu tại Khu Công nghệ cao Lam Sơn, huyện Thọ Xuân, tỉnh Thanh Hoá.*

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật: Chồi đỉnh, chồi nách gần ngọn của các giống mía LS1, LK92-198 và VN001 đang thời kỳ sinh trưởng mạnh do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp công nghệ cao Lam Sơn cung cấp.

Hóa chất và môi trường nuôi cấy: Các muối đa lượng, vi lượng, vitamin sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô tế bào thực vật do Công ty Cổ phần Kỹ thuật và Sinh học ứng dụng Việt Nam cung cấp, như: agar, VTM, My Inositol, các chất điều hòa sinh trưởng bao gồm BAP (6-benzyl adenopurine), K (Kinetin), IAA (Indol Acetic acid) của hãng Sigma. Các nghiên cứu sử dụng trên môi trường nền MS (Murashige và Skoog, 1962), 30 g/l đường sacarozo, 6 g/l agar (pH 5,7 ± 0,1). Các giá thể sử dụng cho huấn luyện cây mô do Công ty Cổ phần phân bón Lam Sơn cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sử dụng phương pháp thí nghiệm tiến hành theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, mỗi công thức 30 mẫu.

Xác định ảnh hưởng của nguồn vật liệu chồi đến khả năng nhân nhanh chồi của các giống mía LS1, LK92-198 và VN001, mẫu được khử trùng bề mặt theo mô tả của tác giả Mai Thị Tân và cộng sự (2019), sau khi khử trùng xong, mẫu được nuôi cấy lên môi trường nền MS. Theo dõi các chỉ tiêu số chồi/mẫu, tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu nhiễm sau 3 tuần nuôi cấy.

Xác định ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng (BAP; K) đến hệ số nhân nhanh chồi mía. *in vitro* của các giống mía LS1, LK92-198 và VN001: các chồi *in vitro* 3 tuần tuổi được nuôi cấy lên môi trường nền MS bổ sung hoặc BAP (gồm các nồng độ: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l) hoặc BAP 1,0 mg/l kết hợp với Kinetin (gồm các nồng độ: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/l), theo dõi các chỉ tiêu: hệ số nhân chồi và chất lượng chồi sau 7 tuần nuôi cấy.

Xác định ảnh hưởng của nồng độ NAA đến quá trình hình thành rễ, tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh của các giống mía LS1, LK92-198 và VN001: những chồi mía sau khi kết thúc quá trình nhân nhanh được chuyển sang môi trường MS bổ sung NAA (gồm các nồng độ: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l), theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ ra rễ; số rễ TB/chồi, chiều dài rễ sau 4 tuần nuôi cấy.

Xác định ảnh hưởng của một số giá thể đến sinh trưởng và phát triển của cây mía ngoài vườn ươm trên những loại giá thể khác nhau thể hiện ở 5 công thức: 100% Đất mùn

(CT1 - đ/c); 70% Đất mùn + 30% cát (CT2); 70% Đất mùn + 20% cát + 10% trấu hun (CT3); 70% Đất mùn + 25% trấu hun + 5% lân (CT4); 70% Đất mùn + 15% cát + 10% trấu hun + 5% lân (CT5), theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ sống, số cây/khóm; chiều cao cây; số lá TB/cây sau 2, 4, 6 tuần.

Số liệu thu thập và xử lý kết quả bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và IRRISTAT 5.0. Giá trị thể hiện trong bảng là giá trị trung bình, sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được kiểm tra bằng phương pháp sai khác nhỏ nhất $LSD_{0.05}$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nguồn mẫu nuôi cấy đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* của các giống mía LS1, LK92-198 và VN001

Nguồn vật liệu ban đầu dùng để nuôi cấy mía là các chồi đỉnh, chồi nách nằm sát đỉnh sinh trưởng. Chồi đỉnh bóc hết lá, chồi nách gọt bỏ lớp vảy, cắt miếng $1,5\text{cm} \times 1,5\text{cm}$ và cấy trực tiếp lên môi trường nền MS + 30g/l đường + 6g/l agar theo dõi mẫu sau 3 tuần nuôi cấy. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Khả năng tạo chồi của ba giống mía LS1, LK92-198 và VN001 (sau 3 tuần nuôi cấy)

Giống	Loại chồi	Số mẫu đưa vào	Số chồi tạo thành	Số chồi nhiễm
LS1	Chồi đỉnh	30	35	1
	Chồi nách	30	30	3
LK92	Chồi đỉnh	30	38	1
	Chồi nách	30	30	2
VN001	Chồi đỉnh	30	34	2
	Chồi nách	30	30	2

Đối với nguồn vật liệu là chồi nách: Số mẫu đưa vào là 30 chồi và số chồi tạo thành đều là 30 chồi ở cả 3 giống mía. Như vậy mỗi chồi nách chỉ ra được 1 chồi mới. Số mẫu nhiễm của giống LS1 là 3/30 chồi (chiếm 10%), giống LK92 là 2/30 chồi (chiếm 6,7%), giống VN001 là 2/30 chồi (chiếm 6,7%).

Với nguồn vật liệu từ chồi đỉnh: Ở giống mía LS1 với số mẫu đưa vào là 30 chồi cho 35 chồi mới tạo thành, số chồi nhiễm là 1/30 chồi (chiếm 3,3%). Ở giống mía LK92-198 cùng số lượng mẫu đưa vào là 30 mẫu, nhưng số chồi tạo thành là 38 chồi, cao hơn 3 chồi so với giống LS1, số chồi nhiễm là 1 (chiếm 3,3%). Ở giống VN001, chồi đỉnh có số lượng chồi tạo thành cao nhất là 34 chồi, số mẫu nhiễm là 2 chồi (chiếm 6,8%). Như vậy, việc sử dụng chồi đỉnh là nguyên liệu ban đầu tốt hơn so với sử dụng chồi nách.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng đến quá trình nhân nhanh chồi *in vitro*

3.2.1. Ảnh hưởng các nồng độ BAP

Một số công trình nghiên cứu trong nước đã sử dụng ở nồng độ và tổ hợp khác nhau của các Cytokinin để nghiên cứu quá trình kéo dài chồi của các giống mía, BAP là chất điển hình của nhóm Cytokinin có tác dụng mạnh mẽ lên quá trình tạo chồi và kéo dài chồi [2][3].

Khi quá trình hình thành chồi kết thúc chúng tôi tiến hành cấy chuyển sang môi trường có bổ sung BAP để kéo dài chồi của giống mía LS1, LK92-198 và VN001. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP ở các nồng độ khác nhau đến quá trình nhân nhanh chồi *in vitro* của giống mía LS1, LK92-198 và VN001

CT	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu cây	Hệ số nhân chồi (Sau 7 tuần)			Chất lượng chồi
			LS1	LK92-198	VN001	
1	0,0	30	1,2	1,5	1,0	++
2	0,5	30	1,6	2,1	1,5	+++
3	1,0	30	3,3	3,9	2,8	+++
4	1,5	30	2,3	2,9	1,9	++
5	2,0	30	1,5	2,1	1,6	++
CV%			4,3	2,0	4,0	
LSD _{0,05}			0,16	0,19	0,14	

Ghi chú: +++ chồi khỏe, xanh đậm; ++ chồi trung bình; + chồi yếu

Trên môi trường MS không bổ sung BAP những chồi mía nhân giống sẽ cho hệ số nhân (HSN) chồi rất thấp. Ở giống mía LS1 chỉ đạt 1,2 chồi/mẫu; 1,5 chồi/mẫu với giống LK92-198 và VN001 là 1,0 chồi/mẫu, chồi mía xanh nhạt, cao.

Khi bổ sung nồng độ BAP từ 0,5 - 2,0 mg/l thì hệ số nhân đã có dấu hiệu tăng dần ở CT2 - CT3. Cụ thể: ở CT2 với 0,5 mg/l BAP, HSN tăng từ 1,2 lên 1,6 ở giống LS1, từ 1,5 lên 2,1 ở giống LK92 và 1,0 lên 1,5 ở giống VN001. Khi tăng nồng độ BAP lên 1,0 mg/l (CT3) thì hệ số nhân chồi là tốt nhất ở tất cả các giống với số chồi tạo thành ở LS1 là 99 chồi (HSN: 3,3) chồi mập, xanh đậm, LK92 là 116 chồi (HSN: 3,9) chồi mập, xanh đậm, VN001 là 86 chồi (HSN: 2,8) chồi mập, xanh đậm. Tiếp tục tăng nồng độ BAP lên từ 1,5 mg/l (CT4) - 2,0 mg/l (CT5), lúc này nồng độ quá cao đã gây ức chế quá trình sinh trưởng của mẫu ở tất cả các giống. Cụ thể là khi tăng nồng độ BAP lên 1,5mg/l số chồi lại có xu hướng giảm đi đáng kể, với giống LS1 giảm từ 99 chồi xuống còn 66 chồi (HSN giảm từ 3,3 xuống 2,3) tương tự với các giống LK92-198 giảm từ 116 xuống 86 chồi (HSN giảm từ 3,9 xuống 2,9), giống VN001 giảm từ 85 chồi xuống còn 61 chồi (HSN giảm từ 2,8 xuống 1,9).

Như vậy, nồng độ BAP 1,0 mg/l là nồng độ tối ưu đảm bảo cho HSN chồi là cao nhất ở các giống LS1, LK92-198 và VN001, kết quả này cao hơn so với giống mía Kim Tân đã được nghiên cứu trước đây (2,3 chồi/mẫu) [3].

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP kết hợp với Kinetin

Chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm Cytokinin là BAP đã được xác định có vai trò rất lớn trong quá trình nhân nhanh chồi của mía. Tuy nhiên, sự kết hợp giữa BAP và Kinetin trong môi trường nhân nhanh chồi mía cũng đã cho kết quả tốt đối với các giống mía từng nghiên cứu trước đó: Kim Tân, KK3 [2][3].

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP kết hợp với Kinetin đến quá trình nhân nhanh chồi *in vitro* của giống mía LS1, LK92-198 và VN001

CT	Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ K (mg/l)	Số mẫu cây	Hệ số nhân chồi (Sau 7 tuần)			Chất lượng chồi
				LS1	LK92-198	VN001	
1	1,0	0	30	3,3	3,9	2,8	+++
2	1,0	0,1	30	3,5	4,2	3,4	+++
3	1,0	0,2	30	4,9	5,7	4,6	+++
4	1,0	0,3	30	4,0	4,8	3,9	+++
5	1,0	0,4	30	3,5	4,6	3,4	++
CV%				2,2	2,2	3,4	
LSD _{0,05}				0,15	0,19	0,23	

Chú ý: +++ chồi mập, xanh đậm; ++ chồi trung bình; + chồi yếu

Từ kết quả bảng 3: Khi môi trường nhân nhanh được bổ sung nồng độ BAP cố định 1,0 mg/l và K dao động từ 0,1 - 0,4 mg/l (CT1 - CT5) đã kích thích quá trình phát sinh chồi ở các mẫu giống mía, hệ số nhân chồi tăng lên từ 3,3 - 4,9 lần ở giống LS1, giống LK92-198 là 3,9 - 5,7 lần và giống VN001 là 2,8 - 4,6 lần. Trong môi trường nuôi cây, nồng độ Kinetin tăng lên 0,2 mg/l (CT3) cho hệ số nhân chồi đạt cao nhất ở cả 3 giống mía nghiên cứu. Cụ thể: Giống LS1 đạt 4,9 chồi/cây; đạt 5,7 chồi/cây (LK92-198) và 4,6 chồi/cây ở giống VN001, chất lượng chồi tốt. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ K từ 0,3 mg/l (CT4) đến 0,4 mg/l (CT5) nhưng hệ số nhân chồi lại có xu hướng giảm xuống chỉ còn trung bình 3,5 chồi/cây ở giống LS1, HSN là 4,6 chồi/cây ở giống LK92-198 và 3,4 chồi/cây ở giống VN001, chất lượng chồi trung bình, thân cao, xanh nhạt. Hệ số nhân chồi giảm nguyên nhân là do khi bổ sung nồng độ K cao vượt ngưỡng cho phép sẽ gây ức chế đến hệ số nhân và chất lượng chồi của cả 3 giống mía. Như vậy, với nồng độ BAP 1,0 mg/l kết hợp với 0,2 mg/l Kinetin (CT3) đã cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 5,7 chồi/cây ở giống mía LK92-198; 4,6 - 4,9 chồi/cây ở giống LS1 và VN001.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ, tạo cây mía *in vitro* hoàn chỉnh

Ra rễ là giai đoạn rất quan trọng, quyết định khả năng sống còn của cây mía khi ra ngoài vườn ươm. Nếu tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ/chồi và chiều dài rễ không đạt yêu cầu, tỷ lệ chết của cây khi ra bầu đất sẽ rất lớn. Vì vậy, cần theo dõi kỹ và nhận định được môi trường ra rễ tốt nhất cho cây mía.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ, tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh của giống mía LS1, LK92-198 và VN001

Giống	Nồng độ NAA (mg/l)	Chỉ tiêu theo dõi (Sau 4 tuần)		
		Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ TB/chồi (rễ/chồi)	Chiều dài rễ TB (cm)
LS1	0,0	25,6	1,15	1,27
	0,5	71,1	2,28	2,47
	1,0	92,2	3,37	3,89
	1,5	81,1	2,14	2,35
	2,0	64,5	1,27	1,22

LK92-192	0,0	33,3	1,19	1,29
	0,5	78,9	2,32	2,44
	1,0	95,6	3,41	3,98
	1,5	85,5	2,20	2,31
	2,0	74,4	1,31	1,25
VN001	0,0	25,6	1,13	1,24
	0,5	73,3	2,21	2,43
	1,0	91,1	3,31	3,49
	1,5	82,2	2,18	2,29
	2,0	67,8	1,33	1,23

Việc sử dụng chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm auxin để kích thích sự ra rễ chồi mía trong nuôi cấy invitro là điều cần thiết. Cụ thể: ở CT1 (Đ/C) không bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy thời gian xuất hiện rễ muộn hơn so với các công thức còn lại, từ ngày thứ 12 trở đi rễ mới bắt đầu xuất hiện. Tỷ lệ rễ chỉ đạt từ 25,6 đến 33,3% ở các giống, việc xuất hiện rễ muộn và tỷ lệ ra rễ thấp do từ quá trình nhân nhanh và kéo dài chồi, lượng Cytokinin còn tồn dư trong mẫu cấy đã ảnh hưởng tới quá trình này.

Ở CT2 khi tăng nồng độ NAA lên 0,5mg/l các chỉ tiêu theo dõi có những phản ứng tích cực, thời gian xuất hiện rễ sớm hơn ngày thứ 10 rễ đã hình thành, tỷ lệ rễ dao động từ 71,1 - 78,9%, các chỉ tiêu theo dõi khác cũng có sự thay đổi, chiều dài rễ $2 \pm 0,44$ cm, số rễ/chồi $2 \pm 0,21$ ở giống LK92. Khi tăng nồng độ NAA lên 1,0 mg/l (CT3) các chỉ tiêu theo dõi đều tốt nhất, thời gian xuất hiện rễ chỉ sau 7 ngày nuôi cấy. Tỷ lệ ra rễ ở các giống tăng đáng kể, nằm trong khoảng từ 91,1 - 95,6%. Các chỉ tiêu về chiều dài rễ, số rễ/chồi đều đạt ở mức lý tưởng để có thể đưa xuống vườn ươm.

Kết quả ở 3 giống mía LS1, LK92-198, VN001 nghiên cứu cần bổ sung vào môi trường nuôi cấy nồng độ NAA 1,0mg/l để đạt tỷ lệ ra rễ cao nhất. Một số công bố trước đây của nhóm tác giả Redae và cộng sự (2018) đã chỉ ra rằng khi bổ sung 0,5 mg/l NAA vào môi trường nuôi cấy sẽ giúp cây mía ra rễ tốt hơn. Bên cạnh đó tác giả Hà Thị Thúy và cộng tác viên (2013) cũng nhận định môi trường có bổ sung 0,5 mg/l NAA là thích hợp nhất cho sự ra rễ *in vitro* ở 2 giống ROC 26 và BH1 [4].

3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số loại giá thể đến khả năng sống sót của cây mía *in vitro* giai đoạn vườn ươm

Các giá thể khác nhau có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ sống của các giống mía khi đưa ra vườn ươm. Việc lựa chọn giá thể là vô cùng quan trọng vì tỷ lệ cây sống ngoài vườn ươm chính là đánh giá sự thành công của quá trình nuôi cấy mô. Cây đưa ra ngoài vườn ươm bộ rễ còn đang yếu, cần có một giá thể phù hợp vừa giữ nước nhưng lại có độ thông thoáng đảm bảo cho quá trình hồi phục ban đầu cũng như sinh trưởng và phát triển sau này của cây giống. Giá thể cho tỷ lệ sống cao nhất là CT5 đạt tỷ lệ sống 97,7%, tiếp theo là giá thể CT4 tỷ lệ sống giảm còn 91,6%, CT3 cho tỷ lệ sống kém hơn 83,5%, CT2 chỉ đạt 76,8%. Thấp nhất là CT1 (Đ/C) tỷ lệ sống là 63,3%.

Như vậy, giá thể thích hợp cho sinh trưởng và phát triển mía trên vườn ươm là CT5 có tỷ lệ sống đạt 97,7% (Giá thể 70% đất mùn +15% cát +10% trấu hun +5% lân). Tỷ lệ cây

sống ở thí nghiệm nghiên cứu giá thể cao hơn nhiều so với nghiên cứu trước đây trên giống mía Kim Tân của tác giả Mai Thị Tân và cộng sự (2019), giá thể tiếp nhận cây mía *in vitro* là đất cho tỷ lệ sống sót của cây là 83,3% sau 2 tuần.

Bảng 5. Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến cây mía nuôi cấy mô ở vườn ươm

CT	Tỷ lệ sống (%)	Chỉ số phát triển của cây sau khi trồng								
		2 tuần			4 tuần			6 tuần		
		Cây/ khóm	Cao cây TB (cm)	Số lá TB/cây	Cây/ Khóm	Cao cây TB (cm)	Số lá TB/cây	Cây/ khóm	Cao cây TB (cm)	Số lá TB/cây
1	63,3	3	2,2	2,1	3	8,1	2,2	4	16,2	3,1
2	76,8	3	3,2	3,2	4	10,2	3,3	4	20,2	4,2
3	83,5	3	3,2	3,1	4	11,3	4,1	5	21,2	4,1
4	91,6	3	4,2	4,2	4	11,6	4,2	6	22,2	4,0
5	97,7	3	5,2	4,3	5	13,1	5,0	6	25,1	5,2



Hình 1. Một số hình ảnh về quá trình nhân nhanh *in vitro* cây mía LS1, LK92-198, VN001 ở các giai đoạn nhân giống

Ghi chú: (1) Vào mẫu; (2) Nhân nhanh; (3) Ra rễ; (4) Ra vườn ươm

4. KẾT LUẬN

Nguồn vật liệu chồi tốt nhất sử dụng để nuôi cấy mô *in vitro* các giống mía LS1, LK92-198, VN001 là chồi đỉnh. Nồng độ BAP 1,0mg/l kết hợp với 0,2 mg/l Kinetin đạt hệ số nhân chồi cao nhất ở cả 3 giống mía nghiên cứu. Cụ thể: ở giống LK92-198 đạt 5,7 chồi/cây; 4,6 - 4,9 chồi/cây ở giống LS1 và VN001. Nồng độ NAA phù hợp nhất cho sự hình thành rễ là 2,0 mg/l ở cả 3 giống mía đạt 91,1 - 95,6 %. Thành phần giá thể phù hợp để đưa cây ra ngoài vườn ươm là: 70% đất mùn +15% cát + 10% trấu hun +5% lân cho tỷ lệ cây sống 97,7%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phan Thị Thu Hiền (2022), *Nghiên cứu sự tái sinh một bước in vitro của giống mía KK3 (Saccharum officinarum L.)*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 65(5).
- [2] Lê Phi Long, Phan Thị Thu Hiền (2014), *Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống mía VN84-4137 bằng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nghệ An, Số 4(2014).

- [3] Mai Thị Tân, Vũ Thị Hoài, Lê Thị Thu Hằng (2019), *Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống in vitro cây mía tím kim tân*, Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, Số 1(98).
- [4] Hà Thị Thúy, Lê Huy Hàm, Đỗ Năng Vịnh (2002), *Nghiên cứu nhân nhanh một số giống mía mới bằng nuôi cấy mô callus lá non*, Tạp chí Nông nghiệp Công nghiệp Thực phẩm, Số tháng 10.
- [5] Đỗ Năng Vịnh (2005), *Công nghệ tế bào thực vật và ứng dụng*, Nxb. Nông nghiệp, Hà Nội.
- [6] Robert H. Smith (2000), *Plant Tissue Culture: Techniques and Experiment*, Publishers Dordech, The Neitherland.
- [7] Redae, M.H., Ambaye, T.G. (2018), *In Vitro propagation of sugarcane (Saccharum officinarum L.) variety C86-165 through apical meristem*, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Volume 14, April.

RESEARCHING ON COMPLETING *IN VITRO* PROPAGATION OF SOME SUGARCANE VARIETIES FOR DEVELOPMENT OF THE MATERIAL AREA IN LAM SON HIGH - TECH ZONE, THO XUAN DISTRICT, THANH HOA PROVINCE

Nguyen Thi Minh Hong, Le Thi Hoai Linh

ABSTRACT

In our country, sugarcane is a crop that provides the main raw materials for the sugar industry and is considered one of the important crops in the agricultural structure of hilly, midland, and mountainous areas. In this study, the process of in vitro propagation of sugarcane varieties, including LS1, LK92-198, and VN001, which have high yield and sugar content, was completed. The starting material for the starter culture in all three varieties used was the top brush on MS medium. The rapid multiplication of sugarcane shoots in vitro is most suitable on the MS medium supplemented with 1 mg/l K and 1.5 mg/l BAP, resulting in a shoot multiplication coefficient ranging from 4.6 to 5.7 shoots per plant. The percentage of live plants successfully acclimatized out of the nursery was 97.7% on the substrate composed of 70% humus, 15% sand, 10% charred rice husk, and 5% phosphorus fertilizers.

Keywords: *Sugarcane, varieties, medium, in vitro.*

* Ngày nộp bài: 10/4/2023; Ngày gửi phản biện: 19/4/2023; Ngày duyệt đăng: 8/10/2023