

# **BÁO CÁO TỔNG KẾT ĐỀ TÀI**

## **ỨNG DỤNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT TRONG NHÂN NHANH CÂY ĂN TRÁI, CÂY DƯỢC LIỆU VÀ CÂY RỪNG**

*- Phân hoạt động của các tỉnh phía Nam -*

**Mã số : KC 08 - 13**

**Chương trình : KC 08**

**Thời gian thực hiện : 1991 - 1995**

**Cơ quan thực hiện : Phân Viện Công Nghệ Sinh Học  
Viện Sinh Học Nhiệt Đới  
Trung Tâm KHTN & CN QG**

2684 - 2/2

20/7/1996

**ĐỀ TÀI CẤP NHÀ NƯỚC**

**ĐỀ TÀI KC 08 - 13**

*Phần hoạt động trong các tỉnh phía Nam*

Cán bộ khoa học tham gia đề tài

***Chủ nhiệm đề tài:*** PGS.PTS. Nguyễn Văn Uyển

***Thành viên:*** PTS. Trần Văn Minh  
PTS. Thái Xuân Du  
PTS. Nguyễn Ngọc Dung  
KS. Đoàn Thị Ái Thuyền  
KS. Bùi Thị Tường Thu  
KS. Nguyễn Thị Quỳnh  
KS. Nguyễn Đức Minh Hùng  
KS. Vũ Ngọc Phượng  
KS. Lê Tấn Đức

***Cố vấn đề tài:*** GS.TS. Vũ Công Hậu

***Cơ quan phối hợp:*** Trung Tâm Cây An Trái Long Định  
Đại Học Nông Lâm Nghiệp TP.HCM  
Leecho Co. Ltd.  
Công ty Chuối xuất khẩu PANVIET  
Công ty Cổ phần Nông nghiệp Hốc Môn

# MỤC LỤC

- A. Báo cáo tóm tắt**
  - I. Phần mở đầu
  - II. Những nhiệm vụ cụ thể của đề tài
  - III. Tóm tắt các kết quả đạt được
  
- B. Các nghiên cứu về cây chuối**
  - I. Đặt vấn đề
  - II. Điều tra tập đoàn giống chuối ở các tỉnh phía Nam
  - III. Công nghệ nhân giống chuối trong phòng thí nghiệm và vườn ươm
  - IV. Kết luận và đề nghị
  - V. Tài liệu tham khảo
  
- C. Các nghiên cứu về cây đu đủ**
  - I. Đặt vấn đề
  - II. Điều tra tập đoàn giống đu đủ ở miền Nam
  - III. Công nghệ phối soma trong công tác giống cây đu đủ
  - IV. Công nghệ vi nhân giống cây đu đủ
  
- D. Các nghiên cứu về nhân giống cây họ Citrus (cam, quýt, bưởi)**
  - I. Đặt vấn đề
  - II. Kỹ thuật vi ghép cam quýt
  - III. Kết luận và đề nghị
  - IV. Tài liệu tham khảo
  
- E. Các báo cáo khoa học đã công bố**
  
- F. Văn bản tổng kết đề tài KC 08-13**

*PHẦN A :*

***BÁO CÁO TỔNG KẾT***

---

## **Phần I : Mở đầu**

Nghị quyết 18/CP đã xác định vai trò của Công nghệ sinh học (CNSH) như một ngành khoa học mũi nhọn có tác động tích cực đến sự phát triển của nhiều ngành kinh tế quốc dân.

Nông nghiệp và nông thôn Việt nam là những địa bàn đòi hỏi cấp bách đưa vào ứng dụng các tiến bộ Công nghệ sinh học, trước hết tạo ra cuộc cách mạng xanh lần thứ 2, nói cách khác cuộc cách mạng trong công tác giống cây trồng.

Khoa học về giống đã có kể từ khi lúc con người nguyên thủy bắt đầu trồng trọt và đã phát triển qua hàng chục thế kỷ một cách tự phát, dẫn đến việc hình thành các tập đoàn giống cây trồng cực kỳ đa dạng, phong phú ngày nay. Từ sau Mendel bắt đầu một giai đoạn phát triển có định hướng của khoa học về giống mà các thành tựu Công nghệ sinh học hiện đại đã bổ sung thêm hàng loạt phương pháp cũng như nhận thức mới, làm cho khả năng chủ động và định hướng trong khoa học về giống của con người tăng lên gấp bội.

Ứng dụng của các phương pháp CNSH trong công tác giống cây trồng rất đa dạng, tuy nhiên, vẫn có thể xếp chúng vào một trong hai mục tiêu :

- 1/ Tăng tính đa dạng sinh học.
- 2/ Tăng tính đồng nhất sinh học.

Tính đa dạng sinh học cần thiết cho việc bổ sung cho cây trồng các tính trạng mới, làm cho cây trồng ngày càng có năng suất cao, phẩm chất tốt, ngắn ngày, và chống chịu tốt với các ngoại cảnh không thuận.

Tính đồng nhất sinh học, ngược lại, giúp cho sự thể hiện của các tính trạng ưu việt trên toàn bộ quần thể. nhờ đó, năng suất chất lượng và tính chống chịu của quần thể được tăng cường và bền vững.

Khi nói đến ứng dụng CNSH thực vật vào công tác giống, cũng là nói đến việc ứng dụng các phương pháp sinh học hiện đại để giúp con người tăng tính đa dạng di truyền và mặt khác tính đồng nhất của quần thể cây trồng nông nghiệp.

Khi đã chọn, tạo được các cá thể có tính ưu việt cao, việc tiếp theo bao giờ cũng là nhân giống để tạo nên các quần thể ưu việt. Các yếu cầu tự nhiên của công tác nhân giống mà nghiên cứu CNSH phải đáp ứng là :

- Tính đồng nhất cao.
- Tốc độ nhanh.
- Bảo vệ được sự xâm nhiễm của sâu, bệnh.
- Chi phí thấp.

Để tài KC 08-13 được xây dựng theo hướng đưa vào thực tiễn Việt nam các ứng dụng CNSH thích hợp để thỏa mãn 4 yêu cầu đó.

Khác với cuộc cách mạng xanh lần thứ nhất, trong đó đối tượng là cây lúa, cây lúa mì cây ngô và một số ít cây lương thực khác, các kết quả nghiên cứu CNSH đã được áp dụng vào hàng trăm loài cây nông, lâm nghiệp chủ yếu và mang lại những hiệu quả kinh tế rất lớn. Chỉ lấy cây khoai tây làm thí dụ : bên cạnh việc tạo ra các giống khoai tây mới kháng bệnh và năng suất cao, các phương pháp CNSH đang thực sự giúp các nước đang phát triển giảm đáng kể chi phí hàng trăm triệu đô la trong việc nhập giống khoai tây trước đây từ Châu Âu và Bắc Mỹ. Đặc biệt đối với hoa và cây cảnh, áp dụng CNSH vào chọn giống và nhân giống là việc bắt buộc nếu các Công ty hoa và cây cảnh muốn tồn tại và phát triển. Các thí dụ khác đang dần dần trở nên rõ ràng với cây ăn quả, cây công nghiệp, cây lương thực, cây làm thuốc và cây rừng.

Với lực lượng và cơ sở vật chất còn mỏng, để tài KC 08-13 đã thực hiện tập trung ứng dụng các phương pháp CNSH trong nhân giống 3 cây ăn quả quan trọng của địa bàn các tỉnh phía Nam :

- Cây chuối.
- Cây ăn quả có múi (cam quýt).
- Cây đu đủ.

Với cây ăn quả, nhiều kinh nghiệm trước đây thu được trong nghiên cứu các cây lương thực hàng năm (lúa, khoai tây) cây công nghiệp (mía, cà- phê) cây hoa cảnh (phong lan) không thể áp dụng được, từ việc xây dựng môi trường nuôi cấy đến xây dựng hệ thống cung cấp giống và kiểm tra giống. Cây ăn quả lại gắn rất chặt với kinh tế thị trường, rất dễ bị chao đảo về giá cả, thị hiếu. Những năm 1990-1995 đã chứng kiến sự lên ngôi và xuống cấp của một vài cây ăn trái ở Đồng bằng sông Cửu Long, ảnh hưởng không nhỏ đến kinh tế gia đình nông thôn.

## **Phần II : Những nhiệm vụ cụ thể đề tài.**

- 1/ **Sưu tập và đánh giá các giống cây ăn quả có giá trị (chuối, cam quýt, đu đủ) trong và ngoài nước.**
- 2/ **Xây dựng hệ thống nhân nhanh in vitro cho các cây nói trên từ các cá thể chọn lọc.**
- 3/ **Xây dựng kỹ thuật vườn ươm cho từng cây.**
- 4/ **Trồng thử trên đồng ruộng. So sánh với các cây tương tự nhân giống bằng công nghệ truyền thống.**
- 5/ **Đánh giá công nghệ nhân giống mới về tính khả thi và hiệu quả kinh tế.**

### **Phần III : Tóm tắt các kết quả đã đạt được**

I/ Cây chuối.

II/ Cây ăn quả có múi (cam quýt).

III/ Cây đu đủ.

# CÂY CHUỐI

## I/ ĐẶT VẤN ĐỀ.

Chuối là cây ăn quả có sản lượng lớn, dễ trồng, rất quen thuộc với hầu hết các địa phương ở nước ta. Ở các tỉnh phía Nam, từ Đà Nẵng đến Minh Hải, nơi nào cũng trồng được chuối, tuy nhiên thuận lợi nhất là những vùng có phù sa và ít bão từ Nha Trang trở vào.

Trước 1990, chuối Việt nam được xuất khẩu khoảng 6.000 Tấn/năm cho Liên xô (cũ) và Đông Âu, trong sản lượng cả nước ước tính 1,5 triệu tấn. Từ 1991 cho đến nay, ta đang cố gắng đi vào thị trường Châu Á, Trung Đông và Châu Âu.

Yếu tố hạn chế cần khắc phục là :

1/ Chuối tươi xuất khẩu là mặt hàng đòi hỏi có sản lượng lớn (mỗi chuyến xuất không dưới 5.000 Tấn và phải xuất liên tục mỗi tháng) và kiểm soát được chất lượng (thuần giống, độ chín đồng đều, bao gói tiêu chuẩn), thời gian từ lúc thu hoạch đến lúc lên tàu hoặc bảo quản nhiệt độ thấp rất ngắn.

Vì vậy, cách trồng chuối mỗi gia đình một ít như hiện nay hoàn toàn không thích hợp.

2/ Việc tổ chức các nông trường chuối lớn cũng có các đòi hỏi khá phức tạp :

- Vốn đầu tư ban đầu lớn (2.000 USD/ha)
- Nhu cầu giống lớn cùng một thời điểm (2 triệu cây con cho một nông trường 1.000 ha)
- Chuẩn bị tốt khâu thu hoạch, bao bì, vận chuyển, bảo quản lạnh trong khi chờ lên tàu.
- Địa điểm sản xuất phải gần cảng, trong bán kính 100 km.

Để tài KC 08-13 đặt nhiệm vụ xây dựng công nghệ và thực tiễn ứng dụng phương pháp nuôi cấy mô thực vật trong nhân giống các giống chuối thích hợp với thị trường quốc tế và đã thực hiện các việc sau :

- Thu thập đánh giá tập đoàn giống chuối.
- Xây dựng công nghệ nhân giống in vitro.
- Xây dựng công nghệ vườn ươm chuối cấy mô.
- Theo dõi sinh trưởng phát triển chuối cấy mô trên đồng ruộng.
- Đánh giá hiệu quả kinh tế.

Sau một số năm phát triển và ứng dụng công nghệ mới đến nay đã có thể kết luận : Việc ứng dụng công nghệ sinh học thực vật vào cây chuối không những là việc có tính khả thi cao mà còn là bắt buộc, nếu Việt nam muốn tạo mặt hàng chuối xuất khẩu. KC 08-13 mặt khác khẳng định bằng



các nỗ lực trong nước có thể đáp ứng số lượng nhu cầu bất kỳ về giống chuối tốt của các doanh nghiệp nhà nước hoặc tư nhân trong nước, hoặc nước ngoài. Xuất khẩu cây chuối giống cũng là một hướng khả thi để tài KC 08-13 để xuất để các doanh nghiệp xem xét.

## II/ VẬT LIỆU & PHƯƠNG PHÁP.

**Vật liệu :** Giống chuối được thu thập từ các tỉnh Nam Bộ để trồng trong tập đoàn, cùng với một số giống chuối của Đài loan, Pháp. Khảo sát về thực vật học và nông học.

Chọn giống Già cui (Bến Tre) thuộc nhóm Cavendish làm đối tượng nhân công nghiệp.

### + Đưa chuối vào nuôi cấy.

**Phương pháp :** Củ chuối tiêu chuẩn (6 tháng tuổi) được rửa sạch, vô trùng. Bộ phận mang các chồi nách được cắt ra và đặt trên môi trường tạo chồi.

### + Công nghệ tạo cụm chồi và nhân giống bằng cấy chuyển.

Đã so sánh nhiều tổ hợp môi trường để tạo cụm chồi từ mô cấy ban đầu. Môi trường thích hợp nhất là MS có phụ gia 5 mg/l BAP.

Duy trì tăng số lượng cá thể bằng cách cấy chuyển trên cùng môi trường.

### + Công nghệ tạo rễ và cây hoàn chỉnh.

Môi trường ra rễ được xác định là môi trường MS có bổ sung 1 g/l than hoạt tính và 0.5 mg/l NAA.

Các loại bình tam giác 250 ml, 300 ml không thích hợp cho cây chuối, vì vậy đã sử dụng loại bình nhựa.

## III/ TÓM TẮT CÁC KẾT QUẢ ĐÃ ĐẠT ĐƯỢC.

### 1/ Về giống chuối.

Sau nhiều đợt khảo nghiệm trong phòng và trên đồng ruộng đã xác định giống Già cui Bến Tre có đặc điểm tương đương với giống Cavendish Đài loan, khả năng kháng sigatoka cao hơn, vỏ dày hơn, thích hợp với thị trường chuối ở Nhật và Nam Triều Tiên.

Các giống khác, kể cả giống Williams của Pháp, chủ yếu sẽ được sử dụng trong các chương trình lai tạo.

### 2/ Về công nghệ nhân giống in vitro.

Sơ đồ 1 mô tả công nghệ nhân giống.

**Các điểm đáng chú ý :**

- Cần chọn cá thể tốt, trẻ (6 tháng) làm vật liệu khởi đầu. Tốt nhất cần luôn luôn có một vườn chuối giống (1000-2000 cây) được chăm sóc phòng bệnh đặc biệt làm vườn cây lấy mẫu.

- Kỹ thuật cắt củ và hủy đỉnh là kỹ thuật tế nhị, cần được huấn luyện mới đạt được tỷ lệ thành công cao.

- Việc nhân giống in vitro bằng cấy truyền chỉ nên làm không quá 7 thế hệ, có nghĩa từ 1 củ chuối chỉ nên nhân giống thành 2.000-3.000 cây. Nếu tiếp tục nhân có nguy cơ tỷ lệ các đột biến lùn sẽ tăng lên trên 5 %.

- Vì kích thước lớn, các loại bình tam giác 250 ml hoặc 300 ml thường dùng ở nước ta không thích hợp với việc nhân giống chuối in vitro. Vì vậy, cần thay thế bằng các loại bình nhựa rộng miệng, có thể hấp 121<sup>o</sup> C nhiều lần. Loại bình này công nghiệp nhựa trong nước hiện chưa sản xuất, vì vậy phải nhập từ nước ngoài.

- Tỷ lệ cytokinin/auxin có ảnh hưởng quan trọng đến hệ số nhân và khả năng tạo rễ. Cần điều chỉnh cân bằng này trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau cho thích hợp. Chú ý sử dụng than hoạt tính để hấp thu hết cytokinin khi không muốn có mặt chúng trong môi trường.

- Công nghệ vườn ươm của cây chuối tương đối đơn giản, vì cây chuối in vitro rất mạnh. Trên môi trường bụi dứa, khâu quan trọng nhất là giữ độ ẩm không khí ban đầu, phun dinh dưỡng và thuốc trừ sâu bệnh trong các giai đoạn sau.

**3/ Cây chuối cấy mô trên đồng ruộng.**

Từ 1992-1995, hàng triệu cây chuối cấy mô đã được trồng trên hàng ngàn ha ở nhiều tỉnh Nam Bộ, Nam Trung Bộ.

Các nhân xét cho thấy sự sinh trưởng, phát triển cá thể không có khác biệt gì đáng kể so với cây cùng giống trồng bằng củ theo phương pháp truyền thống.

Sau khi thu quả vụ 1, chuối cấy mô này nhiều con, chỉ để lại 1 con để thu quả vụ 2. Các con khác có thể đánh ra trồng trên diện tích mới.

Sau 3, 4 vụ, do sự tích lũy của sâu bệnh, toàn bộ vườn chuối phải đốn bỏ, đất được làm lại, xử lý hoặc luân canh và tiếp tục trồng bằng cây cấy mô.

Về tính đồng đều : Các theo dõi thống kê cho thấy vườn chuối cấy mô đạt độ đồng đều rất cao (về hình thái, ngày ra hoa, kết quả và thời điểm thu hoạch) so với vườn chuối của dân.