

RESEARCH ON SOME CULTURE CONDITIONS *Asparagus officinalis* IN VITRO

Vu Thanh Sac, Nguyen Thi Hai Yen*

TNU - University of Sciences

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 10/01/2022	The <i>Asparagus officinalis</i> L. is a high-grade vegetable with rich nutritional content. In addition to being used as an ornamental flower. Research on <i>in vitro</i> propagation of <i>Asparagus</i> in order to provide a uniform, disease-free and cost-effective seed source while meeting the increasing demand for seed is essential. In this study, the factors affecting disease-free prototyping, shoot proliferation, regeneration and shoot growth in <i>Asparagus officinalis</i> L. <i>in vitro</i> culture were investigated. The results showed that sterilization of asparagus seeds with HgCl_2 0.1% for 20 minutes gave the best results, the percentage of uninfected germinated seeds reaching 70.83%; Murashige & Skoog medium supplemented with 20 gL^{-1} sucrose; 2 mg L^{-1} BAP and 15% v/v coconut water were suitable for shoot growth from seeds (germination rate reached 90% with average height $3.27 \pm 0.35 \text{ cm}$ after 20 days of culture). A suitable growth promoter for <i>A. officinalis</i> L. shoot multiplication <i>in vitro</i> is the combination of BAP 2 mg L^{-1} with NAA 0.3 mg L^{-1} . Murashige & Skoog medium supplemented with sucrose 30 L^{-1} ; BAP 2 mg L^{-1} and NAA 0.3 mg L^{-1} gave the highest shoot multiplication factor, reaching 6.55 times, the shoots are in good quality, big, strong, and dark green.
Revised: 09/3/2022	
Published: 04/4/2022	
KEYWORDS	
<i>Asparagus officinalis</i> L	
<i>In vitro</i>	
Culture	
Sterilization	
Shoot growth	

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐIỀU KIỆN NUÔI CÂY MĂNG TÂY (*Asparagus officinalis*) IN VITRO

Vũ Thanh Sắc, Nguyễn Thị Hải Yến*

Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 10/01/2022	Măng tây (<i>Asparagus officinalis</i> L.) là loại rau cao cấp có hàm lượng dinh dưỡng cao, ngoài ra còn có tác dụng làm hoa cảnh. Nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> Măng tây để cung cấp nguồn con giống đồng đều, sạch bệnh và giảm chi phí đáp ứng nhu cầu giống ngày càng cao là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo mẫu sạch bệnh, sự phát sinh chồi, tái sinh và phát triển chồi trong nuôi cấy Măng tây <i>in vitro</i> đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, khử trùng hạt măng tây bằng HgCl_2 0,1% trong 20 phút cho kết quả tốt nhất, tỉ lệ hạt sống nảy mầm không nhiễm bệnh đạt 70,83%; Môi trường Murashige và Skoog bổ sung 20 gL^{-1} sucrose; 2 mg L^{-1} BAP và 15% v/v nước dừa thích hợp cho sự phát sinh chồi từ hạt (tỉ lệ nảy mầm đạt 90% với chiều cao trung bình $3,27 \pm 0,35 \text{ cm}$ sau 20 ngày nuôi cấy); Kích thích sinh trưởng thích hợp cho nhân chồi Măng tây <i>in vitro</i> là phối hợp BAP 2 mg L^{-1} với NAA $0,3 \text{ mg L}^{-1}$. Môi trường Murashige và Skoog bổ sung sucrose 30 L^{-1} ; BAP 2 mg L^{-1} và NAA $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ cho hệ số nhân chồi cao nhất, đạt 6,55 lần, các chồi có chất lượng tốt, to khỏe, xanh đậm.
Ngày hoàn thiện: 09/3/2022	
Ngày đăng: 04/4/2022	
TỪ KHÓA	
Măng tây	
<i>In vitro</i>	
Nuôi cấy	
Khử trùng	
Nhân chồi	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5449>

* Corresponding author. Email: yennth@tnu.edu.vn

1. Mở đầu

Măng tây là loài cây sống lâu năm được trồng phổ biến trên thế giới, có khả năng thích nghi với nhiều vùng khí hậu khác nhau. Măng tây là loại rau cao cấp với hàm lượng dinh dưỡng cao, được nhiều người ưa thích. Thành phần dinh dưỡng trong chồi non Măng tây gồm nước (93%), một số chất xơ và đường (4%), protein (2%, giàu asparagine), vitamin B và nhiều vitamin khác (đặc biệt chứa hàm lượng cao vitamin K). Ngoài ra, trong cây Măng tây cũng chứa khoáng chất như canxi, sắt, magiê, mangan, kẽm, photpho và crom (có chức năng tăng cường khả năng vận chuyển đường của insulin từ máu vào tế bào mô) [1], [2].

Măng tây được thu hái, chế biến và sử dụng rất đa dạng, làm rau tươi, đông lạnh hay sấy khô. Bên cạnh đó, Măng tây được biết đến là một loại dược liệu dân gian có nhiều tác dụng tốt trong phòng trị các bệnh về đường tiêu hóa, suy gan, thận, tiểu đường, tăng cường sinh lực và chống lão hóa hiệu quả. Ngoài ra, Măng tây còn được sử dụng như là loại hoa cảnh để trang trí nhà cửa, không gian sống [2].

Năm 2016, tổng diện tích sản xuất măng tây trên toàn thế giới là 3790 ha, sản lượng 18.600 tấn (www.statline.cbs.nl). Măng tây là loài thực vật có phổ sinh trưởng hẹp, nhiệt độ thích hợp để trồng là 25°C. Tuy nhiên, do những tiến bộ về công tác chọn giống, hiện nay đã có nhiều dòng Măng tây có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt trong những vùng nhiệt đới có biên độ dao động nhiệt rộng. Trên thế giới, hiện có ba loại được trồng phổ biến là Măng tây trắng, Măng tây xanh và Măng tây tím, trong đó Măng tây xanh có khả năng thích ứng tốt với nhiều vùng khí hậu hơn cả [3], [4].

Trước đây, việc nhân giống Măng tây chủ yếu được tiến hành theo phương pháp truyền thống là tách nhánh từ cây mẹ. Phương pháp này có nhiều hạn chế như hệ số nhân giống thấp, không đảm bảo sạch bệnh. Phương pháp nhân giống bằng hạt khó thực hiện với người nông dân vì Măng tây là cây phân tính khác thân dị hợp tử, việc thụ phấn tạo hạt khó tiến hành [5]. Do đó, hạt giống Măng tây thường được sản xuất bởi các đơn vị chuyên môn, tuy nhiên hạt có tỉ lệ nảy mầm không cao và giá thành đắt đỏ nên việc cung cấp giống Măng tây gặp nhiều khó khăn.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Măng tây được thực hiện từ khá lâu [6]. Tuy nhiên, các nghiên cứu cũng gặp khó khăn khi hệ số nhân giống thấp, tỉ lệ tạo rễ kém nên tỉ lệ cây sống ra vườn ươm thấp. Nuôi cấy măng tây *in vitro* phụ thuộc nhiều yếu tố như giống cây, mẫu cây, các chất kích thích sinh trưởng trong nuôi cấy và các loại môi trường khoáng [7], [8]. Mặc dù vậy, để có thể sản xuất con giống Măng tây chất lượng, các cây con đồng nhất và giữ được đặc tính của cây mẹ với số lượng lớn trong thời gian ngắn thì phương pháp nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô vẫn được xem là ưu việt nhất. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu thử nghiệm một số điều kiện và môi trường nuôi cấy Măng tây với mục đích phát triển một quy trình nhân giống hiệu quả để tạo ra các cây đồng nhất thông qua phương pháp nuôi cấy nhân giống *in vitro*.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Hạt cây Măng tây Atlas có nguồn gốc Mỹ được cung cấp bởi công ty trách nhiệm hữu hạn nông sản Dũng Hà nhập khẩu và phân phối. Chọn từ những hạt chắc, không bị bệnh, vỏ quả lành lặn.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Khử trùng mẫu hạt Măng tây

Trước khi khử trùng hạt được rửa sạch bằng xà phòng loãng dưới vòi nước chảy, sau đó đưa vào box cấy và được tiến hành qua các bước: (1) Tráng mẫu bằng cồn 70° trong 30 giây đến 1 phút, tráng lại 3-5 lần bằng nước cất vô trùng. (2) Mẫu được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian từ 10-20 phút. (3) Hạt sau khi ngâm HgCl₂ được tráng lại bằng nước cất vô trùng 3 đến

4 lần, sau đó thấm khô trên giấy thấm và cấy lên môi trường thí nghiệm. Hạt được nuôi trong bình và đặt dưới giàn đèn với cường độ chiếu sáng 2000 lux, nhiệt độ phòng nuôi $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.2.2. Tái sinh chồi và khảo sát các điều kiện nuôi cấy

Sử dụng môi trường khoáng MS làm nền [9], các chất bổ sung gồm đường saccharose, nước dừa, kích thích sinh trưởng (BAP, kinetin và NAA) và agar làm giá thể. Điều chỉnh pH môi trường ở 5,8 và hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm, trong 20 phút.

Nghiên cứu ảnh hưởng hàm lượng BAP đến khả năng nảy mầm của hạt Măng tây: Hạt Măng tây sau khử trùng được thử nghiệm với 5 công thức gieo hạt (ĐC: MS bổ sung đường 20 g/l + agar 8 g/l; Các CT1, CT2, CT3 được bổ sung BAP theo nồng độ lần lượt là 1; 2; 3 mg/l).

Nghiên cứu ảnh hưởng của nước dừa đến khả năng nảy mầm từ hạt Măng tây: Chọn công thức có nồng độ BAP cho kết quả tốt nhất, sau đó kết hợp với các nồng độ nước dừa khác nhau. Tiến hành 4 công thức thí nghiệm (CT1: MS + 8 g agar + 20 g đường + 2 mg/l BAP; Các CT2, CT3, CT4 được bổ sung nước dừa lần lượt là 10, 15 và 20%). Theo dõi tỉ lệ nảy chồi, chất lượng chồi sau 20 ngày.

Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân nhanh chồi: Các đoạn thân được cắt có mang nách chồi bên được cấy lên môi trường với 5 công thức thí nghiệm: ĐC: MS + agar 8 g/l + đường 30g/l; Các CT1, CT2, CT3 được bổ sung BAP theo nồng độ lần lượt là 1; 2; 3 mg/l). Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: số chồi đưa vào, số chồi phát sinh, hệ số nhân chồi, chiều cao chồi, chất lượng chồi.

Nghiên cứu ảnh hưởng của kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi: ĐC : MS + 8 g agar + 30 g đường; Các CT1, CT2, CT3 được bổ sung kinetin theo nồng độ lần lượt là 1; 2; 3 mg/l).

Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi: CT1: MS + 8 g agar + 30 g đường + 2 mg/l BAP; Các CT2, CT3, CT4, CT5 được bổ sung NAA theo nồng độ lần lượt là 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/l.

Xử lý số liệu: Bố trí thí nghiệm theo kiểu lặp lại 3 lần hoàn toàn ngẫu nhiên. Xử lý các số liệu thu được bằng Microsoft excel và sử dụng phần mềm SPSS để phân tích thống kê.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Kết quả khử trùng hạt và tái sinh cây Măng tây

+) Khử trùng hạt

Bảng 1. Kết quả khử trùng hạt Măng tây bằng HgCl_2

Thời gian khử trùng	Tổng số ống nghiệm	Số ống bị nhiễm	Số ống bị chết	Số ống có hạt nảy mầm	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)
10 phút	24	10	2	12	50,00
15 phút	24	5	5	14	58,33
20 phút	24	0	7	17	70,83

Hạt Măng tây được bao bọc trong lớp vỏ cứng nên ít chịu tác động của hóa chất khi khử trùng. Mẫu hạt Măng tây được tiến hành khử trùng theo các bước trình bày ở mục 2.2.1. Kết quả theo dõi cho thấy, Măng tây có thời gian nảy mầm tương đối ngắn, sau khi gieo hạt khoảng 7 đến 10 ngày hạt đã bắt đầu nứt và xuất hiện mầm nhỏ (hình 1A), mọc rất nhanh và có màu xanh nhạt, sau 2 tuần nuôi cấy chiều cao mầm có thể đạt 5 - 6 cm. Kết quả bảng 1 cho thấy, sử dụng HgCl_2 0,1% khử trùng hạt Măng tây cho hiệu quả cao, tỉ lệ mẫu nhiễm ít, tỷ lệ hạt nảy mầm khá cao. Khử trùng hạt Măng tây ở thời gian 10 phút cho tỉ lệ hạt không nhiễm và nảy mầm đạt 50,0%; tỉ lệ hạt không nhiễm và nảy mầm tăng lên cao ở thời gian khử trùng 20 phút đạt 70,83%. Như vậy, thời gian khử trùng 20 phút là phù hợp cho khử trùng hạt Măng tây, tỷ lệ hạt sống và nảy mầm tốt nhất trong các công thức thí nghiệm.

+) Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nảy mầm của hạt Măng tây *in vitro*

BAP được biết đến là một chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin có tác dụng kích thích sự nảy chồi. Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng BAP ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu tác động đến khả năng nảy mầm của hạt Măng tây. Các môi trường nuôi cấy được bổ sung BAP với nồng độ 0; 1; 2; 3 mg/l, kết quả thu được ở bảng 2 và hình 1B,C.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nảy mầm của hạt Măng tây sau 20 ngày nuôi cấy

CT	Nồng độ BAP (mg/l)	Tổng số mẫu (hạt)	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)	Chiều dài mầm (cm)	Tình trạng cây mầm
ĐC	0	30	33,33	1,42 ± 0,24	bình thường
CT1	1	30	66,67	2,18 ± 0,35	mạnh, xanh nhạt
CT2	2	30	80	3,27 ± 0,45	mạnh, xanh nhạt
CT3	3	30	73,33	5,24 ± 0,39	mạnh, yếu, xanh nhạt

Từ bảng 2 cho thấy, khả năng nảy mầm của hạt Măng tây gia tăng đáng kể khi bổ sung BAP. Bổ sung BAP 2 mg/l vào môi trường nuôi cấy cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất đạt 80%. Tuy nhiên, so với đối chứng, ở tất cả các môi trường bổ sung BAP, các chồi phát sinh đều có biểu hiện dài, mảnh và yếu hơn so với đối chứng.

+) Nghiên cứu ảnh hưởng nước dừa đến khả năng nảy mầm từ hạt Măng tây *in vitro*

Nước dừa từ lâu đã được dùng trong nuôi cấy mô thực vật. Những ảnh hưởng tích cực của nước dừa tới quá trình nuôi cấy được chứng minh do thành phần dinh dưỡng đa dạng và hàm lượng cytokinin tự nhiên nhất định trong nước dừa. Trong thí nghiệm này, nước dừa được bổ sung với các nồng độ 0%, 10%, 15%, 20%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nước dừa đến khả năng nảy mầm của hạt Măng tây sau 20 ngày nuôi cấy

CT	Hàm lượng nước dừa (%)	Tổng số mẫu (hạt)	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)	Chiều dài mầm (cm)	Tình trạng cây mầm
CT1	0	30	80	3,27 ± 0,35	cây mảnh, xanh nhạt
CT2	10	30	86,67	2,18 ± 0,36	cây mập, xanh đậm
CT3	15	30	90	3,27 ± 0,35	cây mập, xanh đậm
CT4	20	30	83,33	5,24 ± 0,29	cây mảnh, xanh đậm

Kết quả thu được (bảng 3) cho thấy, thời gian hạt nảy mầm được rút ngắn rõ rệt khi bổ sung nước dừa vào môi trường gieo hạt. Cụ thể chỉ sau 5, 6 ngày hạt đã nứt vỏ và nhú mầm, trong khi đó đối chứng là từ 7 đến 10 ngày. Bên cạnh đó, chất lượng của chồi cũng được cải thiện rõ rệt. Các chồi không còn trạng thái mảnh, yếu, xanh nhạt mà có kiểu hình mập, khỏe, có màu xanh đậm hơn. Trong các công thức thí nghiệm thì bổ sung 15% nước dừa cho tỷ lệ nảy mầm và chất lượng chồi tốt nhất, 90% hạt nảy mầm và các chồi đều khỏe, mập, xanh đậm.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi Măng tây *in vitro*

Nhân nhanh là quá trình quan trọng trong nuôi cấy mô vì quyết định hệ số nhân giống *in vitro*. Trong các môi trường nhân nhanh, bổ sung cytokinin để kích thích phát sinh chồi là cần thiết. Các cytokine phổ biến thường được sử dụng trong nghiên cứu trên đối tượng Măng tây là BAP, kinetin, TDZ... [10] [11]. Trong nghiên cứu này, BAP, kinetin và NAA được sử dụng để khảo sát môi trường phù hợp cho nhân nhanh chồi Măng tây *in vitro*.

+) Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

Việc bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP vào môi trường nuôi cấy có tác dụng làm gia tăng số chồi rất nhiều. Tất cả các nghiệm thức bổ sung BAP đều làm hệ số nhân chồi tăng cao hơn hẳn so với nghiệm thức đối chứng. Với các nồng độ BAP thay đổi từ 0 đến 3 mg/l, kết quả bảng 4 cho thấy, môi trường ĐC không bổ sung BAP có hệ số nhân chồi thấp chỉ đạt 2,31; ở nồng độ BAP 2 mg/l (CT3) hệ số nhân chồi đạt cao nhất với 6,23 lần, trong công thức thí nghiệm này, chiều cao và chất lượng chồi cũng tốt nhất (5,14±0,53 cm, cây mập và xanh đậm) (hình 1E).

Bảng 4. Ảnh hưởng của BAP đến nhân nhanh chồi Măng tây *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

CT	Hàm lượng BAP (mg/l)	Số chồi đưa vào	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Tình trạng cây mầm
ĐC	0	30	2,31	2,36 ± 0,51	cây mập, xanh
CT1	0,5	30	3,02	4,26 ± 0,35	cây mập, xanh
CT2	1	30	5,53	4,67 ± 0,63	cây mập, xanh đậm
CT3	2	30	6,33	5,14 ± 0,53	cây mập, xanh đậm
CT4	3	30	4,53	3,89 ± 0,44	cây mập, xanh đậm

+) Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi

Trong thí nghiệm này, kinetin được bổ sung với nồng độ từ 0 đến 3 mg/l (mục 2.2.2). Theo dõi kết quả nghiên cứu trong 30 ngày (bảng 5).

Bảng 5. Ảnh hưởng của kinetin đến nhân nhanh chồi Măng tây *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

CT	Kinetin (mg/l)	Số chồi đưa vào	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Tình trạng cây mầm
ĐC	0	30	2,63	2,89 ± 0,34	cây mảnh, xanh
CT1	0,5	30	4,01	3,13 ± 0,53	cây mảnh, xanh đậm
CT2	1	30	4,25	3,67 ± 0,52	cây mảnh, xanh đậm
CT3	2	30	6,32	4,13 ± 0,69	cây mập, xanh đậm
CT4	3	30	4,51	3,13 ± 0,52	cây mập, xanh đậm

Việc bổ sung kinetin vào môi trường nuôi cấy có tác dụng làm gia tăng số chồi đáng kể. Ngô Phương Ngọc và cộng sự (2015) khi sử dụng kích thích sinh trưởng cho nhân chồi măng tây nhận thấy, bổ sung kinetin nồng độ 4 mg/l cho hiệu suất nhân chồi tốt nhất [10]. Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy ở thí nghiệm này, kinetin cũng đáp ứng tương tự như BAP, không có sự khác biệt rõ rệt khi bổ sung kinetin hay BAP khi sử dụng nhân chồi. Cụ thể, môi trường ĐC không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng cho hệ số nhân chồi thấp, chỉ đạt 2,63 lần. Tất cả các nghiệm thức bổ sung kích thích sinh trưởng đều làm tăng hệ số nhân chồi hơn hẳn so với công thức đối chứng, cao nhất khi bổ sung BAP (hoặc kinetin) với nồng độ 2 mg/l. Ở môi trường bổ sung BAP thì chiều cao chồi nhỉnh hơn so với môi trường có chứa kinetin (hình 1E,F). Mặt khác, BAP là kích thích sinh trưởng thông dụng hơn, nên tạm thời kết luận rằng sử dụng BAP với nồng độ 2 mg/l cho hệ số nhân nhanh tốt nhất đạt 6,32 lần, chiều cao chồi đạt 5,14 ± 0,53 cm, chồi mập và xanh đậm.

+) Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi cây Măng tây *in vitro*

Trên nhiều đối tượng nuôi cấy, bổ sung kết hợp cả cytokinin và auxin có tác dụng hoạt hóa tốt quá trình nhân nhanh *in vitro*. Trong thí nghiệm này, sự kết hợp BAP và NAA được thử nghiệm để theo dõi hệ số nhân nhanh cây măng tây *in vitro*, kết quả nghiên cứu được trình bày trên bảng 6.

Từ bảng số liệu thu được thấy rằng, việc phối hợp chất điều hòa sinh trưởng thuộc 2 nhóm cytokinin và auxin vào môi trường nuôi cấy có tác dụng làm gia tăng số chồi nhiều hơn so với môi trường chỉ bổ sung cytokinin. Điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó trên đối tượng Măng tây và rất nhiều cây trồng khác [12]. Cụ thể trong thí nghiệm này, sử dụng BAP 2 mg/l kết hợp với NAA ở nồng độ từ 0 - 0,4 nhận thấy, tất cả các công thức đều làm tăng hệ số nhân chồi cao hơn so với nghiệm thức đối chứng, CT3 (bổ sung NAA 0,3 mg/l vào môi trường chứa 2 mg/l BAP) cho hệ số nhân chồi cao nhất 6,55 lần, các chồi đều khỏe mạnh, có chất lượng tốt.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi cây Măng tây *in vitro*

CT	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi đưa vào	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Tình trạng cây mầm
ĐC		0	30	5,03	4,25 ± 0,05	cây mập, xanh đậm
CT1		0,1	30	5,48	4,37 ± 0,33	cây mập, xanh đậm
CT2	2	0,2	30	6,04	4,61 ± 0,32	cây mập, xanh đậm
CT3		0,3	30	6,55	5,01 ± 0,46	cây mập, xanh đậm
CT4		0,4	30	5,19	4,61 ± 0,38	cây mập, xanh đậm



Hình 1. Một số hình ảnh nuôi cấy nhân giống Măng tây *in vitro*

A). Hạt Măng tây nảy mầm sau khử trùng; B). Hạt Măng tây nảy mầm trên môi trường bổ sung BAP 2 mg/l sau 10 ngày nuôi; C) Hạt Măng tây nảy mầm trên môi trường bổ sung BAP 2 mg/l sau 35 ngày nuôi; D). Chồi Măng tây đưa vào nhân nhanh; E). Chồi Măng tây trên môi trường bổ sung BAP sau 4 tuần; F). Chồi Măng tây trên môi trường bổ sung kinetin sau 4 tuần

Trong nghiên cứu vi nhân giống thực vật nói chung, các chất kích thích sinh trưởng thực vật (PGR) thuộc các nhóm auxin, cytokinin và giberinin được sử dụng thường xuyên, bao gồm BAP, kinetin, TDZ, NAA, IBA... trong đó BAP, kinetin và NAA là phổ biến nhất. Các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và phân hóa sự hình thành chồi, do đó thường được sử dụng trong giai đoạn phát sinh và nhân nhanh chồi. Các chất kích thích sinh trưởng thường được sử dụng ở dạng đơn lẻ hoặc dưới dạng kết hợp, có thể trong cùng nhóm, có khi thuộc các nhóm khác nhau trong môi trường nuôi cấy [12]. Trong nghiên cứu này, kết quả chúng tôi thu được cho thấy môi trường bổ sung kết hợp BAP 2 mg/l và NAA 0,3 mg/l cho tỉ lệ nhân chồi tốt nhất, điều đó hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây khi sử dụng kết hợp các chất thuộc kích thích sinh trưởng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật. Nghiên cứu của Li và cộng sự (2013) khi nghiên cứu trên các loài thuộc chi *Dendrobium* cho thấy, môi trường thích hợp để tạo chồi và cảm ứng ra rễ giữa các loài khác nhau là khác nhau. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA; 0,1 mg/l NAA; 100 ml/l nước dừa thích hợp để tạo chồi trong quá trình nuôi cấy loài *D. pendulum* và *D. primulinum* là còn môi trường MS bổ sung 0,25 mg/l BA; 0,1 mg/l NAA và 100 ml/l nước dừa lại phù hợp với nuôi cấy *D. heterocarpum* [13]. Bên cạnh việc bổ sung các kích thích sinh trưởng, các môi trường nuôi cấy *in vitro* thường được bổ sung thêm dịch chiết một số loại củ quả như khoai tây, cà rốt, chuối để kích thích quá trình nuôi cấy giúp cây sinh trưởng nhanh và có chất lượng tốt hơn [14]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nước dừa khi bổ sung vào môi trường nảy mầm đã cho kết quả tốt hơn khi không bổ sung. Ngoài kích thích sinh trưởng và dịch chiết củ quả, các nghiên cứu nhân giống *in vitro* Măng tây còn cho thấy môi trường khoáng có ảnh hưởng tích cực tới nuôi cấy *in vitro*, Hoàng Thị Thủy và cộng sự (2020) nghiên cứu thử nghiệm 4 loại môi trường khoáng để nuôi cấy Măng tây gồm LV, MS, B5 và WPM, kết quả cho thấy môi trường LV là môi trường tốt nhất với số chồi phát sinh, chiều cao chồi và số lá/chồi đạt cao nhất, kém nhất là môi trường WPM. Nghiên cứu cũng tìm ra kích thích sinh trưởng phù hợp cho nhân chồi là BA với hàm lượng 1 mg/l [11]. Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng môi trường khoáng MS là môi trường với thành phần cơ bản và phù hợp với đại đa số cây trồng, kết quả thu được hoàn toàn khả quan, là tiền đề để hoàn thiện quy trình nuôi cấy *in vitro* Măng tây phục vụ công tác giống.

4. Kết luận

Một số điều kiện trong nghiên cứu nhân giống *in vitro* Măng tây đã được khảo sát: (1) Khử trùng tạo mẫu hạt sạch bệnh hạt Măng tây bằng HgCl_2 0,1% trong 20 phút; (2) Môi trường MS bổ sung 20 g/l sucrose; 8 g/l agar; 2 mg/l BAP và 10% nước dừa thích hợp cho sự phát sinh chồi từ hạt; (3) Môi trường MS bổ sung đường 30 g/l sucrose; 8 g/l agar; 2 g/l BAP + 0,3 mg/l NAA thích hợp cho sinh trưởng và phát triển chồi Măng tây *in vitro*, hệ số nhân chồi cao nhất đạt 6,55 lần với chiều cao đạt $5,01 \pm 0,46$ cm, chồi mập khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] A. Hamdi, A. Jiménez-Araujo, R. Rodríguez Arcos, S. J. Carmona, M. Lachaal, N. K. Bouraoui, and R. Guillén-Bejarano, "Asparagus Saponins: Chemical Characterization, Bioavailability and Intervention in Human Health," *Nutri Food Sci Int J*, vol. 7, p. 555704, 2018.
- [2] R. Link, "The 14 Healthiest Vegetables on Earth," 2017. [Online]. Available: <https://www.healthline.com/nutrition/14-healthiest-vegetables-on-earth#section15>. [Accessed Sept. 26, 2019].
- [3] J. Słupski, A. Korus, Z. Lisiewska, and W. Kmiecik, "Content of amino acids and the quality of protein in as-eatengreen aspar agus (*Asparagus officinalis* L.) products," *J Food Sci Tech*, vol. 45, pp. 733-739, 2010.
- [4] P. Eirini, M. Roland, and P. Acharya, "Green and White Asparagus (*Asparagus officinalis*): A Source of Developmental, Chemical and Urinary Intrigue," *Metabolites*, vol. 10, no. 1, p. 17, 2019.
- [5] Y. Desjardins, "Micropropagation of *Asparagus officinalis* L.," *Agriculture and forestry*, vol. 19, pp. 26-41, 1992.
- [6] G. Reuther, *Asparagus: Handbook of plant cell culture*, vol. 2, Newyork, McMillan, 1984, pp. 211-242.
- [7] Z. D. Chen, "Studies of technology systems for tissue culture and rapid propagation of *Asparagus officinalis* L.," *Southwest China J Agric Sci*, vol. 20, no. 3, pp. 470-473, 2007.
- [8] K. Górecka, D. Krzyżanowska, and R. Górecki, "The effect of different factors on asparagus rooting *in vitro* and adaptation," *Materiały konferencji i obrad sekcji 51 Zjazdu PTB, Gdańsk*, 167 [in Polish] 1998.
- [9] T. Murashige and F. Skoog, "A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures," *Physiologia Plantarum*, vol. 15, pp. 473-497, 1962.
- [10] P. N. Ngo and N. P. Lam, "Micropropagation of *Asparagus officinalis* L.," *Science Journal of Can Tho University. Part B: Agriculture, Fisheries and Biotechnology*, vol. 40, no. 2, pp. 83-89, 2015.
- [11] T. T. Hoang, B. H. Cao, T. P. H. Mai, and T. V. Do, "Micropropagation of *Asparagus officinalis* L.," *Journal of Science and Technology, Nguyen Tat Thanh University*, vol. 9, pp. 33-39, 2020.
- [12] Y. Li, D. H. Zhu, H. T. Pan, and Q. X. Zhang, "In vitro propagation of three *Dendrobium* species from stems," *J Northeast Forest Univ*, vol. 41, pp. 77-81, 2013.
- [13] T. T. Dang, N. B. H'Yon, T. T. H. Nguyen, V. K. Dinh, V. D. Nong, T. V. Tran, V. H. Quach, and K. C. Vu, "Micropropagation of *Dendrobium heterocarpum* Lindl.," *Journal of Biotechnology*, vol. 16, pp. 127-135, 2018.
- [14] M. O. Islam, S. Matsui, and S. Ichihashi, "Effect of complex organic additives on seed germination and carotenoid content in *Cattleya* seedlings," *Lindleyana*, vol. 15, pp. 81-88, 2000.