

NHÂN NHANH CÂY NƯA (*Amorphophallus krausei*) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ VÀ TẾ BÀO THỰC VẬT

LÊ XUÂN ĐẮC ⁽¹⁾, NGUYỄN VĂN DƯ ⁽²⁾

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Nưa (hay Khoai Nưa) - *Amorphophallus* thuộc họ Ráy (Araceae), bộ Ráy (Arales), lớp Một lá mầm (Monocotyledone). Trên thế giới chi Nưa có khoảng 200 loài phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới thuộc châu Phi và Đông Nam Á. Ở Việt Nam chi này bao gồm khoảng 25 loài. Hiện nay, nhiều loài Nưa được nghiên cứu và triển khai trồng với diện tích lớn ở nhiều nước như Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản, New Zealand... (Nguyễn Văn Dư, 2005; An *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2006, Douglas *et al.*, 2005). Trong chi Nưa, một số loài củ có chứa nhiều bột glucomannan, loại bột này được dùng nhiều trong thực phẩm và thực phẩm chức năng có thể điều chỉnh nồng độ đường, làm giảm tỷ lệ mỡ trong máu, làm giảm sự thèm ăn ở người béo phì. Ở Việt Nam có phân bố của một số loài Nưa có hàm lượng glucomannan tương đối cao, có triển vọng phát triển thành nguồn nguyên liệu sản xuất bột glucomannan, trong số đó có loài Nưa *Amorphophallus krausei*. Cây Nưa không chỉ có giá trị về mặt thực phẩm mà còn có ý nghĩa trong việc chống xói mòn đất, duy trì ổn định thảm thực vật giúp cân bằng hệ sinh thái (Nguyễn Văn Dư, 2005; Đỗ Tất Lợi, 2005; An *et al.*, 2010, Joyce and Barbara, 2005).

Trong tự nhiên, cây Nưa được nhân giống từ hạt hoặc sinh sản sinh dưỡng bằng cách củ mẹ sinh ra các củ con. Tuy nhiên, ở Việt Nam số lượng mỗi loài Nưa ngoài tự nhiên không lớn, nên lượng củ giống phục vụ cho sản xuất khá hạn chế. Bên cạnh đó, việc sử dụng cây giống bằng hạt cũng khó khăn vì các loài Nưa thường vài năm mới ra hoa một lần, việc tìm và thu lượm hạt để phục vụ sản xuất ít khả thi. Vì vậy, muốn phát triển nguồn nguyên liệu củ cây Nưa để sản xuất bột glucomannan cho công nghiệp chế biến thực phẩm và thực phẩm chức năng thì vấn đề nghiên cứu các biện pháp để nhân giống cây Nưa là rất quan trọng. Ngày nay, kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật là một trong những kỹ thuật rất quan trọng của công nghệ sinh học thực vật. Những thành tựu mà nuôi cấy mô và tế bào thực vật đạt được đã chứng tỏ khả năng ứng dụng hiệu quả trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là nhân nhanh và bảo tồn các loài thực vật quý hiếm, các giống cây trồng có giá trị kinh tế cao (Nguyễn Thanh Danh và cộng sự, 2005; Nguyễn Văn Dư, 2012; Nguyễn Văn Vịnh, 2005; Hu *et al.*, 2008).

Từ những cơ sở lý luận và thực tiễn trên có thể thấy, việc nghiên cứu nhân nhanh cây Nưa (*Amorphophallus krausei*) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật để phục vụ bảo tồn và sản xuất giống là rất cần thiết. Bài báo trình bày một số kết quả nhân nhanh cây Nưa bằng kỹ thuật nuôi cấy mô nhằm tạo ra được một lúc số lượng lớn và đồng đều cả thể cây Nưa và đảm bảo cây Nưa sạch bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Củ giống cây Nưa (loài *Amorphophallus krausei*) thu thập tại Mang Yang, tỉnh Gia Lai do Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật cung cấp.

- Dụng cụ và hóa chất nghiên cứu: Các trang thiết bị như box cấy vô trùng, cân phân tích, hệ thống giàn đèn, nồi hấp tiệt trùng... Môi trường MS sử dụng trong nghiên cứu gồm các muối đa lượng và vi lượng, các chất hữu cơ và vitamin theo Murashige và Skoog (1962), đường saccharose, agar, các chất kích thích sinh trưởng thực vật (chất kích thích sinh trưởng)...

- Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ 25 - 27°C, thời gian chiếu sáng 12h/24h với cường độ chiếu sáng 2000lux, pH môi trường nuôi cấy 5,8.

- Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng Thực vật dân tộc - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật; Trại Thực nghiệm sinh học - Viện Công nghệ sinh học; Thời gian nghiên cứu từ tháng 6/2011 đến tháng 4/2013.

- Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần với số mẫu lớn hơn 30, số liệu được xử lý thống kê sinh học và sai số chuẩn tính theo hàm SE.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tạo nguyên liệu vô trùng trong ống nghiệm

- Dùng nước xà phòng loãng rửa sạch mẫu chồi 2 - 3 lần; dùng dao chuyên dụng cắt bỏ các phần ngoài của đỉnh sinh trưởng, cắt lấy đỉnh sinh trưởng có kích thước khoảng 2 - 3 cm để khử trùng.

- Khử trùng bằng cồn 70% trong 30 giây, khử trùng bằng dung dịch javel (NaClO 1%) trong 10 phút, lắc nhẹ liên tục. Rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3 lần. Cấy đỉnh sinh trưởng vào bình nuôi cấy có chứa môi trường dinh dưỡng (MS cơ bản + 20g/l đường + 8g/l agar) (Murashige and Skoog, 1962).

2.2.2. Tạo đa chồi để nhân nhanh trong ống nghiệm

- Sau khi nuôi cấy đỉnh sinh trưởng khoảng 5 - 6 tuần, đỉnh sinh trưởng phát triển thành các chồi non dài khoảng 2 - 3 cm. Dùng dao cắt bỏ phần lá và cuống lá, cắt chồi theo chiều dọc thành 3 - 4 mẫu; cấy các mẫu cắt vào bình nuôi cấy có chứa môi trường nhân cây (MS cơ bản + 20g/l đường sucrose + 8g/l agar + chất kích thích sinh trưởng tạo đa chồi là BAP (6-Benzyl Amino Purine) và NAA (α -Naphthalen Acetic Acid) hoặc IBA (Indoly Butyric Acid) (Anil *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2008).

- Sau 4 tuần từ 1 mẫu nuôi cấy sẽ tạo ra 4 - 8 chồi con, tách các chồi lớn hoặc cụm chồi nhỏ để cấy tiếp trên môi trường nhân cây hoặc tạo cây hoàn chỉnh.

2.2.3. Tạo cây hoàn chỉnh

Chọn những chồi to khỏe của cụm chồi đang nuôi trên môi trường nhân chồi, cấy từng chồi đơn lẻ trên môi trường tạo cây hoàn chỉnh (MS cơ bản + 20g/l đường + 8g/l agar + chất kích thích sinh trưởng ra rễ: NAA hoặc IBA) (Anil *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2008).

2.3.4. Trồng cây trong bầu

- Cây con trên môi trường tạo cây hoàn chỉnh sau 3 tuần có đầy đủ lá và rễ, chiều cao cây 5 - 7 cm, có từ 4 - 7 rễ dài từ 3 - 5 cm. Dùng panh gấp nhẹ để lấy cây từ trong bình nuôi ra ngoài. Rửa sạch agar bám quanh rễ, xử lý cây con trong dung dịch chống nấm mốc 5 phút trước khi trồng trong bầu.

- Bầu là túi nylon màu đen có đục lỗ thoát nước có kích thước khoảng 7 x 10 cm. Giá thể để trồng cây gồm các loại: Đất (đất phù sa) + cát đen (1 : 1); cát đen : trấu hun (1 : 1); cát đen (1); đất : trấu hun (1 : 4).

- Cây con được trồng vào bầu, phần gốc sâu cách bề mặt 1 cm, dùng tay ấn nhẹ vừa phải. Đặt các bầu cây vào khay, dùng bình phun sương tưới nhẹ đủ ẩm, dùng nilon có đục lỗ che kín toàn bộ khay. Đặt khay trong nhà lưới có mái che. Hàng ngày tưới phun sương 2 - 3 lần. Sau 7 ngày cây bắt đầu ra rễ mới, bỏ che nylon, tưới cây bình thường. Sau 30 ngày, chuyển cây trồng trên vườn ươm hoặc đồng ruộng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo đa chồi để nhân nhanh trong ống nghiệm

Trong môi trường nuôi để nhân nhanh chồi hoặc cây trong ống nghiệm, việc bổ sung các chất kích thích sinh trưởng như auxin, cytokinin, gibberellin sẽ kích thích sự sinh trưởng phát triển và phân hóa của các cơ quan, từ đó tạo nên sức sống tốt cho các mô và tổ chức. Tuy nhiên, mỗi loài thực vật lại thích hợp với một loại và nồng độ chất kích thích sinh trưởng khác nhau. Vì vậy, nên sử dụng phối hợp các chất kích thích sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy để cho hiệu quả tối ưu nhất (Đỗ Năng Vịnh, 2005; Anil *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2008). Việc tìm ra công thức môi trường với nồng độ và tỷ lệ chất kích thích sinh trưởng phù hợp với từng loài cây, từng giai đoạn phát triển là bước rất quan trọng trong quy trình nhân giống trong ống nghiệm.

3.1.1. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng tạo đa chồi

Tỷ lệ các chất kích thích sinh trưởng (thuộc nhóm auxin và cytokinin) rất quan trọng đối với sự phát sinh hình thái trong các hệ thống nuôi cấy. Thông thường, khi tỷ lệ auxin/cytokinin cao thì sẽ phát sinh mô sẹo hoặc hình thành rễ, nếu ngược lại sẽ dẫn tới phát sinh chồi và chồi nách.

Các chồi được tạo ra từ nguyên liệu vô trùng ban đầu có khả năng tạo cụm chồi rất kém (hình 1 A), những chồi vô trùng này được cắt nhỏ theo chiều dọc thành 3 - 4 mẫu, cấy mẫu vào môi trường tạo đa chồi có bổ sung các chất kích thích sinh trưởng. Nghiên cứu này tiến hành thử nghiệm các công thức tạo đa chồi với các tổ hợp của BAP (nồng độ 2mg/l) và NAA hoặc IBA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy được chỉ ra ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng tạo đa chồi

CTMT	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Hệ số nhân chồi
ĐC	0	0	$1,7 \pm 0,08$
AMNA1	2	0,1	$4,6 \pm 0,15$
AMNA2	2	0,2	$5,7 \pm 0,16$
AMNA3	2	0,3	$4,9 \pm 0,14$
AMNA4	2	0,4	$4,7 \pm 0,13$
AMNA5	2	0,5	$4,4 \pm 0,13$
AMNA6	2	0,6	$3,8 \pm 0,13$

Ghi chú: CTMT: Công thức môi trường; ĐC: Đối chứng; Hệ số nhân chồi: Tổng số chồi thu được / tổng số mẫu ban đầu.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy khi nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và NAA để tạo đa chồi cây Nưa trong ống nghiệm thì trên các công thức môi trường AMNA3, AMNA4, AMNA5 và AMNA6 tuy có nồng độ NAA tăng dần (từ 0,3 - 0,6 mg/l) nhưng hệ số nhân chồi lại giảm dần (từ 4,9 đến 3,8). Môi trường AMNA2 có nồng độ NAA là 0,2 mg/l cho hệ số nhân chồi cao nhất là 5,7; trong khi đó ở công thức đối chứng hệ số nhân chồi chỉ là 1,7. Quan sát thí nghiệm cho thấy các chồi được tạo ra trên môi trường có tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và NAA đều phát triển tốt, độ đồng đều cao, màu sắc xanh bình thường (hình 1 B). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Hu *et al.* (2008) khi sử dụng tổ hợp BAP và NAA để tái sinh chồi của mô sẹo được tạo ra từ cuống lá ở loài Nưa *Amorphophallus albus* cũng có hệ số tạo chồi cao và các chồi non phát triển tốt.

3.1.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng tạo đa chồi

Trong thí nghiệm này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng tạo chồi của cây Nưa. Nồng độ BAP được giữ nguyên là 2 mg/l, nồng độ của IBA thay đổi theo hướng tăng dần từ 0,2 mg/l đến 1,2 mg/l trên các công thức môi trường nuôi cấy. Kết quả đánh giá khả năng tạo đa chồi được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng tạo đa chồi

CTMT	BAP (mg/l)	IBA (mg/l)	Hệ số nhân chồi
ĐC	0	0	$1,7 \pm 0,08$
AMIB1	2	0,2	$4,1 \pm 0,13$
AMIB2	2	0,4	$4,4 \pm 0,11$
AMIB3	2	0,6	$4,2 \pm 0,13$
AMIB4	2	0,8	$3,8 \pm 0,16$
AMIB5	2	1,0	$3,6 \pm 0,12$
AMIB6	2	1,2	$3,2 \pm 0,18$

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, các công thức môi trường nuôi cấy đều cho tỷ lệ mẫu tạo chồi là 100%, hệ số nhân chồi đạt từ 3,2 đến 4,4. Trên công thức môi trường AMIB2 có nồng độ IBA là 0,4 mg/l thì hệ số nhân chồi đạt cao nhất là 4,4. Khi nồng độ IBA tăng từ 0,4 mg/l - 1,2 mg/l thì hệ số nhân chồi có xu hướng giảm dần. Có thể khi nồng độ IBA tăng thì các mẫu xuất hiện nhiều khối mô sẹo, khi mẫu bị mô sẹo hóa nhiều sẽ ảnh hưởng đến quá trình phân hóa tạo các cơ quan, vì vậy nồng độ IBA càng tăng cao thì hệ số nhân chồi càng giảm. Quan sát thí nghiệm chúng tôi thấy trên các công thức môi trường có bổ sung IBA thì chồi chính phát sinh ít và phát triển chậm, có xuất hiện một số chồi dị dạng.

Qua 2 thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tổ hợp các chất kích thích sinh trưởng BAP với NAA và BAP với IBA đến khả năng tạo đa chồi cây Nưa, chúng tôi nhận thấy công thức môi trường AMNA2 (2 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA) là thích hợp nhất để tạo đa chồi cây Nưa.

3.2. Tạo cây hoàn chỉnh

Kích thích tạo rễ để tạo cây hoàn chỉnh là khâu cuối cùng của giai đoạn nghiên cứu trong ống nghiệm. Các chất kích thích sinh trưởng tạo rễ NAA và IBA đóng vai trò quan trọng trong sự phân chia tế bào và hình thành rễ. Sử dụng các chồi từ môi trường tạo đa chồi có chiều dài từ 3 - 4 cm để nuôi cấy trên môi trường có chất kích thích ra rễ nhằm xác định môi trường thích hợp để tạo cây Nưa hoàn chỉnh trong ống nghiệm.

Sử dụng NAA hoặc IBA ở các nồng độ khác nhau, thay đổi từ 0,1 mg/l đến 0,6 mg/l để nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Nưa. Kết quả sau 20 ngày nuôi cấy tạo rễ được chỉ ra ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến khả năng tạo rễ

Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ			Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ		
CTMT	IBA (mg/l)	Số rễ/cây	CTMT	NAA (mg/l)	Số rễ/cây
ĐC	0	2,1 ± 0,12	ĐC	0	2,1 ± 0,12
ARIB1	0,1	3,6 ± 0,14	ARNA1	0,1	4,1 ± 0,15
ARIB2	0,2	4,4 ± 0,18	ARNA2	0,2	5,9 ± 0,13
ARIB3	0,3	4,9 ± 0,19	ARNA3	0,3	6,3 ± 0,14
ARIB4	0,4	5,7 ± 0,12	ARNA4	0,4	6,7 ± 0,15
ARIB5	0,5	5,4 ± 0,12	ARNA5	0,5	5,8 ± 0,17
ARIB6	0,6	5,3 ± 0,13	ARNA6	0,6	4,7 ± 0,19

Kết quả ở bảng 3 cho thấy tất cả các chồi Nưa được nuôi cấy đều có khả năng tạo rễ, kể cả trên môi trường đối chứng không được bổ sung chất kích thích sinh trưởng tạo rễ. Như vậy, có thể nói cây Nưa thuộc nhóm cây tương đối dễ tạo rễ trong ống nghiệm. Tuy nhiên, để tạo rễ nhanh, đồng đều và cây hoàn chỉnh sinh trưởng phát triển tốt, cần thiết phải bổ sung chất kích thích sinh trưởng tạo rễ.

Số liệu thu được ở bảng 3 cho thấy, khi bổ sung IBA nồng độ từ 0,1 mg/l - 0,4 mg/l thì số rễ trung bình trên mỗi chồi đều tăng và đạt cao nhất ở công thức môi trường IRIB4 với nồng độ IBA là 0,4 mg/l đạt số rễ / cây là 5,7. Nhưng khi nồng độ IBA cao hơn 0,4 mg/l thì số rễ / cây lại có xu hướng giảm.

Tương tự như vậy, khi bổ sung NAA nồng độ từ 0,1 mg/l - 0,4 mg/l thì số rễ trung bình trên mỗi chồi đều tăng và đạt cao nhất ở công thức môi trường ARNA4 với nồng độ NAA là 0,4 mg/l có số rễ / cây là 6,7; đối chứng là 2,1 rễ / cây. Nhưng khi nồng độ NAA cao hơn 0,4 mg/l thì số rễ / cây cũng có xu hướng giảm.

Quan sát thí nghiệm cho thấy, trên các công thức môi trường có bổ sung IBA thì cây hoàn chỉnh đều tạo rễ với số rễ / cây từ 3,6 - 5,7; thân cây mảnh và hơi yếu, bộ lá có màu xanh nhạt. Trong khi đó, trên các công thức môi trường có bổ sung NAA thì cây hoàn chỉnh đều tạo rễ với số rễ / cây từ 4,1 - 6,7; thân cây mập, khỏe và sinh trưởng phát triển tốt. Đặc biệt trên công thức môi trường ARNA3, cây có số rễ nhiều tương đối (6,3 rễ / cây), nhưng các rễ đồng đều, bộ lá có màu xanh đậm, cây khỏe mạnh và sinh trưởng phát triển tốt nhất (hình 1 C). Vì vậy, có thể sử dụng công thức môi trường ARNA3 với nồng độ NAA 0,3 mg/l là thích hợp nhất để tạo cây hoàn chỉnh.

3.3. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống của cây trong bầu

Cây con có đầy đủ thân, lá và rễ trong ống nghiệm được đưa ra trồng trong bầu, giai đoạn này cần phải có chế độ chăm sóc đặc biệt, phải đảm bảo được độ ẩm và ánh sáng vừa phải để cây con thích nghi dần với điều kiện tự nhiên.

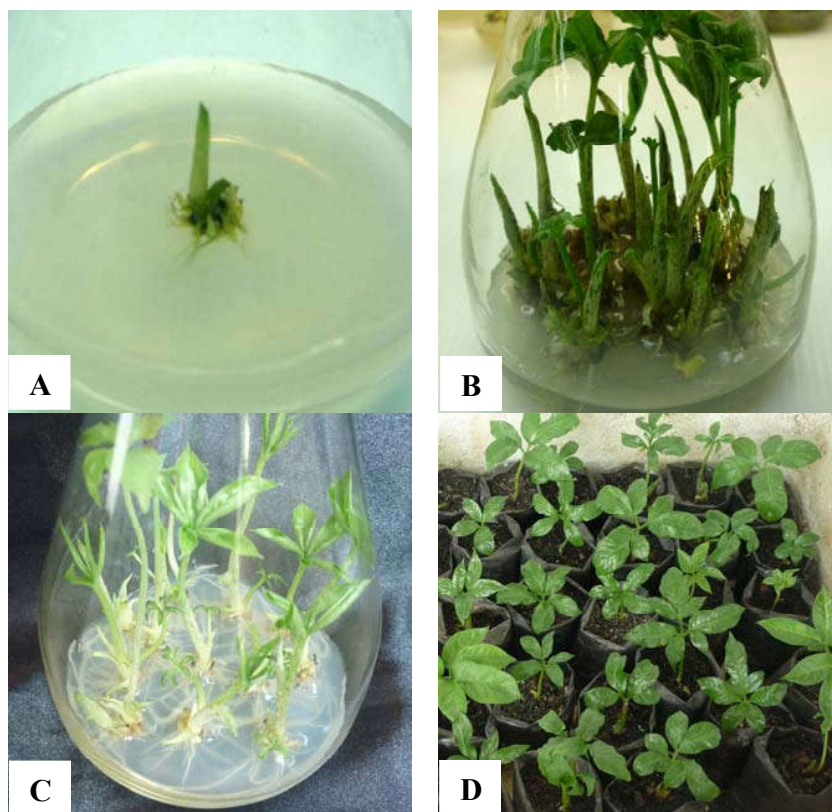
Cây con tạo ra trong ống nghiệm được trồng trong bầu trên một số giá thể khác nhau, sau 7 ngày cây bắt đầu ra rễ và lá mới, tỷ lệ sống của cây được đánh giá sau 20 ngày, kết quả thu được ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ sống của cây trồng trong bầu trên một số giá thể sau 20 ngày

Giá thể	Tỷ lệ	Số cây trồng	Số cây sống	Tỷ lệ sống (%)
Đất + Cát đen	1 : 1	150	120	80,0
Cát đen + Trấu hun	1 : 1	150	134	89,3
Trấu hun	1	150	145	96,7
Trấu hun + Đất	1 : 4	150	143	95,3

Số liệu thu được ở bảng 4 cho thấy, cây con trồng trong bầu trên 4 loại giá thể đều cho tỷ lệ cây sống khá cao, trong đó giá thể đất + cát đen là loại giá thể cho tỷ lệ cây sống thấp nhất (80,0%). Trong số 150 cây thí nghiệm thì số cây sống sót là 120 cây. Giá thể cát đen + trấu hun và giá thể trấu hun + đất cho tỷ lệ cây sống cao hơn là 89,3% và 95,3%, trong khi đó trên giá thể trấu hun cho tỷ lệ cây sống cao nhất, đạt 96,7%. Theo nghiên cứu của Anil *et al.* (2012), các cây con của loài *Nura Amorphophallus paeoniifolius* được tạo ra trong ống nghiệm cũng có tỷ lệ sống trên 90% khi được trồng ra ngoài đất.

Tuy nhiên, trên thực tế giá thể trấu hun quá nhẹ và tơi xốp nên chỉ là môi trường thích hợp cho cây con sống và phát triển ở giai đoạn đầu. Sau 20 ngày, cây phát triển chậm dần do không đủ nguồn dinh dưỡng ban đầu, lá không có màu xanh bình thường, hơn nữa nếu trồng trên trấu hun sẽ không phù hợp trong việc vận chuyển và trồng cây con ra ngoài tự nhiên do bầu rất dễ vỡ. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn giá thể để trồng cây Nưa trong ống nghiệm gồm trấu hun và đất với tỷ lệ 1 : 4 là phù hợp và thuận tiện nhất (hình 1 D).



Hình 1. Một số hình ảnh nhân nhanh cây Nưa trong ống nghiệm

A: Tạo chồi vô trùng sau 40 ngày; B: Tạo đa chồi sau 30 ngày;
C: Tạo cây hoàn chỉnh sau 20 ngày; D: Cây trồng trong bầu sau 20 ngày.

KẾT LUẬN

1. Đã xác định được công thức môi trường thích hợp để tạo đa chồi cây Nưa trong ống nghiệm là AMNA2 (MS + 30 g/l đường sucrose + 8g/l agar + 2 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA) với hệ số nhân chồi là 5,7.
2. Môi trường thích hợp nhất để tạo cây Nưa hoàn chỉnh là môi trường ARNA3 (MS + 30 g/l đường sucrose + 8 g/l agar + 0,2 mg/l NAA) có số rễ trung bình / cây là 6,3; cây con trong ống nghiệm khỏe mạnh và sinh trưởng phát triển tốt nhất.
3. Giá thể phù hợp để trồng cây Nưa sau giai đoạn ống nghiệm là trấu hun và đất với tỷ lệ 1 : 4, đạt tỷ lệ cây con trong bầu sống là 95,3%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thanh Danh, Lê Xuân Đắc, Lê Thị Xuân, Hà Hồng Hải, *Kết quả bước đầu nhân giống in vitro cây Vù hương (Cinamomum balansae Licomte) bằng kỹ thuật nuôi cấy phôi hạt xanh góp phần bảo tồn đa dạng sinh học*, Hội nghị toàn quốc: Nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2005, tr.450-453.
2. Nguyễn Văn Dư, *Araceae Juss. - họ Ráy, Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, 2005, 3, tr.871-897.
3. Nguyễn Văn Dư, *Nghiên cứu trồng và phát triển cây Nua konjac (Amorphophallus konjac K. Koch) và một số loài khác trong chi Nua (họ Ráy - Araceae) ở Việt Nam hướng tới việc lấy củ làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm và thuốc điều trị bệnh tiểu đường, mỡ máu và béo phì*, Báo cáo tổng kết đề tài, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội, 2012.
4. Đỗ Năng Vịnh, *Công nghệ tế bào thực vật ứng dụng*, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, 2005.
5. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, 2005, tr.526-527.
6. An N. T., Thien D. T., Dong N. T., Dung P. L., Du N. V., *Characterization of glucomannan from some Amorphophallus species in Vietnam*, Carbohydrate Polymers, 2010, 80(1):308-311.
7. Anil S. R., Siril E. A., Beevy S. S., *In vitro propagation strategies for Elephant Foot Yam (Amorphophallus paeoniifolius (Dennst.) Nicolson*, Journal of Root Crops, 2012, 38(2):97-108.
8. Chen H. L., Cheng H. C., Liu Y. J., Liu S. Y., Wu W. T., *Konjac acts as a natural laxative by increasing stool bulk and improving colonic ecology in healthy adults*, Nutrition, 2006, 22, tr.1112-1119.
9. Douglas J. A., Follett J. M., Waller J. E., *Research on Konjac (Amorphophallus konjac) production in New Zealand*, Acta Hort, 2005, (ISHS) 670, tr.173-180.
10. Hu J. B., Gao X. X., Liu J., Xie C. H., Li J. W., *Plant regeneration from petiole callus of Amorphophallus albus and analysis of somaclonal variation of regenerated plants by RAPD and ISSR markers*, Botanical Studies, 2008, 49, tr.189-197.
11. Joyce K., Barbara S., *Glucomannan and obesity: A critical review*, Alternative therapies, 2005, 11(6):30-34.
12. Murashige T., Skoog F. A., *Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*, Physiol Plant, 1962, 15, tr.475 - 497.

SUMMARY

MICROPROPAGATION OF *Amorphophallus krausei* USING PLANT TISSUE CULTURE TECHNIQUE

Amorphophallus is genus belonging to the family Araceae. Worldwide, there are about 200 *Amorphophallus* species which mainly distributes over Africa and Southeast Asia. The tubers of *Amorphophallus* are important source of glucomannan, which serves as food and functional food. There are a lot of *Amorphophallus* species in Vietnam containing high content of glucomannan, such as *A. krausei*. In this study plant tissue culture technique is applied to micropropagation of the plant.

The results of the experiments show that there are different environmental conditions for different steps of micropagation of *A. krausei*. Firstly, AMNA2 is found to be the optimal multishoot induction medium with propagation rate of 5.7 times. AMNA2 contains 30 g/l sucrose + 8g/l agar + 2 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA. Secondly, 100% root formation plantlets are found in ARNA3 medium, and all the plants are healthy with dark green colour, ARNA3 medium has the same mineral organic composition as AMNA2, except the fact that the content of NAA is 0.3 mg/l in ARNA3. The surviving rate of the plants reaches 95.3% in a mixture of rice husk and soil with ratio 1 : 4 and the potted plants look healthy and grow normally.

Từ khóa: Chi Nưa, họ Ráy, đa chồi, nuôi cấy mô, *Amorphophallus*, Araceae, multishoot, tissue culture.

Nhận bài ngày 29 tháng 01 năm 2014

Hoàn thiện ngày 16 tháng 02 năm 2014

⁽¹⁾ Viện Sinh thái nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽²⁾ Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST