

NHÂN GIỐNG CÂY WASABI (*WASABIA JAPONICA* MATSUMURA) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY CHỐI ĐỈNH

CAO ĐÌNH HÙNG, NGUYỄN TRÍ MINH, NGUYỄN TRUNG ÁI,
NGUYỄN THỊ DIỆU HƯƠNG

Phân viện Sinh học tại Đà Lạt

Cây wasabi (*Wasabia japonica* Matsumura) thuộc họ Brassicaceae) là một loại cây gia vị phổ biến ở Nhật Bản, thường được sử dụng để chế biến mù tạc xanh dùng chung với các món gỏi sống, giúp trị bệnh đường ruột.

Mang đặc điểm thích nghi ở những vùng đất cao, thoáng mát và có độ ẩm trên 70%, cây wasabi thích hợp với khu vực thành phố Đà Lạt, nơi đã có hàng chục hecta trồng loại cây này do người Nhật Bản đầu tư trồng và bao tiêu sản phẩm.

Từ khi ngành thủy sản bắt đầu phát triển mạnh thì nhu cầu tiêu thụ các món gỏi sống ngày càng cao, đặc biệt là ở các nhà hàng của thành phố du lịch Đà Lạt. Do đó, nhiều công ty Nhật Bản đã đầu tư trồng và chế biến cây wasabi thành mù tạc xanh và các sản phẩm khác để xuất khẩu cũng như bán tại thị trường Việt Nam.

Người ta có thể nhân giống cây wasabi bằng phương pháp tách chồi. Tuy nhiên, hệ số nhân giống thấp và cây có phẩm chất không cao nên không thể đáp ứng được nhu cầu của sản xuất.

Bằng phương pháp nuôi cấy chồi đỉnh, cây wasabi có phẩm chất tốt được tạo ra đồng loạt với số lượng rất lớn trong một thời gian ngắn, đáp ứng được nhu cầu to lớn về nguồn giống của sản xuất; đồng thời, còn mở ra một hướng làm ăn mới cho người dân địa phương.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Chọn chồi non vừa nhú của rễ củ của cây wasabi làm nguồn mẫu và đem rửa sạch dưới vòi nước chảy. Mẫu được rửa lại bằng xà phòng, sau đó rửa bằng cồn 70° trong 30-60 giây và tráng bằng nước cất vô trùng. Để diệt nấm và vi khuẩn, mẫu được xử lý bằng dung dịch HgCl₂ 0,15% trong 10 phút [1, 7].

2. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

a) Môi trường nuôi cấy

Môi trường tạo mẫu ban đầu: môi trường 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962) [2, 5, 7] có bổ sung 30 g/l sucroza, 8 g/l agar và chất kháng sinh.

Môi trường nhân chồi: môi trường 1/2MS có bổ sung 0,01-1 mg/l BA (benzyl adenin), 0,02 mg/l NAA (α -naphthyl axít axetic) [2, 3], 30 g/l sucroza và 8 g/l agar.

Môi trường tái sinh rễ: sau khi đạt số lượng và chất lượng chồi mong muốn, các chồi này được chuyển sang môi trường 1/2MS có bổ sung 0,01-1 mg/l NAA [3], 0,1 g/l than hoạt tính, 20 g/l sucroza và 8 g/l agar.

b) Điều kiện nuôi cấy

Các ống nghiệm có dung tích 60 ml được rót vào 15 ml môi trường các loại kể trên, cũng có thể rót 100 ml môi trường tương ứng vào bình tam giác có dung tích 350 ml để nuôi cấy mẫu với số lượng lớn hơn. Môi trường được điều chỉnh pH bằng 5,75 trước khi khử trùng ở 121°C, 1 atm [6].

Mẫu được nuôi ở điều kiện chiếu sáng 8 h/ngày, với cường độ ánh sáng 1000-2000 lux và ở nhiệt độ 20-25°C.

3. Đưa cây ra bầu đất và chế độ chăm sóc

Các cây có rễ và đạt chiều cao trung bình 4-5cm trong ống nghiệm được rửa sạch agar để trồng vào các vỉ xốp chứa đất mùn. Sau 3 tháng giữ ẩm và tưới phun sương trong điều kiện nhà kính, những cây này được đem ra trồng bên ngoài.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trên môi trường nhân chồi 1/2MS, các

thực nghiệm có sự phối hợp giữa 0,02 mg/l NAA và BA ở các nồng độ khác nhau (bảng 1) đã cho hệ số nhân chồi lớn hơn so với các thực nghiệm chỉ sử dụng BA riêng lẻ [4, 8].

Trong đó, tổ hợp 0,02 mg/l NAA và 0,1 mg/l BA cho kết quả tối ưu nhất: từ một mẫu ban đầu tạo ra được $4,3 \pm 0,2$ chồi sau 30 ngày và $4,9 \pm 0,2$ chồi sau 50 ngày nuôi cấy.

Bảng 1

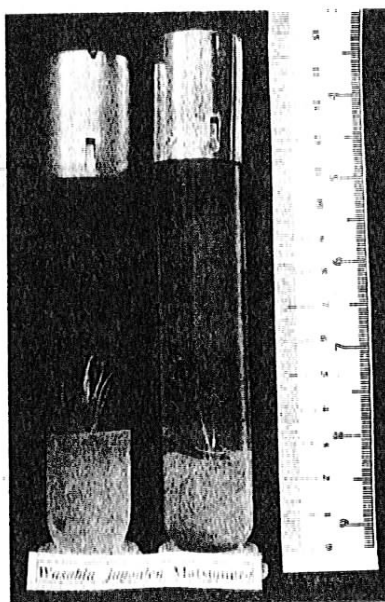
Ảnh hưởng của BA lên sự hình thành chồi trong môi trường có bổ sung 0,02 mg/l NAA

BA (mg/l)	Số lượng chồi tạo thành từ 1 mẫu ban đầu sau 30 ngày nuôi cấy	Số lượng chồi tạo thành từ 1 mẫu ban đầu sau 50 ngày nuôi cấy
0	0,0±0,0	0,0±0,0
0,01	2,6±0,2	3,7±0,2
0,05	3,8±0,2	4,4±0,2
0,1	4,3±0,2	4,9±0,2
0,5	3,6±0,2	3,9±0,2
1	2,7±0,2	3,1±0,1

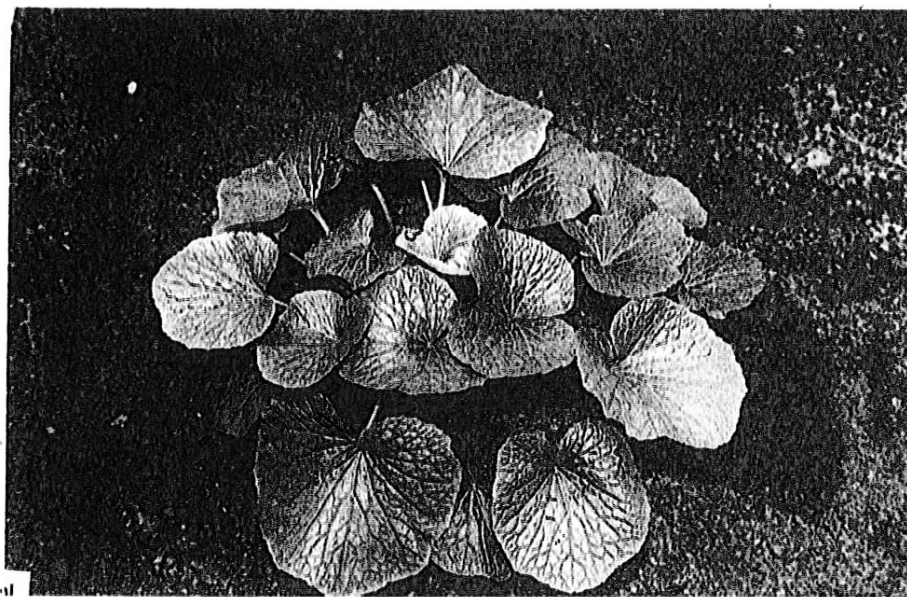
Môi trường ứng với thực nghiệm này được chọn cho quá trình nhân chồi tiếp theo. Trên môi trường này, sự tái sinh chồi xảy ra liên tục, nếu cứ định kỳ 30 ngày cấy chuyển một lần thì một năm chúng ta có thể thu được $4,3^{12}$ chồi từ 1 chồi ban đầu (không kể thời gian tạo nguồn mẫu ban đầu).

Trước khi trồng cây wasabi ra vườn ươm,

các chồi trên phải được chuyển sang môi trường tạo rễ có bổ sung NAA ở các nồng độ khác nhau (bảng 2). Tuy nhiên, trên môi trường tạo rễ, nếu không bổ sung than hoạt tính thì rễ hình thành sẽ nằm trên bề mặt agar và yếu hơn so với môi trường có bổ sung 0,1g/l than hoạt tính, có tác dụng hấp thu các chất cản trở, cũng như tạo điều kiện thông thoáng để giúp bộ rễ ăn sâu vào môi trường.



Hình 1. Các giai đoạn tạo cây trong ống nghiệm



Hình 2. Giai đoạn vườn ươm

Bảng 2 nuôi cấy chồi đỉnh có những ưu điểm sau:

Ảnh hưởng của NAA lên sự hình thành rễ

NAA (mg/l)	Số lượng rễ hình thành sau 30 ngày nuôi cấy
0	0±0,0
0,01	1,9±0,2
0,05	2,9±0,2
0,1	3,5±0,2
0,5	2,4±0,2
1	2,1±0,2

Cây tạo ra có rễ dài với bộ lá khỏe mạnh, rất thuận lợi cho việc chuyển sang trồng trong điều kiện vườn ươm.

Sau 8 tháng trồng ở vườn ươm, cây bắt đầu phát sinh thêm chồi mới, có rễ và lá phát triển nhiều hơn, với tỷ lệ sống đạt 90-97%.

Cây wasabi thích hợp ở nơi có khí hậu ôn hòa, nhiệt độ từ 16-22°C; không thích hợp ở nơi khô ráo hay có nhiệt độ cao. Loại đất thích hợp là đất mùn tơi xốp có pH = 5,5-6.

III. KẾT LUẬN

Nhân giống cây wasabi bằng phương pháp

1. Hệ số nhân chồi cao, đạt tối đa ở tổ hợp có 0,02 mg/l NAA và 0,1 mg/l BA là 4,3±0,2 trong một thời gian nuôi cấy rất ngắn (30 ngày); Đây là một tổ hợp mới đã làm tăng được hệ số nhân chồi ở cây wasabi.

2. Tạo được cây tương đối sạch bệnh với số rễ đạt tối ưu là 3,5±0,2 ở nghiệm thức có bổ sung 0,1 mg/l NAA và 0,1 mg/l than hoạt tính. Cây phát triển tốt trong điều kiện tự nhiên, đáp ứng được nguồn giống hữu hiệu cho người trồng.

3. Thu được cây đồng bộ, rất thuận lợi cho việc trồng và thu hoạch sản phẩm đồng loạt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. F. T. M. Kors, 2000-2002: Biochemical plant cell and tissue culture - Duchefa Biochemie BV.
2. Hartmann H. T., Kester D. E. and Davies F. T. Jr., 1990: Plant propagation: principles and practices, 5th Ed Prentice-Hall, Inc Englewood Cliffs, NJ, USA.
3. Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch, 1993: Chất điều hòa sinh trưởng đối với cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Matsumoto T., Sakai A., Yamada K., 1994: Cryopreservation of *in vitro*-grown

- apical meristems of wasabi by vitrification and subsequent high plant regeneration. Plant Cell Rep.
5. Nguyễn Văn Uyên và cs., 1993: Nuôi cấy mô thực vật phục vụ công tác giống cây trồng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
 6. Nilno T. et al., 1992: Plant Cell Tissue and Organ Culture.
 7. Trần Văn Minh, 1994: Nuôi cấy mô tế bào thực vật. Trường đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.
 8. Yamada K., Haruki K., 1992: Mass propagation of wasabi through shoot apex culture. Bull. Shimane Agr. Exp. Stn.

MICROPROPAGATION OF WASABI PLANT (*WASABIA JAPONICA* MATSUMURA) BY SHOOT APEX CULTURE

CAO DINH HUNG, NGUYEN TRI MINH, NGUYEN TRUNG AI,
NGUYEN THI DIEU HUONG

SUMMARY

The mass propagation technique by shoot apex culture of the wasabi plant (*Wasabia japonica* Matsumura) was established as follows:

1. Shoot apices isolated from rhizomes were used as explants. In order to regenerate vigorous shoots, the explants were cultured on the half-strength MS basal medium supplemented with antibiotics.

2. For optimal multiple-shoots, the explants were cultured on the half-strength MS basal medium supplemented with a combination of BA at 0.1 mg/l and NAA at 0.02 mg/l within 30 days of culture. The addition of the activated charcoal at 0.1g/l to the root regeneration medium, which had been supplemented with 0.1mg/l of NAA, was necessary.

The result also showed that, after 8 months of transplantation and acclimatization, the plants with survival rate of 90-97% began to shoot and grew well under the greenhouse conditions.

Through this study, a large number of synchronous and bacteria-free plantlets were simultaneously obtained to meet the great demand of the local farmers and the Japanese-owned enterprises in Dalat region for growing and processing the wasabi plant.

Ngày nhận bài: 12-7-2002