

## Effect of NaOCl, growth media, and plant growth regulators on *in vitro* propagation of disease-free KM140 cassava cultivar (*Manihot esculenta* Crantz)

Duyen T. T. Nguyen<sup>1\*</sup>, Nien C. Nguyen<sup>1</sup>, Thanh T. Duong<sup>1</sup>, & My T. Nguyen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Crop Science, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Department of Mushroom Research and Biotechnology, Hung Loc Agricultural Experimental Research Center, Dong Nai, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: September 01, 2021

Revised: January 28, 2022

Accepted: February 11, 2022

#### Keywords

Cassava

Growth media

Growth regulator

*In vitro* propagation

#### \*Corresponding author

Nguyen Thi Thanh Duyen

Email: [nt-thanhduyen@hcmuaf.edu.vn](mailto:nt-thanhduyen@hcmuaf.edu.vn)

### ABSTRACT

Cassava mosaic disease (CMD) is one of the most dangerous diseases that has caused heavy losses in yield and starch content on cassava. *In vitro* propagation using disease-free cassava stakes was an optimal method to produce healthy seedlings. In this study, sodium hypochlorite (NaOCl), growth media (MS,  $\frac{1}{2}$  MS and Knudson C) and growth regulators (BA: Benzyl adenine, NAA: Naphthalene acetic acid, GA: Gibberellin) were used to determine an appropriate time for sample sterilization and the suitable concentration for shoot multiplication and root induction of KM140 cassava cultivar. The results showed that sample sterilization at 8% NaOCl concentration in 5 min gave the highest survival rate (71.7%) at 14 d of culture. Cassava explants cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L BA gained the highest number of shoots (2.3 shoots), shoot height (10.3 mm) and the number of leaves (4.2 leaves/shoot) at 50 d of culture. The MS medium supplemented with 0.07 mg/L NAA and 0.03 mg/L GA was applicable for the rooting stage of KM140 cassava cultivar (19.8 roots/plantlet at 60 d of culture). The results of the study were fundamental to *in vitro* propagation process of disease-free KM140 cassava multiplication.

**Cited as:** Nguyen, D. T. T., Nguyen, N. C., Duong, T. T., & Nguyen, M. T. (2022). Effect of NaOCl, growth media, and plant growth regulators on *in vitro* propagation of disease-free KM140 cassava cultivar (*Manihot esculenta* Crantz). *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 9-16.

## Ảnh hưởng của NaOCl, môi trường và các chất điều hòa sinh trưởng đến nhân giống sắn KM140 sạch bệnh (*Manihot esculenta* Crantz) bằng phương pháp *in vitro*

Nguyễn Thị Thanh Duyên<sup>1\*</sup>, Nguyễn Châu Niên<sup>1</sup>, Dương Tấn Thành<sup>1</sup> & Nguyễn Thị My<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Bộ Môn Nghiên Cứu Nấm Và Công Nghệ Sinh Học, Trung Tâm Nghiên Cứu Thực Nghiệm Nông Nghiệp Hưng Lộc, Đồng Nai

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 01/09/2021

Ngày chỉnh sửa: 28/01/2022

Ngày chấp nhận: 11/02/2022

#### Từ khóa

Giống sắn KM140  
*in vitro*

Kích thích tăng trưởng  
Môi trường nuôi cấy

#### \*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Duyên  
Email: nt-  
thanhduyen@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Bệnh khảm lá sắn (CMD) là một trong những bệnh nguy hiểm đã gây thiệt hại nặng nề về năng suất và hàm lượng tinh bột sắn. Nhân giống *in vitro* từ nguồn giống sắn sạch bệnh là phương pháp tối ưu nhằm sản xuất ra cây giống sạch bệnh khảm lá. Trong nghiên cứu này, Natri hypoclorit (NaOCl), các loại môi trường nuôi cấy (MS,  $\frac{1}{2}$  MS và Knudson C) và chất điều hòa sinh trưởng (BA: Benzyl adenine, NAA: Naphthalene acetic acid, GA: Gibberellin) đã được sử dụng để xác định được nồng độ và thời gian phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo rễ giống sắn KM140. Các chỉ tiêu về tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm, mẫu chết, số chồi, chiều cao chồi, số rễ và chiều dài rễ của cây sắn *in vitro* đã được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng mẫu ở nồng độ 8% NaOCl và thời gian 5 phút đã cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (71,7%) ở 14 ngày sau cấy và mẫu sắn KM140 được cấy vào môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA cho số chồi (2,3 chồi), chiều cao chồi (10,3 mm) và số lá (4,2 lá/chồi) cao nhất ở thời điểm 50 ngày sau cấy. Môi trường MS bổ sung 0,07 mg/L NAA và 0,03 mg/L GA thích hợp cho việc ra rễ của cây sắn (19,8 rễ/cây tại 60 ngày sau cấy). Kết quả của nghiên cứu là cơ sở để hoàn thiện quy trình nhân giống sắn KM140 sạch bệnh theo phương pháp *in vitro*.

## 1. Đặt Vấn Đề

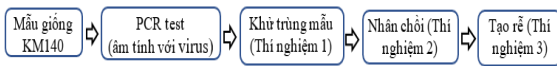
Ở Việt Nam, cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là cây lương thực quan trọng đứng hàng thứ ba sau lúa và ngô. Cây sắn hiện nay đã chuyển đổi vai trò từ cây lương thực, thực phẩm thành cây công nghiệp hàng hóa có lợi thế cạnh tranh cao. Sản xuất sắn là nguồn thu nhập của các hộ nông dân nghèo do sắn dễ trồng, ít kén đất, ít vốn đầu tư, phù hợp sinh thái và điều kiện kinh tế nông hộ (Hy & ctv., 2020). Hiện nay, năng suất và chất lượng sắn đang giảm mạnh do sự gây hại của nhiều loại dịch hại khác nhau. Trong đó, bệnh khảm lá sắn (Cassava Mosaic Disease - CMD) là một trong những bệnh nguy hiểm trên thế giới và Việt Nam (Uke & ctv., 2018), đã làm giảm năng suất sắn từ 15% - 24% tại Châu Phi (Thresh & ctv., 1997), giảm 50% - 70% tại Zambia (Muimba-Kankolong & ctv., 1997).

Theo thống kê của Cục BVTV (2020), diện tích trồng sắn của cả nước khoảng 421.059 ha trong đó có 52.180 ha bị nhiễm bệnh khảm lá sắn phân bố 20 tỉnh, thành phố và đang có chiều hướng lan rộng, khó kiểm soát. Một trong những biện pháp để hạn chế sự lây lan và thiệt hại của bệnh khảm lá sắn là cần cung cấp nguồn giống sạch bệnh cho người nông dân. Phương pháp nhân giống *in vitro* được xem là phương pháp tối ưu và được khuyến cáo áp dụng để sản xuất giống sạch bệnh (Hamill, 2014), đặc biệt trên cây sắn (Escobar & ctv., 2013). Phương pháp này được thực hiện trong phòng thí nghiệm, hoàn toàn tách biệt vector truyền bệnh. Tuy nhiên, chưa có quy trình cụ thể cho từng giai đoạn nhân giống *in vitro* cây sắn KM140. Đồng thời, để nhân giống *in vitro* cho từng giống khác nhau, quy trình khử mẫu và môi trường nuôi cấy cho từng giai đoạn nhân chồi, tạo rễ cũng khác nhau (Minh, 2005). Vì vậy,

việc xác định các chất khử trùng, môi trường nền và chất điều hòa sinh trưởng phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo cây con hoàn chỉnh là những vấn đề cần thiết để tiến tới hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* trên cây sắn KM140. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định nồng độ và thời gian khử trùng mẫu, đồng thời xác định môi trường nuôi cấy và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng phù hợp cho việc nhân vô tính giống sắn KM140, giống sắn đang được trồng phổ biến tại khu vực phía Nam.

**2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu**

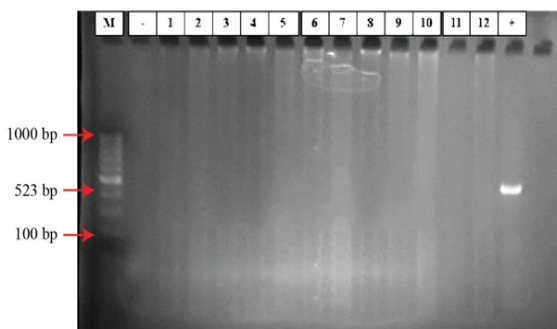
**Quy trình thực hiện**



**Hình 1.** Quy trình thực hiện.

**Vật liệu:** Giống sắn KM140 được lấy từ vườn giống của Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Hưng Lộc, sau đó áp dụng kỹ thuật PCR để kiểm tra sự hiện diện virus gây bệnh khảm lá nhằm đảm bảo giống không mang mầm bệnh. Những mẫu nhiễm SLCMV là những mẫu có thang DNA là 523 bp.

Cặp mồi đặc hiệu cho SLCMV (Uke & ctv., 2018) được sử dụng trong phản ứng PCR là:  
 SLCMV - A - F2:  
 5'-TGTGAAGGCCCATGTAAGGT- 3'  
 SLCMV - A - R3:  
 5'-CGTATCGTATACAGGRTTAGA- 3'



**Hình 2.** Kết quả PCR kiểm tra cây sắn giống không mang mầm bệnh.

**Ghi chú:** Sản phẩm PCR được chạy điện di trên gel agarose 2%. Giếng 1 - 12 là mẫu gộp lá cây sắn

không nhiễm CMD dùng thực hiện thí nghiệm với 1 mẫu gộp là 10 lá được thu từ 10 cây mẫu. Giếng (-) là đối chứng âm (mẫu lá không nhiễm CMD), giếng (+) là đối chứng dương (mẫu nhiễm virus) (phản ứng âm tính với SLCMV - không xuất hiện vạch ở các giếng). M: Marker (thang tiêu chuẩn để xác định kích thước các vạch). Sản phẩm PCR có kích thước là  $\approx 523$  bp.

Từ các cây sắn KM140 sạch bệnh, cắt các đoạn chồi sắn để khử trùng mẫu, thực hiện thí nghiệm.

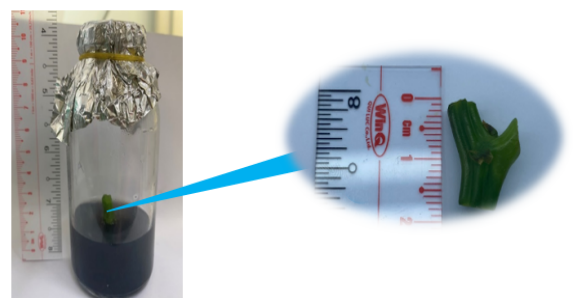
**2.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu thân sắn KM 140 *in vitro***

Thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu, từ đó xác định được nồng độ NaOCl và thời gian thích hợp để vào mẫu chồi sắn KM140. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm  $9 \times 3 = 27$  ô, mỗi ô có 20 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 540 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ NaOCl (A1: 4%, A2: 8%, A3: 12%).

Yếu tố B gồm 3 khoảng thời gian (B1: 5 phút; B2: 10 phút; B3: 15 phút).

Quy trình khử trùng: rửa sạch chồi sắn dưới vòi nước sạch, ngâm trong dung dịch xà phòng có nồng độ 0,5% trong 5 phút, ngâm cồn 70° trong 30 giây và ngâm mẫu trong NaOCl theo nồng độ và thời gian của các nghiệm thức. Sau đó cắt chồi với kích thước 1,5 cm (Hình 1) để cấy vào chai có chứa môi trường nền MS. Theo dõi toàn bộ số mẫu cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%) và tỷ lệ mẫu sống (%) tại thời điểm 21 ngày sau khi vào mẫu.



**Hình 3.** Mẫu được cấy vào môi trường MS.

## 2.2. Ảnh hưởng của môi trường và BA (Benzyl adenine) đến khả năng nhân chồi cây sắn *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định loại môi trường và các nồng độ BA thích hợp cho giai đoạn nhân chồi *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 12 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm  $12 \times 3 = 36$  ô, mỗi ô có 25 bịch, mỗi bịch 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 900 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 môi trường (A1: MS, A2:  $\frac{1}{2}$  MS, A3: Knucdson C).

Yếu tố B gồm 4 mức nồng độ BA (B1: 1,0 mg/L; B2: 2,0 mg/L; B3: 3,0 mg/L; B4: 4,0 mg/L).

Các bước tiến hành: Sử dụng mẫu cây của thí nghiệm 1 để làm vật liệu cho thí nghiệm 2. Cắt mẫu cây với kích thước 1,5 cm có mang mắt mầm, cấy vào bịch với các môi trường của từng nghiệm thức tương ứng.

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi các chỉ tiêu: số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi (lá).

## 2.3. Ảnh hưởng của nồng độ GA (Gibberellin) và NAA (Naphthalene acetic acid) lên khả năng tạo rễ của cây sắn *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định được nồng độ GA và NAA thích hợp cho giai đoạn tạo rễ *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm  $9 \times 3 = 27$  ô, mỗi ô có 25 bịch, mỗi bịch 1 mẫu. Số lượng mẫu là 675.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ GA (0,03 mg/L, 0,05 mg/L, 0,07 mg/L).

Yếu tố B gồm 3 nồng độ NAA (0,01 mg/L; 0,02 mg/L; 0,03 mg/L).

Cách tiến hành: Sử dụng môi trường tốt nhất từ thí nghiệm 2 để làm môi trường nền cho thí nghiệm 3. Sử dụng mẫu cây của thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 để cấy vào bịch với các nghiệm thức tương ứng.

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi chỉ tiêu số rễ (rễ/cây) với chiều dài rễ (cm), theo dõi 10 ngày 1 lần.

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu sắn KM140 *in vitro*

Số liệu Bảng 1 cho thấy: Ở thời điểm 14 ngày sau cấy (NSC), khi khử trùng mẫu chồi của cây sắn KM140 bằng NaOCl với nồng độ khác nhau cho kết quả về tỷ lệ mẫu sống khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó khi khử trùng mẫu với nồng độ 8% cho kết quả tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 57,8%. Và khi khử trùng mẫu trong thời gian càng dài thì tỷ lệ mẫu sống càng giảm, tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi được khử trùng trong thời gian là 5 phút đạt 56,7%. Tuy nhiên sự khác biệt về tương tác giữa nồng độ và mức thời gian không có ý nghĩa trong thống kê giữa các nghiệm thức. Khi mẫu được khử trùng với nồng độ NaOCl 8% trong thời gian 15 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (71,7%), tỷ lệ mẫu nhiễm thấp (28,3%) (Hình 2) và không có mẫu chết. Tỷ lệ mẫu nhiễm càng tăng khi thời gian khử trùng mẫu càng ngắn, trong đó khi khử trùng mẫu ở thời gian 5 phút có tỷ lệ mẫu nhiễm cao nhất (40,0%) khác biệt rất có ý nghĩa thống kê khi khử trùng mẫu trong thời gian 15 phút. Đồng thời khi tăng nồng độ NaOCl và tăng thời gian khử trùng mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm dần nhưng tỷ lệ chết lại tăng lên. Mẫu được khử trùng với thời gian 15 phút có tỷ lệ mẫu chết cao nhất (38,9%) và tỷ lệ mẫu chết đạt 38,3% khi khử trùng mẫu với nồng độ NaOCl 12% và sự khác biệt giữa các nghiệm thức rất có ý nghĩa trong thống kê. Sự tương tác giữa hai yếu tố nồng độ và thời gian khử trùng mẫu cũng có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết.

Nhìn chung, khi tăng nồng độ NaOCl và kéo dài thời gian khử mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm nhưng tỷ lệ mẫu chết tăng (63,3%) ở nghiệm thức được khử trùng mẫu bằng NaOCl 12% trong thời gian 15 phút khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại). Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Maruthi & ctv. (2019), đã sử dụng NaOCl với nồng độ thấp hơn (5%) có bổ sung 0,1 mL/L Tween 20 khi khử trùng mẫu sắn trong thời gian lâu hơn là 20 - 30 phút. Một nghiên cứu khác Sessou & ctv. (2020) cũng cho thấy khi sử dụng nồng độ NaOCl (3,25%) thì cần có thời gian khử trùng mẫu 15 phút. Vì vậy, việc sử dụng nồng độ NaOCl 8% trong thời gian 5 phút là thích hợp để khử trùng mẫu chồi của cây

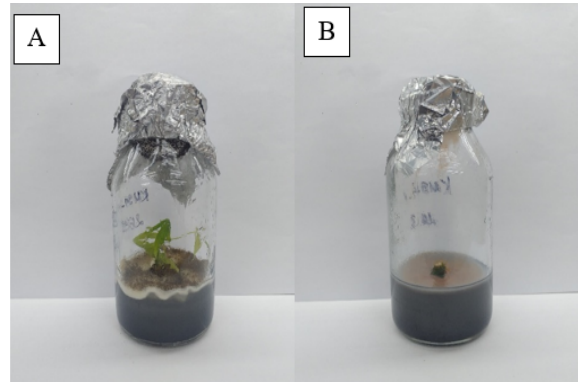
sản KM140.

### 3.2. Ảnh hưởng của môi trường và BA đến khả năng nhân chồi của cây sản KM140

Mẫu sản KM140 khi được cấy vào các môi trường khác nhau cho số chồi khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 50 NSC. Trong đó, khi cấy mẫu vào môi trường MS cho số chồi cao nhất 2,0 (chồi) khác biệt rất có ý nghĩa so với mẫu được cấy vào môi trường 1/2MS và Kundson C. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi bổ sung các nồng độ BA khác nhau cũng như sự tương tác giữa môi trường và các nồng độ BA. Môi trường MS cũng là môi trường cho kết quả về chiều cao chồi cao nhất (6,8 cm). Khi bổ sung các nồng độ BA khác nhau, có sự khác biệt rất có ý nghĩa của chiều cao chồi ở các nghiệm thức. Ở nồng độ 1 mg/L, chồi sản có chiều cao chồi cao nhất (6,4 cm) tuy không khác biệt thống kê so với khi mẫu được cấy vào môi trường có bổ sung 3 mg/L (5,0 cm) nhưng khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Sự tương tác giữa môi trường và nồng độ BA ảnh hưởng rất có ý nghĩa đến chiều cao chồi và số lá trên chồi. Trong đó, sự kết hợp giữa môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA cho kết quả về chiều cao chồi cao nhất ở thời điểm 50 NSC (10,3 cm). Và số lá/chồi cũng đạt kết quả cao nhất khi được cấy vào môi trường này (4,2 lá/chồi) (Bảng 2). Kết quả của nghiên cứu này là tương tự với nghiên cứu của Alla & ctv. (2013) cho thấy, môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BA + 0,05 mg/L NAA là thích hợp với việc nhân chồi trên sản. Và nhiều nghiên cứu khác cũng đã sử dụng môi trường MS để nhân chồi giống sản (Mapayi & ctv., 2013; Abdoulaye & ctv., 2015). Ngoài ra, Fletcher & ctv. (2011) sử dụng phương pháp tạo sẹo từ lá, cuống lá và chồi để nhân chồi các giống sản trong môi trường MS có bổ sung 8 mg/L 2,4 D cho kết quả về tỷ lệ sẹo hình thành cao nhất là 75%.

### 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ GA và NAA lên khả năng tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy GA và NAA có tác động đến quá trình tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*. Khi cây sản được cấy vào môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA cho số rễ trung bình cao nhất 17,7 rễ/cây, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với số rễ của chồi sản được nuôi cấy ở



**Hình 4.** Mẫu chồi sản bị nhiễm (A: Mẫu nhiễm nấm; B: Mẫu nhiễm khuẩn).

môi trường có các mức nồng độ GA khác. Các mức nồng độ NAA được bổ sung vào môi trường khác nhau cho kết quả về số rễ khác nhau và sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Khi bổ sung nồng độ 0,03 mg/L NAA vào môi trường thì cho số rễ trung bình cao nhất (15,5 rễ/cây) tuy sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê với số rễ/cây ở nồng độ 0,01 mg/L NAA nhưng có ý nghĩa so với số rễ/cây ở mức nồng độ 0,02 mg/L NAA. Và sự tương tác giữa nồng độ GA và nồng độ NAA có tác động rất có ý nghĩa đến số rễ và chiều dài rễ của cây sản KM140 *in vitro*.

Trong đó, khi cấy vào môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA cho kết quả về số rễ nhiều nhất, đạt 19,8 rễ/cây khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Và khi bổ sung 0,05 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA vào môi trường MS cho kết quả tốt nhất về chiều dài rễ (171,8 cm) và khác biệt không có ý nghĩa so với môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA. Vì vậy, môi trường này được xác định là thích hợp cho việc tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*.

Nghiên cứu về ảnh hưởng của NAA và GA đối với việc tạo rễ trên cây sản *in vitro* còn hạn chế. Tuy nhiên ảnh hưởng của NAA và GA trong nhân giống *in vitro* đối với một số cây trồng khác đã được nghiên cứu như trên khoai lang (Noh & ctv., 2010), nghiên cứu chỉ ra rằng sự kết hợp giữa NAA và GA trong môi trường nuôi cấy có tác động tích cực đến quá trình ra rễ của cây mô.

## 4. Kết Luận

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây sản nhằm sản xuất cây giống sạch bệnh, phục vụ

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và các khoảng thời gian đến tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm và mẫu chết của cây sắn KM140 ở thời điểm 14 ngày sau cấy

Ngày sau cấy	Nồng độ NaOCl (%)	Mức thời gian			TB NaOCl
		5	10	15	
Tỷ lệ mẫu sống (%)	4%	56,7	63,3	46,7	55,6 <sup>a</sup>
	8%	71,7	58,3	43,4	57,8 <sup>a</sup>
	12%	41,7	28,3	25,0	31,7 <sup>b</sup>
	TB TG	56,7 <sup>a</sup>	50,0 <sup>ab</sup>	38,3 <sup>b</sup>	
	CV(%) = 9,0	$F_{NaOCl} = 25,9^{**}$	$F_{TG} = 11,0^{**}$	$F_{NaOCl} \times TG = 1,6^{ns}$	
Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	4%	43,3 <sup>a</sup>	30,0 <sup>ab</sup>	38,3 <sup>a</sup>	37,2
	8%	28,3 <sup>ab</sup>	41,7 <sup>a</sup>	18,3 <sup>b</sup>	29,4
	12%	48,3 <sup>a</sup>	30,0 <sup>ab</sup>	11,7 <sup>b</sup>	30,0
	TB TG	40,0 <sup>a</sup>	33,9 <sup>a</sup>	22,8 <sup>b</sup>	
	CV(%) = 13,5	$F_{NaOCl} = 2,8^{ns}$	$F_{TG} = 9,8^{**}$	$F_{NaOCl} \times TG = 5,5^{**}$	
Tỷ lệ mẫu chết (%)	4%	0,0 <sup>e</sup>	6,7 <sup>d</sup>	15,0 <sup>c</sup>	7,2 <sup>b</sup>
	8%	0,0 <sup>e</sup>	0,0 <sup>e</sup>	38,3 <sup>b</sup>	12,8 <sup>b</sup>
	12%	10,0 <sup>cd</sup>	41,7 <sup>b</sup>	63,3 <sup>a</sup>	38,3 <sup>a</sup>
	TB TG	3,3 <sup>c</sup>	16,1 <sup>b</sup>	38,9 <sup>a</sup>	
	CV(%) = 13,5	$F_{NaOCl} = 90,8^{**}$	$F_{TG} = 122,8^{**}$	$F_{NaOCl} \times TG = 12,3^{**}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ), \*\*: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,01$ ), ns: không có khác biệt thống kê; TG: thời gian; TB: trung bình. Số liệu được chuyển đổi bằng công thức  $\sqrt{x + 0,5}$  để phân tích thống kê.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của môi trường nền và nồng độ BA (Benzyl adenine) đến số chồi, chiều cao chồi và số lá của cây sắn KM140 ở thời điểm 50 ngày sau cấy

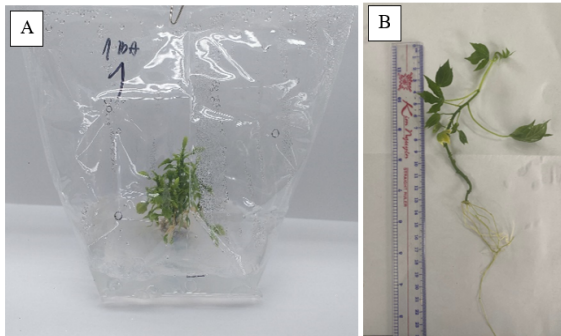
Ngày sau cấy	Môi trường	Nồng độ BA (mg/L)				TB MT
		1	2	3	4	
Số chồi (chồi)	MS	2,3	1,8	2,0	2,1	2,0 <sup>a</sup>
	$\frac{1}{2}$ MS	1,4	1,3	1,1	1,0	1,2 <sup>b</sup>
	Knuckson C	1,0	1,0	1,6	1,0	1,1 <sup>b</sup>
	TB BA	1,5	1,4	1,6	1,3	
	CV(%) = 17,1	$F_{MT} = 44,9^{**}$	$F_{BA} = 1,8^{ns}$	$F_{MT} \times BA = 2,4^{ns}$		
Chiều cao chồi (mm)	MS	10,3 <sup>a</sup>	5,0 <sup>bc</sup>	6,7 <sup>b</sup>	5,1 <sup>bc</sup>	6,8 <sup>a</sup>
	$\frac{1}{2}$ MS	4,8 <sup>bc</sup>	4,5 <sup>bc</sup>	3,7 <sup>c</sup>	3,0 <sup>c</sup>	4,0 <sup>b</sup>
	Knuckson C	4,2 <sup>bc</sup>	4,0 <sup>bc</sup>	4,5 <sup>bc</sup>	3,0 <sup>c</sup>	3,9 <sup>b</sup>
	TB BA	6,4 <sup>a</sup>	4,5 <sup>b</sup>	5,0 <sup>ab</sup>	3,7 <sup>b</sup>	
	CV(%) = 19,1	$F_{MT} = 33,9^{**}$	$F_{BA} = 21,4^{**}$	$F_{MT} \times BA = 7,3^{**}$		
Số lá (lá/chồi)	MS	4,2 <sup>a</sup>	2,2 <sup>bc</sup>	2,4 <sup>b</sup>	1,9 <sup>bc</sup>	2,7 <sup>a</sup>
	$\frac{1}{2}$ MS	2,2 <sup>bc</sup>	2,6 <sup>b</sup>	2,1 <sup>bc</sup>	1,7 <sup>bc</sup>	2,1 <sup>b</sup>
	Knuckson C	1,9 <sup>bc</sup>	1,3 <sup>c</sup>	2,0 <sup>bc</sup>	0,2 <sup>d</sup>	1,3 <sup>c</sup>
	TB BA	2,7 <sup>a</sup>	2,1 <sup>b</sup>	2,2 <sup>b</sup>	1,3 <sup>c</sup>	
	CV(%) = 19,1	$F_{MT} = 33,9^{**}$	$F_{BA} = 21,4^{**}$	$F_{MT} \times BA = 7,3^{**}$		

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ), \*\*: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,01$ ), ns: không có khác biệt thống kê; MT: môi trường; TB: trung bình.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nồng độ GA (Gibberellin) và NAA (Naphthalene acetic acid) đến số rễ, chiều dài rễ của cây sắn KM140 ở thời điểm 60 ngày sau cấy

Ngày sau cấy	Nồng độ GA	Nồng độ NAA			TB GA
		0,01	0,02	0,03	
Số rễ (rễ/cây)	0,03	12,6 <sup>e</sup>	15,7 <sup>c</sup>	16,2 <sup>bc</sup>	10,8 <sup>c</sup>
	0,05	10,0 <sup>f</sup>	14,0 <sup>d</sup>	17,2 <sup>b</sup>	15,5 <sup>b</sup>
	0,07	9,9 <sup>f</sup>	16,8 <sup>bc</sup>	19,8 <sup>a</sup>	17,7 <sup>a</sup>
	TB NAA	14,8 <sup>a</sup>	13,7 <sup>b</sup>	15,5 <sup>a</sup>	
	CV(%) = 3,4	$F_{GA} = 26,9^{**}$	$F_{NAA} = 424,5^{**}$	$F_{GA \times NAA} = 30,6^{**}$	
Chiều dài rễ (mm)	0,03	132,5 <sup>de</sup>	160,9 <sup>ab</sup>	157,3 <sup>ab</sup>	150,2
	0,05	120,6 <sup>e</sup>	151,9 <sup>bc</sup>	171,8 <sup>a</sup>	148,1
	0,07	140,7 <sup>cd</sup>	133,7 <sup>de</sup>	159,3 <sup>ab</sup>	144,6
	TB NAA	131,3 <sup>c</sup>	148,8 <sup>b</sup>	162,8 <sup>a</sup>	
	CV(%) = 4,1	$F_{GA} = 1,9^{ns}$	$F_{NAA} = 58,7^{**}$	$F_{GA \times NAA} = 13,0^{**}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ), \*\*: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,01$ ), ns: không có khác biệt thống kê; TB: trung bình.



**Hình 5.** **A.** Chồi sắn được cấy trong môi trường MS bổ sung 1 mg/L BA ở thời điểm 50 ngày sau cấy; **B.** Số rễ và chiều dài rễ của cây sắn ở môi trường MS được bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA ở thời điểm 60 ngày sau cấy.

sản xuất đang được chú trọng. Kết quả nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* đối với giống sắn KM140 cho thấy sử dụng Natri hypochlorite (NaOCl) nồng độ 8% trong 5 phút để khử trùng mẫu chồi sắn KM140 đạt tỷ lệ sống 73,3% sau 21 ngày. Môi trường MS bổ sung 1 mg/L BA đạt hệ số nhân chồi 2,3, chiều cao chồi 10,3 mm và số lá đạt 4,2 lá/chồi sau 50 ngày nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung 0,07 mg/L NAA và 0,03 mg/L GA là thích hợp cho việc tạo rễ cây sắn KM140, sau 60 ngày nuôi cấy, số rễ /cây đạt 19,8 rễ.

**Lời Cam Đoan**

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

**Tài Liệu Tham Khảo (References)**

Abdoulaye, F. A. Y. E., Sagna, M., Kane, P. D., & Djibril, S. A. N. E. (2015). Effects of different hormones on organogenesis *in vitro* of some varieties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) grown in Senegal. *African Journal of Plant Science* 9(8), 305-312. <https://doi.org/10.5897/AJPS2014.1243>.

Alla, N. A. A., Ragab, M. E., El-Miniawy, S. E. M., & Taha, H. S. (2013). *In vitro* studies on cassava plant micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Applied Sciences Research* 9(1), 811-820.

Escobar, R. H., Restrepo, J., Tohme, J., & Roca, W. M. (2013). Use of tissue culture in cassava for rural households in Colombia. In: Ruane, J., Dargie, J. D., Mba, C., Boettcher, P., Makkar, H. P. S., Bartley, D. M., & Sonnino, A. (Eds). *Biotechnologies at work for smallholders: Case studies from developing countries in crops, livestock and fish* (1<sup>st</sup> ed., 56-62). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fletcher, E. K., Amoako, T. N., & Twumasi, P. (2011). Effect of 2, 4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ghana. *African Journal of Biotechnology* 10(46), 9396-9401. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2115>.

Hamill, S. D. (2014). Processes, costs and traits of plants produced in tissue culture must be considered to develop effective crop production systems. In Lambardi, M., Hamill, S. and Drew, R. (Eds.), *XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014): 1113* (85-92). Brisbane, Australia: ISHS. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1113.12>.

Hy, N. H., Reinhardt, H., Nhan, P. T., & Buu, B. C. (2020). *Cassava science*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.

- Mapayi, E. F., Ojo, D. K., Oduwaye, O. A., & Porbeni, J. B. O. (2013). Optimization of in-vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Journal of Agricultural Science* 5(3), 261. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n3p261>.
- Maruthi, M. N., Whitfield, E. C., Otti, G., Tumwegamire, S., Kanju, E., Legg, J. P., Mkamilo, G., Kawuki, R., Benesi, I., Zacarias, A., & Munga, T. (2019). A method for generating virus-free cassava plants to combat viral disease epidemics in Africa. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 105, 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.09.002>.
- Minh T. V. (2005). *Plant cell technology* (1<sup>st</sup> ed.). Ha Noi, Vietnam: Vietnam Academy of Science and Technology.
- Muimba-Kankolongo, A., Chalwe, A., Sisupo, P., & Kang, M. S. (1997). Distribution, prevalence and outlook for control of cassava mosaic disease in Zambia. *Roots* 4(1), 2-7.
- Noh, S. A., Lee, H. S., Huh, E. J., Huh, G. H., Paek, K. H., Shin, J. S., & Bae, J. M. (2010). SRD1 is involved in the auxin-mediated initial thickening growth of storage root by enhancing proliferation of metaxylem and cambium cells in sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Experimental Botany* 61(5), 1337-1349. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp399>.
- Sessou, A. F., Kahia, J. W., Houngue, J. A., Ateka, E. M., Dadjo, C., & Ahanhanzo, C. (2020). In vitro propagation of three mosaic disease resistant cassava cultivars. *BMC Biotechnology* 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00645-8>.
- Thresh, J. M., Otim-Nape, G. W., Legg, J. P., & Fargette, D. (1997). Africa cassava mosaic disease: What is the magnitude of the problem. In Thro, R. M. and Akoroda, M. P.(Eds), *Proceedings of The Cassava Biotechnology Network Third International Scientific Meeting*. Ibadan, Nigeria: International Society for Tropical Root Crops - Africa Branch (ISTR-C-AB).
- Uke, A., Hoat, T. X., Quan, M. V., Liem, N. V., Ugaki, M., & Natsuaki, K. T. (2018). First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infecting cassava in Vietnam. *Plant Disease* 102(12), 2669. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0805-PDN>.