

NUÔI CÂY MẦM NGŨ PHÁT HOA LAN HỒ ĐIỆP (*PHALAENOPSIS* SP.)

Nguyễn Thị Pha¹, Trần Thị Xuân Mai¹, Lê Thị Mai Trang² và Nguyễn Thị Liên¹

ABSTRACT

This research study on building the procedure for direct shoot regeneration of Phalaenopsis orchid from dormant buds of flower stalks. The results showed that: The medium with low macro and micro salt (1/2 macro MS + 1/2 micro MS, plus 2 mg/l BAP and 0.5mg/l NAA) obtaining the highest number of shoots regeneration after 60 days of subculture inoculum (2.83 shoots/bud). The different position of dormant buds produced different shoots proliferation. Dormant buds near the base of flower stalks regenerated more vegetative shoots (82%), while dormant buds far from the base of flower stalks gave more reproductive shoot (33.24%). The medium of B5 macro salt and MS micro salt without plant growth regulator, vitamin and organic extract was most suitable for root regeneration (average 2 roots with 0.87 cm length).

Keywords: *In vitro propagation, Phalaenopsis, culture media, plant growth regulator, dormant buds, flower stalk*

Title: *Direct shoot regeneration from dormant buds of flower stalks of Phalaenopsis orchids*

TÓM TẮT

Đề tài nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống trực tiếp lan hồ điệp Phalaenopsis từ mầm ngủ phát hoa không qua giai đoạn tạo mô sẹo. Kết quả thu được ở môi trường có nồng độ khoáng thấp (1/2 macro MS + 1/2 micro MS, bổ sung 2 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA) có hiệu quả tạo chồi cao nhất (2,83 chồi/mầm) ở 60 ngày sau khi cấy. Vị trí mầm ngủ khác nhau cho kết quả tạo chồi khác nhau, mầm ngủ gần gốc phát hoa cho tỷ lệ chồi sinh dưỡng cao (82%), trong khi mầm ngủ xa gốc phát hoa lại cho tỷ lệ chồi sinh sản cao (33.24%). Môi trường có thành phần khoáng đa lượng tương tự môi trường B5 (Gamborg và cộng sự, 1968), các khoáng vi lượng tương tự môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962), không có chất điều hòa sinh trưởng, vitamin, dịch trích hữu cơ cho khả năng tạo rễ tốt nhất (trung bình 2 rễ, với chiều dài 0,87 cm).

Từ khóa : *Nhân giống, lan Hồ điệp, Phalaenopsis, môi trường nuôi cấy, chất điều hòa sinh trưởng, mầm ngủ, phát hoa*

1 GIỚI THIỆU

Lan Hồ Điệp (*Phalaenopsis*) thuộc họ Orchidaceae, là một trong những giống lan rất được yêu thích trên thế giới (Griesbach, 2002). Chính màu sắc đa dạng, kiểu dáng khác lạ đã tạo ra nét đẹp sang trọng và trang nhã cho hoa lan và đặc biệt là sự bền bỉ lâu tàn đặc trưng của hoa lan càng tôn thêm giá trị cho loài hoa quý phái này. Hiện nay, xu hướng trang trí nội thất bằng các cây lan trong chậu hay cắt cành đang có nhu cầu ngày càng cao. Tuy nhiên, tình hình sản xuất lan Hồ Điệp và các loài lan khác trong nước không đủ đáp ứng nhu cầu nên hàng năm nước ta phải tiêu tốn rất nhiều ngoại tệ để nhập khẩu một lượng lớn hoa cành và hoa chậu, đặc

¹ Viện Nghiên cứu - phát triển CNSH, Trường Đại học Cần Thơ

² Sinh viên Công Nghệ Sinh Học K29, Trường Đại học Cần Thơ

biệt là các giống lan từ Thái Lan và Đài Loan. Khó khăn lớn nhất trong nhân giống vô tính Hồ Điệp (*Phalaenopsis*) và Hồ Điệp lai (*Doritaenopsis*) là nguồn mẫu rất hạn chế do chúng là cây đơn thân. Việc sử dụng chồi sinh dưỡng để nuôi cấy như nhiều loài lan khác sẽ làm tổn thương cây mẹ. Hiện nay, phương pháp nhân giống lan Hồ Điệp từ mầm ngủ phát hoa được sử dụng phổ biến hơn. Ưu điểm chính của phương pháp này là không làm tổn thương cây mẹ, so với việc nhân giống từ đỉnh sinh trưởng. Hơn nữa, việc nhân giống *in vitro* từ mầm ngủ phát hoa có thể tạo ra cây con sạch bệnh và đồng nhất về di truyền, điều mà phương pháp gieo hạt truyền thống không thể đạt được (Dương Công Kiên, 2006 b). Phương pháp nhân giống vô tính từ mầm ngủ phát hoa thường được sử dụng để tạo nguồn nguyên liệu mô *in vitro* cho một số phương pháp khác như phát sinh protcorm-like body (PLB) từ mô *in vitro* (lá, chóp rễ, ...) (Tanaka *et al.*, 1977; Park *et al.*, 2002, 2003), tạo mô sẹo, phát sinh phôi vô tính.

Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình vi nhân giống, tạo cây con trực tiếp từ mầm ngủ phát hoa của giống lan Hồ Điệp (*Phalaenopsis*) và Hồ Điệp lai (*Doritaenopsis*) mà không qua tạo mô sẹo, nhằm tạo ra nguồn cây con đồng nhất làm cây giống đồng thời tạo nguồn cây *in vitro* phong phú dùng làm nguồn vật liệu cho những nghiên cứu sau này.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Phát hoa tàn thuộc giống *Phalaenopsis*, *Doritaenopsis* ở các vườn lan tại thành phố Cần Thơ

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phát hoa sau khi khử trùng được cắt thành mẫu cấy là những đoạn dài 1-1,5 cm có mang ngầm ngủ. Mẫu cấy được nuôi trên môi trường tạo chồi và tạo rễ qua 2 giai đoạn để hình thành cây hoàn chỉnh. Các vị trí khác nhau của mẫu cấy trên phát hoa cũng được khảo sát khả năng tạo chồi để xác định vị trí mầm ngủ thích hợp nhất cho vi nhân giống lan hồ điệp từ mầm ngủ phát hoa. Các thí nghiệm được bố trí như sau:

2.2.1 Thí nghiệm 1:

Khảo sát ảnh hưởng của môi trường đến khả năng tạo chồi (bao gồm chồi sinh sản và chồi sinh dưỡng) của mầm ngủ phát hoa không qua tạo mô sẹo.

Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố, với 6 nghiệm thức (Bảng 1), 4 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 3 ống nghiệm (1 mầm/ống).

Bảng 1: Các nghiệm thức môi trường tạo chồi

Nghiệm thức	Chất khoáng	Chất điều hòa sinh trưởng
B0	1/2 (Đa lượng+Vi lượng) MS	2 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA
B1	(Đa lượng+Vi lượng) MS	2 mg/l BAP
B2	(Đa lượng+Vi lượng) MS	2 mg/l BAP + 1 mg/l NAA
B3	1/2 Đa lượng MS	2 mg/l BAP
B4	1/2 Đa lượng MS	2 mg/l BAP + 1 mg/l NAA
B5	(Đa lượng+Vi lượng) MS	15 mg/l BAP + 4 mg/l NAA

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi sinh dưỡng và số chồi sinh sản từ các mầm ngủ phát hoa của các nghiệm thức ở 30, 45, 60 ngày sau khi cấy (NSKC).

2.2.2 *Thí nghiệm 2:*

Khảo sát ảnh hưởng của vị trí các mầm ngủ phát hoa đến khả năng tạo chồi.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (Bảng 2), 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 6-8 ống nghiệm (1 mầm/ống). Các mầm được cấy vào môi trường tạo chồi tốt nhất của thí nghiệm 1.

Bảng 2: Các nghiệm thức theo vị trí mầm ngủ trên phát hoa

Nghiệm thức	Vị trí của mầm ngủ trên phát hoa
C1	Mầm ngủ 1 và 2
C2	Mầm ngủ 3 và 4
C3	Mầm ngủ 5 và 6
C4	Mầm ngủ 7 và 8

Vị trí của các mầm ngủ được đánh số thứ tự theo chiều từ gốc phát hoa đến vị trí hoa nở đầu tiên.

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi sinh sản và sinh dưỡng hình thành từ các mầm ngủ ở 15, 30 NSKC. Số mầm không phát triển trong số các mầm được cấy vào.

2.2.3 *Thí nghiệm 3:*

Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo rễ của các chồi hình thành từ mầm ngủ phát hoa

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức (Bảng 3), 7 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 1 ống nghiệm (1 mầm/ống). Các mầm ngủ đã phát triển (có từ 1-2 lá) của thí nghiệm 1 được cấy trên các môi trường tạo rễ.

Chỉ tiêu theo dõi: chiều dài rễ (đo từ gốc cho đến chóp rễ), số rễ (đếm các rễ nhú ra thấy được), số rễ/chồi tạo thành và tỷ lệ chồi tạo rễ của mỗi mầm ngủ trong từng nghiệm thức ở 15 ngày, 30 ngày, 45 ngày sau khi cấy chuyền.

Bảng 3: Các nghiệm thức môi trường tạo rễ

Nghiệm thức	Môi trường	Thành phần bổ sung
D0	Môi trường D	-
D1	Môi trường D	chuối xiêm (100 g/l)
D2	Môi trường D	chuối xiêm (100 g/l) + vitamin B5
D3	Môi trường D	khoai tây (100 ml/l)
D4	Môi trường D	khoai tây (100 ml/l) + vitamin B5

Môi trường D có thành phần khoáng đa lượng của môi trường B5 (Gamborg và cộng sự, 1968), các khoáng vi lượng của môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962)

2.2.4 *Phương pháp phân tích thống kê*

Các số liệu được phân tích ANOVA và phép so sánh cặp LSD 5% của phần mềm STATGRAPHICS.

Các giá trị phần trăm được đổi sang Arcsin√x theo công thức tính trong bảng Excel là: ASIN(SQRT(x)/10)*180/3,1416. (Với x là giá trị phần trăm cần đổi) (Gomez & Gomez, 1984).

3 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của môi trường đến khả năng tạo chồi của mầm ngủ phát hoa

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi sinh dưỡng và số chồi sinh sản từ các mầm ngủ phát hoa của các nghiệm thức ở 30, 45, 60 ngày sau khi cấy.

Thông thường mỗi mầm ngủ phát hoa của chi *Phalaenopsis* chỉ phát triển thành một chồi nên việc tìm ra môi trường có thể kích thích mầm ngủ hình thành nhiều chồi là cần thiết. Trong nghiên cứu này, mầm ngủ phát hoa được nuôi cấy trong 6 loại môi trường tạo chồi (B0, B1, B2, B3, B4, B5) (Bảng 4). Quan sát ở 6 loại môi trường, các mầm ngủ đều bị kích thích để phát triển to dần và bắt đầu hình thành chồi trong vòng 10-30 ngày; giống với mô tả của Tisserat và Jones (1999). Tổng số chồi được tạo thành từ 72 mầm ngủ là 95 chồi, trong đó chồi sinh dưỡng là 85 chồi (89,47%). Trong các môi trường được khảo sát, môi trường B0 có nồng độ các chất khoáng đa lượng và vi lượng, vitamin thấp nhất nhưng số chồi/mầm ở 60 NSKC là cao nhất (2,8 chồi)($P < 0,01$), trong khi các môi trường còn lại số chồi/mầm khác biệt không ý nghĩa (Bảng 4). Điều này phù hợp với trình bày của Dương Công Kiên (2006), môi trường nuôi cấy cần có các muối khoáng như cây trồng trong thiên nhiên nhưng với nồng độ rất thấp. Theo báo cáo của Košir và cộng sự (2004), kết quả thu được số chồi/mầm ở 160 ngày sau cấy là 8,35. Ở thí nghiệm này số chồi/mầm cao nhất ở 60 ngày sau cấy của môi trường B0 là 10 chồi, môi trường B1 là 2 chồi, trong khi tất cả các nghiệm thức của các môi trường khác chỉ tạo 1 chồi (Hình 1)

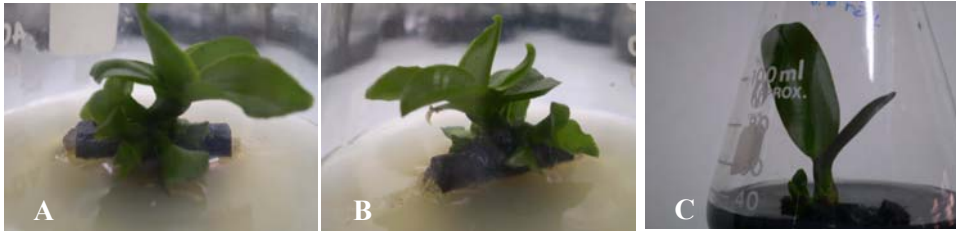
Theo Phillips và Chilton (1991), cytokinin có chức năng kích thích sự phát triển của chồi bên, trong khi auxin có vai trò trong pha kéo dài của tế bào. Một vài tác giả cho rằng việc bổ sung NAA sẽ ức chế khả năng kích thích và tái sinh mầm ngủ (Arditti và Ernst, 1993), trong khi một số khác lại cho việc phối hợp NAA và BAP có thể kích thích sự tạo chồi (Tokuhara và Mii, 1993; Tisserat và Jones, 1999; Roy và Banerjee, 2003; Phillips và Chilton, 1991). Tỷ lệ nồng độ auxin và cytokinin khác nhau có thể kích thích sự thành lập những mô khác nhau (mô sẹo, rễ, chồi). Trong nghiên cứu này, môi trường B0 (0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP) sử dụng chất điều hòa sinh trưởng với nồng độ thấp nhất nhưng lại cho số chồi/mầm trung bình cao nhất (2,8 chồi/mầm), khác biệt có ý nghĩa với các môi trường còn lại (bảng 4)

Bảng 4: Số chồi sinh dưỡng, chồi sinh sản trên các môi trường tạo chồi sau 60 nuôi cấy

Môi trường	Thành phần khoáng	Tỉ lệ auxin- cytokinin	Số chồi sinh dưỡng	Số chồi sinh sản
B0	1/2 (Đa lượng+Vi lượng) MS	2mg/l BAP+0,5mg/l NAA	2,8 b	0,0 a
B1	(Đa lượng+Vi lượng) MS	2mg/l BAP	1,1 a	0,0 a
B2	(Đa lượng+Vi lượng) MS	2mg/l BAP+1mg/l NAA	1,0 a	0,0 a
B3	1/2 Đa lượng MS	2mg/l BAP	1,0 a	0,3 b
B4	1/2 Đa lượng MS	2mg/l BAP+1mg/l NAA	1,0 a	0,5 b
B5	(Đa lượng+Vi lượng) MS	15mg/l BAP+4mg/l NAA	1,0 a	0,0 a
		Giá trị P *	0,0000	0,0000
		CV (%) *	14,37	11,47

* Số liệu đã được chuyển đổi khi phân tích thống kê. Trên cùng một cột, các số trung bình có cùng ký tự là không khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Từ các kết quả phân tích trên cho thấy môi trường B0 là môi trường tốt nhất cho việc tạo chồi từ mầm ngủ phát hoa lan hồ điệp.



Hình 1: Mẫu cây tạo nhiều chồi nhất của môi trường B0 (nhìn từ mặt trước-A, mặt sau-B), môi trường B1 (C)

3.2 Ảnh hưởng của vị trí các mầm ngủ phát hoa đến khả năng tạo chồi

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi sinh sản và sinh dưỡng hình thành từ các mầm ở 15, 30 NSKC. Số mầm không phát triển trong số các mầm được cấy vào.

Trong thí nghiệm này, các mầm ngủ được đánh số thứ tự từ gốc phát hoa đến vị trí hoa nở đầu tiên. Các mầm ngủ được nuôi cấy ở nhiệt độ $27^{\circ}\text{C} \pm 1$. Do chiều dài và số mầm ngủ trên các phát hoa khác nhau nên số mầm ngủ ở các vị trí không bằng nhau. Kết quả thí nghiệm thu được tỉ lệ chồi sinh dưỡng trung bình (71,06 %) cao hơn chồi sinh sản (9,14%) và mầm không phát triển (19,79%) (Bảng 5).

Bảng 5: So sánh tỉ lệ trung bình giữa các dạng phát triển của mầm ngủ ở 45 NSKC

Các dạng phát triển	Tỷ lệ %
Chồi sinh sản	9,14
Không phát triển	19,79
Chồi sinh dưỡng	71,06

Košir *et al* (2004) báo cáo rằng vị trí của các mầm ngủ từ trên xuống gốc phát hoa không khác biệt có ý nghĩa trong khả năng tái sinh của chúng. Tuy nhiên, theo Tanaka và Sakanishi (1977), điều kiện nuôi cấy (các chất dinh dưỡng, chất điều hòa sinh trưởng, nhiệt độ) và vị trí của các mầm ngủ (giai đoạn phát triển sinh lý) có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của mầm ngủ. Trong đó, nhiệt độ nuôi cấy (28°C - 30°C) là một yếu tố quan trọng để kích thích mầm ngủ thoát khỏi tình trạng tiềm sinh. Khi nuôi cấy ở 28°C , các mầm ngủ ở vị trí 3 và 4 có khả năng phát triển thành cây con với tỉ lệ rất cao trong khi các mầm ngủ ở vị trí 1 và 2 không phát triển và chết trong thời gian ngắn.

Bảng 6: Tỷ lệ chồi sinh dưỡng, chồi sinh sản, mầm không phát triển giữa các nghiệm thức ở 45 NSKC

Nghiệm thức	Tỷ lệ chồi sinh dưỡng (%)	Tỷ lệ chồi sinh sản (%)	Tỷ lệ mầm không phát triển (%)
C1 (mầm 1&2)	59,77 a	3,33 a	36,9 b
C2 (mầm 3&4)	86,73 b	0,00 a	13,27a
C3 (mầm 5&6)	82,25 b	0,00 a	17,75 a
C4 (mầm 7&8)	55,51 a	33,24 b	11,25 a
Giá trị P	0,0001	0,0000	0,008
CV (%)	20,928	161,772	61,683

Trên cùng một cột, các số trung bình có cùng ký tự là không khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%.

Kết quả bảng 6 cho thấy tỉ lệ chồi sinh dưỡng trung bình của C2 và C3 cao hơn C1 và C4 với mức ý nghĩa 1%. Các mầm ngủ ở tất cả các vị trí đều có khả năng tạo chồi sinh dưỡng và có mầm không phát triển. Trong khi tỉ lệ mầm không phát triển cao nhất là nghiệm thức C1 (36,9%), các nghiệm thức còn lại khác biệt không ý nghĩa ở mức 1%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Tanaka và Sakanishi (1977): các mầm ngủ C2 (mầm 3 và 4), C3 (mầm 5 và 6), có khả năng tạo chồi với tỉ lệ rất cao (82,25%-86,73%) và các mầm ngủ nằm gần gốc phát hoa C1 (mầm 1 và 2) có khả năng tạo chồi kém hơn C2, C3 (cách đánh số thứ tự vị trí mầm ngủ của thí nghiệm này từ gốc phát hoa đến vị trí hoa nở đầu tiên- ngược với cách đánh số thứ tự của Tanaka và Sakanishi, 1977). Một số nốt ở vị trí số 1 chỉ có lá bắc mà không có mầm ngủ nên không thể phát sinh chồi mới. Theo Nguyễn Bảo Toàn (2004), các mô phân sinh có khoảng cách càng xa ngọn chồi hay ngọn rễ thì càng già. Như vậy, các mầm ngủ nằm càng gần gốc phát hoa thì càng già, dẫn đến khả năng tái sinh và phát triển giảm. Điều này có thể là nguyên nhân làm cho tỉ lệ mầm không phát triển của C1 là cao nhất.

Tỷ lệ tạo chồi sinh sản của C4 là cao nhất (33,24%) (P< 0,01) các nghiệm thức còn lại khác biệt không ý nghĩa (Bảng 6). Các mầm ngủ của nghiệm thức C4 cho tỉ lệ chồi sinh sản cao là do chịu ảnh hưởng của hiện tượng ức chế ngọn do nồng độ auxin gây ra. Auxin được sinh ra từ đỉnh ngọn có thể di chuyển xuống các vị trí mầm bên dưới sau khi cắt bỏ ngọn, những vị trí mầm gần ngọn thì lượng auxin cao hơn những vị trí mầm kế tiếp, do đó tính làm kéo dài tế bào của auxin có ưu thế hơn nên đã tạo chồi sinh sản thứ cấp (Võ Thị Bạch Mai, 1996).

3.3 Ảnh hưởng của môi trường đến khả năng tạo rễ của các chồi hình thành từ mầm ngủ phát hoa

Chỉ tiêu theo dõi: chiều dài rễ, số rễ/chồi tạo thành và tỷ lệ chồi tạo rễ của mỗi mầm ngủ trong từng nghiệm thức ở 15 ngày, 30 ngày, 45 ngày sau khi cấy chuyển.

Các chồi sinh dưỡng có 1-2 lá từ thí nghiệm 2 được cấy chuyển sang 5 loại môi trường tạo rễ (D0, D1, D2, D3, D4) (Bảng 3).

3.3.1 Chiều dài rễ

Trong 15 NSKC, các chồi bắt đầu thích ứng với môi trường dinh dưỡng mới và bắt đầu tạo rễ (kích thước rễ từ 0,1-0,3 cm). Kết quả phân tích thống kê cho thấy ở giai đoạn 15 NSKC chiều dài rễ của các nghiệm thức môi trường đã có sự khác biệt nhưng chưa đạt mức có ý nghĩa (bảng 7). Tuy nhiên, từ 30 NSKC trở đi thì sự

khác biệt giữa các nghiệm thức đã được tìm thấy, trong đó môi trường D0 cho sự sinh trưởng của rễ tốt nhất khác biệt có ý nghĩa với các môi trường còn lại.

Bảng 7: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến chiều dài rễ

Môi trường	Chiều dài rễ (cm)		
	15 NSKC	30 NSKC	45 NSKC
D0	0,29	0,81 b	1,20 b
D1	0,12	0,32 a	0,62 a
D2	0,13	0,34 a	0,53 a
D3	0,18	0,46 a	0,81 ab
D4	0,09	0,24 a	0,49 a
Giá trị P*	0,213050	0,016275	0,040101
CV (%)*	4,31	5,805	7,283

* Số liệu đã được chuyển đổi sang $\sqrt{(x+0,5)}$ khi phân tích thống kê. Trên cùng một cột, các số trung bình được theo sau cùng một ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa.

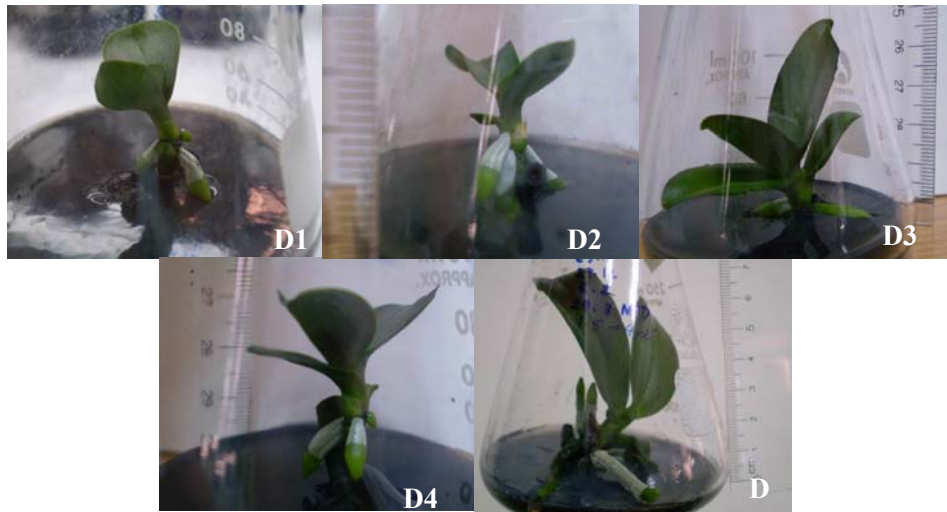
3.3.2 Số rễ

Cũng tương tự như sự phát triển chiều dài rễ, số rễ ở các giai đoạn đầu giữa các nghiệm thức môi trường chưa có sự khác biệt ở mức có ý nghĩa nhưng tới 45 NSKC thì sự khác biệt mới được tìm thấy, trong đó môi trường D0 cũng là môi trường tốt nhất cho số rễ cao nhất (2,8 rễ/chồi) khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức còn lại (Bảng 8). Quan sát sự phát triển của rễ ở 45 NSKC cũng xác định được môi trường D cho số rễ nhiều hơn và phát triển tốt hơn các môi trường khác (hình 2)

Bảng 8: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự hình thành rễ

Môi trường	Số rễ/chồi		
	15 NSKC	30 NSKC	45 NSKC
D0	0,71	2,00	2,78 b
D1	0,33	0,89	1,22 a
D2	0,78	1,22	1,44 a
D3	0,44	1,44	1,75 a
D4	0,44	1,22	1,44 a
Giá trị P*	0,330932	0,321997	0,010640
CV (%)*	9,337	12,874	7,663

* Số liệu đã được chuyển đổi sang $\sqrt{(x+0,5)}$ khi phân tích thống kê. Trên cùng một cột, các số trung bình được theo sau cùng một ký tự thì không khác biệt có ý nghĩa.



Hình 2: Sự tạo rễ trong các môi trường ở 45 NSKC (các hình D0, D1, D2, D3, D4 là hình chụp sự tạo rễ trên các môi trường tương ứng)

3.3.3 Số chồi tạo rễ

Số chồi có rễ của môi trường D0 cũng được xác định là cao nhất, kế đến là môi trường D3, các môi trường còn lại khác biệt không ý nghĩa (Bảng 9). Các môi trường có bổ sung thêm chất hữu cơ tự nhiên (nước chuối xiêm xay hay dịch chiết khoai tây) và vitamin B5 như môi trường D1, D2, D4 ảnh hưởng đến sự tạo rễ khác biệt không ý nghĩa. Ở 45 NSKCC, kích thước rễ từ 0,5-1,2 cm và có số rễ từ 1-4 rễ. Từ các kết quả trên cho thấy môi trường D thích hợp để tạo rễ cho các chồi phát triển từ mầm ngủ ở môi trường B0 ở thí nghiệm 2.

Bảng 9: Ảnh hưởng của môi trường đến số chồi có rễ ở 45 NSKCC

Môi trường	Số chồi có rễ (chồi)
D4 (dịch chiết khoai tây + vitamin B5)	2,67 a
D1(nước chuối xiêm xay)	3,67 ab
D2(nước chuối xiêm xay + vitamin B5)	3,00 a
D3(dịch chiết khoai tây)	4,67 b
D0	6,00 c
Giá trị P	0,0004
CV (%)	13,693

Trên cùng một cột, các số trung bình có cùng ký tự là không khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%.

4 KẾT LUẬN

- Môi trường B0 (1/2MS đa lượng, 1/2 MS vi lượng, 2 mg/l BAP + 0.5 mg/lNAA) cho kết quả tạo chồi cao nhất (2.8 chồi/mầm ngủ).
- Các mầm ngủ 3, 4 và 5, 6 có khả năng tạo chồi sinh dưỡng tốt nhất với tỉ lệ lần lượt là 82,25% và 86,73%. Các mầm 7 và 8 có khả năng tạo chồi với tỉ lệ chồi sinh sản cao nhất (33,24%).

- Môi trường D0 (đa lượng B5 + Vi lượng MS, không bổ sung chất hữu cơ) thích hợp nhất cho việc tạo rễ do có số chồi tạo rễ cao nhất (6 chồi), số rễ/chồi cao nhất (2,78 rễ) và chiều dài của rễ cao nhất (1,20 cm) ở 45 NSKCC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arditti, J., Ernst, R., 1993. Micropropagation of orchids. John Wiley & Sons, New York, USA..
- Dương Công Kiên, 2006. Nuôi cấy mô, tập 2. NXB Đại học Quốc Gia TP.HCM. p:41-43.
- Griesbach, R. J., 2002. Development of Phalaenopsis orchids for the Mass-Market. p: 458-463.
- Košir, P., Škof, S., Luthar, Z., 2004. Direct shoot regeneration from nodes of Phalaenopsis orchids, Acta agriculturae slovenica, 83-2. p: 233-243.
- Murashige, T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth & bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15. p: 473-497.
- Nguyễn Bảo Toàn, 2004. Giáo trình Nuôi cấy mô và tế bào thực vật. Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng. Đại Học Cần Thơ. p:7-16, 135-153.
- Park, S.Y., Murthy, H. N., Paek, K.Y., 2002. Rapid propagation of Phalaenopsis from floral stalk – derived leaves, In Vitro Cell, Dev. Biol. Plant, 38. p: 168-172.
- Park, S.Y., Murthy, H. N., Paek, K.Y., 2003. Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root tip cultures of Doritaenopsis, Plant Science, 164. p: 919-923
- Phillips, W.D., Chilton, T.J., 1991. Biology. Oxford University Press, Vol 2. p: 51-62.
- Roy và Banerjee, 2003; Roy, J., Banerjee, N., 2003. Induction of callus and plant regeneration from shoot-tip explants of Dendrobium fimbriatum Lindl. var. oculatum Hk. F. Scientia Hortic. p: 333-340.
- Tanaka, M., Sakanishi, Y., 1977. Clonal propagation of Phalaenopsis by leaf tissue culture, Am. Orchid Soc. Bull, 46. p: 733-737.
- Tisserat, B., and Jones D., 1999. Clonal propagation of orchids, In: Hall, R.D. (Ed): Plant Cell Culture Protocols, Methods in Molecular Biology, 111, Human Press Inc., Totowa, NJ, USA. p: 127-134.
- Tokuhara, K., Mii, M. 1993. Micropropagation of Phalaenopsis and Doritaenopsis by culturing shoot tips of flower stalk buds. Plant Cell Rep. p: 7-11.
- Võ Thị Bạch Mai, 1996. Nhân giống vô tính một số lan Hồ Điệp (*Phalaenopsis* sp.). Luận án phó tiến sĩ khoa học sinh học Thành Phố Hồ Chí Minh. p:6-87.