

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO* TRONG NHÂN GIỐNG QUẾ LAN HƯƠNG (*Aerides odorata* Lour.)

Nguyễn Văn Việt¹, Bùi Văn Thắng², Nguyễn Thị Hương³, Nguyễn Thị Thu Hằng⁴

^{1,2,3}Trường Đại học Lâm nghiệp

⁴Trung tâm phát triển Lâm nghiệp Hà Nội

TÓM TẮT

Vi nhân giống cây Quế lan hương bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy sát khuẩn bề mặt quả bằng ethanol 70% trong 2 phút, khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 15 phút và nuôi cấy trên môi trường Knops, cho tỷ lệ mẫu sạch 94,33% và 88,67 % mẫu tái sinh thể chồi sau 5 tuần. Môi trường Knops bổ sung BAP 0,5 mg/l, Kinetin 0,2 mg/l và NAA 0,3 mg/l cho khả năng tạo thể chồi tốt nhất, các thể chồi to, mập, xanh thẫm và hệ số tạo thể chồi đạt 4,78 lần sau 4 tuần. Nhân nhanh chồi trên môi trường khoáng cơ bản Knops bổ sung BAP 0,8 mg/l, Kinetin 0,4 mg/l, NAA 0,1 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 30 g/l và agar 4 g/l, chồi phát triển nhanh, mập, màu xanh đậm và hệ số nhân chồi đạt 9,67 lần sau 5 tuần. Tỷ lệ chồi ra rễ đạt 96,67%, số rễ trung bình 3,46 rễ/cây với chiều dài rễ trung bình 3,83 cm khi nuôi trên môi trường Knops bổ sung NAA 0,3 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 20 g/l và agar 4 g/l sau 5 tuần nuôi cấy. Cây con hoàn chỉnh được huấn luyện và chuyển ra trồng trên giá thể dớn trắng, xử lý giá thể 2 ngày trong nước, cho tỉ lệ cây sống 93,33%. Quy trình vi nhân giống này có thể áp dụng để sản xuất hàng loạt cây giống Quế lan hương chất lượng tốt, đáp ứng nhu cầu nguồn cây giống Quế lan hương hiện nay.

Từ khóa: *Aerides odorata* Lour., *in vitro*, knops, nhân giống, Quế lan hương, ra rễ, thể chồi.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quế lan hương (*Aerides odorata* Lour.) là một dòng Giáng hương thuộc họ phong lan (*Orchidaceae*)- một loài hoa đang rất được quan tâm và ưa chuộng vì hoa có kiểu dáng, màu sắc đẹp, tỏa ra mùi hương thơm và là loài hoa quý hiếm của rừng Hòa Bình. Ngoài giá trị thẩm mỹ thì Quế lan hương còn có giá trị về kinh tế rất lớn. Do là loài hoa có hương thơm nên còn được sử dụng để tách chiết lấy tinh dầu phục vụ cho ngành mỹ phẩm, tạo hương nước hoa... Hiện tại loài hoa này cũng đang được nghiên cứu ứng dụng trong ngành y học...

Cây mọc nhiều thành bụi, có nhiều bụi cao đến 1 mét, loài lan thường mọc trong rừng, bám trên cây gỗ, dưới tán cây thưa... Thân cây mảnh, cây biểu sinh, thân mọc khôe và mập. Lá mềm, màu lục nhạt, xoắn ở đầu, dài tới 25 cm, lá dài tới 35 cm, rộng khoảng 4 cm, mặt trên màu xanh, mặt dưới có màu hơi tím nhạt. Lá xếp đều ra hai bên, hơi cong xuống, ở đầu

lá có vết khuyết không đều.

Hoa mọc thành chùm thông xuống, dài khoảng 40 cm. Hoa nhỏ, cấu trúc nạc, màu trắng có đốm tím cả các phiến màu hồng và một dải tím ở giữa cánh môi. Cánh môi cuộn lại, hình ống rộng, bao phần có mỏ dài. Hoa nở phân ra bốn phía trông rất hài hòa, cành hoa buông xuống thành chùm. Hoa mọc thành chùm, có màu đậm ở đầu cánh và môi hoa. Hoa to khoảng 2 – 3 cm, có hương thơm. Hoa thường thấy có hai màu chính là trắng và màu tím hồng. Quả nang hình trái xoan, có cuống khá dài. Nở ra theo 3 – 6 đường nứt dọc, khi chín quả nở ra và mảnh vỏ còn dính lại với nhau ở phía đỉnh và phía gốc. Hạt rất nhiều nhưng nhỏ li ti, xốp, chứa đầy không khí. Hạt trưởng thành sau 2 - 18 tháng.

Mặc dù Quế lan hương có khu vực phân bố rộng, tuy nhiên hiện nay loài lan này đang bị khai thác cạn kiệt do nhu cầu lớn của con người cộng thêm môi trường sống bị thu hẹp

do nạn phá rừng, cháy rừng ngày càng nhiều nên lan rừng không còn nơi cư trú. Mặt khác, trong tự nhiên nội nhũ trong hạt lan thường bị tiêu giảm, muốn nảy mầm phải có sự cộng sinh của nấm *Rhizoctonia* nên tỷ lệ tái sinh bằng hạt rất kém, bên cạnh đó nhân giống từ các cơ quan sinh dưỡng thường rất chậm, hệ số nhân giống thấp và ảnh hưởng đến cây mẹ.

Đã có một số tác giả báo cáo xây dựng thành công quy trình nhân giống Quế lan hương (*Aerides odorata* Lour.) từ các mảnh lá, tuy nhiên quy trình thường kéo dài do phải tạo chồi thông qua giai đoạn tạo callus. Hiện nay, kỹ thuật nhân giống *in vitro* với hệ số nhân từ một quả lan là rất lớn. Do đó, nhân giống *in vitro* hoa lan từ phôi hạt trong ống nghiệm khá hoàn hảo và thường được sử dụng trong nhân giống lan *Dendrobium*.

Bài báo này thông báo kết quả nghiên cứu nhân giống thành công cây Quế lan hương bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* đạt hiệu quả cao.

II. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nuôi cấy là hạt có nguồn gốc từ quả Quế lan hương được tuyển chọn từ những cây có tính trạng tốt tại vườn lan thuộc xã Hương Ngải, Thạch Thất, Hà Nội.

Các loại môi trường nuôi cấy được ghi ở bảng 1.

Hóa chất dùng để khử trùng mẫu bao gồm: ethanol 70%, HgCl₂ 0,1% và Javen 6%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy khởi động: Mẫu quả Quế lan hương rửa sạch bằng nước máy, ngâm mẫu trong dung dịch xà phòng loãng 5 - 10 phút, rửa lại dưới vòi nước máy 2 - 3 lần, tráng lại bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần. Sát khuẩn bề mặt bằng ethanol 70% trong 2 phút, tráng lại bằng nước cất vô trùng 3 - 4 lần. Khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% và

Javen 6% trong các khoảng thời gian khác nhau, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng sau mỗi lần khử trùng. Tách vỏ quả, trái hạt lên môi trường nuôi cấy khởi động (MTKD). Sau 5 - 6 tuần hạt bắt đầu tái sinh thể chồi (protocorm) - là nguyên liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

Nhân nhanh thể chồi: Mẫu hạt Quế lan hương được nuôi cấy trên môi trường tạo thể chồi (T₁₋₈) gồm môi trường chất khoáng cơ bản Knops bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) có nồng độ khác nhau, dưới ánh sáng gián đoạn neon. Sau 4 tuần nuôi cấy, mẫu tạo thể chồi, thống kê số thể chồi trong bình và tính hệ số nhân.

Nhân nhanh chồi: Các chồi hữu hiệu được nuôi cấy trên môi trường nhân nhanh chồi (N₁₋₈). Môi trường nuôi cấy sử dụng là Knops có bổ sung các chất ĐHST với nồng độ khác nhau. Kết quả thí nghiệm được theo dõi trong 5 tuần, thống kê hệ số nhân chồi và đặc điểm của cụm chồi.

Tạo cây hoàn chỉnh: Chọn cụm chồi phát triển đồng đều, dùng kéo hoặc dao sắc tách các chồi hữu hiệu và cấy lên môi trường cảm ứng ra rễ (R₁₋₉) để bình nuôi dưới ánh sáng gián đoạn neon, sau 5 tuần chồi ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh, thống kê số rễ trên chồi, đo chiều dài rễ và đánh giá chỉ số ra rễ.

Huấn luyện và ra ngôi: Các cây con Quế lan hương *in vitro* trong bình từ thí nghiệm trên được huấn luyện trong nhà lưới 1 tuần. Sau đó lấy cây ra khỏi bình và rửa sạch môi trường dưới vòi nước chảy và cấy vào các khay đã chuẩn bị giá thể có thành phần khác nhau. Đặt các khay cây trong nhà lưới, nếu trời nắng cần che 70% ánh sáng bằng lưới đen, tưới nước 2 - 3 lần/ngày. Thống kê tỷ lệ cây sống/chết và đánh giá chất lượng cây sau 6 tuần.

Bảng 1. Thành phần các loại môi trường nuôi cấy Quế lan hương in vitro

Giai đoạn nuôi cấy	Ký hiệu môi trường	Thành phần môi trường nuôi cấy
Nuôi cấy khởi động	MTKĐ	Knops bổ sung sucrose 30 g/l, agar 7 g/l.
Môi trường nhân thể chồi	T ₁₋₈	Knops bổ sung BAP 0,1 - 0,5 mg/l, Kinetin 0,1 - 0,2 mg/l, NAA 0,1 - 0,3 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 30 g/l, agar 4 g/l.
Nhân nhanh chồi	N ₁₋₈	Knops bổ sung BAP 0,2 - 1,6 mg/l, Kinetin 0,2 - 0,4 mg/l, NAA 0,1 - 0,2 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 30 g/l, agar 4 g/l.
Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh	R ₁₋₉	Knops bổ sung IBA 0,1- 0,3 mg/l, NAA 0,1 - 0,3 mg/l, sucrose 20 g/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, agar 4 g/l.
Huấn luyện và ra ngôi		Các loại giá thể (dớn trắng, vỏ thông, xơ dừa) thời gian ngâm các loại giá thể (2 - 6 ngày).

Các thí nghiệm được bố trí trong các bình thủy tinh hình trụ (5 mẫu/bình), mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel.

Điều kiện nuôi cấy: Cường độ chiếu sáng 2000 lux; thời gian chiếu sáng: 14 giờ/ngày; nhiệt độ phòng nuôi: 25 ± 2⁰C.

Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng cơ bản Knops. Các môi trường nuôi cấy được chuẩn độ pH = 5,8; khử trùng ở 118⁰C, áp suất 1atm trong 17 phút.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch và tái sinh thể chồi *in vitro*

Hiện nay đã có nhiều công trình công bố về kết quả nghiên cứu khử trùng mẫu quả của các giống lan. Kế thừa các kết quả đó, mẫu quả Quế lan hương sau khi thu hái về được rửa sạch, khử trùng bề mặt bằng ethanol 70% trong 2 phút. Tiếp theo, tiến hành khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% (8 - 17 phút) và Javen 6%

(10 - 17 phút), các công thức thí nghiệm được thiết kế như bảng 2. Mẫu sau khi khử trùng được nuôi cấy trên môi trường nuôi cấy khởi động.

Sau thời gian theo dõi 5 – 6 tuần, kết quả thí nghiệm khử trùng tạo mẫu sạch cho thấy (bảng 2), khi sử dụng các loại hóa chất khử trùng HgCl₂ 0,1% và Javen 6%, với thời gian khử trùng 8 – 17 phút cho tỷ lệ mẫu sạch lần lượt là 60 – 100% và 50,33 – 83,33%. Trong đó, dùng HgCl₂ 0,1% khử trùng trong 15 phút đạt tỷ lệ mẫu sạch 94,33% (hình 1a), tỷ lệ mẫu tái sinh thể chồi cao nhất đạt 88,67% sau 40 ngày. Tuy nhiên có thể kéo dài thêm thời gian khử trùng đến 17 phút và thu được kết quả cao hơn (100%), nhưng khả năng tái sinh thể chồi thấp (70%). Bên cạnh đó, sử dụng Javen 6% cho tỷ lệ mẫu sạch và mẫu tái sinh thấp hơn so với HgCl₂, do đó lựa chọn chất khử trùng là HgCl₂ 0,1%, thời gian khử trùng là 15 phút sẽ hiệu quả nhất để tạo mẫu sạch và tái sinh thể chồi *in vitro* (hình 1a-b).

Bảng 2. Ảnh hưởng của loại hóa chất, thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch và tái sinh thể chồi

Loại hóa chất	Thời gian (phút)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Thời gian tái sinh (ngày)
HgCl ₂ 0,1%	8	60,00	58,67	38
	10	76,67	75,33	39
	12	87,00	83,00	39
	15	94,33	88,67	40
	17	100	70,00	41

Loại hóa chất	Thời gian (phút)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Thời gian tái sinh (ngày)
Javen 6% (NaClO)	10	50,33	46,67	39
	12	60,67	56,67	40
	15	66,67	63,33	41
	17	83,33	60,67	41

3.2. Nhân nhanh thể chồi Quế lan hương

Thể chồi tái sinh từ hạt lan trong môi trường nuôi cấy khởi động được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh thể chồi. Thí nghiệm được bố trí gồm 8 công thức có sử dụng các chất

điều hòa sinh trưởng thực vật với nồng độ khác nhau và 1 công thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật (bảng 3). Sau 4 tuần theo dõi và thu thập số liệu về hệ số tạo thể chồi, đặc điểm thể chồi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP, Kinetin, NAA đến khả năng nhân nhanh thể chồi

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)			Hệ số nhân nhanh (lần)	Đặc điểm thể chồi
	BAP	Kinetin	NAA		
ĐC	-	-	-	1,44	Thể chồi ít, màu nâu xám
T ₁	0,2	0,1	0,1	2,78	Thể chồi nhiều, mập, xanh nhạt
T ₂	0,3	0,1	0,1	3,78	Thể chồi nhiều, mập, xanh
T ₃	0,5	0,1	0,1	4,55	Thể chồi rất nhiều, mập, xanh
T ₄	1	0,1	0,1	3,33	Thể chồi nhiều, xanh nhạt
T ₅	0,2	0,2	0,3	3,78	Thể chồi nhiều, mập, xanh nhạt
T ₆	0,3	0,2	0,3	4,11	Thể chồi nhiều, mập, xanh
T ₇	0,5	0,2	0,3	4,78	Thể chồi nhiều, mập, xanh đậm
T ₈	1	0,2	0,3	3,89	Thể chồi nhiều, xanh nhạt

Kết quả cho thấy (bảng 3), nuôi cấy thể chồi trên môi trường Knops có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình tạo thể chồi *in vitro*. Ở công thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thực vật, hệ số nhân thể chồi thấp (1,44 lần), chất lượng thể chồi kém, kích thước nhỏ. Đặc biệt công thức T₇ đã cho hệ số tạo thể chồi cao nhất đạt 4,78 và thể chồi nhiều, mập, màu xanh đậm (hình 1c). Hệ số tạo thể chồi Quế lan hương trên môi trường chứa BAP 0,5 mg/l, Kinetin 0,2 mg/l, NAA 0,3 mg/l cao hơn so với báo cáo của Nguyễn Thị Sơn và cs (2012) khi nhân nhanh thể chồi *Dendrobium*

fimbriatum Hook trong 8 tuần chỉ đạt 4,63 lần.

3.3. Nhân nhanh chồi Quế lan hương

Nhân nhanh chồi là công đoạn có ý nghĩa hết sức quan trọng đối với việc tạo ra số lượng lớn cây con *in vitro*. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật Kinetin, BAP và NAA thường được bổ sung kết hợp để làm cho hệ số nhân của chồi tăng lên rõ rệt. Trong các thí nghiệm này, sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật có nồng độ khác nhau để kích thích tạo nhiều chồi nhằm đáp ứng các yêu cầu tạo ra hệ số nhân cao, chồi sinh trưởng, phát triển tốt. Các thể chồi lan được tạo ra từ thí nghiệm trên được cấy vào môi trường nhân nhanh để tạo cụm chồi.

Kết quả cho thấy (bảng 4), khi sử dụng

công thức môi trường nuôi cấy khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân chồi Quế lan hương. Số chồi TB/mẫu cây ban đầu

đạt 4,67 - 9,67 lần, chiều cao trung bình của chồi đạt 2,2 - 2,7 cm và số lá trung bình của một chồi đạt 2 - 3,5.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ BAP, Kinetin, NAA đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)			Khả năng tái sinh của chồi		
	BAP	Kinetin	NAA	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB/chồi
ĐC	-	-	-	2,67	1,7	1,6
N ₁	0,2	0,4	0,1	5,33	2,2	2,0
N ₂	0,4	0,4	0,1	6,00	2,4	2,1
N ₃	0,6	0,4	0,1	6,67	2,6	2,2
N ₄	0,8	0,4	0,1	9,67	2,7	3,5
N ₅	1,0	0,2	0,2	6,33	2,5	2,5
N ₆	1,2	0,2	0,2	5,67	2,4	2,4
N ₇	1,4	0,2	0,2	5,00	2,6	2,6
N ₈	1,6	0,2	0,2	4,67	2,3	2,4

Ở công thức N₁₋₄ nồng độ BAP tăng (0,2 - 0,8 mg/l), Kinetin 0,4mg/l và NAA 0,1 mg/l dẫn đến số chồi TB/mẫu tăng 5,33 - 9,67 trong khi tăng nồng độ chất ĐHST thì số chồi TB/mẫu lại giảm xuống. Kết quả nghiên cứu cho thấy, công thức môi trường N₄ (môi trường khoáng cơ bản Knops bổ sung BAP 0,8 mg/l và Kinetin 0,4 mg/l, NAA 0,1 mg/l) cho kết quả tốt nhất, với giá trị trung bình: số chồi đạt 9,67 chồi/mẫu cây ban đầu, chiều cao đạt 2,7 cm và số lá 3,5 (hình 1d).

3.4. Kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Tạo cây con hoàn chỉnh là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Môi trường nuôi cấy có bổ sung chất ĐHST thực vật với các nồng độ khác nhau cho kết quả thu được ở bảng 5.

Kết quả thí nghiệm cho thấy (bảng 5) ở công thức đối chứng chỉ đạt tỷ lệ chồi ra rễ 53,33% và số rễ trung bình 0,98 và chiều dài

trung bình rễ đạt 1,73 cm, chỉ số ra rễ 1,70 với chất lượng rễ ngắn, xấu. Các công thức R₁₋₃ có nồng độ IBA 0,1 - 0,3 mg/l tỷ lệ chồi ra rễ thấp 56,67 - 70%, công thức R₄₋₆ có nồng độ NAA 0,1 - 0,3 mg/l tỷ lệ chồi ra rễ cao hơn 80 - 96,67%, trong khi phối hợp nồng độ của NAA và IBA như ở các công thức R₇₋₉ thì tỷ lệ ra rễ giảm (83,33 - 70%). Do đó lựa chọn công thức R₆ với thành phần là môi trường khoáng cơ bản knops bổ sung NAA 0,3 mg/l cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất đạt 96,67%, số rễ TB/cây 3,46 và chiều dài TB/rễ đạt 3,83 cm, chỉ số ra rễ 13,25 (hình 1e). Kết quả đạt được cũng tương tự như báo cáo của Huidrom S. Devi et al. (2013) cho rằng môi trường ½ MS bổ sung NAA 0,5 mg/l thích hợp nhất để kích thích ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh loài *Aerides odorata* Lour. trong khi Hongthongkham J. et al. (2014) báo cáo môi trường chứa BA 5 mg/l cho tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 96%.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ IBA và NAA đến khả năng ra rễ

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây	Chiều dài TB/rễ (cm)	Chỉ số ra rễ
	IBA	NAA				
ĐC	-	-	53,33	0,98	1,73	1,70
R ₁	0,1	-	56,67	1,08	1,83	1,98
R ₂	0,2	-	60,00	1,10	2,47	2,72
R ₃	0,3	-	70,00	1,28	2,93	3,75
R ₄	-	0,1	80,00	2,67	3,13	8,36

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây	Chiều dài TB/rễ (cm)	Chỉ số ra rễ
	IBA	NAA				
R ₅	-	0,2	93,33	2,73	3,63	9,91
R ₆	-	0,3	96,67	3,46	3,83	13,25
R ₇	0,1	0,3	83,33	2,51	3,40	8,53
R ₈	0,2	0,2	80,00	2,29	2,97	6,80
R ₉	0,3	0,1	70,00	2,02	2,83	5,72

3.5. Huấn luyện và ra ngôi

Các bình cây con đủ tiêu chuẩn chiều cao \geq 2,5 cm, có 2 - 4 rễ và 3 - 4 lá được huấn luyện cây trong thời gian 1 tuần ở nhà lưới có mái che (cần che thêm bằng lưới đen để tránh ánh sáng trực xạ). Sau đó lấy cây ra khỏi bình, rửa sạch môi trường nuôi cấy dưới vòi nước máy,

tiếp tục trồng cây vào khay với các giá thể khác nhau. Thí nghiệm được bố trí với 9 công thức, gồm 3 loại giá thể (xơ dừa, dớn trắng, vỏ thông) được xử lý bằng cách ngâm trong nước với thời gian khác nhau, tưới nước 3 lần/ngày đảm bảo vừa đủ độ ẩm, chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ sống (%) trong 6 tuần.

Bảng 6. Ảnh hưởng của loại giá thể và thời gian xử lý đến tỷ lệ sống

Loại giá thể	Thời gian xử lý giá thể (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Chất lượng cây
Xơ dừa	2	30,00	Kém
	4	36,66	Kém
	6	60,00	Trung bình
Dớn trắng	2	93,33	Tốt
	4	83,67	Tốt
	6	73,33	Trung bình
Vỏ thông	2	43,33	Kém
	4	46,66	Kém
	6	80,00	Trung bình

Kết quả thí nghiệm cho thấy (bảng 6), khi dùng dớn trắng đã được xử lý 2 ngày trong nước làm giá thể trồng Quế lan hương cho tỷ lệ sống cao nhất đạt tới 93,33% sau 6 tuần theo dõi. Vào thời điểm này cây Quế lan hương đã bắt đầu hình thành lá mới và rễ vẫn tiếp tục được kéo dài (hình 1f). Như vậy, với thời gian xử lý 2 ngày giá thể dớn đủ mềm có khả năng giữ nước tốt, đủ độ xốp, giúp rễ cây giữ ẩm tốt, phù hợp với việc nuôi trồng Quế lan hương.

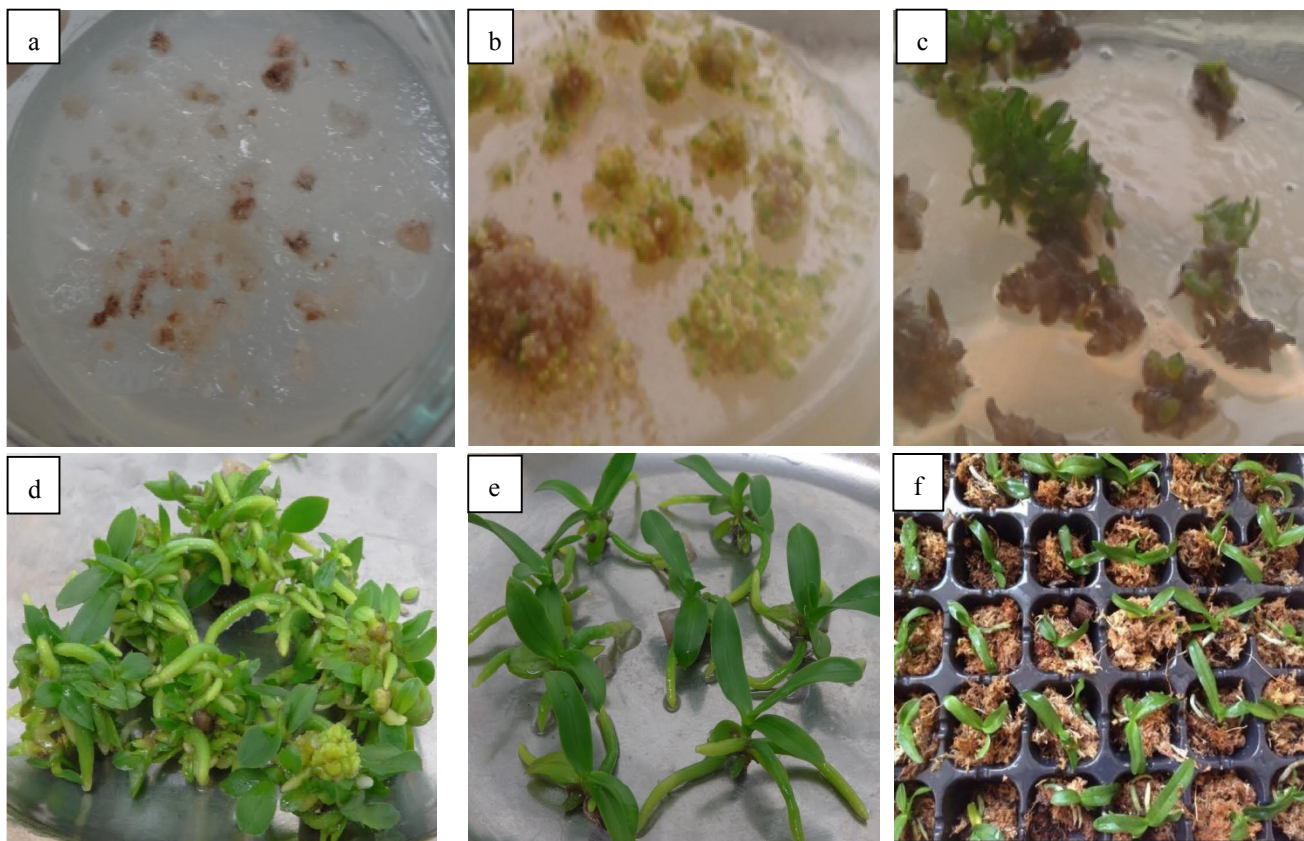
IV. KẾT LUẬN

Mẫu quả Quế lan hương được sát khuẩn bề mặt bằng ethanol 70% trong 2 phút, khử trùng

bằng HgCl₂ 0,1% trong 15 phút. Cây hạt trên môi trường khoáng cơ bản Knops bổ sung sucrose 30 g/l, agar 7 g/l, tỷ lệ mẫu sạch đạt 94,33% và mẫu tái sinh thể chồi 88,67%. Nhân nhanh thể chồi Quế lan hương trên môi trường Knops bổ sung BAP 0,5 mg/l, Kinetin 0,2 mg/l, NAA 0,3 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 30 g/l, agar 4 g/l cho hệ số nhân thể chồi đạt 4,78 lần. Nhân nhanh chồi Quế lan hương trên môi trường Knops bổ sung BAP 0,8 mg/l, Kinetin 0,4 mg/l, NAA 0,1 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 30 g/l và agar 4 g/l

đạt kết quả 9,67 chồi TB/mẫu, chiều cao TB/chồi 2,7 cm, số lá TB/chồi 3,5 và chồi phát triển tốt. Tạo cây Quế lan hương hoàn chỉnh trên môi trường Knops bổ sung NAA 0,3 mg/l, nước dừa 100 ml/l, dịch chiết khoai tây 100 ml/l, sucrose 20 g/l và agar 4 g/l đạt tỷ lệ ra rễ

96,67%, số rễ TB/cây 3,46 và chiều dài TB/rễ 3,83 cm, chỉ số ra rễ 13,25. Cây Quế lan hương hoàn chỉnh được huấn luyện 1 tuần trong nhà lưới và trồng vào khay có giá thể dớn trắng đã được xử lý 2 ngày trong nước, tỷ lệ cây sống đạt 93,33%.



Hình 1. Các giai đoạn trong quy trình nhân giống cây lan Quế lan hương
Ghi chú: a) Mẫu sạch; b) Mẫu sạch tái sinh; c) Tạo thể chồi; d) Nhân nhanh chồi; e) Cây hoàn chỉnh; f) Cây trồng trong dớn trắng

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hongthongkham J., Bunnag S. (2014). *In vitro* propagation and cryopreservation of *Aerides odorata* Lour. (Orchidaceae). *Pakistan journal of biological sciences*, 17(5): 608 – 618.
2. Huidrom S. Devi, Sanglakpam I. Devi, Thingbaijam D. Singh (2013). High frequency plant regeneration system of *Aerides odorata* Lour. through foliar and shoot tip culture. *Not Bot Horti Agrobo*, 41(1):169 – 176.
3. Nguyễn Quỳnh Trang, Vũ Thị Huệ, Khuất Thị Hải Ninh, Nguyễn Thị Thơ (2013). Nhân giống *in vitro* lan Phi điệp tím. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 3(1): 16 – 21.
4. Nguyễn Thị Sơn, Nguyễn Thị Lý Anh, Vũ Ngọc

Lan, Trần Thế Mai (2011). Nhân giống *in vitro* loài lan *Dendrobium fimbriatum* Hook (Hoàng thảo long nhãn). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 10(2): 263 – 271.

5. Nguyễn Văn Song (2011). Nhân giống *in vitro* lan Kim điệp (*Dendrobium chrysotoxum*) một loài lan rừng có nguy cơ tuyệt chủng. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 64: 127 – 136.

6. Phạm Hoàng Hộ (2003). *Cây cỏ Việt Nam – Quyển III*. NXB Trẻ.

7. Trần Hợp (1989). *Phong lan Việt Nam*. NXB Nông nghiệp.

8. Trần Văn Minh, Nguyễn Văn Uyên (2001). Vi nhân giống Phong lan nhóm *Dendrobium* trên quy mô công nghiệp. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 1: 1 – 9.

**USING *IN VITRO* CULTURE TECHNIQUE FOR PROPAGATION
OF *AERIDES ODORATA* LOUR.**

Nguyen Van Viet¹, Nguyen Thi Huong², Bui Van Thang³, Nguyen Thị Thu Hang⁴

^{1,2,3}*Vietnam National University of Forestry*

⁴*Forestry Development Center in Hanoi*

SUMMARY

Micropropagation of *Aerides odorata* Lour. by *in vitro* cultural technique has been successfully studied. The results showed that the optimal method for bud sterilization was soaked in 70% ethanol for 2 minutes, in HgCl₂ 0.1% for 15 minutes and then culturing the samples with Knops medium, provided the proportion of purified samples was 94.33% and the regeneration rate was 88.67%. The most knops basal medium supplemented with 6-benzylaminopurine (BAP) 0.5 mg/l, Kinetin (Ki) 0.2 mg/l, α -naphthalene acetic acid (NAA) 0.3 mg/l, the protocorm were big, plump, dark green and the coefficient of formed protocorm reached 4.78. Propagating the buds in Knops with BAP 0.8, Kinetin 0.4 mg/l, NAA 0.1 mg/l, coconut water 100 ml/l, potatoes extract 100ml/l, sucrose 30 g/l, agar 4 g/l, the buds developed rapidly and were dark green, the coefficient of formed buds was 9.67. The rooted shoots 96.67%, the average number of roots was 3.46 per individual and the average length of roots was 3.83 cm when cultured after 5 weeks in Knops medium supplemented with NAA 0.3 mg/l, coconut water 100 ml/l, potatoes extract 100 ml/l, sucrose 20 g/l, agar 4 g/l. The completed nurslings were trained and planted on the sphagnum moss immersed in 2 days got the rate of living was 93.33%. The plantlets were perfectly acclimatized under greenhouse condition with high humidity before transferred to field. This procedure can be applied for mass production of *Aerides odorata* Lour. to meet the commercial demand.

Keywords: *Aerides odorata* Lour., *in vitro*, Knops, propagation, protocorm, rooting.

Người phản biện : PGS.TS. Hà Văn Huân

Ngày nhận bài : 10/9/2016

Ngày phản biện : 05/10/2016

Ngày quyết định đăng : 25/10/2016