

HIỆU QUẢ CỦA BENZYL ADENIN, NAPHTHALENE ACETIC ACID VÀ THÀNH PHẦN HỮU CƠ KHÔNG XÁC ĐỊNH TRÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA GIỐNG LAN ARANDA NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Thị Kiều Tiên, Lê Hồng Giang và Nguyễn Bảo Toàn¹

ABSTRACT

Aranda orchid is an intergeneric hybrid between the orchid genera Arachnis and Vanda (Arach x V). This is monopodial orchid with beautiful flowers, multicolor and strong growth. Aranda is one of the cut flower plants with high economic values. This study aim to evaluate effects of NAA and BA combination on shoot multiplication and supplements of unidentified organic mixtures on the growth and development of plantlets. Methodology is based on two experiments to be efficient evaluation of BA and NAA combination on shoot multiplication and effects of unidentified organic mixtures on the growth and development of orchid plantlets. Results of experiments showed that medium for rapid shoot multiplication to be A medium. A medium is 1/2 MS medium added sucrose 30 g/l, agar 7,1 g/l, Pyrimidine 1 mg/l, Thiamine 1 mg/l, Nicotinic 4 mg/l, Myo-inositol 100 mg/l, Riboflavin 1 mg/l, NH₄H₂PO₄ 50 mg/l, (NH₄)₂HPO₄ 50 mg/l, coconut water 200 ml/l and supplemented NAA 1 mg/l and BA 5 mg/l. For growth and development of plantlets is B medium. B medium is 1/2 MS medium added sucrose 30 g/l, agar 9 g/l, activated charcoal 1 g/l and supplemented 50 g/l homogenous banana.

Keywords: *Aranda orchid, invitro, BA, NAA, unidentified organic mixtures*

Title: *Effects of benzyl adenin, naphthalene acetic acid and unidentified organic mixtures on the growth and development of Aranda orchid cultured in vitro*

TÓM TẮT

Lan Aranda là giống lai giữa Arachnis và Vanda. Đây là loài lan đơn thân, hoa đẹp, nhiều màu sắc và sức sinh trưởng mạnh. Aranda là một trong những giống lan cắt cành có giá trị kinh tế cao. Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu quả của sự kết hợp NAA, BA và sự bổ sung các thành phần hữu cơ không xác định trên sự nhân chồi, sự sinh trưởng và phát triển cây con. Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng môi trường nhân nhanh giống lan Aranda là môi trường A là môi trường 1/2 MS được thêm đường 30 g/l, agar 7,1 g/l, Pyrimidine 1 mg/l, Thiamine 1 mg/l, Nicotinic 4 mg/l, Myo-inositol 100 mg/l, Riboflavin 1 mg/l, NH₄H₂PO₄ 50 mg/l, (NH₄)₂HPO₄ 50 mg/l, nước dừa 200 ml/l và được bổ sung thêm NAA 1 mg/l và BA 5 mg/l. Đối với sự sinh trưởng và phát triển của lan con. Môi trường B là môi trường 1/2 MS được thêm đường 30 g/l, agar 9 g/l, than hoạt tính 1 g/ và được bổ sung thêm 50 g/l chuối xiêm nghiền.

Từ khóa: *Lan Aranda, In vitro, BA, NAA, thành phần hữu cơ không xác định*

1 MỞ ĐẦU

Lan Aranda là giống lai giữa Arachnis và Vanda. Đây là loài lan đơn thân, hoa phong phú về màu sắc, lâu tàn và sức sinh trưởng mạnh. Aranda là một trong những giống lan cắt cành có giá trị. Cố định các đặc tính tốt của cây lai và phát triển cây lai này thông qua vi nhân giống là công việc nên làm. Vi nhân giống bao

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng

gồm nhiều giai đoạn từ giai đoạn 0 đến giai đoạn 4 (Debergh and Zimmerman, 1991). Mỗi giai đoạn có một yêu cầu riêng. Giai đoạn 2 là tăng hệ số nhân. Ở giai đoạn này thường được sử dụng chất điều hòa sinh trưởng như cytokinin và auxin cho vào môi trường nhân. Naphthalene acetic acid (NAA) và Benzyl adenine (BA) là hai chất điều hòa sinh trưởng thường được áp dụng nhiều trong vi nhân giống. Sự kết hợp hai chất này theo một tỉ lệ thích hợp đã làm gia tăng số chồi. Trên cây lan *Dendrobium*, Kong *et al.*, (2007), Nguyễn Thị Hồng Nhật và Trần Thị Dung (2006) cho thấy rằng sự kết hợp thích hợp làm tăng hệ số nhân giống của giống lan này. Trên lan *Phalaenopsis*, Nguyễn Thị Kim Huê và Nguyễn Bảo Toàn, (2006) cũng cho kết quả tương tự trong việc nhân thể tiền chồi (protocorm like body). Ngoài các chất điều hòa sinh trưởng được cho vào môi trường nuôi cấy, các thành phần hữu cơ không xác định cũng được cho vào thường ở giai đoạn 3. Mục đích cho các chất này vào môi trường nuôi cấy để giảm giá thành sản xuất và cho cây con sinh trưởng mạnh có nhiều rễ. Các thành phần hữu cơ không xác định cũng đã được nhiều tác giả nghiên cứu rất sớm. Người báo cáo sớm nhất (Overbeek *et al.*, 1941) là cho nước dừa vào môi trường nuôi cấy. Kết quả thí nghiệm của họ cho thấy rằng, nước dừa làm kích thích sự phân chia tế bào và sự sinh trưởng của cây con. Sau đó nhiều phòng thí nghiệm nuôi cấy mô thương mại trên thế giới cũng bắt đầu cho các thành phần khác vào môi trường nuôi cấy như phôi nhũ hạt bắp non (Nétien *et al.*, 1951), dịch trích cà chua (Nitsch, 1951; Straus and La Rue, 1954) nước cam, dịch trích lúa mạch (malt extract), dịch trích nấm men (yeast extract), dịch thủy phân từ sữa (casein hydrolysate)... (Butenko, 1968). Trên lan *Aranda* các công trình nghiên cứu về những chất này còn khá khiêm tốn. Vì vậy thí nghiệm được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của sự kết hợp NAA và BA trên sự nhân chồi và sự bổ sung các thành phần hữu cơ không xác định trên sự sinh trưởng và phát triển cây con lan *Aranda*.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu thí nghiệm

Giống lan lai có màu đỏ *Aranda* in vitro được nuôi cấy từ các thí nghiệm trước và được trữ tại phòng Cây mô, Bộ môn Sinh lý–Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Môi trường thí nghiệm

Môi trường sử dụng là môi trường cơ bản MS (Murashige & Skoog, 1962) có hàm lượng khoáng đa lượng giảm một nửa (ký hiệu là ½ MS), bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng (BA, NAA), vitamine hay các amino acid, các thành phần hữu cơ không xác định theo từng thí nghiệm.

Thành phần môi trường ½ MS như sau: NH_4NO_3 (825 mg/l), KNO_3 (475 mg/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (185 mg/l), CaCl_2 (165 mg/l), KH_2PO_4 (85 mg/l), FeSO_4 (13,9 mg/l), Na_2EDTA (16,8 mg/l), H_3BO_3 (6,2 mg/l), MnSO_4 (22,3 mg/l), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (11,5 mg/l), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,25 mg/l), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,025 mg/l), KI (0,83 mg/l), CoCl_2 (0,025 mg/l).

Môi trường được pha với tỷ lệ thích hợp từ dung dịch gốc (stock solution) và chuẩn pH khoảng 5,8. Nấu môi trường bằng microwave rồi rót vào keo (30

ml/keo). Cho vào nồi hấp khử trùng với nhiệt độ 121°C, áp suất 1 kg/cm² trong 20 phút. Môi trường có than hoạt tính sau khi hấp xong phải lắc đều để than hoạt tính phân bố đều.

Điều kiện phòng nuôi cấy: nhiệt độ 26±2°C, ánh sáng 1.000 lux, quang kỳ 16 giờ/ngày.

2.3 Phương pháp

Phương pháp dựa trên các thí nghiệm

2.3.1 *Thí nghiệm 1: Hiệu quả của tổ hợp BA và NAA đến sự phát triển của cụm chồi Aranda*

Mục đích: Xác định tỷ lệ kết hợp của BA và NAA thích hợp cho sự phát triển cụm chồi lan Aranda.

Phương pháp: Tách mỗi cụm chồi khoảng 2 chồi với chiều cao trung bình khoảng 1 cm cấy vào môi trường thí nghiệm. Môi trường thí nghiệm A là môi trường ½ MS làm nền có bổ sung đường (30 g/l), agar (7,1 g/l), Pyrimidine (1 mg/l), Thiamine (1 mg/l), Nicotinic (4 mg/l), Myo-inositol (100 mg/l), Riboflavin (1 mg/l), NH₄H₂PO₄ (50 mg/l), (NH₄)₂HPO₄ (50 mg/l), nước dừa (200 ml/l) và các chất điều hòa sinh trưởng (BA, NAA) theo tỷ lệ khác nhau như sau:

- A (đối chứng)
- A + NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l
- A + NAA 1 mg/l + BA 10 mg/l
- A + NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l
- A + NAA 2 mg/l + BA 10 mg/l

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 7 lần và mỗi lần lặp lại là một keo.

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi gia tăng tương đối, số lá gia tăng tương đối, chiều cao gia tăng tương đối và số rễ tạo thành. Thời gian theo dõi: 15 ngày/lần sau khi cấy.

2.3.2 *Thí nghiệm 2: Hiệu quả của các thành phần hữu cơ không xác định lên sự phát triển của chồi lan Aranda*

Mục đích: Đánh giá hiệu quả của các thành phần hữu cơ không xác định lên sự phát triển chồi.

Phương pháp: Từ mẫu thu được ở thí nghiệm 1 tách riêng các chồi với chiều cao trung bình khoảng 1,5 cm, cắt bỏ rễ và cấy vào môi trường bố trí thí nghiệm. Sử dụng môi trường B là môi trường ½ MS làm nền có bổ sung đường (30 g/l), agar (9 g/l), than hoạt tính (1 g/l) và các dịch trích hữu cơ (dịch trích chuối Xiêm, peptone, tryptone, dịch trích lúa mạch, nước dừa,...) với nồng độ thích hợp cho mỗi nghiệm thức, pH khoảng 5,8...

- B (đối chứng)
- B + Peptone 1 g/l
- B + Tryptone 1 ml/l
- B + Dịch trích lúa mạch 1 g/l

- B + Dịch trích chuối Xiêm 50 g/l
- B + Nước dừa 200 ml/l

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố, gồm 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần và mỗi lần lặp lại là một keo (2 chồi/keo).

Chỉ tiêu theo dõi: Chiều cao gia tăng tương đối, số lá gia tăng tương đối, số chồi gia tăng tương đối và số rễ tạo thành. Thời gian theo dõi 20 ngày/lần sau khi cấy.

2.4 Xử lý số liệu

Các số liệu được tính theo sự gia tăng tương đối bao gồm chiều cao gia tăng, số lá gia tăng và số chồi gia tăng được đổi sang giá trị tương đối theo công thức sau:

$$\text{Giá trị gia tăng tương đối (\%)} = \left[\frac{\text{Giá trị sau} - \text{giá trị đầu}}{\text{Giá trị đầu}} \right] \times 100$$

Sử dụng phần mềm MSTATC với phép thử F và kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 1-5%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thí nghiệm 1

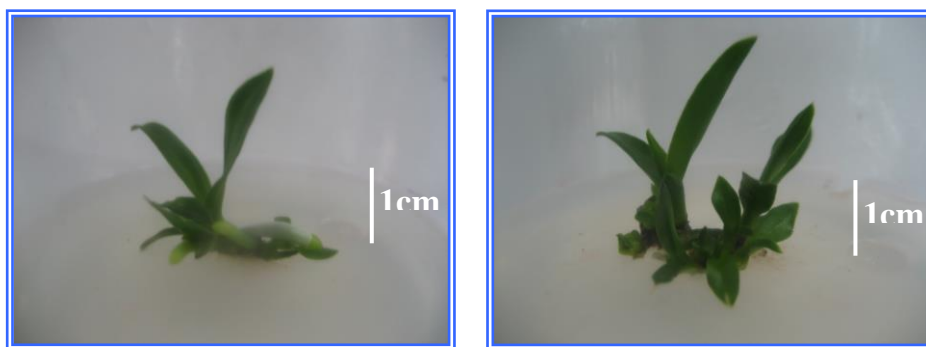
3.1.1 Số chồi gia tăng tương đối

Kết quả Bảng 1 cho thấy, sự gia tăng số chồi tương đối giữa các nghiệm thức ở thời điểm 15 ngày sau khi cấy (NSKC) không khác biệt thống kê. Ở 30 và 45 NSKC, sự gia tăng số chồi tương đối giữa các nghiệm thức có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Ở 30 NSKC, hai nghiệm thức có bổ sung BA 5 mg/l cho số chồi tăng cao nhất (nghiệm thức có bổ sung NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l và nghiệm thức có bổ sung NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l). Tương tự, ở thời điểm 45 NSKC hai nghiệm thức trên (có bổ sung BA 5mg/l) cũng cho số chồi gia tăng tương đối cao nhất và khác biệt ở mức 1% so với các nghiệm thức còn lại (nghiệm thức có bổ sung NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l và nghiệm thức có bổ sung NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l (Hình 1).

Bảng 1: Hiệu quả của tổ hợp BA và NAA đến sự gia tăng số chồi tương đối (%) ở 15, 30 và 45 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	15	30	45
A (đối chứng)	15,0	40,4 b	66,6 c
A + NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l	15,9	119,0a	281,0a
A + NAA 1 mg/l + BA 10 mg/l	12,6	47,6 b	96,4 bc
A + NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l	17,1	90,4a	147,6ab
A + NAA 2 mg/l + BA 10 mg/l	15,0	47,6 b	77,3 c
F	ns	**	**
CV (%)	26,2	55,7	46,0

*Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; **: khác biệt ý nghĩa ở mức 1%; ns: khác biệt không ý nghĩa.*



Hình 1: Cụm chồi lan Aranda trên môi trường có bổ sung NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l (trái) và NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l (phải) vào 45 ngày sau khi cấy

3.1.2 Số lá gia tăng tương đối

Kết quả Bảng 2 cho thấy rằng, số lá gia tăng tương đối của nghiệm thức có bổ sung NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l sau 15 NSKC là cao nhất (67,62%) và có khác biệt ở mức ý nghĩa 5% so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, ở thời điểm 30 NSKC thì số lá gia tăng tương đối giữa các nghiệm thức không có khác biệt thống kê. Ở 45 NSKC, số lá gia tăng tương đối cao nhất là nghiệm thức có bổ sung NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l (145,20%) khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% so với các nghiệm thức còn lại.

3.1.3 Chiều cao gia tăng tương đối

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy chiều cao gia tăng tương đối ở 15 NSKC không có khác biệt thống kê. Tuy nhiên, thời điểm 30 và 45 NSKC thì giữa các nghiệm thức này có sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5% và 1%. Ở hai thời điểm này, chiều cao gia tăng tương đối ở các nghiệm thức có bổ sung BA 5 mg/l là thấp nhất (ở 30 NSKC: NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l: 19,98%, NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l: 22,78% và ở 45 NSKC: NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l, NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l: 32,99%, NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l: 29,09%).

Bảng 2: Hiệu quả của tổ hợp BA và NAA đến sự gia tăng số lá tương đối (%) ở 15, 30 và 45 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	15	30	45
A (đối chứng)	31,91 b	45,24	89,52 b
A + NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l	35,71 b	68,33	100,00 b
A + NAA 1 mg/l + BA 10 mg/l	34,52 b	56,67	96,19 b
A + NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l	67,62a	79,52	145,20a
A + NAA 2 mg/l + BA 10 mg/l	38,98 b	66,99	76,73 b
F	*	ns	*
CV (%)	42,36	42,17	37,90

Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; ns: khác biệt không ý nghĩa.

Bảng 3: Hiệu quả của tổ hợp BA và NAA đến sự gia tăng chiều cao tương đối (%) ở 15, 30 và 45 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	15	30	45
A (đối chứng)	22,51	26,64bc	33,61bc
A + NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l	10,73	19,88c	32,99bc
A + NAA 1 mg/l + BA 10 mg/l	8,367	40,20ab	45,49ab
A + NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l	18,13	22,78bc	29,09c
A + NAA 2 mg/l + BA 10 mg/l	28,23	45,93a	58,15a
F	ns	*	**
CV (%)	45,47	35,49	30,39

*Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; **: khác biệt ý nghĩa ở mức 1%; ns: khác biệt không ý nghĩa.*

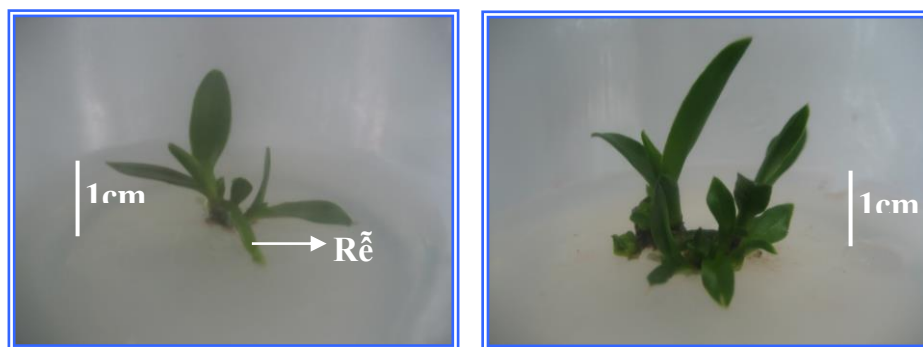
3.1.4 Số rễ tạo thành

Sau 45 NSKC, sự tạo rễ ở các nghiệm thức có khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Tuy nhiên, sự tạo rễ ở các nghiệm thức có bổ sung NAA và BA không có khác biệt. Nghiệm thức đối chứng (không bổ sung NAA và BA) tạo rễ tốt (2,57 rễ)(Bảng 4) so với các nghiệm thức còn lại (có bổ sung NAA và BA) (Hình 2).

Bảng 4: Hiệu quả của tổ hợp BA và NAA đến sự tạo rễ ở 15, 30 và 45 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	45 NSKC
A (đối chứng)	2,57a
A + NAA 1 mg/l + BA 5 mg/l	0,14 b
A + NAA 1 mg/l + BA 10 mg/l	0,29 b
A + NAA 2 mg/l + BA 5 mg/l	0,57 b
A + NAA 2 mg/l + BA 10 mg/l	0,43 b
F	**
CV (%)	35,57

*Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; **: khác biệt ý nghĩa ở mức 1%.*



Hình 2: Sự tạo rễ ở nghiệm thức đối chứng (A) và nghiệm thức có bổ sung NAA và BA (B) ở 45 ngày sau khi cấy

Kết quả thí nghiệm 1 cho thấy rằng các thông số về số chồi, số lá, chiều cao và số rễ sau 45 ngày có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Về số chồi, hai nghiệm thức

có sự kết hợp giữa NAA và BA đạt số chồi gấp 2 và gấp 3 lần so với đối chứng là nghiệm thức có bổ sung 2 mg/l NAA kết hợp với 5 mg/l BA và 1 mg/l kết hợp với 5 mg/l BA theo thứ tự. Các thông số khác như số lá, chiều cao thì ít khác biệt so với đối chứng, nhưng số rễ phát triển tương đối ít (Bảng 4). Debergh and Zimmerman (1991) chia quy trình vi nhân giống thành các giai đoạn khác nhau. Ở giai đoạn 2 là nhân chồi. Sự kết hợp theo một tỉ lệ BA 5 mg/l và NAA 1-2 mg/l đều đạt kết quả nhân chồi tốt sau 45 ngày. Khi BA tăng cao hơn nữa kết quả không cho thấy có sự gia tăng số chồi.

3.2 Thí nghiệm 2

3.2.1 Sự gia tăng chiều cao tương đối của chồi (%)

Ở 20 NSKC, chiều cao gia tăng tương đối giữa các nghiệm thức có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% (Bảng 5). Trong đó, nghiệm thức có bổ sung dịch trích lúa mạch 1 g/l là cao nhất (30,83%), kế tiếp là nghiệm thức có bổ sung peptone 1 g/l (18,5%) và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng (6,77%). Ở 40 NSKC, sự gia tăng này giữa các nghiệm thức không có khác biệt thống kê nhưng sau 60 NSKC có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. Nghiệm thức có bổ sung dịch trích chuối xiêm 50 g/l có sự gia tăng chiều cao tương đối cao nhất (81,04%) và không khác biệt với các nghiệm thức có bổ sung nước dừa 200 ml/l (80,10%), dịch trích lúa mạch 1 g/l (79,77%) và tryptone 1 g/l (55,97%) nhưng có khác biệt với nghiệm thức đối chứng (43,87%) và nghiệm thức bổ sung tryptone 1 g/l (46,56%).

Bảng 5: Hiệu quả của các dịch trích hữu cơ không xác định lên sự gia tăng chiều cao tương đối của chồi (%) ở 20, 40 và 60 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	20	40	60
B (đối chứng)	6,77 d	32,13	43,87 b
B + Peptone 1 g/l	18,50 b	37,33	46,56 b
B + Tryptone 1 ml/l	17,34 bc	50,38	55,97ab
B + Dịch trích lúa mạch 1 g/l	30,83a	67,85	79,77a
B + Dịch trích chuối Xiêm 50 g/l	11,37 bcd	44,03	81,04a
B + Nước dừa 200 ml/l	10,35 cd	69,76	80,10a
F	**	ns	*
CV (%)	37,57	40,05	34,68

Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê: khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; **: khác biệt ý nghĩa ở mức 1%; ns: khác biệt không ý nghĩa.*

3.2.2 Sự gia tăng số lá tương đối (%)

Ở ba thời điểm khảo sát (20, 40 và 60 NSKC), sự gia tăng số lá tương đối giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 6). Điều này cho thấy rằng tất cả các nghiệm thức có bổ sung thành phần hữu cơ không xác định không có hiệu quả trên sự gia tăng số lá tương đối.

Bảng 6: Hiệu quả của các dịch trích hữu cơ không xác định đến sự gia tăng số lá tương đối (%) ở 20, 40 và 60 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	20	40	60
B (đối chứng)	39,17	47,50	52,50
B + Peptone 1 g/l	46,67	59,17	90,00
B + Tryptone 1 ml/l	51,67	72,50	72,50
B + Dịch trích lúa mạch 1 g/l	58,33	75,83	102,50
B + Dịch trích chuối xiêm 50 g/l	53,33	60,00	69,17
B + Nước dừa 200 ml/l	64,17	70,83	79,17
F	ns	ns	ns
CV (%)	49,56	32,43	43,37

Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; ns: khác biệt không ý nghĩa.

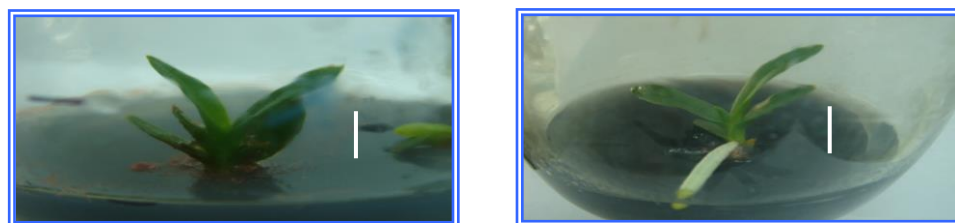
3.2.3 Số rễ

Ở 20 NSKC, sự tạo rễ ở các nghiệm thức có khác biệt ở mức ý nghĩa 1% và nghiệm thức có bổ sung peptone 1 g/l cho số rễ cao nhất (1,2 rễ), thấp nhất là nghiệm thức đối chứng (0,0 rễ) (Bảng 7). Ở 40 và 60 NSKC, các nghiệm thức có bổ sung dịch trích hữu cơ không xác định tạo số rễ cao hơn nghiệm thức đối chứng nhưng giữa các nghiệm thức này không có khác biệt nhau về mặt thống kê. Ở 60 NSKC, nghiệm thức có bổ sung nước dừa 200 ml/l và chuối xiêm 50 g/l tạo rễ tốt nhất (1,2 rễ và 1,6 rễ) và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng (0,4 rễ) (Hình 3).

Bảng 7: Hiệu quả của các dịch trích hữu cơ không xác định đến số rễ ở 20, 40 và 60 ngày sau khi cấy

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy		
	20	40	60
B (đối chứng)	0,0 c	0,2 b	0,4 b
B + Peptone 1 g/l	1,2 ^a	1,0a	1,0ab
B + Tryptone 1 ml/l	0,0 c	1,0a	1,0a
B + Dịch trích lúa mạch 1 g/l	0,6 b	0,6ab	1,0ab
B + Dịch trích chuối Xiêm 50 g/l	0,2 c	1,2a	1,6a
B + Nước dừa 200 ml/l	0,2 c	0,8ab	1,2a
F	**	*	*
CV (%)	48,39	40,38	36,88

Trong cùng một cột các số có cùng ký tự theo sau giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ý nghĩa ở mức 5%; **: khác biệt ý nghĩa ở mức 1%.



Hình 3: Cây lan con trên môi trường đối chứng (trái) và ½ MS + dịch trích chuối 50 mg/l (phải) ở 60 ngày sau khi cấy

Kết quả từ Bảng 5 và Bảng 7, ta thấy rằng nghiệm thức có bổ sung dịch trích chuối 50 g/l cho hiệu quả tạo cây hoàn chỉnh tốt nhất (số rễ tạo thành và chiều cao gia tăng tương đối). Kusumoto and Furukawa (1977) thí nghiệm trên thể tiền chồi (protocorm like body của giống lan Cymbidium cho thấy rằng dịch trích từ chuối và nước khóm kích thích sự sinh trưởng và phát triển cây con lan Cymbidium. Tuy nhiên Morel (1964) cho rằng trong môi trường nhân giống lan Cattleya được bổ sung thêm peptone giúp cây sinh trưởng khỏe. Vì vậy mỗi loài lan thích hợp cho một thành phần hữu cơ riêng.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

- Môi trường nhân nhanh giống lan *Aranda* đạt được kết quả sau 45 ngày là môi trường A có bổ sung NAA 1 mg/l và BA 5 mg/l.
- Môi trường B có bổ sung 50 g/l dịch trích chuối xiêm cho hiệu quả tốt về các chỉ tiêu số rễ và chiều cao gia tăng tương đối.

4.2 Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu thêm khả năng sinh trưởng và phát triển của cây con trong nhà lưới (giai đoạn thuần dưỡng) để hoàn thiện quy trình nhân giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Butenko RG (1968). In: Plant Tissue Culture and Plant Morphogenesis, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, pp. 40-45.
- Debergh P. C. and R. H. Zimmerman (1991), Micropropagation, Kluwer Academic Publishers, pp. 71-93.
- Kong, Q., Yuan, S.Y., Végvári, Gy. (2007) Micropropagation of an orchid *Dendrobium strongylanthum* Rchb.f. International Journal of Horticultural Science, 13 (1): 61–64 *Agroinform Publishing House, Budapest, Printed in Hungary ISSN 1585-0404*
- Kusumoto, M and Furukawa, J (1977) Effects of organic matter on the growth of Cymbidium protocorm cultured in vitro. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 45(4) : 421-426. .
- Morel,G.M., (1964). Tissue culture-A new means clonal propagation of orchids, Ibid.33 : 473-478.
- Murashige T. and F. Skoog (1962), A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture, Pthysiologia Plantarum, Vol. 15, pp. 473- 497.
- Nétien G, Beauchesne G, Mentzer C (1951). Influence du “lait de maïs” sur la croissance des tissus de carotte *in vitro*. Comp. Rendus de L’ Acad. des Sci. 233: 92-98.
- Nguyen Thi Hong Nhat và Tran Thi Dung (2006) in vitro propagation of dendrobium orchid through thin stem section culture. Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture.
- Nong Lam University Ho Chi Minh City
- Nguyễn Thị Kim Huệ và Nguyễn Bảo Toàn (2006) Phát triển thể tiền củ từ mô lá non trong vi nhân giống Lan Hồ Điệp. Tạp chí Khoa Học, Đại Học Cần Thơ. 6:87-96
- Nitsch JP (1951). Growth and development *in vitro* of excises ovaries.Am. J. Bot. 38: 566-571.

Overbeek JV, Conklin ME, Blakeslee AF (1941). Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. *Science* 94: 350-352.

Straus J, and La Rue CD (1954). Maize endosperm tissue grown *in vitro* :Cultural requirements. *Am. J. Bot.* 41: 687-692.