

## NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* VÀ NUÔI TRỒNG GIỐNG LAN HÀI QUÝ *P. HANGIANUM PERNER GURSS* (HÀI HẰNG) THU THẬP Ở VIỆT NAM

Study on *In-Vitro* Propagation and Culture of *Paphiopedilum hangianum*  
Accession Collected in Vietnam

Hoàng Thị Giang, Nguyễn Quang Thạch, Mạch Hồng Thắm, Đỗ Thị Thu Hà

*Viện Sinh học Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*

Địa chỉ email tác giả liên lạc: *cuonggiang18@gmail.com*

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành trên giống lan Hài *P. hangianum perner Gurss* (Hài HẰNG) thu thập ở Việt Nam. Hạt lấy từ quả 6 - 10 tháng tuổi đem khử trùng bằng cồn 70<sup>0</sup> và HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong 5 phút rồi gieo trên các nền môi trường MS, ½ MS, RE và V1. Kết quả cho thấy, môi trường RE thích hợp cho hạt nảy mầm (58 - 67%). Tiếp đó nghiên cứu tiến hành các thí nghiệm nhân nhanh protocorm và tạo cây hoàn chỉnh. Môi trường nhân nhanh protocorm là môi trường RE có bổ sung 150 ml nước dừa và 100 g/l chuối cho hệ số nhân cao nhất (4,3 lần). Môi trường này cũng rất có hiệu quả để tạo chồi. Bổ sung 0,4 - 0,6 mg/l α-NAA vào môi trường cho khả năng ra rễ tốt nhất. Các kết quả thí nghiệm ngoài vườn ươm cho thấy: cây đạt tiêu chuẩn ra vườn ươm cao 3 - 4 cm, có từ 3 - 4 lá, 4 - 5 rễ; trồng trên giá thể dớn; chế độ dinh dưỡng NPK (30:10:10) với lượng bón là 1 g/l và chế độ phun 2 lần/tuần.

Từ khóa: Lan Hài, lan Hài HẰNG, nhân giống *in vitro*, nhân nhanh protocorm.

### SUMMARY

An experiment was conducted to investigate *in vitro* propagation and culture of *P. hangianum perner Gurss* collected in SaPa, Vietnam. Seeds harvested from the 6 - 10 month fruits were sterilized by HgCl<sub>2</sub> 0.1% for 5 minutes and grown on different media, i.e. MS, ½ MS, RE and V1. It was found that RE medium was most suitable for seed germination; RE medium added with 150 ml coconut water and 100 g/l banana was suitable for protocorm multiplication, and RE medium added with 0.4 - 0.6 mg/l α-NAA was most suitable for rooting. This medium was also effective to produce shoots. The optimum stage for potting out when the plantlets reached a height of 3 - 4 cm, 3 - 4 leaves and 3 - 4 roots.

Key words: Hangianum, *in vitro* propagation, Paphiopedilums RE medium.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan Hài thuộc họ lan *Orchidaceae* là một trong những họ lớn nhất của thực vật có hoa; là một nhóm rất khác biệt bởi cấu trúc hoa khác thường với một cánh hoa giữa (còn gọi là môi hay cánh hoa) hình túi sâu trông giống như một chiếc hài nằm ở vị trí thấp nhất của hoa, do đó trở thành tên chung của nhóm lan này.

Việt Nam là một trung tâm đa dạng và đặc hữu lan rất quan trọng ở vùng Đông

Nam Á. Nhiều loài lan Hài của Việt Nam không chỉ rất hiếm mà còn có những loài đặc hữu hẹp, là báu vật quốc gia có tầm quan trọng quốc tế. Lan Hài HẰNG là một trong số đó, được phát hiện ở miền Bắc Việt Nam, là loài lan Hài đẹp và đang có nguy cơ bị tiêu diệt. Đây là loại lan sống trên các kẽ đá phủ rêu trên vùng núi đá vôi, hoa nở bông khá to, có màu vàng nhạt và mùi thơm ngọt ngào (Đặng Xuyên Như, 2006).

Nhiều năm qua, lan Hài Hằng bị khai thác và buôn bán trái phép ra nước ngoài với số lượng lớn, hầu như đã bị tuyệt chủng ngoài tự nhiên. Việc nhân giống loài lan Hài quý rất khó. Nhân giống bằng hạt thường không hiệu quả vì tỉ lệ cây con thu được quá ít không đáp ứng được nhu cầu của thị trường. Nhân giống vô tính bằng cây con cũng không hiệu quả vì số lượng cây con tạo ra rất ít (Dương Tấn Nhựt, 2007).

Hiện nay, nhiều nhà khoa học đang áp dụng những kỹ thuật nuôi cấy mô với mục đích nhân nhanh và hiệu quả nhiều giống lan Hài. Dương Tấn Nhựt (2005) đã nhân thành công giống lan Hài *P. delenatii* (Hài Hồng) bằng phương pháp gây vết thương và phương pháp kéo dài đốt thân. Thông qua các phương pháp này, hệ số nhân của lan Hài đã tăng lên một cách đáng kể. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm góp phần bảo tồn quỹ gen lan Hài nói riêng, bảo tồn thiên nhiên và bảo tồn đa dạng sinh học các nguồn gen thực vật quý hiếm ở Việt Nam nói chung.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Sử dụng nguồn vật liệu từ quả lan Hài của giống lan Hài Hằng thu thập từ Sapa.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật

Sau khi thu thập các quả lan Hài (6 - 10 tháng tuổi, có màu hơi ngả vàng), tiến hành khử trùng hạt bằng cồn 70<sup>0</sup> và HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong 5 phút. Sau đó gieo hạt trên các nền môi trường khác nhau (MS, MS, RE, V)<sub>1</sub> có bổ sung nước dừa trong các bình tam giác và đặt trong các điều kiện tối ưu để tạo protocorm:

- CT1: MS + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

- CT2: 1/2 MS + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

- CT3: RE + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính.

- CT4: V<sub>1</sub> + 30 g/l dịch chiết chuối + 40 g/l cà chua + 250 mg/l than hoạt tính.

Nhóm nhân nhanh protocorm được tiến hành trên 2 thí nghiệm chính.

• *Thí nghiệm ảnh hưởng của nền môi trường nuôi cấy:*

- CT1: MS + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

- CT2: 1/2 MS + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

- CT3: RE + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính.

- CT4: V<sub>1</sub> + 30 g/l dịch chiết chuối + 40 g/l cà chua + 250 mg/l than hoạt tính.

• *Thí nghiệm ảnh hưởng của các dịch chiết tự nhiên đến hệ số nhân lan Hài:*

- CT1: RE + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính + 0 g/l dịch chiết chuối (ĐC).

- CT2: ĐC + 50 g/l dịch chiết chuối.

- CT3: ĐC +100 g/l dịch chiết chuối.

- CT4: ĐC + 120 g/l dịch chiết chuối.

- CT5: ĐC + 150 g/l dịch chiết chuối.

Nhóm thí nghiệm tạo chồi *in vitro* và tạo cây hoàn chỉnh được tiến hành với hai thí nghiệm:

• *Thí nghiệm ảnh hưởng của các dịch chiết tự nhiên đến khả năng tạo chồi:*

- CT1: RE + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính + 0 g/l dịch chiết chuối (ĐC).

- CT2: ĐC + 50 g/l dịch chiết chuối.

- CT3: ĐC +100 g/l dịch chiết chuối.

- CT4: ĐC + 120 g/l dịch chiết chuối.

- CT5: ĐC + 150 g/l dịch chiết chuối.

• *Thí nghiệm ảnh hưởng của  $\alpha$ -NAA tới khả năng ra rễ của lan Hải:*

- CT1: RE + 7 g/l agar + 20 g/l saccarose + 150 ml/l nước dừa + 2 g/l than hoạt tính + 0 ppm  $\alpha$ - NAA (ĐC).

- CT2: ĐC + 0,2 ppm  $\alpha$ - NAA.

- CT3: ĐC + 0,4 ppm  $\alpha$ - NAA.

- CT4: ĐC + 0,6 ppm  $\alpha$ - NAA.

- CT5: ĐC + 1 ppm  $\alpha$ - NAA.

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH từ 5,8 - 6,0 và được khử trùng ở 121°C; 1,0 atm, trong thời gian 20 phút. Mẫu được nuôi cấy ở nhiệt độ 22 - 25°C, cường độ chiếu sáng 16 h/ngày.

### 2.2.2. Phương pháp trồng và chăm sóc cây ngoài vườn ươm

Khi cây đạt tiêu chuẩn (cây 3 - 4 lá, cao 3 - 4 cm và có từ 3 - 4 rễ), đưa ra ngoài vườn ươm; sử dụng các loại giá thể dớn, xơ dừa; dùng loại phân bón NPK được phối trộn với các tỷ lệ khác nhau (20-20-20; 30-10-10; 14-2-10); các chế độ ẩm, ánh sáng và nhiệt độ tuân thủ theo tiêu chuẩn ngoài vườn ươm.

### 2.2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các công thức thí nghiệm trong phòng nuôi cấy mô được bố trí ngẫu nhiên, mỗi công thức (CT) được bố trí 5 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 10 mẫu, mỗi CT làm 50 mẫu.

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi chậu trồng 3 cây. Định kỳ theo dõi: 7 ngày/1 lần, tiến hành đo chiều cao cây, rễ, lá, số nhánh trong mỗi lần đo định kỳ.

### 2.3. Địa điểm

Thí nghiệm tiến hành tại Viện Sinh học Nông nghiệp (Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả thí nghiệm tạo vật liệu khởi đầu

Môi trường khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ nảy mầm của hạt Hải Hằng (Bảng 1).

**Bảng 1. Ảnh hưởng của các môi trường khác nhau đến tỷ lệ nảy mầm của hạt Hải Hằng (sau 8 tuần theo dõi)**

Nền môi trường	MS	½ MS	RE	V <sub>1</sub>
Tỷ lệ nảy mầm (%)	38	45	67	47

Trong 4 môi trường thí nghiệm, môi trường RE cho tỷ lệ hạt lan Hải Hằng nảy mầm cao nhất đạt 67%. Như vậy, việc sử dụng môi trường khoáng RE để gieo hạt cho lan Hải Hằng là thích hợp nhất.

### 3.2. Kết quả thí nghiệm nhân nhanh protocorm

#### 3.2.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các môi trường khác nhau đến hệ số nhân của lan Hải

Việc xác định được môi trường tối ưu để nuôi cấy nhân nhanh các protocorm, làm tăng hệ số nhân, đồng thời các protocorm phải đạt chất lượng tốt nhất (đồng đều màu xanh bóng, không bị xốp, không bị mọng nước, chồi phát triển mạnh không bị biến dị) trước khi chuyển sang môi trường tạo cây hoàn chỉnh là một yêu cầu không thể thiếu trong nhân giống *in vitro* lan Hải. Thí nghiệm này đã sử dụng protocorm của giống Hải Hằng, tách protocorm đưa vào các môi trường khác nhau, sau 4 tuần nuôi cấy kết quả thu được ở bảng 2.

Các công thức khác nhau có ảnh hưởng rất khác nhau đến tỷ lệ mẫu tạo protocorm, hệ số nhân và cả chất lượng protocorm. Trong đó CT2 cho cả tỷ lệ mẫu tạo protocorm và hệ số nhân nhỏ nhất, CT3 cho 100% tỷ lệ mẫu tạo protocorm. Quan sát hình thái cho thấy, protocorm thu được ở CT1 và CT2 đều rất nhỏ, yếu và vàng nhạt; còn protocorm thu được từ CT3, CT4 xanh và mập hơn cả. Mặt khác, CT3 cũng cho hệ số nhân protocorm cao nhất (3,18 protocorm/mẫu) trong 4 MT nghiên cứu. Như vậy, môi trường RE + 150 ml/l nước dừa là môi trường hiệu quả nhất trong nuôi cấy nhân nhanh protocorm của giống Hải Hằng.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của các môi trường khác nhau tới sự nhân nhanh protocorm của Hài Hạng (sau 4 tuần theo dõi)**

Công thức	Tỉ lệ mẫu tạo protocorm (%)	Hệ số nhân (protocorm/mẫu)	Chất lượng protocorm
CT1	60	0,30	+
CT2	66	0,20	+
CT3	100	3,18	+++
CT4	98	2,44	++
LSD (%)	-	0,677	

Ghi chú: +++ chất lượng tốt

++ chất lượng trung bình

+ chất lượng kém

CT1: MS + 20 g/l saccharose + 150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

CT2: ½ MS + 20 g/l saccharose + 150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar.

CT3: RE + 20 g/l saccharose + 150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính.

CT4: V<sub>1</sub> + 30 g/l dịch chiết chuối + 40 g/l cà chua + 250 mg/l than hoạt tính.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của môi trường có bổ sung dịch chiết chuối đến hệ số nhân protocorm của Hài Hạng (sau 4 tuần theo dõi)**

Công thức	Tỷ lệ mẫu tạo protocorm (%)	Hệ số nhân (protocorm/ mẫu)	Chất lượng protocorm
CT1: ĐC	100	3,18	+++
CT2:ĐC+50 g/l dịch chuối	50	3,56	+++
CT3: ĐC+100 g/l dịch chuối	100	4,3	+++
CT4:ĐC+120 g/l dịch chuối	70	2,7	++
CT5:ĐC+150 g/l dịch chuối	54	2,2	++
LSD (%)	-	0,12	

Ghi chú: +++ chất lượng tốt

++ chất lượng trung bình

+ chất lượng kém

CTĐC: RE + 20 g/l saccharose + 150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính.

### 3.2.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường có bổ sung dịch chiết chuối đến hệ số nhân của Hài Hạng

Nghiên cứu của Benrt (1975) cho rằng, bổ sung dịch chiết chuối có tác dụng kích thích đối với khả năng tạo protocorm và sinh trưởng chồi. Các kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của việc bổ sung dịch chuối được trình bày ở bảng 3.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc bổ sung dịch chiết chuối vào môi trường nhân nhanh có tác dụng làm tăng hệ số nhân protocorm so với đối chứng không bổ sung. Ở CT3 khi bổ sung 100 g/l dịch chiết chuối vào môi trường nuôi cấy đã cho hệ số nhân tăng 4,3 lần so với đối chứng là 3,18 lần. Tuy nhiên, khi bổ sung tăng dần dịch chiết chuối thì hệ số nhân giảm dần. Số liệu bảng 3 cho

thấy, môi trường RE + 100 g/l dịch chiết chuối là môi trường thích hợp nhất để nhân nhanh protocorm của Hải Hằng.

### 3.3. Kết quả thí nghiệm tạo cây hoàn chỉnh

#### 3.3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết chuối tới khả năng tạo cây hoàn chỉnh của lan Hải

Đây là giai đoạn cuối của quá trình nhân giống *in vitro*. Giai đoạn này phải đảm bảo cây khỏe mạnh, có bộ rễ tốt để sinh trưởng và phát triển khi đưa cây ra ngoài vườn ươm.

Nồng độ dịch chiết chuối có ảnh hưởng khá rõ ràng tới khả năng tạo chồi của Lan Hải (Bảng 4). Ở CT1 (không có dịch chiết chuối) tỷ lệ mẫu chết là 4,80% và tỷ lệ tạo chồi là 66,67%; khi tăng dần nồng độ dịch chiết chuối từ 0 - 100 g/l (CT2 và CT3) thì không có mẫu chết, tỷ lệ tạo chồi tăng dần, nhưng khi nồng độ dịch chiết lớn hơn 100 g/l thì tỷ lệ tạo chồi giảm và tỷ lệ mẫu chết tăng dần. Ở CT5 tỷ lệ chết là 9,52 % và tỷ lệ tạo chồi 61,90% ứng với bổ sung 150 g/l dịch chiết chuối. Có thể nhận thấy, CT3 cho tỷ lệ tạo chồi cao nhất đạt 85,70% và tỷ lệ mẫu chết là bằng 0%. Trong thí nghiệm này, môi trường RE + 100 g/l dịch chiết chuối là môi trường thích hợp nhất cho tạo chồi của lan Hải Hằng.

#### 3.3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của $\alpha$ -NAA tới khả năng ra rễ của lan Hải Hằng

Nồng độ  $\alpha$ -NAA có ảnh hưởng khá rõ đến sự tăng trưởng số rễ của lan Hải Hằng (Bảng 5). Ở CT1 có sự tăng trưởng số rễ thấp nhất, sự tăng trưởng số lá và sự tăng trưởng chiều cao cây cũng thấp nhất trong 4 CT. Giống lan Hải Hằng ở CT2 với nồng độ 0,4 ppm  $\alpha$ -NAA cho sự tăng trưởng số rễ (2,03), sự tăng trưởng số lá (0,31), sự tăng trưởng chiều cao của cây (0,46) cao nhất trong cả 4 CT thí nghiệm. Khi nồng độ  $\alpha$ -NAA tăng lên ở CT3, CT4 thì sự sinh trưởng phát triển của cây giảm (sự tăng trưởng số rễ, sự tăng trưởng số lá, sự tăng trưởng chiều cao cây đều giảm xuống). Như vậy nồng độ  $\alpha$ -NAA có ảnh hưởng nhất định đến sự ra rễ của lan Hải. Môi trường RE + 0,4 ppm  $\alpha$ -NAA thích hợp nhất cho sự ra rễ của giống Hải Hằng.

### 3.4. Kết quả thí nghiệm ngoài vườn ươm

#### 3.4.1. Ảnh hưởng của các nền giá thể khác nhau đến sinh trưởng phát triển của cây lan Hải

Số liệu bảng 6 cho thấy, tỷ lệ sống của lan Hải Hằng trên nền giá thể dớn là cao nhất, đạt 80%. Do thời gian tiến hành theo dõi thí nghiệm tương đối ngắn (6 tuần) nên sự tăng trưởng về chiều cao cây, số lá/cây, số rễ/cây thu được chỉ đạt ở ngưỡng nhất định.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của môi trường có bổ sung dịch chiết chuối tới khả năng tạo chồi của Hải Hằng (sau 4 tuần theo dõi)**

Công thức	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ tạo chồi (%)	Chất lượng chồi
CT1: ĐC	4,80	66,67	++
CT2: ĐC+ 50 g/l dịch chuối	0,00	80,95	+++
CT3: ĐC+ 100 g/l dịch chuối	0,00	85,70	+++
CT4: ĐC+ 120 g/l dịch chuối	4,80	66,67	+++
CT5: ĐC+ 150 g/l dịch chuối	9,52	61,90	++
LSD (%)	-	0,125	

Ghi chú: +++ chất lượng tốt

++ chất lượng trung bình

+ chất lượng kém

CTĐC: RE + 20 g/l saccarose +150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của  $\alpha$ -NAA tới khả năng ra rễ của lan Hài Hềng**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá/cây)	Số rễ (rễ/cây)
CT1: ĐC	0,38	0,22	1,50
CT2: ĐC+ 0,4 ppm $\alpha$ -NAA	0,46	0,31	2,03
CT3: ĐC+ 0,6 ppm $\alpha$ -NAA	0,44	0,30	1,96
CT4: ĐC+ 0,8 ppm $\alpha$ -NAA	0,43	0,27	1,88
LSD (%)	0,14	0,116	0,358

Ghi chú:

CTĐC: RE + 20 g/l saccarose + 150 ml/l nước dừa + 7,5 g/l agar + 2 g/l than hoạt tính + 100g/l dịch chiết chuối.

**Bảng 6. Ảnh hưởng của các nền giá thể khác nhau đến sinh trưởng phát triển của lan Hài Hềng (sau 6 tuần theo dõi)**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá/cây)	Số rễ (rễ/cây)	Tỷ lệ sống (%)
CT1	0,27	0,130	0,37	80,00
CT2	0,07	0,052	0,10	33,33
CT3	0,12	0,091	0,15	53,33
LSD (%)	0,207	0,994	0,278	-

**Bảng 7. Ảnh hưởng của các chế độ phân bón khác nhau đến sự phát triển của lan Hài (sau 4 tuần theo dõi)**

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá/cây)	Số rễ (rễ/cây)
CT1	0,40	0,30	0,75
CT2	0,21	0,17	0,50
CT3	0,32	0,12	0,39

Ghi chú: CT1: Phân NPK được phối trộn với tỷ lệ: 20-20-20

CT2: Phân NPK được phối trộn với tỷ lệ: 30-10-10

CT3: Phân NPK được phối trộn với tỷ lệ: 14:2:10

Tuy nhiên, khi quan sát hình thái bên ngoài có thể nhận thấy, cũng trên nền giá thể dớn cây cứng cáp và mập hơn so với các giá thể còn lại. Như vậy trong 3 nền giá thể thí nghiệm thì nền giá thể dớn là thích hợp nhất cho cây sự phát triển của lan Hài Hềng.

### 3.4.2. Ảnh hưởng của chế độ phân bón khác nhau đến sự phát triển của lan Hài

Tỷ lệ phối trộn các loại phân bón có ảnh hưởng rõ rệt đến sự sinh trưởng của lan Hài

Hềng (Bảng 7). Có thể thấy rằng, ở CT1 (30:10:10) cho kết quả tốt hơn ở hầu hết các chỉ tiêu theo dõi như chiều cao cây, số lá. Ở CT2 (20:10:10) và CT3 (14:2:10) cho thấy rõ sự sinh trưởng và phát triển của cây kém hơn CT1. Tuy nhiên, khi quan sát hình thái cho thấy, ở CT2 cây cứng cáp và xanh tốt tương tự như với CT1.

Ở giai đoạn cây non mới đem trồng ở vườn ươm rất cần hàm lượng N cao vì đây là

giai đoạn cây đang tăng trưởng mạnh về chiều cao. Như vậy, trong thí nghiệm này cho thấy, phân NPK theo tỷ lệ 30:10:10 tạo điều kiện tốt nhất cho sinh trưởng và phát triển của cây lan Hải.

Hiện nay những nghiên cứu về nhân giống và nuôi trồng lan Hải nói chung và lan Hải Hằng nói riêng là không nhiều. Việc nhân giống bằng con đường vô tính là phương pháp tốt nhất để đảm bảo duy trì tính trạng ban đầu của các giống lan Hải. Tuy nhiên, thực tế nghiên cứu cho thấy nhân giống bằng con đường vô tính chỉ có thể tạo ra một số lượng rất ít cây con, khó đảm bảo cho yêu cầu bảo tồn và duy trì giống. Hiện nay kỹ thuật nuôi cấy mô là phương pháp nhân giống hiệu quả đã được các nhà nghiên cứu lựa chọn và áp dụng trong việc nhân nhanh giống. Phương pháp này không chỉ tạo ra số lượng lớn cây con, đảm bảo cho yêu cầu bảo tồn duy trì giống, đồng thời còn giữ nguyên các đặc tính của giống gốc ban đầu. Trong tự nhiên, lan Hải qua quá trình sinh sản đã dần trở thành giống thuần, do đó khi quả lan Hải được đem vào làm vật liệu khởi đầu cho nhân nhanh thì tần suất xuất hiện các biến dị là không đáng kể.

#### 4. KẾT LUẬN

Môi trường thích hợp nhất để gieo hạt giống lan Hải Hằng là môi trường RE và môi trường nhân nhanh giống lan Hải Hằng là môi trường: RE + 100 g/l dịch chiết chuối +150 ml/l nước dừa. Đồng thời đây cũng là môi trường thích hợp cho tạo chồi từ protocorm của lan Hải Hằng. Môi trường ra rễ cho giống lan Hải Hằng là môi trường: RE + 100 g/l dịch chiết chuối + 0.4 ppm  $\alpha$ -NAA.

Giá thể thích hợp đối trồng lan Hải Hằng là giá thể dớn, trên giá thể này cây có tỷ lệ sống cao (80%) và sinh trưởng tốt.

Phân bón thích hợp cho lan Hải Hằng ở giai đoạn cây con là phân NPK phối trộn theo tỷ lệ 30:10:10 với lượng bón là 1 g/l và chế độ phun 2 lần/tuần.

#### LỜI CẢM ƠN

Tác giả công trình xin chân thành cảm ơn quỹ học bổng Odon Valell (Cộng hoà Pháp) và GS. Kim Ngọc - Trần Thanh Vân đã hỗ trợ về vật chất cũng như tinh thần cho quá trình thực hiện đề tài.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đặng Xuyên Như (2006). Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống và nuôi trồng cây giống của hai loài Lan Hải Việt Nam.
- Dương Tấn Nhựt (2005). Một số kỹ thuật mới trong nhân giống vô tính cây lan Hải. Báo cáo khoa học Hội thảo ứng dụng các kỹ thuật mới trong nhân giống và nuôi trồng hoa Lan tại thành phố Hồ Chí Minh, tr.13.
- Hoàng Thị Nga (2000). Nghiên cứu ứng dụng phương pháp nuôi cấy cắt lát mỏng tế bào trong nhân nhanh một số giống hoa lan, Luận văn thạc sĩ: 13, 18-21.
- Nguyễn Quang Thạch (2005). Lan Hồ Điệp - kỹ thuật chọn tạo, nhân giống và nuôi trồng, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga, Đinh Trường Sơn (2003). Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân và nuôi trồng phong lan Phalaenopsis. Báo cáo tại Hội nghị sinh học toàn quốc.
- Nguyễn Quang Thạch, Hoàng Thị Nga, Nguyễn Thị Lý Anh, Vũ Thị Hoài (2004). Ứng dụng phương pháp nuôi cấy lát mỏng tế bào trong nhân nhanh *in vitro* một số giống địa lan có giá trị, *Tạp chí KHKT Nông nghiệp* số 5 năm 2004:1,2.
- Australia centre for international research (1996). The cut flower industry 30-61.
- Chen, J.T; Chang, W. C. (2001). Effects of auxins and cytokinins on direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Oncidium 'Gower Ramsey'*. *Plant Growth regul.* 34:229-232.

- M. Obaidul Isalam (2003), Effect of complex organic extracts on callus growth and PLBs regeneration through embryogenesis in the *Doritaenopsis* orchid: 229-230.
- Nhut DT, Teixeira da Silava JA, Bui VL, Tran Thanh Van K (2003b). Thin cell layer culture system: regeneration and transformation applications. Nhut DT, Van Le B, Tran Thanh Van K, Thorpe T (eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the netherlands, pp.387-425.
- Ohki S (1994). Scanning Electron microscopy of shoot differentiation invitro from leaf explants of the african violet. *Plant Cell Tiss, Org.cult.* 36:157-162.
- M.L.Pierik (1987), Vegetative propagation of orchid, *Invitro* culture higher plants: pages: 159-167.