

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH NHÂN GIỐNG LAN HỒ ĐIỆP (*Phalaenopsis amabilis*) TRÊN HỆ THỐNG NGẬP CHÌM TẠM THỜI

A STUDY OF THE EFFECT OF SUPPLEMENTED GROWTH REGULATORS ON PHALAENOPSIS AMABILIS MICROPROPAGATION USING TEMPORARY IMMERSION SYSTEM

Phạm Thị Thùy Trang, Bùi Thị Ngọc Hân

Phân hiệu Đại học Đà Nẵng tại Kon Tum; ptttrang@kontum.udn.vn

Tóm tắt - Bài báo nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân giống lan Hồ điệp (*Phalaenopsis amabilis*) trên hệ thống ngập chìm tạm thời (TIS). Kết quả thí nghiệm cho thấy, môi trường MS bổ sung BA 2 mg/l, NAA 1 mg/l, DCC 30 g/l, pepton 1 g/l, sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 1 g/l là môi trường thích hợp cho nhân nhanh PLBs. Môi trường MS $\frac{1}{2}$ bổ sung BA 2 mg/l, DCC 30 g/l, Pepton 1 g/l, Sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 0.5 g/l là môi trường tốt nhất cho tái sinh chồi từ PLBs. Môi trường MS $\frac{1}{2}$ bổ sung IBA 2 mg/l, DCC 30 g/l, Pepton 1 g/l, Sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 1 g/l là môi trường thích hợp cho sự ra rễ của chồi lan Hồ điệp tái sinh từ PLBs. Tỷ lệ nhân PLBs, nhân chồi trên TIS gấp 2-3 lần so với nuôi cấy trên thạch.

Từ khóa - hệ thống ngập chìm; lan Hồ điệp; chất điều hòa sinh trưởng; Protocorm-like bodies; nhân chồi

Abstract - This research studies the effect of supplemented growth regulators on *Phalaenopsis amabilis* micropropagation using temporary immersion system (TIS). The experiment results show that MS supplemented with BA 2 mg/l, NAA 1 mg/l, DCC 30 g/l, peptone 1 g/l, sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 1 g/l is the most appropriate culture medium for PLBs. MS $\frac{1}{2}$ supplemented with BA 2 mg/l, DCC 30 g/l, Peptones 1 g/l, sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 0.5 g/l is the best culture medium for shoot regeneration. MS $\frac{1}{2}$ supplemented with IBA 2 mg/l, DCC 30 g/l, Peptones 1 g/l, sucrose 30 g/l, CW 20%, CA 1 g/l is the best culture medium for developing roots. The rates of PLBs regeneration and shoot multiplication on TIS are 2-3 times higher than those on agar culture medium.

Key words - Immersion system; *Phalaenopsis amabilis*; growth regulators; Micropropagation; Protocorm-like bodies; Shoot multiplication

1. Đặt vấn đề

Lan Hồ điệp là cây trồng đem lại giá trị kinh tế cao gấp 2 - 3 lần so với cây hoa màu. Với vẻ đẹp sang trọng trang nhã, màu sắc phong phú, lâu tàn lan Hồ điệp là loài lan quý rất được ưa chuộng. Sự phát triển của công nghệ vi nhân giống giải quyết bài toán về số lượng, chất lượng lan giống hiện nay. Tuy nhiên, việc nhân giống trên môi trường thạch có đặc điểm dễ nhiễm nấm, vi khuẩn, tỷ lệ sống thấp, giá nhân công, thiết bị cao, tiêu tốn lượng lớn cơ chất. Bên cạnh đó, hướng nuôi cấy trên môi trường lỏng cũng gặp nhiều khó khăn, do mô cây bị nhấn chìm trong môi trường, gây nghèo thoáng khí, hiện tượng thủy tinh thể, trương nước, làm mô thực vật chết [3], [7].

Ứng dụng hệ thống ngập chìm tạm thời (TIS) trong nhân giống hoa kiểng là kỹ thuật được ưa chuộng ở Việt Nam trong những năm gần đây. Hệ thống TIS đã tận dụng được ưu điểm, đồng thời hạn chế những nhược điểm của nuôi cấy lỏng và nuôi cấy trên thạch, giúp tạo môi trường nuôi cấy thoáng khí, cây con khỏe mạnh, tỉ lệ sống cao, giảm chi phí nhân công, chi phí môi trường, tăng hệ số nhân [2], [7], [9].

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (còn gọi là các hocmon sinh trưởng) là những chất được sinh ra trong cây để điều khiển các quá trình phát triển của cây. Bên cạnh các chất cung cấp dinh dưỡng cho mô nuôi cấy, việc bổ sung một hoặc nhiều chất điều hòa sinh trưởng như auxin, cytokinin và giberellin là rất cần thiết để kích thích sự sinh trưởng, phát triển và phân hoá cơ quan, cung cấp sức sống tốt cho mô và các tổ chức. Tuy vậy, yêu cầu đối với những chất này thay đổi tùy theo loài thực vật, loại mô, hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng nội sinh của chúng.

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân giống lan Hồ điệp trên hệ thống TIS, góp phần mở ra hướng đi mới trong sản xuất số lượng lớn cây giống có chất lượng tốt đáp ứng nhu cầu thị trường lan Hồ điệp.

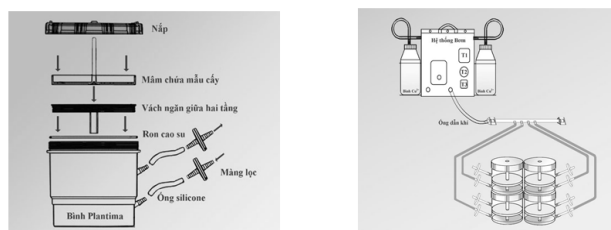
2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị

- Mẫu Protocorm-like bodies (PLBs) lan Hồ điệp (*Phalaenopsis amabilis*) tại phòng thí nghiệm Trung tâm Ứng dụng và Chuyển giao công nghệ tỉnh Kon Tum.

- Môi trường MS cơ bản, MS $\frac{1}{2}$ (Môi trường MS cơ bản đã giảm $\frac{1}{2}$ khoáng đa lượng); các chất bổ sung gồm: BA, NAA, IBA, nước dừa (CW), dịch chiết chuối (DCC), than hoạt tính (CA), peptone, sucrose, agar.

- Hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời Plantima Đài Loan cấu tạo gồm: bơm nén khí tạo áp lực đẩy môi trường từ ngăn dưới lên ngăn trên chứa mẫu cây và ngược lại; hệ thống cài đặt thời gian điều khiển chu kỳ ngập; hệ thống ống dẫn và van điều khiển; các màng lọc; bình nuôi cấy bằng nhựa polycarbonate hay thủy tinh.



Hình 1. Cấu tạo của hệ thống ngập chìm tạm thời

- a. Các bộ phận chính của bình Plantima
b. Hệ thống điều khiển chu kỳ ngập

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Xác định nồng độ chất điều hòa sinh trưởng tối ưu cho quá trình nhân nhanh PLBs

Khảo sát quá trình nhân nhanh PLBs (mật độ 2 g) trên môi trường MS bổ sung BA, NAA, pepton, sucrose, CW, DCC, CA, thời gian ngập 5 phút, chu kỳ ngập 2 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml, pH 5.7, đối chứng trên môi trường thạch có bổ sung agar [7].

2.2.2. Xác định nồng độ chất điều hòa sinh trưởng tối ưu cho quá trình tái sinh chồi từ PLBs

Khảo sát quá trình tái sinh chồi từ PLBs (mật độ 2 g) trên môi trường MS $\frac{1}{2}$ bổ sung BA, pepton, sucrose, CW, DCC, CA, thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml, đối chứng trên môi trường thạch có bổ sung agar [7].

2.2.3. Xác định nồng độ chất điều hòa sinh trưởng tối ưu cho quá trình ra rễ của chồi tái sinh từ PLBs

Khảo sát quá trình ra rễ của chồi (mật độ 4 g) tái sinh từ PLBs trên các môi trường MS $\frac{1}{2}$ IBA, pepton, sucrose, CW, DCC, CA, thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml, đối chứng trên môi trường thạch có bổ sung agar [7].

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân nhanh PLBs

Chất điều hòa sinh trưởng ảnh hưởng đến quá trình nhân nhanh PLBs rõ rệt. Ở nồng độ BA thấp hơn 1.5 mg/l không có sự khác biệt về trọng lượng và kích thước PLBs. Ở giá trị BA 1.5 mg/l thì trọng lượng và kích thước PLBs có sự thay đổi rõ rệt và đạt trọng lượng cao nhất ở nồng độ BA bổ sung 2 mg/l, cho chất lượng PLBs khỏe, xanh tốt, tròn từng cụm, đồng đều (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân nhanh PLBs trên TIS

TT	Nghiệm thức	Auxin NAA (mg/l)	Cytokinin BA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Đặc điểm của PLBs
1	MP0	0	0	10,73 ± 0,45 ^c	PLBs yếu, mẫu đen, màu vàng nhạt, vàng đậm, có lông.
2	MP1	1	1	14,61 ± 0,39 ^b	PLBs khỏe, màu vàng nhạt, màu xanh, có lông.
3	MP2	1	1.5	14,78 ± 0,72 ^b	PLBs khỏe, màu vàng nhạt, màu xanh, có lông.
4	MP3	1	2	17,66 ± 0,81 ^a	PLBs khỏe, xanh tốt, tròn từng cụm, đồng đều.
5	MP4	1	2.5	17,23 ± 1,39 ^a	PLBs khỏe, xanh tốt, một số PLB tạo chồi.

Ghi chú: Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha = 5\%$

Sau 8 tuần nuôi cấy, ở nồng độ BA 2 và 2.5 mg/l cho tỷ lệ PLBs phát triển tốt, không phát sinh biến dị, xanh tốt, trọng lượng PLBs tăng từ 2 g/bình lên 17,66 g/bình. BA và NAA có vai trò quan trọng đối với sự hình thành và tăng trưởng PLBs của lan Hồ điệp. Nồng độ BA, NAA bổ sung trong thí nghiệm không có sự khác biệt với nghiên

cứu của Dương Tấn Nhựt (2005) thí nghiệm trên hệ thống Bioreactor [1], [8].

Nuôi cấy trên thạch cho kết quả tương đương, nồng độ BA 2 mg/l cho kết quả tối ưu, PLBs tạo thành có màu xanh thẫm, đồng đều nhau giữa các bình cấy.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân nhanh PLBs trên thạch

TT	Nghiệm thức	NAA (mg/l)	BA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Đặc điểm của PLBs
1	MP0	0	0	3,62 ± 0,31 ^d	PLBs tạo thành chưa hoàn thiện không có cấu trúc rõ ràng.
2	MP1	1	1	4,60 ± 0,71 ^{cd}	PLBs vàng nhạt, cụm nhỏ.
3	MP2	1	1.5	5,96 ± 0,26 ^{bc}	PLBs khỏe mạnh, màu vàng nhạt, có lông.
4	MP3	1	2	7,60 ± 0,74 ^a	PLB khỏe mạnh, xanh tốt, đồng đều, không có lông.
5	MP4	1	2.5	7,17 ± 0,63 ^{ab}	PLB khỏe mạnh, màu vàng nhạt, tạo chồi.

Ghi chú: Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha = 5\%$

Dựa trên kết quả nhân PLBs trên hệ thống TIS và thạch thì ở cùng một nồng độ BA bổ sung cho kết quả tối ưu ở cả hai hệ thống, nuôi cấy trên TIS cho tỷ lệ nhân PLBs gấp 2-3 trên môi trường thạch. Với cùng một hàm

lượng than hoạt tính như nhau do trên TIS lượng polyphenol sinh ra trên mẫu ban đầu được rửa trôi và làm loãng bởi môi trường lưu động, còn trên thạch lượng polyphenol sinh ra vẫn bao phủ xung quanh mẫu trong

suốt quá trình nuôi cấy gây ức chế quá trình sinh trưởng của PLBs, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Cung Hoàng Phi Phượng (2007) [7].

Tỷ lệ auxin và cytokinin ảnh hưởng đến sự phân bào và sự sinh trưởng của PLBs, auxin ở nồng độ thấp (phối hợp với cytokinin) kích thích sự phân bào và khởi tạo mới mô phân sinh, auxin ở nồng độ cao kích thích sự tạo rễ, sự tăng trưởng của rễ [5]. Như vậy, nhân PLBs trên TIS cho kết quả tốt nhất khi thời gian ngập 5 phút, chu kỳ ngập 2 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS bổ

sung BA 2 mg/l; NAA 1 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

3.2. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình tái sinh chồi từ PLBs

Nồng độ chất điều hòa sinh trưởng ảnh hưởng đến quá trình tái sinh chồi khi nuôi cấy trên hệ thống TIS. Cụ thể trọng lượng chồi hình thành trên môi trường có nồng độ BA 2 mg/l là cao nhất so với các môi trường khảo sát (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình tái sinh chồi từ PLBs trên TIS

TT	Nghiệm thức	BA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Đặc điểm của chồi
1	MC0	0	13,78 ± 0,48 ^c	Chồi yếu, lá dài, thân gãy.
2	MC1	1	18,63 ± 0,87 ^{ab}	Chồi khô, xanh tốt, lá tròn nhỏ, có rễ, không tạo PLBs.
3	MC2	1.5	18,04 ± 0,09 ^c	Chồi xanh tốt, lá tròn nhỏ, có rễ, tạo PLBs.
4	MC3	2	21,02 ± 1,73 ^a	Chồi khô, xanh tốt, lá tròn mượt, có rễ, không tạo PLBs.
5	MC4	2.5	19,45 ± 0,13 ^{ab}	Chồi khô, xanh tốt, lá tròn nhỏ, có rễ, không tạo PLBs.

Ghi chú: Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha = 5\%$

Sau 6 tuần nuôi cấy, ở nồng độ BA 2mg/l PLBs, chồi đã tạo thành phát triển khá đồng đều và ổn định, hàm lượng cytokinin đủ để kích thích sự phân chia tế bào, sự nhân chồi và phát triển chồi. Trong khi đó, trên nền môi trường có nồng độ BA bổ sung thấp hơn 2 mg/l số chồi tạo thành ít, màu xanh nhạt, PLBs vừa tăng sinh vừa tạo chồi, do hàm lượng cytokinin ít chưa đủ biệt hóa chồi.

Quá trình tái sinh chồi từ PLBs trên thạch diễn ra chậm, sau 4 tuần nuôi cấy chồi hình thành đồng loạt trên các bình, tăng trưởng mạnh ở tuần thứ 7 và 8. Ở nồng độ BA 2 mg/l chồi tạo thành mạnh, đồng đều, xanh tốt. Ở nồng độ BA thấp hơn chồi phát triển không đồng đều, vừa tăng sinh PLBs, vừa tạo chồi. Tuy nhiên ở nồng độ 2,5 mg/l quá trình tạo chồi xuất hiện biến dị (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình tái sinh chồi từ PLBs trên thạch

TT	Nghiệm thức	BA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Đặc điểm của chồi
1	MC0	0	3,78 ± 0,48 ^d	Chồi yếu, lá nhỏ, thân dài, rễ dài.
2	MC1	1	7,05 ± 0,39 ^b	Chồi khô, lá nhỏ, có rễ.
3	MC2	1.5	6,16 ± 0,24 ^c	Chồi khô, lá nhỏ, có rễ, tạo PLBs.
4	MC3	2	9,18 ± 0,11 ^a	Chồi xanh mượt, lá tròn mượt, phát triển tốt, có rễ.
5	MC4	2.5	7,37 ± 0,19 ^b	Chồi khô, lá nhỏ, có rễ.

Ghi chú: Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha = 5\%$

Kết quả thí nghiệm cho thấy sinh trưởng, phát triển của chồi tái sinh trên TIS vượt trội hơn so với trên thạch về trọng lượng tươi, chiều cao thân, chiều dài, chiều rộng lá, chồi phát triển sớm với bộ lá lớn hơn, ra rễ sớm hơn, PLBs tiếp tục tạo chồi nách, chồi phát triển đồng đều do trên TIS môi trường không khí trong bình luôn có sự trao đổi giữa bên trong và bên ngoài thông qua hệ thống bơm và các màng lọc. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cung Hoàng Phi Phượng [7].



Hình 2. Tái sinh chồi từ PLBs trên hệ thống TIS

a. Mẫu PLBs sau 4 tuần nuôi cấy

b. Chồi tái sinh sau 6 tuần nuôi cấy;

c. Chồi tái sinh sau 8 tuần nuôi cấy

Như vậy, quá trình tái sinh chồi từ PLBs của lan Hồ điệp trên TIS cho kết quả tốt nhất khi thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS½ bổ sung BA 2 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

3.3. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình ra rễ của chồi tái sinh từ PLBs

Sự phát triển rễ của chồi lan Hồ điệp trên hệ thống TIS đồng loạt xuất hiện sau 2 tuần nuôi cấy. Ở nghiệm

thức đối chứng rễ phát triển yếu, cây phát triển không cân đối, thân gầy, lá nhỏ. Rễ phát triển tốt, cây sinh trưởng khỏe, lá to, xanh mượt, trọng lượng tươi đạt 24,18 g/bình ở nồng độ 2 mg/l.

Bảng 5. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình ra rễ của chồi tái sinh từ PLBs TIS

TT	Nghiệm thức	IBA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Chiều dài lá (mm)	Chiều rộng lá (mm)	Chiều dài rễ (mm)	Đặc điểm cây
1	MR0	0	14,26 ± 0,43 ^d	10,70 ± 0,43 ^c	5,90 ± 0,20 ^c	11,00 ± 0,26 ^d	Xanh tốt
2	MR1	1.5	19,16 ± 0,46 ^c	15,13 ± 0,70 ^{ab}	6,96 ± 0,20 ^b	19,66 ± 0,57 ^c	Xanh tốt
3	MR2	2	24,18 ± 0,57 ^a	15,63 ± 0,85 ^a	9,50 ± 0,40 ^a	25,66 ± 0,40 ^a	Xanh tốt
4	MR3	2.5	21,80 ± 0,49 ^b	16,33 ± 0,65 ^a	7,30 ± 0,36 ^b	21,70 ± 0,80 ^b	Xanh tốt
5	MR4	3	18,17 ± 0,10 ^c	13,73 ± 0,55 ^b	6,60 ± 0,26 ^{bc}	19,13 ± 1,02 ^c	Xanh tốt

Ghi chú: Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $\alpha = 5\%$

Khi tăng nồng độ vượt quá giá trị 2 mg/l, sau tuần thứ 8 rễ dài vượt trội, thân, lá nhỏ, cây phát triển gầy yếu. Việc bổ sung hàm lượng auxin nhiều kích thích sự phân bào và tạo rễ mạnh mẽ, xuất hiện hiện tượng ưu thế ngọn, cây phát triển không cân đối, bộ rễ dài yếu, thân gầy guộc, trọng lượng bình tăng không đáng kể.

Bảng 6. Ảnh hưởng nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình ra rễ của chồi tái sinh từ PLBs trên thạch

TT	Nghiệm thức	IBA (mg/l)	Trọng lượng tươi (g)	Chiều dài lá (mm)	Chiều rộng lá (mm)	Chiều dài rễ (mm)	Đặc điểm cây
1	MR0	0	6,06 ± 0,41 ^c	5,80 ± 0,36 ^d	2,53 ± 0,35 ^c	6,76 ± 0,25 ^d	Xanh tốt
2	MR1	1.5	8,36 ± 0,50 ^b	8,35 ± 0,55 ^c	3,06 ± 0,15 ^c	9,26 ± 0,35 ^c	Xanh tốt
3	MR2	2	11,00 ± 0,26 ^a	10,93 ± 0,40 ^a	5,80 ± 0,36 ^a	11,80 ± 0,36 ^a	Xanh tốt
4	MR3	2.5	9,20 ± 0,30 ^b	9,40 ± 0,20 ^b	4,50 ± 0,20 ^b	10,43 ± 0,32 ^b	Xanh tốt
5	MR4	3	9,03 ± 0,40 ^b	9,00 ± 0,30 ^{bc}	4,70 ± 0,26 ^b	10,06 ± 0,28 ^{bc}	Xanh tốt

Sự phát triển rễ chồi lan Hồ điệp trên thạch tương đối thấp. Sau 3 tuần nuôi cấy rễ bắt đầu xuất hiện ở tất cả các nghiệm thức. Riêng nghiệm thức có nồng độ IBA 2 mg/l, sau tuần thứ 8 phát triển vượt trội về kích thước cây, chiều dài rễ, chiều dài lá, cây xanh tốt. Kết quả này trùng với kết quả nuôi cấy trên TIS.

Nuôi cấy trên thạch cho kết quả thấp hơn TIS (Bảng 5 và 6). Trên môi trường thạch, sự tiếp xúc của rễ với chất dinh dưỡng khó khăn, hiệu quả sử dụng môi trường không cao, môi trường bị lãng phí do cây không hấp thu hết các chất dinh dưỡng ở phần đáy của bình nuôi cấy. Trong khi nuôi cấy trên hệ thống TIS, mẫu cấy có khả năng tăng trưởng nhanh hơn so với môi trường thạch. Môi trường được đảo trộn nhờ không khí được sục vào dưới dạng bọt khí, đồng thời góp phần làm xoay trở nhẹ mẫu cấy và làm mới không gian bên trong bình nuôi cấy, giúp rễ tiếp xúc môi trường liên tục nên có thể hấp thu tốt hơn các chất dinh dưỡng từ môi trường, hiệu quả sử dụng môi trường cao. Cây sinh trưởng phát triển tốt, lá to, xanh mượt, bộ rễ khỏe mạnh.



Hình 3. Hệ thống TIS trước và sau khi bơm hoạt động

a. Bơm chưa hoạt động;

b. Bơm đang hoạt động;

c. Bơm hoạt động, môi trường dâng lên tầng chứa mẫu trong bình Plantima

Hệ thống TIS đã hội tụ đủ những điều kiện cần thiết như thời gian ngập không quá lâu, độ thoáng khí cao giúp cây không bị thùy tinh thể, điều kiện nuôi cấy rất thuận lợi cho sự quang hợp của cây nên cây phát triển đồng đều, thích hợp cho quá trình tạo bộ rễ khỏe mạnh cho cây trước khi ra vườn ươm. Tóm lại, khi nuôi cấy trên hệ thống TIS giúp cây sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh hơn những cây được nuôi cấy trên hệ thống kín thông thường. Hệ thống TIS giúp rút ngắn thời gian để cây đạt được kích thước cần thiết khi ra vườn ươm [4], [6].

Như vậy, quá trình tạo rễ của chồi lan Hồ điệp trên TIS cho kết quả tốt nhất khi thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS_{1/2} bổ sung IBA 2 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

4. Kết luận

1) Thí nghiệm thực hiện trong phòng nuôi cấy điều kiện nhiệt độ 25 ± 20⁰C, độ ẩm 80 ÷ 85%, cường độ ánh sáng 2500 lux, pH 5.7. Kết quả thí nghiệm cho thấy hệ thống càng thoáng, mẫu cấy càng sinh trưởng và phát triển tốt. Hệ thống bơm trên TIS tạo sự ngập chìm cho mẫu cấy, bơm giúp khí trong bình được trao đổi, bình thông thoáng mẫu Hồ điệp trên TIS phát triển mạnh hơn so với mẫu trong bình tam giác thể hiện qua các chỉ tiêu chiều cao cây, chiều dài và chiều rộng của lá, số rễ và chiều dài rễ.

2) Quá trình nhân PLBs trên TIS: Thời gian ngập 5 phút, chu kỳ ngập 2 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS bổ sung BA 2 mg/l; NAA 1 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

3) Quá trình tái sinh chồi từ PLBs của lan Hồ điệp trên TIS: Thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS $\frac{1}{2}$ bổ sung BA 2 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

4) Quá trình tạo rễ của chồi lan Hồ điệp trên TIS: Thời gian ngập 3 phút, chu kỳ ngập 6 giờ, thể tích nuôi cấy 250 ml. Trên môi trường MS $\frac{1}{2}$ bổ sung IBA 2 mg/l; pepton 1 g/l; sucrose 30 g/l; CW 20%; DCC 30 g/l; CA 1 g/l, pH 5.7.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. A. Khoddamzadeh, U. R. Sinniah (2011), "In vitro induction and proliferation of protocorm-like bodies (PLBs) from leaf segments of *Phalaenopsis bellina* (Rchb.f.) Christenson". *Plant Growth Regul* (2011) 65:381–387.
- [2] Alvard D., Cote F. & Teisson C. (1993), "Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 32:55–60.
- [3] Arditti J. & Ernst R. (1993), "Phalaenopsis. In: *Micropropagation of Orchids* (pp. 467-520)". John Wiley Sons, Inc., Newyork, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore
- [4] Barbara Ruffoni and Marco Savona (2005), "The Temporary Immersion System (T.I.S.) for the Improvement of Micropropagation of Ornamental Plants", *Vth IS on New Flor. Crops.* 683, ISHS 2005.
- [5] Bùi Trang Việt (2004), *Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trên sự phát sinh cơ quan và phát sinh phôi soma ở Chuối và Khoai mì*, Đề tài NCKH cấp Bộ, mã số: 620202. Năm 2002 – 2004.
- [6] Claudia Pisowotzki (2008), "Micropropagation of phalaenopsis-hybrids in temporary immersion system effects of exudated phenolic substances on plant development", Vol. 8, No 4, 2008: 221-223.
- [7] Cung Hoàng Phi Phượng (2007), "Bước đầu ứng dụng hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời trong nhân giống lan Hồ điệp lai – *Phalaenopsis hybrid*", *Hội nghị khoa học "Công nghệ sinh học thực vật trong công tác nhân giống và chọn tạo giống hoa"*, NXB Nông nghiệp TP Hồ Chí Minh.
- [8] Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Thành Hải, Mai Xuân Phán, Phan Xuân Huyền, Đinh Văn Khiêm (2005), "Nuôi cấy lát và nuôi cấy Bioreactor trong nhân giống cây hoa Thu hải đường (*Begonia tuberosus*)", *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(3): 363-372
- [9] Escalona M., Lorenzo Jc., González B., Daquinta M., González JI., Desjardins Y. & Borroto Cg. (1999), "Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems". *Plant Cell Rep.* 18: 743–748.

(Nhận bài 25/12/2016, phản biện xong 21/1/2017)