

ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT LÊN SỰ PHÁT SINH CHỒI VÀ RỄ PHONG LAN GIÃ HẠT *DENDROBIUM ANOSMUM*

NGUYỄN VĂN VINH, NGUYỄN HỮU LỄ

1. MỞ ĐẦU

Dendrobium anosmum (Giã hạt) là loài Phong lan hoang dại có nhiều trên dãy Trường Sơn từ Nam ra Bắc.

Đặc điểm: thân thông, lá xếp hai hàng dọc thân ra hoa trên các giả hành đã rụng hết lá thường mỗi mắt một hoa (nhiều là 2 - 3 hoa) và tạo thành chuỗi dài. Hoa cỡ 6 - 8 cm màu hồng tía có hai vết tím than rất đẹp trên môi hồng nên còn gọi là lưỡng điểm hạt. Hoa thường nở đồng loạt, hương rất thơm từ 5 - 7 ngày mới tàn. Có thể thúc hay hãm cho hoa nở đúng tết. Chúng thường sống bám vào cây hay khúc gỗ dài từ 1 - 2 m. Trong chu kỳ sinh trưởng chúng phải trải qua thời kỳ khô cạn chúng mới ra hoa đồng loạt. [1, 3, 8]

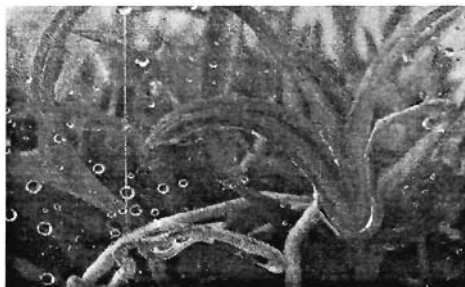
Hiện nay ở các cơ sở nhân giống chỉ có nhân giống tự nhiên bằng tách chồi và cắt giảm những đoạn thân cho hệ số nhân giống thấp.

Với mục đích khảo sát quá trình hình thành chồi và rễ bằng phương pháp in vitro, chúng tôi tiến hành sử dụng: (1) (BA, kinetin) kích thích sự hình thành chồi trên cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro; (2) Ảnh hưởng auxin (IBA, α - NAA) kích thích sự ra rễ ở cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro; (3) Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây con *Dendrobium anosmum* (hình 1) được gieo từ hạt tại phòng thí nghiệm Công Nghệ Giống Thực Vật - khoa Nông Lâm - trường Đại học Đà Lạt, quả được lấy tại rừng Nam Cát Tiên.



Hình 1. Cây con *Dendrobium anosmum*

2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Nội dung nghiên cứu

- (1) Ảnh hưởng (BA, kinetin) lên sự hình thành chồi trên cây lan *Dendrobium anosmum*.
- (2) Ảnh hưởng auxin (IBA, α – NAA) lên sự ra rễ ở cây lan *Dendrobium anosmum*.
- (3) Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin lên sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum*.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.2.1 Chuẩn bị môi trường

Môi trường cơ bản được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung vitamin Morel, đường sucrose 30 g/l, agar 8 g/l, than hoạt tính 0,5 g/l. Các chất kích thích sinh trưởng được bổ sung theo hàm lượng ở từng công thức thí nghiệm.

pH của môi trường = 5,6.

2.2.2.2 Xử lý mẫu cấy

Mẫu cấy ban đầu là cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro 2 tháng tuổi chọn ra những cây bằng nhau.

2.2.3 Điều kiện nuôi cấy

Mẫu cấy được giữ ở nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$, chiếu sáng 14 giờ/ngày với cường độ $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$.

2.2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1

- (1) Ảnh hưởng (BA, kinetin) lên sự hình thành chồi trên cây lan *Dendrobium anosmum*.

- Bố trí thí nghiệm

Bảng 1. Các nghiệm thức khả năng tạo cụm chồi của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro

Hàm lượng (mg/l)	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
Cytokinin						
BA	ĐC	A1	A2	A3	A4	A5
Kinetin		A6	A7	A8	A9	A10

Thí nghiệm 2

- (2) Ảnh hưởng auxin (IBA, α – NAA) lên sự ra rễ ở cây lan *Dendrobium anosmum*.

- Bố trí thí nghiệm

*Bảng 2. Nghiệm thức ảnh hưởng của auxin (IBA, α – NAA) lên sự hình thành rễ của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro*

Auxin	Hàm lượng (mg/l)	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
IBA		ĐC	B1	B2	B3	B4	B5
A – NAA			B6	B7	B8	B9	B10

Thí nghiệm 3

(3) Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin đến sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro.

- Thí nghiệm được bố trí và kí hiệu các công thức như bảng 3.

*Bảng 3. Nghiệm thức Ảnh hưởng phối hợp của auxin và cytokinin lên sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro*

IBA hoặc α - NAA (mg/l)	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
BA (mg/l)	ĐC	C1	C2	C3	C4	C5

2.2.4 Chỉ tiêu theo dõi và xử lí số liệu

2.2.4.1. Các chỉ tiêu theo dõi vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy

- + Số chồi (chồi/cụm chồi); Chiều cao chồi (cm).
- + Số rễ (rễ/ cụm chồi); Chiều dài rễ (cm).
- + Trọng lượng tươi (mg); Trọng lượng khô (mg).

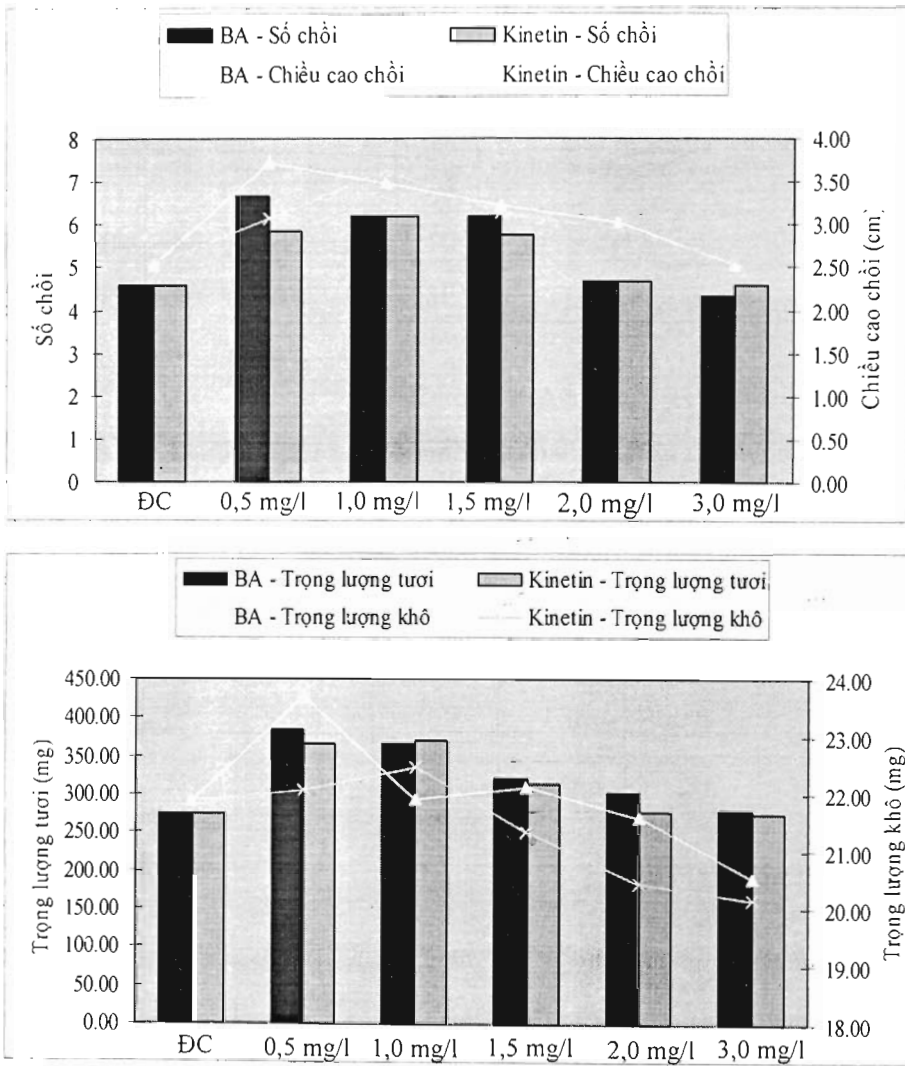
2.2.4.2. Xử lí số liệu

Sử dụng phần mềm Excell 2003 để phân tích và tổng hợp các số liệu thô thu được từ các thí nghiệm.

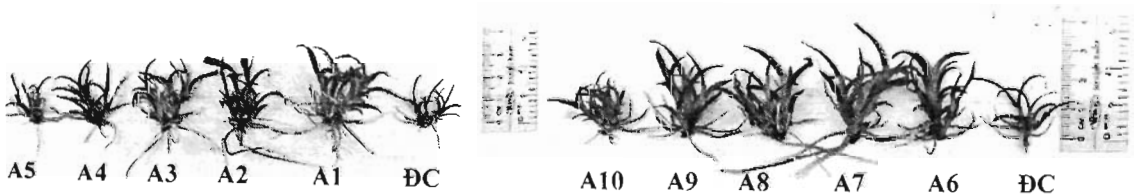
Phân tích thống kê các số liệu bằng ANOVA 1 yếu tố và trắc nghiệm phân hạng Duncan 0,01 bằng phần mềm xử lí thống kê STATISTIX 1.2 của trường Đại học Michigan – Mỹ.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng (BA, kinetin) lên sự hình thành chồi trên cây lan *Dendrobium anosmum*



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của kinetin và BA đến số chồi, chiều cao chồi trọng lượng tươi, trọng lượng khô của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy



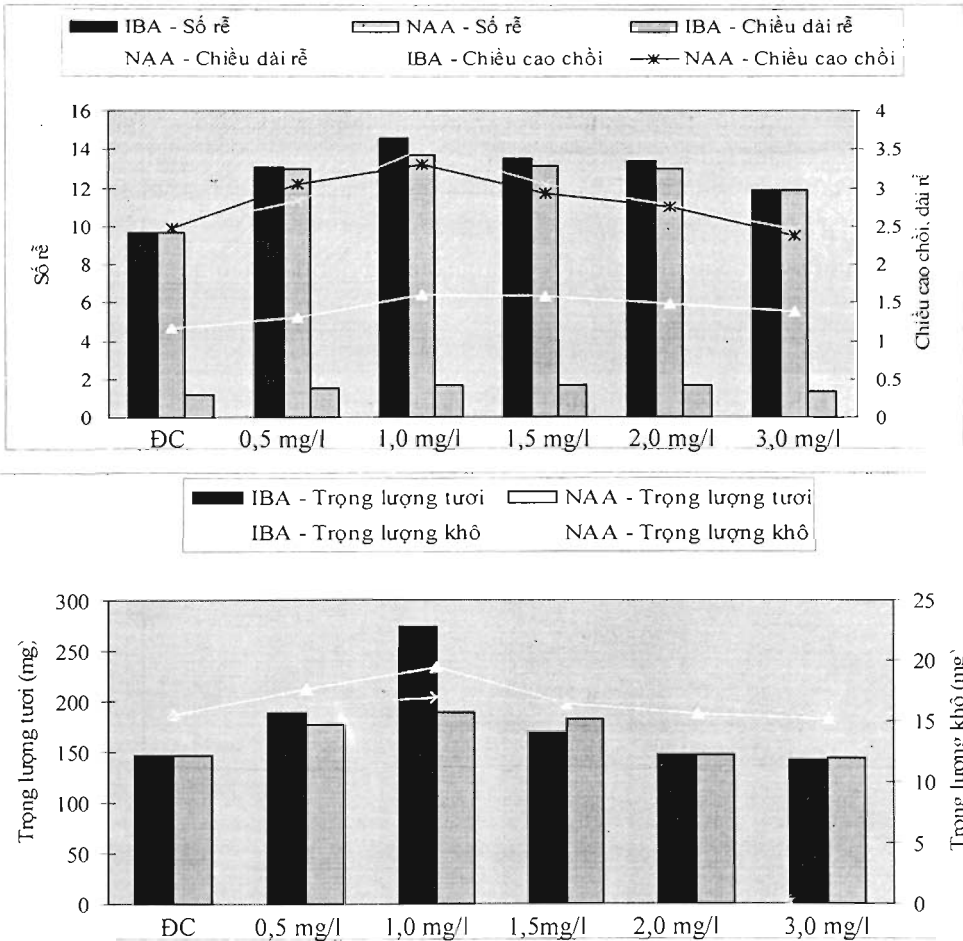
Hình 2. Ảnh hưởng của BA và kinetin lên khả năng tạo cụm chồi của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy

Sau 30 ngày nuôi cấy, các mẫu *Dendrobium anosmum* trên những môi trường có bổ sung hàm lượng BA và kinetin, đều có sự hình thành chồi mới. Chồi mới xuất hiện sớm nhất trên 2 môi trường có bổ sung 0,5 mg/l BA và 1,0 mg/l kinetin, vào ngày thứ 25 và 26 sau nuôi cấy.

Các mẫu thí nghiệm nuôi cấy trên môi trường không bổ sung cytokinin (ĐC), chồi mới xuất hiện chậm hơn, sau 35 ngày nuôi cấy. Điều đó chứng tỏ sự có mặt của cytokinin trong môi trường tác động đến sự hình thành chồi của cây lan *Dendrobium anosmum*. [2, 4,5]

Các chồi lan *Dendrobium anosmum* cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA và 1,0 mg/l kinetin sinh trưởng mạnh, trong giai đoạn từ 30 - 45 ngày nuôi cấy. Vào ngày thứ 60, chồi mới xuất hiện nhiều hơn và có khả năng phát triển thành cây hoàn chỉnh đồng thời có sự hóa vàng của một số lá trên mẫu nuôi cấy ban đầu. Trong khi đó, các mẫu cấy trên môi trường có bổ sung 2,0 mg/l hoặc 3,0 mg/l (BA, kinetin) chỉ sau 35 ngày nuôi cấy, lá của mẫu cấy đã chuyển sang màu vàng, số chồi hình thành ít hơn các công thức khác và chồi sinh trưởng chậm. Giai đoạn từ 60 ngày nuôi cấy đến 90 ngày nuôi cấy, sự hình thành chồi trên các mẫu thí nghiệm ở các công thức ít có sự thay đổi. Vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy, thu kết quả ở biểu đồ 1 và hình 2.

3.2. Ảnh hưởng auxin (IBA, α – NAA) lên sự ra rễ ở cây lan *Dendrobium anosmum*



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của IBA và α – NAA lên số rễ, chiều dài rễ, chiều cao chồi, khối lượng tươi, khối lượng khô của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy



B1



B6



B2



B7



B3



B8



B4



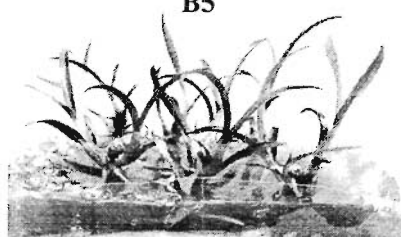
B9



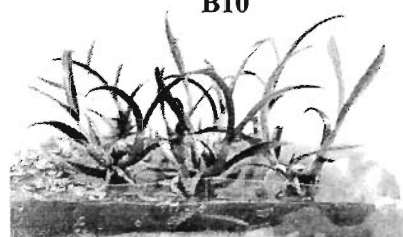
B5



B10



ĐC



ĐC

Hình 3. Ảnh hưởng của α - NAA và IBA lên khả năng tạo rễ của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy

Sau 40 ngày nuôi cấy, sự xuất hiện rễ bất định ở các mẫu nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung α - NAA hoặc IBA, với tỉ lệ rễ hình thành là 100%.

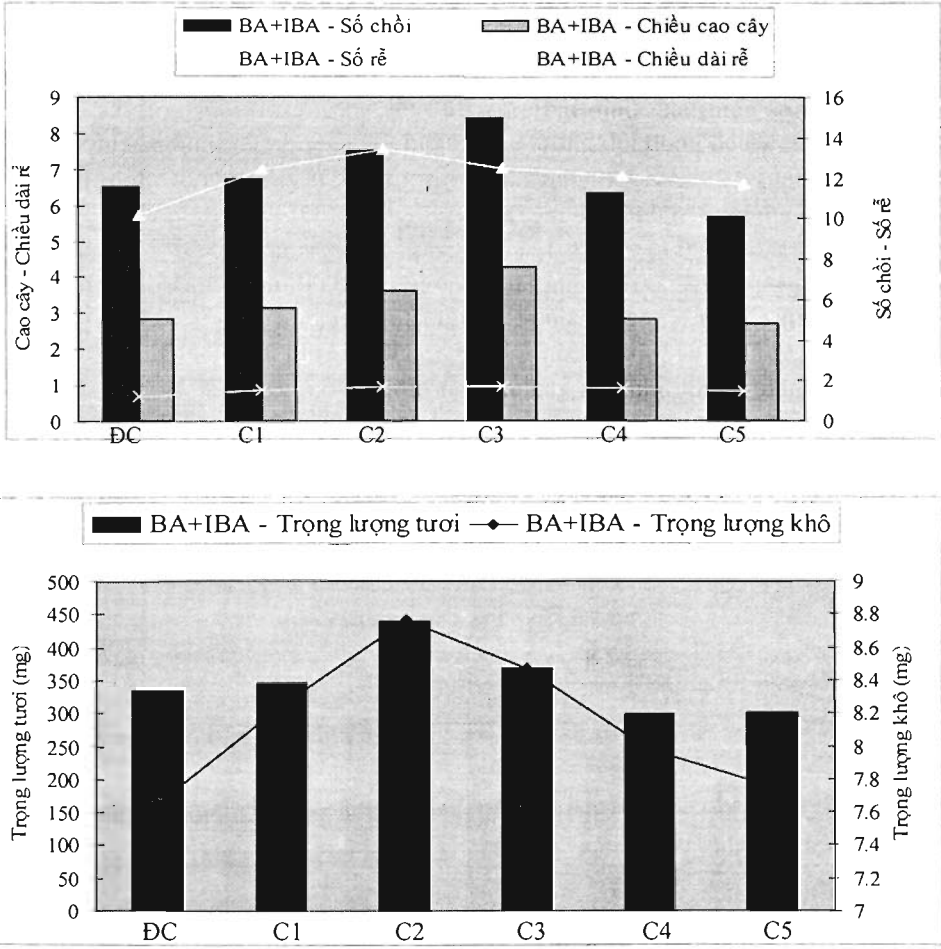
Các mẫu cấy trên môi trường bổ sung IBA, rễ bất định xuất hiện sớm (34 - 36 ngày sau cấy) với số lượng rễ lớn (7 - 12 rễ/cây), chiều dài rễ tương đối đồng đều, cây to, khỏe, lá xanh.

Trong khi đó, các mẫu cấy trên môi trường bổ sung α - NAA, rễ xuất hiện chậm hơn vào ngày thứ 38 - 39 sau nuôi cấy, số lượng rễ được hình thành không nhiều.

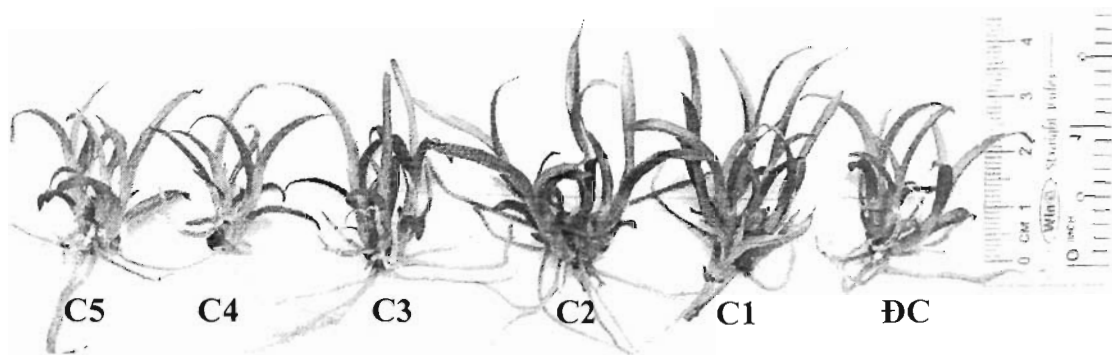
Ở một số công thức có nồng độ α - NAA và IBA cao (3,0 mg/l), một số mẫu nuôi cấy không tạo được rễ bất định sau 60 ngày nuôi cấy. Trong khi đó, sau 40 ngày nuôi cấy, các mẫu cấy trên môi trường ĐC hầu như vẫn giữ nguyên hình dáng và có sự vàng dần của mẫu cấy, chứng tỏ có sự già đi của mẫu, thu kết quả ở biểu đồ 2 và hình 3.

Như vậy, hàm lượng auxin nội sinh trong mẫu cấy hầu như không đáng kể trong giai đoạn đầu nuôi cấy. Do đó, việc bổ sung chất kích thích ra rễ vào môi trường nuôi cấy cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro là điều thiết yếu.

3.3. Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin lên sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum*



Biểu đồ 3. Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin lên số chồi, chiều cao chồi, số rễ, chiều dài rễ lên khối lượng tươi, khối lượng khô của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy



Hình 4. Ảnh hưởng phối hợp của auxin với cytokinin lên sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro vào ngày thứ 90 sau nuôi cấy

Sự phối hợp giữa BA và IBA ở tỉ lệ phù hợp trên môi trường MS sẽ giúp tăng hiệu suất tạo rễ nhiều hơn tạo chồi. Bên cạnh đó các chỉ tiêu về chiều cao cây, chiều dài rễ cũng thể hiện tốt sự sinh trưởng của mẫu cây, ở mức thấp của tỉ lệ auxin/cytokinin. [4, 6]

Khi phối hợp 0,5 mg/l BA với 1,0 mg/l IBA có hiệu quả nhất trong việc kích thích tạo chồi ở cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro và các chỉ tiêu khác như chiều cao cây, dài rễ, trọng lượng tươi và khô cao hơn ở các nồng độ IBA(0,5; 1,5; 2; 3) (biểu đồ 3 và hình 4).

4. KẾT LUẬN

Hàm lượng chất kích thích sinh trưởng tạo chồi đối với cây phong lan *Dendrobium anosmum* in vitro là 0,5 mg/l BA. Ở nồng độ này mẫu cây cho số chồi cao (6,67 chồi/mẫu cây) và trọng lượng tươi lớn (383,94 mg) sau 90 ngày nuôi cấy.

Môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l IBA là môi trường kích thích ra rễ của cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro có hiệu quả nhất. Trong môi trường này mẫu cây ra rễ 100% sau 40 ngày nuôi cấy, khả năng sinh trưởng và phát triển của rễ rất mạnh.

Môi trường có bổ sung 0,5 mg/l BA và 1,0 mg/l IBA cho hiệu quả nhất trong việc kích thích tạo chồi ở cây lan *Dendrobium anosmum* in vitro.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. http://commons.wikimedia.org/wiki/Dendrobium_anosmum.
2. Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thùy Tiên - Công nghệ tế bào, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2006.
3. Nguyễn Thiện Tịch và cs - Kỹ thuật nuôi trồng lan, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2004.
4. Vũ Văn Vụ và cs - Sinh lý học thực vật, Nhà xuất bản Giáo dục, 2003.
5. Chen J. T. and Chang W. C. - Effects of auxin and cytokinin on direct somatic embryogenesis on leaf explant of *Oncidium* "Gower Ramsey", *Plant Growth Regul*, 2001, pp. 229-232.
6. Davies P. J. - Plant Hormones, Kluwer Academic Publishers, 1995, p. 833.

7. Gamborg O. L., Murashige T., Thorpe T. A., and Vasil I. K. - Plant tissue culture media, *In vitro* **12** (1976) 473-478.
8. Nihar Ranjan Nayak and cs. - In vitro propagation of three epiphytic Orchid, *Cybidium aloifolium* (L.) Sw., *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch. and *Dendrobium moschatum* (Buch – Ham) Sw. Through thidiazuron – induced high frequency shoot proliferation, 1997, pp. 243-250.

SUMMARY

INFLUENCE OF PHYTOHORMON ON FORMATION SHOOT TIPS AND ROOTS OF WILD ORCHID-*DENDROBIUM ANOSMUM*

Dendrobium Anosmum is a valuable wild orchid which cultivated in Vietnam forest and it's quantity is being reduced very fast caused by destroying the forest. This is a germplasm bearing flowers with many kind of colorful and beautiful figures. Using plant tissue culture is potential method for it's preservation and development. In this research, we have determined optimum media for formation of shoots, roots and plantlet. Our results show below:

Medium MS based with added 1.0 mg IBA/l are not only formation of roots, but they are also good development after 40 days of culturing;

Combining 0.5 mg BA/l and 1mg IBA/l are most fruitfully for shoot tips formation.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 22 tháng 3 năm 2009

Nguyễn Văn Vinh,

Đại học Công nghiệp TP.Hồ Chí Minh.

Nguyễn Hữu Lễ,

Trường Cao đẳng Công nghệ và Kinh tế Bảo Lộc.