

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* lan hồ điệp M8

**Nguyễn Văn Tiến¹, Nguyễn Thị Huế^{1,2}, Dương Văn Minh¹,
Nguyễn Văn Tinh¹, Đinh Thị Dinh¹, Đồng Huy Giới^{2*}**

¹Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Hoa cây cảnh, Viện Nghiên cứu Rau Quả

²Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Study on *in vitro* Propagation of *Phalaenopsis.sp* M8

**Nguyen Van Tien¹, Nguyen Thi Hue^{1,2}, Duong Van Minh¹,
Nguyen Van Tinh¹, Dinh Thi Dinh¹, Dong Huy Gioi^{2*}**

¹Center for Flowers and Ornamentals Research and Development, Fruit and Vegetable Research Institute.

²Vietnam National University of Agriculture

*Corresponding author: dhgioi@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.13.4.2024.033-040>

TÓM TẮT

Giống lan hồ điệp M8 (CF.21.13) được công nhận là giống cho sản xuất thử và đã công bố lưu hành năm 2022. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* lan hồ điệp M8 từ vật liệu khởi đầu là phát hoa mang mầm ngủ. Kết quả thu được cho thấy, khử trùng các đoạn phát hoa mang mầm ngủ dài 1,5 - 2,0 cm trong dung dịch nano bạc 125 ppm trong vòng 45 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với tỉ lệ mẫu sạch đạt 86,67% và tỉ lệ mẫu sạch bật chồi đạt 84,44%. Môi trường nhân nhanh thích hợp nhất là môi trường 2,0 g.L⁻¹ Hyponex có bổ sung 2,5 mg.L⁻¹ BAP kết hợp 0,3 mg.L⁻¹ IBA với hệ số nhân đạt 4,41 chồi/mẫu, chiều cao cụm chồi 2,86 cm, chồi xanh mập. Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, sử dụng môi trường 2,5 mg.L⁻¹ Hyponex có bổ sung 0,7 mg.L⁻¹ α-NAA, 2,0 g.L⁻¹ than hoạt tính cho tỉ lệ ra rễ đạt 100%, số rễ/chồi trung bình đạt 4,59 rễ. Giai đoạn ra ngôi, sử dụng phương pháp đóng gói bằng cách để chai cây *in vitro* đóng vào thùng carton hoặc cây *in vitro* được lấy ra khỏi bình nhưng không rửa cây, rồi xếp vào hộp nhựa sau đó đóng vào thùng carton khi cần vận chuyển cây giống đi xa. Sau ra ngôi 3 ngày, tiến hành phun ẩm bổ sung cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ sống đạt 95,83%, tỉ lệ xuất vườn đạt 91,00%.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 18/04/2024

Ngày phản biện: 20/05/2024

Ngày quyết định đăng: 10/06/2024

Từ khóa:

In vitro, lan hồ điệp, M8, nhân giống, *Phalaenopsis sp.*

ABSTRACT

The phalaenopsis orchid variety M8 (CF.21.13) was designated for trial production and has been announced for circulation in 2022. In this study, we have presented the results of *in vitro* propagation of Phalaenopsis orchid M8 from the starting material which was flower stalks of phalaenopsis orchid. The results showed that sterilization of 1.5 - 2.0 cm long dormant inflorescence segments in 125 ppm silver nano solution for 45 minutes gave the best disinfection effect with a disinfected explants rate of 86.67% and the rate of disinfected and budding explants reached 84.44%. The most suitable shoot multiplication medium was 2 g.L⁻¹ Hyponex supplemented with 2.5 mg.L⁻¹ BAP combined with 0.3 mg.L⁻¹ IBA with a multiplication coefficient of 4.41 shoots per sample, height the bud cluster was 2.86 cm long, shoots exhibited uniform green and plump morphology. The subsequent complete plant creation stage employed 2.5 mg.L⁻¹ Hyponex medium supplemented with 0.7 mg.L⁻¹ α-NAA and 2 g.L⁻¹ activated charcoal, achieving a 100% rooting rate and an average of 4.59 roots per shoot. During the crown phase, seedlings were either packed

Keywords:

In vitro, M8, Phalaenopsis orchid, phalaenopsis sp, Propagation.

in their original bottles within cartons or removed from bottles without washing, then placed in plastic boxes before carton packaging for long-distance transportation. Additional moisture was sprayed onto the crown-sealed seedlings after three days to optimize survival, resulting in a survival rate of 95.83%, and an export rate of 91.00%.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan hồ điệp (*Phalaenopsis* sp.) là loài hoa có màu sắc đẹp, phong phú và đa dạng, thời gian hoa nở rất lâu và được ưa chuộng nhất hiện nay. Theo kết quả điều tra của Viện Nghiên cứu Rau quả, lượng hoa lan hồ điệp được sản xuất và tiêu dùng ở nước ta ngày càng tăng qua các năm đặc biệt ở các đô thị và thành phố lớn vào các dịp lễ tết, cụ thể trong năm 2022, cả nước đã sản xuất và tiêu thụ khoảng 17,9 triệu cây (tăng gấp đôi so với năm 2017), trong đó nhập khẩu chiếm 92%. Nguồn nhập chủ yếu từ Đài Loan và Trung Quốc, giá trị nhập khẩu ước khoảng 28.144.000 USD [1]. Điều này cho thấy nhu cầu sử dụng lan hồ điệp ở nước ta là rất lớn.

Trước tình hình trên, trong những năm gần đây Viện Nghiên cứu Rau quả đã nghiên cứu chọn, tạo ra nhiều giống hoa lan hồ điệp mới, trong đó có giống M8 với nhiều ưu điểm tốt như sinh trưởng, phát triển khỏe, màu sắc hoa đẹp, cành dài, số hoa trên cành nhiều, phù hợp với thị hiếu của người tiêu dùng.

Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy *in vitro* đang được áp dụng khá phổ biến trên nhiều đối tượng cây trồng, phương pháp nhân giống này có nhiều ưu điểm như tạo được cây con sạch bệnh, đồng nhất về mặt di truyền, tạo được số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn. Đối với nhân giống lan hồ điệp, các nghiên cứu gần đây cho thấy phương pháp nhân giống từ mầm ngủ phát hoa là phương pháp tối ưu [2-4]. Ưu điểm chính của phương pháp này là tạo ra cây con sạch bệnh và đồng nhất về di truyền, điều mà phương pháp gieo hạt truyền thống không thể đạt được. Ngoài ra, việc nhân giống *in vitro* từ phát hoa có ưu điểm lớn là không làm tổn thương cây mẹ, so với việc nhân giống từ chồi ngọn của cây mẹ. Tuy nhiên

để áp dụng phương pháp nhân giống này cho một số giống hoa lan hồ điệp mới thì cần có nghiên cứu thêm nhằm tìm ra môi trường nhân giống phù hợp nhất với từng giống cụ thể.

Từ thực tế trên, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* giống hoa lan hồ điệp tím M8 nhằm góp phần phát triển giống hoa lan hồ điệp mới này ra sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Thực vật: Sử dụng phát hoa chứa mầm ngủ được đánh giá sơ bộ sạch bệnh của giống hoa lan hồ điệp lai M8, là giống lai giữa ♀HĐ13 (hoa màu tím hồng, môi đỏ) x ♂HĐ05 (hoa màu vàng, môi đỏ) do Viện Nghiên cứu Rau quả chọn, tạo và nuôi trồng.

- Hóa chất và môi trường nuôi cấy: Benzylaminopurine (BAP), Indole-3 Butyric Acid (IBA), Naphthalene Acetic Acid (NAA), than hoạt tính và các hóa chất cần thiết khác trong nuôi cấy *in vitro*. Môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút ở áp suất 1atm.

- Dung dịch nano bạc với kích thước hạt dao động 15-20 nm được điều chế tại Bộ môn Sinh học, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khử trùng mẫu cấy: Sử dụng phát hoa mang mầm ngủ, không có dấu hiệu sâu bệnh. Tiến hành cắt đoạn phát hoa có chứa mầm ngủ và sử dụng khăn mềm thấm cồn 70°C lau nhẹ bề mặt phát hoa tránh làm xước gây tổn thương mầm ngủ. Tiếp theo cắt phát hoa thành các đoạn ngắn có chiều dài 1,5 - 2 cm, mỗi đoạn chứa một mầm ngủ. Tiến hành khử trùng mẫu bằng NaClO 10% trong 15 phút và nano bạc nồng độ khác nhau (100, 125, 150, 175 ppm) trong 45 phút. Môi trường nuôi cấy mẫu 2 g.L⁻¹

Hyponex (6,5-6-19) bổ sung 2 mg.L⁻¹ BAP. Theo dõi các chỉ tiêu về tỉ lệ mẫu sạch và tỉ lệ bật chồi sau 3 tuần vào mẫu.

Nhân nhanh chồi *in vitro*: Sử dụng các chồi *in vitro* có kích thước đồng đều cắt chuyển sang môi trường 2 g.L⁻¹ Hyponex có bổ sung 100 ml.L⁻¹ nước dừa, 100 g.L⁻¹ chuối tiêu, 50 g.L⁻¹ khoai tây, 30 g.L⁻¹ đường saccharose (Nguyễn Văn Tiến và cộng sự, 2018). Các công thức có bổ sung riêng lẻ chất kích thích sinh trưởng BAP nồng độ khác nhau từ 0,0 - 3,0 mg.L⁻¹. Hoặc kết hợp BAP tốt nhất với IBA có nồng độ từ 0,0 - 0,7 mg.L⁻¹ để đánh giá khả năng nhân nhanh chồi. Các chỉ tiêu theo dõi (hệ số nhân chồi, chiều cao cụm chồi và đường kính chồi) và đặc điểm chồi (nhỏ, trung bình, mập) được theo dõi sau 8 tuần nuôi cấy.

Tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh: Sử dụng các chồi có kích thước đồng đều 3-3,5 cm nuôi cấy trên môi trường 2 g.L⁻¹ Hyponex có bổ sung, 100 g.L⁻¹ cà rốt, 2 g.L⁻¹ than hoạt tính, 30 g.L⁻¹ đường saccharose (Nguyễn Văn Tiến và cộng sự, 2018) và các công thức có bổ sung riêng lẻ chất kích thích sinh trưởng α -NAA nồng độ khác nhau từ 0,0 - 0,9 mg.L⁻¹. Các chỉ tiêu theo dõi (tỉ lệ chồi tạo rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ và chiều cao chồi) được theo dõi sau 10 tuần nuôi cấy.

Giai đoạn đưa ra vườn ươm: cây *in vitro* có 4-5 lá, lá dài 4-5 cm, trọng lượng cây con > 6 g/cây, có 3-5 rễ. Tiến hành các phương pháp đóng gói, bảo quản khác nhau (không đóng gói; để cây nguyên trong chai và đóng vào thùng carton; lấy cây ra khỏi chai, không rửa cây, xếp vào hộp nhựa sau đó đóng vào thùng carton; lấy cây ra khỏi chai, rửa sạch môi trường, xếp cây vào hộp

nhựa sau đó đóng vào thùng carton) để đưa cây ra vườn ươm. Khi ra ngôi tiến hành phun ẩm ở các thời gian khác nhau. Các chỉ tiêu theo dõi (tỉ lệ sống, tỉ lệ xuất vườn, số lá/cây, chiều dài lá, chiều rộng lá và chất lượng cây giống) được theo dõi sau 6 tháng nuôi trồng.

Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ: 25 ± 2°C; độ ẩm phòng nuôi: 60-70%; quang chu kỳ tự động: 12h chiếu sáng/ngày; cường độ chiếu sáng: 1.000-3.000 lux.

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 30 mẫu/công thức.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo các tham số thống kê, sự khác biệt giữa giá trị trung bình được kiểm tra bằng phương pháp giới hạn sai khác nhỏ nhất LSD_{0,05} bằng chương trình Excel, IRRISTAT 4.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hóa chất khử trùng đến tỉ lệ mẫu sạch và khả năng bật chồi

Việc sử dụng các hóa chất khử trùng như HgCl₂ và NaClO gây ô nhiễm môi trường và gây độc cho người và các sinh vật khác [5]. Hiện nay, các nhà khoa học đã có nhiều nghiên cứu và ứng dụng vật liệu nano bạc vào thực tế. Nano bạc được cho là an toàn và có thể sử dụng cho thực vật cũng như con người. Chế phẩm nano cũng được sử dụng hiệu quả trong việc khử trùng mẫu nuôi cấy mô tế bào cây trầu tiên [6], cây mía [7] và lan hồ điệp vàng [8]. Nghiên cứu này sử dụng nano bạc ở các nồng độ khác nhau trong 45 phút để khử trùng mẫu trên cây hoa hồ điệp M8. Kết quả thí nghiệm sau 3 tuần nuôi cấy được tổng hợp ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của hóa chất khử trùng đến tỉ lệ mẫu sạch và khả năng bật chồi

Công thức	Tỉ lệ mẫu sạch (%)	Tỉ lệ mẫu sạch và bật chồi (%)
CT1: NaClO nồng độ 10% trong 15 phút	83,33	75,56
CT2: Nano bạc 100 ppm/l trong 45 phút	80,00	78,89
CT3: Nano bạc 125 ppm/l trong 45 phút	86,67	84,44
CT4: Nano bạc 150 ppm/l trong 45 phút	87,78	78,89
CT5: Nano bạc 175 ppm/l trong 45 phút	90,00	76,67

Kết quả thu được cho thấy, khi sử dụng nano bạc ở các nồng độ khác nhau khử trùng mẫu phát hoa chứa mầm ngủ giống hồ điệp M8 cho tỉ lệ mẫu sạch và bật chồi sạch, bật chồi cao từ 80,00 – 90,00%. Tuy nhiên, các công thức có nồng độ nano bạc khác nhau cho tỉ lệ mẫu sạch và bật chồi khác nhau dao động từ 76,67 - 84,44% và cao hơn so với đối chứng (75,56%). Tỉ lệ mẫu sạch và bật chồi cao nhất ở công thức 3 với nồng độ nano bạc là 125 ppm.

Từ kết quả trên, nhóm tác giả lựa chọn nồng độ nano bạc 125 ppm để khử trùng mầm ngủ phát hoa hồ điệp M8. Kết quả có sự tương đồng

với nghiên cứu của tác giả Đồng Huy Giới và cộng sự, 2019 [8] khi khử trùng mẫu giống lan hồ điệp vàng với nồng độ 125 ppm trong 45 phút.

3.2. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng BAP đến khả năng nhân nhanh và chất lượng chồi

Nhằm xác định và đánh giá nồng độ chất kích thích sinh trưởng BAP phù hợp trong giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro*, thí nghiệm này sử dụng môi trường có bổ sung BAP nồng độ khác nhau. Sau 8 tuần nuôi cấy kết quả thu được ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng BAP đến khả năng nhân nhanh và chất lượng chồi

Công thức	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao cụm chồi (cm)	Đường kính chồi (mm)	Đặc điểm chồi
CT1: 0 mg/l	1,08 ^e	2,84 ^a	2,30 ^c	Chồi nhỏ
CT2: 1,0 mg/l BAP	2,25 ^d	2,55 ^b	2,51 ^b	Chồi trung bình
CT3: 1,5 mg/l BAP	3,30 ^c	2,34 ^c	2,43 ^b	Chồi trung bình
CT4: 2,0 mg/l BAP	3,57 ^b	2,39 ^{bc}	2,53 ^b	Chồi trung bình
CT5: 2,5 mg/l BAP	3,87 ^a	2,72 ^a	2,75 ^a	Chồi mập
CT6: 3,0mg/l BAP	3,53 ^b	2,41 ^{bc}	2,23 ^c	Chồi nhỏ
CV%	2,2	0,6	2,4	
LSD _{0,05}	0,12	0,29	0,11	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang cùng chữ cái là thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê và ngược lại theo tiêu chuẩn LSD ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy, tất cả các công thức có bổ sung chất kích thích sinh trưởng BAP đều cho kết quả hệ số nhân chồi cao hơn so với đối chứng không bổ sung BAP, trong đó công thức CT5 (bổ sung 2,5 mg.L⁻¹ BAP) đạt hệ số nhân chồi cao nhất (3,87 chồi/mẫu), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại. Ở chỉ tiêu chiều cao cụm chồi, công thức CT1 (đối chứng) và công thức CT5 đạt kết quả tốt nhất. Đối với chỉ tiêu đường kính chồi, đa phần các công thức có bổ sung BAP đều cho kết quả tốt hơn so với đối chứng, công thức cho đường kính cụm chồi lớn nhất là công thức CT5.

Như vậy, trong thí nghiệm này, môi trường có bổ sung 2,5 mg.L⁻¹ BAP là thích hợp nhất cho nhân nhanh chồi lan hồ điệp M8 với hệ số nhân chồi đạt 3,87 chồi/mẫu, chiều cao chồi và đường kính chồi lần lượt đạt 2,72 cm và 2,75 mm, chồi mập, xanh.

3.3. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng nhân nhanh và chất lượng cụm chồi.

Khi nghiên cứu giá ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng IBA đến khả năng nhân nhanh, nồng độ BAP tốt nhất cho sự nhân chồi là 2,5 mg.L⁻¹ được sử dụng kết hợp với IBA ở các nồng độ 0,1-0,7 mg.L⁻¹. Kết quả sau 8 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP IBA đến khả năng nhân nhanh và chất lượng cụm chồi

Công thức	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao cụm chồi (cm)	Đường kính chồi (mm)
CT1: 0 mg/l IBA	3,86 ^b	2,73 ^b	2,74 ^a
CT2: 0,1 mg/l IBA	3,83 ^b	2,72 ^b	2,54 ^b
CT3: 0,3 mg/l IBA	4,41 ^a	2,86 ^a	2,82 ^a
CT4: 0,5 mg/l IBA	3,66 ^c	2,55 ^c	2,11 ^c
CT5: 0,7 mg/l IBA	3,30 ^d	2,35 ^d	1,9 ^d
CV%	1,6	1,1	4,2
LSD _{0,05}	0,11	0,12	0,19

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang cùng chữ cái là thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê và ngược lại theo tiêu chuẩn LSD ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, môi trường có bổ sung IBA có ảnh hưởng đến sự nhân nhanh chồi *in vitro* của lan Hồ điệp M8 so với môi trường không bổ sung IBA. Trong các công thức có bổ sung IBA, CT5 (bổ sung 0,7 mg/l IBA) cho kết quả thấp nhất ở cả ba chỉ tiêu theo dõi, công thức bổ sung 0,3 mg.L⁻¹ cho kết quả tốt nhất (Hình 1B) với hệ số nhân chồi 4,41 chồi/mẫu, chiều cao cụm chồi đạt 2,86 cm và đường kính chồi là 2,82 mm, sai khác có ý nghĩa thống kê với tất cả các công thức còn lại.

Như vậy, môi trường có bổ sung 2,5 mg.L⁻¹

BAP và 0,3 mg.L⁻¹ IBA là môi trường thích hợp nhất cho nhân nhanh chồi lan hồ điệp M8.

3.4. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng α -NAA đến khả năng ra rễ và chất lượng cây *in vitro*

Trong giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh để tìm được nồng độ α -NAA thích hợp cho sự phát triển và hình thành rễ, tiến hành thí nghiệm với các công thức có bổ sung riêng lẻ chất kích thích sinh trưởng α -NAA nồng độ khác nhau từ 0,0 - 0,9 mg.L⁻¹. Kết quả được ghi nhận sau 10 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng α -NAA đến khả năng ra rễ và chất lượng cây *in vitro*

Công thức	Tỉ lệ chồi tạo rễ (%)	Số rễ /chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm cây
CT1: 0 mg/l α -NAA	46,7	1,53 ^d	2,15 ^d	2,85 ^e	Cây yếu, nhỏ
CT2: 0,3 mg/l α -NAA	83,3	2,20 ^c	2,82 ^c	3,13 ^d	Cây yếu, nhỏ
CT3: 0,5 mg/l α -NAA	100	3,83 ^b	3,46 ^b	4,37 ^b	Cây khỏe, mập
CT4: 0,7 mg/l α -NAA	100	4,59 ^a	4,07 ^a	4,85 ^a	Cây khỏe, mập
CT5: 0,9 mg/l α -NAA	100	4,32 ^{ab}	3,46 ^b	4,15 ^c	Cây khỏe, mập
CV%		1,0	2,5	1,5	
LSD _{0,05}		0,59	0,14	0,11	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang cùng chữ cái là thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê và ngược lại theo tiêu chuẩn LSD ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả thu được ở Bảng 4 cho thấy, bổ sung chất kích thích sinh trưởng α -NAA vào môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng tích cực đến sự hình thành rễ và sự phát triển của chồi. Ở các công thức bổ sung α -NAA, tất cả các chỉ tiêu theo dõi (tỉ lệ chồi tạo rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ, chiều cao chồi) đều tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng, trong đó

công thức CT4 (bổ sung 0,7 mg/l α -NAA) cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ chồi tạo rễ đạt 100%, số rễ/cây đạt 4,59 rễ, chiều dài trung bình rễ đạt 4,07 cm, chiều cao chồi đạt 4,85 cm, cây khỏe và mập (Hình 1C). Như vậy, bổ sung α -NAA 0,7 mg.L⁻¹ vào môi trường nuôi cấy là phù nhất cho giai đoạn ra rễ tạo cây hoàn chỉnh giống lan hồ điệp M8.

3.5. Ảnh hưởng của một số phương pháp đóng gói, bảo quản đến khả năng sinh trưởng và chất lượng cây giống

Cây *in vitro* đủ tiêu chuẩn ra ngôi được đóng gói theo các cách khác nhau để vận chuyển ra vườn ươm. Kết quả thí nghiệm sau 6 tháng theo dõi được thể hiện ở Bảng 5.

Kết quả thu được cho thấy, phương pháp

đóng gói, bảo quản ở CT2 và CT3 có chỉ tiêu về số lá, rộng lá và chất lượng cây tương đương với đối chứng, các chỉ tiêu còn lại đều thấp hơn đối chứng, tuy nhiên sự sai khác không lớn. Vì vậy, khi cần vận chuyển cây đến các vườn ươm khác nhau, có thể lựa chọn phương pháp đóng gói theo công thức 2 hoặc công thức 3.

Bảng 5. Ảnh hưởng của một số phương pháp đóng gói, bảo quản đến khả năng sinh trưởng và chất lượng cây giống

Công thức	TL sống (%)	TL xuất vườn (%)	Số lá/cây (lá)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Chất lượng cây
CT1: Không đóng gói, bảo quản (Đ/C)	92,50	90,75	4,33 ^a	11,0 ^a	2,7 ^a	Tốt
CT2: Để cả chai đóng vào thùng carton	89,25	86,25	4,13 ^a	10,4 ^b	2,8 ^a	Tốt
CT3: Không rửa cây, xếp vào hộp nhựa sau đó đóng vào thùng carton	88,00	86,13	4,10 ^a	10,2 ^b	2,7 ^a	Tốt
CT4: Rửa cây, xếp vào hộp nhựa sau đó đóng vào thùng carton	79,50	76,38	3,60 ^b	9,1 ^c	2,3 ^b	Trung bình
CV%			3,6	1,2	3,6	
LSD			0,29	0,25	0,19	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang cùng chữ cái là thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê và ngược lại theo tiêu chuẩn LSD ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

3.6. Ảnh hưởng của biện pháp tưới nước sau ra ngôi đến tỉ lệ sống và khả năng sinh trưởng của cây con

Ấm độ có ảnh hưởng rất lớn đến quá trình ra ngôi cây hồ điệp, đặc biệt là thời điểm phun nước để bổ sung nước cho cây con rất quan

trọng. Ở thí nghiệm này việc bổ sung ẩm ngay sau khi ra ngôi hoặc sau 1-5 ngày sau ra ngôi có ảnh hưởng rất lớn đến tỉ lệ sống và chất lượng cây sau này. Sau 6 tháng theo dõi, kết quả được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của biện pháp tưới nước sau ra ngôi đến tỉ lệ sống và khả năng sinh trưởng của cây con

Công thức	Tỉ lệ sống (%)	Tỉ lệ xuất vườn (%)	Số lá/cây (lá)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)
CT1: Phun ẩm ngay sau khi ra ngôi (Đ/C)	88,33	79,33	3,47 ^c	7,96 ^d	2,62 ^c
CT2: Phun ẩm sau ra ngôi 1 ngày	90,00	82,00	3,71 ^c	8,78 ^c	3,07 ^b
CT3: Phun ẩm sau ra ngôi 2 ngày	90,83	85,67	3,49 ^c	8,70 ^c	3,26 ^b
CT4: Phun ẩm sau ra ngôi 3 ngày	95,83	91,00	4,69 ^a	10,50 ^a	3,90 ^a
CT5: Phun ẩm sau ra ngôi 4 ngày	91,67	76,67	4,24 ^b	9,48 ^b	3,26 ^b
CT6: Phun ẩm sau ra ngôi 5 ngày	92,50	71,67	4,31 ^b	9,60 ^b	3,29 ^b
CV%			3,7	2,8	1,6
LSD _{0,05}			0,26	0,32	0,35

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang cùng chữ cái là thể hiện sự sai khác không có ý nghĩa thống kê và ngược lại theo tiêu chuẩn LSD ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Kết quả thí nghiệm cho thấy: khi bắt đầu phun ẩm ở các thời gian sau ra ngôi khác nhau cho tỉ lệ sống và các chỉ tiêu chất lượng cây giống khác nhau. Phun ẩm ngay sau khi ra ngôi cho tỉ lệ sống thấp nhất là 88,33 % cho thấy khi mới ra ngôi không nên phun ẩm luôn. Có thể do phun ẩm ngay sau ra ngôi khi cây mới đóng bầu có nhiều vết thương cơ giới tạo điều kiện cho các vi sinh vật gây hại phát triển ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cây giống. Phun ẩm sau ra ngôi từ 1 – 5 ngày cho tỉ lệ sống từ 90 – 95,83% và cao hơn đối chứng. Tỉ lệ sống cao nhất ở công thức 4 khi phun ẩm sau ra ngôi 3 ngày. Khi thời gian phun ẩm sau 4, 5 ngày ra ngôi cho tỉ lệ sống giảm so với CT4 là 3 ngày chứng tỏ khi kéo dài việc không phun ẩm cho cây sau ra ngôi gây ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cây giống.

Các chỉ tiêu về số lá trên cây, chiều dài lá, chiều rộng lá có khác nhau giữa các công thức

thí nghiệm. Số lá trên cây dao động từ 3,47 – 4,69 lá, cao nhất ở công thức 3, thấp nhất công thức đối chứng. Các chỉ tiêu chiều dài lá, chiều rộng lá tăng dần từ CT2 đến CT4, cao nhất ở CT4 với chiều dài lá 10,5 cm, chiều rộng lá 3,9 cm.

Sau 6 tháng ra ngôi, tỉ lệ xuất vườn ở các công thức khác nhau cho kết quả khác nhau. Tỉ lệ xuất vườn cao nhất ở CT4, thấp nhất ở CT6. Tỉ lệ xuất vườn tăng từ CT1-CT4 lần lượt 79,33 – 91,00%, đến công thức CT5 và CT6 giảm còn 76,67% và 71,67%. Có thể thấy ở giai đoạn sau ra ngôi cây không được phun ẩm đúng thời điểm gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây.

Như vậy, phun ẩm sau ra ngôi 3 ngày cho kết quả ra ngôi tối ưu với tỉ lệ sống 95,83%, tỉ lệ xuất vườn đạt 91%, số lá trên cây 4,69 lá, chiều dài lá 10,5 cm, chiều rộng lá 3,9 cm.



Hình 1. A: Chồi tái sinh từ mầm ngủ phát hoa; B: Cụm chồi hình thành trên môi trường $2g.L^{-1}$ Hyponex có bổ sung $2,5 mg.L^{-1}$ BAP kết hợp $0,3 mg.L^{-1}$ IBA sau 8 tuần nuôi cấy; C: Cây ra rễ trên môi trường $2,5 mg.L^{-1}$ Hyponex có bổ sung $0,7 mg.L^{-1}$ α -NAA, $2g.L^{-1}$ than hoạt tính; D: Cây ra ngôi bằng giá thể dớn

4. KẾT LUẬN

Nồng độ nano bạc thích hợp để khử trùng mầm ngủ phát hoa giống hồ điệp M8 là 125 ppm trong 45 phút với tỉ lệ mẫu sạch và bật chồi là 84,44%. Môi trường thích hợp để nhân nhanh lan hồ điệp M8 từ phát hoa chứa mầm ngủ là Hyponex bổ sung $2,5 mg.L^{-1}$ BAP và $0,3 mg.L^{-1}$ IBA cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất với hệ số nhân 4,41 chồi, chiều cao chồi 2,86 cm, đường kính chồi đạt 2,82 mm, chồi xanh mập. Môi trường ra rễ lan hồ điệp M8 trong giai đoạn

tạo cây hoàn chỉnh là Hyponex bổ sung $0,7 mg.L^{-1}$ α -NAA cho tỉ lệ ra rễ 100%, số rễ/chồi trung bình 4,59 rễ, chiều dài rễ đạt 4,07 cm, chiều cao cây đạt 4,85 cm, cây khỏe, mập, xanh. Ở giai đoạn ra ngôi, phương pháp đóng gói bảo quản thích hợp để vận chuyển cây *in vitro* đi xa là để nguyên chai đóng vào thùng carton hoặc lấy cây ra khỏi bình nhưng không rửa cây, xếp vào hộp nhựa sau đó đóng vào thùng carton để bảo quản và vận chuyển. Tiến hành phun ẩm sau 3 ngày ra ngôi cho kết quả tối ưu với tỉ lệ

sống đạt 95,83%, tỉ lệ xuất vườn cao 95%, số lá/cây đạt 4,69 lá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Nguyen Van Tien (2023). Current situation of Phalaenopsis research, production and consumption in Vietnam. 2023 TIOS Global Orchid Business Summit Forum, March 4.

[2]. Nguyễn Thị Pha, Trần Thị Xuân Mai, Lê Thị Mai Trang & Nguyễn Thị Liên (2011). Nuôi cấy mầm ngủ phát hoa lan hồ điệp (*Phalaenopsis* sp.). Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ. 20b: 12-20.

[3]. Nguyễn Văn Tiến, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Đinh Thị Dinh, Đặng Văn Đông & Dương Văn Minh (2018). Kết quả nghiên cứu nhân nhanh giống hoa lan hồ điệp HĐ01 bằng phương pháp *in vitro* cải tiến. Kỷ yếu Hội nghị khoa học và công nghệ chuyên ngành Trồng trọt, Bảo vệ thực vật giai đoạn 2013 – 2018. NXB Thanh niên. 245 - 253.

[4]. Nguyễn Đức Tuấn, Phạm Thị Diễm Thi & Lâm Thị Ngọc Thúy (2021). Hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* lan hồ điệp (*Phalaenopsis* sp.) trồng ở Thừa Thiên

Huế. Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. 131(3A): 131–141.

DOI: 10.26459/hueunijard.v131i3A.6342

[5]. Kharrazi M., Nemati H., Tehranifar A., Bagheri A. & Sharifi A. (2011). *In Vitro* Culture of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) Focusing on the Problem of Vitrification. Journal of Biological and Environmental Sciences. 5(13): 1-6.

[6]. Bùi Thị Thanh Phương & Nguyễn Phương Lan (2020). Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu tiên (*Asarum glabrum* Merr.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 62(6): 19-23.

[7]. Đồng Huy Giới & Ngô Thị Ánh (2017). Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano trong nuôi cấy mô cây mía (*Saccharum officinarum* L.). Tạp chí Khoa học - Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 6: 35- 41.

[8]. Đồng Huy Giới & Bùi Thị Thu Hương (2019). Nghiên cứu sử dụng nano bạc trong nhân giống *in vitro* lan hồ điệp vàng (*Phalaenopsis* sp.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 1: 19-24.