

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT
VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**

.....

Hoàng Thị Lan Hương

**NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN VÀ
BIỆN PHÁP NHÂN MỘT SỐ GIỐNG
LAN HỒ ĐIỆP Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM**

Chuyên ngành : Di truyền và Chọn giống cây trồng

Mã số : 62 62 05 01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

Công trình được hoàn thành tại:

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS. TS. Nguyễn Xuân Linh

2. PGS. TS. Lê Huy Hàm

Phản biện 1 : GS.TS. Nguyễn Quang Thạch

Phản biện 2 : GS.TS. Đỗ Năng Vịnh

Phản biện 3 : TS. Dương Hoa Xô

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp

Nhà nước họp tại : **Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam**

Vào hồi : 8 giờ 30 ngày 29 tháng 7 năm 2010

Có thể tìm luận án tại :

- Thư viện Quốc gia Việt Nam

- Thư viện Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Hoàng Thị Lan Hương, Nguyễn Xuân Linh, Phạm Thị Liên (2004), Nghiên cứu quy trình nhân giống lan Hồ điệp Moscow bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*, *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 3, tr. 355-356

Hoàng Thị Lan Hương, Nguyễn Xuân Linh, Nguyễn Thị Kim Lý, Lê Huy Hàm (2008), Kỹ thuật gieo hạt lan Hồ điệp HL3 phục vụ cho công tác chọn tạo giống mới. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. Số 3(8): 43 - 47

Hoàng Thị Lan Hương, Lê Huy Hàm, Nguyễn Xuân Linh, Nguyễn Thị Kim Lý (2008), Nghiên cứu nhân nhanh giống lan Hồ điệp (HL2) từ mô lá bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. Số 3(8): 48 - 51

Hoàng Thị Lan Hương, Nguyễn Thị Kim Lý (2009), Nghiên cứu nhân nhanh giống lan Hồ điệp (HL3) từ chóp rễ, *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 7, tr. 73-76

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Lan Hồ điệp là một trong những loại cây cảnh phổ biến, có giá trị kinh tế cao và được ưa chuộng vào bậc nhất nhì ở hầu hết các nước trên thế giới. Hồ điệp được mệnh danh là Hoàng hậu của các loài phong lan. Trong những năm gần đây, thị trường lan Hồ điệp có sức tiêu thụ lớn hơn bất kỳ một loại hoa nào khác [29] bởi đa dạng về màu sắc, kiểu dáng và vừa có vẻ đẹp quyến rũ vừa có hương thơm kín đáo. Theo số liệu thống kê của USDA (United States Department of Agriculture, 2006), chỉ riêng tại thị trường Mỹ năm 2004 hơn 35,7 triệu cây lan Hồ điệp được tiêu thụ (tương đương 102 triệu USD).

Tuy nhiên, sản xuất lan Hồ điệp ở Việt Nam còn nhiều hạn chế về mở rộng diện tích canh tác, ứng dụng kỹ thuật tiên bộ và vì vậy năng suất, chất lượng hoa chưa thực sự đáp ứng được yêu cầu thị trường. Việc mở rộng quy mô sản xuất cũng như đầu tư phát triển lan Hồ điệp còn gặp nhiều khó khăn do chưa có bộ giống hoa chất lượng cao, thích hợp với từng điều kiện sinh thái, đặc biệt là cho các vùng chuyên canh hoa. Hơn nữa, các biện pháp kỹ thuật trồng lan cũng chưa thật phù hợp để áp dụng rộng rãi, đồng bộ từ các khâu trồng, chăm sóc, sử dụng phân bón, tưới tiêu đến đóng gói, vận chuyển...

Từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Nghiên cứu tuyển chọn và biện pháp kỹ thuật nhân một số giống lan Hồ điệp ở miền Bắc Việt Nam”** nhằm phát triển lan Hồ điệp tiêu thụ nội địa và góp phần xuất khẩu hoa trong tương lai.

2. Mục đích nghiên cứu

Nghiên cứu tuyển chọn và biện pháp kỹ thuật nhân giống lan Hồ điệp cho năng suất cao, chất lượng tốt, màu sắc đẹp, được thị trường chấp nhận nhằm đáp ứng yêu cầu của sản xuất và người tiêu dùng ở điều kiện miền Bắc Việt Nam.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

- Kết quả nghiên cứu của đề tài sẽ cung cấp các dẫn liệu khoa học có giá trị về đặc điểm của một số giống lan Hồ điệp trong điều kiện sinh thái Việt Nam, về nhân nhanh *in vitro* và về kỹ thuật nuôi trồng lan Hồ điệp trong sản xuất.

- Kết quả nghiên cứu có thể làm tài liệu tham khảo khoa học về lan Hồ điệp cho việc nghiên cứu và sản xuất ứng dụng.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

- Cung cấp tập đoàn công tác giống lan Hồ điệp cho chọn tạo giống hoa lan ở Việt Nam

- Tuyển chọn được các giống lan Hồ điệp có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt, chất lượng cao, phù hợp với điều kiện sinh thái miền Bắc Việt Nam.

- Hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* và đề xuất giá thể, dinh dưỡng thích hợp để sản xuất lan Hồ điệp thương phẩm.

4. Đối tượng, phạm vi, địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* được nhập nội từ Hà Lan, Thái Lan và các giống lan thuộc chi *Doritis* của Việt Nam.

- Phạm vi nghiên cứu: Trong khuôn khổ luận án, nghiên cứu tuyển chọn giống tiến hành trong tập đoàn lan Hồ điệp đã thu thập. Nghiên cứu nhân giống chủ yếu nghiên cứu bằng phương pháp *in vitro*. Nghiên cứu biện pháp kỹ thuật sản xuất chủ yếu nghiên cứu ảnh hưởng của dinh dưỡng và giá thể trồng đối với các giống được tuyển chọn.

- Địa điểm nghiên cứu: Các thí nghiệm được tiến hành tại Viện Di truyền Nông nghiệp và Trại thực nghiệm Văn Giang, Hưng Yên.

- Thời gian nghiên cứu: 2004 - 2008.

5. Những đóng góp mới của đề tài

- Công trình đã thu thập 10 giống lan Hồ điệp có nguồn gốc Hà Lan và Thái Lan, 6 giống lan Hồ điệp địa phương của Việt Nam để chọn lọc và lai tạo.

- Giới thiệu ra sản xuất 3 giống lan Hồ điệp nhập nội từ Hà Lan có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt ở điều kiện miền Bắc Việt Nam.

- Công trình đã sử dụng mẫu lá và chóp rễ để tạo protocom trong nhân nhanh vô tính

- Hoàn thiện quy trình nhân sản xuất 2 giống lan mới HL2 và HL3

6. Cấu trúc của luận án

Luận án dài 161 trang, gồm Mở đầu: 4 trang (tr. 1-4), Chương 1. Tổng quan tài liệu: 43 trang (tr. 5-47); Chương 2. Vật liệu, nội dung và phương pháp nghiên cứu: 16 trang (tr. 48-63); Chương 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận: 80 trang (tr. 64-143); Kết luận và đề nghị: 3 trang (tr. 144-146); Tài liệu tham khảo: 13 trang (tr. 148-161). Luận án có 59 bảng số liệu, 15 hình minh họa; tham khảo 140 tài liệu (61 tài liệu tiếng Việt và 79 tài liệu tiếng Anh); có 3 công trình công bố liên quan đến luận án.

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Nguồn gốc, vị trí phân loại của cây hoa lan

Trong hệ thống phân loại thực vật, cây hoa lan được xếp vào lớp 1 lá mầm *Monocotyledoneae*, thuộc ngành ngọc lan - thực vật hạt kín.

Mangoliophyta, phân lớp hành *Lilidae*, bộ lan *Orchidales* và được chia thành 6 họ phụ là *Apostasioideae*, *Cypripedioideae*, *Neottioideae*, *Orchidioideae*, *Epidendroideae*, *Vandoideae* [1], [2], [3], [4], [13], [16]. Các hệ thống nghiên cứu gần đây cho biết, họ lan là họ có số lượng loài lớn đứng thứ hai sau cúc, khoảng 26.000 loài, 800 chi, chiếm 10% số lượng các loài hoa phân bố từ 68⁰ vĩ Bắc đến 56⁰ vĩ Nam. Qua kết quả chọn lọc và lai tạo, hàng năm số lượng giống lan tăng lên 1000 giống/năm [33]. Thường những cây lan bụi sống ở mặt đất được gọi là địa lan; bám vào thân cây, cành cây được gọi là phong lan. Họ lan phân bố nhiều nhất ở hai vùng Nhiệt đới, có 25 chi và 680 loài. Ở vùng Ôn đới số lượng loài lan giảm một cách nhanh chóng và rõ rệt. Bắc bán cầu có 75 chi và 900 loài, Nam bán cầu có khoảng 40 chi và 500 loài [16].

1.2. Một số đặc điểm của chi lan Hồ điệp

Lan Hồ điệp có tên từ chữ *Gree Phalaina* là bướm và *Opsis* là sự giống nhau, còn tên khoa học là *Phalaenopsis*, là loài lan có hoa lớn, đẹp và thường bền. Chi *Phalaenopsis* gồm 21 loài, là cây ưa bóng, mọc ở độ cao 200 - 400 m, có khí hậu ẩm và nhiệt độ biến động trong

khoảng 20 - 35⁰C [47], thường có ở bán đảo Malayxia, Indônêxia, Phillipin, các tỉnh phía đông Ấn Độ và Châu Úc.

Lan Hồ điệp có nguồn gốc ở Đông Nam Á và Châu Úc, được khám phá từ năm 1750, đầu tiên được Rumphius xác định với tên gọi là *Angraccum album*. Năm 1753, Linnê đổi lại là *Epidendrum amabile*, Blume – một nhà thực vật Hà Lan – định danh một lần nữa là *Phalaenopsis amabilis* Bl, thuộc họ phụ *Vandoideae*, tông *Vandaeae* và tên này được dùng cho đến ngày nay [33].

Hiện nay, có nhiều loài lan khác được lai với *Phalaenopsis* và lai ngay trong cùng loài, đã tạo ra được hơn 40 nghìn giống lai [21]. Dựa vào đặc điểm màu sắc hoa có thể chia thành các nhóm sau [47]:

- Nhóm hoa có màu trắng: Hoa màu trắng với môi có những đốm mờ hay điểm nhỏ.
 - Nhóm hoa có màu nửa trắng: Cánh hoa trắng tuyền, như nhóm hoa màu trắng, nhưng môi có màu vàng, cam, đỏ hay tím.
 - Nhóm hoa có màu hồng: Hoa có màu sắc thay đổi từ màu hồng nhạt đến tím với môi có màu sẫm.
 - Nhóm hoa có màu vàng: Hoa có màu xanh vàng đến màu vàng kim loại.
 - Nhóm hoa có sọc: Hoa có màu trắng, tím hay vàng và có sọc mờ hay đậm, từ màu hồng đến màu tím hay nâu, có sọc ở toàn hoa hay rìa hoa.
 - Nhóm hoa có chấm tím: Hoa có chấm tím thay đổi theo giống.
 - Nhóm hoa có màu mới: Đây là nhóm mới được lai từ bố mẹ hơn là những giống lai được tuyển chọn. Những bố mẹ nổi bật trong nhóm này là: *P. amboinensis*; *P. fuscata*; *P. gigantea*...
- Theo Trần Duy Quý và cs [39] lan Hồ điệp có thể chia thành 2 nhóm chính:
- Nhóm *Euphalaenopsis*: Hoa to phẳng, cánh hoa dài thường có màu trắng, đỏ hồng.
 - Nhóm *Stauroglottis*: Hoa nhỏ hơn, có hình ngôi sao, số hoa trên một cành ít hơn, hoa có nhiều màu kết hợp nâu, vàng, hoa cà...

Theo Phạm Hoàng Hộ (2000) [14], Việt Nam có 7 loài *Phalaenopsis* là *P. amabilis* (L); *P. cornu-cervi*; *P. lobbi*; *P. gibbosa*; *P. mannii* Reichb. f; *P. petelotii* Mans. f; *P. fuscata* Reichb. f.

1.3. Tình hình nghiên cứu hoa lan trên thế giới và ở Việt Nam

Cây hoa lan được biết đến từ năm 2800 TCN, trải qua lịch sử phát triển lâu dài, cho đến nay ở nhiều quốc gia trên thế giới cũng như Việt Nam đã lai tạo, nhân nhanh và sản xuất nhiều giống lan mới đem lại giá trị kinh tế cao. Vì vậy, diện tích trồng lan đang ngày được mở rộng. Đã có nhiều công trình nghiên cứu về lĩnh vực nuôi trồng và chăm sóc hoa lan. Nhiều kết luận đã đi vào thực tiễn và được áp dụng rộng rãi. Tuy nhiên, để cây lan phát triển mạnh hơn nữa và đứng vững trên thị trường cần có những nghiên cứu sâu hơn về kỹ thuật nhân giống, kỹ thuật trồng, chăm sóc... nhằm tìm ra những quy trình cụ thể cho từng loài lan, phù hợp với nhu cầu sản xuất nhằm tăng thu nhập cho người trồng lan và hướng tới xuất khẩu trong tương lai.

Chương 2: VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Giống lan Hồ điệp: Gồm 10 giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* được nhập nội từ Hà Lan, Thái Lan và 6 giống lan thuộc chi *Doritis* của Việt Nam

Giống HL1 - HL6 và HT7 - HT10 là vật liệu cho nghiên cứu tuyển chọn.

Giống HL2 và HL3 là vật liệu cho nghiên cứu trong phòng và ngoài đồng ruộng.

Giống HL1 - HL6; HT7 - HT10 và HD11 - HD16 là vật liệu cho nghiên cứu lai tạo giống mới

2.1.2. Dinh dưỡng: Sử dụng 2 loại dinh dưỡng là phân bón lá Grow more (Gm) và N, P, K tự phối hợp (TC) theo các tỷ lệ khác nhau.

2.1.3. Giá thể: Rong biển, xơ dừa, than hoa đã qua xử lý. Rong biển có nguồn gốc từ Đài Loan. Xơ dừa, than hoa sản xuất tại Việt Nam.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu tuyển chọn một số giống lan Hồ điệp có triển vọng

2.2.2. Nghiên cứu nhân các giống triển vọng bằng phương pháp *in vitro*

2.2.2.1. Tạo nguồn vật liệu khởi đầu

2.2.2.2. Nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp kỹ thuật lên sinh trưởng, phát triển một số giống lan Hồ điệp có triển vọng

2.2.4. Nghiên cứu khả năng lai tạo của các giống lan

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thu thập và đánh giá nguồn gen lan Hồ điệp thực hiện theo IPGRI (2001) [74], [108], [124] và theo giáo trình chọn giống cây trồng (1997) [28].

- Thí nghiệm đánh giá các đặc tính nông sinh học của lan Hồ điệp đã thu thập theo phương pháp đánh giá không nhắc lại.

- Sử dụng giáo trình của Nguyễn Thiện Tịch và các cộng sự (1987) [46], Nguyễn Văn Uyển (1993) [53], Bhojwani S.S and Razzdan M.K (1983) [67] cho thí nghiệm nhân giống bằng phương pháp *in vitro*

- Sử dụng giáo trình của Vũ Triệu Mân, Lê Lương Tề (1998) [31], Nguyễn Minh Trực (1996) [51] cho theo dõi thành phần bệnh hại

- Đánh giá sự đa dạng di truyền bằng phương pháp đánh dấu phân tử RAPD - PCR.

- Tách chiết DNA lan Hồ điệp theo CTAB biến đổi theo Qiang Xu và cs (2004).

- Phân nhóm nguồn vật liệu theo mô hình thống kê sinh học, bằng chương trình NTSYS pc 4.0 [124].

- Số liệu được xử lý theo chương trình IRRISTAT.

2.4. Điều kiện thí nghiệm

- Các thí nghiệm đánh giá, nghiên cứu ảnh hưởng của các biện pháp kỹ thuật đến sinh trưởng phát triển của một số giống lan Hồ điệp được thực hiện trong điều kiện nhà nuôi trồng lan của trung tâm Hoa Cây Cảnh, Viện Di Truyền Nông Nghiệp và trại thực nghiệm hoa cây cảnh Văn Giang, Hưng Yên.

- Các thí nghiệm nuôi cấy mô được tiến hành trong điều kiện nhân tạo, có nhiệt độ $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$, ẩm độ 70%, dưới ánh sáng đèn neon với cường độ ánh sáng từ 2.400 - 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu tuyển chọn một số giống lan Hồ điệp có triển vọng

Qua kết quả nghiên cứu và so sánh với giống đối chứng (ĐC) đã chọn ra được 3 giống có đặc điểm sinh trưởng, phát triển phù hợp với điều kiện canh tác ở vùng Hà Nội và lân cận, hoa đẹp, khả năng ra hoa ở lần thứ nhất cao, chịu sâu bệnh tốt, ổn định với môi trường, được thị trường chấp nhận là HL2 (*Phalaenopsis Anthura* Moscow 2), HL3 (*Phalaenopsis Anthura* Stockhon) và HL5 (*Phalaenopsis Anthura* Moscow 1). Kết quả được ghi nhận ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Đặc điểm chính của 3 giống lan Hồ điệp được chọn lọc và giống đối chứng

Giống	Số lá	Rộng lá (cm)	Dài lá (cm)	Chiều dài cành hoa (cm)	Số hoa/ cành hoa	Tháng nở hoa	Độ bền của hoa (ngày)	Màu sắc hoa
ĐC	5,0	5,9	16,9	41,2	6,1	2 - 3	62,9	Hoa trắng, môi vàng
HL2	4,6	6,5	17,0	42,7	6,3	2 - 3	62,7	Hoa trắng hồng, sọc tím, cánh môi đỏ thẫm
HL3	5,6	5,4	17,5	44,3	6,9	2 - 3	79,5	Hoa trắng, môi đỏ thẫm
HL5	4,8	6,1	20,8	48,8	6,3	3	72,7	Hoa trắng, môi vàng

3.2. Nghiên cứu biện pháp nhân giống bằng phương pháp *in vitro*

3.2.1. Tạo nguồn vật liệu khởi đầu từ cành hoa

Nguồn mẫu ban đầu để tạo nguyên liệu vô khuẩn trong ống nghiệm là mắt ngủ cành hoa của 2 giống HL2 và HL3. Các mẫu được khử trùng bằng H_2O_2 ở các nồng độ và thời gian khác nhau. Sau khi khử trùng, các mẫu được cấy vào môi trường Vaccine and Went (VW) cơ bản.

Bảng 3.15. Kết quả phương pháp khử trùng mẫu từ cành hoa*(Sau 4 tuần)*

Giống	Nồng độ H ₂ O ₂	Thời gian khử trùng	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống (%)
HL2	10%	15 phút	50,0 ^a	10,0 ^{bc}	40,0 ^c
		20 phút	40,0 ^b	6,6 ^c	53,3 ^b
		25 phút	26,6 ^{cd}	13,3 ^b	60,0 ^b
	15%	15 phút	30,0 ^c	10,0 ^{bc}	60,0 ^b
		20 phút	6,6 ^c	10,0 ^{bc}	83,3 ^a
		25 phút	3,3 ^c	23,3 ^a	73,3 ^a
CV (%)			20,9	24,4	20,9
LSD _{0,05} (A)			5,53	2,92	5,53
LSD _{0,05} (B)			6,77	3,57	6,77
LSD _{0,05} (AB)			9,58	5,05	9,58
HL3	10%	15 phút	61,1 ^a	8,9 ^c	30,0 ^c
		20 phút	52,2 ^b	12,2 ^{bc}	35,6 ^{cd}
		25 phút	20,0 ^d	13,4 ^{bc}	66,6 ^{ab}
	15%	15 phút	31,1 ^c	14,5 ^{bc}	54,4 ^{bc}
		20 phút	4,4 ^e	17,8 ^b	77,8 ^a
		25 phút	3,3 ^f	27,8 ^a	68,9 ^{ab}
CV (%)			16,4	24,0	21,3
LSD _{0,05} (A)			4,77	3,86	11,66
LSD _{0,05} (B)			5,84	4,73	14,28
LSD _{0,05} (AB)			8,26	6,70	20,20

A: Nồng độ B: Thời gian khử trùng

Bảng 3.15 cho thấy, kết quả khử trùng ở cả 2 giống tương tự nhau. Khi khử trùng bằng H₂O₂ ở nồng độ 10%, tỷ lệ mẫu sống tăng theo tỷ lệ thuận với thời gian khử trùng và ngược lại tỷ lệ mẫu nhiễm giảm đi. Tỷ lệ mẫu sống đạt cao nhất ở thời gian 25 phút. Ở nồng độ 20%, tỷ lệ mẫu sống tăng lên đạt cao nhất ở thời gian 20 phút (83,3% đối với giống HL2 và 77,8% đối với giống HL3) và giảm xuống khi tăng thời gian lên 25 phút

Khử ở mức 15% H₂O₂ trong thời gian 20 phút là tốt nhất.

3.2.2. Tạo và nhân nhanh protocorm

3.2.2.1. Nghiên cứu tạo protocorm từ lá

Sau 8 tuần, các mắt ngủ của cành hoa hình thành nên cây con. Cắt lá của các cây con này thành các mẫu lá có kích thước khoảng 1 cm² vào môi trường VW cơ bản có bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau.

**Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp cytokinin lên quá trình nhân nhanh protocorm từ lá*

Bảng 3.22. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và TDZ lên sự hình thành protocorm từ lá (Sau 12 tuần)

Giống	Nồng độ của các chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)	Tỷ lệ tạo protocorm (%)	Hệ số nhân (lần)
HL2	BAP + TDZ 2,0 +0,0	33,3 ^c	6,2 ^{ef} ± 1,34
	2,0 +0,5	42,2 ^b	9,9 ^c ± 1,82
	2,0 +1,0	77,8 ^a	17,7 ^a ± 2,57
	2,0 +1,5	27,8 ^d	7,7 ^d ± 2,22
	2,0 +2,0	Tạo callus	0 ^h
HL3	BAP + TDZ 2,0 +0,0	26,6 ^d	4,4 ^g ± 1,37
	2,0 +0,5	39,0 ^{bc}	7,1 ^{de} ± 1,86
	2,0 +1,0	72,1 ^a	15,2 ^b ± 1,97
	2,0 +1,5	31,3 ^{cd}	5,3 ^{fg} ± 1,32
	2,0 +2,0	Tạo callus	0 ^h
CV (%)		14,4	11,5
LSD _{0,05} (A)		3,88	0,64
LSD _{0,05} (B)		6,14	1,02
LSD _{0,05} (AB)		8,63	1,44

A: Giống B: Nồng độ

Thidiazuron (TDZ) là một loại cytokinin có hiệu quả lớn trong nuôi cấy *in vitro*, thúc đẩy sự phân chia tế bào. TDZ đã được sử dụng trong rất nhiều các nghiên cứu nhằm mục đích tạo callus và protocorm như ở chuối [66], dưa hấu [77], violet [133], lan Vũ nữ [136] ... Theo Chin Yi Lu (1993) [76], ở một số loại cây trồng, sự kết hợp giữa BAP và TDZ cho hiệu quả cao hơn so với tác động riêng rẽ. Vì vậy, đề tài đã nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp cytokinin để tìm ra môi trường thích hợp cho quá trình nhân nhanh protocorm từ lá và chóp rễ.

Bảng 3.22 cho thấy mẫu được cấy trong môi trường kết hợp giữa BAP và TDZ có ảnh hưởng rất tích cực lên sự hình thành protocorm từ lá. Tỷ lệ tạo protocorm và hệ số nhân tăng lên rõ rệt so với môi trường chỉ có BAP. Khi tăng nồng độ TDZ lên (0,5; 1,0 mg/l) thì tỷ lệ tạo protocorm và hệ số nhân tăng theo và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/l đối với cả 2 giống,

giống HL2 là 77,8% và 17,7 lần, giống HL3 là 72,1% và 15,2 lần. Tuy nhiên ở nồng độ cao 1,5 mg/l thì tỷ lệ tạo protocorm và hệ số nhân giảm xuống, còn ở nồng độ 2,0 mg/l mẫu tạo callus.

Như vậy, môi trường thích hợp nhất cho sự nhân nhanh protocorm từ lá cho 2 giống là: VW + 2,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l TDZ.

Tại môi trường thích hợp, protocorm được tạo thành trên toàn bộ mẫu lá. Kết quả này khác với một số nghiên cứu nhân nhanh lan trước đây, protocorm chỉ tạo thành tại vết cắt của mẫu lá như nghiên cứu ở *Cattleya* [74], *Vanda coerulea* [117], *Neofinetia falcata*, *Satyrium nepalense*, *Vanda crisfata* và *Vanda testacea* [137].

3.2.2.2. Nghiên cứu tạo protocorm từ chóp rễ

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và TDZ lên tạo protocorm từ chóp rễ - giống HL2 (Sau 8 tuần)

Công thức	Nồng độ (mg/l)	Tỷ lệ tạo protocorm (%)	Hệ số nhân (lần)	Chất lượng mẫu
BT0	VW (VW + 15% ND)	0 ^f	0 ^g	--
BT1	VW + 0,5 mg BAP + 0,5 mg TDZ	0 ^f	0 ^g	--
BT2	VW + 0,5 mg BAP + 1,0 mg TDZ	45,5 ^d	5,3 ^d	++
BT3	VW + 0,5 mg BAP + 1,5 mg TDZ	61,1 ^b	6,2 ^c	++
BT4	VW + 0,5 mg BAP + 2,0 mg TDZ	68,8 ^b	6,7 ^c	++
BT5	VW + 1,0 mg BAP + 0,5 mg TDZ	31,3 ^e	4,7 ^{de}	+
BT6	VW + 1,0 mg BAP + 1,0 mg TDZ	53,3 ^{cd}	7,8 ^b	+++
BT7	VW + 1,0 mg BAP + 1,5 mg TDZ	78,8 ^a	8,7 ^a	+++
BT8	VW + 1,0 mg BAP + 2,0 mg TDZ	23,3 ^e	4,6 ^e	++
BT9	VW + 1,5 mg BAP + 0,5 mg TDZ	48,8 ^d	7,5 ^b	+++
BT10	VW + 1,5 mg BAP + 1,0 mg TDZ	58,8 ^c	6,8 ^c	++
BT11	VW + 1,5 mg BAP + 1,5 mg TDZ	32,2 ^e	4,8 ^d	+
BT12	VW + 1,5 mg BAP + 2,0 mg TDZ	0 ^f	0 ^g	--
BT13	VW + 2,0 mg BAP + 0,5 mg TDZ	59,9 ^{bc}	6,6 ^c	++
BT14	VW + 2,0 mg BAP + 1,0 mg TDZ	28,8 ^e	3,7 ^f	++
BT15	VW + 2,0 mg BAP + 1,5 mg TDZ	0 ^f	0 ^g	--
BT16	VW + 2,0 mg BAP + 2,0 mg TDZ	0 ^f	0 ^g	--
CV (%)		16,9	8,6	
LSD _{0,05}		9,77	0,62	

Việc nghiên cứu cắt chóp rễ cây lên môi trường đặc có bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau cho thấy trên môi trường đặc, chóp rễ không phát sinh hình thái và tạo thành protocorm. Năm 1982, Lim-Ho đã chứng minh rằng, các mô nuôi cấy trong môi trường lỏng và được lắc đều để thông khí và làm giảm độc tố do cây tiết ra rất thích hợp

cho sự phát triển và phân chia tế bào để hình thành callus và protocorm [81]. Dựa vào kết quả đó, đề tài đã nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp auxin và cytokinin lên quá trình nhân nhanh protocorm từ chóp rễ trên môi trường lỏng và được lắc 50 vòng/phút trên máy lắc.

Qua bảng 3.24 cho thấy việc bổ sung chất điều hoà sinh trưởng vào môi trường nuôi cấy mới có khả năng tạo protocorm so với đối chứng. Tuy nhiên nếu bổ sung tổ hợp BAP và TDZ ở nồng độ thấp hoặc cao (BT1, BT12, BT15 và BT16) mẫu sẽ không phát sinh hình thái.

Qua 17 loại môi trường trên, tổ hợp thích hợp nhất cho nuôi cấy chóp rễ là: VW lỏng + 1,0 mg/l BAP + 1,5 mg/l TDZ có tỷ lệ tạo protocorm 78,8% và hệ số nhân 8,7 lần.

3.2.3. Tạo chồi từ protocorm phát sinh từ lá

Bảng 3.27. Ảnh hưởng của dịch chiết khoai tây và chuối lên

hệ số nhân chồi từ protocorm phát sinh từ lá (Sau 8 tuần)

Nồng độ (g/l)	Tỷ lệ tạo chồi (%)		Hệ số nhân (lần)	
	HL2	HL3	HL2	HL3
VW	47,8 ^{ef}	35,5 ^{fg}	5,1 ^{gh}	4,5 ^{h-k}
VW + 30gKT	65,5 ^{bc}	64,4 ^{b-d}	7,8 ^{cd}	7,2 ^{c-e}
VW + 50gKT	75,6 ^{ab}	78,8 ^a	10,6 ^b	12,5 ^a
VW + 100gKT	67,8 ^{a-c}	75,5 ^{ab}	7,2 ^{c-e}	11,3 ^b
VW + 150gKT	66,7 ^{a-c}	64,4 ^{b-d}	6,9 ^{de}	8,1 ^c
VW + 30gCH	52,2 ^{d-e}	56,6 ^{c-e}	6,3 ^{ef}	5,6 ^{fg}
VW + 50gCH	35,6 ^{fg}	47,7 ^{ef}	5,4 ^{f-h}	5,1 ^{gh}
VW + 100gCH	24,4 ^{g-k}	31,1 ^{gh}	3,8 ^{kl}	4,0 ^{i-l}
VW + 150gCH	11,1 ^l	17,7 ^{i-l}	2,7 ^{mn}	1,7 ⁿ
VW + 30gKT + 30gCH	57,8 ^{c-e}	50,0 ^c	6,3 ^{ef}	5,2 ^{gh}
VW + 50gKT + 50gCH	47,8 ^{ef}	34,4 ^g	5,4 ^{f-h}	4,9 ^{g-i}
VW + 100gKT + 100gCH	28,9 ^{g-i}	21,1 ^{h-l}	4,8 ^{g-k}	3,2 ^{lm}
VW + 150gKT + 150gCH	14,4 ^{kl}	16,6 ^{i-l}	2,1 ⁿ	1,8 ⁿ
CV (%)	17,1		11,6	
LSD _{0,05} (A)	3,54		0,30	
LSD _{0,05} (B)	9,03		0,77	
LSD _{0,05} (AB)	12,77		1,08	

Sau khi tạo và nhân nhanh các thể protocorm, chúng tôi nghiên cứu tác dụng của dịch chiết khoai tây và chuối lên hình thành chồi từ các thể protocorm. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy dịch chiết xuất khoai tây và chuối sẽ thúc đẩy sự tăng trưởng của tế bào đồng thời tăng diện tích tổ cho cây lan [43], [89], [91], 420 chồi / 1g PLBs được hình thành trong môi trường có bổ sung khoai tây [138], trong lượng PLBs tăng lên trong môi trường có bổ sung chuối [64], [128].

Bảng 3.27 cho thấy, khoai tây có ảnh hưởng tích cực đến đến hệ số nhân chồi và tỷ lệ tạo chồi tương tự đối với cả 2 giống HL2 và HL3. Ở tất cả các công thức có bổ sung khoai tây đều cho hệ số nhân và tỷ lệ tạo chồi cao hơn so với đối chứng và đạt cao nhất ở công thức 50g/l khoai tây lần lượt là 75,6% và 10,6 lần ở giống HL2, 78,8% và 12,5 lần ở giống HL3. Tuy nhiên, nếu bổ sung ở nồng độ cao 100g, 150 g KT/l thì sự hình thành chồi từ cụm protocorm giảm đi. Còn ở những công thức có bổ sung chuối hoặc tổ hợp chuối và khoai tây thì hệ số nhân và tỷ lệ tạo chồi giảm theo tỷ lệ nghịch với nồng độ. Môi trường thích hợp nhất cho tạo chồi từ lá là: VW + 50g/l khoai tây

3.2.4. Ảnh hưởng của dịch chiết khoai tây và chuối lên sinh trưởng và phát triển của cây *in vitro*

Trong giai đoạn này, đề tài tiếp tục nghiên cứu tác dụng của chuối và khoai tây lên sự sinh trưởng, phát triển của cây để đảm bảo cây con đạt chất lượng tốt trước khi đem trồng ngoài vườn ươm. Sau 8 tuần các mẫu được cấy chuyển và theo dõi các chỉ tiêu về chất lượng mẫu.

Bảng 3.29 cho thấy, khoai tây có ảnh hưởng tích cực lên phát triển của lá, còn chuối có ảnh hưởng tích cực lên hình thành rễ của cây. Tất cả các công thức có bổ sung chuối và khoai tây ở trạng thái riêng rẽ hay tổ hợp đều cho trọng lượng cây cao hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, ở từng giai đoạn khác nhau chúng cần nồng độ và chất phụ gia khác nhau.

Giai đoạn 1 (sau 8 tuần), ở nồng độ 100 g chuối cho trọng lượng cây cao nhất, nhưng chiều dài và chiều rộng lá lại nhỏ do cây tập trung ra rễ. Ở nồng độ 50g khoai tây/l + 50g chuối/l cây sinh trưởng cân đối cả về lá và rễ. Giai đoạn 2 (sau 16 tuần) cây sinh trưởng và phát triển tốt nhất ở công thức 100g khoai tây/l + 100g chuối/l, rễ phát triển tốt, mập và khoẻ, trọng lượng cây đạt tới 1023 g

Kết quả này cũng tương tự với các nghiên cứu liên quan đến dịch chiết khoai tây và chuối trong môi trường nuôi cấy lan. Giống *Vanda coerulea* phát triển tốt cả về lá và rễ trong môi trường VW có bổ sung 100g/l khoai tây + 100g/l chuối [116]. 90,7% chồi của giống *Dendrobium huoshanense* tạo thành cây hoàn chỉnh với 3-5 rễ sau 7 tuần trong môi trường MS có bổ sung 100g/l chuối [138]

Môi trường thích hợp nhất cho giai đoạn 1 là VW + 50g/l khoai tây + 50g/l chuối, giai đoạn 2 là VW + 100g/l khoai tây + 100g/ chuối.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp kỹ thuật lên sự sinh trưởng, phát triển một số giống lan Hồ điệp có triển vọng

3.3.1. Ảnh hưởng của giá thể lên khả năng sinh trưởng, phát triển một của lan Hồ điệp *Giai đoạn vườn ươm (0 - 2 tháng tuổi)*

Cây con có khoảng 3 - 4 lá, 3 - 4 rễ và đạt trọng lượng từ 0,6g - 0,8g/cây được đưa ra khỏi ống nghiệm, loại bỏ agar bám nơi bề mặt rễ và được trồng trên 3 loại giá thể.

Qua bảng 3.30 cho thấy loại giá thể khác nhau có ảnh hưởng quyết định đến tỷ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây con khi đưa ra ngoài ống nghiệm. Trong 3 loại giá thể trên thì rong biển tỏ ra thích hợp hơn đối với cả 2 giống. Giống HL2, HL3 được trồng trên giá thể này đều cho tỷ lệ sống cao nhất (92%) và cây sinh trưởng, phát triển tốt nhất. Giá thể xơ dừa đạt tỷ lệ

sống thấp nhất 78% đối với giống HL2 và 76% đối với giống HL3 đồng thời cây sinh trưởng, phát triển thấp nhất do giá thể cứng, khả năng giữ ẩm kém.

Ở giai đoạn vườn ươm, cây lan con thích hợp với giá thể có khả năng giữ ẩm, thông thoáng, mềm, xốp nhẹ. Vì vậy giá thể rong biển + than hoa (1:1) là thích hợp nhất.

Bảng 3.30. Ảnh hưởng của giá thể lên sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây con giai đoạn vườn ươm (2 tháng tuổi)

Giống	Công thức	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Số lá	Số rễ	Khối lượng (g)	Tỷ lệ sống (%)
HL2	BĐ	3,53	1,06	3,78	3,46	0,67	
	CT1	3,76	1,51	3,11	3,52	0,98	78
	CT2	5,02	1,67	3,46	4,36	1,54	92
	CT3	4,75	1,63	3,52	3,61	1,22	90
HL3	BĐ	3,58	1,34	4,31	3,22	0,72	
	CT1	3,96	1,62	3,28	3,32	1,19	76
	CT2	5,21	1,83	3,83	4,53	1,57	92
	CT3	4,36	1,77	3,74	3,43	1,23	88
CV (%)		10,7	15,5	16,1	10,3	13,2	29,4

BĐ: Đặc điểm hình thái của cây con trước khi trồng ngoài vườn ươm

CT1: Xơ dừa + than hoa (1:1)

CT2: Rong biển + than hoa (1:1)

CT3: Xơ dừa + rong biển + than hoa (1:1:1)

3.3.2. Ảnh hưởng của chế độ tưới dinh dưỡng lên sinh trưởng phát triển của lan Hồ điệp

Giai đoạn vườn ươm (0 - 2 tháng tuổi)

Giai đoạn đưa cây con từ ống nghiệm ra ngoài vườn ươm là giai đoạn có ý nghĩa rất quan trọng, quyết định khả năng ứng dụng của toàn bộ quá trình nhân giống *in vitro* vào thực tiễn sản xuất. Là giai đoạn chuyển cây từ môi trường sống nhân tạo hoàn toàn thuận lợi ra môi trường tự nhiên bên ngoài có nhiều yếu tố biến động (thời tiết, khí hậu, đất đai...), cây phải chuyển từ trạng thái dị dưỡng sang tự dưỡng. Chính vì sự thay đổi điều kiện sống đột ngột như vậy nên việc đưa cây *in vitro* ra ngoài vườn ươm gặp không ít khó khăn.

Bởi vậy việc nghiên cứu ảnh hưởng của dinh dưỡng lên cây con Hồ điệp giai đoạn sau ống nghiệm là rất cần thiết.

* *Nghiên cứu ảnh hưởng của dinh dưỡng lên sinh trưởng và phát triển của cây từ 0 - 2 tháng tuổi*

Qua bảng 3.33 cho thấy dinh dưỡng có ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng và phát triển của cây con giai đoạn bồn mạ. Ở tất cả công thức có bổ sung dinh dưỡng cây con đều sinh trưởng và phát triển tốt hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, loại dinh dưỡng khác nhau ở các nồng độ khác nhau sẽ có ảnh hưởng khác nhau đến phát triển của cây.

Đối với loại dinh dưỡng TC (10:10:30), tỷ lệ kali cao có ảnh hưởng rất tích cực lên phát triển của rễ, hơn hẳn so với 2 loại dinh dưỡng TC (30:10:10) và Gm (30:10:10), đạt cao nhất là 5,98 rễ/cây. Ở giai đoạn vườn ươm, sự phát triển mạnh của rễ là rất quan trọng, giúp cây sinh trưởng và phát triển tốt, thích nghi nhanh với điều kiện sống ở bên ngoài. Khi tăng nồng độ dinh dưỡng lên (0,5; 1,0; 1,5 mg/l) thì sự phát triển của cây (chiều dài, rộng của lá, số lá và số rễ) tăng lên theo tỷ lệ thuận và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 1,5 mg/l. Nhưng ở nồng độ 2,0 và 2,5 mg/l thì cây phát triển chậm lại.

Tương tự, đối với loại dinh dưỡng có hàm lượng đạm cao như TC (30:10:10), cây sinh trưởng tốt nhất ở nồng độ 1,5 g/l (khối lượng 1,87g/cây) và ở 1,5 g/l đối với loại dinh dưỡng Gm (30:10:10) đạt khối lượng là 1,83 g/cây.

Từ kết quả trên, chúng tôi nhận thấy loại dinh dưỡng TC (10:10:30) ở nồng độ 1,5 g/l thích hợp nhất cho cây ở giai đoạn bồn mạ, cây sinh trưởng và phát triển tốt cả về chiều dài, chiều rộng của lá và số rễ.

Bảng 3.33. Ảnh hưởng của dinh dưỡng lên sinh trưởng và phát triển của cây con - giống HL2 (2 tháng tuổi)

Dinh dưỡng	Nồng độ (g/l)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Số lá/cây	Số rễ/cây	Khối lượng (g/cây)
ĐC	0	3,82 ^c	1,37 ^b	3,12 ^c	3,94 ^f	1,14 ^f
TC (N:P:K = 10:10:30)	0,5	4,29 ^{de}	1,48 ^{ab}	3,12 ^c	4,23 ^{ef}	1,29 ^{d-f}
	1,0	4,64 ^{cd}	1,52 ^{ab}	3,48 ^{a-c}	4,78 ^{b-e}	1,53 ^{c-e}
	1,5	5,32 ^{ab}	1,83 ^a	3,62 ^{ab}	5,98 ^a	2,13 ^a
	2,0	5,08 ^{a-c}	1,86 ^a	3,46 ^{a-c}	5,14 ^b	1,96 ^{ab}
	2,5	4,56 ^{cd}	1,63 ^{ab}	3,19 ^{bc}	4,54 ^{c-e}	1,51 ^{c-f}
TC (N:P:K = 30:10:10)	0,5	4,68 ^{cd}	1,52 ^{ab}	3,38 ^{a-c}	4,31 ^{d-f}	1,36 ^{d-f}
	1,0	5,07 ^{a-c}	1,69 ^{ab}	3,51 ^{a-c}	4,77 ^{b-e}	1,54 ^{c-e}
	1,5	5,48 ^a	1,74 ^{ab}	3,62 ^{ab}	4,92 ^{bc}	1,87 ^{a-c}
	2,0	4,71 ^{cd}	1,58 ^{ab}	3,38 ^{a-c}	4,26 ^{ef}	1,41 ^{d-f}
	2,5	4,25 ^{de}	1,53 ^{ab}	3,26 ^{a-c}	3,94 ^f	1,21 ^{e-f}
Gm (N:P:K = 30:10:10)	0,5	4,63 ^{cd}	1,54 ^{ab}	3,18 ^c	4,26 ^{ef}	1,49 ^{c-f}
	1,0	5,38 ^{ab}	1,69 ^{ab}	3,47 ^{a-c}	4,29 ^{d-f}	1,62 ^{b-d}
	1,5	5,51 ^a	1,74 ^{ab}	3,69 ^a	4,87 ^{b-d}	1,83 ^{a-c}
	2,0	5,02 ^{a-c}	1,67 ^{ab}	3,46 ^{a-c}	4,36 ^{c-f}	1,54 ^{c-e}
	2,5	4,82 ^{b-d}	1,49 ^{ab}	3,22 ^{bc}	3,82 ^f	1,27 ^{d-f}
CV (%)		7,40	16,80	7,80	8,00	15,50
LSD _{0,05} (A)		0,23	0,18	0,17	0,24	0,15
LSD _{0,05} (B)		0,33	0,25	0,24	0,34	0,22
LSD _{0,05} (AB)		0,57	0,44	0,43	0,59	0,38

A: Dinh dưỡng B: Nồng độ

* Nghiên cứu ảnh hưởng của số lần tưới dinh dưỡng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây từ 0 - 2 tháng tuổi

Để tìm hiểu ảnh hưởng của dinh dưỡng lên sinh trưởng và phát triển của cây con, ngoài nồng độ của dinh dưỡng cần nghiên cứu số lần tưới để tìm ra phương thức bón tốt nhất tạo nên quá trình sinh trưởng tốt cho cây con giai đoạn bồn mạ.

Dựa vào kết quả của thí nghiệm trên, chúng tôi lấy nồng độ thích hợp nhất của 3 loại dinh dưỡng để thực hiện các thí nghiệm về thời gian tưới: 5 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 15 ngày và 20 ngày.

Từ kết quả bảng 3.35 cho thấy thời gian tưới dinh dưỡng khác nhau ảnh hưởng đến sinh trưởng và chất lượng cây con giai đoạn bồn mạ cũng khác nhau. Nếu tưới nhiều (5 ngày/lần, 7 ngày/lần) hoặc ít (20 ngày/lần) đều kìm hãm sự sinh trưởng và phát triển của cây.

Đối với loại dinh dưỡng TC (10:10:30), giống HL2 sinh trưởng và phát triển tốt ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi là 10 ngày tưới dinh dưỡng một lần, khối lượng cây đạt 2,52 g

Dinh dưỡng TC (30:10:10), tưới 15 ngày/lần cây sinh trưởng và phát triển tốt đạt khối lượng 2,06 g/cây.

Dinh dưỡng Gm (30:10:10), tưới 10 ngày/lần đạt, cây đạt khối lượng cao nhất 2,17 g/cây.

Từ những kết quả nghiên cứu trên cho thấy dinh dưỡng TC (10:10:30) ở nồng độ 1,5 g/l, tưới 10 ngày/lần là thích hợp nhất.

Bảng 3.35. Ảnh hưởng của số lần tưới lên sinh trưởng và phát triển của cây con - giống HL2 (2 tháng tuổi)

Dinh dưỡng	Thời gian tưới (ngày)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Số lá/cây	Số rễ/cây	Khối lượng (g/cây)
TC (N:P:K = 10:10:30) (1,5 g/l)	5 ngày	4,22 ^t	1,36 ^d	3,16 ^{fg}	4,12 ^{de}	1,26 ^{ef}
	7 ngày	5,32 ^{b-d}	1,87 ^a	3,62 ^{b-c}	5,98 ^a	2,13 ^{ab}
	10 ngày	5,55 ^{a-c}	1,87 ^a	3,86 ^{a-c}	6,27 ^a	2,52 ^a
	15 ngày	4,92 ^d	1,49 ^{a-d}	3,52 ^{c-f}	5,78 ^a	1,82 ^{b-d}
	20 ngày	4,37 ^{ef}	1,49 ^{a-d}	3,16 ^{fg}	4,43 ^{cd}	1,49 ^{d-f}
TC (N:P:K = 30:10:10) (1,5 g/l)	5 ngày	4,18 ^t	1,52 ^{a-d}	3,10 ^g	3,67 ^c	1,09 ^t
	7 ngày	5,48 ^{a-c}	1,74 ^{a-d}	3,62 ^{b-e}	4,92 ^b	1,87 ^{b-d}
	10 ngày	5,59 ^{a-c}	1,76 ^{a-c}	3,76 ^{a-d}	4,92 ^b	1,96 ^{bc}
	15 ngày	5,87 ^a	1,83 ^{ab}	4,02 ^{ab}	4,93 ^b	2,06 ^b
	20 ngày	4,86 ^{de}	1,56 ^{a-d}	3,38 ^{d-g}	4,54 ^{cd}	1,63 ^{c-e}
Gm (N:P:K = 30:10:10) (1,5 g/l)	5 ngày	4,22 ^t	1,43 ^{cd}	3,22 ^{e-g}	4,00 ^{de}	1,28 ^{ef}
	7 ngày	5,51 ^{a-c}	1,74 ^{a-d}	3,69 ^{b-d}	4,87 ^{bc}	1,83 ^{b-d}
	10 ngày	5,96 ^a	1,82 ^{ab}	4,11 ^a	4,92 ^b	2,17 ^{ab}
	15 ngày	5,73 ^{ab}	1,74 ^{a-d}	3,77 ^{a-d}	4,84 ^c	1,86 ^{b-d}
	20 ngày	5,07 ^{cd}	1,47 ^{b-d}	3,72 ^{a-d}	3,93 ^{de}	1,39 ^{ef}
CV (%)		6,20	14,10	6,90	7,80	13,70
LSD _{0,05} (A)		0,23	0,17	0,18	0,28	0,17
LSD _{0,05} (B)		0,30	0,22	0,23	0,36	0,23
LSD _{0,05} (AB)		0,53	0,38	0,41	0,62	0,40

A: Dinh dưỡng B: Thời gian tưới

3.3.3. Ảnh hưởng của chế độ tưới dinh dưỡng lên chất lượng hoa của cây

Ở giai đoạn này yếu tố lân (P) rất quan trọng đối với việc tỷ lệ cành ra hoa và chất lượng hoa nên đề tài đã nghiên cứu ảnh hưởng của dinh dưỡng khác nhau có tỷ lệ N:P:K là 10:30:10, thời gian tưới 7 ngày/lần đến tỷ lệ cành ra hoa và chất lượng hoa.

Để đánh giá ảnh hưởng của dinh dưỡng đến tỷ lệ cành nở hoa, chúng tôi dựa vào tỷ lệ cành nở hoa tại 2 mức 20% và 50% ở công thức đối chứng (không sử dụng dinh dưỡng) để so sánh.

Qua bảng 3.49 cho thấy dinh dưỡng có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ cành nở hoa. Loại dinh dưỡng khác nhau, ở nồng độ khác nhau sẽ ảnh hưởng đến khả năng ra hoa sớm hay muộn.

Bảng 3.49. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng đến tỷ lệ cành ra hoa

Dinh dưỡng	Nồng độ (g/l)	Tỷ lệ cành ra hoa (%)			
		HL2		HL3	
ĐC	0	20,0 ^c	50,0 ^c	20,0 ^{cd}	50,0 ^d
TC (N:P:K = 10:30:10)	0,5	28,4 ^d	66,7 ^{bc}	33,3 ^b	76,7 ^{ab}
	1,0	31,7 ^{cd}	72,8 ^{ab}	53,3^a	83,3^a
	1,5	48,6^a	78,2^a	26,7 ^{bc}	70,0 ^{bc}
	2,0	28,9 ^d	58,4 ^d	23,3 ^{cd}	53,3 ^d
	2,5	0,0 ^f	0,0 ^e	0,0 ^e	0,0 ^f
Gm (N:P:K = 10:30:10)	0,5	43,4 ^{ab}	62,6 ^{cd}	53,3^a	83,3^a
	1,0	37,7^{bc}	78,5^a	54,4 ^a	70,0 ^{bc}
	1,5	33,6 ^{cd}	42,7 ^c	16,7 ^d	66,7 ^c
	2,0	18,7 ^e	26,9 ^f	0,00 ^e	28,9 ^e
	2,5	0,0 ^f	0,0 ^e	0,0 ^e	0,0 ^f
CV (%)		15,70	9,70	15,5	10,1
LSD _{0,05} (A)		3,21	3,56	3,07	4,08
LSD _{0,05} (B)		5,08	5,63	4,86	6,46
LSD _{0,05} (AB)		7,19	7,96	6,87	9,14

A: Dinh dưỡng B: Nồng độ

Dinh dưỡng TC (10:30:10), ở giống HL2 khi tăng nồng độ lên từ 0,5 g/l; 1,0 g/l; 1,5 g/l tỷ lệ cành ra hoa sẽ tăng lên và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 1,5 g/l ở cả 2 mức so sánh. Khi ở công thức đối chứng, tỷ lệ cành ra hoa là 20% và 50% thì ở nồng độ 1,5 g/l tỷ lệ cành ra hoa tương ứng là 48,6% và 78,2%. Nếu tăng nồng độ dinh dưỡng lên 2,0 g/l tỷ lệ cây ra hoa rất thấp hoặc ở nồng độ 2,5 g/l thì cành hoa bị biến dạng, không có khả năng ra hoa ở cả 2 giống. Tương tự, giống HL3 đạt kết quả cao nhất ở nồng độ 1,0 g/l với tỷ lệ cành ra hoa lần lượt là 53,3% và 83,3%.

Dinh dưỡng Gm (10:30:10), so với mức đối chứng 20%, khi tăng nồng độ từ 0,5 g/l; 1,0 g/l; 1,5 g/l; 2,0 g/l; 2,5 g/l thì tỷ lệ cành ra hoa giảm theo tỷ lệ nghịch với nồng độ, đạt giá trị cao

nhất ở 0,5 g/l là 43,4%. Tuy nhiên, khi ở công thức đối chứng tỷ lệ cành nở hoa là 50% thì ở nồng độ 1,0 g/l đạt giá trị cao nhất là 78,5% đối với giống HL2. Tương tự, giống HL3 có tỷ lệ nở hoa cao nhất ở nồng độ 0,5 g/l. Khi tăng nồng độ lên 2,0 g/l, tỷ lệ cành ra hoa giảm xuống rõ rệt và thấp hơn nhiều so với đối chứng ở cả 2 mức so sánh, 18,7%; 26,9% đối với giống HL2 và 0%; 28,90% đối với giống HL3. Tiếp tục tăng nồng độ lên 2,5 g/l, cành hoa dị biến dạng, không ra hoa.

Trên cơ sở nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ dinh dưỡng đến khả năng cành nở hoa của phong lan Hồ điệp. Đề tài tiếp tục nghiên cứu sâu hơn ảnh hưởng của loại dinh dưỡng và nồng độ dinh dưỡng đến chất lượng hoa. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.50 và 3.51.

Kết quả cho thấy nồng độ dinh dưỡng có ảnh hưởng đến chiều cao cành hoa. Đối với giống HL2, khi nồng độ dinh dưỡng tăng từ 0,5 g/l; 1,0 g/l; 1,5g/l và 2,0 g/l thì chiều dài cành hoa đều cao hơn so với đối chứng (38,28 cm). Tuy nhiên không có sự khác biệt lớn giữa các công thức tưới dinh dưỡng. Chiều cao cành hoa đạt cao nhất 45,23 cm khi tưới dinh dưỡng TC và 46,26 cm khi tưới dinh dưỡng Gm ở nồng độ 1,5 g/l. Khi tăng nồng độ dinh dưỡng lên 2,5 g/l thì chiều cao cành hoa giảm xuống rõ rệt, thấp hơn so với đối chứng, lần lượt là 13,32 cm và 14,08 cm.

Đối với giống HL3, ở nồng độ 0,5 g/l và 1,0 g/l, chiều cao cành hoa không có sự khác biệt rõ ràng, lần lượt là 47,56 cm; 47,13 cm khi tưới dinh dưỡng TC và là 46,77 cm; 47,81 cm khi tưới dinh dưỡng Gm. Khi tăng nồng độ dinh dưỡng lên từ 1,5 g/l; 2,0 g/l và 2,5 g/l thì chiều cao cành hoa giảm xuống theo tỷ lệ nghịch với nồng độ.

Bảng 3.50. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng lên chất lượng hoa - giống HL2 -

Dinh dưỡng	Nồng độ (g/l)	Chiều cao cành (cm)	KT cánh dài (cm)	KT cánh bên (cm)	KT cánh môi (cm)	Số hoa /cành (bông)
ĐC	0	38,28	3,42x2,13	3,48x3,53	3,26x4,01	5,11
TC (N:P:K = 10:30:10)	0,5	42,08	3,71x2,54	3,81x4,05	3,41x4,84	6,25
	1,0	42,15	3,84x2,63	4,08x4,36	3,71x5,15	6,81
	1,5	45,23	3,91x2,66	4,52x4,71	4,06x5,34	7,12
	2,0	40,67	3,71x2,48	3,91x4,07	3,56x4,84	5,06
	2,5	13,32	--	--	--	--
Gm (N:P:K = 10:30:10)	0,5	42,12	3,74x2,51	4,13x4,35	4,00x4,81	6,73
	1,0	43,67	3,95x2,66	4,51x4,80	4,05x5,42	7,44
	1,5	46,26	3,81x2,58	4,11x4,35	3,85x4,63	6,68
	2,0	40,71	3,69x2,18	3,82x3,77	3,41x4,20	5,42
	2,5	14,08	--	--	--	--

Bảng 3.51. Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng lên chất lượng hoa - giống HL3

Dinh dưỡng	Nồng độ (g/l)	Chiều cao cành (cm)	KT cánh dài (cm)	KT cánh bên (cm)	KT cánh môi (cm)	Số hoa /cành (bông)
ĐC	0	39,87	2,96x2,17	3,00x3,86	3,19x4,88	4,92
TC (N:P:K = 10:30:10)	0,5	47,56	3,74x2,61	3,74x4,12	3,51x5,19	7,18
	1,0	47,13	3,82x2,83	3,82x4,33	3,87x5,22	7,32
	1,5	44,58	3,29x2,54	3,22x4,00	3,26x5,19	6,41
	2,0	39,62	2,87x2,17	2,94x3,75	3,26x4,83	6,05
	2,5	12,56	--	--	--	--
Gm (N:P:K = 10:30:10)	0,5	46,77	3,83x2,88	3,86x4,31	4,00x5,21	7,87
	1,0	47,81	3,74x2,87	3,77x4,24	3,92x5,17	7,12
	1,5	42,19	3,21x2,33	3,19x4,11	3,48x4,85	5,87
	2,0	35,13	2,93x2,22	2,95x3,62	3,12x4,71	4,38
	2,5	12,77	--	--	--	--

Nồng độ dinh dưỡng cũng có ảnh hưởng đến kích thước hoa và số hoa trên cành. Đối với giống HL2, kích thước hoa và số hoa/cành đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 1,5 g/l và 1,0 g/l lần lượt ở 2 loại dinh dưỡng TC và Gm. Còn ở giống HL3 là ở nồng độ 1,0 g/l khi tưới dinh dưỡng TC và 0,5 g/l khi tưới dinh dưỡng Gm. Khi tăng nồng độ lên cao 2,5 g/l thì cành hoa bị biến dạng, không có khả năng ra hoa.

Qua các bảng trên, cho thấy nồng độ dinh dưỡng thích hợp nhất ảnh hưởng đến ra hoa và chất lượng hoa là:

Dinh dưỡng TC (10:30:10) ở nồng độ 1,5 g/l đối với giống HL2 và 1,0 g/l đối với giống HL3.

Dinh dưỡng Gm (10:30:10) ở nồng độ 1,0 g/l đối với giống HL2 và 0,5 g/l đối với giống HL3.

3.4. Nghiên cứu khả năng lai tạo của các giống lan Hồ điệp

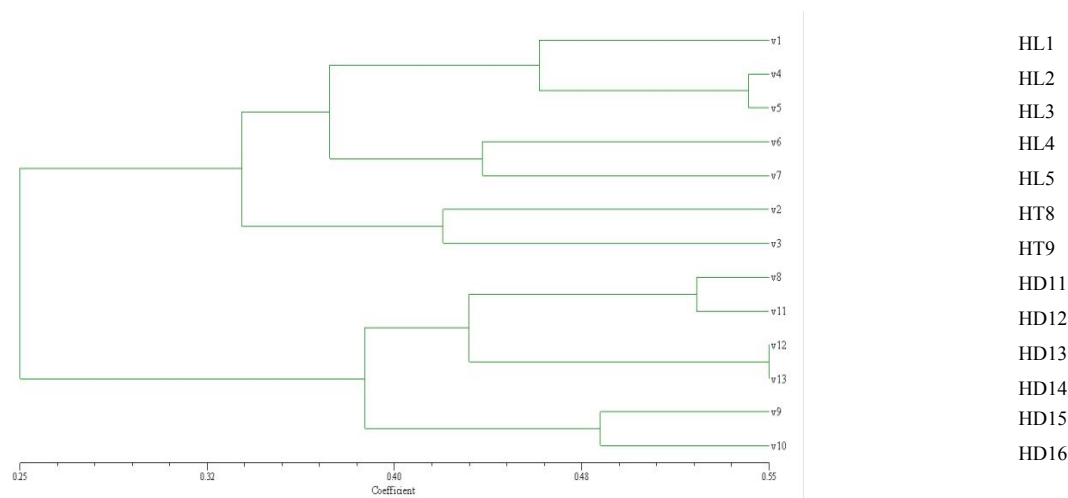
3.4.2. Đa dạng di truyền ở mức độ phân tử của các mẫu giống lan

13 mẫu giống lan trong đó có 7 mẫu giống thuộc chi *Phalaenopsis* (HL1, HL2, HL3, HL4, HL5, HT8, HT9) và 6 mẫu thuộc chi *Doritis* của Việt Nam (HD11, HD12, HD13, HD14, HD15, HD16) được tiến hành phân ứng RAPD - PCR với 17 môi RAPD. Kết quả phân tích RAPD - PCR của 13 mẫu lan với tổng số 17 môi thuộc nhóm OPC và OPN chỉ có 12 môi cho đa hình rõ rệt là các môi OPC2, OPC4, OPC5, OPC7, OPC15, OPN2, OPN4, OPN9, OPN10, OPN11, OPN12, OPN15 và thu được 632 phân đoạn sản phẩm ADN. Mẫu cho nhiều băng nhất là HL1 (61 băng), mẫu cho băng ít nhất là HD13 (38 băng). Kích thước các phân đoạn thu được trong khoảng từ 250 bp đến 4000 bp.

Kết quả phân tích hệ số tương đồng của các giống lan dựa trên phân tích RAPD - PCR và xử lý số liệu phần mềm NTSYS cho thấy các mẫu giống nghiên cứu có sự sai khác nhau về mặt di truyền. Hệ số tương đồng di truyền của 13 mẫu lan dao động từ 0,32 - 0,56.

Hai mẫu có hệ số tương đồng di truyền thấp nhất là HL4 và HD13 (0,12), cao nhất là HD15 và HD16 (0,55). 13 mẫu lan được chia thành 3 nhóm ở mức tương đồng 0,36.

Nhóm 1: gồm 5 mẫu giống lan thuộc chi *Phalaenopsis*, có nguồn gốc từ Hà Lan HL1, HL2, HL3 và HL4, HL5. Hệ số tương đồng giữa 5 mẫu giống lan dao động từ 0,26 - 0,54. Cặp mẫu có hệ số tương đồng thấp nhất là HL3 và HL4 (0,26), cao nhất là HL4 và HL5 (0,54).



Hình 3.13. Biểu đồ mối quan hệ di truyền giữa các mẫu lan

Nhóm 2: gồm 2 giống lan thuộc chi *Phalaenopsis*, có nguồn gốc từ Thái Lan là HL8 và HL9, có hệ số tương đồng là 0,43.

Nhóm 3: gồm 6 giống lan thuộc chi *Doritis* của Việt Nam HD11, HD12, HD13, HD14, HD15 và HD16. Mẫu HD13 và HD14 có hệ số tương đồng thấp nhất (0,25), mẫu HD15 và HD16 có hệ số tương đồng cao nhất (0,55)

Qua phân tích trên cho thấy, các mẫu giống có sự sai khác tương đối lớn về mặt di truyền.

3.4.3 Kết quả bước đầu về lai tạo của các giống lan

Trong tập đoàn lan nghiên cứu, các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* có nhiều đặc tính nổi trội về hình thái thân, lá, hoa to, màu sắc đa dạng, độ bền của hoa dài. Kích thước hoa, chiều cao cành hoa cân đối với chiều dài thân và lá của cây nên cây có hình dáng cân đối, đẹp. Tuy nhiên, số hoa/cành ít, khả năng chống chịu với điều kiện khí hậu nóng, ẩm, sâu bệnh kém. Giống thuộc chi *Doritis* có số hoa/cành hoa nhiều, màu sắc hoa đa dạng đặc biệt một số giống có mùi thơm nhẹ, khả năng chống chịu với điều kiện khí hậu nóng, ẩm và sâu bệnh tốt. Tuy nhiên, lá, hoa bé, độ bền của hoa ngắn, cành hoa dài, không cân đối với chiều dài thân và lá. Để tạo ra những giống lan lai có nhiều đặc tính tốt như sinh trưởng phát triển tốt, ít sâu bệnh, màu sắc hoa đa dạng, nhiều bông/cành, độ bền hoa lâu, đề tài đã tiến hành lai thuận và nghịch giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* và giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* với giống lan thuộc chi *Doritis*.

Dựa vào phân tích các tính trạng đối lập ở mức hình thái và mức tương đồng di truyền giữa các giống, đề tài đã thiết lập các phép lai khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 3.58 và 3.59

Bảng 3.58. Cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis*

TT	Cặp lai	Số hoa thụ phấn	Số quả đậu	Tỷ lệ đậu quả (%)
1	HL3 x HT9	14	6	42,8
2	HT9 x HL3	14	7	50,0
3	HL2 x HL4	16	8	50,0
4	HL4 x HL2	16	7	43,7
5	HL2 x HL5	16	9	56,2
6	HL5 x HL2	16	7	43,7
7	HL4 x HT9	12	5	41,6
8	HT9 x HL4	12	4	33,3
9	HL3 x HT8	18	8	44,4
10	HT8 x HL3	18	8	44,4
11	HL3 x HL4	16	5	31,0
12	HL4 x HL3	16	7	43,7
CV(%)				15,5

Bảng 3.59. Cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* và các giống lan thuộc chi *Doritis*

TT	Cặp lai	Số hoa thụ phấn	Số quả đậu	Tỷ lệ đậu quả (%)
1	HL5 x HD15	10	3	30,0
2	HD15 x HL5	10	2	20,0
3	HL3 x HD11	6	0	0,0
4	HD11 x HL3	6	2	33,3
5	HL3 x HD14	10	3	30,0
6	HD14 x HL3	10	2	20,0
7	HT9 x HD13	10	4	40,0
8	HD13 x HT9	10	3	30,0
9	HL3 x HD12	6	2	33,3
10	HD12 x HL3	6	0	0,0

11	HT9 x HD16	6	2	33,3
12	HD16 x HT9	6	1	16,7
CV(%)				54,45

Qua bảng 3.58 và 3.59 cho thấy, tỷ lệ đậu quả của các cặp lai thấp. Cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* tỷ lệ đậu quả dao động từ 31,0% - 56,2%, cao nhất là tổ hợp lai HL2 x HL5 và thấp nhất là tổ hợp lai HL3 x HL4. Cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* và các giống lan thuộc chi *Doritis* cao nhất là tổ hợp lai HT9 x HD13 (40,0%), thấp nhất là 2 tổ hợp lai HD11 x HL3 và HD12 x HL3 (0%)

Sau khi quả lan chín sinh lý, khử trùng quả bằng H₂O₂ 15% trong 10 phút và nhân giống bằng phương pháp *in vitro*. Khi cây con đủ tiêu chuẩn được nuôi trồng ngoài vườn sản xuất để đánh giá thế hệ con lai F₁, chọn ra những cây sinh trưởng phát triển tốt, có hoa đẹp, khác với cây bố mẹ.

Tại phòng nuôi cấy mô của Trung tâm Hoa cây cảnh - Viện Di truyền nông nghiệp đang nhân nhanh 22 cặp lai, trong đó có 4 cặp lai HL2 x HL4, HL4 x HL2, HL4 x HT9 và HT9 x HL4 đã được nuôi trồng trong nhà lưới ở giai đoạn 4 tháng tuổi.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

1.1. Thu thập và đánh giá được 10 giống lan Hồ điệp mới nhập nội từ Hà Lan và Thái Lan về các đặc trưng hình thái giống, khả năng thích nghi, sinh trưởng, phát triển và khả năng chống chịu sâu bệnh. Kết quả cho thấy, trong 10 giống đánh giá có 3 giống HL2 (hoa trắng hồng sọc tím, cánh môi hồng đỏ), HL3 (hoa trắng, cánh môi đỏ thẫm) và HL5 (hoa trắng, cánh môi vàng) có nhiều đặc tính quý về năng suất, chất lượng hoa, màu sắc hoa, có khả năng chống với sâu bệnh và thích nghi với điều kiện miền Bắc Việt Nam, được thị trường ưa chuộng.

1.2. Đã nghiên cứu tạo vật liệu khởi đầu từ mẫu hạt, mắt ngủ của cành hoa. Nội dung này bao gồm các nghiên cứu về phương pháp khử trùng mẫu, ảnh hưởng của tuổi quả và môi trường gieo hạt thích hợp. Quả lan (100 ngày tuổi với giống HL2 và 170 ngày tuổi với giống HL3) được khử trùng bằng H_2O_2 15% trong 10 phút và gieo lên môi trường VW + 50 g/l khoai tây. Hoặc mắt ngủ cành hoa được khử trùng bằng H_2O_2 15% trong 20 phút và cấy lên môi trường VW

1.3. Xác định được môi trường tạo protocorm (thể sinh chồi) từ hạt, mẫu lá và chóp rễ.

Từ hạt: VW + 2,0 mg/l BAP (giống HL2) và VW + 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l 2,4-D (giống HL3).

Từ mẫu lá: VW + 2,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l TDZ (giống HL2 và HL3)

Từ chóp rễ: VW lỏng + 1,0 mg/l BAP + 1,5 mg/l TDZ (giống HL2) và VW lỏng + 1,5 mg/l BAP + 1,0 mg/l TDZ (giống HL3)

1.4. Xác định được môi trường tạo chồi từ protocorm là VW + 50g/l khoai tây.

1.5. Xác định được môi trường tạo cây hoàn chỉnh là VW + 50g/l khoai tây + 50g/l chuối (giai đoạn 1) và VW + 100g/l khoai tây/l + 100g/l chuối (giai đoạn 2). Môi trường này sẽ cho cây sinh trưởng và phát triển tốt, đủ tiêu chuẩn để đưa cây ra vườn ươm.

1.6. Xác định được giá thể thích hợp cho cây lan Hồ điệp ngoài vườn ươm ở các giai đoạn khác nhau (giai đoạn vườn ươm và giai đoạn cây con là rong biển + than hoa (1:1), giai đoạn cây trưởng thành là rong biển + xơ dừa + than hoa (1:1:1))

1.7. Đã nghiên cứu, tạo ra được phân bón tự chế (TC) phù hợp cho nuôi trồng lan Hồ điệp và xác định được chế độ phân bón thích hợp cho từng giai đoạn.

1.8. Thu thập và đánh giá được đặc điểm hình thái của 6 mẫu giống lan thuộc chi *Doritis* của Việt Nam

1.9. Phân tích đa dạng di truyền ở mức độ phân tử ADN của 13 mẫu giống lan cho thấy sự khác biệt di truyền lớn giữa các mẫu giống.

1.10. Đã nghiên cứu khả năng lai tạo của các giống lan. Bước đầu lai tạo được 12 cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* và 12 cặp lai giữa các giống lan thuộc chi *Phalaenopsis* với các giống lan thuộc chi *Doritis* làm vật liệu chọn tạo giống mới, có 2 cặp lai bất thụ.

2. Đề nghị

Tiếp tục lưu giữ và thu thập thêm tập đoàn các giống lan để phục vụ cho công tác chọn tạo giống ở Việt Nam

Tiếp tục nghiên cứu để đưa các con lai F1 ra giá thể để nuôi trồng và chọn lọc. Những con lai có nhiều đặc điểm ưu việt phù hợp với thị hiếu và nhu cầu chơi lan Hồ điệp sẽ được nhân vô tính bằng phương pháp in vitro từ mô lá, chóp rễ, cành hoa cung cấp cho sản xuất.