

**ẢNH HƯỞNG CỦA NƯỚC DỪA VÀ SUCROZA LÊN SỰ TĂNG SINH MÔ SỢ  
VÀ SỰ HÌNH THÀNH PHÔI VÔ TÍNH Ở LOÀI LAN HỒ ĐIỆP  
[*PHALAEOPSIS AMABILIS* (L.) BLUME]**

**DƯƠNG TẤN NHỰT, HỒNG NGỌC TRÂM,  
NGUYỄN PHÚC HUY, ĐÌNH VĂN KHIÊM**

*Viện Sinh học Tây Nguyên*

Trong nhiều năm qua, loài lan hồ điệp *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume (họ Lan - Orchidaceae) luôn được xem là loại hoa cắt cành và cây trồng chậu quan trọng. Nhờ vẻ đẹp sang trọng và quyến rũ mà loài hoa này thường được ưu tiên trang trí trong những dịp lễ hội trang trọng. Giá trị kinh tế của lan hồ điệp rất lớn nhưng hiện nay nhu cầu về cây giống vẫn chưa được đáp ứng về chất lượng cũng như số lượng.

Ở hầu hết các giống lan, rất dễ xảy ra biến dị nên việc gieo hạt không thể tạo được một số lượng lớn cây con có tính đồng nhất [1]. Vì vậy, việc áp dụng phương pháp nhân giống vô tính để sản xuất cây con đồng nhất về mặt di truyền được thực hiện. Khó khăn lớn nhất trong nhân giống vô tính lan hồ điệp là nguồn mẫu rất hạn chế do chúng là loại cây đơn thân. Nếu sử dụng chồi đỉnh để nuôi cấy như nhiều loài lan khác sẽ làm tổn thương cây mẹ [6]. Hơn nữa, lan hồ điệp thường tiết nhiều hợp chất phenol từ vết cắt ra môi trường nuôi cấy, gây độc cho mẫu mô [2]. Gavino Rotor là người đầu tiên thành công trong việc nhân giống vô tính *in vitro* cây lan hồ điệp [15]. Ông đã sử dụng các đoạn phát hoa mang chồi dài khoảng 2 cm để nuôi cấy trên môi trường Knudson C. Sau đó, những nhà nghiên cứu khác đã tạo ra nhiều quy trình mới dựa theo phương pháp này [5, 16]. Intuwong và Sagawa (1974) cho rằng ưu điểm chính của phương pháp này là cây mẹ không bị tổn thương [6]. Tuy nhiên, phương pháp tái sinh chồi từ phát hoa cho hệ số nhân rất thấp, không đáp ứng đủ nhu cầu cây giống cho thị trường.

Gần đây, một số phương pháp nhân giống vô tính lan hồ điệp thông qua thể giống mầm rễ (PLB) đã được thực hiện thành công. Các PLB

có thể được thu nhận trực tiếp từ việc nuôi cấy mô lá, chóp rễ [16, 17], nốt phát hoa [3] hoặc toàn bộ cây con *in vitro* [18]. Hầu hết các phương pháp này đều tạo được nguồn PLB rất thấp và cần nhiều thời gian để tăng sinh PLB. Kỹ thuật nuôi cấy trong bình phản ứng sinh học (bioreactor) cũng đã được ứng dụng để tăng sinh PLB hiệu quả [13]; tuy nhiên, thời gian tăng sinh dài sẽ dễ xảy ra biến dị hình thái trên cây giống.

Như vậy, yêu cầu đặt ra là tạo được số lượng lớn PLB trong thời gian ngắn để đạt hiệu quả nhân giống cao.

Để giải quyết những khó khăn trên, chúng tôi nghiên cứu sự hình thành phôi vô tính ở lan hồ điệp để ứng dụng trong nhân giống vô tính loại lan này. Trong bài báo này, ảnh hưởng của nước dừa và sucroza lên sự tăng sinh của mô sẹo (embryogenic callus) và sự phát sinh của phôi vô tính gián tiếp ở lan hồ điệp được nghiên cứu. Ngoài ra, một khi khả năng quang hợp của cây con *in vitro* có thể điều khiển được và nếu chúng có khả năng sinh trưởng quang tự dưỡng thì tỷ lệ sống sót có thể được cải thiện đáng kể trong suốt quá trình thích nghi. Một trong những giải pháp cho vấn đề này là tăng cường khả năng quang hợp của cây con *in vitro* bằng việc làm cho hệ thống nuôi cấy có khả năng trao đổi khí, cung cấp thêm CO<sub>2</sub>, giảm độ ẩm và hạ thấp nồng độ sucroza. Những nghiên cứu nuôi cấy quang tự dưỡng trên các đối tượng cây trước đây không sử dụng sucroza trong môi trường nuôi cấy chưa thu được thành công [8]. Kozai và Iwanami [11] đã thành công trong việc phát triển một hệ thống bằng cách tăng cường đồng thời nồng độ CO<sub>2</sub> và cường độ ánh sáng. Tuy nhiên, thành phần nguyên vật liệu của bình nuôi

cấy (tetrafluoroethylene perfluoroalkyl vinyl ether copolymer hay tetrafluoro-ethylene hexafluoropropylene copolymer) vẫn rất đắt tiền. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng pô-ly-ê-ty-len (PE), một dạng ni-lông thông thường, để thiết kế hệ thống nuôi cấy (hệ thống NF). Hệ thống này có khả năng trao đổi khí tốt và có giá thành rẻ (0,003-0,005 USD/túi), vì vậy chúng có khả năng ứng dụng cao trong nhân giống thương mại. Ngoài ra, hệ thống này còn có một số đặc điểm thuận lợi cho sự sinh trưởng, phát triển của cây cũng như cải thiện chỉ số quang hợp cao hơn so với hệ thống nuôi cấy truyền thống (hệ thống C), giúp nâng cao chất lượng của cây giống lan hồ điệp.

## I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Nguyên liệu

Những phát hoa vừa nở hoa của cây lan hồ điệp trưởng thành trồng trong nhà lưới được thu nhận; chọn cây khỏe mạnh cho hoa đẹp làm mẫu cấy để tạo chồi. Cắt phát hoa thành từng đoạn dài 5 cm mang một chồi bên ở giữa đoạn. Rửa sạch mẫu, xử lý với cồn 70° trong 30 giây, sau đó khử trùng phát hoa với HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong 10 phút. Sau khi khử trùng, cắt phát hoa thành đoạn dài 1,5 cm mang chồi bên giữa đoạn và cấy vào môi trường 1/2 MS [12] (môi trường MS có thành phần khoáng đa lượng và vi lượng giảm còn 1/2) có bổ sung 0,5 mg/l NAA, 2 mg/l BA, 20% (v/v) nước dừa và 9 g/l thạch để nghiên cứu sự tạo chồi.

Sau 2 tháng, các lá *in vitro* dài 2 cm được thu từ việc nuôi cấy các đoạn phát hoa được sử dụng làm mẫu cấy để nghiên cứu khả năng tạo PLB. Cắt lá thành 6 mảnh nhỏ, nuôi cấy mẫu lá trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/l NAA, 10 mg/l BA, 20% (v/v) nước dừa và 9 g/l thạch để tạo PLB. Sau 8 tuần sẽ thu được khoảng 15 PLB từ 6 mẫu lá đặt cấy ban đầu. Các PLB này được sử dụng làm vật liệu để tạo mô sẹo. Sử dụng môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l BA; 0,01 mg/l 2,4-D; 0, 20, 40% (v/v) nước dừa và 30 g/l sucroza (lần lượt tương ứng với các môi trường C0, C1 và C2). Các PLB tái sinh từ mô lá

*in vitro* sẽ được cắt đôi và đặt úp trên môi trường. Sau 8 tuần, ghi nhận kết quả về khả năng hình thành mô sẹo của các mẫu PLB nuôi cấy.

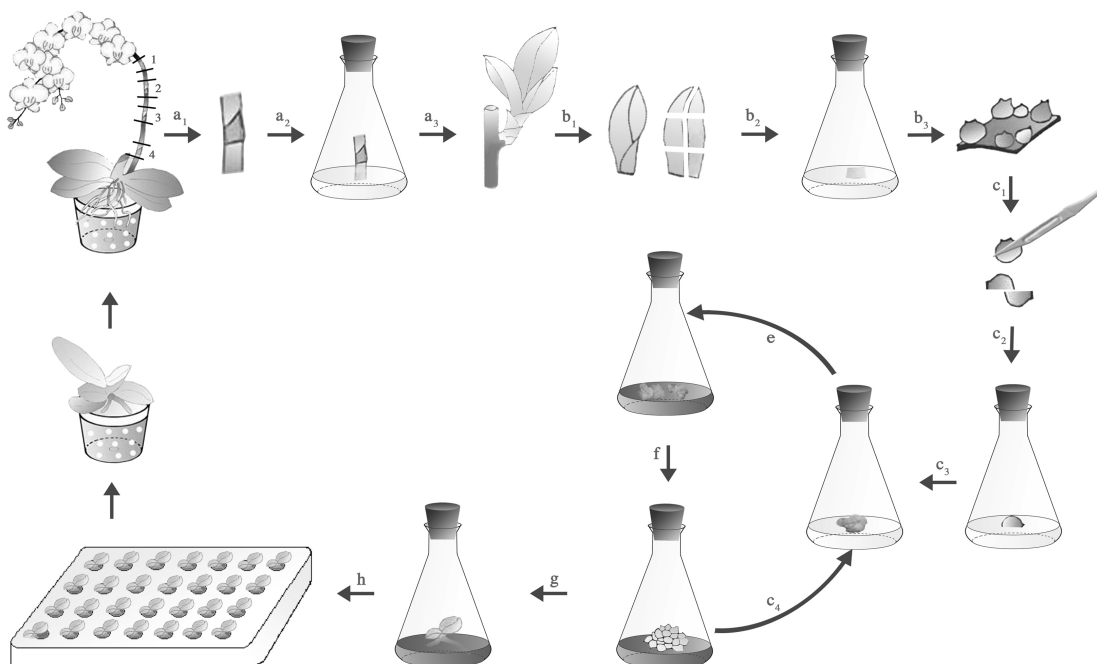
Để khảo sát ảnh hưởng của nước dừa và sucroza lên sự tăng sinh của mô sẹo và phát sinh phôi vô tính, mô sẹo sẽ được nuôi cấy trên các môi trường MS có bổ sung 2 mg/l BA kết hợp với 0,5 mg/l NAA; 1 g/l than hoạt tính; 20% (v/v) nước dừa và 0, 30, 60 g/l sucroza (lần lượt tương ứng với các môi trường C3, C4 và C5). Sau đó, các PLB được cảm ứng tạo thành từ phôi vô tính. Hai mẫu phôi vô tính 10 tuần tuổi được nuôi cấy trên môi trường phù hợp nhất (có trọng lượng tươi  $0,25 \pm 0,05$  g) được cấy vào môi trường có thành phần tương tự trong túi ni-lông và bình thủy tinh. PLB thu được sau 1,5 tháng và 3 tháng nuôi cấy. Để tái sinh cây con, những PLB màu xanh được chuyển sang môi trường Hyponex 3 g/l (6,5 N - 6 P - 19 K; Hyponex corporation, Marysville, Ohio 43041 U.S.A.) có bổ sung 0,5 mg/l IBA, 2 mg/l BA, 30 g/l đường sucrose, 15% (v/v) nước dừa và 9 g/l thạch; điều chỉnh độ pH của môi trường về 5,3. 10 PLB (có đường kính  $1,20 \pm 0,05$  mm) được cấy vào môi trường trong túi ni-lông và bình thủy tinh.

Các cây con thu được sau 3 tháng nuôi cấy được chuyển ra trồng ở vườn ươm.

Tất cả các môi trường được làm đặc với 9 g/l thạch, chỉnh độ pH của môi trường về 5,7; riêng môi trường tái sinh cây từ PLB có độ pH 5,3. Môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, 1 atm trong 35 phút.

### 2. Phương pháp

Chúng tôi bố trí 6 nghiệm thức để khảo sát ảnh hưởng của nước dừa và sucroza lên khả năng tăng sinh và phát sinh phôi của mô sẹo lan hồ điệp. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần sử dụng 10 bình thủy tinh và mỗi bình thủy tinh được cấy 70 mg mô sẹo. Sau 4 tuần, 5 tuần và 11 tuần, trọng lượng tươi mô sẹo và hình thái của phôi hình thành trên các môi trường được ghi nhận. Thí nghiệm đối với lan hồ điệp được lặp lại 3 lần; kết quả thí nghiệm được phân tích bằng Duncan's test (Duncan, 1995) với  $\alpha = 0,05$ . Sơ đồ tóm tắt thí nghiệm được trình bày ở hình 1.



**Hình 1.** Sơ đồ tóm tắt quy trình thí nghiệm

a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>. tạo lá *in vitro* từ phát hoa; b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>3</sub>. tạo PLB từ lá *in vitro*; c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub>, c<sub>3</sub>, c<sub>4</sub>. tạo mô sẹo từ PLB; e. tăng sinh mô sẹo; f. tạo PLB từ mô sẹo; g. tái sinh cây con từ PLB; h. chuyển cây con ra vườn ươm.

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Sự tăng sinh của mô sẹo lan hồ điệp

#### a. Ảnh hưởng của nước dừa lên sự tăng sinh của mô sẹo lan hồ điệp

Nước dừa là nguồn dinh dưỡng dồi dào, cung cấp nguồn đạm (từ nhiều loại acid amin, axit hữu cơ) và cacbohydrát (như glucoza, fructoza,

sucroza). Ngoài ra, trong nước dừa, còn chứa một số chất điều hoà sinh trưởng, được biết đến nhiều nhất là zeatin [1]. Do vậy, nước dừa thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy lan để đạt hiệu quả mong muốn. Trong trường hợp này, nước dừa được bổ sung vào môi trường nuôi cấy mô sẹo ở nồng độ 20% (v/v), giúp tăng sinh mô sẹo hiệu quả; 70 mg mô sẹo ban đầu sẽ tạo được 1286 mg sau 4 tuần (bảng 1).

Bảng 1

**Ảnh hưởng của nước dừa lên sự tăng sinh của mô sẹo lan hồ điệp sau 4 tuần**

Môi trường	Nước dừa (% v/v)	Trọng lượng tươi của mô sẹo (mg)
C0	—	498,3c*
C1	20	1286,0a
C2	40	532,9b

Ghi chú: \*. Những mẫu tự khác nhau được nêu trong các cột trên biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với a = 0,05 trong Duncan's test.

Khi không bổ sung nước dừa vào môi trường, mô sẹo của lan hồ điệp tăng sinh chậm; một số hóa nâu và chết. Như vậy, mô sẹo của lan hồ điệp cần nước dừa cung cấp nguồn đạm và cacbohydrát để tăng sinh. Kết quả này phù

hợp với nghiên cứu của một số tác giả trước đó [10]. Trên môi trường chứa 40% (v/v) nước dừa, mô sẹo tăng sinh chậm, một số mô sẹo hoá nâu trên môi trường. Như vậy, trong môi trường có bổ sung 40% (v/v) nước dừa, có thể đã cung cấp

hàm lượng đạm và cacbohydrát cao, do đó không phù hợp cho mô sẹo của lan hồ điệp tăng sinh. Hàm lượng đạm và cacbohydrát cao trong môi trường sẽ ức chế sự tăng sinh của mô sẹo; hàm lượng cacbohydrát cao làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường, gây ức chế sự sinh trưởng của tế bào mô sẹo. Từ kết quả thí nghiệm này, có thể chọn được nồng độ nước dừa thêm

vào môi trường tăng sinh khối mô sẹo là 20% (v/v).

b. *Ảnh hưởng của sucroza lên sự tăng sinh và biệt hoá của mô sẹo lan hồ điệp*

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của sucroza lên sự tăng sinh và biệt hoá của mô sẹo lan hồ điệp được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2

**Ảnh hưởng của sucroza lên sự tăng sinh của mô sẹo lan hồ điệp**

Môi trường	Sucroza (g/l)	Trọng lượng tươi của mô sẹo (mg)	
		5 tuần	11 tuần
C3	–	–	–
C4	30	1455,0a*	6080,0a
C5	60	751,4b	1049,6b

Ghi chú: như bảng 1.

Trong nuôi cấy mô thực vật, khi bổ sung nguồn cacbon dưới dạng đường vào môi trường, sẽ giúp mô và tế bào thực vật tổng hợp nên các chất hữu cơ, giúp tế bào phân chia và tăng sinh khối mà không cần quang hợp. Sucroza là nguồn cacbohydrát thường được sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật; đây là loại đường đôi khó phân huỷ.

Trên môi trường có bổ sung 30 g/l sucroza, mô sẹo có khả năng tăng sinh tốt; sau 5 tuần nuôi cấy, sẽ thu được 1455 mg mô sẹo từ 70 mg ban đầu. Trọng lượng tươi của mô sẹo tiếp tục tăng sau 11 tuần; mô sẹo trên môi trường tối xốp có màu vàng sáng, xuất hiện nhiều cụm lông. Trên môi trường có chứa 60 g/l sucroza, mô sẹo tăng sinh yếu; nhiều mô sẹo bị thâm tím, hoá đen và chết. Nguyên nhân do khi sucroza hiện diện ở nồng độ cao, đã làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường; các tế bào mô sẹo của lan hồ điệp trên môi trường lúc này bị mất nước và rối loạn biến dưỡng; như vậy, nồng độ 60 g/l sucroza trong môi trường không phù hợp cho tế bào mô sẹo lan hồ điệp sinh trưởng.

## 2. Sự phát sinh phôi vô tính của mô sẹo lan hồ điệp

a. *Ảnh hưởng của nước dừa lên sự phát sinh phôi vô tính của mô sẹo ở lan hồ điệp*

Nguồn đạm có ảnh hưởng đặc biệt đến sự phát sinh phôi. Khi nồng độ đạm trong môi trường giảm, phôi vô tính sẽ hình thành [14]. Nguồn đạm dồi dào thường được dùng là nước dừa, do trong nước dừa chứa rất nhiều axit amin.

Theo quan sát kết quả thí nghiệm, trên môi trường C3, mô sẹo tăng sinh chậm và không chuyển thành phôi sau 15 tuần nuôi cấy. Sau 11 tuần, phôi đã hình thành trên môi trường C1. Nhưng đối với môi trường C2 là sau 15 tuần. Như vậy, khi giảm hàm lượng nước dừa trong môi trường, sẽ giúp kích thích sự hình thành phôi vô tính của mô sẹo lan hồ điệp (bảng 1). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Price và Smith [14].

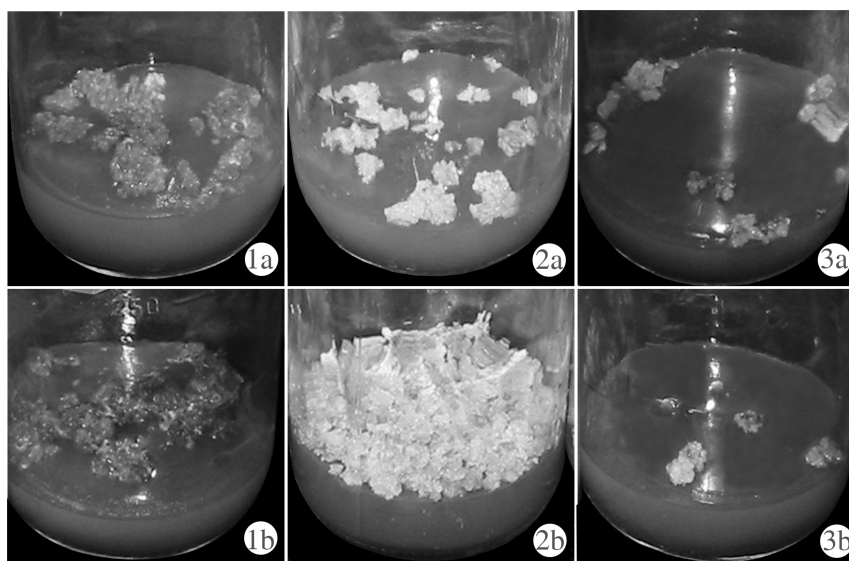
b. *Ảnh hưởng của sucroza lên sự phát sinh phôi vô tính của mô sẹo lan hồ điệp*

Bảng 3

**Trọng lượng tươi của PLB sau 5 tuần và 11 tuần nuôi cấy**

Môi trường	Sucroza (g/l)	Trọng lượng tươi của PLB (mg)	
		5 tuần	11 tuần
C3	–	1841,0 a*	3426,0 a
C4	30	–	–
C5	60	–	–

Ghi chú: như bảng 1.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của sucroza lên sự tăng sinh và biệt hoá của mô sẹo lan hồ điệp

1a, 1b. PLB của lan hồ điệp hình thành từ mô sẹo sau 5 tuần và 11 tuần nuôi cấy;  
 2a, 2b. mô sẹo của lan hồ điệp trên môi trường có chứa 30 g/l sucroza sau 5 tuần và 11 tuần nuôi cấy;  
 3a, 3b. mô sẹo của lan hồ điệp trên môi trường có chứa 60 g/l sucroza sau 5 tuần và 11 tuần nuôi cấy.

Trên các môi trường có chứa 30 g/l sucroza và 60 g/l sucroza, mô sẹo có màu vàng sáng và không phát sinh hình thái. Sau 11 tuần nuôi cấy, một số mô sẹo nằm phía ngoài khối mô sẹo trên môi trường có chứa 30 g/l sucroza chuyển màu xanh (hình 2). Trong khi đó, trên môi trường không bổ sung sucroza, toàn bộ mô sẹo chuyển thành màu xanh và hình thành PLB sau 5 tuần nuôi cấy.

Trong nhiều trường hợp, sucroza có tác dụng ức chế sự tổng hợp diệp lục tố của mô nuôi cấy, chẳng hạn ở rau diếp [4], ở thuốc lá [9]. Đối với lan hồ điệp, nồng độ 20 g/l sucrose sẽ gây ức chế sự tổng hợp diệp lục tố của tế bào [10]. Như vậy, sucroza hiện diện trong môi trường ở nồng

độ 30 g/l đã ức chế tế bào mô sẹo tổng hợp diệp lục tố, từ đó mô sẹo không có khả năng phát sinh hình thái. Trên môi trường không chứa sucroza, mô sẹo có khả năng tổng hợp diệp lục tố, phát triển lục lạp và biệt hoá thành PLB. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của nhiều tác giả trước đó [7, 13]. Như vậy, khi chuyển sang môi trường không bổ sung sucroza (C3), toàn bộ mô sẹo sẽ hình thành PLB. Môi trường này được chọn để tạo PLB từ mô sẹo của lan hồ điệp (hình 2 và bảng 3).

c. Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự phát sinh phôi vô tính cảm ứng tạo PLB từ phôi vô tính của mô sẹo lan hồ điệp

Bảng 4

**Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự cảm ứng tạo PLB từ phôi vô tính**

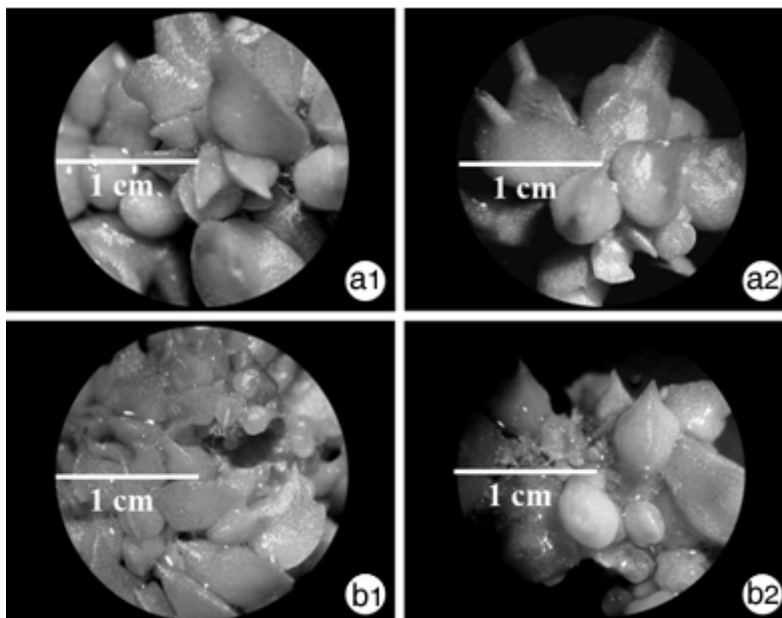
Tháng	Hệ thống nuôi cấy	Trọng lượng tươi của PLB (mg)	Số lượng PLB	Số lượng cây con	Ghi chú
1,5	NF	2019c*	107,4d	14,8b	Phôi có dạng cầu, màu xanh đậm
	C	1927d	113,0c	7,3d	Phôi có dạng cầu, màu xanh đậm
3	NF	3268b	161,5b	30,1a	Phôi màu xanh đậm, có lông trắng, xuất hiện một vài chồi
	C	3410a	166,8a	13,5c	Phôi màu xanh đậm, có lông trắng, xuất hiện một vài chồi

Ghi chú: như bảng 1.

Sau 4 tuần nuôi cấy, phôi có màu xanh đậm, trọng lượng tươi có sự gia tăng.

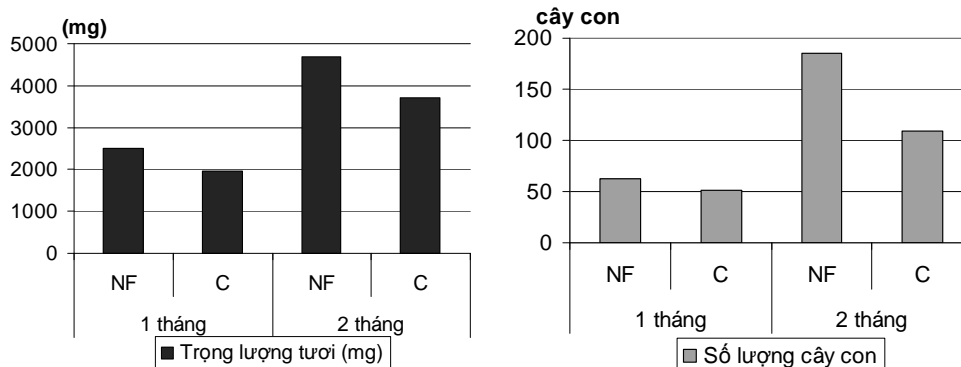
Sau 1,5 tháng và 3 tháng nuôi cấy, trọng lượng tươi và số lượng PLB hình thành trong hệ

thống NF gần như ngang bằng với hệ thống C. Số lượng cây con hình thành trực tiếp từ PLB trong hệ thống NF gấp khoảng 2 lần số lượng trong hệ thống C (bảng 4 và hình 3).



**Hình 3.** Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự phát sinh phôi vô tính và sự cảm ứng tạo PLB từ phôi vô tính của mô sẹo lan hồ điệp

a1, a2. PLB hình thành trong hệ thống NF sau 1,5 tháng và 3 tháng nuôi cấy;  
b1, b2. PLB hình thành trong hệ thống C sau 1,5 tháng và 3 tháng nuôi cấy.



**Hình 4.** Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự tái sinh cây con từ PLB của lan hồ điệp

### 3. Tái sinh cây con từ PLB và chuyển cây con ra vườn ươm

a. Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự tái sinh cây con từ PLB ở lan hồ điệp

Cả trọng lượng tươi và số lượng cây con hình thành trực tiếp từ PLB sau 1 tháng và 2 tháng nuôi cấy trong hệ thống NF đều cao hơn

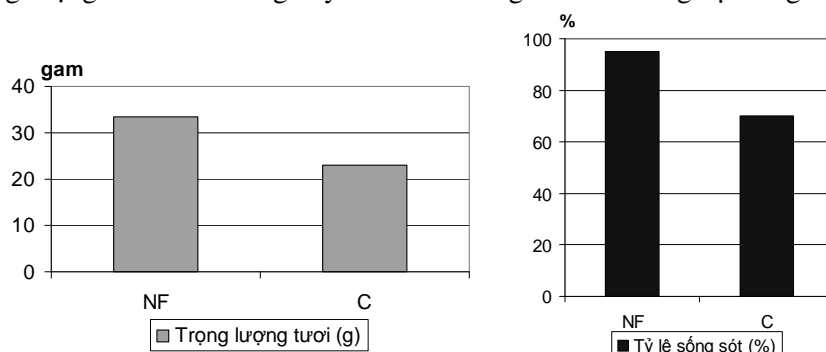
trong hệ thống C (hình 4).

b. Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên khả năng sống sót và phát triển của cây con lan hồ điệp

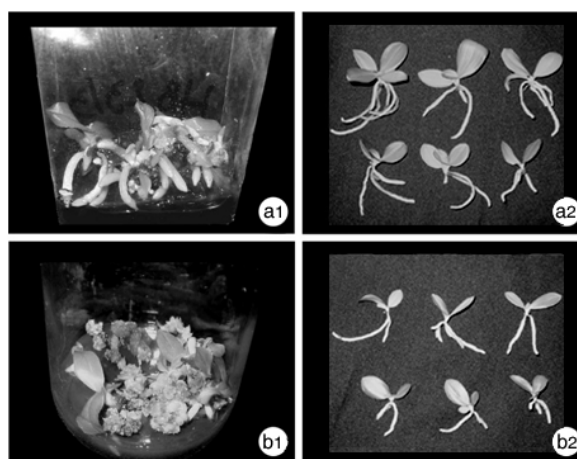
Sau 3 tháng nuôi cấy, cây con lan hồ điệp có nguồn gốc từ việc nuôi cấy trong hệ thống NF, có tỷ lệ sống cao (95%) hơn so với trong hệ

thống C (70%) sau 4 tuần được chuyển ra vườn ươm và trọng lượng tươi của những cây con có

nguồn gốc từ việc nuôi cấy trong hệ thống NF cũng cao hơn trong hệ thống C (hình 5, hình 6).



**Hình 5.** Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên khả năng sống sót và phát triển của cây con lan hồ điệp



**Hình 6.** Ảnh hưởng của hệ thống nuôi cấy lên sự tái sinh cây con từ PLB và khả năng sống sót, phát triển của cây con lan hồ điệp

a1, a2. sự tái sinh cây con lan hồ điệp từ PLB nuôi cấy trong hệ thống NF sau 3 tháng nuôi cấy và sau 4 tuần được chuyển ra vườn ươm; b1, b2. sự tái sinh cây con lan hồ điệp từ PLB nuôi cấy trong hệ thống C sau 3 tháng nuôi cấy và sau 4 tuần được chuyển ra vườn ươm

### III. KẾT LUẬN

Sau 5 tuần nuôi cấy, mô sẹo của lan hồ điệp [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] sẽ tăng sinh và đạt được trọng lượng tươi 1455 mg từ 70 mg mô sẹo ban đầu khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA, 2,0 mg/l BA, 20% (v/v) nước dừa, 1 g/l than hoạt tính và 30 g/l sucroza (C4). Trên cùng môi trường không có bổ sung sucroza, toàn bộ mô sẹo sẽ được chuyển thành PLB sau 5 tuần. Các PLB tạo được từ mô sẹo có thể ứng dụng vào nhiều mục đích nghiên cứu như tạo hạt nhân tạo, chuyển gen cây trồng. Chúng tôi cũng đã thành công trong việc sử dụng

hệ thống túi ni-lông (hệ thống NF) như một hệ thống nuôi cấy mới với giá thành thấp khi so sánh với hệ thống nuôi cấy truyền thống (hệ thống C) và đã sử dụng cho việc vi nhân giống cũng như giúp cải thiện chất lượng của cây con lan hồ điệp. Kết quả cho thấy số lượng cây con thu được ở hệ thống NF (185 cây) cao hơn so với ở hệ thống C (109 cây) sau 2 tháng nuôi cấy. Cây con lan hồ điệp có nguồn gốc từ việc nuôi cấy trong hệ thống NF có tỷ lệ sống cao (95%), không xảy ra biến dị hình thái trên lá và rễ sau 4 tuần được chuyển ra vườn ươm. Trong tương lai, quy trình này có thể được sử dụng cho mục đích sản xuất cây giống thương mại.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Arditti**, 1992: Fundamentals of orchid biology - John Wiley and Sons Inc., New York, U.S.A.
2. **Fast G.**, 1979: Die Orchidee, 30: 241-244.
3. **Haas-von Schumde N. F.**, 1983: Die Orchidee, 34: 242-248.
4. **Hildebrandt A. C., Wilmar J. C., Johns H., Ricker A. J.**, 1963: Am. J. Bot., 50: 248-254.
5. **Intuwong O., Kunisaki J. T., Sagawa Y.**, 1972: Hawaii orchid J., 1: 13-18.
6. **Intuwong O., Sagawa Y.**, 1974: Am. Orchid Soc. Bull., 43: 893-895.
7. **Ishii Y., Takamura I., Goi M., Tanaka M.**, 1997: Plant Cell Rep., 17: 446-450.
8. **Grout B. W. W., Grisp P.**, 1977: Acta Horticulturae, 78: 289-296.
9. **Kaul K., Sabharwal P.**, 1971: Plant Physiol., 47: 691-695.
10. **Kim S. Y.**, 1994: Somatic embryogenesis of Phalaenopsis - Ph. D. Thesis. Uni. of Hawaii, U.S.A.
11. **Kozai T., Iwanami Y.**, 1988: Journal of Japanese Society for Horticultural Sciences, 57: 279-288.
12. **Murashige T., Skoog F.**, 1962: Physiol. Plant, 15: 473-497.
13. **Park S. Y., Murthi H. N., Paek K. Y.**, 2000: Plant Cell Tiss. Org. Cult., 63: 67-72.
14. **Price H. J., Smith R. H.**, 1979: Planta, 145: 305-307.
15. **Rotor J. G.**, 1949: Am. Orchid Soc. Bull., 18: 738-739.
16. **Tanaka M., Sakanishi Y.**, 1977: Am. Orchid Soc. Bull., 46: 733-737.
17. **Tanaka M., Senda Y., Hasegawa A.**, 1976: Am. Orchid Soc. Bull., 45: 1022-1024.
18. **Zimmer K., Pieper W.**, 1979: Phalaenopsis-zur vegetativen Vermehrung. Grtebrse und Gartenwelt, 79: 258-260.

## INFLUENCES OF THE COCONUT WATER AND SUCROSE ON THE EMBRYOGENIC CALLUS INDUCTION AND THE CLONAL EMBRYO FORMATION OF *PHALAENOPSIS AMABILIS* (L.) BLUME

DUONG TAN NHUT, HONG NGOC TRAM,  
NGUYEN PHUC HUY, DINH VAN KHIEM

### SUMMARY

*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume (Orchidaceae) is one of many commercial valuable orchids as cut flowers and potted plants throughout the world. Considerable difficulties have been encountered in the clonal propagation of this orchid due to the characteristics ununiform and the limited plantlets number. In this paper, an established method of the *Phalaenopsis amabilis* propagation through embryogenesis callus was described. The *in vitro* leaves emerging from the flower stalk nodes were used for protocorm-like bodies (PLBs) induction. These PLBs were used for the embryogenesis callus (callus) induction. About 1455 mg calli without any morphological change were harvested from 70 mg calli on 30 ml MS medium supplemented with 2 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA, 20% (v/v) CW, 1 g/l activated charcoal (AC), 30 g/l sucrose and 9 g/l agar after 5 culture weeks of. On the same medium without sucrose, 70 mg calli produced 1841 mg PLB (approximately 200 PLBs) after 5 weeks of culture; data also showed that PLB fresh weight and quantity in the nylon film culture system (NF) were almost equal to that in conventional system (C). The hyponex medium supplemented with 0.5 mg/l NAA, 2 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 1 g/l AC and 15% (v/v) CW was used for the plantlet regeneration from PLB. The results showed that plantlet quantity obtained in NF system (185 plantlets) was higher than that in C system (109 plantlets) after 2 culture months. *Phalaenopsis amabilis* plantlets in NF system had much high survival rate (95%) than that in C system (70%) after 4 weeks transferred in the greenhouse.

Ngày nhận bài: 20-11-2008