

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM



TRẦN THANH HUYỀN

NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG  
*IN VITRO* LAN HOÀNG THẢO (*DENDROBIUM SONIA*)  
VÀ GIÁ THỂ ĐƯA CÂY RA NGOÀI TỰ NHIÊN

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN, NĂM 2012

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM



TRẦN THANH HUYỀN

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG  
*IN VITRO* LAN HOÀNG THẢO (*DENDROBIUM SONIA*)  
VÀ GIÁ THỂ ĐƯA CÂY RA NGOÀI TỰ NHIÊN**

**Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm**

**Mã số: 60.42.30**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. NGUYỄN THỊ TÂM**

**THÁI NGUYÊN, NĂM 2012**

## LỜI CẢM ƠN

*Trong quá trình thực hiện luận văn, tôi đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ của nhiều cá nhân và cơ quan đơn vị. Nay luận văn đã hoàn thành, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành, sâu sắc tới:*

*PGS. TS. Nguyễn Thị Tâm, người đã tận tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện, giúp đỡ tôi nghiên cứu và thực hiện đề tài.*

*Các thầy giáo, cô giáo thuộc Khoa Sinh - KTNN, Khoa Sau đại học, trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình giảng dạy và tạo mọi điều kiện cho tôi hoàn thành khóa học.*

*Các cán bộ, kỹ thuật viên phòng Công nghệ tế bào thực vật –Trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình hướng dẫn , giúp đỡ và tạo mọi điều kiện cho tôi thực hiện luận văn . Phòng Công nghệ tế bào thực vật - Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam đã cung cấp mẫu vật nghiên cứu.*

*Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn những người thân trong gia đình và bạn bè đã giúp đỡ và động viên tôi trong suốt thời gian học tập.*

*Thái Nguyên, tháng 8 năm 2012*

Học viên

Trần Thanh Huyền

## MỤC LỤC

<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Vài nét về phân loại và đặc điểm của phong lan .....</b>	<b>3</b>
1.1.1. Đặc điểm thực vật học của họ lan.....	3
1.1.2. Đặc điểm thực vật học của chi lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium</i> ) .....	4
1.1.3. Đặc điểm thực vật học của lan <i>Dendrobium Sonia</i> .....	4
<b>1.2. Ứng dụng của kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật trong công tác nhân giống cây trồng .....</b>	<b>5</b>
1.2.1. Các hướng nghiên cứu ứng dụng.....	5
1.2.2. Ưu thế của nhân giống <i>in vitro</i> .....	6
1.2.3. Các phương thức nhân giống <i>in vitro</i> .....	6
1.2.4. Quy trình nhân giống <i>in vitro</i> .....	8
<b>1.3. Một số nghiên cứu nhân giống lan bằng kỹ thuật nuôi cấy <i>in vitro</i> .....</b>	<b>9</b>
1.3.1. Các nghiên cứu trong nước.....	9
1.3.2. Các nghiên cứu của nước ngoài.....	11
<b>CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1. Vật liệu .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Phương pháp nghiên cứu .....</b>	<b>14</b>
2.2.1. Phương pháp pha môi trường và nuôi cấy.....	15
2.2.2. Nghiên cứu môi trường nuôi cấy.....	16
2.2.3. Phương pháp ra cây .....	17
2.2.4. Phương pháp tính toán kết quả.....	18
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1. So sánh ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy MS và Phytamax tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm lan Hoàng Thảo (<i>Dendrobium Sonia</i>) ....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm lan Hoàng Thảo (<i>Dendrobium Sonia</i>).....</b>	<b>20</b>

3.2.1. Ảnh hưởng của BAP tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) .....	20
3.2.2. Ảnh hưởng của kinetin lên sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) .....	23
<b>3.3. Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin tới sự phát sinh rễ lan Hoàng Thảo (<i>Dendrobium Sonia</i>) .....</b>	<b>26</b>
3.3.1. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng $\alpha$ -NAA đến sự phát sinh rễ của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	26
3.3.2. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng IAA đến sự phát sinh rễ của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	28
3.3.3. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng IBA đến sự hình thành rễ của lan Hoàng thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	29
<b>3.4. Ảnh hưởng của tổ hợp các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin và auxin đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo (<i>Dendrobium Sonia</i>).....</b>	<b>33</b>
3.4.1. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và $\alpha$ -NAA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	33
3.4.2. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và IAA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	34
3.4.3. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và IBA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	36
3.4.4. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và $\alpha$ -NAA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	38
3.4.5. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và IAA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	40
3.4.6. Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và IBA đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	41
<b>3.5. Ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo (<i>Dendrobium Sonia</i>) .....</b>	<b>44</b>
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>46</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>47</b>

## DANH MỤC CÁC BẢNG

<b>Bảng 2.1.</b> Thành phần cơ bản của môi trường MS.....	<b>13</b>
<b>Bảng 2.2.</b> Thành phần cơ bản của môi trường Phytamax.....	<b>14</b>
<b>Bảng 3.1.</b> So sánh ảnh hưởng của môi trường MS và Phytamax tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) .....	<b>19</b>
<b>Bảng 3.2.</b> Ảnh hưởng của BAP tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>22</b>
<b>Bảng 3.3.</b> Ảnh hưởng của kinetin tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>25</b>
<b>Bảng 3.4.</b> Ảnh hưởng của $\alpha$ -NAA tới sự phát sinh rễ ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>27</b>
<b>Bảng 3.5.</b> Ảnh hưởng của IAA tới sự phát sinh rễ ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>29</b>
<b>Bảng 3.6.</b> Ảnh hưởng của IBA tới sự phát sinh rễ ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>31</b>
<b>Bảng 3.7.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và $\alpha$ -NAA tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>33</b>
<b>Bảng 3.8.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và IAA tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>34</b>
<b>Bảng 3.9.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng BAP và IBA tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>37</b>
<b>Bảng 3.10.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và $\alpha$ -NAA tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) .....	<b>39</b>
<b>Bảng 3.11.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và IAA.....	<b>40</b>
<b>Bảng 3.12.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp chất kích thích sinh trưởng kinetin và IBA tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>42</b>
<b>Bảng 3.13.</b> Sự phát triển của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) trên một số giá thể ngoài môi trường nuôi cấy .....	<b>44</b>

**DANH MỤC CÁC HÌNH**

<b>Hình 1.1.</b> Lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>5</b>
<b>Hình 3.1.</b> So sánh ảnh hưởng của môi trường MS và Phytamax tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ) .....	<b>20</b>
<b>Hình 3.2.</b> Ảnh hưởng của BAP tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>23</b>
<b>Hình 3.3.</b> Ảnh hưởng của kinetin tới sự phát sinh chồi và tạo protocorm ở lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>26</b>
<b>Hình 3.4.</b> Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin tới sự phát sinh rễ của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>32</b>
<b>Hình 3.5.</b> Ảnh hưởng của tổ hợp các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin và cytokinin tới sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo ( <i>Dendrobium Sonia</i> ).....	<b>43</b>
<b>Hình 3.6.</b> Hình ảnh về sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo trên một số giá thể .....	<b>45</b>

**DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT**

$\alpha$ -NAA	$\alpha$ -naphthaleneacetic axit
ABA	Abscisic axit
BAP	Benzylamino purine
IAA	Indol axetic axit
IBA	Indol butyric axit
KC	Knudson C
MS	Murashige and Skoog
RE	Robert Ernst
VW	Vacin and Went



## MỞ ĐẦU

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Công nghệ nuôi cấy mô - tế bào thực vật đã trải qua hơn một trăm năm hình thành và phát triển, đem lại giá trị to lớn cho loài người. Hiện nay, hầu hết các cơ sở nghiên cứu giống cây trồng trên thế giới đều áp dụng công nghệ này với các mục đích khác nhau.

Ở Việt Nam, kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật đã được bắt đầu nghiên cứu và ứng dụng từ giữa những năm 70 của thế kỷ XX. Những kết quả bước đầu trong nghiên cứu và ứng dụng đã đạt kết quả khả quan đối với một số đối tượng cây trồng như chuối, khoai tây, mía, lúa..., đặc biệt là phong lan.

Việt Nam nằm trong khu vực nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm mưa nhiều, là điều kiện lý tưởng cho sự sinh trưởng và phát triển của hoa lan. Trong thế giới các loài hoa, hoa lan được ưa chuộng hơn cả. Hoa lan có đặc điểm là cấu hình lạ, màu sắc đẹp, độ bền hoa cao. Ngoài giá trị tinh thần thẩm mỹ, hoa lan còn có ý nghĩa lớn trong nền kinh tế quốc dân. Loài hoa này từ lâu đã được con người thuần hoá, sưu tầm, nhập nội, thuần dưỡng các giống ngoại và lai tạo để tạo ra hàng nghìn giống có màu sắc và hương thơm như ý muốn phục vụ nhu cầu của con người.

Việt Nam có hàng trăm loài lan được trồng rộng rãi trên khắp đất nước. Hoa lan như một loại cây quan trọng trong chuyển dịch cơ cấu cây trồng trong nông nghiệp đô thị và ven đô. Một số loại lan nhập nội đã nhanh chóng khẳng định ưu thế của nó và được phát triển với quy mô đáng kể, trong số đó phải kể đến lan Hoàng Thảo lai (*Dendrobium hybrids*). Lan Hoàng Thảo lai hấp dẫn người tiêu dùng bởi màu sắc và độ bền hoa, dễ trồng và đặc biệt có giá trị kinh tế cao, cho thu nhập lớn với ngành trồng hoa trong nước.

Song song với việc sưu tập, nhập nội các giống lan Hoàng Thảo lai (*Dendrobium hybrids*) thì việc nghiên cứu, hoàn thiện các biện pháp kỹ thuật để tạo điều kiện nâng cao năng suất, chất lượng là thực sự cần thiết. Đồng thời cần nhân rộng các mô hình trồng lan Hoàng Thảo lai (*Dendrobium hybrids*) tại miền Bắc Việt Nam nhằm phục vụ nhu cầu ngày càng lớn của thị trường. Trong nhóm lan *Dendrobium* thì *Dendrobium Sonia* (*Dendrobium Gracia Lewis* × *Dendrobium*

*Lady Constance*) là loài chủ lực để trồng nhằm mục đích cắt cành. Chính vì vậy, đề tài chọn *Dendrobium Sonia* là vật liệu nghiên cứu.

Xuất phát từ yêu cầu thực tế khách quan đó và để góp phần phát triển ngành nuôi trồng lan Hoàng Thảo có hiệu quả, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: **“Nghiên cứu môi trường nhân giống *in vitro* lan Hoàng Thảo (*Dendrobium Sonia*) và giá thể đưa cây ra ngoài tự nhiên”**

## 2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

- Xác định được môi trường tối ưu trong nhân giống *in vitro* lan Hoàng Thảo *Dendrobium Sonia*.

- Xác định được giá thể thích hợp để đưa cây lan Hoàng Thảo *Dendrobium Sonia* từ trong ống nghiệm ra môi trường tự nhiên.

## 3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường cơ bản MS và Phytamax đến sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo

- Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo.

- Nghiên cứu sự ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin đến phát sinh rễ và tạo cây hoàn chỉnh.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin và nhóm cytokinin lên sự sinh trưởng của lan Hoàng Thảo.

- Nghiên cứu tìm ra loại giá thể thích hợp nhất cho ra cây lan Hoàng Thảo (xơ dừa, tảo, than củi ...).