

BREEDING OF DOUBLE FLOWER HIPPEASTRUM (*Hippeastrum* sp.) BY BULB CUTTING

Vi Thi Xuan Thuy^{1*}, Luong Huu Hung²

¹Tay Bac University, ²Chieng Sinh High School, Son La

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 27/02/2023	The double <i>hippeastrum</i> is being interested in by flower players, but the bulb supply is limited and the bulb's price is expensive. Therefore, researching clonal propagation with a fast multiplier and short time to meet the demand for the double <i>hippeastrum</i> for our country is an urgent requirement. Soaking the split tubers in BAP with different concentrations for 30 minutes, results showed that BAP 2.0 mg/l was suitable for bud regeneration the slicing pieces method; the scale of bulb method was 1.0 mg/l and the slicing 2/3 bulb method was BAP 2.5 mg/l. Soaking the split tubers in BAP combined with α -NAA at different concentrations for 30 minutes, the results showed that BAP 2.0 mg/l combined with α -NAA 0.6 mg/l was suitable to create multiple shoots of the slicing pieces method, reaching 4.31 shoots/sample; the scale of bulb method BAP 1.0 mg/l and α -NAA 0.6 mg/l was the best reaching 3.91 shoots/sample; the slicing 2/3 bulb method BAP 2.5 mg/l with α -NAA 0.6mg/l was the best reaching 4.21 shoots/sample. The shoots of the split tubers were sprayed with different concentrations of α -NAA at a frequency of every 5 days, the results showed that α -NAA 0.4 mg/l was the most suitable for rooting of slicing pieces and slicing 2/3 bulb methods; the scale of bulb method α -NAA 0.6mg/l was the most suitable. Tribat medium was the best for the growth of the double <i>hippeastrum</i> .
Revised: 19/4/2023	
Published: 28/4/2023	
KEYWORDS	
BAP	
The double <i>hippeastrum</i>	
Slicing pieces	
Scale of bulb	
α -NAA	

NHÂN GIỐNG LAN HUỆ (*Hippeastrum* sp.) HOA CÁNH KÉP BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHẸ CỤ

Vi Thị Xuân Thủy^{1*}, Lương Hữu Hùng²

¹Trường Đại học Tây Bắc, ²Trường THPT Chiềng Sinh, Sơn La

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 27/02/2023	Hiện nay, Lan huệ (<i>Hippeastrum</i> sp.) hoa cánh kép đang được người chơi hoa ưa chuộng, nhưng giống chủ yếu được nhập ngoại với giá thành cao, số lượng hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu nhân giống vô tính có hệ số nhân nhanh, thời gian ngắn để đáp ứng được nhu cầu về giống Lan huệ cánh kép cho thị trường nước ta là một yêu cầu cấp thiết. Ngâm các mảnh chẻ củ trong BAP với nồng độ khác nhau trong thời gian 30 phút, kết quả thu được BAP thích hợp cho tái sinh chồi từ các mảnh củ chẻ bỏ miềng là 2,0 mg/l, chẻ một vảy rời là 1,0 mg/l và chẻ 2/3 củ ở nồng độ 2,5 mg/l. Ngâm các mảnh chẻ củ trong BAP kết hợp với α -NAA ở nồng độ khác nhau trong thời gian 30 phút, kết quả cho thấy BAP 2,0 mg/l kết hợp với α -NAA 0,6 mg/l là thích hợp nhất cho tạo đa chồi mảnh chẻ bỏ miềng, đạt 4,31 chồi/ mẫu, mảnh chẻ một vảy rời là BAP 1,0 mg/l và α -NAA 0,6mg/l đạt 3,91 chồi/ mẫu, còn chẻ 2/3 củ BAP 2,5 mg/l với α -NAA 0,6mg/l đạt 4,21 chồi/ mẫu. Phun α -NAA nồng độ khác nhau vào chồi các mảnh chẻ với tần suất 5 ngày/lần. Kết quả thu được, α -NAA 0,4 mg/l là thích hợp nhất cho ra rễ mảnh củ chẻ bỏ miềng và chẻ 2/3 củ, còn chẻ một vảy rời α -NAA 0,6 mg/l là thích hợp nhất. Tribat là giá thể tốt nhất cho sinh trưởng của cây con Lan huệ cánh kép nghiên cứu.
Ngày hoàn thiện: 19/4/2023	
Ngày đăng: 28/4/2023	
TỪ KHÓA	
BAP	
Lan huệ cánh kép	
Chẻ bỏ miềng	
Chẻ một vảy rời	
α -NAA	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7434>

* Corresponding author. Email: xuanthuy@utb.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây Lan huệ (*Hippeastrum* sp.) có nguồn gốc từ Nam Mỹ, đây là loài cây có khả năng chịu nhiệt tốt nên được trồng phổ biến ở các vùng nhiệt đới, á nhiệt đới và thích nghi với nhiều vùng sinh thái ở Việt Nam. Lan huệ còn được gọi với các tên khác như cây hoa loa kèn, cây mặc chu lan, cây tứ diện... thuộc chi *Hippeastrum*, họ Amaryllidaceae. Họ Amaryllidaceae là loài cây có hoa đẹp với nhiều màu sắc khác nhau, thích hợp trồng trong vườn, hoa trồng trong chậu hoặc cắt cành vì vậy có một vị trí quan trọng trong nghề trồng hoa [1], [2].

Hoa Lan huệ bông to, nhiều màu sắc đẹp (đỏ, hồng, trắng, vàng và pha sọc các màu với nhau như: đỏ sọc trắng, hồng đào, hồng tươi, sọc trắng hồng...), hình dạng phong phú, thời gian nở hoa kéo dài khoảng nửa tháng..., nên ngày nay Lan huệ được trồng khá phổ biến ở Việt Nam dạng thảm trang trí hay trồng chậu [3], [4]. Hiện nay trên thị trường, Lan huệ ngày càng đa dạng về màu sắc, hình dạng và chủng loại [5].

Theo phương pháp thông thường, Lan huệ được nhân giống chủ yếu từ củ con sinh ra từ củ mẹ. Tùy từng giống/loài mà một củ trưởng thành trong một năm có thể sinh ra 10-15 củ con. Nhưng các giống mới nhập có hoa đẹp được thị trường ưa chuộng thì số củ con sinh ra rất ít, trung bình đạt 0,9-5 củ con/củ mẹ/năm, thậm chí có giống không tạo củ mới. Cây Lan huệ có khả năng sinh sản hữu tính, phương pháp này thường được áp dụng khi tạo vật liệu khởi đầu cho công tác chọn tạo giống do có sự phân ly về hình dạng, màu sắc hoa ở cây con và thời gian dài [2], [6]. Do đó, hiện nay nguồn cung cấp giống còn hạn chế, giá giống mới ngoại nhập khá cao nên thị trường hoa Lan huệ chưa được phát triển như tiềm năng và chưa đáp ứng được nhu cầu của người chơi hoa.

Để đáp ứng được nhu cầu giống Lan huệ, một số nghiên cứu nhân giống vô tính nhằm giữ được các đặc tính giống như cây mẹ đã được công bố. Phạm Đức Trọng và cộng sự (2014) đã nhân nhanh *in vitro* sáu dòng hoa Lan huệ lai cánh đơn (hoa 6 cánh) [7]. Phạm Thị Minh Phượng và cộng sự (2014) đã nhân thành công 3 giống Lan huệ cánh đơn bằng phương pháp chẻ củ thành 32 mảnh thu được 53,3 chồi/củ với tác động chất kích thích ở giai đoạn ra rễ [6]. Trên thị trường ngày nay, dạng hoa bán kép hoặc cánh kép (số cánh lớn hơn 6) đang được người chơi hoa ưa chuộng, giá bán củ giống hoa Lan huệ cánh kép thường cao hơn so với các giống hoa cánh đơn rất nhiều lần [8], [9]. Nhiều giống Lan huệ có hoa cánh kép là kết quả của tạo giống bằng con đường đa bội hóa, thường là có bộ nhiễm sắc thể tứ bội [10], [11] và lai tạo với các loài hoa khác tạo nên tập đoàn Lan huệ với kích thước hoa lớn, có hương thơm, màu sắc đa dạng, hình dạng cánh hoa phong phú [12], [13]. Hiện nay, các giống Lan huệ kép chủ yếu được nhập ngoại với giá thành cao, số lượng hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu nhân giống vô tính có hệ số nhân nhanh, thời gian ngắn để đáp ứng được nhu cầu về giống Lan huệ cánh kép cho thị trường nước ta là một yêu cầu cấp thiết.

2. Vật liệu, phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng củ của Lan huệ cánh kép có tên Lurline's Wonder (Hình 1) do nhà vườn Lan huệ Yến Phương (tổ 6 phường Chiềng Sinh, thành phố Sơn La) cung cấp làm vật liệu nghiên cứu.



Hình 1. Ảnh cây và hoa Lan huệ cánh kép Lurline's Wonder

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chế củ: Thí nghiệm thực hiện 3 phương pháp chế củ khác nhau:

Chẻ bỏ miềng: Chẻ củ thành các mảnh rời nhau với kích thước 1 cm ở vị trí mảnh rộng nhất (Hình 2A).

Chẻ một vảy rời: Chẻ các mảnh gồm 1 vảy, kích thước mỗi mảnh chẻ ở vị trí mảnh rộng nhất 1 cm (hình 2B).

Chẻ 2/3 củ: Chẻ củ từ mặt gốc đến 2/3 củ, kích thước mỗi mảnh chẻ ở vị trí mảnh rộng nhất 1 cm (hình 2C).

Các mảnh chẻ được xử lý bằng Pro-Thiram 80 WP với nồng độ 1g/lít trong 30 giây để diệt khuẩn và nấm.



Hình 2. Các phương pháp chế củ: (A) chẻ bỏ miềng, (B) chẻ một mảnh rời, (C) chẻ 2/3 củ

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi: Ngâm các mảnh chế củ trong benzylaminopurine (BAP) với nồng độ khác nhau (0,0-2,5 mg/l) trong thời gian 30 phút, rồi giâm trên cát sạch. Thí nghiệm gồm 30 mảnh/công thức, lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ mảnh tái sinh chồi, thời gian xuất hiện chồi, số chồi/mẫu.

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP và α -NAA đến khả năng tạo nhiều chồi: Sau khi xác định được nồng độ BAP thích hợp đến khả năng tái sinh chồi ở các loại mảnh chế củ khác nhau, tiến hành bổ sung α -naphthaleneacetic acid (α -NAA) với các nồng độ 0,0 – 0,8 mg/l trong thời gian 30 phút, rồi giâm trên cát sạch. Thí nghiệm 30 mảnh/công thức, lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm số chồi/mẫu, chất lượng chồi, thời gian đến khi các mẫu trong lô thí nghiệm xuất hiện chồi.

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến khả năng tạo rễ: Sau khi các mẫu trong các lô thí nghiệm xuất hiện chồi, tiến hành phun α -NAA với nồng độ khác nhau (0,0 – 0,8 mg/l), tần suất phun 5 ngày/ lần. Thí nghiệm 30 chồi/công thức, lặp lại 3 lần. Sau 20 ngày theo dõi các chỉ tiêu: số rễ/chồi, chiều dài rễ dài nhất, thời gian sinh trưởng đến khi cây được 2 lá thật.

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể tới sinh trưởng của cây con ở giai đoạn ra cây: Khi cây được 2 lá thật, nghiên cứu loại giá thể đóng bầu thích hợp cho cây con, sử dụng 5 công thức với các giá thể, tỷ lệ phối trộn khác nhau như sau:

Công thức 1: 5 Đất đồi - 3 Cát - 2 Phân vi sinh *Công thức 2:* 5 Đất đồi - 3 Xơ dừa - 2 Phân vi sinh

Công thức 3: 5 Đất đồi - 3 Trấu - 2 Phân vi sinh *Công thức 4:* 5 Đất đồi - 3 Trấu hun - 2 Phân vi sinh

Công thức 5: Giá thể Tribat (do công ty TNHH Công nghệ sinh học Sài Gòn xanh cung cấp).

Thí nghiệm được bố trí 30 bầu/công thức, mỗi bầu 1 cây. Các chỉ tiêu theo dõi gồm tỷ lệ cây con sống (%), thời gian sinh trưởng cây 5 lá thật có đường kính củ 1 cm (thời gian ra vườn ươm), sinh trưởng cây con.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi

Sự sinh trưởng của mẫu thực vật phụ thuộc rất nhiều vào các chất điều hòa sinh trưởng. BAP là một loại thuộc nhóm cytokinin có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và kích thích sự

hình thành chồi [4], [14]. BAP được sử dụng để nghiên cứu đến khả năng tái sinh chồi các mảnh chẻ của Lan huệ cánh kép nghiên cứu, được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi các mảnh chẻ của Lan huệ cánh kép nghiên cứu

Công thức		Nồng độ BAP (mg/l)	Tỷ lệ mảnh tái sinh chồi (%)	Thời gian xuất hiện chồi (ngày)	Số chồi/ mẫu
Chẻ bỏ miếng	CT1	0,0	43,33 ^d	45	1,21 ^e
	CT2	0,5	67,78 ^c	37	1,51 ^d
	CT3	1,0	77,78 ^{bc}	31	1,80 ^c
	CT4	1,5	82,22 ^b	28	2,20 ^b
	CT5	2,0	91,11^a	21	2,60^a
	CT6	2,5	81,11 ^b	21	2,47 ^{ab}
Chẻ một vảy rời	CT1	0,0	21,11 ^e	54	1,17 ^d
	CT2	0,5	62,22 ^c	42	1,41 ^c
	CT3	1,0	81,11^a	30	2,11^a
	CT4	1,5	77,78 ^{ab}	27	1,91 ^{ab}
	CT5	2,0	75,55 ^b	24	1,89 ^{ab}
	CT6	2,5	66,67 ^c	21	1,81 ^{ab}
Chẻ 2/3 củ	CT1	0,0	62,22 ^d	43	1,30 ^e
	CT2	0,5	67,78 ^d	36	1,61 ^d
	CT3	1,0	80,00 ^{bc}	32	1,90 ^c
	CT4	1,5	84,44 ^{bc}	30	2,11 ^{bc}
	CT5	2,0	88,89 ^b	29	2,20 ^b
	CT6	2,5	94,44^a	26	2,41^a

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả tại bảng 1 cho thấy, ở phương pháp chẻ bỏ miếng, khi xử lý các mảnh chẻ trong BAP với nồng độ tăng dần từ 0,5 đến 2,0 mg/l thì khả năng tái sinh chồi cũng tăng từ 43,33% lên 91,11%, nhưng khi tăng BAP lên 2,5 mg/l thì có xu hướng giảm. Thời gian xuất hiện chồi cũng giảm dần khi tăng nồng độ BAP, ở công thức không xử lý BAP thời gian xuất hiện chồi 45 ngày, còn ở công thức xử lý BAP 2,0 mg/l là 21 ngày. Số chồi/mẫu ở công thức đối chứng đạt 1,2 chồi; ở công thức bổ sung BAP 2,0 mg/l đạt 2,60 chồi/mẫu. Như vậy, bổ sung BAP 2,0 mg/l là tốt nhất cho tái sinh chồi ở phương pháp chẻ bỏ miếng.

Ở phương pháp chẻ một vảy rời, kết quả tái sinh tốt nhất ở nồng độ BAP 1,0 mg/l đạt 81,11%. Thời gian xuất hiện chồi ở công thức không bổ sung BAP là 54 ngày còn ở công thức xử lý BAP 2,5 mg/l còn có 21 ngày. Ở công thức đối chứng đạt 1,17 chồi/mẫu; ở công thức bổ sung BAP 1,0 mg/l có số chồi cao nhất, đạt 2,11 chồi/ mẫu và công thức bổ sung BAP 2,5 mg/l thì số chồi chỉ đạt 1,81. Như vậy, bổ sung BAP 1,0 mg/l là tốt nhất cho tái sinh chồi ở phương pháp chẻ một vảy rời. Ở phương pháp chẻ 2/3 củ, khi xử lý trong BAP với nồng độ tăng dần từ 0,5 đến 2,5 mg/l thì khả năng tái sinh chồi cũng tăng từ 62,22% lên 94,44%. Thời gian xuất hiện chồi ở công thức không xử lý BAP là 43 ngày, còn xử lý BAP 2,5 mg/l còn 26 ngày giảm được 17 ngày. Số chồi/mẫu ở đối chứng đạt 1,30 chồi, còn ở công thức bổ sung BAP 2,5 mg/l đạt 2,41 chồi (cao gấp 1,83 lần đối chứng). Như vậy, bổ sung BAP 2,5 mg/l là tốt nhất cho tái sinh chồi ở chẻ 2/3 củ.

Có thể nhận thấy, BAP có ảnh hưởng tốt đến khả năng tái sinh chồi của các mảnh củ chẻ Lan huệ hoa cánh kép và có sự khác nhau ở các phương pháp chẻ. Kết quả này có thể do, diện tích tiếp xúc các mảnh củ của các phương pháp chẻ khác nhau với BAP là khác nhau. Các kết quả nồng độ BAP thích hợp cho tái sinh chồi được sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và α -NAA đến khả năng tạo đa chồi

Chất, tỷ lệ các chất điều hòa sinh trưởng thích hợp là một trong những yếu tố quan trọng trong tạo chồi ở thực vật. Đặc biệt là tỷ lệ giữa hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng auxin và cytokinin

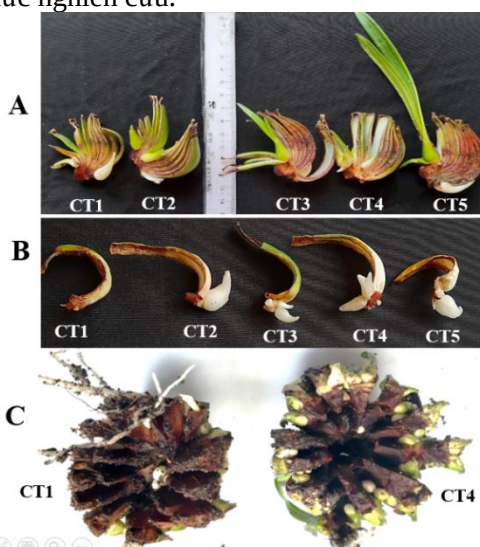
liên quan đến khả năng biệt hóa chồi thường xuyên. Sự kết hợp giữa hai nhóm chất này ở nồng độ thích hợp có hiệu quả cao trong việc nhân nhanh chồi và tăng chất lượng chồi [4], [14]. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và α -NAA lên khả năng tạo đa chồi các mảnh chẻ Lan huệ hoa cánh kép được thực hiện, kết quả được trình bày ở bảng 2, hình 3.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và α -NAA đến khả năng tạo đa chồi các mảnh chẻ của Lan huệ cánh kép nghiên cứu

Công thức		Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ α -NAA	Số chồi/ mẫu	Thời gian xuất hiện chồi ở tất cả các mẫu (ngày)	Chất lượng chồi
Chẻ bổ miếng	CT1	2,0	0,0	2,61 ^c	30	Mập mạp, khô
	CT2	2,0	0,2	2,81 ^{cb}	31	Mập mạp, khô
	CT3	2,0	0,4	3,09 ^b	30	Mập mạp, khô
	CT4	2,0	0,6	4,31 ^a	31	Mập mạp, khô
	CT5	2,0	0,8	3,39 ^{ab}	31	Mập mạp, khô
Chẻ một vảy rời	CT1	1,0	0,0	2,11 ^c	41	Mập mạp, khô
	CT2	1,0	0,2	2,82 ^{bc}	42	Mập mạp, khô
	CT3	1,0	0,4	3,34 ^b	42	Mập mạp, khô
	CT4	1,0	0,6	3,91 ^a	42	Mập mạp, khô
	CT5	1,0	0,8	3,19 ^b	42	Mập mạp, khô
Chẻ 2/3 củ	CT1	2,5	0,0	2,39 ^d	35	Mập mạp, khô
	CT2	2,5	0,2	2,81 ^c	36	Mập mạp, khô
	CT3	2,5	0,4	3,18 ^b	36	Mập mạp, khô
	CT4	2,5	0,6	4,21 ^a	36	Mập mạp, khô
	CT5	2,5	0,8	3,37 ^{ab}	35	Mập mạp, khô

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả bảng 2 và hình 3 cho thấy, tỷ lệ giữa BAP và α -NAA có ảnh hưởng đến khả năng tạo đa chồi các mảnh chẻ của Lan huệ cánh kép nghiên cứu, đồng thời có sự khác nhau giữa các phương pháp chẻ và công thức nghiên cứu.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và α -NAA đến khả năng tạo đa chồi của mảnh chẻ bổ miếng (A) chẻ một vảy rời (B) chẻ 2/3 củ (C) Lan huệ cánh kép nghiên cứu

Ở phương pháp chẻ bổ miếng, khi chỉ xử lý BAP 2,0 mg/l được 2,61 chồi/mẫu nhưng khi bổ sung α -NAA ở các nồng độ khác nhau thì số chồi/mẫu tăng lên, đạt cao nhất ở nồng độ 0,6 mg/l α -NAA được 4,31 chồi/mẫu, chồi mập mạp, sinh trưởng khỏe. Khi tăng α -NAA lên 0,8 mg/l thì số chồi/mẫu lại giảm xuống còn 3,39 chồi, vậy xử lý các mảnh củ ở BAP 2,0 mg/l kết hợp với α -NAA 0,6 mg/l cho số chồi cao nhất. Kết quả của phương pháp chẻ một vảy rời chỉ xử lý BAP 1,0

mg/l thu được 2,11 chồi/mẫu. Khi bổ sung thêm α -NAA ở các nồng độ khác nhau thì số chồi/mẫu tăng lên và đạt cao nhất ở nồng độ α -NAA 0,6 mg/l đạt 3,91 chồi, chồi mập mạp, khỏe. Ở công thức BAP 1,0 mg/l kết hợp với α -NAA 0,8 mg/l thì số chồi/mẫu giảm còn 3,19 chồi, vậy xử lý các mảnh củ ở BAP 1,0 mg/l và α -NAA 0,6 mg/l cho số chồi cao nhất. Ở phương pháp chẻ 2/3 củ khi chỉ xử lý BAP 2,5 mg/l được 2,39 chồi/mẫu. Còn các công thức bổ sung α -NAA ở các nồng độ khác nhau thì số chồi/mẫu tăng lên, đạt cao nhất ở nồng độ 0,6 mg/l α -NAA được 4,21 chồi/mẫu, chồi mập mạp, khỏe.

Thời gian xuất hiện chồi ở tất cả các mảnh chẻ là chỉ tiêu quan trọng ảnh hưởng đến thời gian nhân giống. Kết quả tại bảng 2 cho thấy, trong cùng phương pháp chẻ củ thì thời gian xuất hiện chồi ở các mẫu dao động không lớn. Thời gian xuất hiện chồi ở công thức bổ chẻ miếng là ngắn nhất với 31 ngày, chẻ 2/3 củ là 36 ngày và chẻ một vảy rời là dài nhất với 42 ngày.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến khả năng tạo rễ

Chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin có vai trò quan trọng trong phát sinh rễ của thực vật. Bôi auxin có tác dụng kích thích sự phân hóa rễ ở nồng độ thích hợp. α -NAA là chất thuộc nhóm auxin được sử dụng phổ biến trong nhân giống [15]. Ảnh hưởng của α -NAA tới hình thành rễ của các mảnh chẻ đã được khảo sát, kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến khả năng ra rễ của các mảnh chẻ của Lan huệ cánh kép sau nghiên cứu

Công thức		Nồng độ α -NAA	Thời gian chồi có 2 lá thật (ngày)	Số rễ/ chồi	Chiều dài rễ dài nhất (cm)	Chất lượng chồi
Chẻ bổ miếng	CT1	0,0	30	1,51 ^d	12,1 ^c	Xanh, mập
	CT2	0,2	25	2,22 ^c	17,2 ^b	Xanh thẫm, mập
	CT3	0,4	20	3,20 ^a	21,3 ^a	Xanh thẫm, mập
	CT4	0,6	22	2,81 ^b	20,1 ^{ab}	Xanh thẫm, mập
	CT5	0,8	24	2,50 ^{bc}	18,4 ^b	Xanh thẫm, mập
Chẻ một vảy rời	CT1	0,0	40	1,32 ^d	6,1 ^{cd}	Chồi trắng, mập
	CT2	0,2	35	1,78 ^c	7,8 ^c	Xanh, mập
	CT3	0,4	33	2,72 ^{ab}	11,2 ^b	Xanh thẫm, mập
	CT4	0,6	30	3,11 ^a	13,6 ^a	Xanh thẫm, mập
	CT5	0,8	30	2,61 ^{abc}	11,1 ^b	Xanh, mập
Chẻ 2/3 củ	CT1	0,0	31	1,41 ^d	12,1 ^c	Xanh, nhỏ
	CT2	0,2	26	2,11 ^{bc}	16,4 ^b	Xanh, mập
	CT3	0,4	20	2,82 ^{ab}	21,4 ^a	Xanh thẫm, mập
	CT4	0,6	24	2,63 ^{ab}	17,8 ^b	Xanh thẫm, mập
	CT5	0,8	25	2,54 ^{abc}	12,4 ^c	Xanh, mập

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test)



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến khả năng ra rễ của mảnh chẻ một vảy rời (A) chẻ 2/3 củ (B) Lan huệ cánh kép nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy, số lượng rễ, chiều dài rễ và chất lượng chồi của các mảnh chẻ Lan huệ cánh kép nghiên cứu có sự khác nhau giữa các công thức phun α -NAA với nồng độ khác nhau. Các mảnh chẻ bổ miếng khi không phun α -NAA, mảnh chẻ có số rễ/chồi đạt

1,51 rễ, chiều dài 12,1 cm với chồi xanh, mập. Khi phun α -NAA ở nồng độ 0,4 mg/l cho số lượng rễ/chồi hình thành cao nhất là 3,20 rễ (gấp 2,12 lần đối chứng), chiều dài rễ dài nhất đạt 21,3 cm, chồi xanh thẫm, mập mạp, thời gian chồi có 2 lá thật là 20 ngày. Khi tăng nồng độ α -NAA thì số lượng rễ/chồi, chiều dài rễ dài nhất có xu hướng giảm. Các mảnh chẻ một vảy cũng ra rễ tốt nhất khi xử lý α -NAA ở nồng độ 0,6 mg/l cho số lượng rễ/chồi hình thành cao nhất là 3,11 rễ, chiều dài rễ đạt 13,6 cm, chồi xanh thẫm, mập mạp, thời gian chồi có 2 lá thật để đáp ứng tiêu chuẩn ra cây cũng ngắn nhất trong các công thức nghiên cứu là 30 ngày (Hình 4A). Khi tăng nồng độ α -NAA thì số lượng rễ/chồi, chiều dài rễ dài nhất cũng có xu hướng giảm. Ở các mảnh chẻ 2/3 củ phun α -NAA ở nồng độ 0,4 mg/l cho số lượng rễ/chồi hình thành cao nhất là 2,82 rễ, chiều dài rễ đạt 21,4 cm, chồi xanh thẫm, mập mạp, thời gian chồi có 2 lá thật là 20 ngày (Hình 4B). Cũng tương tự, khi tăng nồng độ α -NAA thì số lượng rễ/chồi, chiều dài rễ dài nhất có xu hướng giảm.

3.4. Ảnh hưởng của giá thể tới sinh trưởng của cây con ở giai đoạn ra cây

Giá thể là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây con. Ảnh hưởng của giá thể tới sinh trưởng của cây con ở giai đoạn ra cây đã được khảo sát, kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của giá thể tới sinh trưởng của cây Lan huệ cánh kép con ở giai đoạn ra cây

Công thức		Tỷ lệ sống (%)	Thời gian cây ra vườn ươm (ngày)	Sinh trưởng của cây con
Chẻ bổ miếng	CT1	91,76 ^a	39	Cây thấp, còi, sinh trưởng chậm
	CT2	64,38 ^{bc}	35	Cây thấp, còi, sinh trưởng chậm
	CT3	69,22 ^{bc}	34	Cây thấp, còi, sinh trưởng trung bình
	CT4	72,83 ^b	35	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT5	89,22 ^a	32	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
Chẻ một vảy rời	CT1	62,16 ^b	60	Cây thấp, còi, sinh trưởng chậm
	CT2	52,22 ^c	53	Cây thấp, còi, sinh trưởng chậm
	CT3	67,11 ^b	52	Cây thấp, còi, sinh trưởng trung bình
	CT4	70,22 ^b	46	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT5	76,11 ^a	45	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
Chẻ 2/3 củ	CT1	91,76 ^a	37	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT2	65,38 ^c	35	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT3	69,22 ^{bc}	33	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT4	72,83 ^b	30	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt
	CT5	92,32 ^a	28	Cây cao, mập, sinh trưởng tốt

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, ở phương pháp chẻ bổ miếng trong các loại giá thể nghiên cứu, giá thể ở công thức 1 (5 Đất đồi - 3 Cát đen - 2 Phân vi sinh) và công thức 5 dùng giá thể Tribat có tỷ lệ sống cao nhất lần lượt là 91,76% và 89,22%, sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Tuy nhiên, ở công thức 1, cây con lại sinh trưởng chậm, cây thấp còi; còn ở công thức 5, cây sinh trưởng tốt, mập, thời gian sinh trưởng đến khi cây đạt 5 lá thật, củ con có đường kính 1 cm (để ra cây trên vườn ươm) ngắn nhất 32 ngày. Ở lô thí nghiệm chẻ một vảy rời, tỷ lệ cây sống cao nhất ở công thức 5 đạt 76,15%, cây con mập mạp, khỏe, thời gian cây sinh trưởng để đạt tiêu chuẩn ra cây ở vườn ươm là 45 ngày. Tương tự ở công thức chẻ 2/3 củ, tỷ lệ cây sống cao nhất ở công thức 5 đạt 92,32%, cây con mập mạp, sinh trưởng tốt, thời gian sinh trưởng đến khi cây đạt 5 lá thật, củ con có đường kính từ 1 cm là ngắn nhất trong các lô thí nghiệm là 28 ngày. Như vậy, giá thể Tribat là giá thể tốt nhất cho sinh trưởng của cây con Lan huệ cánh kép nghiên cứu. Tuy nhiên, tỷ lệ cây sống cao nhất, thời gian cây sinh trưởng để ra vườn ươm ngắn nhất ở phương pháp chẻ 2/3 củ và ngược lại ở phương pháp chẻ một vảy rời.

4. Kết luận

Nồng độ BAP đến tái sinh chồi: Ngâm các mảnh chẻ củ trong BAP với nồng độ khác nhau trong thời gian 30 phút. Kết quả thu được, nồng độ BAP thích hợp cho tái sinh chồi từ các mảnh củ chẻ bỏ miềng Lan huệ hoa cánh kép là 2,0 mg/l, chẻ một vảy rời là 1,0 mg/l và chẻ 2/3 củ ở nồng độ 2,5 mg/l.

Nồng độ BAP và α -NAA đến tạo đa chồi: Ngâm các mảnh chẻ củ trong BAP kết hợp với α -NAA ở nồng độ khác nhau trong thời gian 30 phút. Kết quả thu được, BAP 2,0 mg/l kết hợp với α -NAA 0,6 mg/l là thích hợp nhất cho tạo đa chồi ở mảnh chẻ bỏ miềng, đạt 4,31 chồi/mẫu, mảnh chẻ một vảy rời là BAP 1,0 mg/l và α -NAA 0,6 mg/l đạt 3,91 chồi/mẫu, còn chẻ 2/3 củ BAP 2,5 mg/l với α -NAA 0,6 mg/l đạt 4,21 chồi/mẫu.

Nồng độ α -NAA đến ra rễ: Phun α -NAA nồng độ khác nhau vào chồi các mảnh chẻ củ với tần suất phun 5 ngày/lần. Kết quả thu được, α -NAA 0,4 mg/l là thích hợp nhất cho ra rễ mảnh củ chẻ bỏ miềng và chẻ 2/3 củ, còn chẻ một vảy rời α -NAA 0,6 mg/l là thích hợp nhất.

Giá thể thích hợp đến sinh trưởng cây con: Tribat là giá thể tốt nhất cho sinh trưởng của cây con Lan huệ cánh kép nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] N. García, A. W. Meerow, S. Arroyo-Leuenberger, R. S. Oliveira, J. H. Dutilh, P. S. Soltis, and W. S. Judd, "Generic classification of Amaryllidaceae tribe Hippeastreae," *Taxon*, vol. 68, pp. 481-498, 2019.
- [2] T. M. D. Trinh, H. H. Nguyen, T. M. H. Tran, A. D. Nguyen, N. T. Bui, and T. M. P. Pham, "Study on agro-biological characteristics of *Hippeastrum* accessions in Vietnam," *Journal of Agricultural Science and Technology Vietnam*, vol. 2, no. 55, pp. 101-108, 2015.
- [3] O. Fishchuk, "Comparative flower morphology in *Hippeastrum striatum* (Lam.) H.E. Moore. (Amaryllidaceae)," *Ukrainian Journal of Ecology*, vol. 11, no. 1, pp. 273-278, 2021.
- [4] T. E. Vargas, M. Oropeza, and E. de Garcia, "Propagación in vitro de *Hippeastrum* sp.," *Agronomía Trop*, vol. 56, no. 4, pp. 621-626, 2006.
- [5] C. Inkham, P. Hongpakdee, Kajornrungsilp, C. Thanamatee, and S. Ruamrungsri, "Root-zone cooling by cold energy from LNG regasification process for quality improvement of flower and bulb of *Hippeastrum*," *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, vol. 61, pp. 643-650, 2020.
- [6] T. M. P. Pham and T. M. H. Tran, "Study on method of chipping propagation on *Hippeastrum* (*Hippeastrum* sp.)," *Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development*, vol. 1, pp. 32-39, 2014.
- [7] D. T. Pham, H. H. Nguyen, and T. C. M. Phi, "Study on in Vitro Micropropagation of Six hybrids *Hippeastrum esquestre* (Aiton) Herb.," *J. Sci. & Devel*, vol. 12, no. 3, pp. 392-403, 2014.
- [8] T. M. P. Pham and V. L. Vu, "Breeding of Double Flower *Hippeastrum* (*Hippeastrum* sp.) for Northern Region of Vietnam," *Vietnam J. Agri. Sci*, vol. 14, no. 4, pp. 510-517, 2016.
- [9] A. Marasek-Ciolakowska, D. Sochacki, and P. Marciniak, "Breeding Aspects of Selected Ornamental Bulbous Crops," *Agronomy*, vol. 11, 2021, Art. no. 1709.
- [10] M. H. Azimi and M. K. Alavijeh, "Morphological traits and genetic parameters of *Hippeastrum* hybridum," *Ornamental Horticulture*, vol. 26, no. 4, pp. 579-590, 2020.
- [11] A. Manzoor, T. Ahmad, M. A. Bashir, I. A. Hafiz, and C. Silvestri, "Studies on colchicine induced chromosome doubling or enhancement of quality traits in ornamental plants," *Plants*, vol. 8, 2019, Art. no. 194.
- [12] P. Marciniak, A. Jędrzejuk, and D. Sochacki, "Evaluation of the possibility of obtaining viable seeds from the cross-breeding *Hippeastrum* × *chmielii* Chm. with selected cultivars of *Hippeastrum* hybridum Hort," *Folia Hort*, vol. 33, pp. 1-10, 2021.
- [13] X. Li, Y. Zhang, H. Jiang, Y. Sun, Q. Li, and L. Yang, "Karyotype analysis and ploidy identification of *Hippeastrum*," *Acta Agric*, vol. 34, pp. 1-6, 2018.
- [14] D. Sochacki and T. Orlikowska, "Application of in vitro culture in breeding of new cultivars of narcissus," In *Proceedings of the Abstracts of International Workshop "Application of Biotechnology in Breeding Cultivars Suitable for Sustainable Fruit Production"*, Skierniewice, Poland, 12-14 May 2005, p. 55.
- [15] S. Zakizadeh, B. Kavani, and R. Onsinejad, "In vitro rooting of amaryllis (*Hippeastrum johnsonii*), a bulbous plant, via NAA and 2-iP," *Ann. Biol. Res.*, vol. 4, pp. 69-71, 2013.