

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KH&CN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016 - 2020
KHCN-TN/16-20

"Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên
trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế"
(Chương trình Tây Nguyên 2016 – 2020)

BÁO CÁO TÓM TẮT

KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN, SỬ DỤNG VÀ BẢO TỒN BỀN
VỮNG 05 LOÀI LAN (*DENDROBIUM NOBILE*, *DENDROBIUM
TRANKIMIANUM*, *PAPHIOPEDILUM VILLOSUM*, *PHAIUS
BAOLOCENSIS* VÀ *PHAIUS TANKERVILLEAE*) ĐẶC HỮU,
QUÝ HIẾM VÀ CÓ GIÁ TRỊ KINH TẾ CAO, PHỤC VỤ PHÁT
TRIỂN KINH TẾ - XÃ HỘI TẠI LÂM ĐỒNG - TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN18/T08 (2018 - 2021)**

Chủ nhiệm đề tài: TS. Nông Văn Duy

Cơ quan chủ trì: Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam



LÂM ĐỒNG - 2021

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
CHƯƠNG TRÌNH KH&CN CẤP QUỐC GIA GIAI ĐOẠN 2016 - 2020
KHCN-TN/16-20

"Khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội Tây Nguyên
trong liên kết vùng và hội nhập quốc tế"
(Chương trình Tây Nguyên 2016 – 2020)

BÁO CÁO TÓM TẮT
KẾT QUẢ ĐỀ TÀI KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CẤP QUỐC GIA

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN, SỬ DỤNG VÀ BẢO TỒN BỀN
VỮNG 05 LOÀI LAN (*DENDROBIUM NOBILE, DENDROBIUM
TRANKIMIANUM, PAPHIOPEDILUM VILLOSUM, PHAIUS
BAOLOCENSIS VÀ PHAIUS TANKERVILLEAE*) ĐẶC HỮU,
QUÝ HIẾM VÀ CÓ GIÁ TRỊ KINH TẾ CAO, PHỤC VỤ PHÁT
TRIỂN KINH TẾ - XÃ HỘI TẠI LÂM ĐỒNG - TÂY NGUYÊN
MÃ SỐ: TN18/T08 (2018 - 2021)**

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI



TS. Nông Văn Duy
CHƯƠNG TRÌNH TÂY NGUYÊN
2016 - 2020

**VIỆN NGHIÊN CỨU
KHOA HỌC TÂY NGUYÊN**



Viện trưởng: Nguyễn Hữu Toàn Phan
**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

LÂM ĐỒNG - 2021

MỞ ĐẦU

Hoa lan có hơn 25.000 loài khác nhau, cùng với những loài mới được khám phá và mô tả theo hàng năm. Hoa lan được coi là loài hoa tinh khiết, hoa vương giả cao sang, vua của các loài hoa. Hoa lan không những đẹp về màu sắc mà còn đẹp cả về hình dáng, cái đẹp của hoa lan được thể hiện từ những đường nét của cánh hoa tạo nên hình dạng thân, lá ít có loài hoa nào sánh nổi.

Nước ta nằm trong khu vực Đông Nam Á có khí hậu nhiệt đới gió mùa, là một trong những khu vực có thành phần loài thực vật phong phú nhất. Trong đó họ Lan (Orchidaceae Juss.) ở Việt Nam có 152 chi và hơn 897 loài (Theo giáo sư Averyanov chuyên gia nghiên cứu về lan Việt Nam). Trong số đó riêng ở các tỉnh Tây Nguyên đã chiếm gần một nửa số lượng loài, với nhiều loài cho hoa đẹp, có giá trị kinh tế cao và nhiều loài đặc hữu, quý hiếm của Việt Nam.

Tây Nguyên với diện tích khoảng 5 vạn km² nằm trong vùng nhiệt đới gió mùa Đông Nam Á, một trong những trung tâm phong phú loài thực vật trên thế giới. Do điều kiện tự nhiên ở đây hình thành nên thảm thực vật nguyên sinh là các loại rừng rậm ưa mưa nhiệt đới, rừng rậm thường xanh và rừng nửa rụng lá mưa mùa nhiệt đới với thành phần loài rất phong phú. Hơn nữa, do địa hình bị chia cắt tương đối mạnh tạo điều kiện thuận lợi cho sự bảo tồn các loài thực vật cổ cũng như hình thành nhiều loài mới, làm cho thực vật khu vực này có tính đặc hữu cao.

Được xem là “trung tâm đa dạng Lan của Việt Nam”, Tây Nguyên là nơi phân bố của nhiều loài có ý nghĩa lớn về mặt bảo tồn, trong đó đặc biệt chú ý đến các loài lan đặc hữu (*Dendrobium trankimianum*, *Phaius baolocensis*), quý hiếm (*Dendrobium nobile*, *Paphiopedilum villosum*) và có giá trị kinh tế cao (*Phaius tankervilleae*), đây là những loài đang bị khai thác một cách quá mức dẫn đến khu phân bố của chúng đang dần bị thu hẹp và có nguy cơ không còn tìm thấy trong tự nhiên.

Việc nghiên cứu nhân giống những loài lan đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế này không những đem lại tiềm năng kinh tế to lớn của họ Lan mà còn góp phần bảo vệ nguồn gen thiên nhiên quý hiếm và tạo nguồn nguyên liệu ban đầu để lai tạo ra các con lai mới có giá trị kinh tế cao. Đặc biệt là trong tình trạng nguồn tài nguyên này đang bị khai thác cạn kiệt và môi trường sống tự nhiên của họ Lan ngày càng bị thu hẹp.

Sau khi đã hoàn thiện được các bước từ nhân giống đến chăm sóc cây trưởng thành ở điều kiện bán hoang dã, tái rừng tự nhiên thì việc làm tiếp theo là sẽ xây dựng các mô hình trồng lan bán hoang dã, việc làm này vừa nhằm mục đích bảo tồn nguồn gen các loài lan một cách có hiệu quả, vừa nhằm phục vụ loại hình du lịch sinh thái.

Kết quả nhân giống, trồng thử nghiệm thành công các loài Lan có giá trị kinh tế cao ở các mô hình khác nhau đã mở ra một hướng mới bảo tồn và phát triển các giá trị tài nguyên sinh vật đặc hữu của Tây Nguyên. Các mô hình được xây dựng hoàn toàn có điều kiện phát triển mở rộng cho nhiều vùng ở Tây Nguyên, chẳng những có thể bù đắp các thiếu hụt do khai thác quá mức nguồn tài nguyên họ Lan mà còn tạo điều kiện cho phát triển thành mặt hàng xuất khẩu có giá trị.

Xuất phát từ thực trạng đó, việc thực hiện đề tài “**Nghiên cứu phát triển, sử dụng và bảo tồn bền vững 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*) đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế cao, phục vụ phát triển kinh tế - xã hội tại Lâm Đồng - Tây Nguyên**” là việc làm quan trọng nhằm giúp bảo tồn nguồn gen của các loài lan này, đồng thời có thể góp phần phục vụ phát triển kinh tế - xã hội tại Lâm Đồng - Tây Nguyên.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Đặc điểm hình thái của họ Lan

Họ Lan có khoảng 750 chi và 20.000 - 25.000 loài, phân bố rộng khắp thế giới và đứng vị trí thứ 2 về số lượng loài sau họ Cúc trong ngành thực vật hạt kín. Đây là họ lớn nhất trong lớp một lá mầm. Vì vậy, hình thái và cấu tạo cũng như hệ thống phân loại của họ này hết sức phức tạp.

Nhìn chung, họ Lan bao gồm các loài cây thân thảo, sống lâu năm. Chúng sống ở đất, sống phụ sinh trên cây hay trên đá hoặc một số ít sống hoại sinh. Khi sống ở đất, chúng thường có dạng củ nạc, rễ mập. Tuy nhiên đa số các loài trong họ này thường sống phụ sinh, bám, treo lơ lửng trên các cây gỗ khác.

Họ Lan có hai kiểu thân, mà đa số đều thuộc loại sinh trưởng hợp trục. Thân các loài sống phụ sinh thường có nhiều đoạn phình to thành củ giả hay còn gọi là thân hành giả. Lá mọc đơn độc hoặc xếp dày đặc ở gốc hay trên thân, trên hành giả.

Hoa của họ Lan có thể mọc riêng lẻ hay tụ hợp thành cụm hoa, thường là chùm, đôi khi phân nhánh thành chùy, ít hay nhiều hoa. Hoa thuộc loại lưỡng tính, rất hiếm gặp hoa đơn tính, bao hoa có 2 vòng, mỗi vòng 3 mảnh: ba cánh đài thường giống nhau hoặc cánh đài lưng hơi khác với cánh đài 2 bên, rời nhau, đôi khi cả 3 cánh đài dính nhau.

Môi là một bộ phận độc đáo về cấu tạo, màu sắc và rất đa dạng của hoa lan, nó được xếp đối diện với cánh đài lưng, có kích thước thường lớn hơn đài và 2 cánh tràng bên.

Khối phấn gồm toàn bộ hạt phấn dính lại với nhau. Số lượng khối phấn thay đổi từ 2, 4, 6 đến 8 khối, có chuôi và gót bám ở cuối cùng.

1.2. Tổng quan về tình hình nghiên cứu nhân giống chi Hoàng thảo (*Dendrobium*), Lan hài (*Paphiopedilum*) và Hạc đỉnh (*Phaius*)

1.2.1. Tình hình nghiên cứu nhân giống chi Hoàng thảo

1.2.1.1. Trên thế giới

Kanjilal và cs. (1999) đã nuôi cấy giả hành lan *D. moschatum* trên môi trường có bổ sung BA (0; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 mg/l) kết hợp NAA (0; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 mg/l).

Parasad và cs. (2001) khi nuôi cấy chồi đỉnh lan *D. sonia* trên môi trường MS có bổ sung 1.0 mg/l NAA và 1 mg/l BA.

Nihar và cs. (2002) nghiên cứu tạo protocorms từ lát cắt chồi lan *D. nobile* trên môi trường MS bổ sung một trong ba chất điều tiết sinh trưởng ZR, BA và Kn.

Shu và cs. (2004) thành công trong việc nuôi cấy *in vitro* cây *D. tosaense*, các thể PLB đã được nuôi cấy và phát triển thành cây hoàn chỉnh trên môi trường MS cùng với các chất hữu cơ (dịch nghiền chuối và khoai tây).

Ricardo và cs. (2004) xác định nồng độ saccarose 60 g/l cho kết quả tốt nhất với loài *D. nobile* với chiều cao chồi đạt 4.21 ± 0.6 cm và hệ số nhân đạt 4 lần sau 120 ngày nuôi cấy.

Khi gieo hạt một số loài *Dendrobium* sp., Luan và cs. (2006) đã bổ sung 0.5 mg/l NAA kích thích sự nảy mầm và phát sinh protocorms trên nền môi trường MS.

Niramol (2009) đã nghiên cứu nhân giống loài *D. draconis* Rchb.f. trên môi trường MS bổ sung 2.0 mg/l BA và 1.0 mg/l NAA.

Sana và cs. (2011) đối với loài *D. nobile* môi trường MS bổ sung 2.0 mg/l BA là tốt nhất đến nhân nhanh chồi và môi trường tối ưu cho sự ra rễ là môi trường MS bổ sung 2.0 mg/l IBA.

Dake và cs. (2013) nghiên cứu nhân giống loài *D. wangliangii* và xác định được môi trường thuận lợi cho sự ra rễ là môi trường ½MS có bổ sung 0.5 mg/l NAA.

Paromik và cs. (2014) khi nghiên cứu nhân giống *D. nobile* trên môi trường MS bổ sung 2.0 mg/l TDZ cho số PLB/mẫu cao nhất. Tuy nhiên, số chồi, chiều dài chồi và chiều dài rễ tốt nhất ở môi trường MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ.

1.2.1.2. Ở Việt Nam

Trần Văn Minh và Nguyễn Văn Uyển (2001) khi nghiên cứu *Dendrobium* cho kết quả môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l BA và 0.1 mg/l IBA thích hợp cho nhân protocorms. Môi trường MS bổ sung 0.1 mg/l BA và 20% nước dừa là môi trường tái sinh chồi.

Bùi Thị Tường Thu và Trần Văn Minh (2007) sử dụng môi trường VW bổ sung BA, NAA, Kin, TDZ, nước dừa, đường sucrose nuôi cấy phát sinh và tăng sinh tế bào soma, phát sinh và tái sinh phôi giả (PLB) của cây hoa lan *Dendrobium*.

Nông Văn Duy và cs. (2008) đã nghiên cứu nhân giống *D. thyrsiflorum* kết quả thu được sự hình thành PLB và chồi tốt nhất ở môi trường VW có bổ sung 4.0 mg/l BA và 0.5 mg/l NAA. Nồng độ Kin thích hợp cho việc nhân chồi là 1.5 mg/l. Môi trường ra rễ tốt nhất là môi trường nuôi cấy có bổ sung 2.0 mg/l NAA.

Nguyễn Thị Sơn và cs. (2012) đã nhân giống *in vitro* loài *D. fimbriatum* Hook. Kết quả môi trường nhân nhanh protocorms là môi trường KC bổ sung 10 g sucrose và 60 g khoai tây/l; môi trường MS bổ sung 20 g sucrose và 60 g chuối chín/l là thích hợp cho nhân nhanh chồi *in vitro*, môi trường tạo cây hoàn chỉnh là RE bổ sung 1.0 g than hoạt tính (THT)/l môi trường.

Vũ Ngọc Lan và cs. (2013) nghiên cứu nhân giống *in vitro* *D. nobile* cho thấy quả lan 5 tháng tuổi thích hợp để gieo. Môi trường nhân nhanh protocorms là KC bổ sung 100 ml nước dừa/l, 10 g saccharose/l và 6.0 g agar/l; nhân nhanh cụm chồi là MS bổ sung 100 ml nước dừa/l, 10 g saccharose/l và 6.0 g agar/l, môi trường tạo cây hoàn chỉnh là RE bổ sung 10 g saccharose/l và 0.5 g THT /l.

Nguyễn Văn Song và cs. (2013) khi nhân giống *D. chrysotoxum* cho kết quả môi trường thích hợp cho hình thành và nhân nhanh protocorms là môi trường MS bổ sung 20 g/l sucrose và 2.0 mg/l BAP. Môi trường tái sinh và sinh trưởng chồi *in vitro* là môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 1.0 g/l THT, 2.0 mg/l BAP và 1.0 mg/l NAA. Môi trường tạo rễ là môi trường MS bổ sung 20 g/l sucrose và 1.0 mg/l NAA.

Nguyễn Thị Sơn và cs. (2014) nhân giống *D. officinale* Kimura et Migo cho kết quả: gieo hạt trên môi trường VW, nhân nhanh cụm chồi trên môi trường MS bổ sung 60 g chuối chín/l. Nhân giống thông qua nuôi cấy đoạn thân mang mắt ngủ trên môi trường MS bổ sung 0.5 mg/l BA và 0.5 mg/l NAA. Môi trường ra rễ là RE bổ sung 0.5 mg/l NAA và 0.3 g THT.

Đặng Thị Thắm và cs. (2018) đã nhân giống loài *D. heterocarpum*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường thích hợp cho sự hình thành PLB là MS bổ sung 2.0 mg/l BA và 1.0 mg/l NAA hoặc môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l TDZ với 0.5 mg/l NAA. Chồi cây sinh trưởng và phát triển trên môi trường MS bổ sung 1.5 mg/l BA và MS bổ sung 60 g chuối chín/l. Môi trường thích hợp cho sự tạo rễ *in vitro* là ½MS bổ sung 0.5 mg/l NAA.

1.2.2. Tình hình nghiên cứu nhân giống chi Lan Hải

1.2.2.1. Trên thế giới

Công trình nghiên cứu đầu tiên về nuôi cấy Lan Hải được thực hiện bởi Bubeck (1973).

Morel (1974) đã tạo được mô sẹo từ mẫu cây trên môi trường có bổ sung 2,4-D. Sau đó, PLB được hình thành từ những mô sẹo này và cuối cùng cây con được tạo thành trên môi trường không bổ sung 2,4-D.

Stewart và cs. (1975) sử dụng mẫu là đỉnh thân. Mẫu được cấy trên môi trường có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng, điều kiện chiếu sáng 12 giờ/ngày, sau đó chuyển vào tối khi bắt đầu tăng sinh. Sau 3 tháng mô sẹo được hình thành, tiếp tục tăng sinh nếu còn 2,4-D trong môi trường nuôi cấy. Sau giai đoạn tăng sinh, mẫu cấy được nuôi ngoài sáng với thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày. Các mô sẹo được cấy chuyển sang môi trường có chứa cytokinin để kích thích hình thành PLB.

Huang (1988) đã sử dụng mẫu cây là chồi non mới nhú của cây trưởng thành, kích thước khoảng 2 - 3 mm và sử dụng môi trường MS cải tiến có bổ sung chất kháng sinh để hạn chế sự phát triển của vi khuẩn và nấm. Mẫu cây được chuyển sang môi trường khác sau 8 tuần nhằm kích thích sự phát triển của chồi nách. Chồi tạo thành được chuyển sang môi trường tạo rễ, sau 1 tháng cây con được chuyển ra chậu.

Lin và cs. (2000) khi nghiên cứu nhân giống *Paphiopedilum hybrid* tạo mô sẹo trên môi trường MS bổ sung 1.0 - 10 mg/l 2,4-D và 0.1 - 1.0 mg/l TDZ. Mô sẹo tăng trưởng tốt trên môi trường ½MS bổ sung 5.0 mg/l 2,4-D và 1.0 mg/l TDZ.

Li-Chun và cs. (2001) cho rằng TDZ ức chế sự tăng sinh của chồi và sự tạo rễ ở *Paphiopedilum*.

Nhut và cs. (2005) gieo cấy *in vitro* cây Lan Hải và sử dụng nó để tạo chồi bằng cách gây vết thương kết hợp với nuôi cấy trên môi trường lỏng có bổ sung TDZ và NAA, hệ số nhân chồi đã được nâng lên một cách đáng kể.

Patcharawadee và cs. (2011) đã nghiên cứu ảnh hưởng của BAP, TDZ và 2,4-D đến sự phát triển của *P. callosum*. Sau ba tháng sự tăng trưởng của chồi cao nhất đạt cao nhất trong môi trường 0.5 µM TDZ, sau đó đưa vào môi trường ½MS để tạo rễ.

Songjun và cs. (2013) khi nghiên cứu nhân giống *P. hangianum* Perner & Gruss đã xác định môi trường tối ưu cho hạt nảy mầm, hình thành protocorms, nhân chồi và ra rễ, môi trường thuận lợi cho sự ra rễ là môi trường ½MS có bổ sung 1.0 mg/l NAA và 100 g/l BH.

1.2.2.2. Ở Việt Nam

Hoàng Thị Giang và cs. (2010) đã nghiên cứu nhân giống *P. hangianum* Perner & Gurr. Kết quả cho thấy môi trường RE là thích hợp cho sự nảy mầm, nhân nhanh protocorms, tạo chồi và môi trường thích hợp tạo rễ cũng là môi trường RE bổ sung 0.4 - 0.6 mg/l α-NAA.

Nguyễn Thị Cúc và cs. (2014) khi nghiên cứu nhân giống *P. delenatii in vitro*, kết quả cho thấy, cả ba nhóm hợp chất hữu cơ đều có tác dụng làm gia tăng số lượng chồi, đặc biệt tảo spirulina không những kích thích quá trình tạo chồi mà còn làm gia tăng tỷ lệ sống của mẫu cây lan hải hồng *in vitro*. Trong nhóm chuỗi, khoai tây và nước dừa thì chuỗi có tác động mạnh nhất lên quá trình tạo chồi và số chồi đạt cao nhất ở nồng độ 20 g/l với 3.8 chồi/mẫu cây. Đối với nhóm peptone, triptone và bột nấm men, bột nấm men có tác động mạnh nhất lên quá trình tạo chồi và số chồi đạt cao nhất ở môi trường bổ sung 1.0 g/l bột nấm men. Tỷ lệ sống của chồi đạt 100% khi bổ sung 50 mg/l bột tảo spirulina với số chồi đạt cao nhất là 4.0 chồi/mẫu cây.

1.2.3. Tình hình nghiên cứu nhân giống chi Hạc đỉnh

Puangpaka và cs. (2001) khi nghiên cứu loài *P. tankervilleae* cho kết quả điều kiện thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của loài này ở cường độ ánh sáng là 74 µmol m⁻² s⁻¹.

Bijaya và cs. (2011) đã tiến hành gieo hạt *in vitro* loài *P. tankervilleae*. Môi trường MS bổ sung 0.5 mg/l BAP là môi trường tối ưu cho sự nảy mầm của hạt, sự hình thành protocorms

và sự phát triển của cây con. Sự nảy mầm bắt đầu sau 7 tuần nuôi cấy và cây con hoàn thiện sau 24 tuần nuôi cấy.

Bijaya và Sumitra (2011) cũng đã nghiên cứu nhân giống *in vitro* loài *P. tankervilleae* bằng phương pháp gieo hạt. Môi trường thích hợp nhân nhanh chồi là môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l BAP. Nồng độ NAA 0.5 mg/l thích hợp cho sự phát triển rễ.

Duangnapa và cs. (2012) cũng tiến hành các thí nghiệm nhân giống *in vitro* loài *P. tankervilleae*. Trong thí nghiệm đầu tiên, sau 16 tuần nuôi cấy, số PLB tối ưu trong môi trường VW. Ở thí nghiệm thứ hai, sau 12 tuần nuôi cấy, số PLB tối ưu trong môi trường VW bổ sung 0.004 mg/l Triacontanol và 0.1 mg/l BA. Trong thí nghiệm thứ ba, thu được từ môi trường VW bổ sung 0.4 mg/l triacontanol và 0.1 mg/l BA.

Sultana (2012) sử dụng chồi nách một năm tuổi của loài *P. tankervilleae* làm vật liệu nhân giống. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ 1.5 mg/l BAP thích hợp để nhân nhanh cho số lượng chồi nhiều nhất. Chiều cao chồi cao nhất ở nồng độ 0.5 mg/l BAP. Nồng độ tối ưu để kéo dài đốt thân là 0.5 μ M GA₃. Nồng độ thích hợp cho sự phát triển của rễ là 0.1 mg/l NAA.

1.3. Đặc điểm tự nhiên khu vực nghiên cứu - Cao nguyên Đà Lạt

1.3.1. Vị trí địa lý và địa hình

Cao nguyên Đà Lạt là một cao nguyên thuộc Tây Nguyên, với độ cao trung bình khoảng 1.500° m so với mực nước biển. Phía nam cao nguyên có thành phố Đà Lạt. Phía đông và đông nam dốc xuống thung lũng sông Đa Nhim, tây nam hạ đột ngột xuống cao nguyên Di Linh.

Địa điểm được chọn khảo sát cho nghiên cứu trồng thử nghiệm lan gồm: Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, phường 7, thành phố Đà Lạt; khu du lịch Hồ Tuyền Lâm và Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà. Cả 3 khu vực này đều mang các đặc điểm tương đồng về nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng. Riêng về kiểu thảm thực vật ở mỗi khu vực có sự khác biệt sẽ được khảo sát đánh giá cụ thể.

1.3.2. Nhiệt độ

Theo số liệu quan trắc của trạm khí tượng thủy văn thành phố Đà Lạt, nhiệt độ trung bình hàng năm là 18.3°C, nhiệt độ trung bình cao nhất vào tháng 5 và tháng 6 là 19.5°C, nhiệt độ trung bình thấp nhất vào tháng 12 năm trước và tháng 1 năm sau là 16.4°C. Nền nhiệt này rất thích hợp với sức khỏe của con người, đặc biệt đối với các loại hình du lịch nghỉ dưỡng và chữa bệnh, biên độ chênh lệch giữa ngày và đêm khá lớn, cao nhất vào mùa khô khoảng 12 - 13°C/ngày.

1.3.3. Độ ẩm

Độ ẩm không khí tương đối trung bình trên 85%. Độ ẩm không khí trung bình có sự chênh lệch rõ rệt giữa các tháng mùa mưa (tháng 4 - 11) và mùa khô (tháng 12 năm trước đến tháng 3 năm sau).

1.3.4. Ánh sáng

Đà Lạt là nơi có tổng số giờ nắng trong năm tương đối cao, tổng số giờ nắng trong năm dao động trong khoảng từ 2.507 đến 1.883 giờ. Trung bình trong một năm có khoảng 2.258 giờ có nắng, tổng số giờ nắng trong năm tập trung chủ yếu vào các tháng 12, 1, 2, 3.

1.3.5. Chế độ gió

Mặc dù điều kiện địa hình tác động không ít đến hướng gió, song gió ở Đà Lạt vẫn giữ được hai hướng chính và tiêu biểu là hướng Đông Bắc và hướng Tây.

1.3.6. Thảm thực vật

Theo Phan Kế Lộc (1985) thì vùng Tây Nguyên có 5 kiểu rừng chính sau: Rừng nhiệt đới ưa mưa (hay rừng mưa nhiệt đới), Rừng rậm nhiệt đới thường xanh mưa mùa, Rừng rậm nhiệt đới nửa rụng lá, Rừng tre nửa và Rừng lá kim.

1.4. Nhân giống lan

1.4.1. Nhân giống sinh dưỡng

1.4.1.1. Tách bụi

Các cây lan sau khi đã phát triển chậu chậu (lan đa thân: *Cattleya, Dendrobium*) phải được tách chiết để trồng lại.

Phương pháp tách bụi thường tiến hành khi cây bò ra khỏi mép chậu, nhưng thường nhất là tiến hành đồng thời vào lúc thay chậu khi giá thể đã hết tác dụng. Tách bụi thường tiến hành sau thời kỳ lan nghỉ và bắt đầu bước vào thời kỳ tăng trưởng (cuối mùa mưa, đầu mùa khô), khi các mắt ngủ bắt đầu phình to ở giả hành và rễ bắt đầu nhú ra.

Các giống địa lan, người chơi lan thường áp dụng phương pháp nhân giống truyền thống này và đã thu được kết quả tốt.

1.4.1.2. Nhân giống lan bằng thân hành giả

Nhân giống bằng thân hành giả tức là sử dụng thân hành giả của năm trước đã nở hoa. Bởi vì mỗi thân hành giả thường có các chồi ngủ, khi nó bị tách khỏi cơ thể mẹ sẽ có khả năng nảy mầm. Khi thân hành giả bắt đầu nảy mầm, cắt bỏ các rễ khô và sau đó ngâm vào Vitamin B12 khoảng 30 phút rồi dùng bông ướt cuốn lại, sau nửa ngày mới đưa vào chậu để trồng.

1.4.1.3. Nhân giống bằng tách nhánh

Ở một số loài lan (*Dendrobium, Thunia...*) thường có hiện tượng tạo cây con trên giả hành một cách tự nhiên, khi cây con này có rễ là có thể tách ra khỏi giả hành để trồng.

1.4.2. Nhân giống trong ống nghiệm (*in vitro*)

1.4.2.1. Các bước nhân giống *in vitro*

- Tạo thể nhân giống *in vitro*.
- Nhân giống *in vitro*.
- Tái sinh cây hoàn chỉnh *in vitro*.
- Chuyển cây *in vitro* ra vườn ươm.

1.4.2.2. Môi trường dinh dưỡng trong nhân giống *in vitro*

Thành phần môi trường nuôi cấy mô thực vật thay đổi tùy theo loài và bộ phận nuôi cấy. Tuy vậy, tất cả các môi trường bao giờ cũng gồm có 5 thành phần:

- Đường làm nguồn carbon.
- Các muối khoáng đa lượng.
- Các muối khoáng vi lượng.
- Các vitamin.
- Các chất sinh trưởng.

Ngoài ra, còn thêm một số chất hữu cơ có thành phần hóa học xác định (acid amin, EDTA...) hoặc không xác định (nước dừa, yeast extract...).

1.4.2.3. Các chất điều hoà sinh trưởng

- *Auxin*: Các loại auxin tổng hợp thông dụng thường dùng: IAA, IBA, NAA, 2.4-D.
- *Cytokinin*: Có hai loại cytokinin được sử dụng nhiều nhất là Kinetin (Kin) và BAP.
- *TDZ* (*N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea*).

1.4.2.4. PLB (*Protocorms - like body*)

Protocorms là một cơ quan dự trữ nhỏ được hình thành từ phôi đang nảy mầm. Phôi này bao gồm một đỉnh sinh trưởng và một lá mầm.

PLB được hình thành từ những cơ quan hay mô thực vật sau: từ chồi thân, từ lá hoặc chóp rễ.

1.5. Một số yếu tố ảnh hưởng tới sinh trưởng của cây con ở giai đoạn vườn ươm

1.5.1. Ánh sáng và nhiệt độ

Ánh sáng còn ảnh hưởng tới sự ra hoa của một số loài lan. Hầu hết các loài thuộc chi *Dendrobium*, *Phaius*, *Paphiopedilum*... nếu thiếu ánh sáng sẽ không ra hoa.

Phần lớn các thuộc chi *Dendrobium*, *Paphiopedilum*, *Phaius* thích hợp với nhiệt độ ban đêm từ 10 - 16°C và ban ngày 21 - 32°C. Cả ba chi này đều rất đa dạng về chủng loại do vậy với các loài khác nhau sẽ có nhiệt độ tương thích khác nhau.

1.5.2. Độ ẩm

Dendrobium độ ẩm thích hợp từ 60 - 80% thì cây sẽ phát triển tốt. Nhóm địa lan như chi *Phaius* và *Paphiopedilum* có nhu cầu về độ ẩm cao hơn.

1.5.3. Giá thể

Đối với các loài thuộc chi *Dendrobium* yêu cầu giá thể thông thoáng. Nhóm địa lan chi *Phaius* và *Paphiopedilum* có thể chịu được giá thể giữ nước cao hơn nhưng cũng cần loại giá thể thoáng khí và thoát nước. Về mặt kinh tế giá thể cũng cần bền với thời gian để giảm chi phí thay giá thể.

1.5.4. Dinh dưỡng

Tùy theo từng loại lan mà nhu cầu phân bón sẽ khác nhau. Đối với loại thân đứng thuộc nhóm địa lan như chi Hạc đỉnh và Lan Hải thì yêu cầu về dinh dưỡng cao, vì thế chúng cần rất nhiều phân bón và có thể dùng rất nhiều dạng phân bón khác nhau. Còn ở loại phong lan như chi Hoàng thảo thì nhu cầu về phân ít hơn nên phải sử dụng ở nồng độ thật loãng. Chi Hoàng thảo cần nhiều phân bón vào mùa hè hơn là mùa đông.

Thảo luận từ các vấn đề tổng quan:

Qua tổng quan các nghiên cứu trong và ngoài nước có liên quan, cho thấy rằng Lan có vai trò quan trọng trong đời sống con người được nhiều nhà khoa học trong nước và quốc tế quan tâm nghiên cứu như: thành phần loài, thẩm mỹ, hương liệu, dược liệu...

Đối với Tây Nguyên, một vùng đất được cho rằng là “trung tâm đa dạng Lan của Việt Nam” có thành phần các loài Lan tăng dần lên theo thời gian và có nhiều loài Lan đặc hữu, quý hiếm, có giá trị kinh tế cao đang bị khai thác ngày càng nhiều, vì thế cần có những nghiên cứu về nhân giống để có thể phát triển, sử dụng và bảo tồn bền vững nguồn tài nguyên quý giá này.

Xuất phát từ cơ sở đó, cần nghiên cứu phát triển, sử dụng và bảo tồn bền vững 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*) đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế cao, phục vụ phát triển kinh tế - xã hội tại Lâm Đồng - Tây Nguyên là việc làm quan trọng nhằm giúp bảo tồn

nguồn gen của các loài Lan này, đồng thời có thể góp phần phục vụ phát triển kinh tế - xã hội tại Lâm Đồng - Tây Nguyên. Một số vấn đề liên quan cần được chú trọng nghiên cứu gồm:

1. Phát triển được 05 loài lan đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế và giới thiệu sản phẩm du lịch về hoa lan của Lâm Đồng - Tây Nguyên.

2. Nhân giống 05 loài lan đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế phục vụ cho công tác bảo tồn nguồn gen và khai thác bền vững ở Tây Nguyên.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và nội dung nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*). Các loài lan này được thu thập ngoài tự nhiên ở Tây Nguyên về trồng tại vườn Bảo tồn lan của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

Theo Nghị định số 06/2019/NĐ - CP ngày 22/01/2019 của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm, (loài *Paphiopedilum villosum*, thuộc nhóm IA) các loài (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*, thuộc nhóm IIA).

2.1.2. Nội dung nghiên cứu

Nội dung nghiên cứu I: Điều tra hiện trạng địa điểm xây dựng mô hình; thu thập, khảo sát một số đặc điểm sinh thái học của 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*).

Nội dung nghiên cứu II: Nghiên cứu các biện pháp nhân giống 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*).

Nội dung nghiên cứu III: Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con sau ổng nghiệm và các biện pháp kỹ thuật chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, dưới tán rừng tự nhiên.

Nội dung nghiên cứu IV: Đề xuất mô hình trồng lan bán hoang dã.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp cho nội dung 1: Điều tra hiện trạng địa điểm xây dựng mô hình; thu thập, khảo sát một số đặc điểm sinh thái học của 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*).

- Đánh giá đặc điểm thực vật học: Sử dụng phương pháp hình thái so sánh, giải phẫu thực vật...

- Tham khảo các tài liệu, thu thập thông tin thực địa đặc điểm sinh thái của môi trường tại địa điểm xây dựng mô hình:

+ Đại cao: Đại cao được xác định bằng dụng cụ GPS.

+ Ánh sáng: Được đo thông qua độ tàn che.

+ Độ dày tầng thảm mục: Đo bằng thước.

+ Kiểu thảm: Dựa vào yếu tố sinh thái của môi trường và tính chất quần xã.

- Đánh giá đặc điểm sinh thái học của loài: Xác định sinh cảnh, điều kiện nhiệt độ, độ ẩm... thích hợp cho sự phát triển của từng loài.

2.2.2. Phương pháp cho nội dung 2: Nghiên cứu các biện pháp nhân giống 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*)

- Mẫu được sử dụng trong các thí nghiệm là đoạn thân, chồi ngủ, phát hoa, quả hoặc củ của 05 loài đang được trồng tại Vườn Bảo tồn lan của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

- Sử dụng phương pháp chọn lọc hỗn hợp và chọn lọc cá thể để lựa chọn những mẫu tương đối đồng đều về kích thước, thời gian sinh trưởng và loại bỏ những cá thể có biểu hiện hình thái khác biệt, bị nhiễm sâu bệnh.

2.2.2.1. Thí nghiệm các biện pháp nhân giống sinh dưỡng 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*)

a. Thí nghiệm các biện pháp nhân giống sinh dưỡng Hoàng thảo dẹt và Hoàng thảo trần kim

Sử dụng phương pháp ươm kie (sau mùa hoa đã tàn) và nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích IBA đến thời gian nảy chồi của lan.

Sử dụng dụng cụ cắt sắc bén đã được khử trùng và mỗi đoạn thân được cắt dài 10 - 15 cm, chứa 3 - 4 mắt ngủ, dùng parafin hoặc vôi tôi để bôi hai đầu tránh nhiễm nấm bệnh. Các mẫu được xử lý bằng cách lấy bông gòn thấm dung dịch IBA ở các nồng độ ở các nồng độ 0; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l lên các mắt ngủ. Đặt các mẫu này nằm ngang trong khay có chứa dớn mát ẩm, ấn nhẹ mẫu sao cho dớn mát phủ lên 1/2 mẫu, tưới nước giữ ẩm hàng ngày, đặt mẫu ở nơi có đủ ánh sáng mặt trời khuếch tán nhưng không được chiếu trực tiếp vào khay đựng mẫu.

Chỉ tiêu theo dõi: thời gian nảy chồi của mắt ngủ.

b. Thí nghiệm nghiên cứu các biện pháp nhân giống sinh dưỡng Lan Hải vàng

Sử dụng phương pháp tách bụi và tách cây (sau mùa hoa đã tàn) đối với Lan Hải vàng.

Nhân giống hoa lan bằng phương pháp tách bụi và tách cây nên tiến hành trước hay sau thời kỳ cây nghỉ, thời điểm thích hợp nhất để tiến hành tách bụi và tách cây vẫn là vào thời điểm cây ngủ đông.

Để thuận tiện cho việc phân gốc cần làm khô giá thể trong chậu nhằm giảm sự ảnh hưởng tới bộ rễ khi trồng. Tuy nhiên, cũng không nên để rễ quá khô vì sẽ ảnh hưởng tới sinh trưởng của cây. Ngoài ra, khi tiến hành phân nhánh cần chuẩn bị đầy đủ các nguyên vật liệu như chậu, giá thể, dụng cụ phân nhánh...

Trước khi tách cây ra khỏi chậu khoảng 5 - 7 ngày nên bón phân để sau khi nhánh tách khỏi cây mẹ, cây gốc có được sức sống đầy đủ, nhanh chóng phục hồi. Khi tách cây thì tay trái tỳ vào thành chậu, tay phải nhắc giá thể khỏi chậu, hoặc dùng ngón trỏ phải đẩy vào lỗ thoát khí ở đáy chậu, nhẹ nhàng đẩy lên, tách giá thể ra khỏi chậu tránh làm tổn thương đến hệ rễ. Sau khi tách nên cắt bỏ những lá bị vàng, những chồi non bị thối trên giả hành và rễ già đã khô.

Sau khi tách khỏi giá thể và chậu lan thì cắt bỏ những rễ già, rễ bị thối rữa, rửa sạch sau đó mang ra nơi thoáng hong khô, sau khi rễ mềm thì tiến hành phân nhánh.

Trước khi phân nhánh, từ những gốc mới nhất, quan sát sắc dịch và độ già non. Khi tách cây hoặc tách bụi chọn những nhánh, bụi to, tìm lấy các nhánh có khoảng cách rộng, dùng tay lắc nhẹ rồi dùng ngón tay cái và ngón trỏ nhẹ nhàng tách nhánh, sau đó dùng kéo đã được khử trùng để cắt. Hai phần được tách ra phải có chồi mới, có thể tự phát triển thành gốc mới. Mỗi phần tách ra nên có từ 2 nhánh, quá ít sẽ không có lợi cho sinh trưởng chồi mới, cây cũng khó

ra hoa. Sau khi phân nhánh cần bôi thuốc sát trùng vào miệng vết cắt, không tưới nước vào rễ để tránh làm nhiễm trùng rễ.

Chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ mẫu nảy chồi theo các tháng.

c. *Thí nghiệm nghiên cứu các biện pháp nhân giống sinh dưỡng Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu*

Sử dụng phương pháp ươm củ hoa và tách củ (sau mùa hoa đã tàn).

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu nảy chồi theo các tháng.

d. *Bố trí thí nghiệm và phương pháp xử lý số liệu cho thí nghiệm nghiên cứu các biện pháp nhân giống sinh dưỡng*

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 45 mẫu.

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2012.

2.2.2.2. Thí nghiệm nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy mô 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*)

Kỹ thuật sử dụng: Kỹ thuật nhân giống *in vitro*.

Vật liệu nuôi cấy: chồi ngủ, hạt của 05 loài Lan đang được trồng tại Vườn Bảo tồn lan của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

Phương pháp nuôi cấy chồi ngủ được thực hiện đối với các loài *Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum* và *Phaius baolocensis*.

Phương pháp gieo hạt được thực hiện đối với loài *Paphiopedilum villosum* và *Phaius tankervilleae*.

Đối với phương pháp nuôi cấy bằng chồi ngủ, các bước được tiến hành cụ thể như sau:

Công việc 1: Ảnh hưởng của phương pháp khử trùng đến khả năng sống, vô trùng của chồi lan.

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu phương pháp khử trùng chồi ngủ

Các chồi ngủ được rửa sạch dưới vòi nước, ngâm trong xà phòng loãng 15 phút rồi rửa sạch xà phòng dưới vòi nước chảy. Sau khi rửa sạch đem mẫu vào tủ cấy tiến hành thí nghiệm theo các công thức:

+ Nghiệm thức 1: Ngâm trong dung dịch H₂O₂ 2% và lắc đều trong 5 phút, tráng 2 - 3 lần bằng nước cất vô trùng, tiếp tục lắc trong dung dịch H₂O₂ 2% trong 2 phút, tráng sạch nhiều lần bằng nước cất vô trùng. Cây mẫu vào trong môi trường nuôi cấy.

+ Nghiệm thức 2: Ngâm trong dung dịch HgCl₂ 1‰ và lắc đều trong 3 phút, tráng 2 - 3 lần bằng nước cất vô trùng, tiếp tục lắc trong dung dịch HgCl₂ 1‰ trong 1 phút, tráng sạch lại bằng nước cất vô trùng. Cây mẫu vào trong môi trường nuôi cấy.

+ Nghiệm thức 3: Ngâm trong dung dịch Streptomycine 2‰ trong vòng 5 phút, lắc đều và rửa lại bằng nước cất từ 3 - 6 lần. Cuối cùng mẫu được khử trùng bằng HgCl₂ 1‰ + vài giọt Tween 80 trong vòng 8 phút và rửa lại bằng nước cất vô trùng.

Mẫu sau khi khử trùng được tiến hành cấy trên môi trường ½MS có bổ sung 0.1 mg/l NAA; 1.0 mg/l BA. Thí nghiệm trên mẫu chồi cây với 3 công thức, bố trí 3 lần lặp lại, mỗi lần 3 mẫu.

Công việc 2: Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của Hoàng thảo trần kim (*D. trankimianum*) trong nuôi cấy *in vitro*.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành PLB.

Các PLB được hình thành từ nuôi cấy chồi ngủ sau 30 ngày cấy vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA (0; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg/l).

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Nồng độ BA tối ưu nhất trong thí nghiệm 2 sẽ được chọn để bổ sung kết hợp với NAA (0.2; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l) lên khả năng hình thành PLB.

Thí nghiệm 4: Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của TDZ (0.5; 1.0; 1.5; 2.0 mg/l) kết hợp 0.5 mg/l NAA lên sự hình thành PLB.

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ nước dừa (0; 10; 15; 20%) đến sự hình thành và phát triển của chồi cây *in vitro*.

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của BA (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg/l) đến sự hình thành và phát triển của chồi cây *in vitro*.

Các thí nghiệm sau sử dụng nồng độ nước dừa thích hợp ở thí nghiệm 5.

Thí nghiệm 7: Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền khoai tây, chuối, cà rốt (60 g/l môi trường) lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây *in vitro*.

Thí nghiệm 8: Ảnh hưởng của than hoạt tính (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 g/l) đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Thí nghiệm 9: Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) ở các nồng độ 0; 0.3; 0.5; 1.0 mg/l đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Công việc 3: Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của Hoàng thảo dẹt (*D. nobile*) trong nuôi cấy *in vitro*.

Thí nghiệm 10: Nghiên cứu ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Sau 30 ngày vào mẫu, chọn những mẫu sạch nấm bệnh được chuyển vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA (0; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg/l) kết hợp NAA (0.2; 0.5; 1.0 mg/l).

Thí nghiệm 11: Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Bổ sung riêng lẻ TDZ (0.05; 0.1; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l) hoặc kết hợp 0.5 mg/l vào môi trường nuôi cấy.

Thí nghiệm 12: Nghiên cứu ảnh hưởng của BA (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg/l) đến sự hình thành và phát triển của chồi cây *in vitro*.

Các thí nghiệm sau sử dụng nồng độ nước dừa thích hợp ở thí nghiệm 5.

Thí nghiệm 13: Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền khoai tây, chuối, cà rốt ở hàm lượng 100 g/l lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây *in vitro*.

Thí nghiệm 14: Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) ở các nồng độ 0; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Công việc 4: Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của Lan Hải vàng (*Paphiopedilum villosum*) trong nuôi cấy *in vitro*.

Thí nghiệm 15: Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền khoai tây, chuối, cà rốt ở hàm lượng 60 g/l môi trường lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây *in vitro*.

Thí nghiệm 16: Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) ở các nồng độ 0; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l đến khả năng tái sinh rễ *in vitro*.

Công việc 5: Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của Hạc đỉnh bảo lộc (*Phaius baolocensis*) và Hạc đỉnh nâu (*Phaius tankervilleae*) trong nuôi cấy *in vitro*.

Thí nghiệm 17: Ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đỉnh bảo lộc.

Các PLB được hình thành từ nuôi cấy chồi ngủ sau 30 ngày cấy vào môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 mg/l).

Thí nghiệm 18: Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Nồng độ BA tối ưu nhất trong thí nghiệm 17 sẽ được chọn để bổ sung kết hợp với NAA (0.5; 1.0; 1.5 mg/l) lên khả năng hình thành PLB.

Thí nghiệm 19: Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của TDZ (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 mg/l) kết hợp NAA (0; 1.0 mg/l) lên sự hình thành PLB.

Thí nghiệm 20: Nghiên cứu ảnh hưởng của BA (0; 0.5; 1.0 mg/l) lên sự tái sinh chồi của Hạc đỉnh bảo lộc.

Thí nghiệm 21: Nghiên cứu ảnh hưởng của Kin (0; 0.5; 1.0 mg/l) lên sự tái sinh chồi của Hạc đỉnh bảo lộc.

Thí nghiệm 22: Nghiên cứu ảnh hưởng của BA (0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 mg/l) kết hợp với Kin (0; 1.0 mg/l) lên sự tái sinh chồi *in vitro* Hạc đỉnh nâu.

Thí nghiệm 23: Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền củ quả ở hàm lượng 60 g/l môi trường lên sự tái sinh chồi *in vitro* của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Thí nghiệm 24: Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) ở các nồng độ 0; 0.3; 0.5; 1.0 mg/l đến khả năng tái sinh rễ *in vitro* của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Đối với phương pháp gieo hạt, các bước được tiến hành cụ thể như sau:

Sau khi hái, trái lan phải được rửa sạch và khử trùng mặt ngoài bằng cách:

Dùng gòn rửa trái trong nước xà phòng loãng hay nước có thêm vài giọt Tween 80, để dưới vòi nước chảy khoảng 30 phút.

Ngâm vào cồn 70° nếu trái còn xanh, trái chín già không cần nhúng vì cồn sẽ làm trái khô nứt ra ngay, sau đó trái được khử trùng trong dung dịch hypochlorit calci 10% hay hypochroit natri 5% trong 20 phút hoặc clorua thủy ngân 0.1% trong 5 đến 10 phút.

Rửa lại bằng nước cất vô trùng (3 lần), tất cả các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Sau đó được gieo trên môi trường đã chuẩn bị sẵn.

Sau đó, các thí nghiệm được tiến hành tương tự với phương pháp nuôi cấy bằng chồi ngủ.

Điều kiện thí nghiệm

Nhiệt độ 25°C ± 2°C.

Độ ẩm trung bình 80 - 85%.

Cường độ chiếu sáng là $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày.

Chỉ tiêu theo dõi

Số PLB/số mẫu cây = $\Sigma\text{PLB}/\Sigma\text{mẫu cây}$ (đối với từng nghiệm thức).

Tỷ lệ mẫu tạo PLB (đối với các nghiệm thức).

Tỷ lệ ra rễ sau 60 ngày, số rễ/chồi, chiều dài rễ.

Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Kết quả được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và phần mềm phân tích thống kê SPSS 16.0 theo phương pháp Duncan test với Duncan's test ($\alpha = 0.05$).

Các thí nghiệm được bố trí chặt chẽ theo phương pháp thăm dò mẫu cây khởi đầu, môi trường và điều kiện nuôi cấy tối ưu. Các phương pháp thực hiện trong đề tài đều có sự tham khảo các tư liệu trong và ngoài nước để tiến hành.

2.2.3. Phương pháp cho nội dung 3: Nghiên cứu quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con sau ống nghiệm và các biện pháp kỹ thuật chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, dưới tán rừng tự nhiên.

- Phương pháp ra cây và biện pháp xử lý trước khi ra cây tại vườn ươm.

- Thí nghiệm ảnh hưởng của một số yếu tố tới sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm.

+ Ảnh hưởng của các loại giá thể tới sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm.

Sử dụng các loại giá thể là đất sạch Eco, dớn mùt, bột xơ dừa, trấu hun phối trộn các tỷ lệ khác nhau.

Số cây thí nghiệm: 60 cây x 4 công thức x 3 lần lặp lại = 720 cây.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ sống, số rễ, chiều dài rễ.

+ Ảnh hưởng của các loại phân bón tới sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm.

Sử dụng các loại phân bón khác nhau như Antonik, Growmore, Yogen N02, Đạm cá...

Số cây thí nghiệm: 60 cây x 4 công thức x 3 lần lặp lại = 720 cây.

Chỉ tiêu theo dõi: chiều cao cây và số lá.

+ Ảnh hưởng của độ che sáng tới sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm.

Tiến hành thí nghiệm ở 3 độ che sáng lần lượt là 50% - 60%; 60% - 70%; 70% - 80%.

Số cây thí nghiệm: 60 cây x 3 công thức x 3 lần lặp lại = 540 cây.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ sống, chiều cao cây và số lá.

+ Ảnh hưởng của độ ẩm tới sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm.

Tiến hành thí nghiệm với 4 mức độ ẩm là (30% - 40% (Tưới phun sương 1 lần/ngày), 50% - 60% (Tưới phun sương 2 lần/ngày), 70% - 80% (Tưới phun sương 3 lần/ngày), trên 90% (Tưới phun sương 4 lần/ngày).

Số cây thí nghiệm: 60 cây x 4 công thức x 3 lần lặp lại = 720 cây.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ sống, trạng thái phát triển của cây.

+ Phương pháp chăm sóc và phòng trừ sâu bệnh hại cây giống tại vườn ươm theo phương pháp thí nghiệm đồng ruộng (Phạm Chí Thành, 1998).

- Các biện pháp kỹ thuật chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, dưới tán rừng tự nhiên.

+ Phương pháp xử lý số liệu: Kết quả được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và phần mềm phân tích IRRISTAT 5.0.

2.2.4. Phương pháp cho nội dung 4: Xây dựng mô hình trồng lan bán hoang dã

- Đánh giá chất đất, nguồn nước, thảm thực vật và điều kiện khí hậu thổ nhưỡng tại vùng triển khai mô hình phù hợp với điều kiện sinh trưởng phát triển của loài, đánh giá về tiềm năng của đơn vị hợp tác và xã hội nơi triển khai mô hình.

- Phát dọn và xử lý thực bì

- Làm đất, đào hố, bón phân

- Bóc xếp vận chuyển và kỹ thuật trồng

- Chỉ tiêu theo dõi tại các mô hình:

+ Theo dõi định kỳ 30 ngày/lần và 60 ngày/lần.

+ Đánh giá sự sinh trưởng và phát triển.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát địa điểm xây dựng mô hình và đặc điểm sinh thái của 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*)

Qua kết quả điều tra khảo sát thực địa, tại vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà chúng tôi thu được một loài mới (*Bulbophyllum sonii* Aver. & N.V. Duy) đã công bố trên tạp chí *Phytotaxa* 369 (1): 001-014. 2018.

3.1.1. Mô hình tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Địa điểm chọn để triển khai mô hình nằm trong khuôn viên Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, nơi có độ cao trung bình 1.500 m so với mực nước biển, khí hậu nhiệt đới vùng núi cao ôn hòa, độ ẩm mát quanh năm.

3.1.2. Mô hình tại Khu du lịch hồ Tuyên Lâm

Địa điểm chọn để triển khai mô hình thuộc tiểu khu 157, nằm trong Khu du lịch thác Bảo Đại nhằm dễ dàng theo dõi và quản lý.

3.1.3. Mô hình tại Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà

Địa điểm chọn để triển khai mô hình thuộc tiểu khu 91, nằm ở trung tâm Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà nhằm dễ dàng theo dõi và quản lý.

3.1.4. Đặc điểm và sinh thái của các loài lan nghiên cứu

3.1.4.1. *Dendrobium nobile* Lindl. Gen. Sp. Orchid. Pl. 79 1830

Tên tiếng Việt: Hoàng thảo dẹt.

Đặc điểm hình thái: Cây sống phụ sinh. Thân dài 30 - 60 cm, hình trụ, dày 1.5 - 1.8 cm, hình chùy dẹp bên, lóng dài 2.5 - 3.6 cm, thân già thường dày lên và thắt lại luân phiên nhau.

Lá hình mác, dài 6 - 10 cm, rộng 2.5 - 4 cm, đỉnh chia hai thùy lệch. Cụm hoa bên, từ 2 - 4 hoa, mọc trên thân còn lá, lá đài bắc hình bầu dục, dài 0.5 cm. Hoa có đường kính 5 - 6 cm, các lá đài và cánh hoa màu trắng có vết tím, cuống hoa và bầu dài 3 - 4 cm, các lá đài hình mác rộng, đỉnh tù, dài 3.3 - 3.5 cm, rộng 0.8 - 1 cm. Cầm dài 0.6 cm, đỉnh tù tròn. Cánh hoa hình mác, đỉnh nhọn, dài 2.5 - 3 cm, rộng 0.8 - 1 cm. Cánh môi hình phễu, viền trắng, giữa môi có một đốm lớn màu tím, khi trải phẳng có hình bầu dục dài 2.6 - 3 cm, rộng 2.5 - 2.6 cm. Cột màu xanh nhạt cao 0.4 - 0.6 cm, tuyến mật hình khe; răng cột hơi cong đỉnh nhọn. Nắp bao phấn màu tía, hình mũ cao phủ nhũ mịn. Nở hoa vào khoảng tháng 4 - 5.

Đặc điểm sinh thái: Hoàng thảo dẹt thường mọc phụ sinh trên thân các cây gỗ hoặc trên đá ở các loại rừng kín thường xanh và rừng cây lá rộng ẩm trên núi đá vôi. Cây đặc biệt ưa ẩm và chịu bóng, sinh trưởng phát triển tốt ở những vùng núi có nhiệt độ trung bình năm từ 15 đến 22°C.

Phân bố: Trên thế giới, Hoàng thảo dẹt phân bố tương đối rộng ở nhiều nước châu Á như Trung Quốc, Lào, Thái Lan, Ấn Độ, Mianma, Butan, Nepal...

Ở Việt Nam, Hoàng thảo dẹt có ở các tỉnh miền núi phía Bắc vào đến Tây Nguyên.

Hiện trạng và giá trị sử dụng: Hiện nay, việc khai thác bừa bãi và nạn phá rừng đã làm cho trữ lượng của cây bị giảm sút và hiếm. Hoàng thảo dẹt đã được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam (1996). Bên cạnh những giá trị về mặt kinh tế vì hoa to, đẹp thì Hoàng thảo dẹt còn được biết đến là một loài có giá trị dược liệu (Võ Văn Chi, 1997).

3.1.4.2. *Dendrobium trankimianum* T. Yukawa. Ann. Tsukuba Bot. Gard. 23: 21 2004

Tên tiếng Việt: Hoàng thảo trần kim.

Đặc điểm hình thái: Phong lan thân dài 30 - 40 cm, gốc hóa gỗ, đầy lông cứng. Lá có be ôm thân đầy lông cứng, lá xếp thành 2 dãy, dài 7 - 10 cm, rộng 1.5 - 2 cm, , chót hình tim lệch. Các cụm hoa từ 1 - 2, mọc ở các đốt gần ngọn, khi hoa nở rộng từ 3.5 - 5 cm, cánh hoa hình elip, đặc điểm của loài này là hoa dày, cánh hoa lõm tròn và sắc nhọn ở đỉnh, đài hoa và cánh hoa màu trắng, lưỡi màu đỏ hơi cam. Thùy bên có gân màu đỏ, cuống bầu nhụy màu xanh nhạt. Hoa nở vào mùa xuân.

Đặc điểm phân bố và sinh thái: Hoàng thảo trần kim được công bố lần đầu tiên vào năm 2004. Khu vực Khánh Vĩnh, Khánh Hòa - Lâm Đồng. Chúng mọc trên các cây cao ở rừng thường xanh lá rộng và hỗn hợp thường xanh hoặc trên các phiến đá. Đặc biệt trên các đỉnh núi ở độ cao 1.000 - 1.900 m. Hoa nở vào mùa xuân.

Hiện trạng và giá trị sử dụng: Đây là một trong những lan rừng đẹp nhưng phân bố hẹp. Nếu không có biện pháp bảo vệ kịp thời có thể lâm vào nguy cơ tuyệt chủng. Theo Averyanov (2016) thì Hoàng thảo trần kim được xếp vào hạng CR (Cực kỳ nguy cấp).

3.1.4.3. *Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein. Orchid. - Buch 490 1892

Tên tiếng Việt: Lan Hải vàng.

Đặc điểm hình thái: Cây phụ sinh hoặc hiếm khi mọc trên đá, thường ít nhiều tạo thành các đám. Lá 4 - 5, hình lưỡi dài hẹp, nhọn đến có mũi nhọn tại 2 thùy đỉnh không bằng nhau, dài 14 - 42 x 2.5 - 4 cm, xanh nhạt ở mặt dưới, đốm tía ở gốc, mép phần gốc có lông rìa. Cụm hoa gần thẳng đứng cho tới cong vòng cung hoặc treo, 1 hoa; cuống cụm hoa dài 7 - 24 cm, xanh, thường đốm tía, có các lông tơ dài từ trắng tới tía thẫm; lá hoa hình bầu dục, tù, dài 3.7 - 6.5 cm, rộng 3 - 3.8 cm, xanh, đốm màu hạt dẻ, nhẵn. Hoa rộng 7.5 - 13.5 cm; lá đài lưng trắng hoặc xanh về phía giữa với phần trung tâm màu nâu thẫm bóng loáng tù, dài 4.5 - 7 cm, rộng 3 - 4.6 cm với mép ở gốc uốn cong; Lá đài hợp ôm lấy bầu, hình trứng hẹp, gần nhọn, dài 3.8 - 7.6 cm, rộng 1.8 - 2.6 cm. Các cánh hoa cong vào trong, hình trứng ngược thìa, lõm rộng hoặc

có 3 răng rộng, tròn ở đỉnh, dài 4 - 6.8 cm, rộng 3 - 3.8 cm nâu đỏ bóng, thường có một vạch nâu thẫm ở giữa, thường nâu vàng dọc theo phần dưới; môi màu son, lẫn với màu hồng hoặc đỏ, có gân màu nâu thẫm; nhị lép hình tim ngược - trứng ngược, cụt đầu, dài khoảng 16 mm, rộng 14 mm, có các hạt lõi nhỏ, nhiều lông với một núm giữa bóng loáng; bầu và cuống có mặt cắt ngang hình tam giác, dài 3 - 6 cm, xanh sáng, phủ lông trắng tới tía dày đặc. Mùa hoa tháng 4 - 6.

Phân bố: Ở Việt Nam loài này có mặt ở các vùng núi phía Bắc và Tây Nguyên Chư Pah (Gia Lai), núi Bidoup huyện Lạc Dương (Lâm Đồng), núi Hòn Giao (Khánh Hòa).

Sinh thái: Lan Hải vàng thích hợp kiểu khí hậu nhiệt đới gió mùa vùng núi. Lượng mưa trung bình năm dao động từ 1.800 - 3.900 mm. Mọc trong rừng nguyên sinh ẩm, cây lá rộng và rừng hỗn giao ở độ cao 1.400 - 2.000 m. Thường gặp chúng phụ sinh ở các hốc mùn trên các cây gỗ cao dọc theo các đỉnh núi ở trong rừng mây mù rêu ẩm, loài này đôi khi còn có thể gặp trên các tảng đá granit hoặc các đá axit silicat khác.

Hiện trạng và giá trị sử dụng: Là loài quý hiếm, có hoa đẹp được sử dụng làm cảnh. Hiện nay loài này đang bị khai thác để bán trồng làm cảnh ở trong nước và bán ra nước ngoài dẫn đến nguy cơ tuyệt chủng ngoài tự nhiên.

Lan Hải vàng được đưa vào Sách đỏ Việt Nam phân hạng: EN B1+2b,c,e.

3.1.4.4. *Phaius baolocensis* V. D. Nong, T. Chen & X. D. Zhang. *Adansonia* 34 (2): 251 - 255 2012

Tên tiếng Việt: Hạc đỉnh bảo lộc, Hạc đỉnh vàng.

Đặc điểm hình thái: Thân thảo, sống ở đất, mọc thẳng đứng, cao 60 - 80 cm. Giả hành hình nón, hình trứng, hoặc hình cầu, dài 7 - 8 cm, đường kính 3 - 4 cm. 2 - 5 lá, ở phần trên của giả hành; lưỡi xanh, hình elip - mũi mác, 45 - 70 x 5 - 8 cm, nhọn ở đỉnh, với 3 (- 5) gân nổi rõ; cuống lá dài 15 - 20 cm. Cụm hoa mọc từ giả hành hoặc từ nách lá, vượt chiều cao của lá, cao 60 - 100 cm, 10 - 15 hoa thưa thớt, nhọn; lá bắc thường không bền, hình mũi mác, 5 - 6.5 x 1.5 - 2.3 cm, nhọn. Hoa rũ xuống, nhiều hoa nở lớn đường kính 9 - 10 cm, cuống và bầu nhụy dài 4 - 4.5 cm, nhọn; đài hoa và cánh hoa bên màu trắng, màu xanh hơi vàng bên trong. Cánh đài lưng thuôn dài hình mũi mác, 5 - 5.5 x 1.8 - 1.9 cm, nhọn, mũi nhọn; cánh đài bên hình elip 4.5 - 5 x 1.7 cm, nhọn. Cánh hoa hình elip 5.5 - 6 x 1.5 cm, môi màu vàng nhạt với sọc trắng, trắng ở giữa và vàng nhạt từ mép tiến vào trong, 4 - 4.5 cm x 2.5 cm, hình trứng rộng, 3 thùy nông, thùy bên gần như hình bán nguyệt, 1.8 x 0.8 cm, và quán lại, mép lượn sóng và màu vàng hơi trắng; thùy giữa theo chiều dọc hình chữ nhật, có lông măng ở giữa bên trong, mép lượn sóng và nhọn, đỉnh chia làm 2 thùy; chựa nhỏ cong, vàng hơi trắng, hình trụ, 0.5 - 0.8 x 0.2 cm, đỉnh chia 2 thùy nhỏ không bằng nhau. Cột không có đốm trắng, 2 - 2.4 x 0.4 cm, có lông măng ở bụng; chựa dạng màng, hình tam giác. Bao phấn đỉnh trắng, hình bán cầu, thót lại ở phía trước, rộng 4 - 5 mm; khối phấn hình trứng, thót lại vào trong cuống ngắn, hơi không cân bằng về kích thước. Nở hoa vào tháng 1 - 2.

Đặc điểm phân bố và sinh thái: Loài Hạc đỉnh bảo lộc này được phát hiện lần đầu vào năm 2012. Cây được thu ở Bảo Lộc và được trồng ở vườn lan của người dân Di Linh, tỉnh Lâm Đồng.

Hiện trạng và giá trị sử dụng: Loài này mới chỉ phát hiện ở Bảo Lộc, hiện tại không còn gặp ngoài tự nhiên. Hạc đỉnh bảo lộc được xếp vào hạng CR (Cực kỳ nguy cấp) trong Sách đỏ của IUCN.

3.1.4.5. *Phaius tankervilleae* (Banks) Blume. *Mus. Bot.* 2: 177 1856

Tên tiếng Việt: Hạc đỉnh nâu.

Đặc điểm hình thái: Lan đất, củ lớn dạng chóp có nhiều bẹ. Thân cao 50 - 60 cm. Lá lớn dài 30 - 50 cm, rộng 5 - 10 cm, có 7 gân, màu lục nhạt, thuôn hình giáo, nhọn ở đỉnh, gốc có cuống. Cụm hoa thẳng, cao 30 - 70 cm. Hoa lớn, dài 10 cm, cánh hoa trắng ở mặt ngoài, nâu ở mặt trong. Cánh môi màu đỏ có vạch vàng, chia 3 thùy, hai thùy bên cuộn lại, thùy giữa có hai vạch dọc.

Phân bố: Trên thế giới loài này có ở Lào, Srilanca, Trung Quốc, Nhật Bản, Thái Lan, Malaysia, Indonesia, New Guinea, Australia.

Ở Việt Nam loài này phân bố ở Ninh Bình, Huế, Tây Nguyên (Lâm Đồng, Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk), Đồng Nai.

Sinh thái: Cây mọc rải rác ở hầu hết các vùng trên các sinh lầy ở độ cao 700 - 1.500 m.

Hiện trạng và giá trị sử dụng: Hạc đỉnh nâu là loài lan có hoa to đẹp được nhiều người ưa chuộng. Hiện nay loài này cũng được người dân sưu tầm trồng cho mục đích thương mại.

3.2. Kết quả nhân giống 5 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*)

3.2.1. Nhân giống sinh dưỡng

3.2.1.1. Nhân giống sinh dưỡng Hoàng thảo dẹt và Hoàng thảo trần kim

Đối với Hoàng thảo dẹt, mẫu được xử lý với IBA ở nồng độ 0.5 mg/l cho tỷ lệ nảy chồi cao nhất, đạt 40% sau 2 tháng, sau 3 tháng là 50% và sau 4 tháng tỷ lệ nảy chồi là 78%, đến tháng thứ 5 tỷ lệ nảy chồi đạt 96%.

Đối với Hoàng thảo trần kim, mẫu được xử lý với IBA ở nồng độ 1.0 mg/l là tối ưu, tỷ lệ nảy chồi sau 2 tháng đạt 30%, sau 3 tháng là 50% và sau 4 tháng tỷ lệ nảy chồi là 80%, đến tháng thứ 5 tỷ lệ nảy chồi đạt 98%.

3.2.1.2. Nhân giống sinh dưỡng loài Lan Hải vàng.

Phương pháp nhân giống bằng cách tách cây được lựa chọn để tiến hành nhân giống sinh dưỡng loài Lan Hải vàng.

3.2.1.3. Nhân giống sinh dưỡng loài Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Phương pháp tách củ được lựa chọn để tiến hành nhân giống sinh dưỡng loài hạc đỉnh Bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

3.2.2. Nhân giống *in vitro*

3.2.2.1. Nghiên cứu phương pháp khử trùng chồi ngủ.

Trong các nghiệm thức thí nghiệm, nghiệm thức sử dụng Streptomycine 2‰ 5 phút + HgCl₂ 1‰ (vài giọt Tween 80) 8 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 90.87%. Tổng tỷ lệ mẫu nhiễm và chết là 9.13%.

Như vậy nghiệm thức này được chọn để tiếp tục khử trùng các mẫu tiếp theo. Mẫu sau khi khử trùng được cấy trên môi trường ½MS có bổ sung 0.1 mg/l NAA; 1.0 mg/l BA nhằm tạo nguồn mẫu trong nuôi cấy *in vitro*.

3.2.2.2. Ảnh hưởng của tuổi quả đến khả năng nảy mầm *in vitro* của hạt Lan Hải vàng trên môi trường MS.

Quả lan 7 - 8 tháng tuổi là thích hợp gieo hạt trên môi trường MS với tỷ lệ nảy mầm là 96.00%.

3.2.2.3. Ảnh hưởng của tuổi quả đến khả năng nảy mầm in vitro của hạt Lan Hài vàng trên nền môi trường ½MS.

Quả lan 7 - 8 tháng tuổi sau 1 tháng gieo trên nền môi trường ½MS đạt tỷ lệ nảy mầm 61.33%. Sau 2 tháng gieo là 85.33%. Đến tháng thứ 3 tỷ lệ nảy mầm đạt 94.00%.

3.2.2.4. Ảnh hưởng của tuổi quả đến khả năng nảy mầm in vitro của hạt Lan Hài vàng trên nền môi trường VW (Vacin & Went).

Trên nền môi trường VW quả lan 7 - 8 tháng tuổi có tỷ lệ nảy mầm cao nhất. Bên cạnh đó khi gieo hạt trên nền môi trường MS và ½MS cho tỷ lệ gần như nhau nhưng xét về hiệu quả và tiết kiệm kinh phí thì môi trường ½MS được chọn là môi trường gieo hạt Lan Hài vàng.

3.2.2.5. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của Hoàng thảo trần kim trong nuôi cấy in vitro.

a. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng hình thành PLB.

- Ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành PLB.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 2.0 mg/l BA cho kết quả tối ưu, tỷ lệ tạo PLB đạt 68.68% với số PLB/mẫu cấy là 6.67.

- Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 0.5 mg/l NAA kết hợp 2.0 mg/l BA là môi trường tối ưu tạo PLB đối với loài Hoàng thảo trần kim, cho số PLB hình thành cao nhất đạt 10.24 PLB/mẫu với tỷ lệ tạo PLB là 90.11%

- Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ kết hợp 0.5 mg/l NAA là môi trường tối ưu cho số PLB/mẫu cấy cao nhất (14.11 PLB/mẫu) và tỷ lệ mẫu tạo PLB cũng cao nhất (92.06%), PLB thu được hình cầu màu xanh vàng.

Vậy môi trường MS bổ sung 2.0 mg/l BA kết hợp 0.5 mg/l NAA hoặc môi trường MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ kết hợp 0.5 mg/l NAA có thể được chọn làm môi trường tạo PLB của Hoàng thảo trần kim.

b. Nghiên cứu tái sinh chồi in vitro

- Ảnh hưởng của nồng độ nước dừa đến sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro.

Môi trường bổ sung 15% nước dừa vào môi trường nuôi cấy MS cho số chồi trung bình/cụm cao nhất đạt 8.42 chồi/cụm với chiều cao chồi 1.68 cm.

- Ảnh hưởng của BA đến sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.5 mg/l BA là thích hợp cho sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro, chiều cao chồi đạt 1.96 cm với 22.35 chồi/mẫu.

- Ảnh hưởng hàm lượng dịch nghiền củ, quả đến sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 60 g chuối chín/l môi trường cho số chồi/cụm cũng như chiều cao chồi cao nhất (25.11 chồi/cụm; 2.12 cm).

c. Nghiên cứu quá trình tạo rễ chồi cây in vitro.

- Ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ in vitro.

Môi trường nuôi cấy ½MS bổ sung 1 g/l THT cho khả năng ra rễ tối ưu với tỷ lệ ra rễ đạt 50.53%, số lượng rễ trung bình là 2.04 rễ/chồi và chiều dài rễ đạt 1.88 cm/rễ, cây con xanh và rễ to khỏe. Nồng độ này sẽ được sử dụng trong thí nghiệm tiếp theo.

- Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) đến khả năng tái sinh rễ in vitro.

Môi trường nuôi cấy ½MS bổ sung 0.5 mg/l NAA là tối ưu với tỷ lệ ra rễ 98.51%, số lượng rễ đạt 7.91 rễ/chồi, chiều dài rễ là 4.01 cm, rễ khỏe với nhiều rễ phụ. Như vậy, môi trường ½MS có bổ sung 1.0 g/l than hoạt tính và 0.5 mg/l NAA thích hợp cho quá trình tái sinh rễ in vitro Hoàng thảo trần kim.

3.2.2.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của Hoàng thảo đẹt trong nuôi cấy in vitro.

a. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng hình thành PLB.

- Ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.0 mg/l BA và 0.5 mg/l NAA là môi trường thích hợp tạo PLB, cho số PLB/mẫu cây cao nhất (6.62) và tỷ lệ mẫu tạo PLB cũng cao nhất (86.63%) ở độ tin cậy 95%

- Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.0 mg/l TDZ và 0.5 mg/l NAA là môi trường thích hợp tạo PLB, cho số PLB/mẫu cây cao nhất (7.11) và tỷ lệ mẫu tạo PLB cũng cao nhất (82.20%).

b. Nghiên cứu tái sinh chồi in vitro.

- Ảnh hưởng của BA đến sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.5 mg/l BA thích hợp có sự hình thành và sinh trưởng chồi cây Hoàng thảo đẹt, chiều cao chồi đạt 1.83 cm với 21.51 chồi/cụm.

- Ảnh hưởng của Kin đến sự hình thành và phát triển của chồi cây in vitro.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.0 mg/l Kin có ảnh hưởng tốt nhất đến khả năng hình thành và phát triển của chồi cây Hoàng thảo đẹt, chiều cao chồi trung bình đạt 1.72 cm với 19.53 chồi/cụm.

- Ảnh hưởng của dịch nghiền củ, quả lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 100 g chuối chín/l môi trường có tác động tối ưu đến sự sinh trưởng, phát triển của chồi cây in vitro với số chồi/cụm là 23.84 chồi/cụm và chiều cao chồi đạt 2.22 cm

c. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) đến khả năng tái sinh rễ in vitro.

Môi trường nuôi cấy ½MS bổ sung 1.0 mg/l IBA cho tỉ lệ ra rễ tối ưu đạt 100% với số rễ trung bình là 5.67 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình đạt 3.54 cm

3.2.2.7. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của Lan Hải vàng trong nuôi cấy in vitro.

a. Ảnh hưởng của dịch chiết củ, quả lên sự hình thành và sinh trưởng chồi cây.

Môi trường MS bổ sung 60 g chuối/lít môi trường là môi trường thích hợp cho sự hình thành và phát triển của với số chồi/cụm nhiều nhất (5.57 chồi/cụm), chiều cao chồi đạt 2.99 cm/chồi và chồi có màu xanh đậm.

b. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) đến khả năng tái sinh rễ in vitro.

Môi trường nuôi cấy $\frac{1}{2}$ MS bổ sung 1.0 mg/l NAA có sự khác biệt rõ về cả số rễ/chồi và chiều dài rễ, số rễ đạt được là 3.00 rễ/chồi, chiều dài rễ là 2.68 cm, ở đây các chóp rễ phát triển mạnh, điều này sẽ thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của chồi và rễ ở giai đoạn ngoài vườn ươm sau này.

3.2.2.8. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của Hạc đính bảo lộc và Hạc đính nâu

a. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng hình thành PLB

- Ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đính bảo lộc.

Môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l BA là môi trường thích hợp cho sự tạo PLB của loài Hạc đính bảo lộc, cho số PLB/mẫu cây là 5.98 và tỷ lệ tạo PLB là 65.55%.

- Ảnh hưởng của BA kết hợp với NAA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đính bảo lộc và Hạc đính nâu.

Đối với loài Hạc đính bảo lộc, môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l NAA kết hợp 1.0 mg/l BA kết quả cho số PLB hình thành cao nhất đạt 9.71 PLB/mẫu với tỷ lệ tạo PLB là 90.04%.

Đối với loài Hạc đính nâu, môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l BA kết hợp 1.0 mg/l NAA thì tỷ lệ mẫu tạo PLB là cao nhất đạt 85.55%, cũng trong môi trường này số PLB hình thành cao nhất đạt 10.18 PLB/mẫu.

- Ảnh hưởng của TDZ kết hợp NAA đến khả năng hình thành PLB của Hạc đính bảo lộc và Hạc đính nâu.

Ở loài Hạc đính bảo lộc, môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ kết hợp 1.0 mg/l NAA là môi trường tối ưu cho số PLB/mẫu cây cao nhất (13.04 PLB/mẫu) và tỷ lệ mẫu tạo PLB cũng cao nhất (91.71%), PLB thu được hình cầu màu xanh vàng.

Ở loài Hạc đính nâu, môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ kết hợp 1.0 mg/l NAA là môi trường tối ưu cho số PLB/mẫu cây cao nhất (12.25 PLB/mẫu) và tỷ lệ mẫu tạo PLB cũng cao nhất (93.78%).

Vậy, môi trường MS bổ sung 1.0 mg/l BA kết hợp 1.0 mg/l NAA hoặc môi trường MS bổ sung 1.5 mg/l TDZ kết hợp 1.0 mg/l NAA có thể được chọn làm môi trường tạo PLB trong nhân giống lan Hạc đính bảo lộc và Hạc đính nâu.

b. Ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng lên sự tái sinh chồi của Hạc đính bảo lộc và Hạc đính nâu.

- Ảnh hưởng của BA lên sự tái sinh chồi in vitro của Hạc đính bảo lộc.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.0 mg/l BA là thích hợp cho sự hình thành và phát triển của chồi cây *in vitro*, số chồi/cụm đạt 24.16 chồi/cụm và chiều cao chồi là 2.00 cm.

- Ảnh hưởng của Kin lên sự tái sinh chồi in vitro Hạc đính bảo lộc.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 0.5 mg/l Kin thích hợp nhất cho sự hình thành và phát triển chồi *in vitro*, chiều cao chồi trung bình của Hạc đính bảo lộc đạt 1.75 cm với 17.85 chồi/cụm.

- Ảnh hưởng của BA kết hợp với Kin lên sự tái sinh chồi in vitro Hạc đính nâu.

Môi trường nuôi cấy MS bổ sung 1.0 mg/l Kin kết hợp 1.0 mg/l BA thích hợp cho sự hình thành và phát triển của chồi cây Hạc đính nâu, chiều cao chồi đạt 2.12 cm với 23.96 chồi/cụm.

- Ảnh hưởng của dịch nghiền củ quả lên sự tái sinh chồi *in vitro* của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Nghiệm thức bổ sung vào môi trường nuôi cấy MS 100 g chuối chín/l môi trường cho số chồi/cụm và chiều cao chồi cao nhất (25.22 chồi/cụm và 2.61 cm/chồi đối với loài Hạc đỉnh bảo lộc; 26.18 chồi/cụm và 2.77 cm/chồi đối với Hạc đỉnh nâu).

c. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (IAA, IBA, NAA) đến khả năng tái sinh rễ *in vitro* của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Đối với loài Hạc đỉnh bảo lộc, khả năng tái sinh rễ *in vitro* thích hợp nhất trên môi trường nuôi cấy ½MS bổ sung 0.5 mg/l NAA với tỷ lệ ra rễ 93.33%, số lượng rễ đạt 6.70 rễ/chồi, chiều dài rễ là 4.20 cm, rễ khỏe.

Đối với Hạc đỉnh nâu, nghiệm thức bổ sung vào môi trường nuôi cấy ½MS 0.5 mg/l NAA là tối ưu với tỷ lệ ra rễ 90.00%, số lượng rễ đạt 7.47 rễ/chồi, chiều dài rễ là 4.00 cm, rễ khỏe với nhiều rễ phụ.

3.3. Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con sau ống nghiệm và các biện pháp chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, tán rừng tự nhiên.

3.3.1. Một số yếu tố ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và phát triển của cây con sau ống nghiệm

3.3.1.1. Hoàng thảo trần kim và Hoàng thảo đẹt

a. Ảnh hưởng của các loại giá thể

Giá thể dớn mùt là giá thể thích hợp để trồng cây Hoàng thảo trần kim và Hoàng thảo đẹt ngoài vườn ươm. Ở cả 2 loài thì giá thể dớn mùt cho tỷ lệ sống cao nhất (93.29% và 94.10%), số rễ nhiều nhất (8.00 rễ/cây và 8.27 rễ/cây) và chiều dài rễ đạt 5.50 cm và 5.73 cm.

b. Ảnh hưởng của các loại phân bón

Loài Hoàng thảo trần kim

Phân bón lá Growmore Humic acid 322 là thích hợp nhất cho lan Hoàng thảo trần kim với chiều cao cây trung bình đạt 7.93 cm và số lá trung bình là 7.00 lá.

Loài Hoàng thảo đẹt

Phân bón lá Komic là thích hợp nhất cho lan Hoàng thảo đẹt với chiều cao cây trung bình đạt 8.47 cm và số lá trung bình là 8.07 lá, đồng thời kích thích phát triển chồi bên.

c. Ảnh hưởng của độ che sáng

Nghiệm thức che sáng 60% - 70% là thích hợp nhất cho cả 2 loài trong giai đoạn vườn ươm, tỷ lệ sống trung bình đạt 93.87%, chiều cao cây trung bình 5.63 cm, số lá trung bình 6.00 lá ở Hoàng thảo đẹt và 94.67%, 5.77 cm, 6.20 lá ở Hoàng thảo trần kim.

d. Ảnh hưởng của độ ẩm

Khi độ ẩm 50% - 60% (tưới phun sương 2 lần/ngày) cho tỷ lệ cây sống cao nhất đạt 96.73% (đối với Hoàng thảo đẹt) và 97.53% (đối với Hoàng thảo trần kim) cây sinh trưởng rất tốt do lượng nước cung cấp vừa đủ đảm bảo độ ẩm thích hợp nhất, lá của cây con có màu xanh đậm, bộ rễ phát triển tốt thuận lợi cho cây con sinh trưởng và phát triển.

3.3.1.2. Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu

a. Ảnh hưởng của các loại giá thể

Giá thể dớn mùt có tỷ lệ sống cao nhất (98.38% ở Hạc đỉnh nâu và 97.69% ở Hạc đỉnh bảo lộc), ở giá thể này cây con phát triển tốt nhất với lá xanh đậm và có rễ mới.

b. Ảnh hưởng của các loại phân bón

Đối với Hạc đỉnh nâu, phun Nitrophoska Foliar là thích hợp nhất, đạt chiều cao trung bình là 15.80 cm, số lá trung bình cao nhất 6.87 lá/cây.

Đối với Hạc đỉnh bảo lộc thì chế phẩm dinh dưỡng tốt nhất là đạm cá, cây đạt chiều cao trung bình là 15.10, số lá trung bình cao nhất 5.73 lá/cây.

c. Ảnh hưởng của độ che sáng

Chế độ che sáng thích hợp nhất cho cây con Hạc đỉnh nâu và Hạc đỉnh bảo lộc trong giai đoạn vườn ươm là nghiệm thức che sáng 60% - 70%, tỷ lệ sống trung bình đạt 97.96% và 96.13%, chiều cao cây trung bình đạt 15.40 cm và 15.10 cm và số lá trung bình 6.60 lá và 6.71 lá.

d. Ảnh hưởng của độ ẩm

Độ ẩm 50% - 60% (tưới phun sương 2 lần/ngày) cho tỷ lệ cây sống cao nhất đạt 98.11% ở Hạc đỉnh nâu và 97.40% ở Hạc đỉnh bảo lộc.

3.3.1.3. Lan Hải vàng

a. Ảnh hưởng của các loại giá thể

Giá thể dớn mút cây có tỷ lệ sống cao nhất 95.56%, ở giá thể này cây con phát triển tốt nhất với lá xanh đậm, có rễ mới, một số cây hình thành chồi non.

b. Ảnh hưởng của các loại phân bón

Khi bổ sung Antonik, cây hấp thụ dinh dưỡng nhanh, đầy đủ hơn giúp cây phát triển mạnh, chiều cao đạt 13.70 cm và số lá trung bình là 5.04 lá. Cây phát triển tốt, cứng cáp, lá xanh đậm, dày hơn hẳn các loại phân bón lá khác.

c. Ảnh hưởng của độ che sáng

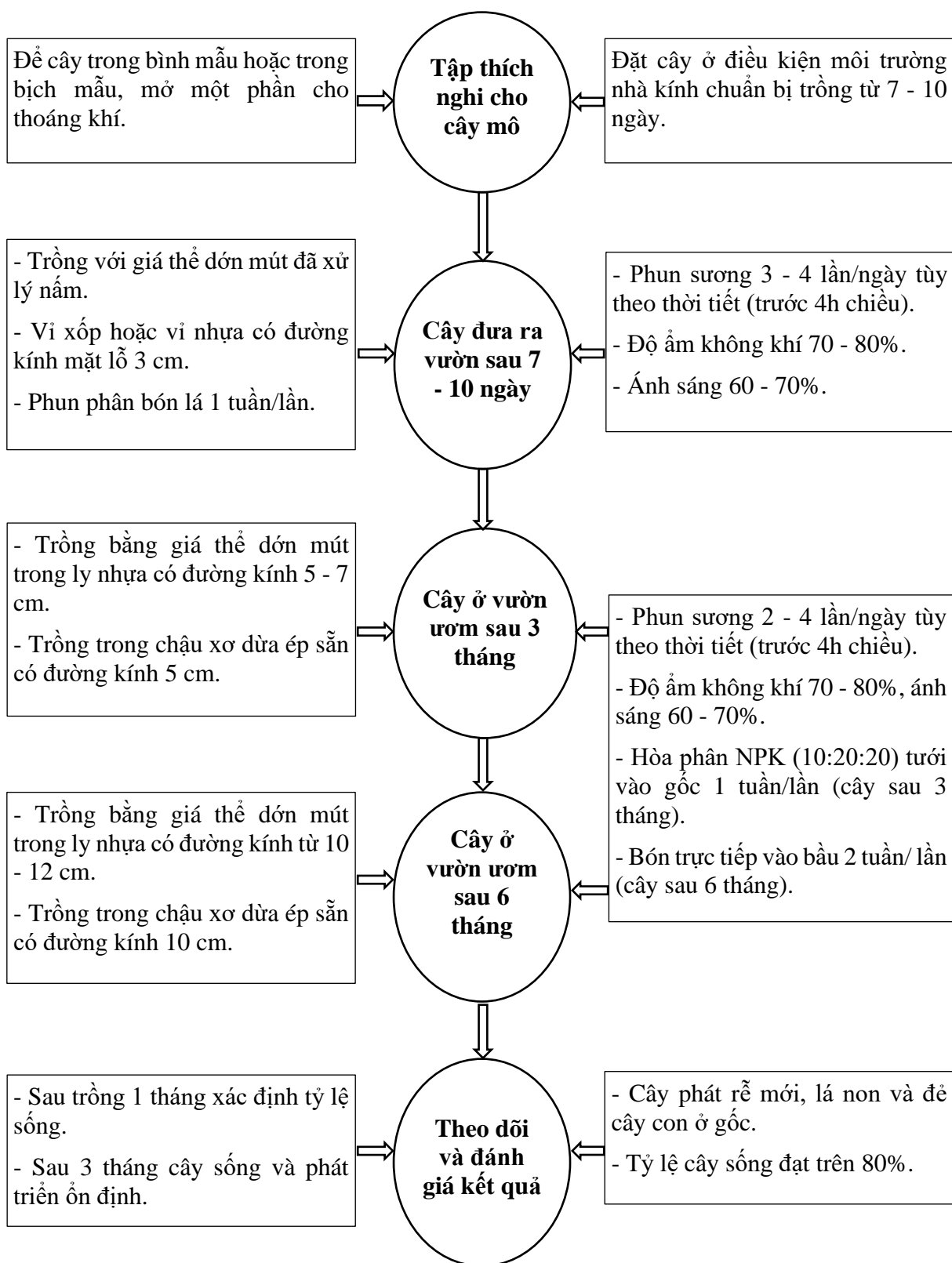
Chế độ che sáng thích hợp nhất cho cây con Lan Hải vàng trong giai đoạn vườn ươm là nghiệm thức che sáng 60% - 70%, tỷ lệ sống trung bình đạt 100%, chiều cao cây trung bình là 16.10 cm, số lá đạt trung bình 6.11 lá.

d. Ảnh hưởng của độ ẩm

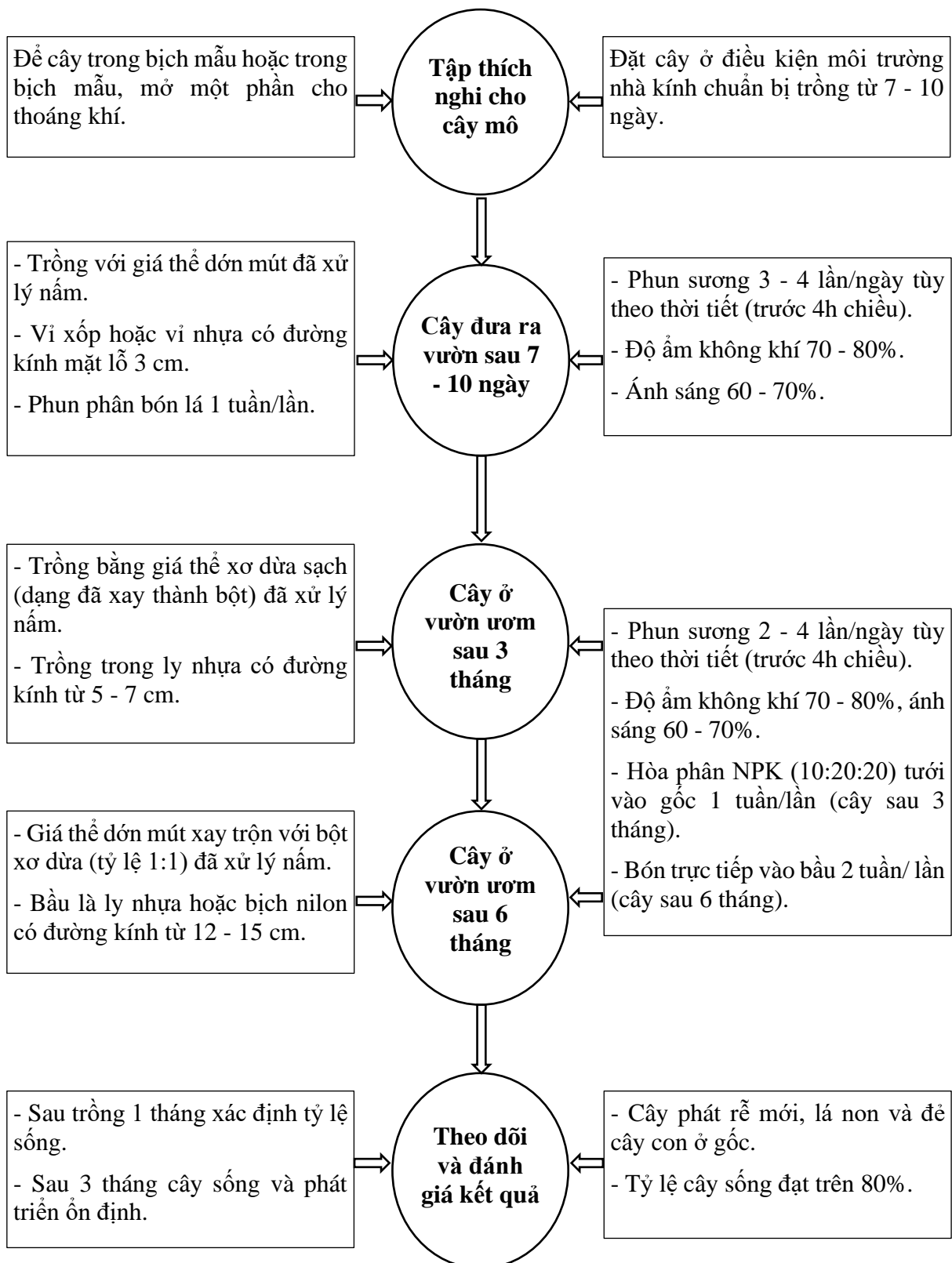
Trong điều kiện độ ẩm 70% - 80% (tưới phun sương 3 lần/ngày) cho tỷ lệ cây sống sót cao nhất đạt 90.18%, cây sinh trưởng rất tốt do lượng nước cung cấp vừa đủ đảm bảo độ ẩm thích hợp nhất, lá của cây con có màu xanh đậm, bộ rễ phát triển tốt thuận lợi cho cây con sinh trưởng và phát triển.

3.3.1.4. Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con sau ống nghiệm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHĂM SÓC CÂY CON *D. NOBILE* VÀ *D. TRANKIMIANUM* SAU ỐNG NGHIỆM

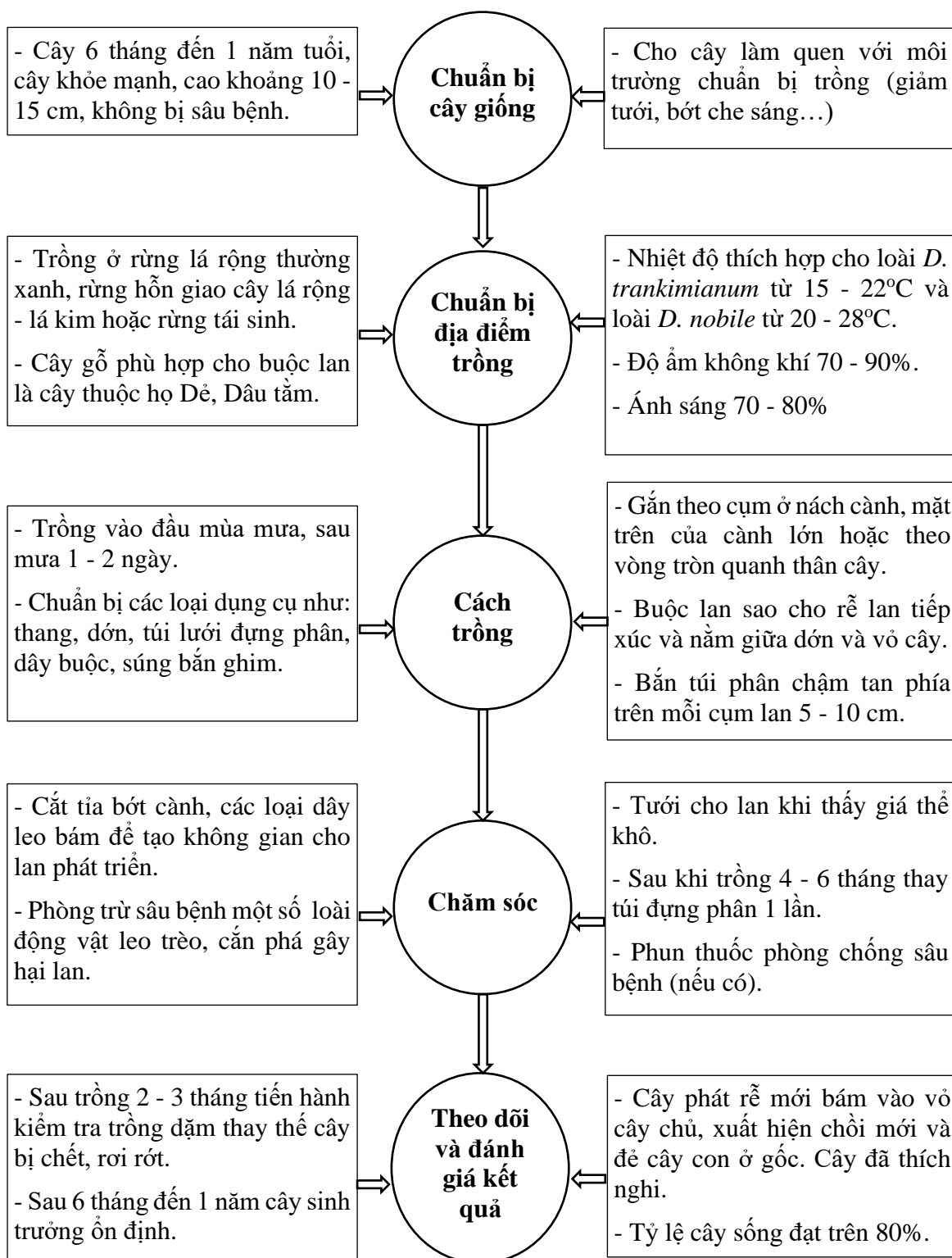


QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHĂM SÓC CÂY CON *PAPHIOPEDILUM VILLOSUM*, *PHAIUS BAOLOCENSIS* VÀ *PHAIUS TANKERVILLEAE* SAU ỒNG NGHIỆM

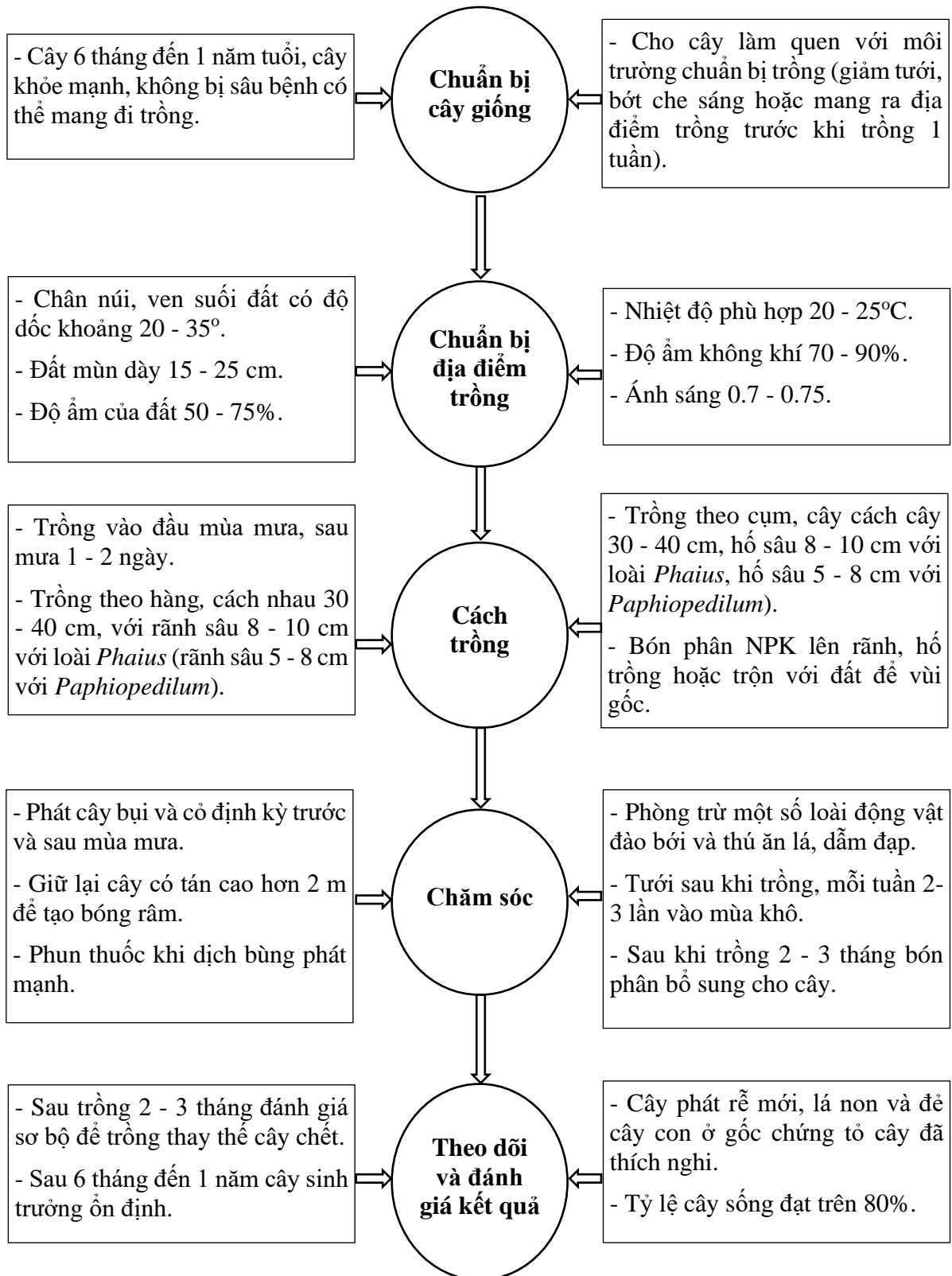


3.3.2. Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, tán rừng tự nhiên

QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHĂM SÓC CÂY *D. NOBILE* VÀ *D. TRANKIMIANUM* TRƯỞNG THÀNH VỀ KHẢ NĂNG THÍCH NGHI VỚI ĐIỀU KIỆN BÁN HOANG DÃ, TÁN RỪNG TỰ NHIÊN



QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHĂM SÓC CÂY *PAPHIOPEDILUM VILLOSUM*, *PHAIUS BAOLOCENSIS* VÀ *PHAIUS TANKERVILLEAE* TRƯỞNG THÀNH VỀ KHẢ NĂNG THÍCH NGHI VỚI ĐIỀU KIỆN BÁN HOANG DÃ, TÁN RỪNG TỰ NHIÊN



3.4. Xây dựng mô hình trồng lan bán hoang dã

3.4.1. Các bước triển khai xây dựng mô hình

3.4.1.1. Xử lý thực bì

- Phát dọn toàn diện: Việc phát dọn được thực hiện 02 tháng trước khi triển khai mô hình.
- Phát dọn theo băng, theo dải: Phương pháp này được áp dụng dưới tán rừng cây lá kim của Viện.

3.4.1.2. Làm đất, đào hố, bón phân

Làm đất bằng thủ công, hố cuốc trước khi trồng 7 - 10 ngày. Làm đất cơ giới bằng cày toàn diện hoặc theo băng ở những nơi có điều kiện thuận lợi.

Trước khi tiến hành trồng lan, chúng tôi đã bón lót phân NPK (tỷ lệ 5:10:3) với liều bón như sau: Khối lượng: 20 g/hố và 50 g phân vi sinh/hố. Nơi đất chua độ pH = 4.0 - 4.5, bón thêm 50 g vôi bột/hố.

Cách bón: kết hợp với lúc lấp hố. Phân được trộn đều với đất ở 1/3 phía dưới hố.

Thời điểm bón lót và lấp hố: trước khi trồng cây 7 - 10 ngày.

3.4.1.3. Tiêu chuẩn cây xuất vườn

a. Tiêu chuẩn cây xuất vườn đối với các loài thuộc chi Hoàng thảo

Tiêu chuẩn cây đem trồng: đồng đều về chiều cao, chiều cao trung bình cây mang trồng là từ 15 - 20 cm, lá cá kích thước trung bình 11 x 2.5 cm.

b. Tiêu chuẩn cây xuất vườn đối với loài Lan Hải vàng

Chọn những cây có từ 3 - 5 bụi, kích thước lá trung bình từ 22 - 25 x 3.2 - 3.5 cm.

c. Tiêu chuẩn cây xuất vườn đối với các loài thuộc chi Hạc đỉnh

Cây đồng đều về chiều cao, trung bình cây mang trồng từ 7 - 10 cm, lá có kích thước trung bình 18.3 x 3.2 cm.

3.4.1.4. Bóc xếp vận chuyển và kỹ thuật trồng

Các loài lan trước khi đưa đi trồng sẽ được tưới nước đủ ẩm 1 đêm trước khi bóc xếp cây, tránh làm vỡ bầu, dập nát, gãy ngọn trong quá trình bóc xếp và vận chuyển. Cây chuyển tới phải kịp thời trồng ngay, nếu chưa trồng phải xếp ở nơi râm mát và tưới nước đảm bảo độ ẩm cho bầu.

Đối với các loài Hoàng thảo dẹt và Hoàng thảo trần kim: bầu sau khi được xé bỏ sẽ được buộc cố định trên cây, sử dụng phân chậm tan nhằm cung cấp thêm chất dinh dưỡng cho sự phát triển của cây.

Đối với các loài Lan Hải vàng, Hạc đỉnh: khi trồng cây phải xé bỏ vỏ bầu, đặt cây đứng thẳng, lấp đất sâu trên cổ rễ, ấn chặt đất xung quanh bầu và cổ rễ. Mặt đất quanh cổ rễ thấp hơn nền đất xung quanh 1.0 cm để giữ ẩm.

3.4.2. Kết quả xây dựng mô hình

3.4.2.1. Mô hình tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên

Tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, chúng tôi đã triển khai mô hình trên diện tích 500m² dưới vườn cây thực vật của Viện, đã triển khai số lượng 4.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 1.000 cây Hoàng thảo dẹt, 1.000 cây Lan Hải vàng, 500 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 1.000 cây Hạc đỉnh nâu).

3.4.2.2. Mô hình tại Khu du lịch Hồ Tuyên Lâm

Địa điểm chọn để triển khai mô hình thuộc tiểu khu 157, nằm trong Khu du lịch thác Bảo Đại nhằm dễ dàng theo dõi và quản lý, đã triển khai số lượng 8.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 3.000 cây Hoàng thảo đẹt, 2.000 cây Lan Hải vàng, 1.000 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 1.500 cây Hạc đỉnh nâu).

3.4.2.3. Mô hình tại Vườn Quốc gia Bidoup – Núi Bà

Địa điểm chọn để triển khai mô hình thuộc tiểu khu 91, nằm ngay trung tâm Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà, đã triển khai số lượng 8.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 5.100 cây Hoàng thảo đẹt, 1.000 cây Lan Hải vàng, 700 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 700 cây Hạc đỉnh nâu).

ĐỀ XUẤT MÔ HÌNH TRỒNG LAN BÁN HOANG DÃ

Từ kết quả 3 mô hình thử nghiệm chúng tôi đề xuất mô hình cho trồng lan bán hoang dã như sau:

Rừng rậm nhiệt đới thường xanh mưa mùa

Kiểu rừng này có đặc điểm sinh học là chồi cây gỗ phần lớn được bao bởi vẩy chồi. Khí hậu có hai mùa rõ rệt là mùa khô và mùa mưa luân phiên nhau, chiếm một diện tích lớn ở Tây Nguyên trên các loại đất khác nhau. Nhưng do sự khai thác của con người vì nhiều mục đích khác nhau nên đại bộ phận diện tích đã bị thay thế bởi các thảm thực vật thứ sinh khác nhau.

Kiểu rừng này tồn tại ở ba độ cao khác nhau từ thấp lên cao và thành phần loài, cấu trúc và đặc tính sinh học của rừng cũng thay đổi rõ rệt.

a) Ở địa hình núi thấp: loại rừng này phát triển ở đai độ cao từ 600 - 1.600 m. Có sự thay đổi dần thành phần cây gỗ theo độ cao, càng lên cao càng nhiều các đại diện các họ Dẻ Fagaceae, Long não Lauraceae và đại diện các họ khác giảm bớt dần như: họ Dầu Dipterocarpaceae, họ Xoan Meliaceae, họ Đào lộn hột Anacardiaceae, họ Đậu Fabaceae ...

Tầng vượt tán biến mất dần, rừng chỉ còn có 2 tầng cây gỗ là tầng ưu thế sinh thái và tầng dưới tán rừng. Trong kiểu rừng này nhiều thực vật bì sinh thuộc Dương xỉ và họ Lan.

b) Ở núi trung bình: Rừng phân bố chủ yếu trên các sườn, đường đỉnh, đỉnh núi từ đai độ cao 1.600 m đến đỉnh núi cao (Chư Yang Sin, Bidoup). Nét đặc trưng tầng cây gỗ là thân ngắn, phân cành thấp, tạo nên kiểu rừng thấp, rừng nhiều sương mù.

Thực vật bì sinh rất phong phú gồm các loài: Rêu, Địa y, các loài Dương xỉ... chúng bao kín thành lớp dày xung quanh thân và cành cây gỗ, tạo điều kiện tốt cho sự hiện diện của các loài lan.

4.1. Kết luận

4.1.1. Điều tra hiện trạng địa điểm xây dựng mô hình; thu thập, khảo sát một số đặc điểm sinh thái học của 05 loài Lan (*Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*).

Đã xác định được cấu trúc thảm thực vật, điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng ở 3 địa điểm triển khai mô hình là Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Khu du lịch Hồ Tuyên Lâm và Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà

Đã thu thập mẫu vật và xác định được đặc điểm hình thái, sinh thái, phân bố, hiện trạng và giá trị sử dụng của 5 loài Lan *Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum*, *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*.

Đã phát hiện một loài mới có tên khoa học *Bulbophyllum sonii* Aver. & N.V.Duy tại khu vực núi Bidoup và công bố trên tạp chí Phytotaxa 369 (1): 001 - 014. 2018.

4.1.2. Kết quả nhân giống

4.1.2.1. Nhân giống sinh dưỡng

a. Hoàng thảo dẹt và Hoàng thảo trần kim

Sử dụng phương pháp ươm kie và xử lý ở nồng độ 0.5 mg/l IBA đối với Hoàng thảo dẹt và 1.0 mg/l IBA là thích hợp đối với Hoàng thảo trần kim.

b. Lan Hải vàng

Sử dụng phương pháp tách cây để tiến hành nhân giống loài Lan Hải vàng.

c. Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu

Sử dụng phương pháp tách củ và ươm cuống hoa để nhân giống hai loài Hạc đỉnh.

4.1.2.2. Nhân giống in vitro

Đã tiến hành nhân giống được 25.000 cây thuộc 5 loài với số lượng cụ thể như sau: Hoàng thảo dẹt: 12.000 cây; Hoàng thảo trần kim: 2.000 cây; Lan Hải vàng: 5.000 cây; Hạc đỉnh bảo lộc: 2.500 cây; Hạc đỉnh nâu: 3.500 cây.

Sử dụng Streptomycine 2‰ 5 phút + HgCl₂ 1‰ (vài giọt Tween 80) 8 phút được chọn để khử trùng các chồi ngủ. Mẫu sau khi khử trùng được cấy trên môi trường ½MS có bổ sung 0.1 mg/l NAA; 1.0 mg/l BA nhằm tạo nguồn mẫu trong nuôi cấy *in vitro*.

a. Hoàng thảo trần kim

Môi trường thích hợp tạo PLB là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 2.0 mg/l BA hoặc 2.0 mg/l BA kết hợp 0.5 mg/l NAA hay 1.5 mg/l TDZ kết hợp 0.5 mg/l NAA.

Môi trường thích hợp tạo chồi là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.5 mg/l BA hoặc bổ sung 60 g chuối chín/l môi trường.

Môi trường ra rễ tối ưu là môi trường ½MS bổ sung 1.0 g/l than hoạt tính, 15% nước dừa và 0.5 mg/l NAA.

b. Hoàng thảo dẹt

Môi trường thích hợp tạo PLB là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 2.0 mg/l BA hoặc 2.0 mg/l BA kết hợp 0.5 mg/l NAA hay 1.5 mg/l TDZ kết hợp 0.5 mg/l NAA.

Môi trường thích hợp tạo chồi là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.5 mg/l BA hoặc 1.0 mg/l Kin hay bổ sung 100 g chuối chín/l môi trường.

Môi trường ra rễ tối ưu là môi trường ½MS bổ sung 1.0 g/l than hoạt tính, 15% nước dừa và 1.0 mg/l IBA.

c. Lan Hải vàng

Môi trường ½MS là môi trường gieo hạt thích hợp cho quả lan 7 - 8 tháng tuổi.

Môi trường thích hợp tạo chồi là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa và 60 g chuối chín/l môi trường.

Môi trường ra rễ tối ưu là môi trường ½MS bổ sung 1.0 g/l than hoạt tính, 15% nước dừa và 1.0 mg/l NAA.

d. Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu.

Môi trường thích hợp tạo PLB của Hạc đỉnh bảo lộc là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.0 mg/l BA.

Môi trường thích hợp tạo PLB của Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.0 mg/l BA kết hợp 1.0 mg/l NAA hoặc 1.5 mg/l TDZ kết hợp 0.5 mg/l NAA.

Môi trường thích hợp tạo chồi Hạc đỉnh bảo lộc là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.0 mg/l BA hoặc 0.5 mg/l Kin.

Môi trường thích hợp tạo chồi Hạc đỉnh nâu là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa, 1.0 mg/l BA hoặc 1.0 mg/l Kin.

Môi trường thích hợp tạo chồi của cả Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu là môi trường MS bổ sung 15% nước dừa và 100 g chuối chín/l môi trường.

Môi trường ra rễ tối ưu cho Hạc đỉnh bảo lộc và Hạc đỉnh nâu là môi trường 1/2MS bổ sung 1.0 g/l than hoạt tính, 15% nước dừa và 0.5 mg/l NAA.

4.1.3. Nghiên cứu quy trình chăm sóc cây con sau ống nghiệm và các biện pháp kỹ thuật chăm sóc cây trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện tự nhiên

Qua các kết quả nghiên cứu nội nghiệp và ngoại nghiệp chúng tôi đã xây dựng được các nhóm quy trình sau:

Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con *Dendrobium nobile* và *Dendrobium trankimianum* sau ống nghiệm.

Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây con *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae* sau ống nghiệm.

Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây *Dendrobium nobile*, *Dendrobium trankimianum* trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, tán rừng tự nhiên.

Quy trình kỹ thuật chăm sóc cây *Paphiopedilum villosum*, *Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae* trưởng thành về khả năng thích nghi với điều kiện bán hoang dã, tán rừng tự nhiên.

4.1.4. Mô hình trồng lan bán hoang dã

Mô hình 1: Triển khai tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên diện tích trên 500m² dưới tán cây của vườn thực vật, số lượng 4.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 1.000 cây Hoàng thảo đẹt, 1.000 cây Lan Hải vàng, 500 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 1.000 cây Hạc đỉnh nâu).

Mô hình 2: Triển khai tại tiểu khu 157 nằm trong Khu du lịch thác Bảo Đại diện tích 1.000m² dưới tán rừng cây lá rộng, số lượng 8.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 3.000 cây Hoàng thảo đẹt, 2.000 cây Lan Hải vàng, 1.000 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 1.500 cây Hạc đỉnh nâu).

Mô hình 3: Triển khai tại tiểu khu 91 thuộc Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà, diện tích 1.000m² dưới tán rừng cây lá rộng và lá kim, số lượng 8.000 cây (500 cây Hoàng thảo trần kim, 5.100 cây Hoàng thảo đẹt, 1.000 cây Lan Hải vàng, 700 cây Hạc đỉnh bảo lộc, 700 cây Hạc đỉnh nâu).

Sau một năm triển khai và theo dõi, đến mùa sinh trưởng (*mùa mưa*) tất cả các loài đều sinh trưởng và phát triển tốt, thích nghi với điều kiện tự nhiên. Các mô hình hoàn toàn có điều kiện phát triển mở rộng cho nhiều vùng ở Tây Nguyên, chẳng những có thể bù đắp các thiếu hụt do khai thác quá mức nguồn tài nguyên họ Lan mà còn tạo điều kiện cho phát triển thành mặt hàng xuất khẩu có giá trị.

4.2. Kiến nghị

- Tiếp tục theo dõi sự sinh trưởng, phát triển cũng như bảo vệ các loài Lan đã đưa ra trồng bán hoang dã ở các điểm đã triển khai và nhân rộng mô hình để phục vụ tham quan du lịch.

- Tiếp tục triển khai các biện pháp bảo tồn và nhân giống với số lượng lớn các loài lan rừng đặc hữu, quý hiếm, có giá trị kinh tế và sử dụng bền vững.

- Cần nghiên cứu xây dựng cơ sở dữ liệu về DNA của các loài Lan, đặc biệt là đối với các loài đặc hữu và quý hiếm, có giá trị kinh tế.