

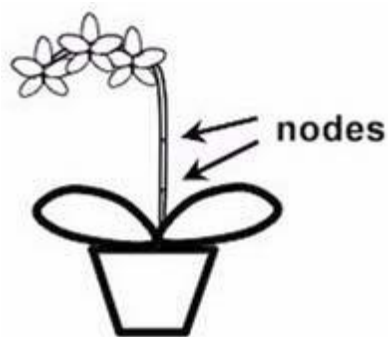
Cách Giâm Cành Lan

Đây là kỹ thuật nuôi cấy mắt cây hay còn gọi là kỹ thuật giâm cành, mà ở VN gọi là cây mô phân sinh.

Từ các chồi mắt (buds) “ngủ” bạn có thể sản xuất ra một hoặc nhiều cây (sinh sản vô tính).

Mắt cây (node) là gì?

Cây thường tạo ra các chồi “ngủ” để chắc chắn rằng cây có thể sống còn, nếu chồi ngọn chết đi hoặc bị sâu bọ ăn. Trong một thời dài, khi ngọn lớn lên và sản xuất chất điều hoà sinh trưởng (hormone - kích thích tố) để ngăn cản sự phát triển của các chồi khác trên thân cây. Nếu ngọn chết đi, chất điều hoà sinh trưởng bị thiếu hụt và các chồi “ngủ” bắt đầu phát triển.



Phalaenopsis



Mắt cây *Phalaenopsis* (hình chi tiết)

Bạn có thể tìm chồi ngủ ở đâu?

Mắt cây có thể tìm thấy như:

- Trên thân *Phalaenopsis*, *Doritis* và *Phaius*
- Trên thân hành của *Dendrobium*
- Dưới gốc của *Cattleya*...

Giâm cành trên đất

Sửa soạn mắt cây

Chúng ta hãy thử làm theo kỹ thuật sau với *Phaius tankervilleae* và sẽ có kết quả rất tốt. Trong một lớp học, những người tham gia đã nhân giống thành công *Phalaenopsis* trên bổi rêu (peat, sphagnum moss). Bạn hãy xem hình cây *Phalaenopsis* ở phần dưới đây:

Nhân giống Phalaenopsis trên búi rêu

Một trong những người tham gia lớp học của chúng tôi nhân giống thành công Phalaenopsis trên những búi rêu.



Cách làm:

- Nhúng ướt búi rêu dưới vòi nước.
- Trải rộng trên một cái khay nhựa, đổ lấp đầy khoảng trống giữa những búi rêu với cát sa thạch (silica) và đổ một ít nước + nước dừa và trong khay nhựa.
- Đặt khay nhựa vào trong lò microwave khoảng chừng 3 phút.
- Bỏ một ít rêu (moss) vào trong cát khi đã nguội.
- Cắt cành hoa khoảng 3 cm trên và dưới mắt cây.
- Lột bỏ các màng bao (bracts).
- Đặt các đoạn mắt cây và trong búi rêu .
- Đậy khay nhựa với lớp plastic và đặt khay dưới ánh đèn trồng cây.

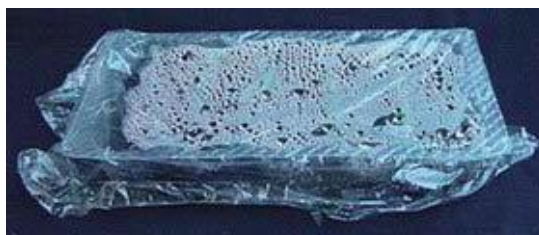
Mắt cây phù hợp là bạn cắt 3 cm ở phía trên và dưới mắt của cành hoa. Điều rất quan trọng là phải dùng dao bén, bởi vì dao cùn làm các mô bị tổn thương rất nhiều. Kế đó bạn hãy cẩn thận gỡ bỏ các màng bao.

Đặt mắt cây vào trong đất trồng:

Đặt mắt cây đã sửa soạn nằm ngang trong đất trồng, mắt cây phải ở phía trên.



Tưới ẩm và đậy khay với lớp plastic giống như trong hình dưới đây.

**Chăm sóc:**

Đặt cái khay với những mắt cây vào nơi sáng và ẩm và tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp chiếu vào. Kiểm soát mỗi 3-4 ngày để có độ ẩm đầy đủ.



mắt cây tươi



4 tuần sau đó



4 tuần kế tiếp



2 tuần sau nữa

Nuôi cấy mắt cây trong môi trường nuôi trồng (in vitro)

Sửa soạn mắt cây

Ưu điểm của kỹ thuật này là cây mới sinh sản sau này hoa sẽ trông giống cha mẹ chúng. Chúng ta dùng kỹ thuật này để nhân giống: *Phalaenopsis*, *Doritis pulcherima*, *Phaius tankervilleae* và *Chiloschista lunifera*.

Mắt cây phù hợp là bạn cắt chéo với 1 cm ở trên và dưới mắt của nhánh (cây) hoa. Điều rất quan trọng là dùng dao bén bởi vì dao cùn làm các mô bị tổn thương rất nhiều.



Nhánh hoa *Phalaenopsis* với vỏ bao



Nhánh hoa (mắt cây) *Phalaenopsis* không có vỏ bao

Hãy cẩn thận gỡ bỏ vỏ bao mắt cây.

Chất dung môi nào bạn sử dụng?

Để khởi đầu phát triển của “mắt ngủ” chúng ta hãy dùng chất dung môi gồm có cytokinins (chất kích thích sinh trưởng - phytohormon). Chúng ta dùng Sigma's P6793 (Phytotechlab P793) (Web site <http://www.sigma-aldrich.com/>).

Sửa soạn chỗ:

Bạn có thể dùng dụng cụ và thiết bị giống như trong bài “[Kỹ thuật Gieo hạt từ trái xanh](#)”

Đồ dùng cần thiết:

Thiết bị cần thiết:
Bếp lò
Nồi nấu nước đường kính miệng 30 cm
Đèn cồn (dùng sát trùng dụng cụ)
Bao tay cao su
Nhíp, kẹp (inox)
Dao mổ (inox)
Cái móc lấy hạt lan (dụng cụ cây chuyên)
Ống nghiệm chứa môi trường cây
Bình cây (lọ, ống nghiệm...)
Giấy lau nhà bếp (kitchen paper)
Cồn 70%
Thuốc tẩy (như là Clorox) dùng tẩy trùng.
Lọ (hũ) có nắp vặn (như là hũ thức ăn trẻ em - babyfood jar)



Bỏ mắt cây vào lọ (flask):

Ngâm mắt cây đã cắt vào cồn 70% vài giây. Sau đó đặt các mắt cây vào trong nước Oxi già 0,5% (hydrogen peroxide H₂O₂) trong 30 phút. Kế đó đặt chúng vào trong nước Oxi già (H₂O₂) 3% trong 15 phút. Sau 15 phút, đặt các mắt cây đã khử trùng (trong ống nghiệm) nằm trên vỉ trong vùng hơi nước sôi (vùng khử trùng). Bây giờ, lấy ống nghiệm và mở ra trên hơi nước sôi. Nắp đậy phải đặt trong miếng giấy nhà bếp (kitchen paper) tẩm cồn. Lấy cái nhíp và khử trùng bằng đèn cồn. Đưa cái nhíp vào vùng khử trùng (vùng hơi nước) và lấy một cái mắt cây đã đứcc ngâm trong dung dịch Oxi già và đặt nó với phần đuôi vào đáy lọ trong dung môi nuôi.

Kế tiếp, nhúng cái nhíp vào trong nước sôi để rửa sạch các chất dung môi bám vào nhíp và ngâm nhíp vào trong lọ cồn 70%. Đậy ống nghiệm lại (trên hơi nước sôi) và đặt nó trên bàn để dán nhãn. Với ống nghiệm kế tiếp bạn cũng làm giống như vậy.

Gợi ý:

Để tạo dung dịch khử trùng có hiệu quả hơn, hãy nhỏ vài giọt nước rửa chén (dish washing solution) vào trong nước Oxi già.

Chăm sóc:

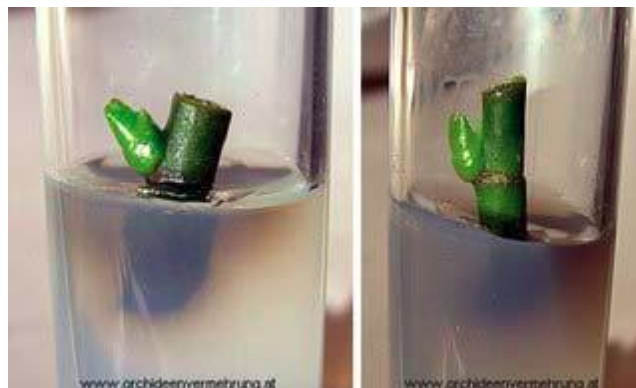
Đặt các ống nghiệm bạn đã làm các mắt cây vào nơi ẩm và sáng (khoảng 20°C). Tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp bởi vì ánh sáng mặt trời sẽ làm ống nghiệm trở nên nóng bên trong.



chồi *Chiloschista lunifera* đang lớn

Bởi vì kích thước và cấu trúc của các mắt cây làm tỷ lệ nhiễm bệnh cao hơn dùng cách nảy mầm không cộng sinh (asymbiotic seed germination). Như vậy, điều rất quan trọng là chúng ta phải kiểm soát mỗi ngày trong tuần đầu tiên, nếu có triệu chứng nhiễm trùng. Nếu bạn tìm thấy nấm hay vi khuẩn, bạn có thể khử trùng n thêm một lần nữa.

Có nhiều mắt cây tiết ra các hợp chất (exudate phenolic compounds) vào trong dung môi nuôi cấy làm đen dung môi nuôi cấy. Các hợp chất tiết ra sẽ giết chết các mắt cây nếu bạn không thay dung môi nuôi mới. Nhiều mắt cây sẽ ngừng tiết ra các hợp chất sau 3 hay 4 lần thay.



phenolic exudations

Khi mắt cây có 2 hay 3 lá bạn nên thay dung môi không có chất kích thích tố (như Sigma P6668) để rễ bắt đầu phát triển.

Tôi phải làm gì nếu muốn có nhiều hơn một cây?

Nếu bạn muốn sản sinh nhiều hơn một mầm bạn nên cắt 1/3 trên mắt cây. Bởi vì điều này mắt cây phát triển hàng chục chồi thay vì một chồi.



Nuôi cây mắt cây
Phaius tankervilleae



Cây con từ một mắt cây
Phalaenopsis equestris

Chất điều hoà sinh trưởng (hormones)

Chất điều hoà sinh trưởng là gì?

Chất điều hoà sinh trưởng là các hợp chất hữu cơ hay nhân tạo mà tác động sự phát triển và nhân giống. Chúng sản sinh trong cây (như phát triển nụ) để kiểm soát sự phát triển.

Auxins

Auxins tác dụng tăng dài các tế bào, phát triển rễ và chồi tự hình thành. Chúng ngăn chặn sự phát triển chồi nhánh (điều này chồi bảo đảm tính di truyền ổn định). Auxins thông thường dùng trong môi trường nuôi cấy mô, hoặc là phối hợp với cytokinins lúc tăng dài của thân hoặc không có cytokinins cho bộ rễ.

Tên	Chữ viết tắt
Indole-3-Acetic Acid	IAA
Indole-3-Butyric Acid	IBA
Naphthalene Acetic Acid	NAA
Phenylacetic Acid	PAA
Dichlorophenoxyacetic Acid	2,4D
2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid	2,4,5-T
Picloram	
Dicamba	
p-chlorophenoxyacetic Acid	CPA

Cytokinins

Cytokynins, trước đây gọi là kinins, đóng vai trò chính trong môi trường nuôi cấy mô để phân cắt tế bào, shoot multiplication và sự tăng trưởng của chồi nhánh. Chúng giúp làm chậm sự lão hóa, và chúng tác động chuyển hoá auxin. Nếu việc nuôi cây quá ốm yếu, tăng lượng Cytokynin sẽ giúp việc nuôi trồng ngắn hơn, thân mần khoẻ chắc.

Tên	Chữ viết tắt
Benzyladenin	BA
6-Benzylaminopurine	BAP
Pentyladenin	
Dimethylallyladienin	
Kinetin	
Zeatin	Z
Zeatinriboside	ZR
Isopentenyladenine	iP
Isopentenyladenosine	iPA
Thidiazuron	TDZ

Gibberellins

Gibberellins là một nhóm của chất liệu thiên nhiên xuất hiện với tác dụng phát triển tế bào và kích thích sự tăng dài của thân. Năm 1926, E. Kurasawa (người Nhật) ghi lại rằng việc nhiễm một loài nấm mốc (tên *Gibberella fugikuroi*), kết quả là hạt lúa phát triển nhanh hơn bình thường. Chất liệu đó là gibberellic acid, mà sau đó được người ta đã phân lập và kết tinh từ cả nấm mốc và thực vật.

Tên	Chữ viết tắt
Gibberellic Acid	GA
Chlorcholinchlorid	CCC

Nguyễn Nam Sách

*Phóng dịch từ bài: 'Node culture'
từ Website <http://www.orchideenvermehrung.at>*