

Nghiên cứu khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (*Cymbidium wenshanense*) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*

Phạm Phương Thu^{1,2*}, Nguyễn Thị Tinh³, Trần Ngọc Hùng⁴, Ngô Xuân Bình³

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

²Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

⁴Viện Nghiên cứu Rau quả, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 31/10/2022; ngày chuyển phản biện 3/11/2022; ngày nhận phản biện 23/11/2022; ngày chấp nhận đăng 28/11/2022

Tóm tắt:

Nghiên cứu tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (*Cymbidium wenshanense*) từ hạt được tiến hành bằng nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện nhiệt độ phòng 25°C, ẩm độ 65%, cường độ chiếu sáng 2000 lux, 16 giờ sáng/24 giờ với mục đích tìm hiểu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy, các chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin (kinetin, TDZ, BA) và đường sucrose đến khả năng tái sinh của hạt. Kết quả cho thấy, môi trường MS (Murashige và Skoog) giúp hạt nảy mầm tốt (cao nhất 90,54%), cytokinin BA có tác dụng làm tăng khả năng tái sinh chồi (bổ sung 1 mg BA tạo ra được 4,42 chồi/mẫu, chiều dài chồi đạt 3,63 cm, khối lượng tươi đạt 272,67 mg). Ngoài ra, bổ sung đường sucrose vào môi trường nuôi cấy (MS + 1 mg BA/l) cũng đem lại hiệu quả tốt (hàm lượng đường sucrose 5% đạt 4,47 chồi, chiều dài chồi đạt 3,6 cm, khối lượng tươi đạt 315 mg). Đây là kết quả có ý nghĩa thực tiễn trong bảo tồn, khai thác phát triển loài địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công khu vực phía Bắc Việt Nam.

Từ khóa: chất kích thích sinh trưởng, *Cymbidium wenshanense*, *in vitro*, môi trường nuôi cấy, tái sinh chồi.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Chi địa lan (*Cymbidium*) thuộc họ phụ *Orchidoideae*, được phân bố ở khu vực Đông Nam Á và các vùng đảo khu vực Thái Bình Dương. Các loài trong chi địa lan có hoa lớn, đẹp, bền, sinh sống trên các thảm mục hoặc nơi có độ mùn cao. Theo các số liệu đã công bố, chi địa lan trên thế giới hiện nay có khoảng 120 loài, tại Việt Nam có 24 loài [1, 2]. Loài địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công phân bố ở Cao Bằng, Bắc Kạn là loài phụ sinh, chùm hoa có cấu tạo đặc biệt, cánh hoa và lá dài thuôn dài, màu xanh trắng kèm theo sọc đỏ thẫm (bạch ngọc), khi hoa nở có mùi rất thơm và hình dáng bông hoa giống đuôi của con chim công nên được gọi là địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công.

Địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công nở hoa vào dịp tết Nguyên đán hàng năm, hoa to, màu sắc rực rỡ, độ bền lâu (1,5-2 tháng) nên nhu cầu thị trường rất cao, dẫn đến tình trạng bị khai thác cạn kiệt trong tự nhiên, dễ có nguy cơ tuyệt chủng. Hiện nay, loài địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công chủ yếu được người nuôi trồng nhân giống bằng phương pháp truyền thống (tách chồi), hệ số nhân giống rất thấp, hiệu quả không cao, không đáp ứng được nhu cầu cung cấp giống cho thị trường. Các kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* các loài địa lan nói chung cho thấy phương pháp này có ưu điểm tạo một lượng lớn cây con, giữ nguyên đặc điểm di truyền của cây mẹ, hệ số nhân giống cao, có thể thực hiện quanh năm. Kết quả từ đề tài khoa học “Nghiên cứu khả năng tái sinh chồi của địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (*Cymbidium wenshanense*) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*” được trình bày trong bài báo này là tiền đề

bổ sung thêm kiến thức nhân giống *in vitro* các loài địa lan, đồng thời góp phần bảo tồn, khai thác và phát triển loài địa lan quý hiếm này, đáp ứng nhu cầu thực tiễn.

Vật liệu, nội dung và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Nguồn nguyên liệu cây mẹ sử dụng trong nghiên cứu này được thu thập trong tự nhiên tại các tỉnh Cao Bằng, Bắc Kạn và được lưu giữ tại vườn thực nghiệm Khoa Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên. Mẫu quả địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công được thu hái trên vườn lưu giữ cây mẹ để thu hạt sử dụng cho nuôi cấy *in vitro*.

Nội dung

Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công.

Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của các hoạt chất trong nhóm cytokinin (kinetin, TDZ, BA) đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công.

Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose bổ sung đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công.

Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần nhắc lại, trong đó thí nghiệm về môi trường nuôi cấy bố trí mỗi công thức 3 bình, các thí nghiệm còn lại mỗi công thức 10 bình,

*Tác giả liên hệ: Email: phamphuongthu0283@gmail.com

A study on the bud regeneration ability of *Cymbidium wenshanense* by *in vitro* culture

Phuong Thu Pham^{1,2*}, Thi Tinh Nguyen³,
Ngoc Hung Tran⁴, Xuan Binh Ngo³

¹Hanoi Pedagogical University 2

²Vietnam Academy of Agricultural Sciences (VAAS)

³Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

⁴Fruit and Vegetable Research Institute, VAAS

Received 31 October 2022; accepted 28 November 2022

Abstract:

The study on the buds regeneration of *Cymbidium wenshanense* orchid seedlings cultured *in vitro* in the conditions of 25°C room temperature, 65% humidity, 2000 lux light intensity, and 16 hours of lighting a day was implemented with the aim of finding out the proper medium, cytokinin growth stimulators (kinetin, TDZ, and BA), and sucrose concentrations on seed regeneration. Results showed that MS medium had a good effect on seed germination (the highest is 90.54%) and cytokinin BA significantly improved the buds regeneration of *Cymbidium wenshanense* orchid (4.42 buds of 3.63 cm length, and 272.67 mg weight formed from a sample when 1 mg of BA was added). In addition, sucrose supplemented at 5% concentration was considered to be successful (4.47 buds of 3.6 cm length and 315 mg were produced when 5% sucrose was added). This is a result of practical significance in the conservation and development of *Cymbidium wenshanense* orchid in north Vietnam.

Keywords: buds regeneration, culture medium, *Cymbidium wenshanense*, growth stimulators, *in vitro*.

Classification number: 4.6

mỗi bình cấy 3 mẫu. Nhiệt độ phòng nuôi cấy 25°C, ẩm độ 65%, cường độ chiếu sáng 2000 lux, 16 giờ sáng/24 giờ.

Nội dung 1 - Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công: Những mẫu quả địa lan được xử lý bằng cách rửa sạch bằng xà phòng, rửa lại dưới vòi nước đang chảy, khử trùng bằng cồn 70% trong 30 giây, cồn còn dính trên quả được đốt cháy (trong vài giây) để khử trùng bề mặt quả, quá trình này được lặp lại 3 lần, sau đó rửa lại bằng nước cất vô trùng 5 lần. Kết thúc khử trùng, mẫu được tách bỏ phần vỏ quả theo chiều dọc và hạt được gieo bằng cách trải mỏng trên bề mặt môi trường nuôi cấy thí nghiệm [3]. Thí nghiệm sử dụng 4 môi trường dinh dưỡng gồm MS, 1/2 MS, Knudson 'C' (KC) và Vacin & Went (VW) để đánh giá khả năng nảy mầm của hạt và sự phát triển sớm của protocorm [4]. Tất cả các môi trường

được bổ sung 3% đường sucrose và 5 g agar/l [4, 5]; độ pH của môi trường là 5,8±0,1. Thời gian theo dõi thí nghiệm trong vòng 14 tuần, các chỉ tiêu theo dõi gồm: thời gian hạt bắt đầu phát triển thành phôi, thời gian hình thành protocorm và tỷ lệ phần trăm hạt nảy mầm.

Nội dung 2 - Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hoạt chất thuộc nhóm cytokinin (kinetin, TDZ, BA) đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công: Sử dụng môi trường thích hợp nhất thu được ở nội dung 1 với các công thức thí nghiệm là các hoạt chất kích thích sinh trưởng riêng rẽ trong nhóm cytokinin bao gồm: kinetin, TDZ, BA ở các nồng độ 0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 và 4,0 mg/l. Thời gian theo dõi sau 8 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu theo dõi gồm: số lượng chồi/mẫu nuôi cấy, chiều dài chồi, số lượng rễ/mẫu, khối lượng tươi của mẫu.

Nội dung 3 - Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose bổ sung đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công: Thí nghiệm được tiến hành trên chồi tái sinh đạt tiêu chuẩn ở nội dung 2 (chồi tái sinh có chiều cao 1,5-2 cm). Cây chuyển chồi sang môi trường nhân nhanh bổ sung hoạt chất nhóm cytokinin thích hợp nhất (kết quả thu được từ nội dung 2); đường sucrose được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với các nồng độ 0, 3, 5, 7 và 10%. Theo dõi thí nghiệm sau nuôi cấy 8 tuần với các chỉ tiêu số lượng chồi/mẫu cấy, chiều dài chồi và khối lượng tươi của mẫu nuôi cấy.

Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được thống kê và xử lý theo phương pháp thống kê toán học bằng phần mềm Excel 2010 và Sirichai Statistics Version 6.00.

Kết quả và bàn luận

Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công

Bốn môi trường dinh dưỡng bao gồm MS, 1/2 MS, KC và VW được sử dụng để đánh giá khả năng nảy mầm của hạt và sự phát triển sớm của protocorm. Kết quả bảng 1 cho thấy, tỷ lệ hạt nảy mầm cao nhất ở môi trường MS (90,54%), tiếp theo là môi trường 1/2 MS (81,75%), KC (71,75%) và VW (51,36%), sự sai khác giữa các công thức đều đạt độ tin cậy ở mức 95%.

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (sau 14 tuần).

Môi trường	Thời gian hạt bắt đầu phát triển thành phôi (tuần)	Thời gian hình thành protocorm (tuần)	Tỷ lệ phần trăm hạt nảy mầm
MS	5-6	8-9	90,54 ^a
1/2 MS	5-6	7-8	81,75 ^b
KC	7-8	9-10	71,75 ^c
VW	8-9	11-12	51,36 ^d
CV%			5,35
LSD _{0,05}			7,45

Ghi chú: ^{a, b, c, d}: thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan, p<0,05).

Trên môi trường MS, sự nảy mầm được thể hiện bằng quá trình phôi hạt hút nước, hấp thu dinh dưỡng và to dần nên có thể bắt đầu quan sát được. Sự nảy mầm của hạt đầu tiên được thể hiện rõ ràng bằng sự phồng lên sau khi gieo 5-6 tuần, các phôi chưa phân hóa đã hình thành một khối tế bào có hình dạng không đồng đều, hình các quả cầu. Sau 7-9 tuần, những quả cầu này chuyển sang màu xanh và hình thành các cấu trúc tròn (protocorms); tiếp theo là sự phát triển của cây con có 2-3 lá và 1-2 rễ sau 14 tuần (bảng 1, hình 1). Đối với môi trường KC và VW, sự phát triển của protocorms đạt đến giai đoạn mô phân sinh sau 12 tuần nuôi cấy. Kết quả thu được cho thấy, môi trường MS có tác dụng tốt nhất đến khả năng nảy mầm của hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công thể hiện qua các tiêu chí protocorm hình thành sớm hơn, tỷ lệ hạt nảy mầm cao hơn (90,54%). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của P. Mohanty và cs (2012) [4] khi nhân giống *in vitro* loài địa lan *Cymbidium masterii* từ vật liệu khởi đầu là quả thông qua thụ phấn nhân tạo sau 7 tháng. Theo báo cáo của tác giả này, môi trường thích hợp nhất cho hạt *Cymbidium masterii* nảy mầm là MS với tỷ lệ hạt nảy mầm đạt 93,58% [4].



Hình 1. Kết quả tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công. (A) Hoa địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công để thu quả; (B) Quả địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công giai đoạn chín sinh lý; (C) Hạt được gieo trên môi trường nuôi cấy MS; (D) Phôi hạt sau 6 tuần nuôi cấy; (E) Protocorms sau 12 tuần nuôi cấy; (F) Protocorms sau 14 tuần nuôi cấy; (G) Chồi tái sinh trên môi trường MS + 1,0 mg BA/I; (H) Chồi tái sinh trên môi trường MS + 3% Sucrose + 1,0 mg BA/I; (I) Chồi tái sinh trên môi trường MS + 5% Sucrose + 1,0 mg BA/I.

Ảnh hưởng một số hoạt chất thuộc nhóm cytokinin (kinetin, TDZ, BA) đến khả năng nhân nhanh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công

Cây con thu được từ môi trường MS cơ bản sau 14 tuần nuôi cấy hạt được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung riêng lẻ với 3 thí nghiệm lần lượt là: bổ sung kinetin, TDZ và BA ở các nồng độ 0, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 và 4,0 mg/l để nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin đến khả năng nhân chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của kinetin, TDZ và BA đến khả năng nhân nhanh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (sau 8 tuần).

Cytokinin (mg/l)	Số lượng chồi/mẫu cây	Chiều dài chồi (cm)	Số lượng rễ/mẫu cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi của mẫu (mg)	
ĐC	0,0	1,66 ^a	1,77 ^b	1,40 ^a	2,20 ^a	198,67 ^a
	0,5	0,74 ^c	2,53 ^a	0,67 ^b	0,73 ^b	163,33 ^b
	1,0	1,01	2,40 ^a	-	-	142,67 ^c
	2,0	1,62 ^a	2,03 ^b	-	-	140,33 ^c
	3,0	1,51 ^a	1,80 ^b	-	-	159,0 ^b
4,0	1,11 ^b	1,67 ^b	-	-	158,33 ^b	
CI%	6,57	9,70	-	-	4,42	
LSD _{0,05}	0,15	0,35	-	-	12,61	
ĐC	0,0	1,66 ^d	1,77 ^b	1,40 ^a	2,20 ^a	198,67 ^a
	0,5	2,01 ^c	2,30 ^{ab}	0,82 ^b	0,33 ^b	170,67 ^b
	1,0	2,51 ^b	2,50 ^a	-	-	138,33 ^c
	2,0	2,99 ^a	2,10 ^{ab}	-	-	143,67 ^c
	3,0	2,63 ^a	2,23 ^{ab}	-	-	133,67 ^c
4,0	2,09 ^a	2,30 ^{ab}	-	-	180,68 ^b	
CI%	4,31	13,47	-	-	4,50	
LSD _{0,05}	0,18	0,53	-	-	12,89	
ĐC	0,0	1,66 ^d	1,77 ^c	1,40 ^a	2,20 ^a	198,67 ^a
	0,5	2,49 ^a	2,73 ^b	0,28 ^b	0,43 ^b	217,33 ^b
	1,0	4,42 ^a	3,63 ^a	-	-	272,67 ^a
	2,0	3,38 ^b	3,27 ^{ab}	-	-	225,67 ^b
	3,0	3,30 ^b	3,03 ^b	-	-	181,67 ^d
4,0	3,18 ^b	3,23 ^{ab}	-	-	176,67 ^d	
CI%	4,51	9,60	-	-	3,66	
LSD _{0,05}	0,25	0,5	-	-	13,82	

Ghi chú: a, b, c, d: thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan, p<0,05).

Kết quả bảng 2 cho thấy sự tác động khác nhau của các hoạt chất trong nhóm cytokinin đến quá trình cảm ứng trên cây con hình thành từ chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công sau 8 tuần nuôi cấy.

Bổ sung kinetin ở 5 nồng độ (từ 0,5 đến 4 mg/l), số lượng chồi/mẫu thấp hơn đối chứng, ngoại trừ 2 công thức (2 và 3 mg) có giá trị tương đương (1,62 và 1,51 chồi so với 1,66 chồi). Với chỉ tiêu chiều dài chồi, các công thức bổ sung kinetin 0,5 và 1 mg vượt trội hơn đối chứng (2,53 và 2,40 cm so với 1,77 cm), các công thức còn lại chiều dài rễ không tăng cao hơn. Về khối lượng mẫu tươi, tất cả các công thức bổ sung kinetin đều giảm hơn đối chứng với độ tin cậy ở mức 95%. Mặt khác, kinetin còn có tác dụng ức chế quá trình hình thành rễ, khi bổ sung kinetin ở các nồng độ 1,0, 2,0, 3,0 và 4,0 mg/l, cây con hoàn toàn không ra rễ, sự chênh lệch nằm trong ngưỡng sai khác ở độ tin cậy 95%.

Theo số liệu bảng 2, TDZ có hiệu quả làm tăng số lượng chồi/mẫu cấy, các công thức có bổ sung TDZ, số lượng chồi đạt 2,01-2,99, cao hơn so với đối chứng (1,66 chồi). Với chỉ tiêu chiều dài chồi, công thức bổ sung TDZ 1 mg cho kết quả cao nhất (2,50 cm), cao hơn đối chứng khá rõ (chỉ đạt 1,77 cm), các công thức còn lại gần như tương đương nhau. Tuy nhiên, khối lượng tươi của mẫu nuôi cấy ở các công thức thí nghiệm đạt từ 133,67 đến 180,68 mg, thấp hơn so với đối chứng (đạt 198,67 mg), số liệu ở mức độ tin cậy 95%. Tương tự như kinetin, TDZ ức chế sự hình thành rễ, ngoại trừ công thức bổ sung TDZ 0,5 mg (cho số lượng rễ thấp hơn với đối chứng), các công thức còn lại, mẫu nuôi cấy không ra rễ sau 8 tuần nuôi cấy.

Đối với hoạt chất BA, số lượng chồi ở các công thức thí nghiệm đạt 2,49-4,42, cao hơn so với đối chứng (chỉ đạt 1,66 chồi), trong đó công thức bổ sung 1 mg BA phát sinh số lượng chồi tốt nhất (4,42 chồi). Chiều dài chồi ở các công thức thí nghiệm đạt giá trị 2,73-3,63 cm, đạt cao hơn so với đối chứng (chỉ đạt 1,77 cm), trong đó công thức bổ sung BA 1 mg cho kết quả chiều dài chồi cao nhất (3,63 cm). Khối lượng tươi của mẫu nuôi cấy đạt giá trị cao nhất ở công thức BA 1 mg/l (272,67 mg).

X.F. Liu và cs (2020) [6] đã chỉ ra rằng, chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin gồm kinetin, TDZ và BA có tác dụng cảm ứng chồi hiệu quả trong nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, K.Y. Paek và E.C. Yeung (1991) [7] cho rằng, tác dụng của các cytokinin phụ thuộc vào loại mẫu nuôi cấy, ở các loài thực vật khác nhau, mỗi loại cytokinin có tác dụng tái sinh khác nhau, nồng độ phù hợp sẽ có tác dụng kích thích tái sinh chồi, nồng độ cao có tác dụng ngược lại ức chế và gây chết cho mẫu nuôi cấy. Khi nghiên cứu ảnh hưởng của cytokinin đối với khả năng tái sinh chồi *in vitro* loài địa lan *Cymbidium forrestii*, nhóm tác giả này đã khuyến cáo sử dụng BA có hiệu quả rõ rệt nâng cao khả năng tái sinh của chồi, nhận xét này tương đối trùng hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Như vậy, trong 3 loại cytokinin, BA có hiệu quả cao trong việc kích thích tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công. Xử lý BA 1 mg/l cho hiệu quả đạt 4,42 chồi/mẫu, chiều dài chồi đạt 3,63 cm, khối lượng tươi đạt 272,67 mg.

Ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose bổ sung đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của đường sucrose đến khả năng nhân nhanh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công (sau 8 tuần).

Sucrose (%)	Số lượng chồi/mẫu cấy	Chiều dài chồi (cm)	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
0	2,24 ^a	1,60 ^a	234,67 ^c
3	4,42 ^b	3,63 ^b	272,67 ^b
5	4,47 ^b	3,60 ^b	315,0 ^a
7	3,17 ^b	2,17 ^b	240,33 ^c
10	2,19 ^c	1,50 ^c	238,67 ^c
CV%	5,20	9,40	4,42
LSD _{0,05}	0,33	0,43	20,91

Ghi chú: ^{a, b, c}: thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan, p<0,05).

Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng môi trường nuôi cấy tốt nhất (kết quả từ nội dung 1) với lượng bổ sung BA phù hợp nhất (kết quả từ nội dung 2) để thử nghiệm bổ sung nguồn các bon từ đường sucrose với các nồng độ khác nhau (0% - đối chứng, 3, 5, 7 và 10%). Kết quả bảng 3 cho thấy, số lượng chồi/mẫu nuôi cấy đạt 2,19-4,47, trong đó 2 công thức bổ sung đường 3 và 5% cho số lượng chồi cao nhất, lần lượt là 4,42 và 4,47 chồi. Công thức có số lượng chồi thấp nhất là đối chứng (2,24 chồi) và công thức bổ sung đường 10% (2,19 chồi). Với chỉ tiêu chiều dài chồi, 2 công thức đạt giá trị cao nhất là công thức bổ sung 3 (3,63 cm) và 5% đường (3,60 cm). Khối lượng tươi của chồi đạt 238,67-315,0 mg, trong đó 2 công thức bổ sung 3 và 5% đường cho khối lượng mẫu cao nhất, lần lượt đạt giá trị là 272,67 và 315,0 mg, các công thức

còn lại thấp hơn và cùng mức giá trị kết quả tương đương so với đối chứng, số liệu ở độ tin cậy 95%.

Sucrose là thành phần quan trọng trong môi trường nuôi cấy *in vitro* mô tế bào thực vật, sucrose cung cấp nguồn các bon, bổ sung thêm sucrose vào môi trường giúp cho tế bào tăng cường quá trình tổng hợp chất hữu cơ, tái tạo các cơ quan thực vật, tăng nhanh tái sinh và sinh khối [8]. J.D. Chung và cs (1985) [8] khi nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy ở loài địa lan *Cymbidium kanran* đã chỉ ra rằng, nồng độ đường sucrose phù hợp giúp tăng quá trình tái sinh chồi, tăng sinh khối của mẫu nuôi cấy. Cụ thể: nồng độ sucrose tối ưu đối với địa lan *Cymbidium ensifolium* là 4% và *Cymbidium kanran* là 6%, đây là các nồng độ thúc đẩy tái sinh chồi và tăng khối lượng tươi của chồi đạt giá trị tối đa. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, khả năng tái sinh chồi đạt tối đa ở nồng độ đường 3 đến 5% và đạt khối lượng tươi lớn nhất ở nồng độ đường 5%. Khi tăng nồng độ đường lên cao hơn (7 và 10%), nhóm nghiên cứu nhận thấy chồi cứng và nhỏ hơn, khả năng tái sinh giảm đi đáng kể (bảng 3).

Như vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy, có thể bổ sung đường 3-5% vào môi trường tái sinh địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công, khả năng tái sinh chồi có giá trị tương đương ở cả 2 nồng độ 3 và 5%, nhưng khối lượng chồi đạt cao nhất ở nồng độ đường 5%.

Kết luận

- Môi trường nuôi cấy phù hợp cho hạt địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công này mầm là MS, tỷ lệ hạt nảy mầm cao nhất đạt 90,54%.
- Hoạt chất BA thuộc nhóm cytokinin có tác động tốt đến khả năng tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc Đuôi Công, môi trường MS bổ sung BA 1 mg/l cho kết quả tái sinh cao nhất (4,42 chồi/mẫu, chiều dài chồi đạt 3,63 cm, khối lượng tươi đạt 272,67 mg).

- Bổ sung đường sucrose vào môi trường MS + 1 mg BA/l có tác dụng tốt đến sự tái sinh chồi Bạch Ngọc Đuôi Công, trong đó hàm lượng đường sucrose 5% cho kết quả tốt nhất (số chồi đạt 4,47 chồi, chiều dài chồi đạt 3,6 cm, khối lượng tươi đạt 315 mg).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L.V. Averyanov, A.L. Averyanova (2003), *Updated Checklist of The Orchids of Vietnam*, Vietnam National University Publishing House Hanoi, 45pp.
- [2] G.Q. Zhang, et al. (2021), "Phylogenetic incongruence in *Cymbidium orchids*", *Plant Diversity*, **43**(6), pp.452-461.
- [3] M.C. Das, et al. (2007), "Protocorm regeneration, multiple shoot induction and *ex vitro* establishment of *Cymbidium devonianum* Paxt", *Asian Journal of Plant Sciences*, **6**(2), pp.349-353.
- [4] P. Mohanty, et al. (2012), "A simple and efficient protocol for the mass propagation of *Cymbidium mastersii*: An ornamental orchid of northeast India", *AoB Plants*, **2012**, DOI: 10.1093/aobpla/pls023.
- [5] H.Y. Park, et al. (2018), "*In vitro* propagation of *Cymbidium goeringii* Reichenbach fil. through direct adventitious shoot regeneration", *Physiol. Mol. Biol. Plants*, **24**(2), pp.307-313.
- [6] X.F. Liu, et al. (2020), "Efficient propagation with *in vitro* seed germination of *Vanda falcata*", *Journal of Zhejiang University Science B*, **21**(12), pp.999-1004.
- [7] K.Y. Paek, E.C. Yeung (1991), "The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N 6-benzyladenine on the growth of *Cymbidium forrestii* rhizomes *in vitro*", *Plant Cell Tissue Org.*, **24**, pp.65-71.
- [8] J.D. Chung, et al. (1985), "Factors affecting growth of rhizome and organogenesis of Korean native *Cymbidium kanran*", *J. Kor. Soc. Hortic. Sci. (Korea R.)*, **26**(3), pp.281-288.