

Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy in vitro trong nhân giống lan hoàng thảo hương vani (*Dendrobium linguella*)

Lê Huệ Anh, Nguyễn Thị Huyền*, Đoàn Thị Thu Hương, Nguyễn Văn Việt
Trường Đại học Lâm nghiệp

Application of in vitro cultural technique in the propagation of orchids (*Dendrobium linguella*)

Le Hue Anh, Nguyen Thi Huyen*, Doan Thi Thu Huong, Nguyen Van Viet
Vietnam National University of Forestry
*Corresponding author: huyennt@vnuf.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.14.6.2025.003-012>

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 12/05/2025

Ngày phản biện: 11/06/2025

Ngày quyết định đăng: 18/07/2025

Từ khóa:

Dendrobium linguella, hoàng thảo hương vani, nuôi cấy in vitro, thể chồi, vi nhân giống.

Keywords:

Dendrobium, *Dendrobium linguella*, in vitro culture, micropropagation, protocorm.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã thành công trong việc vi nhân giống lan hoàng thảo hương vani (*Dendrobium linguella*) bằng kỹ thuật nuôi cấy in vitro. Kết quả cho thấy, sau khi khử trùng, hạt đạt tỉ lệ nảy mầm 100% trên môi trường cơ bản MS sau 28,67 ngày. Môi trường MS được bổ sung 0,7 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin mang lại hệ số nhân nhanh thể chồi đạt 8,4 lần sau 6 tuần nuôi cấy, đồng thời cho chất lượng thể chồi tốt. Tuy nhiên, môi trường tối ưu cho cảm ứng tạo đa chồi là môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA + 30 g/l dịch nghiền khoai tây + 50 g/l dịch nghiền chuối, đạt hệ số nhân chồi cao nhất 12,43 lần sau 6 tuần. Để kích thích ra rễ, khi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l NAA sau 6 tuần, tỉ lệ chồi ra rễ đạt 98,96%, với trung bình 7,44 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt 4,54 cm. Giá thể rêu rừng được xác định là phù hợp nhất để huấn luyện cây in vitro. Việc chăm sóc cây con giai đoạn đầu bằng dung dịch ½ MS mang lại kết quả tốt: tỉ lệ cây sống đạt 94,42%, chiều cao cây tăng thêm sau 8 tuần đạt 2,81 cm, cây phát triển khỏe mạnh và ra rễ mới.

ABSTRACT

The micropropagation of the Vanilla-scented *Dendrobium* (*Dendrobium linguella*) was successfully investigated using in vitro culture techniques. Research results showed that, after sterilization, seeds achieved a 100% germination rate on the basic MS medium after 28.67 days. The MS medium supplemented with 0.7 mg/l BAP + 0.2 mg/l Kinetin yielded a shoot proliferation coefficient of 8.4 times after 6 weeks of culture, along with good protocorm-like body (PLB) quality. However, the optimal medium for multiple shoot induction was MS medium supplemented with 0.5 mg/l BAP + 0.2 mg/l Kinetin + 0.1 mg/l NAA + 30 g/l potato homogenate + 50 g/l banana homogenate, which gave the highest shoot multiplication rate of 12.43 times after 6 weeks. For rooting, culturing on MS medium supplemented with 0.5 mg/l NAA for 6 weeks resulted in a rooting percentage of 98.96%, with an average of 7.44 roots/plant and a mean root length of 4.54 cm. Forest moss was determined to be the most suitable substrate for in vitro plantlet acclimatization. Initial plantlet care using ½ MS solution yielded excellent results: the survival rate reached 94.42%, the height increase after 8 weeks was 2.81 cm, and the plantlets developed vigorously with new root formation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi hoàng thảo (*Dendrobium*) là một trong những chi lan lớn của họ Orchidaceae, gồm khoảng 1148 loài [1], trong đó nhiều loài có giá trị cao và đang được nuôi trồng phổ biến ở Việt Nam như *Dendrobium nobile*, *D. anosmum*, *D. chrysotoxum*... Trong số đó, lan hoàng thảo hương vani (*Dendrobium linguella*) là loài lan có hình thái đẹp, hoa có màu sắc đặc trưng và mùi thơm nhẹ như hương vani, được giới chơi lan ưa chuộng và đánh giá cao. Tuy nhiên, do giá trị kinh tế lớn nên các loài lan này đang bị khai thác quá mức từ tự nhiên, cùng với tác động từ mất rừng, biến đổi khí hậu và sự phát triển của các khu đô thị, diện tích rừng tự nhiên bị thu hẹp đáng kể, dẫn đến nguy cơ suy giảm số lượng và thậm chí tuyệt chủng nhiều loài lan bản địa quý hiếm.

Trong tự nhiên, khả năng sinh sản hữu tính của phong lan kém do đặc điểm sinh học hạt lan không có nội nhũ, cần có nấm cộng sinh mới có thể nảy mầm. Trong khi đó, các phương pháp nhân giống vô tính như tách chồi hoặc cắt thân có hệ số nhân giống thấp, mất nhiều thời gian. Nên áp dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật để nhân giống các loài lan đẹp, có giá trị kinh tế cao như lan hoàng thảo hương vani là cần thiết. Thực tế cho thấy, có nhiều nghiên cứu đã thành công trong việc nhân giống các loài lan trong chi Hoàng thảo bằng áp dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* như *Dendrobium wangliangii* [2]; *D. nobile* Lindl. [3]; *D. anosmum* [4]; *D. officinale* Kimura et Migo [5]; *Dendrobium* Shavin White [6]; *Dendrobium nestor* [7]... Tuy nhiên, hiện các nghiên cứu nhân giống lan hoàng thảo hương vani bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* còn khá hạn chế. Do đó, bài báo này công bố kết quả nghiên cứu nhân giống thành công lan hoàng thảo hương vani bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* góp phần cung cấp nguồn cây giống chất lượng, phục vụ nhân rộng sản xuất mà

còn có ý nghĩa quan trọng trong việc bảo tồn nguồn gen quý hiếm của Việt Nam, đồng thời là cơ sở để phát triển các nghiên cứu chuyên sâu hơn trong tương lai.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất nghiên cứu

Quả lan hoàng thảo hương vani 5 tháng tuổi, chín sinh lý, có màu vàng nhẹ, sờ mềm tay, thu tại vườn lan Đỗ Thành ở Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo mẫu sạch in vitro và nuôi cấy khởi đầu: Quả lan hoàng thảo hương vani sau khi thu hái được rửa bằng xà phòng loãng và tráng sạch dưới vòi nước chảy, sau đó được khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 13 phút như mô tả của Nguyễn Văn Việt (2017) [8]. Quả sau khi khử trùng được tách vỏ, gieo trên các công thức thí nghiệm (CTTN) là các môi trường cơ bản VW (Vacin & Went), MS (Murashige & Skoog) và Knops có bổ sung 20 g/l đường sucrose, 7 g/l agar và 1 mg/l BAP. Tỷ lệ hạt nảy mầm, thời gian xuất hiện thể chồi (ngày) được thu thập đánh giá.

Nhân nhanh thể chồi: Các protocorm phát sinh từ hạt thu được từ giai đoạn nuôi cấy khởi đầu, được tách thành các cụm có kích thước 0,5x0,5 cm và cấy chuyển lên môi trường MS cơ bản được bổ sung chất kích thích sinh trưởng riêng rẽ hoặc kết hợp BAP, Kinetin nồng độ 0,2-1,0 mg/l, mỗi bình 5 cụm protocorm để thăm dò khả năng phát triển protocorm. Thống kê số liệu, đánh giá khả năng nhân protocorm qua số bình cấy chuyển sau mỗi chu kỳ và đặc điểm hình thái, chất lượng protocorm sau 4 tuần nuôi cấy.

Nhân nhanh chồi:

Thí nghiệm 1: Xác định nồng độ chất điều hòa sinh trưởng thích hợp cho nhân nhanh chồi: Các cụm 2-3 chồi phát sinh từ protocorm thu được từ các thí nghiệm trên được cấy chuyển sang môi trường MS cơ bản được bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) như BAP, kinetin nồng độ 0,2-1,0 mg/l để

thăm dò khả năng nhân nhanh chồi *in vitro*. Thu thập số liệu, đánh giá hệ số nhân chồi, chiều cao chồi (cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 2: xác định hàm lượng một số chất bổ sung trong giai đoạn nhân nhanh chồi: Qua thí nghiệm trên, thu được công thức môi trường có nồng độ chất điều hòa sinh trưởng phù hợp nhất cho nhân nhanh chồi. Dựa trên công thức môi trường đó, bổ sung thêm chuối (30-50 g/l) và khoai tây (30-50 g/l) để đánh giá ảnh hưởng của các chất hữu cơ này đến khả năng nhân nhanh chồi. Thu thập số liệu, đánh giá hệ số nhân chồi, chiều cao chồi (cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

Tạo cây hoàn chỉnh: Các chồi thu được từ thí nghiệm nhân nhanh có chiều cao từ 1,5-2,0 cm được tách riêng biệt và cấy sang môi trường MS cơ bản bổ sung NAA nồng độ 0,2-0,7 mg/l để đánh giá khả năng hình thành và phát triển rễ từ chồi *in vitro*. Kết quả được đánh giá trong 4 tuần nuôi cấy theo các tiêu chí: tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ TB/chồi, chất lượng rễ.

Huấn luyện và ra ngôi: Khi cây con đủ tiêu chuẩn, tiến hành ra cây để trồng ở vườn ươm.

Giá thể trồng cây con là rêu rừng đã được xử lý với chất diệt nấm. Sau khi ra ngôi, trong 7 ngày đầu chỉ tưới phun sương với nước sạch. Sau đó, cây con được chăm sóc với các chế phẩm dinh dưỡng khác nhau. Thí nghiệm tiến hành trên 3 công thức: ĐC: phun tưới nước lã; CT1: phun tưới $\frac{1}{2}$ MS; CT2: phun tưới phân đầu trâu MK 501 theo hướng dẫn sử dụng.

Điều kiện nuôi cấy: Cường độ chiếu sáng 3000 lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày, nhiệt độ phòng nuôi $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu được điều chỉnh về pH 5,8, khử trùng ở 121°C trong 20 phút.

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học ứng dụng các phần mềm đã lập trình trên máy tính điện tử như Excel và SPSS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch *in vitro*

Sau khi khử trùng, 100% mẫu không nhiễm đều phát sinh thể chồi (protocorm) và kết quả thu được đánh giá ảnh hưởng của môi trường khoáng đến khả năng phát sinh thể chồi trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả hình thành protocorm từ hạt lan hoàng thảo hương vani

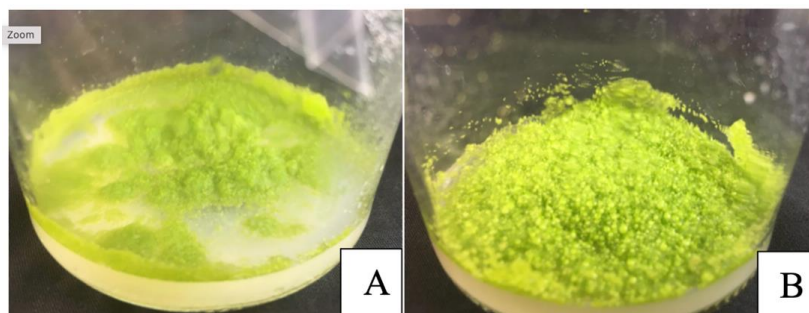
Môi trường khoáng	Protocorm phát sinh từ hạt	
	Tỷ lệ (%)	Thời gian (ngày)
VW	100	31,33
MS	100	28,67
Knops	100	41,07
Sig	-	0,003

Kết quả Bảng 1 cho thấy thời gian hình thành thể chồi lan hoàng thảo hương vani ở các môi trường khác nhau là không giống nhau. Cụ thể, trên cả 3 môi trường VW, MS và Knops tỷ lệ hạt nảy mầm đều đạt 100% nhưng thời gian hình thành thể chồi ở môi trường MS là ngắn nhất (xuất hiện sau 28,67 ngày – Hình 1), trong khi đó thời gian xuất hiện thể chồi ở môi trường VW là trung bình 31,33 ngày và môi trường Knops là 41,07 ngày. Kết quả

nghiên cứu thu được khá phù hợp với công bố của nhóm tác giả Nguyễn Thị Lài và cộng sự (2024) khi sử dụng môi trường MS thích hợp thì tỷ lệ nảy mầm đạt 100% và thời gian xuất hiện protocorm sau khoảng 4 tuần nuôi cấy hạt lan hoàng thảo U lồi (*Dendrobium wardianum*) [9]. Trong khi đó, Đỗ Quỳnh Liên và cộng sự (2019) nghiên cứu nhân giống lan phi điệp tím Hoà Bình (*Dendrobium anosmum* Lindley) nhận thấy 93,3% hạt nảy mầm sau

23,5 trên môi trường MS [10]. Như vậy, với một số loài trong chi *Dendrobium* như hoàng thảo U lồi, phi điệp tím Hoà Bình, hoàng thảo

hương vani, môi trường nuôi cấy khởi đầu phù hợp cho hạt nảy mầm là MS với thời gian nảy mầm sau khoảng 4 tuần nuôi cấy.



Hình 1. Kết quả gieo hạt lan hoàng thảo hương vani

A) hạt lan nảy mầm sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS;

B) thể chồi (protocorm) hình thành sau 7 tuần nuôi cấy trên môi trường MS

3.2. Nhân nhanh thể chồi *in vitro*

Mục tiêu của giai đoạn nhân thể chồi vừa giúp tăng số lượng thể chồi, vừa giúp thể chồi tích lũy vật chất để phát triển các hình thái của chồi hoàn chỉnh. Tuy nhiên, do lan hoàng thảo hương vani là đối tượng nhân giống mới, các nghiên cứu trước đây trên loài này còn khá hạn chế nên dựa trên các nghiên cứu đã công

bố về việc nhân giống các loài trong chi *Dendrobium*, thí nghiệm này được bố trí các công thức sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật với nồng độ khác nhau. Sau 4 tuần theo dõi và thu thập số liệu về hệ số tạo thể chồi, đặc điểm thể chồi được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và Kinetin đến khả năng nhân nhanh thể chồi

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Hệ số nhân thể chồi	Chất lượng thể chồi
	BAP	Kinetin		
N ₁	0,2	-	4,43	+
N ₂	0,3	-	5,07	+
N ₃	0,5	-	5,60	++
N ₄	0,7	-	6,43	++
N ₅	-	0,2	3,50	+
N ₆	-	0,3	5,10	+
N ₇	-	0,5	5,20	++
N ₈	-	0,7	5,43	++
N ₉	0,2	0,2	5,30	+++
N ₁₀	0,3	0,2	6,23	+++
N ₁₁	0,5	0,2	7,07	+++
N ₁₂	0,7	0,2	8,40	+++
N ₁₃	1,0	0,2	7,23	++
Sig			0,016	

Ghi chú: (+): chồi nhỏ, ngắn, màu xanh nhạt; (++): chồi trung bình, kích thước không đồng đều; (+++): chồi mập, màu xanh đậm, đồng đều.

Kết quả thu được từ Bảng 2 cho thấy hệ số nhân và chất lượng thể chồi chênh lệch lớn khi thay đổi nồng độ các chất ĐHST. Ở các công thức thí nghiệm bổ sung riêng BAP (N_1-N_4) và riêng kinetin (N_5-N_8) hệ số nhân thể chồi lan hoàng thảo hương vani có xu hướng tăng khi tăng nồng độ các chất ĐHST này tăng từ 0,2 - 0,7 mg/l, hệ số nhân cao nhất ở môi trường bổ sung BAP là 6,43 lần và ở môi trường bổ sung kinetin là 5,43 lần. Khả năng kích thích tạo chồi ở lan hoàng thảo hương vani thì kinetin tỏ ra kém hơn so với BAP. Trong khi đó, khi bổ sung kết hợp BAP và kinetin hệ số nhân thể chồi được tăng lên đáng kể, đạt cao nhất ở

công thức N_{12} là 8,40 lần, chất lượng chồi tốt nhất (Hình 2). Nguyễn Văn Việt (2017) sử dụng môi trường Knops bổ sung 0,7 mg/l BAP, 0,3 mg/l kinetin và 0,2 mg/l NAA trong giai đoạn nhân nhanh thể chồi lan hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindley) cho kết quả cao nhất đạt 10,7 lần với chất lượng chồi tốt [8]. Trong khi đó tác giả Nguyễn Thị Quỳnh Trang và cộng sự (2013) sử dụng môi trường MS bổ sung chất ĐHST BAP, kinetin và NAA kết hợp tất cả ở nồng độ 0,3 mg/l cho hệ số nhân thể chồi lan phi điệp tím cao nhất đạt 5,8 lần, thể chồi to, xanh đậm [4].



Hình 2. Thể chồi trên các môi trường nhân nhanh N_{12} sau 6 tuần nuôi cấy

3.3. Kết quả nhân nhanh chồi

3.3.1. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi

Nhân nhanh chồi là công đoạn có ý nghĩa hết sức quan trọng trong việc tạo ra số lượng lớn cây con *in vitro*. Các chất ĐHST thực vật như kinetin, BAP, NAA thường được sử dụng kết hợp để làm cho hệ số nhân chồi tăng lên rõ rệt [8]. Do các chất này thường có tác dụng

lên sự phân hoá, sinh trưởng và phát triển của các tế bào thực vật, đặc biệt là ảnh hưởng lớn đến sự hình thành và phân hoá chồi. Trong các thí nghiệm này, sử dụng các chất ĐHST thực vật có nồng độ khác nhau để kích thích tạo nhiều chồi nhằm đáp ứng các yêu cầu tạo ra hệ số nhân chồi cao, chồi sinh trưởng, phát triển tốt

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)			Số chồi TB/cụm	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB/chồi
	BAP	Kinetin	NAA			
NC ₁	0,3	0,2	0,1	4,60	3,33	3,73
NC ₂	0,5	0,2	0,1	6,76	3,26	4,20
NC ₃	0,7	0,2	0,1	5,63	2,96	3,20
NC ₄	0,9	0,2	0,2	5,16	2,93	3,63
NC ₅	1,0	0,2	0,2	4,03	3,36	3,10
NC ₆	1,5	0,2	0,2	3,53	2,66	2,96
	Sig			0,001	0,008	0,001

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy, khi sử dụng công thức môi trường nuôi cấy khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi lan hoàng thảo hương vani. Số chồi TB/mẫu cấy ban đầu đạt từ 3,53 - 6,76 lần, chiều cao trung bình của chồi đạt từ 2,66 - 3,36 cm và số lá trung bình của một chồi đạt 2,96 - 4,20. Ở công thức NC₁- NC₂ nồng độ BAP tăng từ 0,3 - 0,5 mg/l dẫn đến số chồi TB/mẫu tăng từ 4,6 - 6,76, trong khi đó tăng nồng độ BAP ở các công thức thí nghiệm còn lại (NC₃-NC₆) thì số chồi TB/mẫu lại giảm xuống. Kết quả nghiên cứu cho thấy, công thức môi trường NC₂ (môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l NAA) cho kết quả tốt nhất với giá trị TB: số chồi là 6,76, chiều cao chồi 3,26 cm và số lá là 4,2.

Kết quả nghiên cứu nhân nhanh chồi một số loài lan trong chi *Dendrobium* đã được công bố của các tác giả khác cũng thu nhận những kết quả khá tương đồng khi môi trường nhân nhanh chồi bổ sung kết hợp BAP, kinetin và NAA đều cho kết quả tăng trưởng chồi tốt.

Như tác giả Nguyễn Văn Việt (2017) sử

dụng môi trường khoáng Knops bổ sung 0,8 mg/l BAP, 0,3 mg/l kinetin và 0,1 mg/l NAA cho kết quả nhân nhanh chồi lan hoàng thảo kèn với hệ số nhân đạt 10,3 lần, chiều cao TB chồi đạt 3,2 cm và số lá TB là 4,2 lá/chồi [8].

3.3.2. Ảnh hưởng của các chất bổ sung đến khả năng nhân nhanh chồi

Ngoài các hormone sinh trưởng, việc bổ sung các dịch chiết hoặc bột nghiền một số loại rau củ như khoai tây, chuối, cà rốt giúp thúc đẩy quá trình sinh trưởng và phát triển các mẫu nuôi cấy nhanh hơn, tốt hơn [11]. Những thành phần chưa xác định trong củ quả có tác dụng kích thích sự sinh trưởng của mô tế bào. Trong thí nghiệm này khoai tây và chuối xanh được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để theo dõi sự ảnh hưởng của chúng đến sinh trưởng của lan hoàng thảo hương vani *in vitro*. Môi trường MS bổ sung 30 g/l đường saccharose, 0,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l kinetin và 0,1 mg/l NAA cùng với khoai tây và chuối xanh nghiền ở hàm lượng khác nhau. Kết quả theo dõi sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của chất bổ sung đến khả năng nhân nhanh chồi lan hoàng thảo hương vani

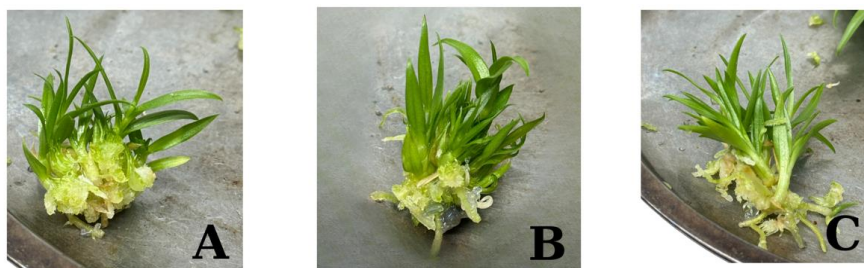
CTTN	Chất bổ sung (g)		Số chồi TB/cụm	Chiều cao TB chồi (cm)	Số lá TB/chồi
	Khoai tây	Chuối			
NC ₂	0	0	6,76	3,26	4,20
NC ₇	30	30	7,50	3,93	4,26
NC ₈	50	30	10,03	4,03	4,73
NC ₉	30	50	12,43	4,20	4,53
NC ₁₀	50	50	11,00	3,86	3,96
	Sig		0,001	0,042	0,007

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy ở các môi trường bổ sung thêm khoai tây và chuối thì kết quả thu được cải thiện đáng kể so với đối chứng ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi. Cụ thể như sau: ở môi trường bổ sung thêm 30 g/l khoai tây và chuối xanh số chồi TB/cụm tăng lên thành 7,5

chồi, chiều cao trung bình đạt 3,93 cm và số lá là 4,26 lá. Trong tất cả các công thức thí nghiệm bổ sung khoai tây và chuối xanh thì công thức thí nghiệm thu được kết quả cao nhất là công thức NC₉ bổ sung 30 g/l khoai tây và 50 g/l chuối xanh với số chồi TB/cụm thu

được là 12,43 chồi, chiều cao TB chồi là 4,2 cm và số lá TB là 4,53 lá (Hình 3). Kết quả thu được cho thấy, đối với môi trường bổ sung dịch chiết sự hình thành và phát triển chồi cây tốt hơn môi trường không bổ sung. Jaime và cộng sự (2015) khi tổng hợp các nghiên cứu vi nhân giống chi *Dendrobium* cho thấy, các chất phụ gia thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy *Dendrobium* là nước dừa, than hoạt tính, chiết xuất chuối, peptone và một số những chất khác [12]. Trong nghiên cứu này, các chất bổ sung được sử dụng là khoai tây và chuối xanh nghiền. Nhóm tác giả Nguyễn Thị Hải Yến và Nguyễn Thu Hường (2021) bổ sung

50 g/l chuối xanh hoặc 50 g/l khoai tây nghiền vào môi trường nhân nhanh lan phi điệp nhận thấy rằng số chồi/cụm tăng thêm xấp xỉ 9 chồi/cụm so với môi trường không bổ sung chuối và khoai tây [13]. Điều đó cho thấy, bổ sung thêm các chất bổ sung như chuối, khoai tây có tác dụng rõ rệt lên sự tăng trưởng chồi của một số loài trong chi hoàng thảo. Như vậy có thể nhận xét rằng, môi trường thích hợp cho nhân chồi lan hoàng thảo hương vani là MS bổ sung 0,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l kinetin, 0,1 mg/l NAA, 30g/l khoai tây và 50 g/l chuối xanh.



Hình 3. Chồi lan hoàng thảo hương vani trên môi trường nhân nhanh

A) chồi trên môi trường NC2; B) chồi trên môi trường NC9; C) chồi trên môi trường NC10

3.4. Ra rễ tạo cây lan hoàng thảo hương vani hoàn chỉnh

Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh là bước cuối trong quy trình kỹ thuật nhân giống *in vitro* các loài thực vật nói chung. Trong thí nghiệm này, để đánh giá khả năng ra rễ *in vitro* của lan

hoàng thảo hương vani, các chồi đạt kích thước 3 – 5 cm được cấy lên môi trường MS bổ sung chất ĐHST NAA được sử dụng ở các nồng độ khác nhau từ 0,2 – 0,7 mg/l. Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 5.

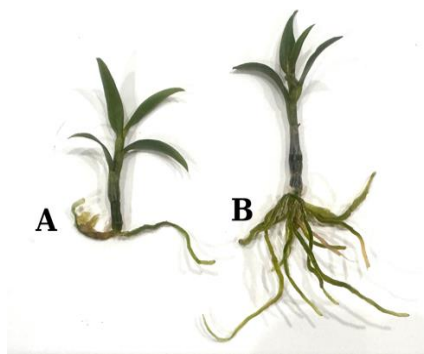
Bảng 5. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng ra rễ *in vitro*

CTTN	NAA (mg/l)	Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều dài rễ TB (cm)	Số rễ TB/cây (rễ)	Đặc điểm rễ
ĐC	-	24,49	1,83	2,47	+
RR ₁	0,2	75,01	3,75	4,68	++
RR ₂	0,3	81,34	4,49	6,76	++
RR₃	0,5	98,96	4,54	7,44	++++
RR ₄	0,7	82,34	4,30	5,65	+++
Sig		0,001	0,001	0,001	

Ghi chú: (+): rễ nhỏ, ngắn, màu trắng hoặc nâu; (++) : rễ nhỏ, mảnh, có màu xanh; (+++) : rễ mập, ngắn, có màu xanh; (++++): dài, mập, có màu xanh, đầu chóp rễ trắng.

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, môi trường nuôi cấy bổ sung hàm lượng NAA khác nhau thì ảnh hưởng khác nhau đến sự ra rễ lan hoàng thảo hương vani *in vitro*. Môi trường đối chứng (ĐC) không bổ sung NAA tỉ lệ ra rễ thấp chỉ đạt 24,49%, số rễ trung bình 2,47 rễ/cây; độ dài rễ là 1,83 cm (Hình 4). Tuy nhiên, rễ thu được ngắn, mảnh, màu trắng hoặc nâu. Điều này phản ánh phần nào khả năng tạo rễ của lan hoàng thảo hương vani là khá cao nhưng vẫn cần nghiên cứu tìm ra môi trường bổ sung nồng độ chất ĐHST phù hợp để thu được chất lượng rễ đảm bảo tỉ lệ sống cao ở các giai đoạn ra bầu sau này. Khi tăng nồng độ NAA lên 0,2 mg/l thì tỉ lệ ra rễ bắt đầu tăng lên đáng kể (75,33%). Khi tiếp tục tăng nồng độ NAA vào môi trường nuôi cấy thì sau 4 tuần nuôi cấy, môi trường thích hợp nhất để kích thích ra rễ và rễ phát triển tốt là công thức RR₃ (0,5 mg/l NAA) với chiều dài rễ trung bình là

5,54 cm và số rễ trung bình/cây đạt 7,44 rễ (Hình 4). Khi tiếp tục tăng nồng độ NAA lên 0,7 mg/l thì số rễ, chiều dài rễ và chất lượng rễ lại có xu hướng giảm. Kết quả thu được cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Hải Yến và Nguyễn Thu Hương (2021) khi bổ sung 0,5 mg/l NAA vào môi trường ra rễ *in vitro* lan hoàng thảo phi điệp thu được kết quả 80% tỉ lệ cây ra rễ, số rễ TB là 3 rễ/cây, độ dài rễ đạt 5,1 cm, rễ mập, dài, màu trắng đục [13]. Trong khi đó tác giả Nguyễn Văn Việt (2017) sử dụng môi trường Knops bổ sung 0,3 mg/l NAA + 0,1 mg/l IBA cho kết quả ra rễ *in vitro* lan hoàng thảo kèn là 100% số cây ra rễ, số rễ TB đạt 4,8 rễ/cây, chiều dài rễ là 3,6 cm [8]. Điều này có thể thấy rằng với một số loài trong chi *Dendrobium* sử dụng chất ĐHST nhóm auxin là NAA và IBA cho kết quả ra rễ tốt.



Hình 4. Cây lan hoàng thảo hương vani hoàn chỉnh

A: môi trường ĐC; B: môi trường RR₃

3.5. Kết quả chăm sóc cây con lan hoàng thảo hương vani giai đoạn vườn ươm

Khi cây con *in vitro* đã đạt đủ tiêu chuẩn về kích thước, hình thái và ra rễ, nhóm tác giả tiến hành đưa cây ra vườn ươm trên giá thể rêu rừng đã qua xử lý thuốc diệt nấm. Tiến hành chăm sóc các cây con bằng các chế phẩm dinh dưỡng khác nhau nhằm khảo sát ảnh hưởng của các chế phẩm này tới sự sinh

trưởng của cây lan con. Thí nghiệm tiến hành trên 3 công thức (CT1: Đối chứng; CT2: chăm sóc bằng dung dịch ½ MS; CT3 sử dụng phân đầu trâu 501) mỗi công thức trồng cây con đồng đều (chiều cao trung bình khoảng 2 – 4 cm, 4 - 5 rễ/chồi, chồi mang 4 – 5 lá). Tần suất chăm sóc 3 ngày/lần, giữ ẩm hàng ngày. Kết quả được thống kê ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả chăm sóc cây con lan hoàng thảo hương vani giai đoạn vườn ươm

CTTN	Loại phân bón	Tỉ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây tăng thêm (cm)	Đặc điểm cây
ĐC	Nước lã	81,34	1,80	Lá xanh nhạt, không ra rễ mới, rễ cũ có màu xanh nhạt hơi ngả nâu
CT1	½ MS	94,42	2,81	Lá xanh, ra rễ mới, rễ cũ phát triển dài thêm
CT2	Phân đầu trâu 501	94,02	2,72	Lá xanh, ra rễ mới, rễ cũ phát triển dài thêm
Sig		0,001	0,001	-

Kết quả được trình bày ở Bảng 6 cho thấy chế phẩm dinh dưỡng sử dụng có tác dụng tăng chiều cao cây và kích thích ra rễ mới, lá mới tốt hơn cho cây con lan hoàng thảo hương vani so với chỉ tưới nước lã. Sử dụng nước lã tưới cho cây con đạt tỉ lệ sống là 81,34%, chiều cao cây tăng thêm sau 6 tuần là 1,8 cm. Trong khi đó các cây con được chăm

sóc bằng chế phẩm dinh dưỡng đều có biểu hiện sinh trưởng tốt, trong đó sử dụng ½ MS chăm sóc cây con giai đoạn ra ngôi cho kết quả với các chỉ tiêu tăng trưởng là chiều cao cây tăng thêm trong thời gian theo dõi thí nghiệm là 2,81 so với 2,72 cm khi sử dụng phân bón đầu trâu 501 (Hình 5).



Hình 5. Cây lan hoàng thảo hương vani sau 8 tuần ra ngôi
A) công thức đối chứng; B) công thức CT2; C) công thức CT3

4. KẾT LUẬN

Hạt lan hoàng thảo hương vani nảy mầm với tỉ lệ 100% sau 28,67 ngày trên môi trường MS. Sau khi nảy mầm thể chồi được nhân nhanh trên môi trường MS+ 0,7 mg/l BAP + 0,2 mg/l kinetin + 30 g/l đường saccharose + 7 g/l agar với hệ số nhân cao nhất đạt 8,4 lần, chất lượng thể chồi tốt. Hệ số nhân chồi cao nhất đạt 12,43 lần với chất lượng chồi tốt thu được trên môi trường MS+ 0,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l NAA + 30 g/l khoai tây + 50 g/l chuối xanh + 30 g/l đường saccharose + 7 g/l agar. Cây ra rễ với tỉ lệ 98,96% trên môi

trường MS bổ sung 0,5 mg/l NAA với chiều dài rễ trung bình 5,54 cm, số rễ trung bình đạt 7,4 rễ/cây. Chăm sóc cây con giai đoạn vườn ươm với ½ MS cho tỉ lệ cây sống 94,42%, chiều cao cây tăng thêm 2,81 cm sau 6 tuần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. IJ Leitch, I Kahandawala, J Suda, L Hanson, Martin J Ingrouille, MW Chase & MF Fay (2009). Genome size diversity in orchids: consequences and evolution. *Annals of botany*. 104(3): 469-481.
- [2]. Dake Zhao, Guangwan Hu, Zhiying Chen, Yana Shi, Li Zheng, Anjun Tang & Chunlin Long (2013). Micropropagation and *in vitro* flowering of *Dendrobium*

wangliangii: a critically endangered medicinal orchid. J Med Plants Res. 7(28): 2098-2110.

[3]. Vũ Ngọc Lan & Nguyễn Thị Lý Anh (2013). Nhân giống *in vitro* loài lan bản địa *Dendrobium nobile* Lindl. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 11(7): 917-925.

[4]. Nguyễn Quỳnh Trang, Vũ Thị Huệ, Khuất Thị Hải Ninh & Nguyễn Thị Thơ (2013). Nhân giống *in vitro* lan Phi điệp tím (*Dendrobium anosmum*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 3: 016-021.

[5]. Nguyễn Thị Sơn, Từ Bích Thủy, Đặng Thị Nhân, Nguyễn Thị Lý Anh & Hoàng Thị Nga (2014). Nhân giống *in vitro* lan *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (Thạch斛 Thiết bì). Tạp chí Khoa học và Phát triển. 12(8): 1274-1282.

[6]. Lê Thị Thúy (2017). Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật và môi trường nuôi cấy lên khả năng tăng sinh chồi và rễ *in vitro* lan Hoàng thảo shavin white (*Dendrobium Shavin White*). Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm. Chuyên san CNSH & KTM: 21-26.

[7]. Vũ Thị Phan, Khuất Thị Hải Ninh & Nguyễn Thị Thơ (2019). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* lan trầm tím (*Dendrobium nestor*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 1: 038-044.

[8]. Nguyễn Văn Việt (2017). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* trong nhân giống lan Hoàng thảo kèn

(*Dendrobium lituiflorum* Lindley). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 4: 039-045.

[9]. Nguyễn Thị Lại, Nguyễn Thị Bình, Nguyễn Thị Ngọc Bích & Phạm Minh Khoa (2024). Nhân giống *in vitro* cây lan Hoàng thảo U lồi (*Dendrobium wardianum*). Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 66(5): 52-56.

[10]. Đỗ Quỳnh Liên, Đoàn Thị Thu Hương, Nguyễn Văn Việt & Vũ Tiến Hưng (2019). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* trong nhân giống lan phi điệp tím Hoà Bình (*Dendrobium anosmum* Lindley). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 6: 009-016.

[11]. Dang Thi Tham, H'Yon Nie Bing, Nguyen Thi Thanh Hang, Dinh Van Khiem, Nong Van Duy, Tran Thai Vinh, Quach Van Hoi & Vu Kim Cong (2018). Micropropagation of *Dendrobium heterocarpum* lindl. Vietnam Journal of Biotechnology. 16(1): 127-135.

[12]. Jaime A Teixeira da Silva, Jean Carlos Cardoso, Judit Dobránszki & Songjun Zeng (2015). *Dendrobium* micropropagation: a review. Plant cell reports. 34: 671-704.

[13]. Nguyễn Thị Hải Yến & Nguyễn Thu Hường (2021). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* lan hoàng thảo phi điệp tím (*Dendrobium asomum* Lindl.) phân bố tại Thái Nguyên. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên. 226(10): 39-46.