

Nghiên cứu nhân giống loài Lan Hoàng thảo Thái Bình (*Dendrobium moschatum* Buch.-Ham. ex Sw.) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*

Julieta Albano Tiago¹, Phạm Phương Thu^{2*}, Nguyễn Thị Tuyết Nhung²,
Phan Thị Thu Hiền², Vũ Thị Thương², Nguyễn Thị Tinh¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, phường Quyết Thắng, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, 32 Nguyễn Văn Linh, phường Xuân Hòa, tỉnh Phú Thọ, Việt Nam

Ngày nhận bài 24/2/2025; ngày chuyển phản biện 26/2/2025; ngày nhận phản biện 17/3/2025; ngày chấp nhận đăng 21/3/2025

Tóm tắt:

Nhằm xác định môi trường nuôi cấy tối ưu để nhân giống *in vitro* cây Lan Hoàng thảo Thái Bình (*Dendrobium moschatum* Buch.-Ham. ex Sw.), một loài lan quý hiếm đang đối mặt với nguy cơ tuyệt chủng, nghiên cứu này đã đánh giá tác động của các chất điều hòa sinh trưởng (GA_3 , BAP, TDZ, NAA) và than hoạt tính đến các giai đoạn sinh trưởng quan trọng như nảy mầm, tái sinh chồi và ra rễ trước khi tạo cây con hoàn chỉnh. Các thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy, môi trường Murashige & Skoog (MS), bổ sung 3% sucrose, 5 g/l agar, duy trì pH $5,8 \pm 0,1$ cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất (89,67%). Ở giai đoạn tái sinh chồi, BAP 3,0 mg/l giúp gia tăng hiệu quả hình thành chồi, đạt 4,25 chồi/mẫu. Trong giai đoạn ra rễ, môi trường có bổ sung 0,2 mg/l NAA và 2,0 g/l than hoạt tính đạt hiệu suất ra rễ tốt nhất. Những kết quả này góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây Lan Hoàng thảo Thái Bình, hỗ trợ công tác bảo tồn và phát triển nguồn gen loài lan quý này.

Từ khóa: auxin, cytokinin, *Dendrobium moschatum*, nhân giống *in vitro*, nuôi cấy mô.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.1, 4.6

Research on the *in vitro* propagation of *Dendrobium moschatum* Buch.-Ham. ex Sw.

Julieta Albano Tiago¹, Phuong Thu Pham^{2*}, Thi Tuyet Nhung Nguyen², Thi Thu Hien Phan²,
Thi Thuong Vu², Thi Tinh Nguyen¹

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University, Quyet Thang Ward, Thai Nguyen Province, Vietnam

²Hanoi Pedagogical University 2, 32 Nguyen Van Linh Street, Xuan Hoa Ward, Phu Tho Province, Vietnam

Received 24 February 2025; revised 17 March 2025; accepted 21 March 2025

Abstract:

To determine the optimal culture conditions for the *in vitro* propagation of *Dendrobium moschatum* Buch.-Ham. ex Sw., a rare orchid species facing a high risk of extinction, the study evaluated the effects of plant growth regulators (GA_3 , BAP, TDZ, NAA) and activated charcoal on key developmental stages, including seed germination, shoot regeneration, and root induction prior to plantlet formation. All experiments were conducted under laboratory conditions. The results showed that Murashige & Skoog (MS) medium, supplemented with 3% sucrose and 5 g/l agar and adjusted to pH 5.8 ± 0.1 , produced the highest germination rate (89.67%). During the shoot regeneration stage, 3.0 mg/l BAP significantly promoted shoot formation, producing 4.25 shoots per explant. During the rooting stage, medium supplemented with 0.2 mg/l NAA and 2.0 g/l activated charcoal resulted in the highest rooting efficiency. The findings contribute to the optimisation of the *in vitro* propagation protocol for *Dendrobium moschatum* and support the conservation and development of this valuable orchid genetic resource.

Keywords: auxin, cytokinin, *Dendrobium moschatum*, *in vitro* propagation, tissue culture.

Classification numbers: 1.6, 4.1, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: phamphuongthu@hpu2.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Lan Hoàng thảo Thái Bình là một loài lan rừng quý hiếm của Việt Nam, có giá trị thẩm mỹ và kinh tế cao nhờ hoa có màu sắc nổi bật và hình dáng đẹp. Loài này phân bố chủ yếu ở khu vực Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ và Tây Nguyên, thích nghi với điều kiện khí hậu nhiệt đới. Tuy nhiên, do bị khai thác quá mức để phục vụ thị trường cây cảnh cùng với sự suy giảm diện tích rừng tự nhiên, số lượng cá thể hiện tại đã giảm đáng kể. Theo tài liệu *Sách đỏ Việt Nam (2007)*, loài này được xếp vào nhóm nguy cấp (EN), do đó nhu cầu bảo tồn là rất cấp thiết [1].

Hiện nay, *D. moschatum* chủ yếu được nhân giống bằng phương pháp truyền thống là tách nhánh, mặc dù dễ áp dụng nhưng có nhược điểm: tốc độ sinh trưởng chậm, tỷ lệ sống thấp và nguồn cây giống không ổn định. Trong bối cảnh đó, nhân giống *in vitro* là một giải pháp khả thi giúp tạo cây con đồng nhất với số lượng lớn, vừa đáp ứng được nhu cầu thương mại lại vừa góp phần bảo tồn loài lan quý hiếm một cách bền vững.

Nghiên cứu này nhằm xác định môi trường nuôi cấy tối ưu cho việc nhân giống *D. moschatum*, từ đó đề xuất quy trình nhân giống hiệu quả, phục vụ sản xuất cây giống quy mô lớn, góp phần bảo tồn và phát triển bền vững loài lan này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu quả Lan Hoàng thảo Thái Bình được thu thập từ cây mẹ trong môi trường tự nhiên. Thí nghiệm sử dụng năm môi trường dinh dưỡng (MS, B5, WPM, Knudson, Phong lan) để đánh giá khả năng nảy mầm của hạt. Các chất điều hòa sinh trưởng GA₃, BAP, TDZ và NAA được bổ sung nhằm khảo sát tác động đến khả năng tái sinh chồi và quá trình hình thành rễ. Ngoài ra, than hoạt tính được sử dụng trong một số công thức để đánh giá ảnh hưởng đến sự phát triển cây *in vitro*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm 1: Đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy (MS, B5, WPM, Knudson, Phong lan) đến khả năng nảy mầm của hạt.

Thí nghiệm 2: Khảo sát tác động của các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin (BAP, TDZ), gibberellin (GA₃) đến khả năng tái sinh chồi của *D. moschatum*.

Thí nghiệm 3: Đánh giá ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của loài *D. moschatum*.

Thí nghiệm 4: Khảo sát sự phối hợp giữa NAA và than hoạt tính (THT) nhằm tối ưu hóa quá trình ra rễ của loài *D. moschatum*.

Phương pháp bố trí thí nghiệm được thực hiện như sau:

- Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên hoàn toàn (CRD) với 3 lần lặp lại.

- Thí nghiệm về môi trường nuôi cấy: Mỗi công thức thí nghiệm gồm 3 bình, mỗi bình chứa số lượng mẫu phù hợp để đảm bảo độ tin cậy của kết quả.

- Các thí nghiệm còn lại: Mỗi công thức sử dụng 10 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu.

- Điều kiện nuôi cấy: Phòng nuôi cấy được duy trì ở nhiệt độ 25±1°C, độ ẩm 60-70%, cường độ chiếu sáng 2.000 lux với chế độ chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối mỗi ngày.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010 và Sirichai Statistics Version 7.00, với sự sai khác giữa các nghiệm thức được phân tích bằng phương pháp Duncan (p<0,05).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt Lan Hoàng thảo Thái Bình

Quả lan được sử dụng làm nguồn vật liệu nhân giống *in vitro*. Hạt lan sau khi xử lý vô trùng được gieo trên năm môi trường dinh dưỡng khác nhau (MS, B5, WPM, Knudson, Phong lan) để đánh giá khả năng nảy mầm và phát triển protocorm. Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của P. Mohanty và cs (2012) [2], với môi trường bổ sung 3% sucrose, 5 g/l agar, duy trì pH 5,8±0,1 và theo dõi trong 12 tuần.

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt Lan Hoàng thảo Thái Bình (sau 12 tuần).

CT	Thời gian hạt bắt đầu phát triển thành phôi (tuần)	Thời gian hình thành protocorm (tuần)	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)
CT1 (MS) (Đ/C)	3-5	7-8	89,67 ^a
CT2 (B5)	4-6	10-12	70,00 ^b
CT3 (WPM)	5-7	10-12	61,00 ^c
CT4 (Knudson)	5-7	10-12	62,67 ^c
CT5 (Phong lan)	5-7	10-12	62,33 ^c
LSD _{0,05}			2,21
CV%			1,70

Các chữ số khác nhau đi kèm theo giá trị trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan).



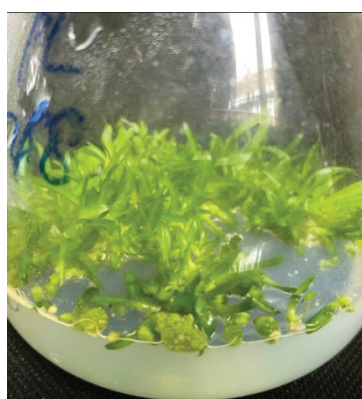
Quả Lan Hoàng thảo Thái Bình sau 9 tháng thụ phần.

Quả Lan Hoàng thảo Thái Bình khi lấy mẫu.

Hạt được gieo trên môi trường nuôi cấy MS.



Protocorm sơ cấp.



Protocorm thứ cấp.

Hình 1. Kết quả tạo vật liệu khởi đầu từ quả Lan Hoàng thảo Thái Bình trên môi trường MS.

Kết quả bảng 1 và hình 1 cho thấy, môi trường nuôi cấy có tác động khá rõ đến quá trình nảy mầm của hạt Lan Hoàng thảo Thái Bình, trong đó môi trường MS cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất (89,67%) và thời gian hình thành phôi nhanh nhất (3-5 tuần). Trong khi đó, các môi trường B5, WPM, Knudson và Phong lan có tỷ lệ nảy mầm thấp hơn (61,00-70,00%) và thời gian phát triển kéo dài hơn (5-7 tuần đối với phôi và 10-12 tuần đối với protocorm). Điều này cho thấy, môi trường MS không chỉ giúp tăng tỷ lệ nảy mầm mà còn rút ngắn thời gian nuôi cấy, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của protocorm và cây con.

Sự vượt trội của môi trường MS có thể được giải thích bởi thành phần dinh dưỡng cân đối, đặc biệt là hàm lượng khoáng đa lượng cao, hỗ trợ cho việc tổng hợp protein và axit nucleic - các yếu tố quan trọng trong quá trình phân chia tế bào và hình thành protocorm. Các ion NO_3^- , NH_4^+ và K^+ đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy sự phát triển của phôi, đồng thời giúp protocorm chuyển hóa nhanh hơn từ giai đoạn hấp thu dinh dưỡng sang giai đoạn phát triển độc lập. Trong khi đó, môi trường B5 có tỷ lệ nảy mầm thấp

hơn (70,00%) do hàm lượng nitrogen thấp, làm giảm tốc độ phân chia tế bào. Các môi trường WPM, Knudson và Phong lan có tỷ lệ nảy mầm tương đương nhau nhưng thấp hơn đáng kể so với MS, chứng tỏ việc cung cấp dinh dưỡng cho hạt lan hạn chế hơn, dẫn đến thời gian hình thành protocorm kéo dài hơn.

Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với các công bố trước đây về nhân giống *in vitro*. P. Mohanty và cs (2012) [2] khi nghiên cứu trên *Cymbidium mastersii* cũng ghi nhận tỷ lệ nảy mầm cao nhất (93,58%) trên môi trường MS, cao hơn đáng kể so với các môi trường khác. Tương tự, nghiên cứu của P.P. Thu và cs (2023) [3] trên *Cymbidium wenshanense* cũng khẳng định MS giúp protocorm hình thành nhanh hơn và phát triển mạnh mẽ hơn. Ngoài ra, nghiên cứu của J. Arditti và cs (1993) [4] cũng cho thấy, MS là môi trường phổ biến trong nhân giống *in vitro* các loài lan thuộc chi *Dendrobium*, giúp tăng tỷ lệ nảy mầm, rút ngắn thời gian hình thành protocorm và cải thiện khả năng phát triển của cây con so với các môi trường khác như B5, WPM hay Knudson.

Như vậy, MS là môi trường tối ưu giúp tăng tỷ lệ nảy mầm, rút ngắn thời gian nuôi cấy và tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của cây con.

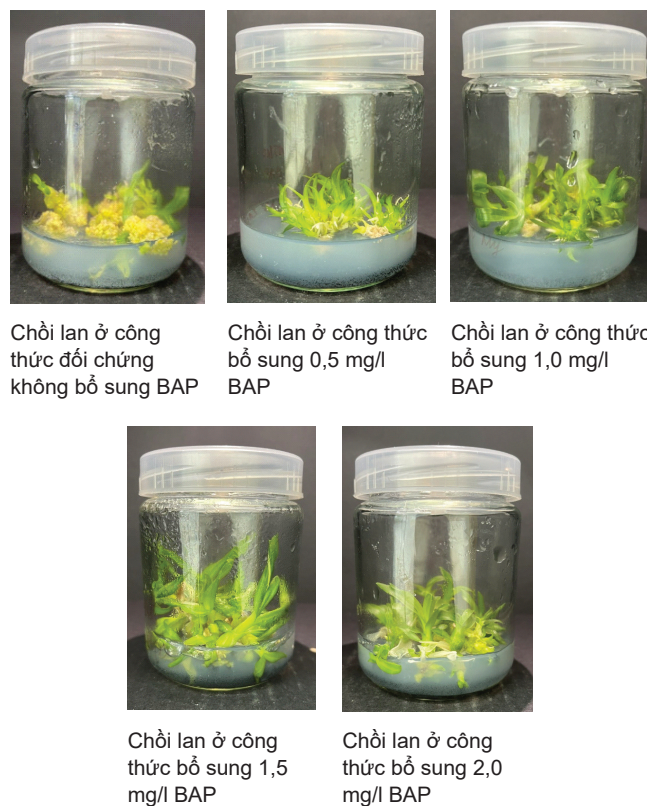
3.2. Ảnh hưởng của BAP, TDZ và GA₃ đến khả năng tái sinh chồi Lan Hoàng thảo Thái Bình

Kết quả bảng 2 và hình 2 cho thấy, tác động của các hợp chất trong nhóm cytokinin đến khả năng tái sinh chồi Lan Hoàng thảo Thái Bình là rất khác nhau và đều có ảnh hưởng đến số lượng và chất lượng chồi. Trong đó, BAP ở nồng độ 3,0 mg/l cho kết quả tái sinh chồi tốt nhất, với số lượng chồi đạt 4,25 chồi/mẫu và chồi có chất lượng cao (xanh, mập). GA₃ cũng có tác dụng kích thích sự hình thành chồi, nhưng hiệu suất thấp hơn so với BAP, trong khi TDZ giúp cải thiện sự phân hóa chồi nhưng không vượt trội về số lượng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP, TDZ và GA₃ đến khả năng tái sinh chồi Lan Hoàng thảo Thái Bình.

Chất điều hòa sinh trưởng	Mg/l	Số lượng chồi (chồi/mẫu)	Chất lượng chồi
CTI (Đ/C)	0,0	1,50 ^c	Chồi xanh, gầy
	0,5	2,00 ^{bc}	Chồi xanh, gầy
	1,0	3,00 ^a	Chồi xanh, mập
	1,5	2,50 ^{ab}	Chồi xanh, gầy
	2,0	1,75 ^{bc}	Chồi xanh, gầy
LSD _{0,05}		0,77	
CV%		23,26	
BAP	0,0	1,50 ^c	Chồi xanh, gầy
	1,0	2,75 ^b	Chồi xanh, gầy
	2,0	3,25 ^{ab}	Chồi xanh, mập
	3,0	4,25 ^a	Chồi xanh, mập
	4,0	3,50 ^{ab}	Chồi xanh, mập
LSD _{0,05}		1,20	
CV%		25,57	
TDZ	0,0	1,50 ^b	Chồi xanh, gầy
	0,5	1,75 ^b	Chồi xanh, gầy
	1,0	2,75 ^a	Chồi xanh, mập
	1,5	2,75 ^a	Chồi xanh, mập
	2,0	2,00 ^{ab}	Chồi xanh, mập
LSD _{0,05}		0,83	
CV%		25,12	

Các chữ số khác nhau đi kèm theo giá trị trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan).



Hình 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh chồi Lan Hoàng thảo Thái Bình.

GA₃ có vai trò quan trọng trong kích thích kéo dài và phân chia tế bào. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 1,0 mg/l GA₃ giúp tái sinh chồi tốt nhất (3,00 chồi/mẫu), nhưng khi tăng nồng độ lên 1,5 và 2,0 mg/l, số lượng chồi giảm còn 2,50 và 1,75 chồi/mẫu, đồng thời chồi có xu hướng mảnh hơn. Điều này cho thấy, GA₃ ở nồng độ cao có thể kích thích kéo dài tế bào quá mức mà không thúc đẩy phân chia tế bào hiệu quả, dẫn đến giảm khả năng hình thành chồi mới.

Trong khi đó, BAP có tác dụng kích thích phân chia tế bào mạnh hơn. Khi bổ sung 1,0 mg/l BAP, số lượng chồi tăng lên 2,75 chồi/mẫu, và khi tăng nồng độ lên 3,0 mg/l, số lượng chồi đạt mức cao nhất (4,25 chồi/mẫu). Tuy nhiên, khi nồng độ BAP tăng lên 4,0 mg/l, số lượng chồi giảm nhẹ (3,50 chồi/mẫu) cho thấy, nồng độ cao có thể gây ức chế sinh trưởng. Như vậy, 3,0 mg/l BAP là nồng độ tối ưu để đạt số lượng chồi cao và chất lượng chồi tốt nhất.

TDZ cũng có tác động đến sự tái sinh chồi, nhưng số lượng chồi không cao bằng BAP. Khi bổ sung 1,0-1,5 mg/l TDZ, số lượng chồi đạt 2,75 chồi/mẫu và chất lượng chồi được cải thiện. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ lên 2,0 mg/l, số lượng chồi giảm còn 2,00 chồi/mẫu cho thấy, TDZ ở nồng độ cao có thể gây mất cân bằng hormone, ức chế quá trình phân chia tế bào và giảm hiệu suất tái sinh chồi.

So sánh giữa ba loại hormone sinh trưởng thực vật cho thấy, BAP mang lại hiệu quả tái sinh chồi cao nhất, với số lượng chồi tối ưu ở 3,0 mg/l (4,25 chồi/mẫu). TDZ có tác dụng thúc đẩy phân hóa chồi nhưng số lượng chồi thấp hơn (2,75 chồi/mẫu). GA₃ giúp kích thích kéo dài tế bào nhưng hiệu suất tái sinh chồi thấp hơn (3,00 chồi/mẫu ở 1,0 mg/l). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của K.Y. Paek và cs (1991) [5] trên *Cymbidium forrestii*, điều này cho thấy BAP là chất điều hòa sinh trưởng hiệu quả nhất trong kích thích phân chia tế bào. Nghiên cứu của P. Mohanty và cs (2012) [2] trên *Cymbidium mastersii* cho thấy BAP có tác dụng kích thích phân chia tế bào mạnh hơn so với GA₃ và TDZ.

Như vậy, BAP ở nồng độ 3,0 mg/l có tác dụng tốt nhất trong việc tái sinh chồi Lan Hoàng thảo Thái Bình, cho số lượng và chất lượng chồi tốt nhất. TDZ hỗ trợ phân hóa chồi nhưng kém hiệu quả hơn, trong khi GA₃ chỉ giúp kéo dài tế bào mà không tối ưu cho tái sinh chồi.

3.3. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ Lan Hoàng thảo Thái Bình

Kết quả bảng 3 và hình 3 cho thấy, ảnh hưởng rõ rệt của NAA đến khả năng tái sinh rễ của Lan Hoàng thảo Thái Bình. Khi không bổ sung NAA (CT1), hệ số nhân rễ chỉ đạt 2,00 rễ/mẫu, rễ gầy và ngắn, chứng tỏ nếu chỉ dựa vào auxin nội sinh, hiệu suất ra rễ thấp. Khi bổ sung NAA ở nồng độ 0,1 mg/l (CT2), số lượng rễ tăng nhẹ lên 2,50 rễ/mẫu, rễ mập hơn nhưng vẫn ngắn. Ở nồng độ 0,2 mg/l (CT3), hệ

số nhân rễ đạt mức cao nhất (3,25 rễ/mẫu) và chất lượng rễ tốt nhất (mập, dài), chứng tỏ đây là nồng độ tối ưu giúp thúc đẩy mạnh mẽ quá trình hình thành và phát triển rễ. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ NAA lên 0,3 mg/l (CT4), số lượng rễ giảm còn 2,50 rễ/mẫu dù chất lượng vẫn duy trì. Ở mức 0,4 mg/l (CT5), hệ số nhân rễ giảm xuống còn 2,00 rễ/mẫu, rễ gầy và ngắn tương tự đối chứng, cho thấy nồng độ cao có thể gây ức chế sinh trưởng rễ.

Bảng 3. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ của Lan Hoàng thảo Thái Bình.

CT	Nồng độ NAA (mg/l)	Hệ số nhân rễ (rễ/mẫu)	Chất lượng rễ
CT1 (Đ/C)	0,0	2,00 ^b	Gầy, ngắn
CT2	0,1	2,50 ^{ab}	Mập, ngắn
CT3	0,2	3,25 ^a	Mập, dài
CT4	0,3	2,50 ^{ab}	Mập, dài
CT5	0,4	2,00 ^b	Gầy, ngắn
LSD _{0,05}		0,95	
CV%		25,27	

Các chữ số khác nhau đi kèm theo giá trị trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan).

Sự suy giảm số lượng rễ ở nồng độ NAA cao có thể do cơ chế phản hồi tiêu cực của auxin khi dư thừa, làm mất cân bằng hormone nội sinh, hoặc kích thích sản sinh ethylene - một hormone có tác dụng ức chế kéo dài rễ. Nghiên cứu của D. Blakesley và cs (1991) [6] cũng ghi nhận rằng, NAA có



Rễ lan ở công thức đối chứng không bổ sung NAA. Rễ lan ở công thức bổ sung 0,1 mg/l NAA. Rễ lan ở công thức bổ sung 0,2 mg/l NAA.



Rễ lan ở công thức bổ sung 0,3 mg/l NAA. Rễ lan ở công thức bổ sung 0,4 mg/l NAA.

Hình 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của NAA đến khả năng tái sinh rễ Lan Hoàng thảo Thái Bình.

thể kích thích hình thành rễ ở mức nồng độ thấp nhưng gây ức chế khi vượt quá ngưỡng tối ưu. Tương tự, nghiên cứu của S. Kaur và cs (2005) [7] trên Eucalyptus cũng cho thấy, auxin ở mức cao có thể làm giảm hiệu suất ra rễ do tác động đến quá trình phân chia tế bào và sinh trưởng mô rễ.

Như vậy, nồng độ 0,2 mg/l NAA là tối ưu để kích thích tái sinh rễ ở Lan Hoàng thảo Thái Bình, giúp tăng số lượng rễ và cải thiện chất lượng rễ. Các nồng độ cao hơn không mang lại lợi ích bổ sung mà có thể làm suy giảm hiệu quả tái sinh rễ.

3.4. Ảnh hưởng của sự phối hợp NAA và than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ

Kết quả bảng 4 và hình 4 cho thấy, sự phối hợp giữa NAA và THT có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tái sinh rễ của *D. moschatum*. Ở công thức đối chứng (CT1, không bổ sung THT), hệ số nhân rễ đạt 3,25 rễ/mẫu, với chất lượng rễ mập nhưng không dài. Khi bổ sung 1,0 g/l THT (CT2), hệ số nhân rễ tăng lên 4,00 rễ/mẫu, cho thấy THT có tác động tích cực đến sự hình thành rễ. Tại nồng độ 2,0 g/l THT (CT3), hệ số nhân rễ đạt mức cao nhất với 4,75 rễ/mẫu, chứng minh rằng đây là mức tối ưu giúp cân bằng giữa việc

hấp thụ chất dinh dưỡng và kích thích phát triển rễ. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ THT lên 3,0 g/l (CT4) và 4,0 g/l (CT5), hệ số nhân rễ giảm lần lượt còn 4,00 và 3,50 rễ/mẫu, đồng thời rễ trở nên gầy và ngắn hơn. Điều này có thể do THT ở nồng độ cao hấp thụ quá mức các chất điều hòa sinh trưởng, khiến hiệu quả ra rễ bị suy giảm.

Bảng 4. Ảnh hưởng phối hợp của NAA với than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ của Lan Hoàng thảo Thái Bình.

CT	Nồng độ NAA (mg/l)	Nồng độ than hoạt tính (g/l)	Hệ số nhân rễ (rễ/mẫu)	Chất lượng rễ
CT1		0,0	3,25 ^b	Mập, không dài
CT2		1,0	4,00 ^{ab}	Mập, dài
CT3	0,2	2,0	4,75 ^a	Mập, dài
CT4		3,0	4,00 ^{ab}	Mập, dài
CT5		4,0	3,50 ^b	Gầy, ngắn
<i>LSD</i> _{0,05}			0,96	
<i>CV</i> %			16,05	

Các chữ số khác nhau đi kèm theo giá trị trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan).



Rễ lan ở công thức đối chứng không bổ sung THT.



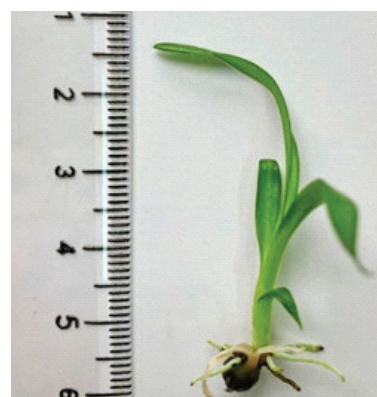
Rễ lan ở công thức bổ sung 1 g/l THT.



Rễ lan ở công thức bổ sung 2 g/l THT.



Rễ lan ở công thức bổ sung 3 g/l THT.



Rễ lan ở công thức bổ sung 4 g/l THT.

Hình 4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của NAA kết hợp với than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ Lan Hoàng thảo Thái Bình.

Bên cạnh đó, chất lượng rễ cũng có sự thay đổi đáng kể giữa các công thức thí nghiệm. Khi bổ sung 1,0-2,0 g/l THT, rễ phát triển tốt nhất với hình thái mập và dài. Tuy nhiên, ở mức 3,0-4,0 g/l THT, rễ trở nên gầy, ngắn và phát triển kém hơn, có thể do than hoạt tính hấp thụ dinh dưỡng quá mức kết hợp với điều kiện ánh sáng bị hạn chế trong bình nuôi cấy, làm ảnh hưởng đến quá trình tái sinh rễ.

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trước đó, trong đó D. Blakesley và cs (1991) [6] chỉ ra rằng, NAA có thể kích thích hình thành rễ, nhưng hiệu quả ra rễ cao nhất khi kết hợp với các yếu tố môi trường phù hợp. T.D. Thomas (2008) [8] cũng khẳng định rằng, THT giúp giảm tích lũy phenolic và cải thiện chất lượng rễ, nhưng khi sử dụng ở nồng độ cao có thể gây ức chế sinh trưởng.

Như vậy, công thức tối ưu cho quá trình tái sinh rễ của *D. moschatum* là bổ sung 0,2 mg/l NAA và 2,0 g/l THT, giúp đạt hệ số nhân rễ cao nhất (4,75 rễ/mẫu) và đảm bảo chất lượng rễ tốt nhất (mập, dài).

4. Kết luận

Trong nhân giống *in vitro* cây Lan Hoàng thảo Thái Bình, môi trường MS phù hợp nhất cho quá trình nảy mầm của hạt (tỷ lệ nảy mầm cao nhất đạt 89,67%), chất điều hòa sinh trưởng BAP 3,0 mg/l cho hiệu suất tái sinh chồi tốt nhất (4,25 chồi/mẫu), trong khi NAA 0,2 mg/l kết hợp với 2,0 g/l THT giúp tối ưu hóa quá trình ra rễ (4,75 rễ/mẫu).

Cần tiếp tục nghiên cứu khả năng sinh trưởng và thích nghi của cây con sau khi chuyển ra vườn ươm và điều kiện ngoại cảnh để nâng cao hiệu quả bảo tồn loài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ministry of Natural Resources and Environment and The International Union for Conservation of Nature (2007), *Vietnam Red Data Book, Part II*, Natural Science and Technology Publishing House, 691pp (in Vietnamese).
- [2] P. Mohanty, S. Paul, M.C. Das, et al. (2012), “A simple and efficient protocol for the mass propagation of *Cymbidium mastersii*: An ornamental orchid of Northeast India”, *AoB Plants*, pp.1-8, DOI: 10.1093/aobpla/pls023.
- [3] P.T. Pham, T.T. Nguyen, N.H. Tran, et al. (2023), “A study on the bud regeneration ability of *Cymbidium wenshanense* by *in vitro* culture”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **65(5)**, pp.55-58, DOI: 10.31276/VJST.65(5).55-58 (in Vietnamese).
- [4] J. Arditti, R. Ernst (1993), *Micropropagation of Orchids*, John Wiley & Sons, New York, 1560pp.
- [5] K.Y. Paek, E.C. Yeung (1991), “The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N6-benzyladenine on the growth of *Cymbidium forrestii* rhizomes *in vitro*”, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **24(2)**, pp.65-71, DOI: 10.1007/BF00039732.
- [6] D. Blakesley, G.D. Weston, J.F. Hall (1991), “The role of endogenous auxin in root initiation”, *Plant Growth Regulation*, **10(4)**, pp.341-353, DOI: 10.1007/BF00024593.
- [7] S. Kaur, P.S. Ahuja, M. Gupta (2005), “Effect of auxin and cytokinin on *in vitro* rooting and acclimatization of *Eucalyptus tereticornis*”, *Journal of Plant Biotechnology*, **7(2)**, pp.145-150.
- [8] T.D. Thomas (2008), “The role of activated charcoal in plant tissue culture”, *Biotechnol. Adv.*, **26(6)**, pp.618-631, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.08.003.