

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY LAN GIẢ HẠC HAWAII (*Dendrobium adastra*)

Lê Thị Luận^{1,2}, Nguyễn Thị Thảo Quyên¹, Lâm Thị Ngọc Thúy¹, Nguyễn Đức Tuấn¹, Nguyễn Hồng Phương³, Trương Thị Bích Phượng¹

¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Trường THPT Nguyễn Huệ, Đak Doa, Gia Lai

³Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn Quảng Trị

TÓM TẮT

Giả hạc Hawaii (*Dendrobium adastra*) là loại hoa đẹp, có hoa to và là một trong các loài hoa thương mại quan trọng có nguồn gốc từ Hawaii. Giả hạc Hawaii được nhân giống truyền thống từ hạt và từ đoạn thân của lan tự nhiên, tuy nhiên tỷ lệ nảy mầm và tái sinh chồi rất thấp. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây lan Giả hạc Hawaii bằng phương pháp gieo hạt. Mẫu vật cho nuôi cấy là hạt của quả lan tự nhiên 3 tháng tuổi. Hạt có tỷ lệ nảy mầm cao nhất khi được cấy lên môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/L BAP đạt 98,5% sau 6 tuần nuôi cấy. Cụm protocorm (0,5 × 0,5cm) sau khi hình thành từ hạt được cảm ứng nhân protorm trên môi trường MS cơ bản bổ sung 1,0 mg/L BAP hoặc 1,5 mg/L KIN cho cụm protocorm có đường kính lớn nhất (1,64-1,69 cm) sau 4 tuần nuôi cấy. Hệ số nhân chồi cao nhất đạt 4,2 sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản có bổ sung 1,0 mg/L BAP. Chồi *in vitro* tạo rễ tốt nhất trên môi trường MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/L NAA và 100 g/l chuối nghiền, đạt số rễ cao nhất (9,42 rễ/chồi) và rễ dài nhất (1,83 cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: *Dendrobium adastra*, gieo hạt, nhân giống *in vitro*, protocorm, nhân chồi, tạo rễ.

MỞ ĐẦU

Giả hạc Hawaii là loại lan nổi tiếng và được nhiều người yêu thích, bởi mặt hoa to tới 10cm, cánh hoa lớn, màu sắc bắt mắt, say đắm lòng người. Hoa nở thành chùm, mật độ hoa dày thích hợp trang trí nội thất, nhà cửa (<http://vuonphonglan.vn/vi/gia-hac-hawaii-dendrobium-adastra.html>). Trong sản xuất cây giống, lan được nhân giống chủ yếu bằng phương pháp truyền thống (gieo hạt, tách bụi,...) nhưng mất nhiều thời gian và không hiệu quả (Martin và Madassery, 2006). Bên cạnh đó, hạt lan trong tự nhiên rất khó nảy mầm vì không có nội nhũ (Trần Hợp, 1998). Do đó việc ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* vào quá trình nhân giống cây lan là vấn đề đang được quan tâm và nghiên cứu. Kỹ thuật này không những giải quyết được những vấn đề khó khăn đang gặp phải trong nhân giống lan Giả hạc Hawaii theo phương pháp truyền thống mà còn giúp chủ động sản xuất một số lượng lớn cây giống có chất lượng cao, đồng đều và sạch bệnh.

Ở Việt Nam, cho đến nay đã có một số công trình nghiên cứu nhân giống các loài lan quý hiếm. Một số nghiên cứu đã ứng dụng thành công kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* các giống lan thuộc chi *Dendrobium*: Hoàng thảo Kim điệp (*Dendrobium chrysotoxum*) (Nguyễn Văn Song *et al.*, 2013), Thạch斛 thiết bì (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) (Lê Thị Diễm và Võ Thị Bạch Mai, 2017; Nguyễn Thị Sơn *et al.*, 2014), Hoàng thảo thân gãy (*Dendrobium aduncum*) (Nguyễn Thanh Tùng *et al.*, 2010) và Hoàng thảo Thạch斛 (*Dendrobium nobile* Lindl.) (Vũ Ngọc Lan và Nguyễn Thị Lý Anh, 2013). Hiện nay, trong nước chưa có công trình nghiên cứu khoa học nào về nhân giống *in vitro* lan Giả hạc Hawaii (*Dendrobium adastra*).

Vì vậy mà chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm nhân giống *in vitro* cây lan giả hạc Hawaii làm tiền đề cho sản xuất cây giống.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu cho nuôi cấy là quả mang hạt lan giả hạc Hawaii 3 tháng tuổi thu ở vườn lan Hải Triều, thành phố Huế.

Điều kiện nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS cơ bản (Murashige, Skoog, 1962) có 30 g/l sucrose, 8 g/l agar và bổ sung các tổ hợp chất kích thích sinh trưởng (KTST) với nồng độ thẩm dò khác nhau, tùy vào mục đích của từng loại thí nghiệm. Môi trường nuôi cấy có pH = 5,8, được khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1 atm, trong 15 phút. Mẫu được giữ trong phòng nuôi với nhiệt độ: 25 ± 2°C, cường độ ánh sáng: 2000 ± 500 lux, thời gian chiếu sáng: 16 giờ/ngày.

Khử trùng mẫu và nuôi cấy ban đầu

Quả lan được chà sạch bằng xà phòng và được rửa lại nhiều lần bằng nước sạch. Sau đó, chuyển quả lan vào trong tủ cấy vô trùng và rửa lại bằng nước cất vô trùng. Khử trùng sơ bộ bằng cồn 70% trong 1 phút, sau đó khử trùng bằng cách lắc quả với NaClO 1% trong 30 phút. Cuối cùng, rửa sạch quả lan bằng cách lắc quả bằng nước cất vô trùng 5 lần, mỗi lần 5 phút.

Sau khi khử trùng, quả lan được đặt lên giấy thấm vô trùng và tiến hành mổ quả lan thành nhiều phần nhỏ để lấy hạt chứa bên trong. Hạt từ quả lan đã khử trùng được cấy trải mỏng, đều trên bề mặt môi trường MS cơ bản bổ sung các chất kích thích sinh trưởng N6-benzyladenine purine (BAP) hoặc kinetin(KIN) nồng độ 0,1 - 0,5 mg/L, hạt của mỗi quả được cấy vào 80-100 bình.

Đánh giá khả năng nảy mầm và phát triển của hạt sau 6 tuần nuôi cấy. Chỉ tiêu theo dõi gồm tỷ lệ hạt nảy mầm (%), thời gian xuất hiện protocorm (tuần).

Nhân protocorm

Các protocorm phát sinh từ hạt thu được từ giai đoạn nuôi cấy khởi đầu, được tách thành các cụm có đường kính cụm khoảng 0,5x0,5 cm cấy chuyển trên môi trường MS cơ bản được bổ sung các chất kích thích sinh trưởng BAP, KIN nồng độ 0,5-2,5 mg/L để thăm dò khả năng phát triển của protocorm.

Thu số liệu, đánh giá khả năng nhân protocorm qua đường kính protocorm (cm) và đặc điểm hình thái protocorm sau 4 tuần nuôi cấy.

Nhân chồi

Các cụm 2-3 chồi phát sinh từ protocorm được cấy chuyển sang môi trường MS cơ bản được bổ sung các chất KTST BAP, KIN nồng độ 0,5-2,5 mg/L để thăm dò khả năng nhân nhanh chồi *in vitro*.

Thu số liệu đánh giá hệ số nhân chồi và chiều cao chồi (cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

$$\text{Hệ số nhân chồi} = \frac{\text{số chồi/cụm sau 6 tuần nuôi cấy}}{\text{số chồi/cụm ban đầu}}$$

Tạo rễ

Các chồi thu được từ thí nghiệm nhân nhanh có chiều cao 1,5-2,0 cm được tách riêng biệt, cấy chuyển sang môi trường MS cơ bản bổ sung α -naphthalene acetic acid (NAA) hoặc Indole-3-butyric acid (IBA) nồng độ 0,5-2,5 mg/L, bổ sung NAA 1,5 mg/L kết hợp khoai tây nghiền hoặc chuối nghiền 50-150 g/l để thăm dò khả năng hình thành và phát triển rễ từ chồi *in vitro*.

Thu số liệu số rễ, chiều dài rễ (cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp quan sát 20 mẫu. Kết quả thí nghiệm được phân tích Duncan's test bằng phần mềm SPSS 22.0 với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nảy mầm hạt lan

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nảy mầm của hạt lan sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở **Bảng 1**.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nảy mầm của hạt lan sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ (mg/L)	Môi trường bổ sung BAP		Môi trường bổ sung KIN	
	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian xuất hiện protocorm (tuần)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian xuất hiện protocorm (tuần)
0,0	39,00	6	39,00	6
0,1	98,50	3	45,00	5
0,2	83,33	5	88,57	5
0,3	78,57	6	85,00	4
0,4	63,33	6	72,56	5
0,5	69,55	6	42,50	6

Tỷ lệ nảy mầm của hạt lan tốt nhất ở môi trường bổ sung BAP 0,1 mg/L và KIN 0,2 mg/L đạt lần lượt là 98,5% và 88,57%. Hạt nảy mầm sớm nhất khoảng sau 3 tuần nuôi cấy trên môi trường 0,1 mg/L BAP. Tiếp tục tăng nồng độ chất KTST, tỷ lệ nảy mầm có xu hướng giảm dần và thời gian xuất hiện protocorm lâu hơn.

So với một số loài lan cùng chi *Dendrobium*, hạt lan *D. adastra* cảm ứng với BAP ở nồng độ thấp hơn nhiều so với các loài lan khác. Hạt lan *D. lituiflorum* nảy mầm với tỷ lệ 92,15% ở nồng độ BAP 0,5 mg/L (Nguyễn Đức Tuấn *et al.*, 2013). *D. chrysotoxum* nảy mầm đạt 98,1 % trên môi trường nuôi cấy bổ sung 0,4% than hoạt tính, 2 mg/L BA và 2 mg/L NAA (Potshangbam, Leimapokpam, 2014). Loài lan lai *D. fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook. cảm ứng nảy mầm hiệu quả trên môi trường MS + 0,1 mg/L GA + 1,5 mg/L BA với tỷ lệ nảy mầm là 85% (Cui *et al.*, 2013).

Nhân protocorm

Cụm protocorm (0,5x0,5 cm) từ thí nghiệm nảy mầm được chuyển lên môi trường MS có bổ sung BAP hoặc KIN. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nhân nhanh của protocorm sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở **Bảng 2**.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nhân protocorm sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ (mg/L)	Môi trường bổ sung BAP		Môi trường bổ sung KIN	
	Đường kính cụm (cm)	Đặc điểm hình thái protocorm	Đường kính cụm (cm)	Đặc điểm hình thái protocorm
0,0	1,30 ^{cd}	Nhỏ, xanh nhạt	1,30 ^{bc}	Nhỏ, xanh nhạt
0,5	1,39 ^{bc}	Lớn, xanh đậm	1,38 ^{bc}	Nhỏ, xanh nhạt
1,0	1,69 ^a	Lớn, xanh đậm	1,50 ^{ab}	Lớn, xanh đậm
1,5	1,56 ^{ab}	Lớn, xanh đậm	1,64 ^a	Lớn, xanh nhạt
2,0	1,31 ^{cd}	Nhỏ, xanh nhạt	1,34 ^{bc}	Lớn, vàng nhạt
2,5	1,12 ^d	Nhỏ, xanh nhạt	1,23 ^c	Lớn, nhạt, một số protocorm hóa nâu

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test). Chú thích này được áp dụng từ **Bảng 2** đến **Bảng 5**.

Kết quả cho thấy BAP và KIN đều có hiệu quả tích cực đến khả năng nhân của protocorm.

Protocorm trên môi trường bổ sung 1,0 mg/L BAP và môi trường bổ sung 1,5 mg/L KIN có kích thước khá lớn, xanh đậm, tăng trưởng tốt nhất với đường kính cụm trung bình lần lượt là 1,69 cm và 1,64 cm. Khi tăng nồng độ BAP từ 1,5-2,5 mg/L, hiệu quả nhân nhanh protocorm giảm dần, khả năng phân hóa thành chồi kém. Protocorm trên các môi trường nuôi cấy đều phát triển thành cụm dính liền nhau hoặc kém rời rạc. Tuy nhiên, protocorm trên môi trường bổ sung KIN có màu nhạt hơn và khả năng phân hóa chồi kém hơn so với môi trường bổ sung BAP. Trên môi trường bổ sung 2,5 mg/L KIN, một số protocorm bị hóa nâu và chết.

Nhiều tác giả sử dụng chất kích thích sinh trưởng là BAP và KIN cho nhân protocorm của các loài lan cùng chi *Dendrobium*. Kết quả cho thấy ở các loài khác nhau, nồng độ BAP và KIN thích hợp nhất cho nhân protocorm là khác nhau. Môi trường MS cơ bản có 20 g/L sucrose, 8 g/L agar, 15% nước dừa và 2,0 mg/L BAP thích hợp nhất chọn nhân nhanh protocorm lan *D. chrysotoxum* (Nguyễn Văn Song *et al.*, 2011). Protocorm lan *D. transparens* được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung KIN 0,3 và 0,5 mg/L cho đường kính cụm protocorm lần lượt là 2,55 và 2,08 (cm) và số protocorm/cụm là 254,6 và 208,0 (La Việt Hồng *et al.*, 2017).

Nhân nhanh chồi *in vitro*

Các cụm 2-3 chồi được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung BAP hoặc KIN để đánh giá ảnh hưởng đến khả năng nhân chồi. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở **Bảng 3**.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP và KIN đến khả năng nhân chồi *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ (mg/L)	Môi trường bổ sung BAP		Môi trường bổ sung KIN	
	Hệ số nhân chồi	Chiều cao chồi (cm)	Hệ số nhân chồi	Chiều cao chồi (cm)
0,0	1,94 ^c	0,91 ^c	1,94 ^d	0,91 ^d
0,5	2,50 ^c	1,00 ^c	2,24 ^{cd}	1,16 ^c
1,0	4,22 ^a	1,34 ^b	2,42 ^{bcd}	1,39 ^{bc}
1,5	3,61 ^{ab}	1,63 ^a	3,71 ^a	1,65 ^a
2,0	3,38 ^b	1,44 ^{ab}	3,05 ^{ab}	1,46 ^{ab}
2,5	3,25 ^b	1,30 ^b	2,70 ^{bc}	1,25 ^{bc}

Kết quả trình bày ở **Bảng 3** cho thấy BAP và KIN đều có hiệu quả tích cực đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro*.

Môi trường bổ sung BAP 1,0 mg/L cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 4,22 và môi trường bổ sung BAP 1,5 mg/L cho chiều cao trung bình tốt nhất đạt 1,63 cm. Trên các môi trường bổ sung KIN, môi trường bổ sung 1,5 mg/L KIN cho hệ số nhân chồi và chiều cao trung bình chồi tốt nhất là 3,71 lần và 1,65 cm.

Khả năng cảm ứng nhân chồi của *D. adastra* kém hơn so với một số loài lan *Dendrobium* khác. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA và 60 g/L chuối nghiền phù hợp cho nhân chồi *D. heterocarpum* đạt 22,40 chồi/mẫu, chiều dài chồi 2 cm (Đặng Thị Thắm *et al.*, 2018). Môi trường MS bổ sung 30 g/l saccharose, 8 g/l agar và 0,5 mg/L KIN là thích hợp nhất để nhân nhanh chồi *in vitro* lan *D. transparens* với hệ số nhân đạt 6,33 (Lê Việt Hồng *et al.*, 2017).

Tạo rễ *in vitro*

Chồi *in vitro* lan (1,5 - 2,0 cm) được cấy trên môi trường MS bổ sung NAA hay IBA (0,5 - 2,5 mg/L). Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng tạo rễ *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện ở **Bảng 4**.

Bảng 4. Ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng tạo rễ *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ (mg/L)	Môi trường bổ sung NAA		Môi trường bổ sung IBA	
	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)
0,0	2,67 ^{cd}	0,86 ^c	2,67 ^b	0,86 ^c
0,5	2,93 ^c	0,98 ^c	3,37 ^a	1,04 ^{bc}
1,0	3,20 ^{bc}	1,15 ^b	2,90 ^{ab}	1,25 ^{ab}
1,5	4,13 ^a	1,42 ^a	2,77 ^b	1,34 ^a
2,0	3,53 ^b	1,18 ^b	2,50 ^{bc}	1,10 ^{bc}
2,5	2,27 ^d	1,14 ^b	2,03 ^c	0,91 ^c

Môi trường MS cơ bản bổ sung NAA hay IBA đã kích thích tạo rễ *in vitro*.

Khi tăng nồng độ NAA từ 0,5 - 1,5 mg/L, số rễ và chiều dài trung bình rễ tăng. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L NAA ảnh hưởng tốt nhất đến khả năng tạo rễ với số rễ đạt 4,13 và rễ dài 1,42 cm. Tiếp tục tăng nồng độ NAA đến 2,0 mg/L thì số rễ tạo thành và chiều dài rễ đều giảm. Môi trường MS bổ sung 2,5 mg/L NAA, chồi tạo rễ kém hơn so với đối chứng.

Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L IBA có hiệu quả tốt đến tạo rễ đạt 3,37 rễ/chồi. IBA nồng độ 1,5 mg/L kích thích rễ phát triển tốt với chiều dài rễ trung bình đạt 1,34 cm. Khi tăng nồng độ IBA, khả năng tạo rễ của chồi *in vitro* kém dần.

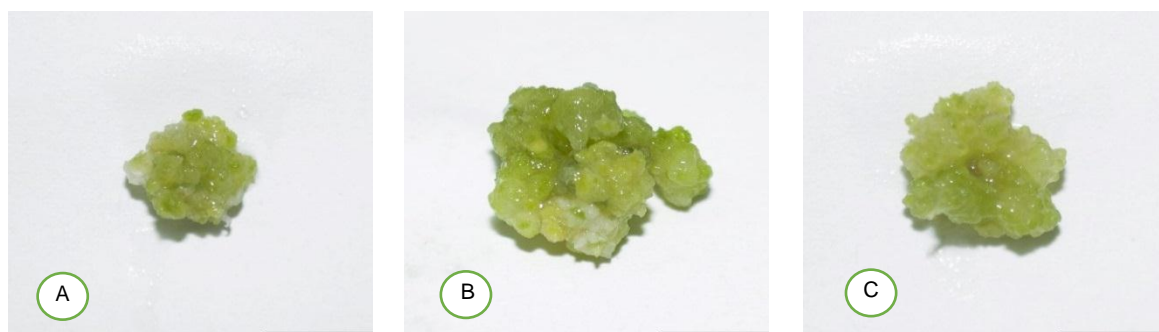
Từ kết quả nghiên cứu tạo rễ trên môi trường bổ sung NAA và IBA cho thấy mẫu tạo rễ tốt nhất trên môi trường bổ sung 1,5 mg/L NAA. Chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát ảnh hưởng phối hợp NAA 1,5 mg/L với chuối nghiền hoặc khoai tây nghiền (50-150 g/l) đến khả năng tạo rễ *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở **Bảng 5**.

Bảng 5. Ảnh hưởng của chuối nghiền và khoai tây nghiền đến khả năng tạo rễ *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ (mg/L)	Môi trường bổ sung chuối nghiền		Môi trường bổ sung khoai tây nghiền	
	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)
0	4,11 ^c	1,45 ^b	4,11 ^c	1,45 ^b
50	6,28 ^b	1,54 ^b	6,59 ^b	1,96 ^a
100	9,42 ^a	1,83 ^a	8,53 ^a	2,29 ^a
150	6,65 ^b	0,63 ^c	5,76 ^b	2,11 ^a

Kết quả trình bày ở **Bảng 5** cho thấy cả chuối nghiền và khoai tây nghiền đều có ảnh hưởng tích cực đến hiệu quả tạo rễ *in vitro*. Khi tăng dịch nghiền đến 100 g/l, số rễ và chiều dài rễ đều tăng, đối với môi trường bổ sung 100 g/l chuối nghiền đạt 9,42 rễ và rễ dài 1,83 cm; đối với môi trường bổ sung 100 g/l khoai tây nghiền đạt 8,53 rễ và rễ dài 2,29 cm. Khi tăng nồng độ dịch nghiền lên đến 150 g/L hiệu quả tạo rễ giảm nhưng vẫn cao hơn đối chứng.

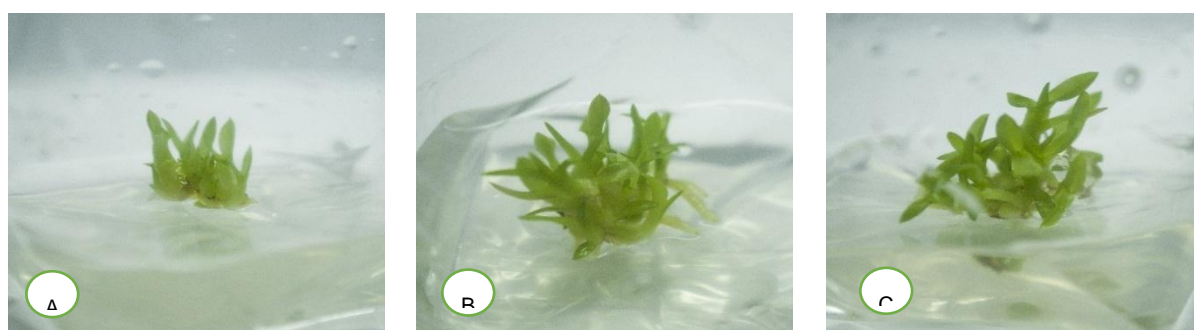
So sánh với một số loài lan cùng chi, *D. adastra* cảm ứng tạo rễ rất tốt. Trên môi trường MS bổ sung 30 g/l saccharose, 8 g/l agar và 0,3 mg/L IAA, *D. transparens* tạo rễ tốt nhất (4,80 rễ; rễ dài 2,07 cm) (Lê Việt Hồng *et al.*, 2017). Nghiên cứu của Đặng Thị Thắm và đồng tác giả cho thấy môi trường ½ MS được bổ sung 1 mg/L NAA phù hợp nhất cho chồi *D. heterocarpum* hình thành rễ (4,4 rễ; rễ dài 3,12 cm; 95,56 %chồi tạo rễ).



Hình 1. Nhân protocorm sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS

A. Không bổ sung chất KTST, B. Bổ sung 1,0 mg/L BAP, C. Bổ sung 1,5 mg/L KIN

Chú thích hình 1 – 3 : — : thước đo 1 cm



Hình 2. Nhân chồi *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS

A. Không bổ sung chất KTST, B. Bổ sung 1,0 mg/L BAP, C. Bổ sung 1,5 mg/L KIN



Hình 3. Tạo rễ *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS

A. Không bổ sung chất KTST, B. Bổ sung 1,5 mg/L NAA, C. Bổ sung 0,5 mg/L IBA,
D. Bổ sung 1,5 mg/L NAA + 100 g/L chuối nghiền, E. Bổ sung 1,5 mg/L NAA + 100 g/L khoai tây nghiền

KẾT LUẬN

Hạt lan Giả hạc Hawaii (*Dendrobium adastra*) có tỷ lệ nảy mầm cao nhất đạt 98,5% trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/L BAP sau 6 tuần nuôi cấy. Môi trường MS cơ bản bổ sung 1,0 mg/L BAP hoặc 1,5 mg/L KIN thích hợp cho nhân protocorm, cụm protocorm có đường kính lớn nhất đạt 1,64 - 1,69 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Môi trường MS cơ bản có bổ sung 1,0 mg/L BAP thích hợp nhất cho nhân chồi đạt 4,22 chồi/cụm sau 6 tuần nuôi cấy. Chồi *in vitro* tạo rễ tốt nhất trên môi trường MS cơ bản có bổ sung 1,5 mg/L NAA và 100 g/L chuối nghiền đạt số rễ cao nhất (9,42 rễ/chồi) và rễ dài nhất (1,83 cm) sau 6 tuần nuôi cấy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cui L, Zhan-jiang Z, Ying W, Lin-xuan L, Zheng-zhu L, Kun-hua W (2013). Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Dendrobium fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook. *Northern Horticulture* 6: 105 - 107.
- Lê Thị Diễm, Võ Thị Bạch Mai (2017). Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự nhân nhanh chồi *in vitro* lan Thạch học thiết bì (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo). *Tạp chí Phát triển KH&CN*, 20:29-38.
- La Việt Hồng, Nguyễn Nguyệt Quỳnh, Đào Văn Kiên, Chu Hoàng Hà (2017). DNA barcoding và nhân nhanh *in vitro* *Dendrobium transparens* Wall.ex Lindl. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 33(2): 37-45.
- Trần Hợp (1988) *Phong lan Việt Nam*. NXB Nông Nghiệp Hà Nội. Vũ Ngọc Lan, Nguyễn Thị Lý Anh (2013). Nhân giống *in vitro* loài lan bản địa *Dendrobium nobile* Lindl. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 11(7):917-925.
- Martin KP, Madassery J (2006). Rapid *in vitro* propagation of *Dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants and protocorm like bodies. *Sci Hort* 108: 95-99.
- Murashige T, Skoog F (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plant* 15: 473 - 497.
- Potshangbam N, Leimapokpam T (2014). Establishment of an Efficient In Vitro Regeneration Protocol for Rapid and Mass Propagation of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. Using Seed Culture. *The Scientific World Journal*.<https://doi.org/10.1155/2014/740150>
- Nguyễn Văn Song, Phan Hùng Vĩnh, Trương Thị Bích Phượng (2011). Nhân nhanh *in vitro* lan kim điệp (*Dendrobium chrysotoxum*) – một loài lan rừng có nguy cơ tuyệt chủng. *Hue University Journal of Science* 64:127-136.
- Nguyễn Thị Sơn, Từ Bích Thủy, Đặng Thị Nhân, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga và Nguyễn Quang Thạch (2014). Nhân giống *in vitro* lan *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (Thạch học Thiết bì). *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 12(8):1274-1282.
- Đặng Thị Thắm, H'Yon Niê Bing, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Đinh Văn Khiêm, Nông Văn Duy, Trần Thái Vinh, Quách Văn Hợi, Vũ Kim Công (2018).Vi nhân giống lan Nhất điểm hoàng (*Dendrobium heterocarpum* Lindl.). *Tạp chí Công nghệ sinh học* 16(1): 127 - 135.
- Nguyễn Đức Tuấn, Huỳnh Phước Lễ, Phạm Thị Diễm Thi, Trương Thị Bích Phượng, Ngô Thị Minh Thu, Trương Kiều Ngân (2013). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* lan hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum*). *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 7, Hà Nội*, 2013-2021.
- Website: <http://vuonphonglan.vn/vi/gia-hac-hawaii-dendrobium-adastra.html>

A RESEARCH ON IN VITRO PROPAGATION OF *Dendrobium adastra*

Le Thi Luan^{1,2}, Nguyen Thi Thao Quyen¹, Lam Thi Ngoc Thuy¹, Nguyen Duc Tuan¹,
Nguyen Hong Phuong³, Truong Thi Bích Phuong¹

¹ University of Sciences, Hue University

² Nguyen Hue High School, Dak Doa, Gia Lai

³ Quang Tri Department of Agriculture and rural Development

SUMMARY

Dendrobium adastra is a beautiful orchid, large flower and one of the important commercial flower originating in Hawaii. *Dendrobium adastra* is conventionally propagated by seed and stem segments, however the germination rate and shoot regeneration rate are very low. In this paper, we report a procedure for *in vitro* propagation of *Dendrobium adastra* by seed germination method. Three-month fruits from wild plants were used as explants in this study on the *in vitro* culture. MS medium with 1.5 mg/L BAP was found to be effective to increase seed germination rate as high as 98,5% after 6 weeks of culture. The protocorm (0.5×0.5cm) formed from seed explant were induced to multiple protocorm on MS medium supplemented with BAP 1.0 mg/L or kinetin 1.5 mg/L, reached maximum average protocorm diameter (1.64 - 1.69 cm) after 4 weeks of culture. The highest shoot multiplication coefficient of these shoots, which reached 4.2, was obtained on MS medium supplemented with 1.0 mg/L BAP after 6 weeks of culture. Shoots were rooted well on MS medium supplemented with NAA 1.5 mg/L and mashed bananas 100 g/l with the highest mean number of roots (9.42 roots per shoot) and the longest mean root length (1.83 cm) after 6 weeks of culture.

Keywords: *Dendrobium adastra*, seed germination, *in vitro* propagation, protocorm, shoot multiplication, rooting.

Author for correspondence: Tel: 0914959095; Email: ttbphuong@hueuni.edu.vn