

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TÁI SINH CHỒI TỪ RỄ ĐỊA LAN BẠCH NGỌC (*Cymbidium mastersii*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY *IN VITRO*

Phạm Phương Thu¹*, Nguyễn Thị Tình²,
Trần Ngọc Hùng³, Nguyễn Tiến Dũng², Ngô Xuân Bình²

TÓM TẮT

Tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc (*Cymbidium mastersii*) được thí nghiệm trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* ở nhiệt độ phòng 25°C; ẩm độ 65%, cường độ chiếu sáng 2.000 lux, 16 giờ sáng/24 giờ. Thí nghiệm được triển khai nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin (Kinetin, TDZ, BA), đường và auxin NAA đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Cytokinin BA có tác dụng tốt cho quá trình tái sinh chồi địa lan Bạch Ngọc, môi trường nuôi cấy bổ sung 3,0 mg BA/l cho kết quả tái sinh có ý nghĩa thực tiễn, đạt 3,30 chồi/mẫu, chiều dài chồi đạt 1,27 cm, khối lượng tươi đạt 167,0 mg. Bổ sung đường sucrose vào môi trường nuôi cấy (MS + 3,0 mg BA/l) có hiệu quả cao với tái sinh chồi, nồng độ 5% đường sucrose cho kết quả số chồi/mẫu đạt 5,57 chồi, chiều dài chồi đạt 2,73 cm, khối lượng tươi đạt 327,67 mg. Auxin NAA phối hợp với BA có hiệu quả đáng kể trong quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi địa lan Bạch Ngọc. Công thức bổ sung 2,0 mg NAA/l vào môi trường nuôi cấy (MS + 3,0 mg BA/l + 5% sucrose) cho kết quả cao nhất, số lượng chồi/mẫu đạt 6,04 chồi với khối lượng tươi của mẫu đạt 414,67 mg; chiều dài chồi đạt 3,00 cm; số rễ/mẫu đạt 5,50 rễ. Đây là kết quả có ý nghĩa thực tiễn trong bảo tồn, khai thác phát triển loài địa lan Bạch Ngọc khu vực phía Bắc Việt Nam.

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

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi địa lan (*Cymbidium*) thuộc họ phụ *Orchidoideae*, phân bố khắp Đông Nam Á. Đa số các loài trong chi gồm các cây sống phụ trên cây mục khác hoặc trên các hốc đá có mùn. Theo các số liệu đã công bố, chi địa lan trên thế giới hiện nay có khoảng 120 loài, châu Á có 52 loài, tại Việt Nam có 24 loài [1]. Loài địa lan Bạch Ngọc (*Cymbidium mastersii*) phân bố ở Cao Bằng, Bắc Kạn, đây là loài ra hoa vào dịp tết nguyên đán, hoa to đẹp và có hương thơm. Hiện nay, loài địa lan Bạch Ngọc được nhân giống chủ yếu bằng phương pháp tách mầm truyền thống tuy nhiên hệ số nhân giống không cao. Kết quả nghiên cứu tiếp cận

bằng phương pháp nhân giống *in vitro* các loài địa lan nói chung cho thấy, hình thức vi nhân giống ở hoa lan có lợi thế đảm bảo cung cấp một lượng lớn cây con vô tính, có thể nhân giống quanh năm nên khắc phục những hạn chế của phương pháp nhân giống truyền thống [2]. Chính vì vậy, nghiên cứu ảnh hưởng của một số hormone sinh trưởng thực vật đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường nhân tạo nhằm mục đích tạo nguồn vật liệu cho nhân giống loài hoa có giá trị đáp ứng nhu cầu thực tiễn và bảo tồn nguồn gen thực vật quý hiếm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu:

Mẫu rễ cây địa lan Bạch Ngọc *in vitro* đạt tiêu chuẩn (có chiều dài 1,5 đến 2,0 cm) sau 8 tuần nuôi cấy được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu.

¹ Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

³ Viện Nghiên cứu Rau quả

*Email: phamphuongthu@hpu2.edu.vn

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Phương pháp bố trí thí nghiệm: Các thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 10 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của cytokinin (Kinetin, TDZ, BA) đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc

Những mẫu rễ địa lan Bạch Ngọc đạt tiêu chuẩn sau 8 tuần nuôi cấy *in vitro* được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu (rễ tái sinh có chiều dài 1,5 - 2,0 cm). Các mẫu rễ được loại bỏ sạch phần thạch bám trên mẫu, sau đó được cấy chuyển sang môi trường MS + 3% sucrose + 5 g agar/l bổ sung riêng lẻ Kinetin, TDZ và BA ở các nồng độ khác nhau (0,0 mg/l đến 4,0 mg/l) để nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin đến khả năng tái sinh chồi từ rễ tạo cây hoàn chỉnh. Theo dõi trong 8 tuần nuôi cấy để tìm ra công thức tối ưu nhất, công thức này sẽ được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của đường sucrose đến khả năng tái sinh chồi từ rễ cây địa lan Bạch Ngọc

Sau 8 tuần nuôi cấy, các rễ đạt tiêu chuẩn được cắt chuyển sang môi trường MS + cytokinin tối ưu (đã xác định ở nội dung 1) bổ sung đường sucrose ở các nồng độ khác nhau. Công thức thí nghiệm bổ sung đường sucrose được bố trí ở các nồng độ 0%; 3%; 5%; 7%; 10%.

2.2.4. Các chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: Số lượng chồi/mẫu cấy; chiều dài chồi; số lượng rễ/mẫu cấy và khối lượng tươi của mẫu sau 8 tuần.

2.2.5. Phương pháp 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 Microsoft office Excel 2010 và phần mềm Sirichai Statistics Version 6.00.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin (Kinetin, TDZ, BA) đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong điều kiện *in vitro*

Để đánh giá khả năng tái sinh chồi từ rễ, nhóm cytokinin (Kinetin; TDZ, BA) được bổ sung riêng lẻ vào môi trường dinh dưỡng với các nồng độ 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 2,0 mg/l; 3,0 mg/l; 4,0 mg/l.

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin (Kinetin; TDZ, BA) đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc (sau 8 tuần)

Cytokinins (mg/l)		Số lượng chồi/mẫu cấy	Chiều dài chồi (cm)	Số lượng rễ/mẫu cấy	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
ĐC	0,0	-	-	-	-
Kinetin	0,5	-	-	-	-
	1,0	-	-	-	-
	2,0	-	-	-	-
	3,0	-	-	-	-
	4,0	-	-	-	-
CV%					
LSD _{0,05}					
ĐC	0,0	-	-	-	-
TDZ	0,5	0,29 ^b	0,53 ^{ab}	-	87,67 ^c

	1,0	0,50 ^a	0,60 ^a	-	104,33 ^b
	2,0	0,19 ^c	0,47 ^b	-	162,33 ^a
	3,0	-	-	-	-
	4,0	-	-	-	-
<i>CV%</i>		<i>10,78</i>	<i>19,76</i>		<i>5,95</i>
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,031</i>	<i>0,09</i>		<i>6,25</i>
ĐC	0,0	-	-	-	-
BA	0,5	0,52 ^e	0,63 ^c	-	74,33 ^d
	1,0	0,80 ^d	1,10 ^b	1,67 ^d	92,67 ^c
	2,0	2,16 ^b	1,20 ^{ab}	2,12 ^b	105,0 ^b
	3,0	3,30 ^a	1,27 ^a	2,68 ^a	167,0 ^a
	4,0	1,39 ^c	1,07 ^b	1,91 ^c	66,33 ^e
<i>CV%</i>		<i>9,27</i>	<i>9,30</i>	<i>7,16</i>	<i>4,11</i>
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,22</i>	<i>0,15</i>	<i>0,18</i>	<i>6,16</i>

Bảng 1 cho thấy, ảnh hưởng của nhóm cytokinin (TDZ, Kinetin, BA) lên quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi địa lan Bạch Ngọc sau 8 tuần nuôi cấy.

Bổ sung Kinetin ở 5 nồng độ từ 0,5 - 4 mg/l đều không có tác dụng cảm ứng rễ hình thành chồi. Ở tất cả các công thức thí nghiệm bổ sung Kinetin đều cho lượng chồi/mẫu là 0,0 chồi (Bảng 1). Theo số liệu bảng 1, TDZ có hiệu quả không đáng kể trong quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi địa lan Bạch Ngọc. Ở các nghiệm thức bổ sung 0,5 - 2,0 mg TDZ/l, số lượng chồi đạt từ 0,19 đến 0,5 chồi/mẫu cấy với khối lượng tươi của mẫu từ 87,67 - 162,33 mg. Công thức bổ sung TDZ 1 mg/l cho kết quả cao nhất với số lượng chồi/mẫu cấy đạt 0,5 chồi; chiều cao chồi đạt 0,60 cm; khối lượng tươi của mẫu đạt 104,33 mg; khác biệt với công thức đối chứng (các mẫu rễ không tái sinh chồi). Phân tích LSD_{0,05} cho giá trị kết quả ở mức độ tin cậy 95%.

Trong 3 loại cytokinin thử nghiệm, BA có hiệu quả đáng kể trong cảm ứng rễ hình thành chồi tạo cây con hoàn chỉnh. Ở tất cả các công thức thí nghiệm bổ sung BA đều kích thích rễ hình thành chồi, số lượng chồi/mẫu cấy ở các công thức thí nghiệm dao động từ 0,52 - 3,30 chồi; khác biệt hoàn

toàn so với đối chứng không bổ sung BA (các mẫu rễ không tái sinh chồi). Lượng chồi thu được từ xử lý 3,0 mg BA/l đạt 3,30 chồi; chiều dài chồi đạt 1,27 cm với khối lượng tươi của mẫu đạt 167,0 mg; số rễ/mẫu đạt 2,68 rễ. Phân tích LSD_{0,05} cho giá trị kết quả ở mức độ tin cậy 95%.

Từ kết quả thí nghiệm cho thấy loại cytokinin thích hợp nhất cho cảm ứng tạo chồi địa lan Bạch Ngọc là BA, hàm lượng thích hợp nhất để mẫu rễ địa lan Bạch Ngọc ra chồi là 3,0 mg/l, khi đó số lượng chồi/mẫu cấy đạt 3,30 chồi; chiều dài chồi đạt 1,27 cm với khối lượng tươi đạt 167,0 mg. Nghiên cứu của Paek và Yeung (1991) [5] về nhân giống *in vitro* trên rễ địa lan *Cymbidium forrestii* cũng cho kết quả tương tự, kết quả nghiên cứu này cho thấy, hai loại cytokinin 2iP và Kinetin không có tác dụng trong cảm ứng chồi trên mẫu rễ địa lan *Cymbidium forrestii* trong 3 loại cytokinin thử nghiệm chỉ có BA cảm ứng rễ hình thành chồi [5]. Paek và Yeung (1991) khuyến cáo sử dụng BA ở nồng độ 3,0 mg/l để tái sinh chồi địa lan *Cymbidium forrestii*, cho số chồi/mẫu cấy đạt 3,4 ± 0,9 chồi; số rễ/mẫu cấy đạt 4,0 ± 0,5 rễ; khối lượng tươi của mẫu đạt 160,7 ± 43,2 mg [5]. Để luận giải vai trò cảm ứng tạo chồi từ rễ của BA, Paek và Yeung (1991) giải thích rằng, cytokinin

BA ngăn cản sự phân nhánh ở rễ đồng thời thúc đẩy duy trì một vùng tế bào chất lớn hơn ở đỉnh rễ giúp tăng cường sự phát triển của lá [5]. Các nghiên cứu của Cutter (1978), Woolley và Wareing (1972) trên chồi non của khoai tây cho thấy, BA đóng một vai trò thiết yếu trong việc hình thành chồi non và sự phát triển sau đó thành chồi lá [3, 4], sự hiện diện của BA trong môi trường nuôi cấy làm tăng kích thước vùng tế bào chất của đỉnh rễ và tăng cường sự phát triển của lá. Những thay đổi này có thể đã làm thay đổi sự cân bằng hormone nội sinh dẫn đến thay đổi thói quen sinh trưởng tự dưỡng của rễ.

Vì BA là cytokinin hiệu quả nhất cho cảm ứng tạo chồi, do đó môi trường bổ sung 3,0 mg/l BA

được sử dụng là cytokinin duy nhất để tiến hành nghiên cứu trong các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của đường sucrose đến khả năng tạo chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong điều kiện *in vitro*

Trong nuôi cấy mô thực vật, khi bổ sung nguồn các bon dưới dạng đường vào môi trường sẽ giúp mô và tế bào thực vật tổng hợp nên các chất hữu cơ, giúp tế bào phân chia và tăng sinh khối, đây là loại đường đòi hỏi khó phân hủy và có vai trò quan trọng trong quá trình tái sinh cây. Để đánh giá khả năng tái sinh chồi từ mẫu rễ địa lan Bạch Ngọc, đường sucrose được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với các nồng độ 0%; 3%; 5%; 7%; 10%.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của đường sucrose đến khả năng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong điều kiện *in vitro* (sau 8 tuần)

Đường sucrose (%)	Số lượng chồi/mẫu cấy	Chiều dài chồi (cm)	Số lượng rễ/mẫu cấy	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
0	2,14 ^d	0,57 ^e	1,24 ^e	138,67 ^c
3	3,30 ^b	1,20 ^d	2,68 ^c	165,33 ^{bc}
5	5,57 ^a	2,73 ^a	4,42 ^a	327,67 ^a
7	2,71 ^c	2,20 ^b	3,80 ^b	218,33 ^b
10	2,17 ^d	1,53 ^c	2,26 ^d	196,33 ^b
CV%	5,00	4,70	4,31	14,07
LSD _{0,05}	0,29	0,14	0,23	53,56

Bảng 2 cho thấy, môi trường nuôi cấy không bổ sung sucrose có số lượng chồi/mẫu cấy thấp nhất (chỉ đạt 2,14 chồi) đồng thời khối lượng tươi của mẫu thấp (138,67 mg). Trên môi trường bổ sung 5% đường sucrose, sau 8 tuần nuôi cấy cho số lượng chồi/mẫu cấy cao với 5,57 chồi/mẫu cấy; khối lượng tươi của mẫu đạt 327,67 mg với trung bình chiều dài chồi đạt 2,73 cm; số lượng rễ/mẫu cấy đạt 4,42 rễ. Ở nồng độ 7% và 10% sucrose, số lượng chồi/mẫu cấy giảm dần, khối lượng tươi của mẫu và chiều dài chồi cũng giảm rõ rệt.

Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Paek và Yeung (1991) trên đối tượng địa lan *Cymbidium forrestii* [5], khuyến cáo bổ sung 5% sucrose vào

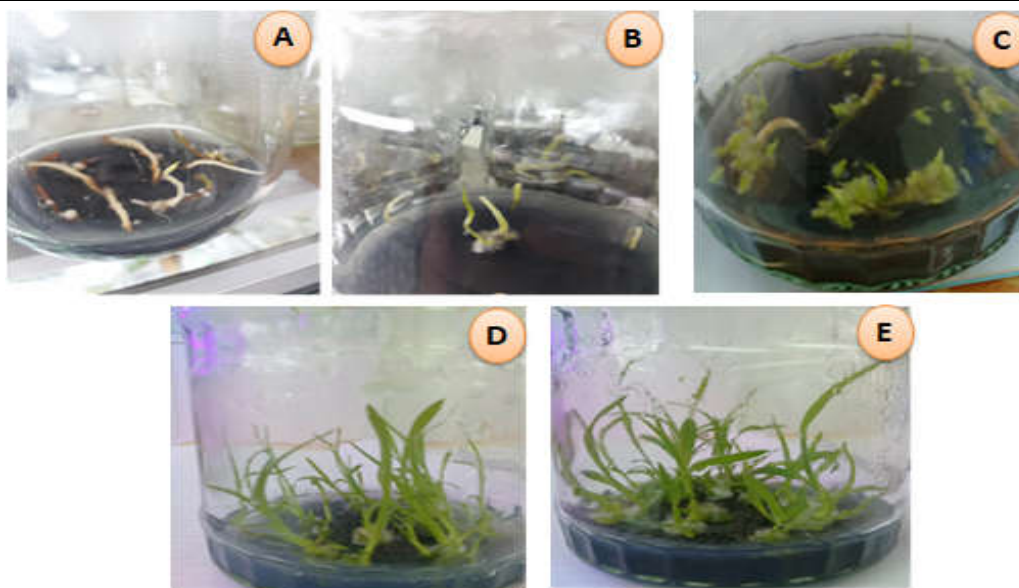
môi trường MS + 3 mg BA/l cho số chồi địa lan Bạch Ngọc đạt 8,2 chồi. Ở các loài địa lan khác, Chung và cs (1985) [6, 7] khuyến cáo bổ sung 4% sucrose cho kết quả tái sinh chồi từ rễ tối ưu nhất đối với loài *Cymbidium ensifolium* còn đối với loài *Cymbidium kanran* nồng độ đường tối ưu nhất là 6% sucrose sẽ thúc đẩy số lượng chồi và tăng trọng lượng tối đa của mẫu. Tuy nhiên, khi bổ sung nồng độ đường quá cao (7% và 10% sucrose) sẽ hình thành áp suất thẩm thấu, ảnh hưởng không tốt đến sự sinh trưởng của chồi [5]. Có thể thấy rằng, nồng độ đường sucrose tối ưu trên mỗi đối tượng rễ địa lan là không giống nhau, nồng độ tối thích sẽ thay đổi tùy thuộc vào loài và đối tượng thí nghiệm.

Như vậy, môi trường MS bổ sung 3 mg BA/l và 5% sucrose là môi trường phù hợp cho cảm ứng tạo chồi từ rễ cây địa lan Bạch Ngọc.

Bảng 3 cho thấy, ảnh hưởng phối hợp của cytokinin và auxin lên quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi tạo cây con hoàn chỉnh sau 8 tuần nuôi cấy.

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BA kết hợp NAA đến khả năng tạo cây con địa lan Bạch Ngọc từ rễ trong điều kiện *in vitro* (sau 8 tuần)

Chất kích thích sinh trưởng		Số lượng chồi/mẫu cấy	Chiều dài chồi (cm)	Số lượng rễ/mẫu cấy	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
BA	NAA				
3,0 mg/l	0,0	5,57 ^b	2,73 ^b	4,42 ^{bc}	327,67 ^b
	1,0	5,50 ^b	2,83 ^b	4,60 ^b	337,33 ^b
	2,0	6,04 ^a	3,00 ^a	5,50 ^a	414,67 ^a
	3,0	4,60 ^c	2,50 ^c	4,20 ^c	403,67 ^a
	4,0	4,50 ^c	2,27 ^d	3,10 ^d	394,67 ^a
	5,0	2,50 ^d	2,1 ^e	3,09 ^d	220,0 ^c
CV%		3,90	3,17	4,02	8,26
LSD _{0,05}		0,33	0,15	0,30	51,37



Hình 1. Kết quả tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc (sau 8 tuần)

A: rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường không bổ sung cytokinin; B: chồi tái sinh từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường MS + 1,0 mg TDZ/l + 3% sucrose; C: chồi tái sinh từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường MS + 3,0 mg BA/l + 3% sucrose; D: chồi tái sinh từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường MS + 3,0 mg BA/l + 5% sucrose; E: chồi tái sinh từ rễ địa lan Bạch Ngọc trong môi trường MS + 3,0 mg BA/l + 5% sucrose + 2,0 mg NAA/l.

Theo số liệu bảng 3, NAA phối hợp với BA có hiệu quả đáng kể trong quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi địa lan Bạch Ngọc. Công thức bổ sung 2,0 mg NAA/l cho kết quả cao nhất, số lượng chồi/mẫu cấy đạt 6,04 chồi với khối lượng tươi của mẫu đạt 414,67 mg; chiều dài chồi đạt 3,00 cm; số rễ đạt 5,50 rễ/mẫu cấy, cao hơn công thức đối chứng không bổ sung NAA (số chồi/mẫu cấy đạt 5,57 chồi; chiều dài chồi 2,73 cm; khối lượng tươi đạt 327,67 mg). Ở các công thức bổ sung $\geq 3,0$ mg NAA/l cho số lượng chồi/mẫu cấy có xu hướng giảm dần (giảm từ 4,60 chồi xuống 2,50 chồi/mẫu); chiều dài và khối lượng tươi của mẫu cũng có xu hướng giảm dần khi bổ sung $\geq 3,0$ mg NAA/l. Công thức bổ sung 1,0 mg NAA/l cho số chồi tương đương đối chứng (Bảng 3). Phân tích LSD_{0,05} cho giá trị kết quả ở mức độ tin cậy 95%.

Kết quả thí nghiệm ở bảng 1, 2, 3 cho thấy, khả năng đáp ứng khác nhau của mô phân sinh rễ đối với các hormone sinh trưởng thực vật trong môi trường nuôi cấy. Điều này đã được Sussex (1989) [8] lý giải như sau: Hệ thống tạo tín hiệu cơ bản cho lập trình sinh dưỡng của mô phân sinh nằm trong chính mô phân sinh và “chức năng của mô phân sinh cũng nhạy cảm với các tín hiệu nhận được từ môi trường và những nơi khác trong cây”. Sự hình thành chồi ở các loài địa lan sử dụng phương pháp nhân giống từ rễ dường như được điều chỉnh bởi tỷ lệ auxin/cytokinin [6, 9, 10]. Trong tất cả các loài *Cymbidium* được nghiên cứu cho đến nay, tỷ lệ auxin/cytokinin cao hơn trong môi trường nuôi cấy nói chung giúp tăng cường sự phát triển của rễ trong khi tỷ lệ auxin/cytokinin thấp hơn sẽ thúc đẩy sự hình thành chồi.

4. KẾT LUẬN

Chất kích thích sinh trưởng nhóm cytokinin, đường sucrose và auxin có ảnh hưởng tích cực đến khả năng tái sinh chồi và sinh khối ở địa lan Bạch Ngọc.

Cytokinin BA kích thích cảm ứng tái sinh chồi từ rễ địa lan Bạch Ngọc, môi trường MS bổ sung 3 mg BA/l cho kết quả tái sinh tốt, đạt 3,30 chồi/mẫu, chiều dài chồi đạt 1,27 cm, khối lượng tươi đạt 167,0 mg.

Bổ sung đường sucrose vào môi trường MS + 3 mg BA/l, có hiệu quả cao với tái sinh chồi, hàm lượng đường sucrose 5% cho kết quả 5,57 chồi/mẫu cấy, chiều dài chồi đạt 2,73 cm, khối lượng tươi đạt 327,67 mg.

Auxin NAA phối hợp với BA có hiệu quả đáng kể trong quá trình cảm ứng rễ hình thành chồi tạo cây con hoàn chỉnh. Công thức bổ sung 2,0 mg NAA/l vào môi trường nuôi cấy (MS + 3,0 mg BA/l + 5% sucrose) cho kết quả cao nhất, số lượng chồi/mẫu đạt 6,04 chồi; khối lượng tươi của mẫu đạt 414,67 mg; chiều dài chồi đạt 3,00 cm; số rễ/mẫu đạt 5,50 rễ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Averyanov, L. V., & Averyanova, A. (2003). *Updated checklist of the orchids of Vietnam*. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội.
2. Da Silva, J. A., et al. (2015). *Dendrobium micropropagation: a review*. Plant Cell Rep, 34 (5): p. 671-704.
3. Cutter, E. G (1978). *Structure and development of the potato plant*, in *The Potato Crop: The scientific basis for improvement*, P. M. Harris, Editor, Springer US: Boston, MA. p. 70-152.
4. Woolley, D. J. and P. F. Wareing (1972). *The role of roots, cytokinins and apical dominance in the control of lateral shoot form in Solanum andigena*. Planta, 105 (1): p. 33-42.
5. Paek, K.Y. and 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.
6. Chung, J., et al. (1985). Factors affecting growth of rhizome and organogenesis of Korean native Cymbidium kanran. *Journal of The Korean Society for Horticultural Science (Korea R.)*, pp 106 - 112.
7. Chung, J., C. Chun, and S. Choi (1985). Asymbiotic germination of Cymbidium ensifolium, 2; effects of several supplements to the medium, pH values and light and/or dark culture period on growth of rhizome and organogenesis from rhizome. *Journal of The Korean Society for Horticultural Science (Korea R.)*, pp 103 - 110.

8. Sussex, I. M (1989). *Developmental programming of the shoot meristem*. Cell, 56 (2): p. 225-229.
9. Lee, J., *et al.* (1986). Studies on rhizome growth and organogenesis of *Cymbidium kanran* cultured *in vitro*. *Journal of The Korean Society for Horticultural Science (Korea R.)*, pp 124 -129.
10. Paek, K., G. Shim, and J. Kim (1989). Exploitation of temperature Cymbidiums and establishment of micropropagation system, 1; Asymbiotic germination of temperate Cymbidiums and effect of media and growth regulators on organogenesis. *Journal of The Korean Society for Horticultural Science (Korea R.)*, pp 44 - 48.

**RESEARCH ON SHOOTS REGENERATION FROM ROOTS BACH NGOC (*Cymbidium mastersii*)
BY *IN VITRO* CULTURE METHOD**

Pham Phuong Thu^{1,*}, Nguyen Thi Tinh²,

Tran Ngoc Hung³, Nguyen Tien Dung², Ngo Xuan Binh²

¹ Ha Noi Pedagogical University 2

² University of Agriculture and Forestry - Thai Nguyen University

³ Research Institute of Fruits and Vegetables

Summary

Shoot regeneration of Bach Ngoc orchid (*Cymbidium mastersii*) was tested in vitro culture conditions at room temperature of 25°C; humidity 65%, light intensity 2.000 lux, 16 am/24 hours. The experiment was conducted to investigate the effects of cytokinin (Kinetin, TDZ, and BA) growth stimulants, sugar, and NAA auxin on the ability to regenerate shoots from Bach Ngoc orchid roots. The results showed that: Cytokinin BA had a good effect on the regeneration of Bach Ngoc orchid shoots, the culture medium supplemented with 3.0 mg BA/l gave regeneration results of practical significance, reaching 3.30 shoots/sample, shoot length reached 1.27 cm, fresh weight reached 167.0 mg. Adding sucrose to the culture medium (MS + 3.0 mg BA/l) was highly effective in shoot regeneration, the concentration of 5% sucrose resulted in the number of shoots/explant reaching 5.57 shoots, and length shoots reached 2.73 cm, fresh weight reached 327.67 mg. Auxin NAA in combination with BA was significantly effective in inducing shoot formation of the Bach Ngoc orchid. The formula adding 2.0 mg NAA/l to the culture medium (MS + 3.0 mg BA/l + 5% sucrose) gave the highest results, the number of shoots/explant was 6.04 shoots with weight freshness of the sample reached 414.67 mg; shoot length reaches 3.00 cm; the number of roots/sample reached 5.50 roots. This is a result of practical significance in the conservation, exploitation, and development of Bach Ngoc orchid species in the North of Vietnam.

Keywords: *Cymbidium mastersii*, growth stimulants, culture medium, shoots regeneration, *invitro*.

Người phản biện: GS. TS. Trần Duy Quý

Ngày nhận bài: 10/11/2023

Ngày thông qua phản biện: 28/11/2022

Ngày duyệt đăng: 6/12/2022