

Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi và ra rễ *in vitro* của cây lai F1 *Cymbidium aloifolium* × *Cymbidium finlaysonianum*

Phạm Phương Thu*, Trần Huyền My, Dương Thị Kim Anh

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

Ngày nhận bài 20/2/2025; ngày chuyển phản biện 24/2/2025; ngày nhận phản biện 14/3/2025; ngày chấp nhận đăng 19/3/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi và ra rễ *in vitro* của cây lai F1 (♀ *Cymbidium aloifolium* × ♂ *Cymbidium finlaysonianum*). Thí nghiệm xác định môi trường nuôi cấy thích hợp (Murashige và Skoog - MS; 1/2 MS; Knudson C - KC; Vacin và Went - VW) và tác động của cytokinin (BAP, Kinetin, TDZ), auxin (IBA, NAA, IAA) cùng than hoạt tính (0-4 g/l) đến các giai đoạn nảy mầm, nhân chồi và ra rễ. Kết quả cho thấy, môi trường MS tối ưu cho sự nảy mầm với tỷ lệ 90,37% và thời gian hình thành protocorm ngắn nhất (7-8 tuần). Giai đoạn nhân chồi đạt hiệu quả cao nhất khi bổ sung 2,0 mg/l BAP, với trung bình 4,30 chồi/mẫu, chiều dài 7,73 cm và khối lượng tươi 323,05 mg. Trong giai đoạn ra rễ, môi trường chứa 2,0 mg/l NAA và 2,0 g/l than hoạt tính cho kết quả tốt nhất với trung bình 5,20 rễ/mẫu, chiều dài 6,35 cm và khối lượng tươi 355,05 mg. Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho việc hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây lai F1, góp phần tạo ra nguồn vật liệu lai khởi đầu phong phú, làm cơ sở cho quá trình chọn lọc và phát triển các dòng lan lai triển vọng.

Từ khóa: auxin, *Cymbidium aloifolium*, *Cymbidium finlaysonianum*, cytokinin, nhân chồi, nuôi cấy *in vitro*, ra rễ.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Effects of plant growth regulators on *in vitro* shoot regeneration and rooting of an F1 hybrid between *Cymbidium aloifolium* and *Cymbidium finlaysonianum*

Phuong Thu Pham*, Huyen My Tran, Thi Kim Anh Duong

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

Received 20 February 2025; revised 14 March 2025; accepted 19 March 2025

Abstract:

This study evaluates the effects of plant growth regulators on *in vitro* shoot regeneration and root formation of the F1 hybrid (♀ *Cymbidium aloifolium* × ♂ *Cymbidium finlaysonianum*). The experiment determined the optimal culture medium (MS, 1/2 MS, KC, VW) and the influence of cytokinin (BAP, Kinetin, TDZ), auxin (IBA, NAA, IAA), and activated charcoal (0-4 g/l) on seed germination, shoot multiplication, and root formation stages. Results showed that MS medium was the most suitable for germination, achieving a 90.37% germination rate and the shortest protocorm formation time (7-8 weeks). The highest shoot multiplication efficiency was observed with 2.0 mg/l BAP, yielding an average of 4.30 shoots/explant, a shoot length of 7.73 cm, and a fresh weight of 323.05 mg. For root formation, the combination of 2.0 mg/l NAA and 2.0 g/l activated charcoal produced the best results, with an average of 5.20 roots/explant, a root length of 6.35 cm, and a fresh weight of 355.05 mg. This study provides a scientific basis for optimising the *in vitro* propagation protocol for the F1 hybrid, contributing to the generation of a diverse initial hybrid population, serving as a foundation for the selection and development of promising *Cymbidium* hybrid lines.

Keywords: auxin, *Cymbidium aloifolium*, *Cymbidium finlaysonianum*, cytokinin, *in vitro* culture, rooting, shoot multiplication.

Classification numbers: 1.6, 4.6

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

1. Đặt vấn đề

Chi Địa lan (*Cymbidium*) là một trong những nhóm thực vật có giá trị kinh tế cao trong ngành công nghiệp hoa cảnh nhờ hoa lâu tàn cùng khả năng thích nghi đa dạng với các điều kiện sinh thái [1]. Tại Việt Nam, nguồn tài nguyên Địa lan bản địa đa dạng không chỉ có ý nghĩa khoa học mà còn mang tiềm năng thương mại đáng kể. Tuy nhiên, nhiều loài đang đối mặt với nguy cơ suy giảm quần thể nghiêm trọng do khai thác quá mức và thiếu giải pháp bảo tồn hiệu quả, thậm chí một số loài đứng trước nguy cơ tuyệt chủng.

Trong khi đó, thị trường trong nước ngày càng đòi hỏi các giống lan lai có “mặt hoa” độc đáo - tiêu chí quyết định giá trị thương mại. Đáng chú ý, nguồn cung giống lai mới hiện vẫn phụ thuộc lớn vào nhập khẩu, trong khi phương pháp nhân giống truyền thống (như tách chồi) không chỉ hạn chế về số lượng mà còn làm giảm đa dạng di truyền. Thách thức này đặt ra yêu cầu cấp thiết về việc kết hợp công nghệ sinh học để vừa bảo tồn nguồn gen bản địa, vừa phát triển giống lai chất lượng cao.

Trước thách thức này, nhóm nghiên cứu tại Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2 đã thành công tạo quả lai F1 giữa hai loài Địa lan bản địa là *Cymbidium aloifolium* (Đoàn kiểm lô hội) và *Cymbidium finlaysonianum* (Đoàn kiểm filayson) - những loài có khả năng sinh trưởng mạnh và giá trị thẩm mỹ cao. Tuy nhiên, hạt lai F1 của chi *Cymbidium* thiếu nội nhũ và có phôi ở giai đoạn sớm (chưa phân hóa đầy đủ), cần cộng sinh với nấm mycorrhiza để nảy mầm trong tự nhiên [2]. Tỷ lệ nảy mầm tự nhiên của hạt lan thường rất thấp do yêu cầu khắt khe về độ ẩm, pH và điều kiện dinh dưỡng [3, 4]. Như vậy, việc thiếu sự hỗ trợ từ nấm mycorrhiza và môi trường dinh dưỡng khắt khe khiến hạt lai F1 rất khó phát triển thành cây con trong điều kiện tự nhiên, đồng nghĩa với nguy cơ có thể mất hoàn toàn nguồn vật liệu lai quý giá.

Nghiên cứu này tập trung vào việc xác định điều kiện nuôi cấy *in vitro* thích hợp nhằm kích thích sự nảy mầm của hạt lai F1, qua đó thiết lập quần thể cây con ổn định, tạo tiền đề cho quá trình đánh giá kiểu hình hoa ở giai đoạn sau. Kết quả kỳ vọng sẽ tạo ra nguồn vật liệu lai khởi đầu phong phú, làm cơ sở cho quá trình chọn lọc và phát triển các dòng lan lai triển vọng, đặc biệt là những dòng có kiểu hình hoa độc đáo, từ đó góp phần mở rộng tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguồn vật liệu lai tạo: Mẫu quả lai F1 thu nhận từ phép lai chủ động giữa hai loài Địa lan bản địa (cây mẹ: *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. 1799; cây bố: *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. 1833) do nhóm nghiên cứu của

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2 thực hiện. Quả lai được thu hoạch sau 8 tháng thụ phấn, khi vỏ quả chuyển màu vàng nâu, bảo quản ở 4°C trước khi tách hạt.

Bốn môi trường dinh dưỡng (MS, 1/2 MS, KC, VW) được sử dụng để đánh giá khả năng nảy mầm của hạt lan.

Các chất điều hòa sinh trưởng được khảo sát gồm cytokinin (Kinetin, TDZ, BAP) và auxin (IBA, NAA, IAA). Bên cạnh đó, than hoạt tính cũng được bổ sung để đánh giá tác động đến quá trình phát triển cây *in vitro*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm được tiến hành như sau:

Thí nghiệm 1: Đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy (MS, 1/2 MS, KC, VW) đến khả năng nảy mầm của hạt lai F1.

Thí nghiệm 2: Khảo sát tác động của nhóm cytokinin (Kinetin, TDZ, BAP) đến khả năng nhân nhanh chồi cây lai F1.

Thí nghiệm 3: Đánh giá ảnh hưởng của nhóm auxin (IBA, NAA, IAA) đến khả năng ra rễ của cây lai F1.

Thí nghiệm 4: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng phối hợp của auxin với than hoạt tính để tối ưu hóa quá trình ra rễ của cây lai F1.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

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

Thí nghiệm về môi trường nuôi cấy: Mỗi công thức thí nghiệm gồm 3 bình, trong đó mỗi bình được gieo một lớp hạt lan mỏng, phân bố đều trên bề mặt môi trường để đảm bảo độ tin cậy của kết quả. Việc gieo rắc một lớp hạt mỏng giúp dễ dàng theo dõi tỷ lệ nảy mầm và đánh giá hiệu quả của môi trường nuôi cấy.

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 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm 60-70%, cường độ chiếu sáng 2.000 lux với chế độ chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối mỗi ngày.

2.4. Các chỉ tiêu theo dõi

- Tỷ lệ nảy mầm (%):

Phương pháp đo: Đếm số hạt nảy mầm (phôi vỡ vỏ và hình thành protocorm) trên tổng số hạt cấy trong mỗi bình.

Công thức: Tỷ lệ nảy mầm (%) = $\frac{\text{Số hạt nảy mầm}}{\text{Tổng số hạt cấy}} \times 100$

- Thời gian hình thành protocorm (tuần): Ghi nhận tuần đầu tiên xuất hiện protocorm sơ cấp và thứ cấp.

- Số lượng chồi/mẫu (chồi):

Phương pháp: Đếm số chồi mới hình thành từ mỗi mẫu cây.

Thời điểm: Kết thúc giai đoạn nhân chồi (sau 10 tuần).

- Chiều dài chồi/rễ (cm):

Phương pháp: Đo bằng thước (độ chính xác $\pm 0,1$ cm).

Thời điểm: Khi kết thúc các giai đoạn nhân chồi và ra rễ (sau 10 tuần).

- Khối lượng tươi (mg): Cân mẫu bằng cân phân tích ($\pm 0,01$ mg) sau khi làm khô bề mặt bằng giấy thấm.

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft 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. Đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt lai F1

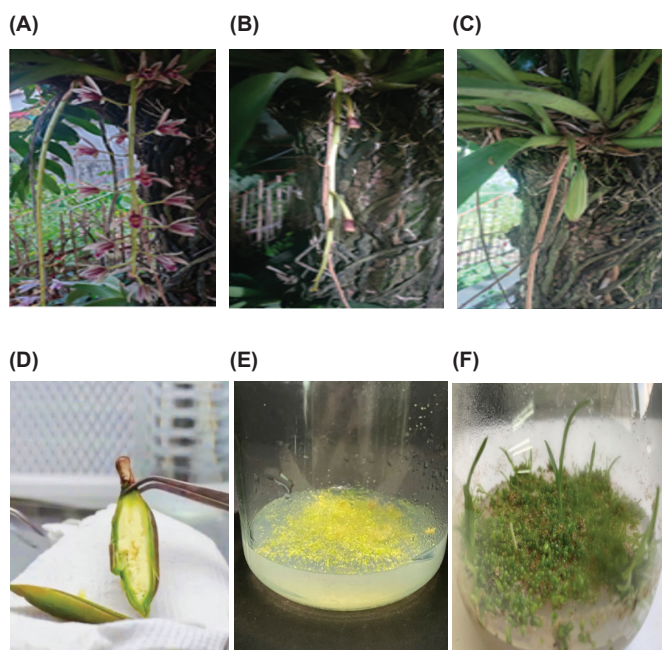
Quả lai F1 được sử dụng làm nguồn vật liệu nhân giống *in vitro*, chứa hàng triệu hạt lai với tổ hợp gen đa dạng. Thí nghiệm sử dụng bốn môi trường MS, 1/2 MS, KC, VW để đánh giá khả năng nảy mầm và phát triển protocorm theo phương pháp của P. Mohanty và cs (2012) [5]. Môi trường bổ sung 3% sucrose, 5 g/l agar, pH $5,8 \pm 0,1$, theo dõi trong 12 tuần.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng đến quá trình nảy mầm và phát triển phôi hạt lai F1 được thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng nảy mầm của hạt lai F1 giữa ♀ *Cymbidium aloifolium* và ♂ *Cymbidium finlaysonianum*.

Môi trường	Thời gian hạt bắt đầu phát triển thành phôi (tuần)	Thời gian hình thành protocorm (tuần)	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)
MS	3-5	7-8	90,37 ^a
1/2 MS	4-6	10-12	70,32 ^b
KC	5-7	10-12	62,67 ^c
VW	5-7	10-12	64,59 ^c
CV%			2,05
LSD _{0,05}			2,95

a, b, c: thể hiện sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% (theo phương pháp phân tích Duncan, $p < 0,05$). MS: Murashige và Skoog; KC: Knudson C; VW: Vacin và Went.



Hình 1. Quả và hạt lai F1 giữa ♀ Đoàn kiếm lô hội và ♂ Đoàn kiếm flayson nảy mầm và phát triển trên môi trường MS. (A) Hoa lan kiếm lô hội, để thụ phấn; (B) Quả lai sau 10 ngày thụ phấn chéo; (C) Quả lai sau 6 tháng thụ phấn chéo; (D) Quả lai F1 khi vào mẫu; (E) Protocorm sơ cấp; (F) Protocorm thứ cấp.

Kết quả bảng 1 và hình 1 cho thấy, môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ nảy mầm của hạt lai F1. Trong số 4 môi trường khảo sát, MS mang lại hiệu quả cao nhất với tỷ lệ nảy mầm đạt 90,37%, vượt trội so với 1/2 MS (70,32%), KC (62,67%) và VW (64,59%).

Hạt lai phát triển thành phôi nhanh nhất trên môi trường MS (3-5 tuần) và hình thành protocorm sớm nhất sau 7-8 tuần. Hiệu quả nảy mầm vượt trội của hạt lai F1 trên môi trường MS so với các môi trường khác (1/2 MS, KC, VW) được giải thích bởi công thức dinh dưỡng cân bằng, đặc biệt là nguồn nitơ và nguyên tố vi lượng có trong môi trường MS. So sánh với các nghiên cứu trước, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của P. Mohanty và cs (2012) [5] trên *Cymbidium mastersii*, trong đó môi trường MS giúp gia tăng tỷ lệ nảy mầm và rút ngắn thời gian phát triển phôi so với các môi trường khác. Đồng thời, nghiên cứu của P.P. Thu và cs (2023) [6] trên *Cymbidium wenshanense* cũng khẳng định rằng MS là môi trường tối ưu, giúp hạt lan nảy mầm nhanh hơn nhờ cung cấp đủ dinh dưỡng và duy trì độ pH ổn định.

Như vậy, MS là môi trường thích hợp 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. Khảo sát tác động của nhóm cytokinin (Kinetin, TDZ, BAP) đến khả năng nhân nhanh chồi cây lai F1

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các cytokinin (Kinetin, TDZ, BAP) đến khả năng nhân nhanh chồi cây lai F1 được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng nhóm cytokinin đến khả năng nhân nhanh chồi cây lai F1 sau 10 tuần.

Cytokinins	Mg/l	Số lượng chồi/ mẫu cấy	Chiều dài chồi (cm)	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
ĐC	0	2,4 ^b	6,9 ^b	243,20 ^b
	1	2,73 ^b	7,05 ^b	244,60 ^b
	2	3,55 ^a	7,55 ^a	255,18 ^a
	3	2,77 ^b	6,95 ^b	246,25 ^{ab}
	4	2,65 ^b	6,95 ^b	244,53 ^b
CV%		10,81	3,13	1,63
LSD _{0,05}		0,47	0,34	6,18
TDZ	0	2,40 ^b	6,9 ^{ab}	244,63 ^b
	1	2,75 ^b	6,65 ^b	247,15 ^b
	2	3,55 ^a	7,30 ^a	256,68 ^a
	3	2,58 ^b	6,75 ^b	247,90 ^b
	4	2,45 ^b	6,57 ^b	246,25 ^b
CV%		11,80	4,03	1,55
LSD _{0,05}		0,50	0,42	5,95
BAP	0	2,4 ^c	6,9 ^b	281,75 ^b
	1	3,55 ^{ab}	7,1 ^b	292,13 ^b
	2	4,30 ^a	7,73 ^a	323,05 ^a
	3	3,48 ^b	7,03 ^b	286,83 ^b
	4	2,88 ^{bc}	6,95 ^b	280,30 ^b
CV%		14,67	3,6	4,08
LSD _{0,05}		0,75	0,40	18,39

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).

Kết quả bảng 2 cho thấy, tác động của 3 loại cytokinin (Kinetin, TDZ và BAP) đến quá trình nhân nhanh chồi của cây lai F1. Ở nồng độ 2,0 mg/l, Kinetin giúp số lượng chồi tăng đáng kể (3,55 chồi/mẫu) so với đối chứng (2,40 chồi/mẫu) và đạt chiều dài tối ưu 7,55 cm. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng lên 3,0-4,0 mg/l, số lượng chồi giảm còn 2,77-2,65 chồi/mẫu, cho thấy liều cao có thể ức chế sinh trưởng. Khối lượng tươi đạt mức cao nhất (255,18 mg) ở 2,0 mg/l, sau đó giảm nhẹ, chứng minh Kinetin kích thích phát triển chồi nhưng không tạo sinh khối mạnh như BAP.

Với TDZ, ở nồng độ 2,0 mg/l, số lượng chồi đạt 3,55 chồi/mẫu, ngang bằng Kinetin nhưng thấp hơn BAP (4,30 chồi/mẫu). Chiều dài chồi đạt 7,30 cm cho thấy, TDZ có tác động tốt nhưng không vượt trội trong việc kéo dài chồi. Khi

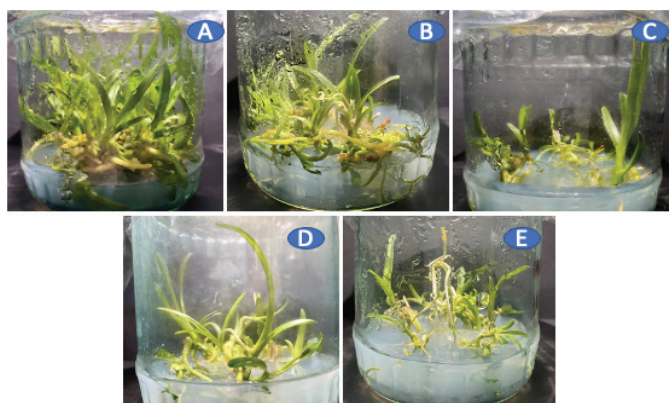
nồng độ tăng lên 3,0-4,0 mg/l, số lượng chồi giảm còn 2,58-2,45 chồi/mẫu, chiều dài chồi cũng giảm nhẹ. Khối lượng tươi cao nhất (256,68 mg) ghi nhận ở 2,0 mg/l, sau đó giảm dần, có thể do TDZ kích thích phân chia tế bào mạnh nhưng hạn chế sự kéo dài chồi khi nồng độ cao.

BAP là một cytokinin mạnh, kích thích sự phát triển của chồi bên và gia tăng hệ số nhân giống. Ở nồng độ 2,0 mg/l, số lượng chồi đạt cao nhất (4,30 chồi/mẫu), vượt trội so với Kinetin (3,55 chồi/mẫu) và TDZ (3,55 chồi/mẫu). Chiều dài chồi cũng đạt tối ưu 7,73 cm, khối lượng tươi cao nhất (323,05 mg), thể hiện khả năng tạo sinh khối mạnh. Tuy nhiên, khi nồng độ BAP tăng lên 3,0-4,0 mg/l, số lượng chồi giảm còn 3,48-2,88 chồi/mẫu, xuất hiện hiện tượng chồi cụm, hạn chế sự phát triển đồng đều.

So sánh với nghiên cứu của P. Mohanty và cs (2012) [5] trên *Cymbidium mastersii* cho thấy, dùng BAP ở 1,5-2,5 mg/l đạt hiệu quả cao nhất. Đồng thời, nghiên cứu của P.P. Thu và cs (2023) [6] trên *Cymbidium wenshanense* cũng khẳng định BAP giúp tăng hệ số nhân chồi đáng kể, trong khi TDZ có thể ức chế kéo dài chồi ở nồng độ cao. Điều này củng cố vai trò của BAP trong nhân giống *in vitro*.

Như vậy, xét trên cả 3 chỉ tiêu số lượng chồi, chiều dài chồi và khối lượng tươi, BAP 2,0 mg/l là lựa chọn phù hợp nhất để nhân nhanh chồi cây lai F1, giúp tăng hiệu suất nhân giống và đảm bảo chất lượng cây con trong quá trình nuôi cấy mô.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi cây lai F1 giữa ♀ Đoàn kiểm lô hội và ♂ Đoàn kiểm filayson được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi cây lai F1 giữa ♀ Đoàn kiểm lô hội và ♂ Đoàn kiểm filayson. (A) Chồi được tái sinh trên môi trường BAP nồng độ 2,0 mg/l; (B) 1,0 mg/l; (C) 3,0 mg/l; (D) 4,0 mg/l; (E) 0,0 mg/l.

3.3. Đánh giá ảnh hưởng của nhóm auxin (IBA, NAA, IAA) đến khả năng ra rễ của cây lai F1

Kết quả phân tích ảnh hưởng của các chất auxin (IBA, NAA, IAA) đến khả năng ra rễ của cây lai F1 được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhóm auxin đến khả năng ra rễ của cây lai F1 sau 10 tuần.

Auxin	Mg/l	Số lượng rễ/ mẫu cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
ĐC	0	2,60 ^b	4,88 ^b	232,32 ^{bc}
IBA	1	2,65 ^b	4,50 ^{bc}	259,15 ^b
	2	3,20 ^a	5,45 ^a	316,02 ^a
	3	2,62 ^b	4,35 ^{bc}	263,60 ^{ab}
	4	2,28 ^b	4,25 ^c	215,75 ^c
CV%		8,83	7,16	9,91
LSD _{0,05}		0,36	0,51	39,30
ĐC	0	2,60 ^c	4,87 ^{bc}	232,32 ^b
NAA	1	3,17 ^{bc}	5,25 ^b	266,67 ^b
	2	4,05 ^a	6,07 ^a	346,87 ^a
	3	3,32 ^b	5,22 ^b	282,15 ^b
	4	3,02 ^{bc}	4,47 ^c	244,72 ^b
CV%		11,22	7,80	11,98
LSD _{0,05}		0,55	0,62	50,71
ĐC	0	2,60 ^{ab}	4,87 ^{ab}	232,32 ^c
IAA	1	2,30 ^{bc}	4,20 ^{bc}	249,77 ^{bc}
	2	2,85 ^a	5,52 ^a	294,77 ^a
	3	2,57 ^{ab}	4,05 ^c	267,17 ^b
	4	2,12 ^c	3,70 ^c	255,42 ^{bc}
CV%		8,22	11,20	5,96
LSD _{0,05}		0,31	0,77	23,86

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).

Kết quả bảng 3 cho thấy, tác động của IBA, NAA và IAA đến khả năng ra rễ của cây lai F1, cụ thể khi bổ sung IBA ở nồng độ 2,0 mg/l giúp rễ phát triển tốt với số lượng rễ đạt 3,20 rễ/mẫu, chiều dài 5,45 cm và khối lượng tươi 316,02 mg. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng lên 3,0-4,0 mg/l, số lượng rễ giảm xuống còn 2,62-2,28 rễ/mẫu cho thấy IBA liều cao có thể gây ức chế sinh trưởng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của E. Epstein và cs (1993) [7], trong đó nhấn mạnh rằng, IBA có vai trò quan trọng trong kích thích rễ nhưng nếu vượt quá mức tối ưu có thể làm mất cân bằng hormone, ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình hình thành rễ.

Trong số 3 loại auxin được thử nghiệm, NAA 2,0 mg/l cho hiệu quả tốt nhất, với 4,05 rễ/mẫu, chiều dài rễ 6,07 cm và khối lượng tươi đạt 346,87 mg, cao nhất trong tất cả các công thức. Khi nồng độ NAA tăng lên 3,0 và 4,0 mg/l, số lượng rễ giảm xuống 3,32 và 3,02 rễ/mẫu, trong khi chiều dài rễ cũng giảm còn 5,22 và 4,47 cm. Như vậy, khi dùng

NAA với nồng độ cao có thể gây mất cân bằng hormone, làm giảm hiệu quả tái sinh rễ, điều này tương tự với nghiên cứu của A.C. Nordström và cs (1991) [8], C.M. Fogaça và cs (2005) [9] trên *Eucalyptus* khi sử dụng NAA nồng độ cao làm gia tăng tổng hợp ethylene nội sinh, dẫn đến ức chế quá trình hình thành rễ phụ.

IAA có tác động yếu hơn so với IBA và NAA. Ở nồng độ 2,0 mg/l, số lượng rễ đạt 2,85 rễ/mẫu, chiều dài rễ 5,52 cm và khối lượng tươi 294,77 mg, thấp hơn so với NAA và IBA. Khi nồng độ IAA tăng lên 3,0 và 4,0 mg/l, số lượng rễ giảm xuống còn 2,57 và 2,12 rễ/mẫu cho thấy hiệu quả tái sinh rễ suy giảm đáng kể. Điều này phù hợp với nghiên cứu của P.J. Davies (2010) [10], trong đó chỉ ra rằng IAA dễ bị phân hủy trong môi trường nuôi cấy, khiến tác dụng kích thích rễ kém ổn định và không đạt hiệu quả cao như IBA hay NAA.

Như vậy, NAA 2,0 mg/l là công thức thích hợp để nhân rễ cây lai F1, nâng cao hiệu suất nhân giống và chất lượng cây con.

3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng phối hợp của auxin với than hoạt tính để tối ưu hóa quá trình ra rễ của cây lai F1

Kết quả thí nghiệm trên đã xác định NAA 2,0 mg/l là công thức thích hợp, giúp tăng số lượng, chiều dài rễ và khối lượng tươi của cây lai F1. Vì vậy, NAA 2,0 mg/l được kết hợp với than hoạt tính để tối ưu hóa quá trình ra rễ.

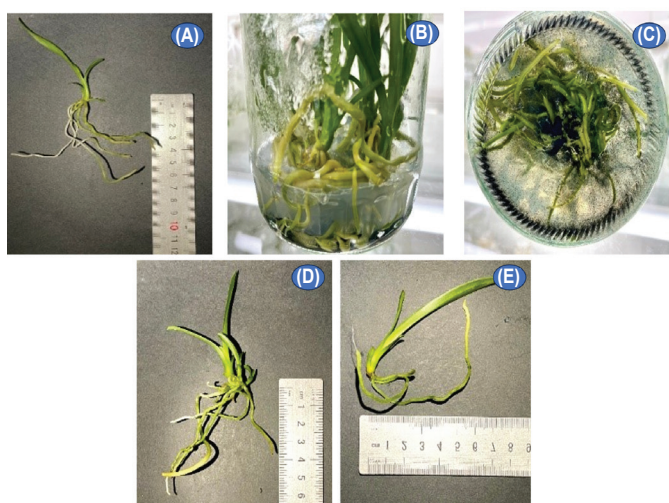
Kết quả khảo sát ảnh hưởng của than hoạt tính (AC) phối hợp với auxin đến khả năng tái sinh rễ cây lai F1 được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng phối hợp của auxin với than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ cây lai F1.

Than hoạt tính (g/l)	Số lượng rễ/mẫu cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng tươi của mẫu (mg)
0,0	4,05 ^{abc}	4,98 ^{bc}	264,52 ^b
1,0	4,40 ^{ab}	5,65 ^b	291,90 ^b
2,0	5,20 ^a	6,35 ^a	355,05 ^a
3,0	3,52 ^{bc}	5,35 ^{bc}	283,42 ^b
4,0	2,92 ^c	4,78 ^c	275,82 ^b
CV%	14,58	7,75	8,07
LSD _{0,05}	0,90	0,64	36,60

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).

Hình 3 trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của auxin kết hợp với than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ của cây lai F1.



Hình 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng phối hợp của auxin với than hoạt tính đến khả năng tái sinh rễ cây lai F1. Rễ lan ở công thức không bổ sung than hoạt tính (A); bổ sung 1,0 g/l than hoạt tính (B); 2,0 g/l than hoạt tính (C); 3,0 g/l than hoạt tính (D); 4,0 g/l than hoạt tính (E).

Than hoạt tính là một thành phần quan trọng trong nuôi cấy mô thực vật, giúp hấp thụ các hợp chất phenolic và chất độc [11], giảm stress oxy hóa và bảo vệ mô nuôi cấy [12]. Đồng thời, than hoạt tính tạo môi trường tối, mô phỏng điều kiện tự nhiên, hỗ trợ hình thành rễ và hạn chế hiện tượng thủy tinh thể [12]. Trong nghiên cứu này, môi trường MS + 2,0 mg/l NAA được bổ sung than hoạt tính ở các nồng độ khác nhau (0,0-4,0 g/l) nhằm đánh giá tác động đến khả năng tái sinh rễ của cây lai F1.

Kết quả bảng 4 và hình 3 cho thấy, 2,0 g/l than hoạt tính là nồng độ thích hợp, giúp cây ra rễ tốt nhất với 5,20 rễ/mẫu, chiều dài rễ 6,35 cm và khối lượng tươi 355,05 mg, vượt trội so với đối chứng (0,0 g/l). Khi tăng lên 3,0-4,0 g/l, số lượng và chiều dài rễ giảm, 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 này phù hợp với nghiên cứu của K.Y. Paek và cs (1991) [13] trên *Cymbidium forrestii*, khẳng định nồng độ than hoạt tính thích hợp giúp tăng hiệu quả ra rễ. Tuy nhiên, sự khác biệt về hệ số nhân rễ có thể do khác biệt về loài. Môi trường MS + 2,0 mg/l NAA + 2,0 g/l than hoạt tính được xác định là công thức thích hợp giúp nâng cao hiệu suất nhân giống và chất lượng cây con.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện phù hợp cho quy trình nhân giống *in vitro* cây lai F1 giữa ♀ *Cymbidium aloifolium* và ♂ *Cymbidium finlaysonianum*. Cụ thể:

- Môi trường MS thể hiện hiệu quả cao nhất trong nảy mầm hạt lai F1, đạt tỷ lệ 90,37% và rút ngắn thời gian hình thành protocorm (7-8 tuần).

- BAP 2,0 mg/l là công thức tốt nhất để nhân nhanh chồi, tạo 4,30 chồi/mẫu với chiều dài 7,73 cm và sinh khối 323,05 mg, vượt trội so với các cytokinin khảo sát.

- NAA 2,0 mg/l kết hợp 2,0 g/l than hoạt tính thúc đẩy ra rễ hiệu quả, đạt 5,20 rễ/mẫu, chiều dài rễ 6,35 cm và khối lượng tươi 355,05 mg, đảm bảo chất lượng cây con.

Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học để hoàn thiện quy trình nhân giống cây lai F1, tạo nguồn vật liệu lai khởi đầu phong phú, làm cơ sở cho quá trình chọn lọc và phát triển các dòng lan lai triển vọng, đặc biệt là những dòng có kiểu hình hoa độc đáo, từ đó góp phần mở rộng tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ từ nguồn kinh phí khoa học và công nghệ của Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2 cho đề tài khoa học, mã số: HPU2.2023-UT-12. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Arditti (2008), *Micropropagation of Orchids*, Blackwell Publishing, DOI: 10.1002/9781119187080.
- [2] S. Alghamdi (2017), "Influence of mycorrhizal fungi on seed germination and growth in terrestrial and epiphytic orchids", *Saudi Journal of Biological Sciences*, **26**, DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.10.021.
- [3] H. Jacquemyn, V. Merckx (2019), "Mycorrhizal symbioses and the evolution of trophic modes in plants", *Journal of Ecology*, **107**, DOI: 10.1111/1365-2745.13165.
- [4] Y.Y. Li, M. Boeraeve, Y.H. Cho, et al. (2021), "Mycorrhizal switching and the role of fungal abundance in seed germination in a fully mycoheterotrophic orchid, *Gastrodia confusoides*", *Front. Plant Sci.*, **12**, DOI: 10.3389/fpls.2021.775290.
- [5] 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*, **2012**, DOI: 10.1093/aobpla/pls023.
- [6] P.P. Thu, N.T. Tinh, T.N. Hung, 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.
- [7] E. Epstein, J.L. Müller (1993), "Indole-3-butyric acid in plants: Occurrence, synthesis, metabolism and transport", *Physiologia Plantarum*, **88(2)**, pp.382-389, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1993.tb05513.x.
- [8] A.C. Nordström, F.A. Jacobs, L. Eliasson (1991), "Effect of exogenous indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid on internal levels of the respective auxins and their conjugation with aspartic acid during adventitious root formation in pea cuttings", *Plant Physiol.*, **96(3)**, pp.856-861, DOI: 10.1104/pp.96.3.856.
- [9] C.M. Fogaça, F. Neto, A.G. Role (2005), "Role of auxin and its modulators in the adventitious rooting of Eucalyptus species differing in recalcitrance", *Plant Growth Regulation*, **45(1)**, pp.1-10, DOI: 10.1007/s10725-004-6547-7.
- [10] P.J. Davies (2010), *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*, Springer, 3rd Edition, DOI: 10.1007/978-1-4020-2686-7.
- [11] M.J. Pan, J.V. Staden (1998), "The use of charcoal in *in vitro* culture - A review", *Plant Growth Regulation*, **26(3)**, pp.155-163, DOI: 10.1023/A:1006119015972.
- [12] T.D. Thomas (2008), "The role of activated charcoal in plant tissue culture", *Biotechnology Advances*, **26(6)**, pp.618-631, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.08.003.
- [13] 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.