

## NHÂN NHANH PROTOCORM VÀ CHỒI HOA HOÀNG LAN, HỒ ĐIỆP, ĐỊA LAN VÀ NGỌC ĐIỂM BẰNG CÔNG NGHỆ BIOREACTOR BÁN CHÌM NỔI

MAI THỊ PHƯƠNG HOA, BÙI THỊ TƯỜNG THU, TRẦN VĂN MINH

*Viện Sinh học nhiệt đới*

Vi nhân giống truyền thống [7] trên loài hoa lan hiện dẫn đến một vấn đề mà các phòng thí nghiệm vi nhân giống thường gặp phải đó là cây cấy mô thường sinh trưởng chậm, tổn rất nhiều chi phí lao động, mất nhiều thời gian để sản xuất cây con với khối lượng lớn khi đưa ra thị trường với giá thành cây con cao [6]. Hệ thống nhân giống bằng phôi vô tính [4] giải quyết được rào cản nêu trên với các lợi thế: nhân nhanh dưới dạng tế bào, phôi vô tính, thể giả phôi (protocorm like body) là những thể biệt hóa có hệ số tái sinh cao, tổn ít chi phí lao động và cải thiện giá thành [1]. Kỹ thuật bioreactor đã được nghiên cứu và vận dụng vào vi nhân giống nhằm mục tiêu giảm giá thành sản phẩm cây cấy mô [9]. Bioreactor là một kỹ thuật nuôi cấy trên đối tượng tế bào phôi soma nhằm mục tiêu nhân nhanh bằng phương thức tăng nhanh sinh khối thể nhân giống [8]. Vật liệu nuôi cấy trong vi nhân giống bằng công nghệ bioreactor như tế bào mô sẹo phôi hóa, tế bào phôi vô tính, protocorm, cụm chồi [8]. Và cũng có nhiều kiểu bioreactor dùng cho vi nhân giống như bioreactor sục khí hình trụ (airlift bubble column-bioreactor), bioreactor sục khí hình cầu (airlift bubble balloon-bioreactor), bioreactor cánh quạt (stirred tank-bioreactor), bioreactor bán chìm nổi (contemporary bioreactor) [8]. Mỗi loại bioreactor có tính năng khác nhau, phụ thuộc vào tính chất sinh lý của thực vật nuôi cấy, nhằm mục tiêu tăng sinh khối nhanh và tăng cường khả năng sinh trưởng [10]. Đã có những thành công nhất định trong việc ứng dụng bioreactor trong nhân nhanh cây hoa lan [2], *Dendrobium* [3], *Cymbidium* [5]. Bài báo này nghiên cứu thời gian nuôi cấy ngập cách quãng trong nuôi cấy bán chìm nổi.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Nguyên liệu

Giống hoa lan: hoàng lan (*Dendrobium* sp., Singapore), hồ điệp (*Phalaenopsis* sp. Giant White, Nhật), địa lan (*Cymbidium* sp. - đồng lai có hương thơm, Úc), ngọc điểm (*Rhynchostylis* sp. - hoa rừng Việt Nam, hoa màu đỏ).

#### 2. Phương pháp

Môi trường nuôi cấy do công ty Duchefa (Singapore) cung cấp: MS (M.0244), Orchimax (O.0257), Vacine-Went (V.0226), Knudson-C (K.0215) và Lindemann (L.0216) có bổ sung BA (benzyl aminopurin), IBA ( $\beta$ -indolbutyric acid), NAA ( $\alpha$ -naphthalenacetic acid), nước dừa CW (10%).

Điều kiện nuôi cấy: nhiệt độ phòng  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , RH = 65%, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 11,1-33,3  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ .

Bố trí thí nghiệm: (i). bình tam giác: được bố trí 3 lần lặp lại, mỗi lần nuôi cấy 3 bình tam giác, mỗi bình tam giác nuôi cấy 8-12 mẫu; (ii). bioreactor bán chìm nổi: được bố trí 1 lần lặp lại, 1 bình nuôi cấy cho mỗi lần lặp lại, nuôi cấy 60-100 mẫu cho 1 bình nuôi cấy (1 lít). Số liệu được xử lý ANOVA bằng phần mềm MSTATC (p 0,05).

#### 3. Thiết kế thí nghiệm

a. Ảnh hưởng của môi trường khoáng đến nhân nhanh protocorm trên agar

Sử dụng 5 môi trường dinh dưỡng khoáng do công ty Duchefa cung cấp. Trên môi trường nuôi cấy có bổ sung BA (0,5 mg/l) + IBA (0,1 mg/l) + CW (10%). Mẫu nuôi cấy là protocorm (3-4 PLB/cụm). Chỉ tiêu theo dõi: số protocorm và số chồi hình thành. Thời gian nuôi cấy 45 ngày.

b. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quãng đến nhân protocorm và phát triển chồi hoàng lan

Sử dụng môi trường dinh dưỡng khoáng MS (M.0244). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm có bổ sung BA (0,2 mg/l) + IBA (0,1 mg/l) + nước dừa (5%); mẫu nuôi cấy là protocorm (3-4 PLB/cụm). Trên môi trường nuôi cấy sinh trưởng có bổ sung BA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là chồi đơn 7-10 mm. Chỉ tiêu theo dõi: số protocorm và số chồi hình thành, chiều dài lá (mm). Thời gian nuôi cấy 45 ngày.

c. *Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi hồ điệp*

Sử dụng môi trường dinh dưỡng khoáng Vacine-Went (V.0226). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm có bổ sung BA (0,1 mg/l) + NAA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là protocorm (3-4 PLB/cụm). Trên môi trường nuôi cấy sinh trưởng có bổ sung BA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là chồi đơn 7-10 mm. Chỉ tiêu theo dõi: số protocorm và số chồi hình thành, chiều dài lá (mm). Thời gian nuôi cấy 45 ngày.

d. *Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi địa lan*

Sử dụng môi trường dinh dưỡng khoáng Orchimax (O.0257). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm có bổ sung BA (0,5 mg/l) + IBA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là protocorm (3-4 PLB/cụm). Trên môi trường nuôi cấy sinh trưởng có bổ sung BA (0,1 mg/l) + nước dừa (5%); mẫu nuôi cấy là chồi đơn 7-10 mm. Chỉ tiêu theo dõi: số protocorm và số chồi hình thành, chiều dài lá (mm). Thời gian nuôi cấy 45 ngày.

e. *Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi ngọc điểm*

Sử dụng môi trường dinh dưỡng khoáng Orchimax (O.0257). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm có bổ sung BA (0,5 mg/l) + NAA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là protocorm (3-4 PLB/cụm). Trên môi trường nuôi cấy sinh trưởng có bổ sung BA (0,1 mg/l) + nước dừa (10%); mẫu nuôi cấy là chồi đơn 7-10 mm. Chỉ tiêu theo dõi: số protocorm

và số chồi hình thành, chiều dài lá (mm). Thời gian nuôi cấy 45 ngày.

f. *Ảnh hưởng của PPM đến quá trình chống nhiễm (hoàng lan)*

Sử dụng môi trường MS (M.0244), có bổ sung BA (0,1 mg/l) + IBA (0,1 mg/l) + CW (10%). Mẫu nuôi cấy là cụm chồi hoàng lan nhỏ (3-4 chồi/cụm, chiều cao cụm chồi 5-10 mm). Nuôi cấy 60-100 mẫu/bình BCN. Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ mẫu chết, số chồi và chiều cao cụm chồi. Thời gian nuôi cấy 30 ngày.

## II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng khoáng trong nhân nhanh protocorm trên môi trường agar

Kết quả nghiên cứu (bảng 1) cho thấy, môi trường khoáng thích hợp cho nhân protocorm hoàng lan là MS (M.0244), hồ điệp là Vacine-Went (V.0226), địa lan là Orchimax (O.0257) và ngọc điểm là Lindemann (L.0216). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm hồ điệp và địa lan cho số lượng protocorm tăng (6,8 và 8,2 PLB/cụm) và số chồi tái sinh (2,6 và 2,4 chồi/cụm). Ngược lại, hoàng lan và ngọc điểm có khuynh hướng đi vào tái sinh chồi (2,6 và 2,4 chồi/cụm).

### 2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi hoàng lan

Kết quả nghiên cứu cho thấy (bảng 2), nhịp điệu nổi 4 giờ và ngập chìm 1 phút thích hợp cho nuôi cấy nhân protocorm và tái sinh chồi. So với đối chứng, khả năng phát sinh protocorm trên môi trường agar tốt hơn nuôi cấy bán chìm nổi (2,4 PLB/cụm so với 1,8 nuôi cấy bán chìm nổi) và ngược lại khả năng tái sinh chồi nuôi cấy trong bán chìm nổi tốt hơn so với nuôi cấy trên agar (6,6 chồi tái sinh so với 4,6 nuôi cấy trên agar). Chồi đơn sinh trưởng mạnh trong môi trường nuôi cấy bán chìm nổi đạt chiều dài lá 45 mm so với 40 mm nuôi cấy trên agar. Hoa hoàng lan thích hợp cho nhân chồi (6,6 chồi/mẫu) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 45 mm) trong bioreactor bán chìm nổi.

Bảng 1

**Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng khoáng  
đến nhân nhanh protocorm trên môi trường agar**

Môi trường khoáng	Mã số	Hoàng lan		Hồ điệp		Địa lan		Ngọc điểm	
		PLB	Chồi	PLB	Chồi	PLB	Chồi	PLB	Chồi
MS	M.0244	<b>2,2a</b>	<b>5,6a</b>	5,6b	2,2b	7,2b	1,8b	1,8b	2,2a
Vaccine-Went	V.0226	1,2c	2,4d	<b>6,8a</b>	<b>2,6a</b>	6,4b	2,2a	2,2a	1,8b
Orchimax	O.0257	1,6b	4,8b	4,8b	2,6a	<b>8,2a</b>	<b>2,4a</b>	2,0a	2,1b
Knudson-C	K.0215	1,2c	2,2d	3,2c	1,8b	6,8b	2,0b	1,8b	2,0b
Lindemann	L.0216	1,4b	3,4c	6,2a	2,6a	6,6b	1,8b	<b>2,4a</b>	<b>2,4a</b>

Bảng 2

**Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quãng  
đến nhân protocorm và phát triển chồi hoàng lan**

Nhịp điệu		Protocorm		Chồi đơn
Nổi (giờ)	Chìm (phút)	PLB	Số chồi	Chiều dài lá (mm)
1	1	1,0c	4,2c	22c
1	2	0,8c	4,0c	20c
2	1	1,2c	4,6c	24c
2	2	1,0	4,4c	22c
3	1	1,6b	5,8b	36a
3	2	1,4b	5,6b	34a
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1,8b</b>	<b>6,6a</b>	<b>45a</b>
4	2	1,4b	6,2a	42a
5	1	1,4b	5,2b	38a
5	2	1,2c	4,8c	36a
6	1	0,8c	4,0c	28c
6	2	0,6c	3,6d	24c
Đối chứng (agar)		2,4a	4,6c	40a

**3. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quãng đến nhân protocorm và phát triển chồi hoa lan hồ điệp**

Kết quả nghiên cứu cho thấy (bảng 3), nhịp điệu nổi 4 giờ và ngập chìm 1 phút thích hợp cho nuôi cấy nhân protocorm và tái sinh chồi. So với đối chứng, khả năng phát sinh protocorm trên môi trường agar tốt hơn nuôi cấy bán chìm nổi (5,8 PLB/cụm so với 5,6 nuôi cấy bán chìm nổi) và ngược lại khả năng tái sinh chồi nuôi cấy trong bán chìm nổi tốt hơn so với nuôi cấy trên agar (2,8 chồi tái sinh so với 2,2 nuôi cấy trên agar). Chồi đơn sinh trưởng mạnh trong môi trường nuôi cấy bán chìm nổi đạt chiều dài lá 38 mm so với 32 mm nuôi cấy trên agar. Hoa lan hồ điệp tỏ ra thích hợp cho nhân PLB (5,8 chồi/cụm) và nhân chồi (2,8 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 38 mm) trong bioreactor bán chìm nổi.

**4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quãng đến nhân protocorm và phát triển chồi hoa địa lan**

Kết quả nghiên cứu cho thấy (bảng 4), nhịp điệu nổi 4 giờ và ngập chìm 1 phút thích hợp cho nuôi cấy nhân protocorm và tái sinh chồi. So với đối chứng, khả năng phát sinh protocorm trên môi trường agar tốt hơn nuôi cấy bán chìm nổi (7,2 PLB/cụm so với 6,8 nuôi cấy bán chìm nổi) và ngược lại khả năng tái sinh chồi nuôi cấy trong bán chìm nổi tốt hơn so với nuôi cấy trên agar (3,2 chồi tái sinh so với 2,6 nuôi cấy trên agar). Chồi đơn sinh trưởng mạnh trong môi trường nuôi cấy bán chìm nổi đạt chiều dài lá 48 mm so với 42 mm nuôi cấy trên agar. Hoa địa lan tỏ ra thích hợp cho nhân PLB (6,8 chồi/cụm) và nhân chồi (3,2 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 48 mm) trong bioreactor bán chìm nổi.

Bảng 3

**Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi hồ điệp**

Nhịp điệu		Protocorm		Chồi đơn
Nổi (giờ)	Chìm (phút)	PLB	Số chồi	chiều dài lá (mm)
1	1	4,0b	1,6b	20c
1	2	3,8c	1,0c	18c
2	1	4,6b	1,8b	24b
2	2	4,2b	1,4b	20b
3	1	5,2a	2,4a	30a
3	2	4,8b	2,0b	26b
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5,6a</b>	<b>2,8a</b>	<b>38a</b>
4	2	5,2a	2,4a	32a
5	1	5,4a	2,6a	32a
5	2	4,6b	2,2a	28b
6	1	4,2b	1,8b	26b
6	2	2,8d	1,4b	22b
Đối chứng (agar)		5,8a	2,2a	32a

Bảng 4

**Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi địa lan**

Nhịp điệu		Protocorm		Chồi đơn
Nổi (giờ)	Chìm (phút)	PLB	Số chồi	Chiều dài lá (mm)
1	1	3,2d	1,8b	32b
1	2	2,8e	1,2c	28c
2	1	4,8c	2,2b	36b
2	2	4,2c	1,8c	32b
3	1	5,2b	2,8a	40a
3	2	4,6c	2,6a	36b
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>6,8a</b>	<b>3,2a</b>	<b>48a</b>
4	2	6,2a	2,8a	42a
5	1	5,6b	2,6a	42a
5	2	5,0b	2,2b	38b
6	1	4,4c	2,2b	38b
6	2	3,8d	2,0b	34b
Đối chứng (agar)		7,2a	2,6a	42a

**5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi hoa lan ngọc điểm**

Kết quả nghiên cứu cho thấy (bảng 5), nhịp điệu nổi 4 giờ và ngập chìm 1 phút thích hợp cho nuôi cấy nhân protocorm và tái sinh chồi. So với đối chứng, khả năng phát sinh protocorm trên môi trường agar tốt hơn nuôi cấy bán chìm nổi (2,2 PLB/cụm so với 2,0 nuôi cấy bán chìm

nổi) và ngược lại khả năng tái sinh chồi nuôi cấy trong bán chìm nổi tốt hơn so với nuôi cấy trên agar (2,6 chồi tái sinh so với 2,2 nuôi cấy trên agar). Chồi đơn sinh trưởng mạnh trong môi trường nuôi cấy bán chìm nổi đạt chiều dài lá 24 mm so với 20 mm nuôi cấy trên agar. Hoa lan ngọc điểm tỏ ra thích hợp cho nhân PLB (2,2 chồi/cụm) và nhân chồi (2,6 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 24 mm) trong bioreactor bán chìm nổi.

**Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy ngập cách quang đến nhân protocorm và phát triển chồi ngọc điểm**

Nhịp điệu		Protocorm		Chồi đơn
Nổi (giờ)	Chìm (phút)	PLB	Số chồi	Chiều dài lá (mm)
1	1	1,4b	1,6b	15b
1	2	1,0c	1,4b	14b
2	1	1,4b	1,8b	16b
2	2	1,2c	1,6b	16b
3	1	1,8a	2,2a	18b
3	2	1,6b	2,0c	16b
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>2,2a</b>	<b>2,6a</b>	<b>24a</b>
4	2	1,8a	2,2a	20a
5	1	1,8a	2,4a	20a
5	2	1,4b	2,0b	18b
6	1	1,6b	1,8b	16b
6	2	1,0c	1,6c	14b
Đối chứng (agar)		2,0a	2,2a	20a

**Ảnh hưởng của PPM đến quá trình chống nhiễm (hoàng lan)**

PPM (o/oo)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ chết (%)	Số chồi	Chiều cao chồi (mm)
0	18	25c	6,8a	36a
1	8	18c	6,4a	34a
<b>2</b>	<b>0</b>	<b>00</b>	<b>6,2a</b>	<b>38a</b>
3	0	14c	5,8b	32a
4	0	36b	5,6b	28b
5	0	42a	4,2c	26b

### 6. Ảnh hưởng của PPM đến quá trình chống nhiễm (hoàng lan)

PPM là chất chống nhiễm nấm và khuẩn được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy lỏng (trên máy lắc hay trong bioreactor). Kết quả nghiên cứu trên quy mô nhỏ cho thấy, PPM ở nồng độ 0-1‰ có tỷ lệ nhiễm trong nuôi cấy cao (25 - 18%), số chồi phát sinh nhiều (6,8 - 6,4 chồi/cụm) và sinh trưởng chồi (36 - 34 mm). Nồng độ sử dụng 3 - 4 - 5‰ ảnh hưởng đến tỷ lệ chết cao (14 - 36 - 42%), khả năng phát sinh chồi (5,8 - 5,6 - 4,2 chồi/cụm) và chiều cao chồi (32 - 28 - 26mm). Nồng độ thích hợp cho chống nhiễm là 2‰ PPM, không ảnh hưởng đến sự chết chồi, số chồi phát sinh cao (6,2 chồi/cụm) và chồi sinh trưởng tốt (chiều dài lá 38 mm).

### III. KẾT LUẬN

Môi trường khoáng thích hợp cho nhân protocorm hoàng lan là MS (M.0244), hồ điệp là

Vaccine-Went (V.0226), địa lan là Orchimax (O.0257) và ngọc điểm là Lindemann (L.0216). Trên môi trường nuôi cấy nhân protocorm hồ điệp và địa lan cho số lượng protocorm tăng (6,8 và 8,2 PLB/cụm) và số chồi tái sinh (2,6 và 2,4 chồi/cụm). Ngược lại, hoàng lan và ngọc điểm có khuynh hướng đi vào tái sinh chồi (2,6 và 2,4 chồi/cụm).

Nhịp điệu nổi 4 giờ và ngập chìm 1 phút thích hợp cho nuôi cấy nhân protocorm, tái sinh chồi và sinh trưởng chồi trong bioreactor bán chìm nổi. Hoa hoàng lan tỏ ra thích hợp cho nhân chồi (6,6 chồi/mẫu) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 45 mm). Hoa lan hồ điệp tỏ ra thích hợp cho nhân PLB (5,8 chồi/cụm) và nhân chồi (2,8 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 38 mm). Hoa địa lan tỏ ra thích hợp cho nhân PLB (6,8 chồi/cụm) và nhân chồi (3,2 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 48 mm). Hoa lan ngọc điểm tỏ ra thích hợp cho

nhân PLB (2,2 chồi/cụm) và nhân chồi (2,6 chồi/cụm) và sinh trưởng nhanh (chiều dài lá 24 mm).

Nồng độ thích hợp cho chống nhiễm là 2‰ PPM, không ảnh hưởng đến sự chết chồi, số chồi phát sinh cao (6,2 chồi/cụm) và chồi sinh trưởng tốt (chiều dài lá 38 mm).

Đã nghiên cứu nhân nhanh hoa hoàng lan, hoa lan hồ điệp, hoa địa lan và hoa lan ngọc điểm bằng kỹ thuật nuôi cấy trong bioreactor bán chìm nổi.

**Lời cảm ơn:** Chân thành cảm ơn Văn phòng Các chương trình trọng điểm cấp nhà nước và Chương trình Công nghệ sinh học KC04 đã cấp kinh phí thực hiện đề tài KC04.15/06-10 “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ lớp mỏng tế bào, công nghệ phối vô tính và bioreactor phục vụ nhân nhanh một số giống cây trồng có giá trị ở quy mô công nghiệp”.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Aitken-Christie J., Kozai T., Smith MAL,** 1994: Automation and environmental control in plant tissue culture. Kluwer.
2. **Chu C. Y., Tsai W. T.,** 2006: US Patent 7073289: Process for producing orchid seedlings by static liquid culture, <http://www.patentstorm.us/patents/7073289-fulltext.html>.
3. **Chung H. H., Chen J. T., Chang W. C.,** 2005: Cytokinin induce direct somatic embryogenesis of *Dendrobium chiengmai* Pink and subsequent plant regeneration. In *Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 41: 765-769.
4. **Evans D. A., Sharp W. R., Flick C. E.,** 1981: Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis. In: Thorpe TA (ed.): *Plant Tissue Culture. Methods and Applications in Agriculture:* 45-114. Academic Press.
5. **Jaime A., Teixeira da Silva, Singh N., Tanaka M.,** 2006: Priming biotic factors for optimal PLB and callus induction in hybrid *Cymbidium*, and assessment of cytogenetic stability in regenerated plants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 84: 135-144.
6. **Mamood M.,** 1993: Application of plant in vitro technology. *Proceeding*, 16-18, Univ. of Malaysia, Malaysia.
7. **Morel G.,** 1974: Clonal multiplication of orchids. In: Withers CL (ed): *The orchid: scientific studies:* 169-172. Wiley.
8. **Paek K. Y., Hahn E. J., Son S. H.,** 2001: Application of bioreactors for large-scale micropropagation systems of plants. *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 37: 149-157.
9. **Shakti M., Goel M. K., Kukreja A. K., Mishra B. N.,** 2007: Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization. *African J. Biotechnology*, 13: 1484-1492.
10. **Son S. H., Choi S. M., Yun S. R., Kwon U. W., Lee Y. H., Paek K. Y.,** 1999: Large scale culture of plant cell and tissue by bioreactor system. *J. Plant Biotech.*, 1: 1-7.

## INDUSTRIAL PROPAGATION OF *DENDROBIUM* SP., *PHALAENOPSIS* SP., *CYMBIDIUM* SP. AND *RHYNCHOSTYLIS* SP. BY IMMERSION BIOREACTOR TECHNIQUE

MAI THI PHUONG HOA, BUI THI TUONG THU, TRAN VAN MINH

### SUMMARY

Protocorm like bodies (PLB) were used as planting materials. The basic favored agar-medium for PLB micropropagation plantlet growth to *Dendrobium* sp. was MS (M.0244), same as Vacine-Went (V.0226) to *Phalaenopsis* sp., Orchimax (O.0257) to *Cymbidium* sp. and Lindemann (L.0216) to *Rhynchostylis* sp. On the media for micropropagation of *phalaenopsis* and *cymbidium* enhance protocorm initiation (6.8 and 8.2

PLB/cluster) and shoot regeneration (2.6 and 2.4 shoots/cluster). In reverse, *Dendrobium* sp. and *Rhynchostylis* sp. were forwarded to shoot regeneration (2.6 and 2.4 shoots/cluster).

The rhythm for immersion bioreactor cultures was sinking and floating in 1 minute/4 hours to proliferate, regenerate and grow of PLB and plantlets. *Dendrobium* sp. was favored to micropropagation of shoots (6.6 shoots/cluster) and plant growth (45 mm length of leaves). *Phalaenopsis* sp. was favored for micropropagation of protocorm (5.8 PLB/cluster), shoots (2.8 shoots/cluster) and plant growth (38 mm length of leaves). The same as to *Cymbidium* sp. and *Rhynchostylis* sp. in micropropagation of protocorm (6.8 and 2.2 PLB/cluster), shoots (3.2 and 2.6 shoots/cluster) and plant growth (48 and 24 mm length of leaves).

It's supplemented with 2‰ PPM to media culture to limit the PLB and shoots decayed by infected of microbes, enhanced shoots initiation (6.2 shoots/cluster) and favored to plant growth (38 mm length of leaves).

Micropropagation of *Dendrobium* sp., *Phalaenopsis* sp., *Cymbidium* sp. and *Rhynchostylis* sp., by immersion bioreactor technique was established up.

*Ngày nhận bài: 2-8-2010*