

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NANO BẠC TRONG NHÂN GIỐNG IN VITRO LAN HỒ ĐIỆP VÀNG (*Phalaenopsis sp.*)

Đồng Huy Giới¹, Bùi Thị Thu Hương²

^{1,2}Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, nano bạc (NS) được sử dụng làm chất khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng, đồng thời NS được bổ sung vào môi trường nuôi cấy *in vitro*. Kết quả đã xác định được: (i) Nồng độ dung dịch nano bạc thích hợp nhất cho việc khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng là 125 ppm, thời gian xử lý 45 phút, tỉ lệ mẫu sống sạch thu được là 72,13%; (ii) 27,56% mẫu lan *in vitro* lan Hồ điệp vàng tạo PLB (protocorm-like body) trong môi trường có bổ sung 4 ppm NS; (iii) Bổ sung 4 ppm NS vào môi trường tạo chồi lan Hồ điệp vàng từ PLB cho hiệu quả tạo chồi tốt nhất với tỉ lệ tạo chồi đạt 92,53%, hệ số nhân chồi là 2,97 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 0,87 cm; (iv) Môi trường có bổ sung 2 - 4 ppm NS là thích hợp nhất để nhân nhân chồi lan Hồ điệp vàng từ chồi *in vitro* với tỉ lệ mẫu tạo chồi đạt từ 60,00 - 63,33%, hệ số nhân chồi đạt từ 2,33 - 2,37 lần.

Từ khóa: Lan Hồ điệp, nano bạc, phát hoa, PLB.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan Hồ điệp (*Phalaenopsis sp.*) là một trong những giống hoa lan rất được yêu thích trên thế giới (Griesbach, R. J., 2002). Với màu sắc đa dạng, kiêu dáng sang trọng và tao nhã đã làm cho nhu cầu chơi lan Hồ điệp ngày càng lớn và trở thành cây trồng đem lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, lan Hồ điệp là loài sinh trưởng chậm và rất khó nhân giống, thường cho hệ số nhân giống thấp trong điều kiện vườn ươm và môi trường tự nhiên.

Biện pháp nhân giống lan Hồ điệp phổ biến hiện nay là nuôi cấy *in vitro* từ mầm ngủ phát hoa, phương pháp này có ưu điểm là không làm tổn thương cây mẹ, so với việc nhân giống từ đinh sinh trưởng. Hơn nữa, việc nhân giống *in vitro* từ mầm ngủ phát hoa có thể tạo ra cây con sạch bệnh và đồng nhất về di truyền, điều mà phương pháp gieo hạt truyền thống không thể đạt được (Nguyễn Thị Pha và cộng sự, 2011). Tuy nhiên, tình hình sản xuất cây giống lan Hồ điệp ở nước ta hiện nay vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu ngày càng tăng của thị trường. Nguyên nhân là do các phòng nuôi cấy mô thường chủ yếu tập trung vào việc lưu giữ nguồn giống lan mà không sản xuất cây giống đại trà, vì thế hầu hết các cơ sở sản xuất hoa lan trong nước đều nhập cây con từ một số nước như Đài Loan, Trung Quốc, Thái Lan. Bên cạnh đó, một vấn đề luôn gặp phải trong

quá trình nuôi cấy mô là sự nhiễm nấm và vi khuẩn của mẫu cấy, gây ảnh hưởng lớn tới hiệu quả nuôi cấy và chất lượng cây con, việc sử dụng các hóa chất khử trùng như $HgCl_2$, $Ca(ClO)_2$ gây ô nhiễm môi trường, gây độc hại cho người và các sinh vật khác (Kharrazi và cộng sự, 2011).

Hiện nay, công nghệ nano là một lĩnh vực mới nhưng mang lại nhiều hứa hẹn với những ứng dụng to lớn trong rất nhiều lĩnh vực khác nhau. Chế phẩm nano cũng được sử dụng có hiệu quả trong khử trùng mẫu nuôi cấy mô tế bào thực vật, bên cạnh đó nano bạc còn có tác dụng tích cực tới sự phát sinh hình thái của cây *in vitro* (Rostami A.A. và Shahsavar A., 2009; Shokri và cộng sự, 2015; Đồng Huy Giới và Ngô Thị Ánh, 2017). Chính vì vậy, nghiên cứu này nhằm bước đầu sử dụng nano bạc để nâng hiệu quả trong nuôi cấy mô lan Hồ điệp.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất

Mẫu giống lan Hồ điệp vàng nhập khẩu từ Đài Loan; dung dịch nano bạc với kích thước hạt dao động 15 - 20 nm được điều chế tại Bộ môn Sinh học, khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp khử trùng mẫu

Phát hoa lan Hồ điệp vàng sau khi thu sẽ được rửa dưới vòi nước, sau đó cắt thành từng

đoạn có chứa mắt ngủ. Rửa lại mẫu bằng nước cất rồi đưa mẫu vào trong box cây vô trùng, tiến hành lắc mẫu trong cồn 70° trong 1 phút, sau đó lắc mẫu với dung dịch nano bạc với các nồng độ khác nhau (75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm) trong thời gian 45 phút hoặc NaOCl 5% trong 15 phút (đối chứng). Rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng (2 - 3 lần), thấm khô mẫu bằng giấy thấm vô trùng và cấy vào môi trường MS + 2 mg/l BA + 6 g/l agar. Sau 2 tuần nuôi cây, theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ mẫu sống và tỉ lệ mẫu sống sạch.

Sử dụng nồng độ nano bạc đạt hiệu quả khử trùng tốt nhất để đánh giá ảnh hưởng của thời gian xử lý đến khả năng khử trùng mẫu.

2.2.2. Phương pháp bổ sung dung dịch nano bạc vào môi trường nuôi cây

Tạo PLB từ mẫu lá *in vitro*: Mẫu lá *in vitro* lan Hồ điệp vàng được nuôi cây trên môi trường MS + 10% nước dừa + 2,0 mg/l BA + 6 g/l agar (Nguyễn Thị Sơn và cộng sự, 2014) có bổ sung nano bạc với nồng độ từ 2 đến 8 ppm. Tiến hành theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ mẫu không bị nhiễm, tỉ lệ mẫu tạo PLB sau 6 tuần nuôi cây.

Tạo chồi từ PLB: Các PLB được nuôi cây trên môi trường MS + 10% nước dừa + 0,5 mg/l BA + 0,5 mg/l α-NAA + 6 g/l agar (Nguyễn Thị Sơn và cộng sự, 2014) có bổ sung nano bạc với nồng độ từ 2 đến 8 ppm. Đánh giá khả năng tạo chồi từ PLB sau 6 tuần nuôi cây.

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng của các nồng độ nano bạc khác nhau

Công thức	Nồng độ NS (ppm)	Tỉ lệ mẫu sống (%)	Tỉ lệ mẫu sống sạch (%)
CT1	NaOCl 5%	64,44 ^b	56,11 ^a
CT2	75	71,53 ^{cd}	60,56 ^b
CT3	100	72,22 ^c	66,67 ^c
CT4	125	74,44 ^d	72,22 ^d
CT5	150	61,11 ^a	60,13 ^b
<i>LSD_{0.05}</i>		3,13	3,84
<i>CV%</i>		2,40	3,10

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Từ kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, tất cả các công thức sử dụng nano bạc đều có tỉ lệ mẫu sống sạch lớn hơn so với công thức đối chứng (sử dụng NaOCl 5%). Trong các công

Nhân nhanh chồi từ chồi *in vitro*: Các chồi *in vitro* được nuôi cây trên môi trường MS + 10% nước dừa + 3 mg/l BA (Nguyễn Thị Sơn và cộng sự, 2014) có bổ sung nano bạc với nồng độ từ 2 đến 8 ppm. Sau 6 tuần nuôi cây, theo dõi các chỉ tiêu như tỉ lệ mẫu tạo chồi, bệ số nhân chồi, số lá/chồi, chiều cao chồi.

2.2.3. Phương pháp bố trí và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 20 mẫu/công thức; các môi trường nuôi cây được điều chỉnh giá trị pH từ 5,7 - 5,8 và hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1 atm trong 20 phút; các thí nghiệm được nuôi cây trong điều kiện ánh sáng 2000 lux, nhiệt độ 26°C ± 2, thời gian chiếu sáng 16/24h.

Số liệu thu được trong các thí nghiệm được xử lý bằng chương trình Excel 2010 và phần mềm thống kê IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THÁO LUẬN

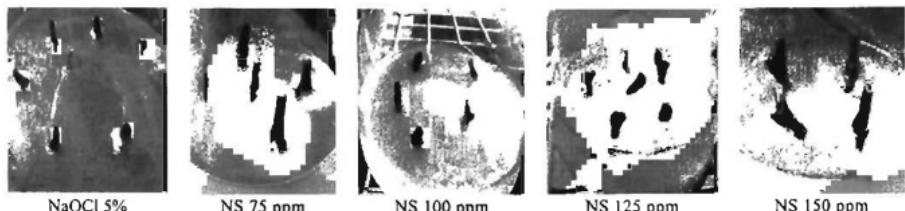
3.1. Đánh giá khả năng khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp của dung dịch nano bạc

Theo kết quả nghiên cứu của Nasser Mahna et al. (2013) khi sử dụng nano bạc để khử trùng mẫu lá khoai tây, nồng độ 100 ppm nano bạc cho tỉ lệ mẫu sống, sạch bệnh là 100%. Vì vậy, trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng 4 nồng độ nano bạc là 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm và 150 ppm để khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng. Kết quả sau 2 tuần nuôi cây được thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

thức sử dụng nano bạc, công thức xử lý 125 ppm cho tỉ lệ mẫu sống và tỉ lệ mẫu sống sạch đạt cao nhất (tương ứng là 74,44% và 72,22%), cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các công

thức còn lại; công thức có tì lệ mẫu sống và mẫu sống sạch thấp nhất là công thức 150 ppm (tương ứng là 61,11% và 60,13%). Sơ đồ có kết quả này là do khi nồng độ nano bạc quá cao đã ảnh hưởng tới khả năng tái sinh của mẫu nuôi cấy, kết quả này của chúng tôi phù hợp với công bố của Rostami A. A. và Shahsavari (2009) khi sử dụng nano bạc để khử trùng mẫu cành cây Ô liu. Bên cạnh đó, Nguyễn Quỳnh

Trang và cộng sự (2013) đã sử dụng $HgCl_2$ 0,1% và NaOCl 5% để khử trùng mẫu lan Hồ điệp tim, kết quả thu được tì lệ mẫu sống sạch cao nhất là 60% khi sử dụng NaOCl 5% trong thời gian 15 phút. Từ những kết quả nghiên cứu trên có thể nhận thấy, sử dụng nano bạc ở nồng độ 125 ppm để khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp cho hiệu quả khử trùng cao hơn so với sử dụng $HgCl_2$ và NaOCl.



Hình 1. Mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng được khử trùng bằng các nồng độ nano bạc khác nhau sau 2 tuần nuôi cấy

Từ kết quả thu được, chúng tôi lựa chọn nồng độ nano bạc 125 ppm để xử lý phát hoa Hồ điệp ở 4 mốc thời gian khác nhau (15 phút,

30 phút, 45 phút và 60 phút) nhằm tìm ra thời gian xử lý phù hợp nhất. Kết quả thu được ở bảng 2.

Bảng 2. Hiệu quả khử trùng mẫu phát hoa lan Hồ điệp vàng của nano bạc ở các thời gian nhau

Công thức	Thời gian xử lý (phút)	Tí lệ mẫu sống (%)	Tí lệ mẫu sống sạch (%)
CT1	15	72,22 ^a	46,67 ^a
CT2	30	75,56 ^a	51,11 ^b
CT3	45	74,90 ^a	72,13 ^d
CT4	60	74,11 ^a	72,56 ^d
$LSD_{0.05}$		2,50	6,42
$CV\%$		2,32	6,13

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thi khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Từ kết quả ở bảng 2 cho thấy, không có sự sai khác về tì lệ mẫu sống của các công thức thí nghiệm, tuy nhiên lại có sự khác biệt rõ rệt về tì lệ mẫu sống sạch của các công thức. Cụ thể, khi xử lý nano bạc 125 ppm với thời gian 15 phút thu được tì lệ mẫu sống sạch là 46,67%, khi tăng thời gian xử lý lên 30 phút, tì lệ mẫu sống sạch thu được là 51,11%, công thức xử lý 45 phút và 60 phút cho tì lệ mẫu sống sạch đạt lần lượt là 72,13% và 72,56%, cao hơn rất nhiều so với 2 công thức còn lại và không có sự khác biệt về tì lệ sống sạch ở 2 công thức này ở độ tin cậy 95%. Từ kết quả thu được có thể thấy, công thức xử lý mẫu phát

hoa Hồ điệp vàng phù hợp nhất là nồng độ 125 ppm với thời gian 45 phút.

3.2. Ảnh hưởng của nano bạc tới quá trình phát sinh hình thái của lan Hồ điệp vàng

3.2.1. Ảnh hưởng của nano bạc tới khả năng tạo PLB của mẫu lá lan Hồ điệp vàng *in vitro*

Trong thí nghiệm này, mẫu lá *in vitro* lan Hồ điệp vàng được sử dụng làm vật liệu để tạo PLB, môi trường nuôi cấy được bổ sung nano bạc với 4 nồng độ là 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm và 8 ppm (dựa trên kết quả của Nabeel K. Al-Ani khi làm thí nghiệm trên cây lá máu). Kết quả thu được trình bày ở bảng 3. Từ kết quả bảng 3 cho thấy, nano bạc có ảnh hưởng tích cực đến

sự hình thành PLB từ mẫu lá *in vitro* lan Hồ điệp vàng, khi bồi sung NS nồng độ từ 2 - 4 ppm sẽ làm tăng tần suất tạo PLB, nhưng khi tiếp tục tăng nồng độ NS lên 6 ppm và 8 ppm thì lại có xu hướng ức chế sự hình thành PLB từ mẫu lá *in vitro*. Điều này có thể là do nồng

độ cao của NS đã tác động tiêu cực lên màng tế bào của mẫu lá *in vitro* (Rostami A. A. và Shahsava A., 2009). Ở CT3 (4 ppm) cho tần suất tạo PLB cao nhất (27,56%), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đối với khả năng tạo PLB từ mẫu lá lan Hồ điệp vàng

Công thức	Nồng độ NS (ppm)	Tần suất tạo PLB (%)
CT1	0	20,00 ^a
CT2	2	24,44 ^c
CT3	4	27,56 ^d
CT4	6	22,22 ^b
CT5	8	21,92 ^b
<i>LSD_{0.05}</i>		1,00
<i>CV%</i>		3,13

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

3.2.2. Ảnh hưởng của nano bạc đến sự hình thành chồi từ PLB

Sau khi tạo được PLB từ mẫu lá *in vitro*,

các PLB được tách rời và cấy vào môi trường tạo chồi. Kết quả được trình bày ở bảng 4 và hình 2.

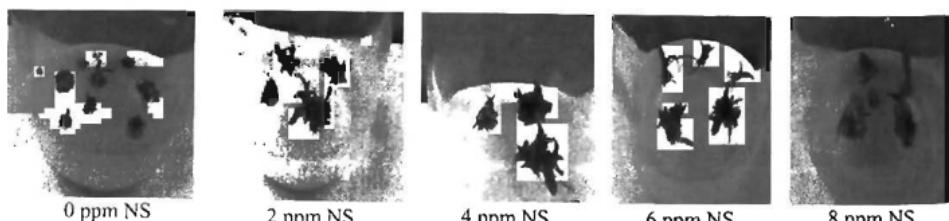
Bảng 4. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tạo chồi từ PLB

Công thức	Nồng độ (ppm)	Tần suất tạo chồi (%)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao TB chồi (cm)
CT1	0	70,00 ^a	1,70 ^a	0,53 ^a
CT2	2	86,35 ^b	2,56 ^b	0,67 ^b
CT3	4	92,53 ^c	2,97 ^c	0,87 ^c
CT4	6	86,67 ^b	2,45 ^b	0,71 ^b
CT5	8	83,31 ^b	2,41 ^b	0,68 ^b
<i>LSD_{0.05}</i>		4,7	0,13	0,09
<i>CV%</i>		3,00	0,11	0,7

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Từ kết quả bảng 4 cho thấy, nano bạc có ảnh hưởng tích cực đến việc tạo chồi từ PLB lan Hồ điệp vàng. Trong các công thức bồi sung NS, công thức bồi sung 8 ppm cho tần suất tạo chồi thấp nhất (83,31%), tuy nhiên vẫn cao hơn so với công thức đối chứng không bồi sung NS

(70,00%). Công thức bồi sung 4 ppm NS cho hiệu quả tạo chồi tốt nhất, tần suất tạo chồi đạt 92,53%, hệ số nhân chồi là 2,97 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 0,87 cm, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại.



Hình 2. Hình ảnh chồi lan Hồ điệp vàng hình thành từ PLB sau 6 tuần nuôi cấy

3.2.3. Ảnh hưởng của nano bạc đến quá trình nhân chồi từ chồi *in vitro*

Từ kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy, ở 2 chỉ tiêu là tỉ lệ bột chồi và hệ số nhân chồi, tất cả các công thức bổ sung NS đều cho kết quả cao hơn ở mức có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng không bổ sung NS. Ở chỉ tiêu tỉ lệ bột chồi, các công thức bổ sung 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm cho kết quả tương tự nhau và tốt hơn so với 2 công thức còn lại; ở chỉ tiêu hệ số

nhân chồi, không có sự khác biệt giữa các công thức bổ sung NS, tuy nhiên qua quan sát chúng tôi nhận thấy chất lượng chồi ở công thức bổ sung 4 ppm NS là tốt nhất; ở chỉ tiêu chiều cao chồi, công thức bổ sung 2 ppm và 4 ppm cho chiều cao chồi tốt nhất, tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Như vậy có thể sơ bộ kết luận, nồng độ NS bổ sung vào môi trường nhân nhanh chồi *in vitro* lan Hồ điệp vàng thích hợp nhất là từ 2 - 4 ppm.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân chồi từ chồi *in vitro*

Nồng độ NS (ppm)	Tỉ lệ bột chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)
CT1	0	51,67 ^a	1,23 ^a
CT2	2	60,00 ^b	2,33 ^b
CT3	4	63,33 ^b	2,37 ^b
CT4	6	61,67 ^b	2,33 ^b
CT5	8	56,67 ^{ab}	2,30 ^b
<i>LSD_{0,05}</i>		6,20	0,08
<i>CV%</i>		4,90	0,11
			0,38

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 3. Hình ảnh chồi lan Hồ điệp vàng hình thành từ chồi *in vitro* sau 6 tuần nuôi cây

4. KẾT LUẬN

Nồng độ NS thích hợp nhất cho việc khử trùng mầm phát hoa lan Hồ điệp vàng là 125 ppm, thời gian xử lý 45 phút, tỉ lệ mầm sống sạch thu được là 72,13%.

Bổ sung 4 ppm NS vào môi trường tạo PLB từ mầm lá *in vitro* lan Hồ điệp vàng cho tỉ lệ tạo PLB cao nhất (27,56%).

Bổ sung 4 ppm NS vào môi trường tạo chồi lan Hồ điệp vàng cho hiệu quả tạo chồi tốt nhất với tỉ lệ tạo chồi đạt 92,53%, hệ số nhân chồi là 2,97 lần và chiều cao chồi trung bình đạt 0,87 cm.

Bổ sung 2 - 4 ppm NS vào môi trường nhân nhanh chồi lan Hồ điệp vàng từ chồi *in vitro* cho hệ số nhân chồi tốt nhất với tỉ lệ tạo chồi

đạt từ 60,00 - 63,33%, hệ số nhân chồi đạt từ 2,33 - 2,37 lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đồng Huy Giới, Ngô Thị Ánh (2017). Nghiên cứu sử dụng chè phâm nano trong nuôi cây mía (*Saccharum officinarum* L.). *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 6: 35-41.

2. Griesbach, R. J. (2002). Development of Phalaenopsis orchids for the Mass-Market. *Trends in new crops and new uses*: 458-463.

3. Kharrazi M., Nemati H., Tehranifar A., Bagheri A. and Sharifi A. (2011). *In Vitro Culture of Carnation (*Dianthus Caryophyllus* L.) Focusing on the Problem of Vitrification*. *J. Biol Environ Sci*. Vol 13 1-6.

4. K.Al-Ani (2011). Using Silver Nano Particles to Increase Efficiency Of Sterile Solution for *in vitro* Techniques. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*, Vol. 4, No. 1. 48- 51.

5. Nasser M., Z. V. Sepideh and K. Sajjad (2013).

Plant *In vitro* Culture goes Nano: Nanosilver-Mediated Decontamination of *Ex vitro* Explants *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, Vol. 4, No. 2: 1-4.

6. Nguyễn Quỳnh Trang, Vũ Thị Huệ, Khuất Thị Hải Ninh, Nguyễn Thị Thư (2013). Nhân giống *in vitro* lan Hồ điệp tim (*Dendrobium anosmum*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, số 3, kỳ 1: 16- 21.

7. Nguyễn Thị Pha, Trần Thị Xuân Mai, Lê Thị Mai Trang, Nguyễn Thị Liên (2011). Nuôi cấy mầm ngũ phát hoa lan Hồ điệp (*phalaenopsis sp.*). *Tạp chí Khoa học*, tập 20b: 12-20.

8. Nguyễn Thị Sơn, Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga, Hoàng Thị Ánh Nguyệt

(2014). Nhận dòng vô tính cây lan Hồ điệp *Phalaenopsis sogo Yukidian*. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 12, số 8: 1283-1293.

9. Rostami A.A. and A. Shahsavari (2009). Nano-Silver Particles Eliminate the *in vitro* contaminations of Olive 'Mission' Explants. *Journal of Plant Sciences*, Vol. 8, No. 7: 505-509.

10. Shokri S., A. Babaei, M. Ahmadian, M.M. Arab, S Hessami (2015). The effects of different concentrations of nano silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.) *in vitro* culture. *International Society for Horticultural Science*. Vol. 3, No.1: 50-54.

STUDY ON USE OF SILVER NANOPARTICLES IN PHALAENOPSIS ORCHID (*Phalaenopsis Sp.*) TISSUE CULTURE

Dong Huy Gioi¹, Bui Thi Thu Huong²

^{1,2}Vietnam National University of Agriculture

SUMMARY

In this study, silver nanoparticles (NS) were not only used for sterilization of flower stalks of phalaenopsis orchid, but also added to the *in vitro* culture medium. The results identified that: (i) 125 ppm of silver nano solution was the best treatment in 45 minutes for sterilization the flower stalks of phalaenopsis orchid explants that made 72.13% samples clean and survival; (ii) 27.56% of *in vitro* leaf piece of phalaenopsis orchid explants formed protocorm-like body on the medium supplemented with 4 ppm silver nano, (iii) The optimal medium for formation of shoots from the PLB of phalaenopsis orchid was culture medium containing 4 ppm of silver nano, the rate of shoot formation was 92.53%, shoot of the coefficient was 2.97 times and shoot height was 0.87 cm; (iv) On the medium supplemented with 2 - 4 ppm silver nano, the rate of shoot formation from *in vitro* shoot was from 60.00 to 63.33%, shoot of the coefficient was from 233 to 237 times.

Keywords: Flower stalks, phalaenopsis orchid, protocorm-like body, silver nano.

Ngày nhận bài	: 20/12/2018
Ngày phản biện	: 21/01/2019
Ngày quyết định đăng	: 28/01/2019