

## **ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ DỊCH NGHIỆN HỮU CƠ ĐẾN SỰ KÉO DÀI CHỒI IN VITRO CÂY LAN HOÀNG THẢO KÈN (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.)**

**Đặng Thị Thanh Tâm\*, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Lâm Hải,  
Nguyễn Thanh Hải, Đinh Trường Sơn**

*Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: [thanhtam@vnua.edu.vn](mailto:thanhtam@vnua.edu.vn)

Ngày nhận bài: 10.06.2020

Ngày chấp nhận đăng: 12.12.2020

### **TÓM TẮT**

Mục đích của nghiên cứu này là xác định ảnh hưởng của việc bổ sung các chất hữu cơ trong môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của chồi con tách từ cụm protocorm của lan Hoàng thảo kèn. Các chồi con kích thước 1cm được cấy vào môi trường MS có bổ sung các dịch nghiền củ khoai tây, đậu xanh nảy mầm, chuối, củ đậu hoặc nước dừa với lượng 50 g/l hoặc 50 ml/l. Chiều cao chồi và hình thái chồi được thu nhận và sử dụng để đánh giá hiệu quả của các dịch hữu cơ sau 6-8 tuần nuôi cấy. Kết quả cho thấy dịch nghiền củ khoai tây, đậu xanh nảy mầm, chuối và củ đậu có tác động tích cực đến sự phát triển của chồi con *in vitro*. Việc kết hợp 50 g/l khoai tây và 10 g/l đậu xanh nảy mầm hoặc 50 g/l củ đậu và 0,5 g/l than hoạt tính cho kết quả kích thích chồi phát triển tốt hơn khi sử dụng môi trường chỉ bổ sung 50 g/l khoai tây hoặc củ đậu. Đây là nghiên cứu đầu tiên chỉ ra ảnh hưởng của dịch củ đậu đến sự phát triển chồi lan *in vitro*. Kết quả của nghiên cứu này có thể được sử dụng trong sản xuất nhân giống *in vitro* cây lan Hoàng thảo kèn nhằm rút ngắn thời gian tạo cây hoàn chỉnh cho chồi *in vitro*.

Từ khóa: *Dendrobium lituiflorum* Lindl., chất hữu cơ, khoai tây, củ đậu.

### **Effects of Organic Additives on Shoot Elongation of *Dendrobium lituiflorum* Lindl.**

### **ABSTRACT**

This study aimed to investigate the effects of adding several organic additives on the growth of the *Dendrobium lituiflorum* shoots. *In vitro* shoots of 1cm length were separated from protocorm-like body and cultured on the MS medium supplement with different organic additives such as homogenate of potato, germinated green bean, yam bean or banana pulp or coconut water with the concentrations of 50 mg/l or 50 ml/l, respectively. The results indicated that adding potato or yam bean homogenate promoted shoot elongation. Combination of 50 g/l potato homogenate with 10 g/l green bean homogenate or 50 g/l yam bean homogenate with 0.5 g/l active charcoal resulted in longer shoots. This is the first report on the effects of yam bean homogenate on orchid shoot development. The findings could be applied on a large scale of producing *in vitro* plantlets of *Dendrobium lituiflorum*.

Keywords: *Dendrobium lituiflorum* Lindl., potato homogenate, *Pachyrhizus erosus* homogenate (yam bean).

### **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Với nền khí hậu nóng ẩm đặc trưng, Việt Nam là nước có nhiều loài lan rừng đặc hữu đẹp và quý hiếm, trong đó có loài Lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.). Hiện nay, loài lan này đang đối mặt với nguy cơ tuyệt chủng trong tự nhiên khi nạn phá rừng và khai thác quá mức ngày càng nghiêm trọng. Tuy nhiên ở nước ta, các nghiên cứu liên quan đến

công tác lưu giữ, bảo tồn và nhân giống loài Lan Hoàng thảo kèn vẫn còn hạn chế. Với sự thành công của công nghệ nuôi cấy mô tế bào trong nhân giống *in vitro*, Lan Hoàng thảo kèn đã bước đầu được nghiên cứu nhân giống trong và ngoài nước (Das & Kumaria, 2008; Vyas & cs., 2009; Phạm Văn Lộc & Lê Thị Hoài Thương, 2016; Nguyễn Văn Việt, 2017). Thông qua hình thức nhân giống *in vitro*, cây lan Hoàng thảo kèn được nhân với số lượng lớn và có thể áp

dụng nhân giống trên quy mô lớn (Nguyễn Văn Việt, 2017). Con đường nhân giống các loài lan nói chung và Lan Hoàng thảo kèn nói riêng thường thông qua con đường tái sinh cụm chồi (protocorm) nhờ bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy (Das & Kumaria, 2008; Nguyễn Văn Việt, 2017). Để nâng cao khả năng phát triển của chồi từ cụm protocorm, kích thích phát triển thân lá rễ của chồi con Lan Hoàng Thảo, môi trường nuôi cấy thường được bổ sung các loại dịch hữu cơ như nước dừa, dịch nghiền quả chuối, khoai tây, mật ong, ngô, đu đủ (Islam & cs., 2003; Akter & cs., 2008; Gnasekaran & cs., 2010). Các dịch hữu cơ được biết đến là nguồn carbon tự nhiên có chứa nhiều các vitamin, chất xơ, hormone tự nhiên, protein và khoáng chất (Islam & cs., 2003). Hiện nay, trên đối tượng cây Lan *in vitro* Hoàng thảo Kèn có nguồn gốc từ Việt Nam chưa có nghiên cứu nào được tiến hành để xác định ảnh hưởng của các dịch chiết hữu cơ đến quá trình phát triển chồi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định ảnh hưởng của một số chất hữu cơ đến sự phát triển của chồi con Lan Hoàng thảo kèn thể hiện qua sự phát triển thân lá (thể hiện qua chiều cao chồi), từ đó đề xuất môi trường nuôi cấy tối ưu nhằm rút ngắn thời gian nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu là các chồi con lan Hoàng thảo kèn kích thước 1cm phát triển từ cụm protocorm (3-6 tháng tuổi) phát triển từ hạt. Quả lan là quả tự thụ nhân tạo từ cây mẹ lan Hoàng thảo kèn thu thập ở Cao Bằng. Protocorm được nuôi cấy và duy trì trên môi trường MS có bổ sung 30 g/l khoai tây và 30 g/l sucrose trong bình cầu 500ml có nút bông thoáng khí.

Một số dịch nghiền hữu cơ sử dụng trong nghiên cứu là củ khoai tây, quả chuối, củ đậu (*Pachyrhizus erosus*), đậu xanh nảy mầm (giá) và nước dừa. Củ khoai tây, củ đậu được rửa sạch, gọt vỏ được sử dụng là vật liệu ban đầu cho nghiên cứu. Đậu xanh nảy mầm là cây giá tươi sau hai ngày nảy mầm. Các loại củ, quả sử dụng được cân lượng xác định xay nhỏ cùng với

nước. Nước dừa được lấy từ quả dừa non. Các loại dịch hữu cơ sau đó sẽ được chia nhỏ và để đông đá lượng lớn. Dịch hữu cơ sẽ được để rã đông và bổ sung lượng xác định vào môi trường nuôi cấy trước khi hấp khử trùng.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp nghiên cứu nuôi cấy mô tế bào thực vật thông dụng. Môi trường cơ bản là Murashige và Skoog (MS-Murashige & Skoog, 1962) có bổ sung đường và các dịch nghiền hữu cơ. Môi trường được bổ sung 6,5 g/l agar, điều chỉnh môi trường để đạt giá trị pH = 5,8 trước khi hấp khử trùng. Môi trường sau đó được khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút.

Một số chỉ tiêu theo dõi thí nghiệm được mô tả như sau: chiều cao chồi là chiều dài được đo từ gốc đến đỉnh chồi ban đầu (cm), khối lượng cụm chồi (g) là khối lượng của cụm chồi xuất phát từ một chồi ban đầu sau thời gian nuôi cấy, hệ số nhân chồi là hệ số trung bình của tổng số chồi của một mẫu cấy sau mỗi đợt nuôi cấy trên tổng số chồi ban đầu của mẫu cấy.

### 2.2 Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Mẫu cấy được cấy 3 mẫu/bình có chứa 50ml môi trường nuôi cấy trong thời gian 6 tuần hoặc 8 tuần cụ thể cho từng thí nghiệm. Mẫu cấy được nuôi ở nhiệt độ từ 24-25°C, quang chu kỳ 16 giờ sáng và 8 giờ tối, cường độ ánh sáng 2.500lux, độ ẩm 60-70%. Mỗi công thức thí nghiệm được bố trí 30 mẫu. Số liệu được thu sau 6-8 tuần theo dõi và phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố với mức  $P \leq 0,05$ , phân tích hậu kiểm với Tukey test, sử dụng phần mềm Graphpad Prism version 8.4.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của một số dịch hữu cơ đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn

Sau 8 tuần theo dõi sự sinh trưởng của chồi con *in vitro* lan Hoàng thảo kèn trên nền môi trường có bổ sung các dịch hữu cơ khác nhau,

kết quả thu được được thể hiện trong bảng 1 và hình 2.

Kết quả thể hiện trong bảng 1 cho thấy các dịch hữu cơ là khoai tây, đậu xanh nảy mầm, chuối, củ đậu cho tác động tích cực đến sự phát triển chiều cao của chồi Hoàng thảo kèn. Sau 8 tuần nuôi cấy, môi trường không bổ sung dịch hữu cơ (đối chứng) cho cây có chiều cao trung bình  $4,35 \pm 0,23\text{cm}$ . Ở các công thức thí nghiệm môi trường có bổ sung dịch nghiền khoai tây, chuối, đậu xanh nảy mầm và củ đậu, chỉ tiêu chiều cao chồi lại tăng lên lần lượt là  $7,61 \pm 0,36\text{cm}$ ;  $6,64 \pm 0,40\text{cm}$ ;  $6,05 \pm 0,30\text{cm}$ ;  $6,75 \pm 0,29\text{cm}$ .

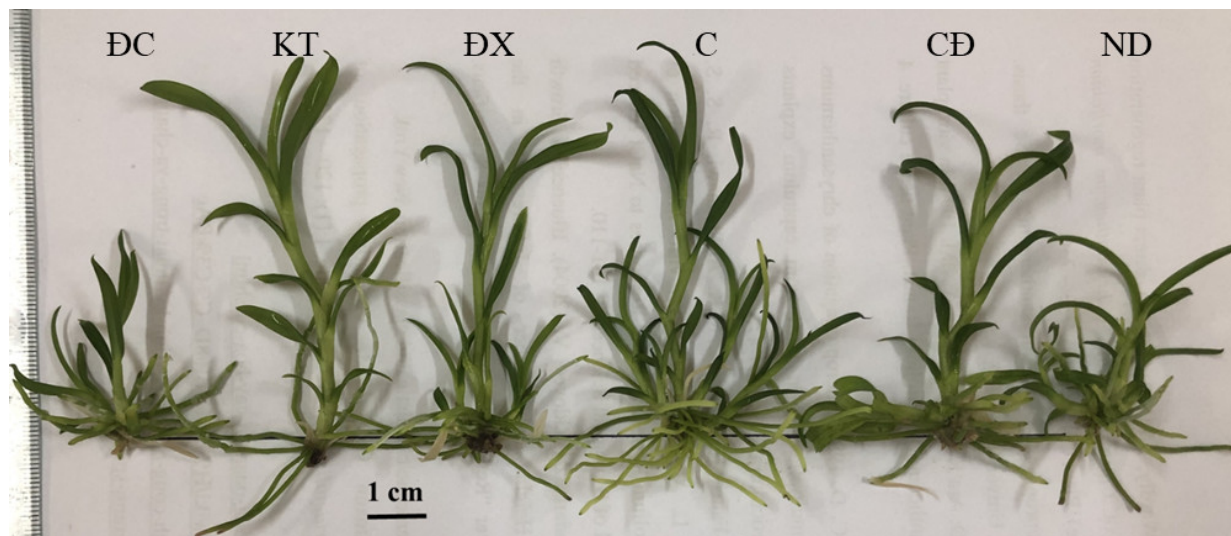
Sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê với giá trị  $P < 0,05$ . Hai dịch hữu cơ cho kết quả tốt nhất đến sự kéo dài chồi là khoai tây và dịch nghiền củ đậu. Đối với dịch hữu cơ nước dừa, sự kích thích chồi phát triển không có sự sai khác về mặt thống kê với môi trường không bổ sung dịch hữu cơ. Tương tự với chỉ tiêu chiều cao chồi, khối lượng tươi của chồi cũng tăng lên khi bổ sung các dịch hữu cơ vào môi trường nuôi cấy (Hình 2). Các dịch hữu cơ khoai tây, chuối và củ đậu là ba loại dịch hữu cơ cho khối lượng cụm chồi lớn nhất và sai khác có ý nghĩa thống kê với đối chứng với  $P < 0,05$ .

**Bảng 1. Ảnh hưởng của một số hợp chất hữu cơ đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (sau 8 tuần nuôi cấy)**

Công thức	Môi trường	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu cấy)	Chiều cao cây trung bình (cm)	Hình thái rễ
CT1 (đối chứng)	MT nền	$3,90^{ab} \pm 0,41$	$4,35^a \pm 0,23$	Rễ ngắn
CT2	50 g/l KT	$2,93^a \pm 0,21$	$7,61^c \pm 0,36$	Rễ dài
CT3	50 g/l ĐX	$3,97^{ab} \pm 0,34$	$6,64^{bc} \pm 0,40$	Rễ ngắn
CT4	50 g/l C	$4,07^{ab} \pm 0,20$	$6,05^b \pm 0,30$	Rễ ngắn
CT5	50 g/l CĐ	$4,10^{ab} \pm 0,39$	$6,75^c \pm 0,29$	Rễ nhiều, ngắn
CT6	50 ml/l ND	$4,47^b \pm 0,46$	$5,00^a \pm 0,26$	Rễ nhiều, ngắn

Ghi chú: KT: khoai tây; ĐX: đậu xanh nảy mầm; C: chuối nghiền; CĐ: củ đậu; ND: nước dừa; Môi trường nền: MS + 30 g/l sucrose;

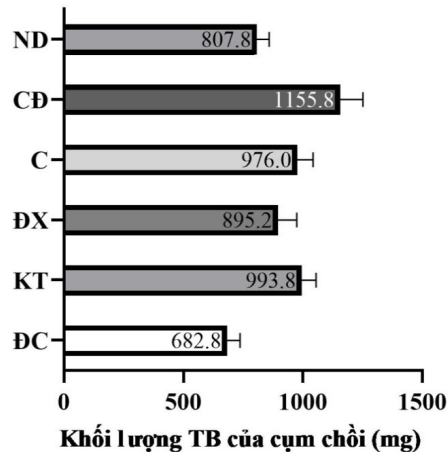
Các chữ cái khác nhau ở các số liệu trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy  $P < 0,05$ .



Ghi chú: ĐC: Đối chứng; KT: khoai tây; ĐX: đậu xanh nảy mầm; C: chuối nghiền; CĐ: củ đậu; ND: nước dừa.

**Hình 1. Hình thái cây con lan Hoàng thảo kèn nuôi cấy trên môi trường có bổ sung các dịch hữu cơ khác nhau**

Ảnh hưởng của một số dịch nghiền hữu cơ đến sự kéo dài chồi *in vitro* cây lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.)



Ghi chú: DC: Đối chứng; KT: khoai tây; DX: đậu xanh nảy mầm; C: chuối nghiền; CD: củ đậu; ND: nước dừa.

**Hình 2. Khối lượng trung bình của cụm chồi Hoàng thảo kèn nuôi cấy 8 tuần trên môi trường có bổ sung các chất hữu cơ khác nhau**

Trên đối tượng lan Hoàng thảo kèn, bổ sung dịch chuối với nồng độ 10% trên môi trường Knudson C cho tốc độ tái sinh chồi lớn, cây có lá và rễ phát triển tốt (Vyas & cs., 2009). Bên cạnh đó nghiên cứu của Vyas và cộng sự cũng nhấn mạnh rằng chuối là nguồn hữu cơ tự nhiên bổ sung hiệu quả trong các giai đoạn khác nhau của lan Hoàng thảo kèn từ khi hạt nảy mầm đến lúc cây phân hóa hoàn chỉnh (Vyas & cs., 2009). Kết quả trong nghiên cứu này chỉ ra khi môi trường có bổ sung dịch nghiền chuối cũng cho hiệu quả tương tự đối với quá trình tạo cây hoàn chỉnh của chồi *in vitro*. Bên cạnh đó, số liệu trong nghiên cứu này của chúng tôi còn cho thấy khoai tây, dịch nghiền đậu xanh nảy mầm và củ đậu là các dịch hữu cơ cho tác động tốt đến sự phát triển rễ và chiều cao của chồi. Dịch nghiền đậu xanh nảy mầm tuy làm tăng chiều cao chồi so với môi trường đối chứng nhưng không có sự sai khác về mặt thống kê ở chỉ tiêu khối lượng tươi của cụm chồi (Bảng 1). Khi bổ sung dịch nghiền khoai tây vào môi trường nuôi cấy thì chồi *in vitro* cho thân lá, rễ phát triển tốt và có khối lượng cây lớn. Đặc biệt, kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng dịch nghiền củ đậu là dịch hữu cơ làm tăng khối lượng cụm chồi lớn nhất. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên ứng dụng dịch hữu cơ củ đậu trong môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật. Các nghiên cứu khác chỉ ra rằng, dịch hữu cơ từ củ

đậu là loại dịch có chứa nhiều protein, chất béo, carbohydrate, chất xơ, các chất chống oxy hóa và làm tăng cường hệ thống mạch máu ở người, điều hòa lượng đường huyết ở chuột (Kim & cs., 2009; Park & cs., 2015). Hiện nay chưa có nghiên cứu nào ứng dụng dịch củ đậu trong môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật. Qua số liệu ở thí nghiệm này có thể thấy, củ đậu là một trong các loại dịch hữu cơ tốt cho sự phát triển thân, lá, rễ của lan Hoàng thảo kèn.

### 3.2. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch nghiền khoai tây với các loại dịch nghiền khác trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn

Qua số liệu của thí nghiệm 1 (Bảng 1), kết quả cho thấy, hai loại dịch hữu cơ làm tăng chiều cao chồi và khối lượng chồi tốt nhất là khoai tây và củ đậu. Ở thí nghiệm này, chúng tôi kết hợp khoai tây với các dịch nghiền khác như chuối và đậu xanh nảy mầm để đánh giá tác động của việc kết hợp này đến sự phát triển thân lá của cây Hoàng thảo kèn con. Trong các nghiên cứu kết hợp này, chúng tôi chỉ tập trung vào chỉ tiêu chiều cao chồi và hình thái cây vì đó là các chỉ tiêu quan trọng của giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh trước khi đưa ra vườn ươm. Kết quả của thí nghiệm sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện trong bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch nghiền khoai tây và dịch nghiền chuối trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (sau 6 tuần theo dõi)**

Công thức	Khối lượng chuối bổ sung (g/l)	Chiều cao chồi TB (cm)	Hình thái cây
CT1 (đối chứng)	0	5,18 <sup>b</sup> ± 0,19	cây mập, xanh đậm
CT2	10	5,45 <sup>b</sup> ± 0,23	cây mập, xanh đậm
CT3	30	4,20 <sup>a</sup> ± 0,17	cây nhỏ, xanh đậm
CT4	50	4,47 <sup>a</sup> ± 0,13	cây nhỏ, xanh đậm

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 50 g/l khoai tây + 30 g/l sucrose;

Các chữ cái khác nhau ở các số liệu trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy  $P < 0,05$ .

**Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch nghiền khoai tây và đậu xanh nảy mầm trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (sau 6 tuần theo dõi)**

Công thức	Khối lượng đậu xanh nảy mầm bổ sung (g/l)	Chiều cao chồi TB (cm)	Hình thái cây
CT1 (đối chứng)	0	5,30 <sup>b</sup> ± 0,18	cây mập, xanh đậm
CT2	10	5,96 <sup>c</sup> ± 0,14	cây mập, xanh đậm
CT3	30	4,01 <sup>a</sup> ± 0,12	cây nhỏ, xanh đậm
CT4	50	4,53 <sup>a</sup> ± 0,16	cây nhỏ, xanh đậm

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 50 g/l khoai tây + 30 g/l sucrose;

Các chữ cái khác nhau ở các số liệu trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy  $P < 0,05$ .

Bảng 2 cho thấy, khi kết hợp 50 g/l khoai tây với 10 g/l chuối thì chồi tăng trưởng về chiều cao, tuy nhiên sự tăng trưởng này không có sai khác về mặt thống kê với công thức môi trường đối chứng chỉ bổ sung 50 g/l khoai tây. Ngoài ra, khi tăng lượng chuối vào môi trường thì sự phát triển chiều cao chồi lại bị ức chế. Cụ thể khi kết hợp kết hợp 50 g/l khoai tây với 30 g/l hoặc 50 g/l chuối thì chiều cao chồi giảm lần lượt còn 4,20 ± 0,17cm và 4,47 ± 0,13cm.

Theo các nghiên cứu trên các đối tượng Lan hoàng thảo khác (*Dendrobium*), dịch hữu cơ chuối và khoai tây cũng ghi nhận hiệu quả tương tự như kích thích sự phát triển chồi, khối lượng tươi của chồi, đường kính thân (Lo & cs., 2004; Parthibhan & cs., 2015). Tuy nhiên, hiệu quả kết hợp của hai dịch hữu cơ này là chưa được nghiên cứu cụ thể trên các đối tượng khác. Dựa trên kết quả nghiên cứu của này, có thể thấy rằng việc kết hợp khoai tây và chuối trong

môi trường tái sinh cây hoàn chỉnh của lan Hoàng thảo kèn là không thích hợp.

Ở thí nghiệm tiếp theo, ảnh hưởng của tổ hợp khoai tây và đậu xanh nảy mầm trong môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của chồi con lan Hoàng thảo kèn được nghiên cứu. Dịch hữu cơ đậu xanh nảy mầm lần lượt được thêm vào môi trường với lượng 10 g/l, 30 g/l hoặc 50 g/l. Số liệu ở bảng 3 cho thấy, khi kết hợp 50 g/l khoai tây với 10 g/l đậu xanh nảy mầm thì kích thích chồi tăng trưởng chiều cao, chiều cao chồi trung bình đạt 5,96 ± 0,14cm (Bảng 3). Giá trị này có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với công thức đối chứng và các công thức khác của thí nghiệm. Đây là công thức tối ưu nhất vì khi tăng lượng dịch nghiền đậu xanh nảy mầm lên 30 g/l, 50 g/l lại ức chế sự phát triển chiều cao chồi. Như vậy, có thể thấy rằng kết hợp 50 g/l khoai tây và 10 g/l đậu xanh nảy mầm là thích hợp để kích thích sự tăng trưởng về chiều cao của chồi lan Hoàng

Ảnh hưởng của một số dịch nghiền hữu cơ đến sự kéo dài chồi *in vitro* cây lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.)

thảo kèn trong điều kiện *in vitro*. Đây là nghiên cứu đầu tiên kết hợp dịch hữu cơ khoai tây với dịch đậu xanh nảy mầm được tiến hành trên cây lan, đặc biệt là lan Hoàng thảo kèn.

### 3.3. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch nghiền củ đậu với dịch chuối nghiền và than hoạt tính trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn

Tương tự như ảnh hưởng của dịch nghiền khoai tây khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy, chúng tôi nhận thấy, dịch nghiền củ đậu là dịch hữu cơ tốt cho sự phát triển chiều cao, khối lượng chồi *in vitro*. Ngoài ra, dịch quả chuối là dịch hữu cơ thông dụng được sử dụng làm tăng hiệu quả phát triển chồi và rễ của nhiều loài như lan Hoàng thảo, lan *Celosia* sp. (Jiang & cs., 2003; Daud & cs., 2011). Với mục đích tìm ra môi trường tối ưu cho chồi *in vitro* Hoàng thảo kèn, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu kết hợp dịch củ đậu với các chất khác như dịch chuối (10-30 g/l) và bổ sung than hoạt tính (0,25-1 g/l) trong môi

trường nuôi cấy và đánh giá sự ảnh hưởng của chồi *in vitro*. Kết quả thí nghiệm thể hiện trong bảng 4 và bảng 5.

Số liệu bảng 4 cho thấy việc bổ sung dịch chuối với lượng 10-30 g/l vào môi trường MS có chứa 50 g/l củ đậu có xu hướng làm giảm chiều cao chồi sau 6 tuần theo dõi. Tuy nhiên, số liệu ở cả ba công thức môi trường kết hợp có chiều cao chồi không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê với công thức đối chứng ở mức  $P < 0,05$ . Tương tự, ở chỉ tiêu khối lượng chồi trung bình và hệ số nhân, bổ sung kết hợp củ đậu và chuối không có sự sai khác về mặt thống kê ở các công thức sau 6 tuần nuôi cấy.

Về mặt hình thái, môi trường kết hợp củ đậu và chuối làm tăng số lượng rễ và rễ có màu trắng (Hình 3). Như vậy, có thể thấy rằng việc kết hợp dịch chuối và củ đậu không có hiệu quả trong việc làm tăng chiều cao chồi lan Hoàng thảo kèn. Tuy nhiên, kết hợp củ đậu và chuối trong môi trường nuôi cấy tăng số rễ cho chồi *in vitro*.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch củ đậu và dịch chuối trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (sau 6 tuần theo dõi)**

Công thức	KL chuối bổ sung (g/l)	Chiều cao chồi TB (cm)	Hình thái
CT1 (đối chứng)	0	5,51 ± 0,18	Cây mập, rễ ít, dài
CT2	10	5,35 ± 0,19	Cây mập, rễ nhiều, ngắn
CT3	20	4,97 ± 0,19	Cây mập, rễ nhiều, ngắn
CT4	30	4,82 ± 0,10	Cây mập, rễ nhiều, ngắn
P-value (ANOVA)		>0,05	

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 50 g/l củ đậu + 30 g/l sucrose.

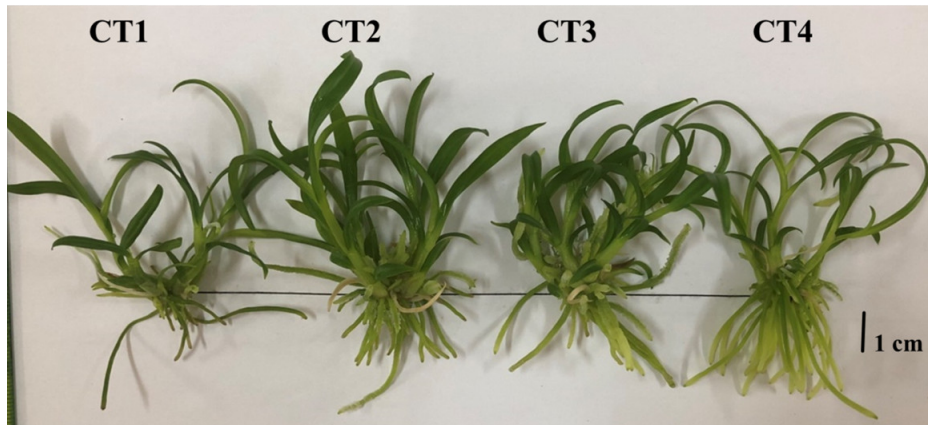
**Bảng 5. Ảnh hưởng của tổ hợp dịch nghiền củ đậu và than hoạt tính (THT) trong môi trường nuôi cấy đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (sau 6 tuần theo dõi)**

Công thức	Than hoạt tính (g/l)	Chiều cao chồi TB (cm)	Hình thái
CT1 (đối chứng)	0	5,25 <sup>a</sup> ± 0,17	Cây mập, rễ ít, dài
CT2	0,25	4,99 <sup>a</sup> ± 0,17	Cây nhỏ, rễ nhiều, ngắn
CT3	0,5	6,43 <sup>b</sup> ± 0,21	Cây nhỏ, rễ nhiều, ngắn
CT4	1	5,35 <sup>a</sup> ± 0,16	Cây nhỏ, rễ nhiều, ngắn

Ghi chú: Môi trường nền: MS + 50 g/l củ đậu + 30 g/l sucrose;

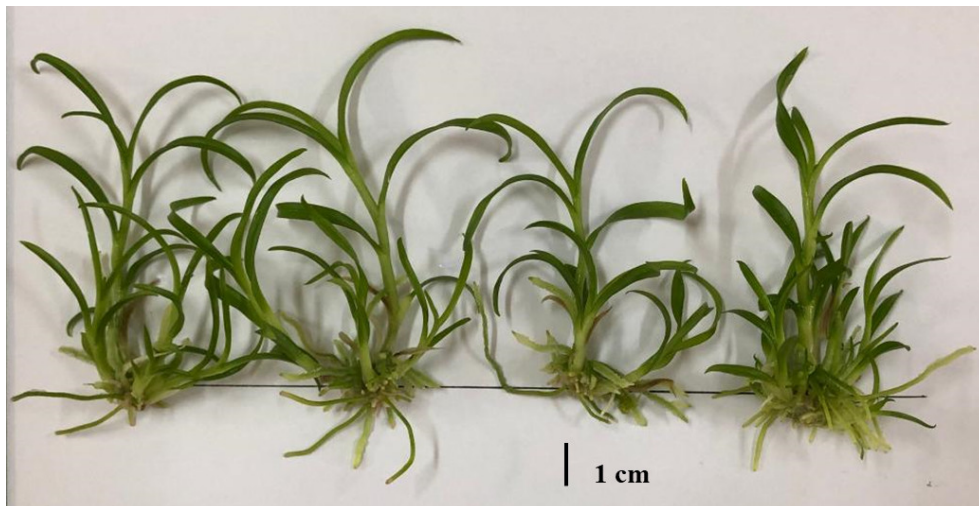
Các chữ cái khác nhau ở các số liệu trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy  $P < 0,05$ .





Ghi chú: CT1 (đối chứng): môi trường MS chỉ bổ sung 50 g/l củ đậu, CT2: kết hợp 50 g/l củ đậu với 10 g/l chuối; CT3: kết hợp 50 g/l củ đậu với 20 g/l chuối; CT4: kết hợp 50 g/l củ đậu với 30 g/l chuối.

**Hình 3. Hình thái cây con lan Hoàng thảo kèn nuôi cấy trên môi trường kết hợp củ đậu và chuối với nồng độ khác nhau**



**Hình 4. Hình thái cây con lan Hoàng thảo kèn nuôi cấy trên môi trường kết hợp 50 g/l củ đậu và 0,5 g/l than hoạt tính sau 6 tuần theo dõi**

Với mục đích làm tăng chất lượng chồi *in vitro* (chiều cao và chất lượng rễ) chúng tôi kết hợp bổ sung dịch hữu cơ củ đậu với than hoạt tính. Đối với môi trường có kết hợp củ đậu với than hoạt tính, sau 6 tuần theo dõi kết quả cho thấy kết hợp 50 g/l củ đậu và 0,5 g/l than hoạt tính là công thức cho chiều cao chồi lớn nhất đạt  $6,43 \pm 0,21\text{cm}$ . Các công thức kết hợp khác không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê với công thức đối chứng. Tuy nhiên, khi kết hợp kết hợp 50 g/l củ đậu và 0,5 g/l than hoạt tính thì thân cây có bề ngang nhỏ hơn khi so sánh với công thức đối chứng (không bổ sung than hoạt

tính). Qua thí nghiệm này có thể thấy rằng, ảnh hưởng của sự kết hợp 50 g/l củ đậu với than hoạt tính là tối ưu nhất cho sự kéo dài chồi ở hàm lượng than hoạt tính bổ sung là 0,5 g/l (Hình 4).

#### 4. KẾT LUẬN

Trên nền môi trường MS, bổ sung 50 g/l một trong các dịch hữu cơ như khoai tây, đậu xanh nảy mầm, chuối, củ đậu có tác động kích thích chồi *in vitro* lan Hoàng thảo kèn phát triển về chiều cao. Trong các dịch hữu cơ nghiên cứu, dịch hữu cơ khoai tây, củ đậu là hai dịch hữu cơ

có hiệu quả hơn cả khi vừa kích thích tăng chiều cao lại vừa tăng khối lượng chồi trung bình của chồi *in vitro*. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng nhận thấy kết hợp 50 g/l khoai tây với 10 g/l đậu xanh nảy mầm hoặc 50 g/l củ đậu với 0,5 g/l than hoạt tính cho kết quả kích thích sự phát triển chiều cao chồi tốt hơn khi bổ sung chỉ 50 g/l khoai tây hoặc 50 g/l củ đậu. Các kết quả của nghiên cứu này có thể được sử dụng trong nhân giống *in vitro* cây lan Hoàng thảo kèn nhằm rút ngắn thời gian tạo cây hoàn chỉnh cho chồi *in vitro*.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akter S., Nasiruddin K. & Khaldun A.B.M. (2008). Organogenesis of *Dendrobium* orchid using traditional media and organic extracts. Journal of Agriculture & Rural Development. 5(1-2): 30-35.
- Das M.C. & Kumaria S. (2008). *In vitro* propagation and conservation of *Dendrobium lituiflorum* Lindl through protocorm-like bodies. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 17(2): 177-181.
- Daud N., Taha R.M., Noor N.N.M. & Alimon H. (2011). Effects of different organic additives on *in vitro* shoot regeneration of *Celosia* sp. Pakistan journal of biological sciences. 14(9): 546-551.
- Gnasekaran P., Xavier R., Sinniah U.R. & Subramaniam S. (2010). A study on the use of organic additives on the protocorm-like bodies (PLBS) growth of *Phalaenopsis violacea* orchid. J Phytol. 2: 29-33.
- Islam O., Rahman A., Matsui S. & Prodhan A. (2003). Effects of Complex Organic Extracts on Callus Growth and PLB Regeneration through Embryogenesis in the *Doritaenopsis* Orchid. Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ. 37: 229-235.
- Jiang L., Ding P. & Zheng Y. (2003). Effects of additives on tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium candidum*. Journal of Chinese medicinal materials. 26(8): 539-541.
- Kim S.K., Choi H.J., Won J.H., Park J.H., Lee I.J. & Park S.Y. (2009). Introduction of Yam Bean (*Pachyrhizus spp.*) in Korea. Korean Journal of Plant Resources. 22(6): 546-551.
- Lo S.F., Nalawade S.M., Kuo C.L., Chen C.L. & Tsay H.S. (2004). Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and ex vitro establishment of plants of *Dendrobium tosaense* makino. A medicinally important orchid. *in vitro* Cellular & Developmental Biology - Plant. 40(5): 528-535.
- Nguyễn Văn Việt (2017). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* trong nhân giống lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindley). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 4: 39-45.
- Park C. Lee H.A. & Han J.S. (2015). Jicama (*Pachyrhizus erosus*) extract increases insulin sensitivity and regulates hepatic glucose in C57BL/Ksj-db/db mice. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. 58(1): 58-63.
- Parthibhan S., Rao M.V. & Senthil Kumar T. (2015). *In vitro* regeneration from protocorms in *Dendrobium aqueum* Lindley-An imperiled orchid. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 13(2): 227-233.
- Phạm Văn Lộc & Lê Thị Hoài Thương (2016). Nhân giống *in vitro* lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium lituiflorum* Lindl.). Tạp chí Khoa học Công nghệ và thực phẩm. Chuyên san CNSH&KTMT. tr. 27-33.
- Vyas S., Guha S., Bhattacharya M. & Rao I.U. (2009). Rapid regeneration of plants of *Dendrobium lituiflorum* Lindl. (Orchidaceae) by using banana extract. Scientia Horticulturae. 121(1): 32-37.