

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC DỊCH CHIẾT HỮU CƠ ĐẾN SỰ HÌNH THÀNH CHỒI VÀ RỄ *IN VITRO* CỦA LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus setaceus* Blume)

Trần Nguyên Chất¹*, Đỗ Như Ý¹,
Lê Quế Trân¹, Trịnh Thị Kim Bình¹

TÓM TẮT

Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) thuộc họ Orchidaceae. Ở Việt Nam, có 12 loài Lan kim tuyến đã được phát hiện và chủ yếu được sử dụng làm dược liệu. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của các dịch chiết hữu cơ gồm nước dừa, dịch chuối chín, dịch khoai tây, nước ép cà chua, dịch bắp tươi và môi trường MS đến hình thành chồi và rễ từ mẫu chồi Lan kim tuyến. Kết quả cho thấy, cả năm nhóm dịch trích hữu cơ bổ sung vào môi trường đều có tác dụng làm gia tăng số chồi và rễ. Môi trường MS có bổ sung dịch cà chua 200CC (200 ml/l) cho sự nhân nhanh chồi tốt nhất (41,917 chồi/mẫu) và lá (30,5 lá/cụm chồi). Môi trường MS bổ sung dịch khoai tây 250KT (250 ml/l) tốt nhất cho sự hình thành rễ (8,50 rễ/cây) và môi trường MS bổ sung nước dừa 100ND (100 ml/l) tốt nhất cho sự phát triển chiều dài rễ (1,306 cm).

Từ khóa: *Anoectochilus setaceus* Blume, dịch chiết hữu cơ, *in vitro*, Lan kim tuyến, nuôi cấy mô.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan kim tuyến có tên khoa học *Anoectochilus setaceus* Blume, thuộc họ Orchidaceae [1] và nằm trong danh mục các loài đang nguy cấp theo Sách Đỏ Việt Nam. Chi Lan kim tuyến (*Anoectochilus*) ở Việt Nam hiện thống kê được 12 loài [2] và có 30 loài được tìm thấy ở Sri Lanka, Malaysia, Ấn Độ, Nhật Bản, miền nam Trung Quốc và quần đảo Thái Bình Dương [3]. Lan kim tuyến được đưa vào danh mục các loài đang nguy cấp thuộc nhóm IA của Nghị định số 32/2006/CP [4]. Lan kim tuyến được biết đến nhiều bởi giá trị làm thuốc của nó [5]. Lan kim tuyến có chứa beta-Dglucopyranosyl-(3R)-hydroxybutanolide, stearic axit, palmitic axit, betasitosterol, succinic axit, p-hydroxy benzaldehyde, daucosterol, methyl 4-beta-glucopyranosyl-hutanoate, p-hydroxy cinnamic axit and o-hydroxy phenol. Dịch chiết Lan kim tuyến có tác dụng làm giảm đường huyết, cải thiện chuyển dưỡng lipid, tăng cường miễn dịch và giảm

stress; chống tăng huyết áp, bệnh tiểu đường, bệnh gan, tim và phổi và có đặc tính chống ung thư [6].

Thành phần hoá học của môi trường đóng vai trò quyết định trong nuôi cấy tế bào và mô thực vật. Mỗi loài cây, kiểu gen, các kiểu nuôi cấy khác nhau có những đòi hỏi khác nhau về thành phần môi trường [7]. Các hợp chất hữu cơ có nguồn gốc tự nhiên đã được thêm vào để thúc đẩy quá trình sinh trưởng của cây *in vitro*. Các hợp chất này thường gồm các protein có khối lượng phân tử nhỏ, axit amin, vitamin và các chất tăng trưởng thực vật nội sinh có sẵn. Do đó, chúng có khả năng thúc đẩy tăng trưởng thực vật bằng cách cung cấp cho tế bào thực vật nguồn nitơ hữu cơ [8]. Hiện nay, nhân giống *in vitro* bổ sung các dịch chiết hữu cơ thay thế các thành phần vô cơ và chất điều hòa sinh trưởng thực vật đang được quan tâm, đặc biệt là trên các cây dược liệu. Các hợp chất hữu cơ bổ sung vào như bột chuối, bột khoai tây, dịch chiết nấm men, dịch chiết thịt, trùng quế, bột sắn dây chứa các protein có khối lượng phân tử nhỏ, acid amin, vitamin và các chất tăng trưởng

¹ Trường Đại học Kiên Giang

*Email: tnchat@vnkgu.edu.vn

thực vật nội sinh có sẵn. Do đó, chúng có khả năng thúc đẩy tăng trưởng thực vật bằng cách cung cấp cho tế bào thực vật nguồn nitơ hữu cơ [9]. Vì vậy, việc nhân giống *in vitro* Lan kim tuyến bổ sung các chất hữu cơ và không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng là cần thiết, giúp bảo tồn loài lan quý có giá trị được liệu và cung cấp được nguồn nguyên liệu sạch có giá trị được liệu và kinh tế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chồi Lan kim tuyến có nguồn gốc từ bộ sưu tập giống của Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang. Các chồi lan được sử dụng trong nghiên cứu có kích thước từ $2,5 \pm 0,1$ cm.

Dịch chuối chín, dịch khoai tây, nước dừa, nước ép cà chua, dịch bắp tươi được bổ sung vào thí nghiệm theo từng nghiệm thức.

2.2. Điều kiện thí nghiệm

Tất cả các thí nghiệm được đặt trong điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, đèn

huỳnh quang cường độ chiếu sáng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

Môi trường được sử dụng là MS bổ sung dịch chiết hữu cơ, tất cả đều được bổ sung thêm đường sucrose 30 g/l và agar 8 g/l. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH về 5,8 và khử trùng ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm, trong thời gian 20 phút.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nội dung: khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết hữu cơ bổ sung vào môi trường MS đến quá trình hình thành chồi và rễ của Lan kim tuyến.

Mục tiêu thí nghiệm: xác định được ảnh hưởng nồng độ của các dịch chiết hữu cơ tối ưu nhất cho quá trình phát sinh hình thái chồi và rễ của chồi Lan kim tuyến.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố (nồng độ dịch chiết hữu cơ) với 5 chất hữu cơ, mỗi chất hữu cơ có 3 nồng độ. Thí nghiệm có 16 nghiệm thức, trong đó có 1 nghiệm thức đối chứng MS + 0,6 BAP. Thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 4 chai, mỗi chai 1 mẫu.

Bảng 1. Nồng độ môi trường trong các thí nghiệm

Nghiem thức	Dịch chiết hữu cơ	Nồng độ
1	Đối chứng	MS + BAP 0,6 mg/l
2	Nước dừa (ND)	MS + 100 (ml/l)
3	ND	MS + 200 (ml/l)
4	ND	MS + 300 (ml/l)
5	Dịch chuối chín (C)	MS + 100 (ml/l)
6	C	MS + 200 (ml/l)
7	C	MS + 300 (ml/l)
8	Dịch khoai tây (KT)	MS + 50 (ml/l)
9	KT	MS + 150 (ml/l)
10	KT	MS + 250 (ml/l)
11	Nước ép cà chua (CC)	MS + 100 (ml/l)
12	CC	MS + 150 (ml/l)

Nghiem thức	Dịch chiết hữu cơ	Nồng độ
13	CC	MS + 200 (ml/l)
14	Dịch bấp tươi (B)	MS + 50 (ml/l)
15	B	MS + 100 (ml/l)
16	B	MS + 150 (ml/l)

2.4. Chỉ tiêu theo dõi và xử lý số liệu

- Số chồi hình thành (đếm tất cả chồi được hình thành trên mẫu cấy)

- Tỷ lệ phát sinh chồi (%) = $\frac{\text{Số mẫu phát sinh chồi}}{\text{Tổng số mẫu chồi}} \times 100$

- Chiều cao chồi trung bình (cm) = $\frac{\text{Tổng chiều cao các chồi}}{\text{Số chồi}}$

- Số lá: lá (đếm tất cả lá đã xòe trên thân).

- Số rễ: rễ (đếm số rễ phát sinh).

- Chiều dài rễ trung bình (cm) = $\frac{\text{tổng chiều dài số rễ}}{\text{số rễ}}$ (đo bằng thước đo từ vị trí rễ tiếp

xúc với thân cây đến chót rễ, đơn vị đo cm).

Các số liệu được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2007, phân tích phương sai và trắc nghiệm phân hạng Duncan bằng phần mềm SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết hữu cơ bổ sung vào môi trường MS đến quá trình phát sinh cụm chồi Lan kim tuyến

Kết quả của quá trình hình thành cụm chồi Lan kim tuyến trong các môi trường MS có bổ sung dịch chiết hữu cơ với các nồng độ khác nhau được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả ảnh hưởng của các nồng độ dịch chiết hữu cơ lên quá trình hình thành cụm chồi Lan kim tuyến

Nghiem thức	Tỷ lệ phát sinh chồi (%)	Số chồi trung bình (chồi/mẫu)	Chiều cao cụm chồi trung bình (cm)	Số lá (lá/cụm chồi)
ĐC	100	12,000 ^{def}	1,753 ^{cd}	13,0 ^{bc}
100 ND	100	29,917 ^b	1,313 ^{de}	18,667 ^{bc}
200 ND	100	21,750 ^c	2,000 ^c	13,667 ^{de}
300 ND	100	16,667 ^{cde}	1,910 ^c	16,750 ^{bcd}
100 C	100	19,583 ^c	1,336 ^{ed}	13,000 ^{de}
200 C	100	7,500 ^{fgh}	1,630 ^{cd}	7,750 ^f
300 C	100	3,583 ^h	2,930 ^b	7,667 ^f
50 KT	100	10,333 ^{cde}	1,707 ^{cd}	14,250 ^{cde}
150 KT	100	16,500 ^{efg}	2,097 ^c	11,583 ^{ef}
250 KT	100	17,333 ^{cd}	1,577 ^{cd}	19,250 ^b
100 CC	100	6,000 ^{fgh}	2,107 ^c	13,42 ^{bc}
150 CC	100	27,833 ^b	1,763 ^{cd}	18,667 ^{bc}

Nghiem thức	Tỷ lệ phát sinh chồi (%)	Số chồi trung bình (chồi/mẫu)	Chiều cao cụm chồi trung bình (cm)	Số lá (lá/cụm chồi)
200 CC	100	41,917 ^a	0,963 ^e	30,500 ^a
50 B	100	4,333 ^{gh}	4,123 ^a	13,500 ^{de}
100 B	100	5,333 ^{gh}	3,326 ^b	11,083 ^{ef}
150 B	100	10,500 ^{efg}	2,840 ^b	10,833 ^{ef}
CV(%)		21,8	14,33	17,95
F	ns	29,01 [*]	22,95 [*]	13,15 [*]

Ghi chú: Các chữ theo sau khác nhau ở cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê, “”: khác biệt có ý nghĩa ở mức $P \leq 0,05$, “ns”: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.*

Kết quả sau 120 ngày nuôi cấy, chồi Lan kim tuyến trên môi trường MS bổ sung dịch chiết hữu cơ đều cho thấy sự phát triển về số chồi. Tỷ lệ phát sinh chồi của các nghiệm thức đạt 100%. Số chồi trung bình khi môi trường có bổ sung dịch trích hữu cơ dao động từ 3,583 đến 41,917 chồi/mẫu.

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Sơn và cs (2014) [10], Saranjeet và cs (2012) [11], Nguyễn Văn Việt (2017) [12], La Việt Hồng và Nguyễn Thị Hồng Huế (2017) [13] đều cho thấy các hợp chất hữu cơ khi bổ sung vào quá trình nuôi cấy giúp thúc đẩy phát triển chồi. Nghiên cứu của Selakorn và cs (2020) [14], Norhayati Daud và cs (2011) [15] cũng cho thấy hiệu quả của các hợp chất hữu cơ bổ sung vào môi trường nuôi cấy đến sự hình thành và phát triển chồi.

Ở môi trường bổ sung nước dừa nồng độ 100 đến 300 ml/l cho kết quả dao động từ 16,667 đến 29,917 chồi/mẫu, trong đó nồng độ 100 ml/l cho số chồi cao nhất 29,917 chồi/mẫu và số chồi giảm dần từ nồng độ 200 đến 300 ml/l, điều này cho thấy nước dừa ở nồng độ 100 ml/l phù hợp cho sự phát sinh chồi Lan kim tuyến.

Số chồi trung bình ở môi trường bổ sung dịch chuối chín nồng độ 100 đến 300 ml/l cho số chồi dao động từ 3,583 đến 19,58 chồi/mẫu, hàm lượng dịch chuối chín 100 ml/l cho số chồi cao nhất (19,58 chồi/mẫu), ở nồng độ 200 - 300 ml/l cho số lượng chồi phát sinh giảm. Giống như môi trường bổ sung nước dừa, nồng độ dịch chuối chín càng

tăng thì khả năng phát sinh chồi giảm. Môi trường bổ sung dịch trích khoai tây ở nồng độ 50 đến 250 ml/l cho kết quả dao động từ 10,33 đến 17,33 chồi/mẫu, ở các nghiệm thức này nồng độ càng tăng thì khả năng tạo chồi càng tăng, điều này cho thấy nồng độ dịch khoai tây cao thích hợp cho sự phát sinh chồi.

Số chồi trung bình ở môi trường MS có bổ sung dịch cà chua nồng độ 100 đến 200 ml/l cho kết quả dao động từ 6,0 đến 41,917 chồi/mẫu, ở các nghiệm thức này cho số lượng chồi phát sinh cao khi nồng độ tăng từ 100 - 200 ml/l. Điều này cho thấy dịch cà chua ở nồng độ cao phù hợp cho sự phát sinh chồi. Ở nghiệm thức 150CC (150 ml/l nước ép cà chua), có sự tương đồng kết quả với nghiên cứu *Vanda helvola* Blume của David và cs (2015) [16], đã bổ sung 15% nước cà chua, cho kết quả nhân chồi tốt.

Môi trường bổ sung dịch bắp nồng độ 50 đến 150 ml/l cho kết quả dao động từ 4,333 đến 10,50 chồi/mẫu, trong đó nồng độ 150B 150 ml/l cho số chồi phát sinh cao nhất là 10,50 chồi/mẫu, thấp nhất là nồng độ 50B 50 ml/l cho số chồi phát sinh là 4,3 chồi/mẫu, cho thấy nồng độ dịch bắp cao tốt cho sự phát triển của chồi. Xu hướng này cho thấy có khả năng tăng nồng độ dịch bắp sẽ cho kết quả nhân chồi tốt hơn.

Nghiem thức 200CC cho kết quả tốt nhất về số chồi (41,92 chồi/mẫu) trong các môi trường nuôi cấy và khác biệt về thống kê so với đối chứng 12,0 (chồi/mẫu) và các nghiệm thức còn lại.

Về chiều cao chồi trung bình được ghi nhận khi môi trường bổ sung dịch trích hữu cơ dao động từ 0,963 đến 4,123 cm.

Ở các nghiệm thức bổ sung nước dừa, chiều cao chồi trung bình từ 1,313 đến 2,0 cm, ở các nghiệm thức này chiều cao chồi tăng khi tăng nồng độ từ 100 đến 300 ml/l. Điều này cho thấy nồng độ nước dừa cao thích hợp cho sự phát triển chiều cao của chồi, nồng độ nước dừa 200 ml/l cho kết quả tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thị Cúc và cs (2014) [17], ở nồng độ này tăng trưởng chiều cao của chồi mạnh.

Ở môi trường bổ sung dịch chuối chín, chiều cao chồi từ 1,336 đến 2,930 cm, ở các nghiệm thức này chiều cao chồi trung bình tăng khi nồng độ dịch trích tăng từ 100 - 300 ml/l nồng độ dịch trích chuối cao thích hợp cho sự phát triển chiều cao chồi.

Trong môi trường có bổ sung dịch khoai tây, chiều cao chồi trung bình từ 1,577 đến 2,097 cm, trong đó nồng độ 50KT cho kết quả tốt nhất và khi nồng độ từ 150 - 250 ml/l thì chiều cao trung bình giảm dần, điều này cho thấy nồng độ dịch trích khoai tây cao không thích hợp cho sự phát triển chiều cao Lan kim tuyến.

Khi môi trường bổ sung dịch cà chua, chiều cao chồi trung bình từ 0,963 cm đến 2,107 cm, trong đó nồng độ 100CC cho kết quả cao nhất và từ nồng độ 150-200 ml/l thì chiều cao chồi bị giảm, vì vậy khi nồng độ cà chua trong môi trường cao ảnh hưởng đến việc phát triển chiều cao Lan kim tuyến. Tuy nhiên, chiều cao chồi trung bình cũng

bị ảnh hưởng bởi số chồi hình thành mới. Tương tự, khi bổ sung dịch bắp kết quả chiều cao chồi trung bình từ 2,840 đến 4,123 cm, chiều cao chồi bị giảm khi tăng nồng độ dịch trích này tăng. Nghiệm thức 50B (4,123 cm) cho kết quả tốt nhất trong môi trường chứa dịch trích hữu cơ và tốt hơn so với đối chứng (1,753 cm). Điều này cũng chứng minh được xu hướng tỷ lệ nghịch giữa số chồi và chiều cao chồi trung bình của các nghiệm thức.

So sánh với kết quả của Nguyễn Thị Huyền Trang và cs (2019) [18], khi sử dụng hợp chất hữu cơ như cao nấm men và casein hydrolysate để thay thế môi trường vô cơ, kết quả cho thấy môi trường thích hợp nhất cho sự nhân nhanh sinh khối Lan kim tuyến là môi trường Albert's có thành phần muối nitrate giảm 50% và 7 g/l cao nấm men.

Ở chỉ tiêu số lá, khi môi trường bổ sung dịch trích hữu cơ số lá trung bình dao động từ 7,667 đến 30,5 lá/cụm chồi. Nghiệm thức 200CC (30,5 lá/ cụm chồi) cho kết quả tốt nhất trong môi trường chứa các dịch trích hữu cơ và tốt hơn khi so với đối chứng (13 lá/chồi). Từ kết quả thống kê cho thấy chỉ tiêu số chồi trung bình có tương quan thuận với chỉ tiêu số lá trung bình.

Từ kết quả các chỉ tiêu về hình thành chồi cho thấy, nghiệm thức 200CC cho kết quả tốt nhất về số chồi và số lá trong các môi trường nuôi cấy và khác biệt về thống kê so với đối chứng và các nghiệm thức còn lại.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết hữu cơ bổ sung vào môi trường MS đến quá trình phát sinh rễ Lan kim tuyến

Bảng 3. Ảnh hưởng của các nồng độ dịch chiết hữu cơ lên quá trình phát triển rễ Lan kim tuyến

Nghiệm thức	Tỷ lệ hình thành rễ (%)	Số rễ trung bình (rễ/cây)	Chiều dài rễ trung bình (cm)
ĐC	100	4,000 ^{fg}	0,810 ^{bcd}
100 ND	100	6,417 ^{bc}	1,307 ^a
200 ND	100	4,167 ^{efg}	0,850 ^{bc}
300 ND	100	5,250 ^{cdef}	0,780 ^{cde}
100 C	100	5,667 ^{bcd}	0,490 ^{fg}
200 C	100	5,917 ^{bcd}	0,490 ^{fg}

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Nghiem thức	Tỷ lệ hình thành rễ (%)	Số rễ trung bình (rễ/cây)	Chiều dài rễ trung bình (cm)
300 C	100	4,917 ^{def}	0,590 ^{ef}
50 KT	100	3,333 ^g	0,327 ^g
150 KT	100	5,583 ^{bcd}	0,400 ^{fg}
250 KT	100	8,500 ^a	0,427 ^{fg}
100 CC	100	5,333 ^{cdef}	0,537 ^{fg}
150 CC	100	5,917 ^{bcd}	0,3978 ^{cde}
200 CC	100	5,417 ^{bcd}	0,357 ^g
50 B	100	6,833 ^b	1,007 ^b
100 B	100	5,083 ^{cdef}	0,607 ^{def}
150 B	100	3,500 ^g	0,530 ^{fg}
CV (%)		14,21	18,93
F	ns	8,61*	15,66*

Ghi chú: Các chữ theo sau khác nhau ở cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê, “”: khác biệt có ý nghĩa ở mức $P \leq 0,05$, “ns”: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.*

Kết quả cho thấy tất cả các nghiệm thức đều cho tỷ lệ 100% hình thành rễ. Số rễ trung bình ở môi trường bổ sung dịch trích hữu cơ cho kết quả từ 3,333 đến 8,50 rễ/cây.

Khi môi trường MS bổ sung nước dừa, số rễ trung bình là 4,167 đến 6,417 rễ/cây số rễ giảm khi tăng nồng độ nước dừa từ 100 – 300 ml/l, điều này cho thấy nồng độ nước dừa bổ sung ở nồng độ 100 ml/l phù hợp cho khả năng hình thành số rễ của Lan kim tuyến. Môi trường có bổ sung dịch chuối chín cho kết quả từ 4,917 đến 5,917 rễ/cây trong đó nồng độ từ 100 - 200 ml/l làm tăng số rễ nhưng khi tăng nồng độ lên 300 ml/l thì số rễ bị giảm. Vì vậy nồng độ dịch chuối cao không thích hợp cho sự tạo rễ. Ở môi trường MS có bổ sung dịch khoai tây, kết quả từ 3,333 đến 8,50 rễ/cây, số rễ trung bình tăng khi nồng độ dịch trích được tăng lên 50 đến 250 ml/l. Bên cạnh đó, số rễ trung bình được ghi nhận ở môi trường bổ sung dịch cà chua là 5,333 đến 5,917 rễ/cây trong đó nồng độ 150CC (5,917 rễ/cây) cho số rễ cao nhất, thấp nhất là 100CC (5,333 rễ/cây) và giảm ở nồng độ

200CC (5,417 rễ/cây). Điều này cho thấy, dịch cà chua ở nồng độ cao không thích hợp cho sự tạo rễ. Khi môi trường bổ sung dịch bắp tươi, số rễ trung bình thu được là 3,5 đến 6,833 rễ/cây, số rễ giảm khi tăng nồng độ từ 50 - 150 ml/l.

Ở nghiệm thức 250KT (8,50 rễ/cây) cho kết quả tốt nhất về số rễ trong môi trường chứa các dịch trích hữu cơ và khác biệt có ý nghĩa thống kê với đối chứng tốt (4,0 rễ/cây).

Ở kết quả chiều dài rễ trung bình, nghiệm thức môi trường MS bổ sung nước dừa có chỉ số trung bình tốt nhất 1,307 cm ở nồng độ nước dừa 100 ml/l và khác biệt có ý nghĩa về thống kê so với các nghiệm thức còn lại và đối chứng. Từ kết quả thống kê chỉ tiêu số rễ trung bình có tương quan nghịch với chỉ tiêu chiều dài rễ trung bình.

Ở các nồng độ môi trường MS bổ sung dịch trích từ nước dừa, chuối, khoai tây, cà chua, bắp đều có tác động kích thích sự hình thành chồi, lá rễ và tăng chiều cao, chiều dài của chồi rễ. Tuy nhiên, ở mỗi nồng độ của các dịch trích hữu cơ

khác nhau thì sẽ có tác động khác nhau đến các giai đoạn và hình thái trong quá trình sinh trưởng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nghiệm thức môi trường MS bổ sung dịch cà chua nồng độ 200 ml/l tốt nhất cho sự hình thành chồi (41,917 chồi/mẫu) và lá (30,5 lá/chồi), nghiệm thức môi trường MS bổ sung dịch khoai tây 250 ml/l 250KT tốt nhất cho sự hình thành rễ (8,50 rễ/cây), nghiệm thức môi trường MS bổ sung nước dừa 100 ml/l 100ND cho chiều dài rễ tốt nhất (1,306 cm).

4. KẾT LUẬN

Kết quả thu được cho thấy cả 5 nhóm dịch chiết hữu cơ bổ sung vào môi trường đều có ảnh hưởng làm gia tăng số chồi và rễ. Môi trường MS có bổ sung dịch cà chua 200CC (200 ml/l) cho sự nhân nhanh chồi tốt nhất (41,917 chồi/mẫu) và lá (30,5 lá/cụm chồi). Môi trường MS bổ sung dịch khoai tây 250KT (250 ml/l) tốt nhất cho sự hình thành rễ (8,50 rễ/cây) và môi trường MS bổ sung nước dừa 100ND (100 ml/l) tốt nhất cho sự phát triển chiều dài rễ (1,306 cm) Lan kim tuyến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2003). *Cây cỏ Việt Nam quyển 3* Nhà xuất bản Trẻ. 1027 trang.
2. Nguyễn Tiến Bản (2005). *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Tập III. Nhà xuất bản Nông nghiệp. 1248 trang.
3. Yih-Juh Shiau, Abhay P. Sagare, Uei-Chin Chen, Shu-Ru Yang, Hsin-Sheng Tsay (2002). Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by artificial cross-pollination and *in vitro* culture of seeds. Bot. Bull. Acad. Sin 43: 123-130.
4. Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007). *Sách Đỏ Việt Nam. Phần II. Thực vật*. Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 611 trang.
5. Phùng Văn Phê, Nguyễn Trung Thành, Vương Duy Hưng (2010). Đặc điểm hình thái, phân bố của loài lan Kim tuyến *Anoectochilus setaceus* Blume ở Vườn Quốc gia Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 26(2010): 104-109.
6. N. V. KET, E. J. HAHN, S. Y. PARK, D. CHAKRABARTY, K. Y. PAEK (2004). Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus*. *Biology Plantarum* 48(3): 339-344.
7. Trần Văn Minh (2013). *Giáo trình nuôi cấy mô tế bào thực vật*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, TP. Hồ Chí Minh.
8. Dương Công Kiên (2003). *Nuôi cấy mô thực vật (II)*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
9. George F. Edwin, Michael A. Hall, Geert-Jan De Klerk (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture* (3rd Edition). Springer.
10. Nguyễn Thị Sơn, Từ Bích Thủy, Đặng Thị Nhân, Nguyễn Thị Lý Anh, Hoàng Thị Nga, Nguyễn Quang Thạch (2014). Nhân giống *in vitro* Lan *Dendrobium officinale* Kimura Et Migo (Thạch học thiết bị). *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 12(8): 1274-1282.
11. Saranjeet Kaur and K. K. Bhutani (2012). Organic growth supplement stimulants for *in vitro* multiplication of *Cymbidium pendulum* (Roxb.) Sw. Hort. Sci. (Prague). 39(1), 47 – 52.
12. Nguyễn Văn Việt (2017). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* trong nhân giống lan Hoàng thảo kèn (*Dendrobium luteiflorum* Lindley). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, số 4.
13. La Việt Hồng và Nguyễn Thị Hồng Huệ (2017). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* lan Phi điệp (*Dendrobium anosum* Lindl). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*. 160(08): 3-7.
14. Selakorn, O., Phasinam, K., Kassanuk, T., Sutaphan, S (2020). Influence of organic additives on multiple shoot formation of Musa (AA Group) 'Kluai Nam Thai' *in vitro*. *Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci.* 2020, 21, 347 - 353.
15. Norhayati Daud 1, Rosna Mat Taha, Nor Nafizah Mohd Noor, Hasimah Alimon (2011). Effects of different organic additives on *in vitro* shoot regeneration of Celosia sp. *Pak J Biol Sci.* 2011 May 1; 14(9): 546-51.

16. David D., Jawan R., Marbawi H., and Gansau J. A. (2015). "Organic additives improves the *in vitro* growth of native orchid *Vanda helvola* Blume," Notulae Scientia Biologicae, vol. 7, no. 2, pp. 192-197.

17. Nguyễn Thị Cúc, Nguyễn Văn Kết, Dương Tấn Nhựt và Nguyễn Thị Kim Lý (2014). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hợp chất hữu cơ lên quá trình sinh trưởng và phát triển cây lan Hải hồng (*Paphiopedilum delenatii*) *in vitro*. *Tạp chí*

Sinh học, 36(1): 250-256.

18. Nguyễn Thị Huyền Trang, Đặng Thị Kim Thúy, Đỗ Đức Thăng, Trần Thị Mỹ Trâm, Trần Trọng Tuấn và Đỗ Đăng Giáp (2019). Ứng dụng các hợp chất hữu cơ thay thế nguồn nitrate vô cơ trong môi trường nuôi cấy sinh khối và thử hoạt tính sinh học của cây lan Kim tuyến (*Anoectochilus formosanus* Hayata) *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 55(1): 134-141.

EFFECTS OF ORGANIC EXTRACTS ON *IN VITRO* SHOOTS AND ROOTS INDUCTION OF *Anoectochilus setaceus* Blume

Tran Nguyen Chat, Do Như Y,
Le Que Tran, Trinh Thi Kim Binh

Summary

Anoectochilus setaceus Blume belongs to the Orchidaceae family. In Vietnam, 12 species of this genus have been discovered and are mainly used as medicinal herbs. The aim of this study was to investigate the effects of organic extracts, including coconut water, banana juice, potato juice, tomato juice, corn juice and MS medium on shoots and roots formation on the shoot of *Anoectochilus setaceus* Blume. The results showed that: all five groups of organic extracts added to MS medium had the effect of increasing the number of shoots and roots; the best medium for shoots multiplication was MS with 200CC (200 ml/l) (41.917 shoots per explant, 30.5 leaves per bud cluster); MS medium with 250KT was the best for roots formation (8.50 roots per plantlet); MS medium with 100ND was the best for roots length (1.306 cm).

Keywords: *Anoectochilus setaceus* Blume, organic extract, *in vitro*, tissue culture.

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Việt

Ngày nhận bài: 23/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 16/01/2023

Ngày duyệt đăng: 30/01/2023