

Nghiên cứu nhân giống lan Hoàng thảo Nghệ tâm (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) bằng phương pháp nuôi cấy lát mỏng tế bào

Nguyễn Thị Lại^{1*}, Phạm Hương Sơn¹, Vũ Mạnh Hải², Tống Xuân Trung¹

¹Viện Ứng dụng Công nghệ

²Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 6/12/2017; ngày chuyển phản biện 12/12/2017; ngày nhận phản biện 17/1/2018; ngày chấp nhận đăng 26/1/2018

Tóm tắt:

Trong bài báo này, các tác giả trình bày kết quả nghiên cứu nuôi cấy lát mỏng tế bào cây lan Hoàng thảo Nghệ tâm (*Dendrobium loddigesii* Rolfe). Nguyên liệu ban đầu là lát cắt mỏng theo chiều ngang (tTCL - traverse thin cell layer) của chồi *in vitro*. Kết quả cho thấy, môi trường gây hiệu ứng tối ưu để sản sinh *protocorm - like bodies* là môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,5 mg/l BA (tạo ra 30,1 *protocorm - like bodies*/lát mỏng sau 6 tuần nuôi cấy). Cụm *protocorm - like bodies* được cấy lên môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone + 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 30 g/l dịch nghiền bí ngô + 1 g/l tảo *Spirulina* cho tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất, đạt 16,82 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường cấy chồi *in vitro* để tạo cây con hoàn chỉnh VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 1,0 mg/l IBA là thích hợp nhất với số rễ được hình thành là 7,3 rễ/cây sau 6 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: Cây thuốc, Hoàng thảo Nghệ tâm, nuôi cấy lát mỏng tế bào, PLBs, tái sinh chồi.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Hoàng thảo Nghệ tâm (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) là loài lan rừng đẹp, có giá trị y học và kinh tế cao, phân bố tập trung ở Trung Quốc, Lào và Việt Nam (các tỉnh Thái Nguyên, Lai Châu, Nghệ An). Cây thường mọc ở các khu rừng lá kim nhiều rêu và ẩm ướt ở độ cao 400-1.500 m [1, 2].

Theo y học cổ truyền Trung Quốc, lan Nghệ tâm có chứa hoạt chất chống ung thư dạ dày và ung thư phổi, chất chống đông máu [3], điều trị bệnh tiểu đường type 2 [4].

Do vừa có giá trị làm cây hoa cảnh vừa làm cây dược liệu nên lan Hoàng thảo Nghệ tâm đang bị khai thác với số lượng lớn. Mặt khác, tỷ lệ nảy mầm từ hạt trong tự nhiên rất thấp và vùng phân bố của Nghệ tâm bị phá hủy nên loài cây này đang ở trong tình trạng gần như tuyệt chủng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng phương pháp nuôi cấy lát mỏng tế bào lan Hoàng thảo Nghệ tâm nhằm tạo nguồn cây giống sạch bệnh, đồng đều, giữ được đặc trưng giống với số lượng lớn trong một thời gian ngắn, giá cả phù hợp, đáp ứng nhu cầu của thị trường và góp phần bảo tồn loài lan dược liệu quý hiếm của Việt Nam.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu, địa điểm nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: Mẫu giống Hoàng thảo Nghệ tâm tách lấy đỉnh sinh trưởng nuôi cấy tạo chồi. Vật liệu sử dụng là chồi nuôi cấy 6 tuần tuổi.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng nuôi cấy mô của Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ.

Điều kiện nuôi cấy in vitro: Nhiệt độ phòng 25±2°C, ẩm độ 60-70%, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1.500-2.300 lux.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu cảm ứng tạo PLBs từ lát mỏng tế bào: Chồi *in vitro* tách từ chồi nảy mầm của đỉnh sinh trưởng được nuôi cấy trên môi trường VW có kích thước 1-2 cm, cắt chồi thành những lát mỏng theo chiều ngang (tTCL) 1,0-1,5 mm. Lát mỏng tế bào được cấy lên môi trường cơ bản VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar, bổ sung BA (0,5-3 mg/l), 1,5 mg/l BA + α-NAA (0,5-2,0 mg/l), pH 5,5 để khảo sát khả năng phát sinh PLBs từ tTCL.

*Tác giả liên hệ: Email: orchidnlai@gmail.com

Micropropagation of *Dendrobium loddigesii* Rolfe by thin cell layer culture

Thi Lai Nguyen^{1*}, Huong Son Pham¹,
Manh Hai Vu², Xuan Trung Tong¹

¹National Center for Technological Progress

²Vietnam Academy Agricultural Science

Received 6 December 2017; accepted 26 January 2018

Abstract:

With the aim at preserving and developing highly precious *Dendrobium loddigesii* Rolfe, a study on its multiplication was carried out, in which a traversed thin cell layer (tTCL) excised from *in vitro* shoot tips was cultured in different media. Results showed that highest number of *protocorm-like bodies* (PBLs)/tTCL produced was obtained on the VW medium supplemented with 20 g/l sucrose + 10% coconut water + 7 g/l agar + 1.5 mg/l BA (the obtained number was 30.1 PBLs/tTCL at 6 weeks after culture) whereas the highest quantity of generated shoots was recorded in the VW medium added by 20 g/l sucrose + 10% coconut water + 7 g/l agar + 1 g/l activated carbon + 2 g/l peptone + 1.5 mg/l BA + 0.5 mg/l IBA + 30 g/l mashed pumpkin + 1 g/l *Spirulina* algae (16.82 shoots/explant) at 8 weeks after culture. In addition, the VW medium supplemented with 20 g/l sucrose + 10% coconut water + 7 g/l agar + 1 g/l activated carbon + 1.0 mg/l IBA was considered to be most suitable for root development and growth of *in vitro* plants (7.3 healthy roots/plant after 6 weeks).

Keywords: *Dendrobium loddigesii* Rolfe, medicinal plant, *protocorm-like bodies*, shoot regeneration, thin cell layer.

Classification numbers: 4.6

Phương pháp tái sinh chồi từ PLBs: Các PLBs chất lượng tốt thu được từ thí nghiệm trên được tách thành cụm nhỏ có kích thước khoảng 3-4 mm, sau đó cấy lên môi trường cơ bản VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone; bổ sung 1,5 mg/l BA + IBA (0,5-2,0 mg/l); (10-50 g/l) dịch nghiền bí ngô; 30 g/l dịch nghiền bí ngô + (1-3 g/l) tảo *Spirulina*; pH 5,5 để khảo sát khả năng phát sinh chồi từ PLBs.

Phương pháp nghiên cứu tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh: Các chồi sau khi thu được từ thí nghiệm trên, có chiều cao

khoảng 2-3 cm, 2-3 lá, được cấy chuyển sang môi trường cơ bản VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính, bổ sung IBA, PAA từ 0,5-2,0 mg/l, pH 5,5 để khảo sát khả năng hình thành rễ.

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần nhắc lại.

Theo dõi, đánh giá theo các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo PLBs (%), số PLBs/tTCL, chiều cao cây (cm), số lá (lá), số rễ (rễ), chiều dài rễ (cm)... sau 6 tuần nuôi cấy. Số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm)... tái sinh chồi từ PLBs được đánh giá sau 8 tuần nuôi cấy.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0 và phần mềm Excel 2007.

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Nghiên cứu tạo PLBs từ tTCL

Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo PLBs từ tTCL: Lát mỏng tế bào (tTCL) được cấy lên môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar bổ sung BA từ 0,5-3,0 mg/l để khảo sát ảnh hưởng của BA lên khả năng phát sinh PLBs. Kết quả sau 6 tuần nuôi cấy (trình bày ở bảng 1) cho thấy: Bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy có tác động tích cực đến khả năng tạo PLBs trực tiếp từ tTCL, trong đó môi trường VW bổ sung 1,5 mg/l BA đem lại hiệu quả tốt nhất thể hiện qua số PLBs hình thành cao nhất (30,1 PBLs/tTCL với tỷ lệ tTCL phát sinh PLBs là 52%). Công thức đối chứng không bổ sung BA không có khả năng phát sinh PLBs.

Trong phạm vi nồng độ BA từ 1,5 đến 3,0 mg/l khả năng tạo PLBs tỷ lệ nghịch với sự tăng nồng độ, điều này có thể do nồng độ BA cao đã gây ức chế khả năng phát sinh PLBs từ tTCL. Kết quả thấp nhất khi bổ sung nồng độ 3,0 mg/l BA vào môi trường với tỷ lệ tTCL phát sinh PLBs chỉ đạt 10% với 8,5 PBLs/tTCL.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA lên khả năng phát sinh PLBs từ tTCL (6 tuần nuôi cấy).

Nồng độ BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo PLBs (%)	Số PLBs/tTCL
0 (Đ/C)	0,0 g	0,0 g
0,5	8,2 f	10,40 e
1,0	21,0 c	21,60 b
1,5	52,0 a	30,10 a
2,0	28,0 b	17,20 c
2,5	16,5 d	15,0 d
3,0	10,0 e	8,50 f
LSD (0,05)	2,61	1,15

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BA và α NAA lên khả năng tạo PLBs từ tTCL:

Bảng 2. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và α NAA lên khả năng tạo PLBs từ tTCL (6 tuần nuôi cấy)

Chất kích thích sinh trưởng (mg/l)		Tỷ lệ mẫu tạo PLBs (%)	Số PLBs/tTCL
BA	α NAA		
1,5	0 (Đ/C)	52,03a	30,12 a
1,5	0,5	38,0 b	21,00 b
1,5	1,0	31,0 b	19,00 c
1,5	1,5	21,9 c	12,80 d
1,5	2,0	16,0 d	7,00 e
LSD (0,05)		7,6	0,4

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Bảng 2 trình bày số lượng PLBs phát sinh trên môi trường cơ bản bổ sung thêm 1,5 mg/l BA và α NAA (0,5-2,0 mg/l) cho thấy: Việc bổ sung α NAA kết hợp BA vào môi trường đã không làm tăng tỷ lệ tTCL phát sinh PLBs cũng như số PLBs hình thành từ tTCL so với môi trường chỉ bổ sung BA.

Kết quả chúng tôi thu được cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Tùng và cs (2010) [5] khi tái sinh chồi từ lát cắt mỏng tế bào loài lan *Dendrobium aduncum*, rằng khả năng tạo PLBs từ tTCL trên môi trường bổ sung riêng lẻ BA cho kết quả tốt hơn khi bổ sung BA kết hợp α NAA. Nguyên nhân có thể do α NAA kết hợp với BA có ảnh hưởng không tốt tới quá trình cảm ứng PLBs từ tTCL đối với loài lan *Dendrobium loddigesii* Rolfe.

Nghiên cứu tái sinh chồi từ PLBs

Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp (BA + IBA) lên khả năng tái sinh chồi từ PLBs: Cụm PLBs (3-4 mm) được cấy chuyển sang môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone + 1,5 mg/l BA kết hợp với 0,5-2,0 mg/l IBA để thăm dò khả năng tái sinh chồi từ PLBs. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp (BA + IBA) lên khả năng tái sinh chồi từ PLBs (sau 8 tuần nuôi cấy).

Chất kích thích sinh trưởng (mg/l)		Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
BA	IBA			
1,5	0 (Đ/C)	1,52 e	1,30 c	Chồi nhỏ, lá bé
1,5	0,5	6,80 a	2,86 a	Chồi to, lá màu xanh
1,5	1,0	5,40 b	2,30 b	Chồi bình thường, lá màu xanh
1,5	1,5	4,22 c	2,02 b	Chồi bình thường, lá màu xanh
1,5	2,0	3,30 d	1,82 b	Chồi nhỏ và yếu, lá màu vàng nhạt
LSD (0,05)		0,8	0,5	

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Nhận xét được rút ra là: Bổ sung tổ hợp BA + IBA vào môi trường nuôi cấy có tác động rõ rệt đến quá trình hình thành chồi từ cụm PLBs sau 8 tuần nuôi cấy. Ở mức nồng độ 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA, tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất đạt 6,8 chồi/mẫu với chiều cao chồi đạt 2,86 cm, cao hơn hẳn so với đối chứng không bổ sung IBA (tỷ lệ tái sinh 1,52 chồi/mẫu, chiều cao chồi 1,3 cm). Khi nồng độ IBA tiếp tục tăng, tỷ lệ tái sinh chồi và chiều cao chồi lại có xu hướng giảm, chứng tỏ ngưỡng nồng độ IBA từ 1,0 đến 2,0 mg/l khi kết hợp với 1,5 mg/l BA đã ức chế quá trình hình thành chồi, chồi nhỏ và yếu, lá màu vàng nhạt.

Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch nghiền bí ngô đến khả năng tái sinh chồi từ PLBs: Theo Tatjana Rakcejeva, et al. (2011) [6] trong dịch nghiền của bí ngô rất giàu carotenoid, vitamin C, vitamin E, B1, B6, P, K, Mg, Fe, phenolic, flavonoid, acid amin, pectin... Nhằm thăm dò khả năng tái sinh chồi từ PLBs chúng tôi bổ sung dịch nghiền của bí ngô ở các nồng độ khác nhau vào môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone + 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch nghiền bí ngô đến khả năng tái sinh chồi từ PLBs (sau 8 tuần nuôi cấy).

Dịch nghiền bí ngô (g/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
0,0 (Đ/C)	6,81 d	2,85 b	Chồi to, lá màu xanh
10	7,50 c	3,00 b	Chồi to, lá màu xanh
20	8,80 b	3,40 b	Chồi to, lá màu xanh
30	10,60 a	4,20 a	Chồi to, khỏe, lá màu xanh đặc trưng
40	8,90 b	3,20 b	Chồi to, lá màu xanh đặc trưng
50	7,60 c	2,92 b	Chồi nhỏ, lá bé màu xanh nhạt
LSD (0,05)	0,56	0,7	

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Số liệu bảng 4 cho thấy: Dịch nghiền bí ngô có tác động tốt đến sự hình thành chồi từ cụm PLBs. Sau 8 tuần nuôi cấy, tỷ lệ tái sinh chồi và chiều cao chồi đạt cao nhất ở nồng độ 30 g/l dịch nghiền bí ngô (10,6 chồi/mẫu và chiều cao chồi 4,2 cm). Tuy nhiên, nếu bổ sung ở nồng độ cao hơn 30 g/l thì số chồi và chiều cao chồi lại có xu hướng giảm đi.

Nghiên cứu ảnh hưởng của bột tảo *Spirulina* với dịch nghiền bí ngô đến khả năng tái sinh chồi từ PLBs:

Bảng 5. Ảnh hưởng của bột tảo *Spirulina* với dịch nghiền bí ngô đến khả năng tái sinh chồi từ PLBs.

Tảo <i>Spirulina</i> (g/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
0,0 (Đ/C)	10,59 c	4,20 b	Chồi to, khô, lá màu xanh đặc trưng
1	16,82 a	6,14 a	Chồi to, khô, lá màu xanh bóng
2	14,50 b	5,00 ab	Chồi to, khô, lá màu xanh đặc trưng
3	11,24 c	4,50 b	Chồi nhỏ, lá bé màu xanh nhạt
LSD (0,05)	2,16	1,42	

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Qua số liệu bảng 5 chúng tôi nhận thấy: Đối với bột tảo *Spirulina*, trong môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone + 30 g/l dịch nghiền bí ngô, bổ sung 1 g/l bột tảo *Spirulina* cho kết quả tỷ lệ tái sinh chồi và chiều cao chồi cao nhất (16,82 chồi/mẫu, chiều cao chồi 6,14 cm), chồi to, khô, lá màu xanh bóng. Điều này là do trong tảo *Spirulina* có chứa nhiều amino acid tự do, các loại vitamin như A, B và E thúc đẩy quá trình trao đổi chất, chống sự nâu hóa mẫu cấy, giúp mẫu cấy hấp thụ dưỡng chất tốt hơn, sinh trưởng và phát triển mạnh, làm gia tăng số chồi, chiều cao chồi...[7]. Khi tăng nồng độ tảo *Spirulina* trên 1 g/l, khả năng tái sinh chồi từ PLBs bị giảm xuống, thậm chí việc tăng trưởng chiều cao chồi cũng bị chậm lại.

Nghiên cứu tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh

Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA và PAA đến khả năng tạo rễ và sinh trưởng của chồi in vitro: Cây con *in vitro* hoàn chỉnh cần phải có bộ rễ phát triển tốt, vì vậy chúng tôi đã bổ sung vào môi trường nuôi cấy VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính, các chất kích thích IBA và PAA ở các nồng độ khác nhau nhằm nâng cao khả năng hình thành và sinh trưởng của bộ rễ lan Nghệ tâm, qua đó thúc đẩy sự tăng trưởng về thân lá. Kết quả thể hiện ở bảng 6.

Số liệu bảng 6 cho thấy: Bổ sung IBA và PAA vào môi trường nuôi cấy đã có tác dụng tích cực đến chiều cao cây, số lá và sự hình thành rễ từ chồi *in vitro*. Tại thời điểm 6 tuần sau nuôi cấy, cây con ở nồng độ 1 mg/l IBA và 0,5 mg/l PAA sinh trưởng tốt nhất, các chỉ tiêu chiều cao cây, số lá/cây, số rễ/cây, chiều dài rễ đạt tương ứng là 6,5 cm; 5,3 lá/cây; 7,3 rễ/cây; 2,87 cm (ở công thức bổ sung 1 mg/l

IBA) và 6,16 cm; 5,18 lá/cây; 6,5 rễ/cây; 2,46 cm (ở công thức bổ sung 0,5 mg/l PAA), cao hơn hẳn so với đối chứng không bổ sung (chiều cao cây chỉ đạt 3,5-3,53 cm; số lá 3,0 lá/cây; số rễ 2,5 rễ/cây và chiều dài rễ 1,1-1,12 cm).

Bảng 6. Ảnh hưởng của IBA và PAA đến khả năng tạo rễ và sinh trưởng của chồi *in vitro* (sau 6 tuần nuôi cấy).

Nồng độ IBA (mg/l)	Nồng độ PAA (mg/l)	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
0,0 (Đ/C)	-	3,50 c	3,00 c	2,50 e	1,12 c
0,5	-	5,30 b	4,20 b	6,20 b	2,13 ab
1,0	-	6,50 a	5,30 a	7,30 a	2,87 a
1,5	-	5,00 b	4,08 b	4,90 c	1,92 b
2,0	-	4,60 b	4,00 b	3,70 d	1,26 bc
LSD (0,05)		0,93	0,6	0,32	0,74
-	0,0 (Đ/C)	3,53 c	3,00 c	2,50 e	1,10 bc
-	0,5	6,16 a	5,18 ab	6,50 a	2,46 a
-	1,0	5,42 ab	5,46 a	5,40 b	2,00 ab
-	1,5	5,10 b	5,08 b	4,50 c	1,30 bc
-	2,0	4,20 c	5,02 b	3,60 d	0,92 c
LSD (0,05)		0,79	0,35	0,34	0,91

Trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Tuy nhiên, khi tăng nồng độ IBA trên 1 mg/l và PAA trên 0,5 g/l kết quả có chiều ngược lại: Số rễ giảm, rễ mảnh và ngắn và như vậy, ngưỡng nồng độ 1,0 mg/l với IBA và 0,5 g/l với PAA được coi là phù hợp.

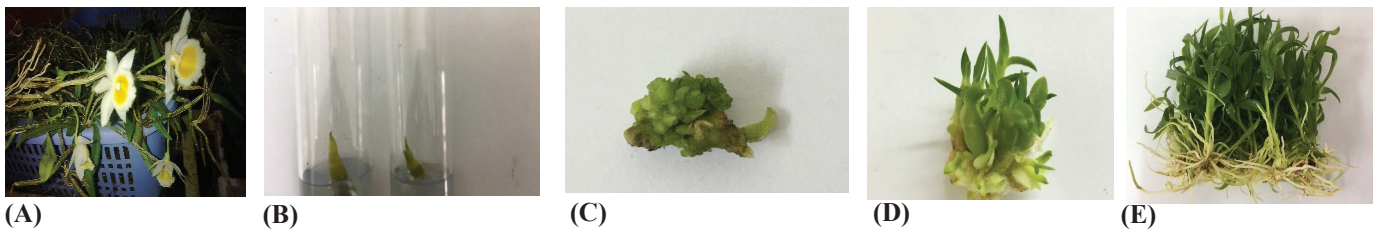
Kết luận

Qua nghiên cứu từng giai đoạn cho thấy:

- Giai đoạn tạo PLBs: Môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 1,5 mg/l BA phù hợp nhất cho việc nuôi cấy lát cắt mỏng chồi *in vitro* (1,0-1,5 mm), sau 6 tuần nuôi cấy đạt 52% tTCL phát sinh PLBs với 30,1 PLBs/tTCL.

- Giai đoạn tái sinh chồi: Môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than hoạt tính + 2 g/l peptone + 1,5 mg/l BA + 0,5 mg/l IBA + 30 g/l dịch nghiền bí ngô + 1 g/l tảo *Spirulina* có tác dụng tốt làm tăng số lượng chồi và chiều cao chồi *in vitro* nhận từ cụm PLBs (3-4 mm). Sau 8 tuần nuôi cấy 16,82 chồi/mẫu được hình thành với chiều cao chồi đạt 6,14 cm.

- Giai đoạn tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh: Môi trường VW + 20 g/l sucrose + 10% nước dừa + 7 g/l agar + 1,0 g/l than



Hình 1. Nuôi cấy lát mỏng tế bào lan Hoàng thảo Nghệ tây (*Dendrobium loddigesii* Rolfe) (A) Cây lan Hoàng thảo Nghệ tây; (B) Chồi nảy mầm từ đỉnh sinh trưởng; (C) Cắm ứng PLBs từ lát mỏng tế bào (tTCL); (D) Tái sinh chồi từ PLBs; (E) Cây *in vitro* hoàn chỉnh.

hoạt tính + 1 mg/l IBA đem lại hiệu quả tốt nhất trong tạo cây *in vitro* lan Nghệ tây hoàn chỉnh, sau 6 tuần nuôi cấy, cây con có chiều cao 6,5 cm với 5,3 lá/cây, 7,3 rễ/cây và chiều dài rễ 2,87 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Tiến Bản (chủ biên) (2005), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, **3**, tr.574.
- [2] L. Averyanov, A. Averyanova (2005), "Rare species of orchids (Orchidaceae) in the flora of Vietnam", *Turczaninowia*, **8(1)**, p.60.
- [3] A.C. Tsai, S.L. Pan, C.H. Liao, J.H. Guh, S.W. Wang, H.L. Sun, Y.N. Liu, C.C. Chen, C.C. Shen, Y.L. Chang, C.M. Teng (2010), "Moscatilin, a bibenzyl derivative from the India orchid *Dendrobium loddigesii*, suppresses tumor angiogenesis and growth *in vitro* and *in vivo*", *Cancer Lett.*, **292(2)**, pp.163-170.
- [4] J.P. Zhang, X.L. Zheng, J.Z. Hong, J.C. Chen, Y.Y. Zheng, J.Z. Xin, Q.Y. Wang, K.D. Zhu, X.N. Wang, H. Shi (2011), "*Dendrobium* compound in treating 90 caes of type 2 diabetes memtus", *J. Fujian Univ. TCM*, **21**, pp.6-10.
- [5] Nguyễn Thanh Tùng, Lê Văn Điệp, Nguyễn Minh Trung, Trương Thị Bích Phượng (2010), "Áp dụng phương pháp nuôi cấy lát mỏng tế bào trong nhân giống *in vitro* cây lan Hoàng thảo Thân gầy (*Dendrobium aduncum*)", *Tạp chí Công nghệ sinh học*, **8(3)**, tr.361-367.
- [6] Tatjana Rakcejeva, Ruta Galoburda, Liga Cude, Envija Strautniece (2011), "Use of dried pumpkins in wheat bread production", *Procedia Food Science*, pp.441-447.
- [7] B. Dal, Z.S. Gerencsér, Z.S. Szendrő, C. Mugnai, M. Cullere, S. Ruggeri, S. Mattioli, C. Castellini, A. Dalle Zotte (2014), "Effect of dietary supplementation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and *Thyme* (*Thymus vulgaris*) on rabbit meat appearance, oxidative stability and fatty acid profile during retail display", *Meat Sci.*, **96 (1)**, pp.114-119.