

HIỆU QUẢ CỦA CHITOSAN LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA CỤM CHỒI VÀ CÂY CON LAN HỒ ĐIỆP (*PHALAEOPSIS SP.*) *IN VITRO*

Lê Hồng Giang và Nguyễn Bảo Toàn¹

ABSTRACT

Phalaenopsis sp., one of beautiful flower species of Orchid family, is cultivated for cutting and decorating in houses. Chitosan, which was extracted from the cell walls of crustacean exoskeletons, was reported as an efficient substance for the plant growth including orchids. Objectives of this study were to determine effects of chitosan at different concentrations on growth of *in vitro* *Phalaenopsis* shoot clumps and plantlets. Results obtained showed that the complement of chitosan 5-25 mg/l was effective for the growth of shoot clumps, which obtained number of shoots, relative increasing height and ratio of root formation at high values. As regards plantlet culture, the concentrations of chitosan 15 mg/l and 25 mg/l improved considerably height and new root formation of plantlets at 70 days after cultured.

Keywords: *Phalaenopsis sp.*, chitosan, shoot clump, plantlet, root formation

Title: Effects of chitosan on *in vitro* growth of shoot clumps and plantlets of *Phalaenopsis*

TÓM TẮT

Lan Hồ điệp (*Phalaenopsis sp.*) là một trong những loài hoa đẹp của Họ Lan, được trồng dùng làm hoa cắt cành hoặc trang trí trong nhà. Chitosan, chiết xuất từ vỏ của các loài giáp xác được báo cáo là chất có hiệu quả cho sự sinh trưởng của thực vật, trong đó có lan. Mục đích của nghiên cứu này là xác định hiệu quả của chitosan ở các nồng độ khác nhau lên sự sinh trưởng của cụm chồi và lan con Hồ điệp *in vitro*. Kết quả đạt được cho thấy sự bổ sung chitosan 5-25 mg/l có hiệu quả cho sự sinh trưởng của cụm chồi với số chồi, chiều cao chồi gia tăng tương đối và tỷ lệ tạo rễ đều đạt các giá trị cao. Đối với nuôi cấy cây lan con, nồng độ chitosan 15 mg/l và 25 mg/l cải thiện đáng kể chiều cao và sự hình thành rễ mới của cây con ở 70 ngày sau khi cấy.

Từ khóa: *Phalaenopsis sp.*, chitosan, cụm chồi, cây con, sự hình thành rễ

1 GIỚI THIỆU

Lan Hồ điệp (*Phalaenopsis amabilis* Blume) là một loài hoa có giá trị kinh tế cao. Hoa có nhiều màu sắc trang nhã, kiểu dáng cây đẹp nên được nhiều người ưa chuộng trồng để trang trí trong nhà, làm hoa cắt cành. Do nhu cầu ngày càng cao nên việc nghiên cứu về nhân giống lan Hồ điệp thông qua nuôi cấy *in vitro* là rất cần thiết. Phương pháp này có thể tạo ra được số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn, chất lượng cây con đồng nhất. Gần đây, chitosan, chất dẫn xuất khử acetyl (deacetylated) của chitin có nguồn gốc từ vách tế bào của nấm, vỏ của các loài giáp xác, biểu bì của côn trùng và một số loài tảo đã được ứng dụng nhiều trong nông nghiệp như là chất thân thiện với môi trường vì nó dễ dàng phân hủy và không ảnh hưởng sức khỏe con người. Chitosan và các dẫn xuất của nó là đáp ứng

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

tự vệ của thực vật và được sử dụng như là hợp chất tự nhiên để chống lại các bệnh tiền và sau thu hoạch (Uthairatanakij *et al.*, 2007). Thêm vào đó, nhiều báo cáo cho thấy chitosan giúp gia tăng sự sinh trưởng của cây trồng. Mới đây, chitosan được ghi nhận là chất kích thích sinh trưởng ở một số loài thực vật, trong đó có cây lan. Trong nhân giống *in vitro*, chitosan đã được sử dụng và có hiệu quả cải thiện chất lượng cây con, góp phần tạo điều kiện thuận lợi cho sự thuần dưỡng cây con ở điều kiện *ex vitro* (Nge *et al.*, 2006). Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng và phát triển của lan *Dendrobium* dưới dạng phun lên cây trồng bên ngoài cũng như bổ sung vào môi trường nuôi cấy *in vitro* đã được báo cáo (Chandrkrachang, 2002; Limpanavech *et al.* 2003, Nge *et al.*, 2006). Trên lan Hồ điệp chưa thấy có nghiên cứu nào liên quan đến chitosan. Do đó đề tài “*Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng của cụm chồi và cây con lan Hồ điệp in vitro*” được thực hiện nhằm mục đích xác định nồng độ chitosan bổ sung vào môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự sinh trưởng của cụm chồi và cây con lan Hồ điệp.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Cụm chồi và cây con lan Hồ điệp giống lai có hoa màu vàng được nuôi cấy ở phòng Cây mô, Bộ môn Sinh lý Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là môi trường đa vi lượng theo Murashige và Skoog (1962), có hàm lượng khoáng đa lượng giảm 1/2 (ký hiệu là 1/2MS), bổ sung các thành phần như đường sucrose (20 g/l), than hoạt tính (1 g/l), agar (8 g/l) và chitosan ở các nồng độ khác nhau. Chitosan dùng trong thí nghiệm có nguồn gốc của công ty Wako Pure Chemical Industries Ltd. (Japan), có trọng lượng phân tử từ 2.000-5.000 Da, mức độ khử acetyl 80%, được hòa tan bằng dung dịch acetic acid 2%. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 và được hấp khử trùng ở 1210C, áp suất 1 atm trong 20 phút.

2.2.2 Điều kiện nuôi cấy

Mẫu nuôi cấy được đặt trong phòng Cây mô của Trại nghiên cứu và Thực nghiệm nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, có điều kiện nhiệt độ khoảng 29-340C, cường độ ánh sáng trung bình 2.000 lux và ẩm độ trung bình 65%.

2.2.3 Bố trí thí nghiệm

- (a) Thí nghiệm 1: Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ điệp *in vitro*

Cụm chồi lan Hồ điệp được tách thành những cụm nhỏ có số chồi trung bình 0,3-0,4 chồi, chiều cao trung bình 0,5-0,6 cm và cấy vào môi trường 1/2MS có bổ sung chitosan với các nồng độ 0, 5, 15, 25 mg/l.

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi và chiều cao gia tăng tương đối của cụm chồi (%), tỷ lệ tạo rễ (%).

(b) Thí nghiệm 2: Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng của cây con lan Hồ điệp *in vitro*

Cây con lan Hồ điệp được tách ra từ cụm chồi thành những cây độc lập có chiều cao từ 1-1,5 cm, có 1-2 rễ và mang 1-2 lá. Cây con được cấy vào môi trường 1/2MS có bổ sung chitosan 0, 5, 15, và 25 mg/l.

Cả hai thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên một nhân tố với 4 nghiệm thức, 6 lần lặp lại và mỗi lần lặp lại là 1 keo chứa 4 mẫu cấy.

Chỉ tiêu theo dõi: Chiều cao gia tăng tương đối (%), số lá gia tăng tương đối (%), tỷ lệ tạo rễ mới (%).

Giá trị gia tăng tương đối được tính như sau:

$$(Giá\ trị\ sau - giá\ trị\ đầu) / giá\ trị\ đầu \times 100$$

2.2.4 Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel và phần mềm thống kê MSTATC, kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 1% và 5%.

Các số liệu là tỷ lệ phần trăm biến động từ 0-100% được chuyển đổi sang dạng $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ (Gomez và Gomez, 1984).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ Điệp *in vitro*

3.1.1 Số chồi gia tăng tương đối (%)

Kết quả Bảng 1 cho thấy ở thời điểm 20 ngày sau khi cấy (NSKC) giữa các nghiệm thức có bổ sung chitosan và nghiệm thức đối chứng khác biệt không có ý nghĩa thống kê về số chồi gia tăng tương đối.

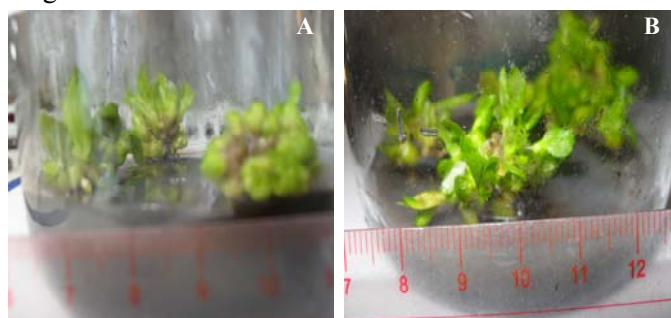
Bảng 1: Hiệu quả của chitosan lên số chồi gia tăng tương đối (%) của cụm chồi lan Hồ điệp theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Số chồi ban đầu	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
		20	30	40	50	60	70
0	0,4	91,7	125,0b	183,3b	200,0 b	266,7 b	266,7b
5	0,3	150,0	225,0ab	291,7ab	333,3ab	425,0ab	541,7a
15	0,3	200,0	316,7 a	383,3 a	466,7 a	550,0 a	666,7a
25	0,4	191,7	308,3 a	383,3 a	475,0 a	508,3 a	583,3a
F		ns	*	*	**	*	**
CV (%)		55,5	43,8	36,5	38,1	33,1	28,1

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê; (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Ở các thời điểm 30, 40, 50 và 60 NSKC, nghiệm thức có bổ sung chitosan 15 và 25 mg/l có sự khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa 5% hay 1%, nhưng khác biệt không có ý nghĩa so với với nồng độ 5 mg/l. Đến 70 NSKC, số chồi tiếp tục gia tăng ở các nghiệm thức, đặc biệt là ở các nghiệm thức bổ sung chitosan. Số

chồi gia tăng tương đối đạt giá trị cao (541,7-666,7%) ở các nồng độ có bổ sung chitosan so với nghiệm thức đối chứng chỉ có 266,7% (Hình 1). Tuy nhiên, giữa các nồng độ chitosan bổ sung 5, 15 và 25 mg/l, sự gia tăng số chồi khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 1: Sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ điệp trên môi trường 1/2MS đối chứng (A), 1/2MS + Chitosan 25 mg/l (B) ở 70 ngày sau khi cấy

3.1.2 Chiều cao gia tăng tương đối (%)

Bảng 2 cho thấy ở thời điểm 20 NSKC chiều cao gia tăng tương đối của cụm chồi ở các nghiệm thức có bổ sung chitosan đạt từ 58,1-60,7%, có hiệu quả khác biệt ở mức ý nghĩa 1% so với nghiệm thức đối chứng (chỉ đạt 44,6%). Nồng độ chitosan 5, 15 và 25 mg/l cho hiệu quả khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Chiều cao của cụm chồi tiếp tục gia tăng theo thời gian đến 70 NSKC, giữa các nồng độ chitosan cho kết quả khác biệt không có ý nghĩa thống kê, nhưng có khác biệt so với đối chứng ở mức ý nghĩa 1%. Chiều cao gia tăng tương đối đạt giá trị cao ở các nồng độ chitosan từ 5-25 mg/l (209,7-226,1%) so với đối chứng (145,6%).

Bảng 2: Hiệu quả của chitosan lên chiều cao gia tăng tương đối (%) của cụm chồi lan Hồ điệp *in vitro* theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Chiều cao ban đầu (cm)	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
		20	30	40	50	60	70
0	0,5	44,6 b	71,3 b	85,61 b	113,1 b	131,4 b	145,6 b
5	0,6	58,1 a	84,6 a	115,7 a	150,3 a	177,6 a	209,7 a
15	0,5	58,7 a	88,3 a	119,0 a	159,0 a	186,7 a	217,3 a
25	0,5	60,7 a	87,1 a	116,9 a	160,8 a	193,8 a	226,1 a
F		**	**	*	*	*	**
CV (%)		9,1	9,6	16,5	17,7	18,0	17,9

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.1.3 Tỷ lệ tạo rễ (%)

Đối với tỷ lệ tạo rễ, ở 20 NSKC, cụm chồi lan Hồ điệp có sự hình thành rễ. Tuy nhiên, chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức cho đến 70 NSKC. Ở thời điểm này, tỷ lệ tạo rễ có sự khác biệt giữa các nghiệm thức có bổ sung chitosan so với đối chứng ở mức ý nghĩa 1%. Tỷ lệ tạo rễ đạt giá trị cao nhất là 74,9% ở nồng độ chitosan 25 mg/l. Tuy nhiên, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chitosan 5 mg/l và 15 mg/l với tỷ lệ tạo rễ lần lượt là 66,6% và 70,8%. Nghiệm thức đối chứng chỉ đạt 29,2% (Bảng 3).

Bảng 3: Hiệu quả của chitosan lên tỷ lệ tạo rễ (%) của cụm chồi lan Hồ điệp theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
	20	30	40	50	60	70
0	12,5	12,5	16,7	20,8	20,8	29,2 b
5	16,7	20,9	29,2	37,5	62,5	66,6 a
15	16,6	16,7	29,2	41,7	62,5	70,8 a
25	16,6	25,0	33,3	41,7	62,5	74,9 a
F	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	**
CV (%)	83,58	82,32	51,88	41,75	56,08	35,81

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê; (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Các kết quả đạt được ở trên cho thấy chitosan có hiệu quả lên sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ điệp. Cụm chồi có sự gia tăng số chồi, chiều cao chồi và tỷ lệ tạo rễ ở môi trường có bổ sung chitosan, khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Nge *et al.* (2006) cũng sử dụng chitosan trong nuôi cấy protocorm lan *Dendrobium phalaenopsis* với sự tái sinh đạt được tối ưu (5-7 cây con, trong 12 tuần) ở nồng độ 20 ppm. Theo Uthairatanakij *et al.* (2007), mức độ khử acetyl và nồng độ chitosan có hiệu quả khác nhau lên sự sinh trưởng và phát triển của lan nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, các nồng độ chitosan xử lý từ 5-25 mg/l trong thí nghiệm này cho hiệu quả lên sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ điệp khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.2 Hiệu quả của chitosan lên sự sinh trưởng của cây con lan Hồ Điệp *in vitro*

3.2.1 Chiều cao gia tăng tương đối (%)

Từ kết quả đạt được ở Bảng 4 cho thấy chiều cao của cây con lan Hồ điệp có sự gia tăng theo thời gian nuôi cấy nhưng không có sự khác biệt về mặt thống kê giữa các nghiệm thức ở giai đoạn đầu đến 40 NSKC. Ở 50 NSKC, nồng độ chitosan 15 mg/l cho chiều cao chồi gia tăng cao nhất trong các nghiệm thức với 52,7%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với đối chứng 38,2% và nghiệm thức chitosan 5 mg/l là 41,7%. Nồng độ chitosan cao 25 mg/l cho chiều cao gia tăng tương đối là 48,2% khác biệt không có ý nghĩa so với nồng độ 15 mg/l (52,7%).

Chiều cao chồi tiếp tục gia tăng đến 70 NSKC. Nồng độ chitosan 15 và 25 mg/l cho chiều cao chồi gia tăng tương đối cao nhất (67,4% và 66,5%), khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% so với đối chứng (51,7%). Nghiệm thức 5 mg/l chitosan khác biệt không có ý nghĩa so với đối chứng.

Bảng 4: Hiệu quả của chitosan lên chiều cao gia tăng tương đối (%) của cây con lan Hồ điệp *in vitro* theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
	20	30	40	50	60	70
0	17,4	25,7	33,9	38,2 b	44,8 c	51,7 b
5	19,3	28,3	36,0	41,7 b	47,7 bc	54,8 b
15	22,6	33,2	44,2	52,7 a	59,5 a	67,4 a
25	21,0	31,6	39,2	48,2 ab	57,1 ab	66,5 a
F	ns	ns	ns	**	**	**
CV (%)	19,5	20,07	16,8	13,8	12,1	11,2

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê; (**): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.2.2 Số lá gia tăng tương đối (%)

Kết quả Bảng 5 cho thấy nồng độ chitosan bổ sung vào môi trường 1/2MS từ 5-15 mg/l không có ảnh hưởng lên sự gia tăng số lá của cây con lan Hồ điệp. Ở 20 NSKC, số lá gia tăng tương đối ở các nghiệm thức bổ sung chitosan đạt từ 28,3%-31,9% và gia tăng đến khoảng 117%-120,7% ở 70 NSKC nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhau và so với nghiệm thức đối chứng (đạt 19,8% ở 20 NSKC và gia tăng đến 82,2% ở 70 NSKC).

Bảng 5: Hiệu quả của chitosan lên số lá gia tăng tương đối (%) của cây con lan Hồ điệp *in vitro* theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
	20	30	40	50	60	70
0	19,8	40,6	55,8	61,9	70,4	82,2
5	28,3	45,3	59,0	80,6	92,8	120,7
15	28,9	51,4	66,8	87,1	95,8	119,2
25	31,9	56,8	68,7	91,3	101,6	117,0
F	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	63,1	42,9	43,3	44,9	41,7	34,4

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê

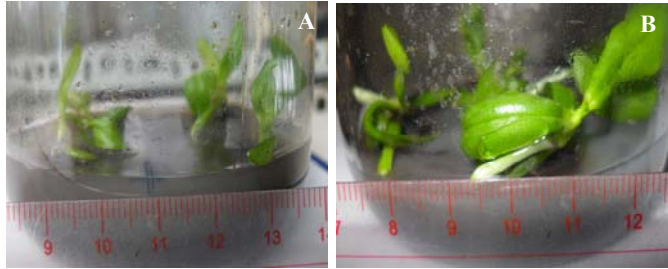
3.2.3 Tỷ lệ tạo rễ mới (%)

Sự tạo rễ mới của cây con khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở thời điểm từ 20-40 NSKC. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% giữa các nghiệm thức bổ sung chitosan so với đối chứng về tỷ lệ tạo rễ mới được nhận thấy ở 50 NSKC (Bảng 6). Tỷ lệ tạo rễ cao nhất ở thời điểm này là 50% ở nồng độ chitosan 25 mg/l. Tuy nhiên, không khác biệt so với nghiệm thức 5 và 15 mg/l. Ở 70 NSKC, tỷ lệ tạo rễ mới có sự gia tăng ở tất cả các nghiệm thức. Trong đó, sự bổ sung chitosan có hiệu quả khác biệt lên sự tạo rễ mới so với nghiệm thức đối chứng (Hình 2). Nồng độ chitosan 25 mg/l cho hiệu quả tạo rễ mới cao nhất, với 83,3%, khác biệt có ý nghĩa 5% so với đối chứng là 33,3%. Tuy nhiên, tỷ lệ tạo rễ mới ở các nồng độ chitosan 5, 15 và 25 mg/l khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 6: Hiệu quả của chitosan lên tỷ lệ tạo rễ mới (%) của cây con lan Hồ điệp *in vitro* theo thời gian nuôi cấy

Nồng độ chitosan (mg/l)	Thời gian nuôi cấy (ngày)					
	20	30	40	50	60	70
0	12,5	12,5	12,5	20,9 b	29,2	33,3 b
5	25,0	33,3	41,6	41,7 a	58,3	66,7 a
15	16,6	25,0	37,5	41,7 a	62,5	66,7 a
25	29,2	37,5	37,5	50,0 a	70,8	83,3 a
F	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	*	<i>ns</i>	*
CV (%)	83,2	66,2	48,4	44,6	54,0	37,2

Ghi chú: Trong cùng 1 cột những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD; (*ns*): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê; (*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 2: Sự tạo rễ mới của cây con lan Hồ điệp trên môi trường 1/2MS đối chứng (A), 1/2MS + Chitosan 15 mg/l (B) ở 70 ngày sau khi cấy

Nhìn chung, mặc dù sự gia tăng số lá khác biệt không có ý nghĩa thống kê nhưng chitosan có hiệu quả khác biệt lên sự gia tăng chiều cao và sự hình thành rễ của cây con lan Hồ điệp so với đối chứng. Nghiên cứu trên cây khoai tây (*Solanum tuberosum* L.) của Asghari-Zakaria *et al.* (2009) cũng cho kết quả rằng sử dụng chitosan nồng độ 5 và 15 mg/l có hiệu quả giúp gia tăng trọng lượng tươi và trọng lượng khô của rễ cây con. Barka *et al.* (2004) đã ghi nhận môi trường nuôi cấy bổ sung dung dịch chitosan (chitogel) 1,75% (v/v) giúp gia tăng sinh khối chồi và rễ, sự quang hợp của cây nhỏ nuôi cấy *in vitro*. Kết quả thí nghiệm này cho thấy môi trường 1/2MS bổ sung chitosan 15 mg/l hoặc 25 mg/l có hiệu quả trong nuôi cấy giai đoạn tiền thuần dưỡng cây con lan Hồ điệp, góp phần tạo điều kiện thuận lợi cho sự thuần dưỡng cây con khi đưa ra trồng ở nhà lưới.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

- Môi trường 1/2MS bổ sung chitosan 5-25 mg/l có hiệu quả lên sự sinh trưởng của cụm chồi lan Hồ điệp với số chồi, chiều cao chồi gia tăng tương đối và tỷ lệ tạo rễ đều đạt các giá trị cao.
- Nồng độ chitosan 15 mg/l và 25 mg/l có hiệu quả lên sự gia tăng chiều cao và sự hình thành rễ mới của cây con lan Hồ điệp *in vitro*, với chiều cao gia tăng tương đối đạt 67,4% và 66,5%, tỷ lệ tạo rễ mới đạt 66,7% và 83,3% tương ứng ở 70 NSKC.

4.2 Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu giai đoạn thuần dưỡng cây con lan Hồ điệp *in vitro* trong điều kiện nhà lưới để hoàn thiện quy trình nghiên cứu về vi nhân giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Asghari-Zakaria R., B. Maleki-Zanjani, E. Sedghi. 2009. Effect of *in vitro* chitosan application on growth and minituber yield of *Solanum tuberosum* L. *Plant Soil Environ*, 55 (6), pp. 252–256.
- Barka E. A., Eullaffroy P., Clement C., Vernet G. 2004. Chitosan improves development and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*, 22, pp. 608-614.
- Chandrkrachang S. 2002. The applications of chitin in agriculture in Thailand. *Advances in Chitin Science*, 5, pp. 458-462.
- Gomez Kwanchai A. and Arturo A. Gomez. 1984. *Statistical procedures for agricultural research*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 306-308.
- Limpanavech P., Pichyangkura R., Khunwasi C., Chadchawan S., Lotrakul P., Bunjongrat P., Chaidee A., Akaraekpanya T. 2003. The effects of polymer type, concentration and %DD of bicatalyte modified chitosan on flora production of *Dendrobium* 'Eiskul'. National chitin-chitosan conference July 17-18, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, pp. 60-64.
- Murashige T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.*, 15, pp. 473 - 74.
- Nge K. L., N. New, S. Chandkrachang, and W. F. Stevens. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science*, 170, pp. 1185–1190.
- Uthairatanakij A., Jaime A. Teixeira da Silva, and K. Obsuwan. 2007. Chitosan for Improving Orchid Production and Quality. *Orchid Science and Biotechnology*, 1(1), pp. 1-5.