

# KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG CỦA NANOCHITOSAN ĐỐI VỚI CÂY LAN GIẢ HẠC (*Dendrobium anosmum* Lindl, 1845)

Thái Ngọc Huyền Trân<sup>1</sup>,  
Phạm Thị Minh Thu<sup>1</sup>, Trịnh Thanh Kiều<sup>2</sup>,  
Phạm Hữu Thanh Việt<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Hòa<sup>4</sup>,

## TÓM TẮT

**Title:** *Nanochitosan acts as a growth promotor in orchid plant (*Dendrobium anosmum* Lindl, 1845)*

**Từ khóa:** *Nanochitosan; lan giả hạc; *dendrobium anosmum* lindl, 1845; kích thích sinh trưởng*

**Keywords:** *Nanochitosan; orchid; *dendrobium anosmum* lindl, 1845; growth simulant*

### Lịch sử bài báo:

Ngày nhận bài: 15/11/2020;  
Ngày nhận kết quả bình duyệt: 05/12/2020;  
Ngày chấp nhận đăng bài: 7/12/2020.

### Tác giả:

<sup>1</sup>Trường Đại học Nha Trang

<sup>2</sup>Trường Đại học Yersin

<sup>3</sup>Trường Đại học Đà Lạt

<sup>4</sup>Trường Đại học Nha Trang

**Email:** [hoanv@ntu.edu.vn](mailto:hoanv@ntu.edu.vn)

Nghiên cứu này tìm ra dung dịch nanochitosan với nồng độ và thời gian sử dụng thích hợp trong quá trình xử lý giá thể và sự sinh trưởng của cây lan con Giả hạc (*Dendrobium anosmum* Lindl, 1845) ngoài vườn ươm. Các cây con giả hạc sử dụng có chiều cao thân từ 1,5 - 4 cm, số lá từ 2-5 lá, số rễ ít nhất 2 rễ. Cây con sau khi xử lý được trồng vào chậu chứa giá thể (đã qua xử lý) được đặt trong vườn ươm với ánh sáng, độ ẩm được điều chỉnh phù hợp với đặc điểm sinh lý của loài lan này. Kết quả cho thấy, điều kiện xử lý và chăm sóc cây lan cho kết quả tốt nhất là: (i) ngâm giá thể trong dung dịch nanochitosan nồng độ 50 ppm trong 14 giờ, (ii) cây lan con được ngâm trong dung dịch nanochitosan nồng độ 20 ppm trong 22 phút, (iii) phun dung dịch nanochitosan nồng độ 20 ppm định kỳ 8 ngày/lần hoặc 12 ngày/lần. Nghiên cứu đã đề xuất sử dụng một chế phẩm sinh học và cách sử dụng trong trồng cây lan Giả hạc ở điều kiện in vitro.

## ABSTRACT

This study presents the best concentration and spraying schedule of the nanochitosan solution for pretreatment and culture of *Dendrobium anosmum* Lindl, 1845 in vitro. The baby orchids have a height of 1.5 – 4.0 cm, 2 – 5 leaves, and a minimum 2 roots. The pretreated orchids were attached to the pretreated substrates and located in a garden with proper conditions, such as the sunlight, moisture, temperature. The results show that the best conditions include three steps (không có trên bản tiếng Việt): (i) soaking the substrate in 50 ppm nanochitosan solution for 14 h, (ii) soaking the initial orchids 20 ppm nanochitosan solution for 22 min, (iii) spraying 20 ppm nanochitosan solution for one per 8 days or 12 days. This study proposes the use of a biomaterial (bio-product or bio-formulation) and its loadings (application?) in the culture of *Dendrobium anosmum* Lindl in vitro.

## 1. Tổng quan

Cây lan là cây cho hoa tuyệt đẹp và được coi như cây hoa hoàng hậu trong các loài hoa Bưởi Bảo Lộc (2008)]. Với điều kiện khí hậu thuận lợi tại Việt Nam, việc trồng lan không chỉ cho mục đích thưởng ngoạn mà còn là mặt hàng xuất khẩu rất có triển vọng trong những năm gần đây (Nguyễn Công Nghiệp (2004) và Trần Hợp (1998)). Lan Giả hạc (*Dendrobium anosmum*) thích hợp sống trong điều kiện khí hậu ôn hòa với độ ẩm trung bình cao và phân bố nhiều ở Đông Nam Á và Châu Úc. Tại Việt Nam, lan Giả hạc có thể được trồng từ cây cấy mô hoặc cây trưởng thành. Việc trồng cây trưởng thành có tỷ lệ sống cao, nhanh cho hoa. Tuy nhiên, giá thành của cây trưởng thành cao hơn rất nhiều so với cây cấy mô. Do đó, có nhiều nghiên cứu điều chế các chế phẩm khác nhau nhằm giúp cây cấy mô thích nghi với môi trường và có khả năng sinh trưởng cao (Uthaichay, N. (2007) Chuang, H. (2014) và Chen. Y.E. (2014)) . Tuy nhiên, hầu hết các chế phẩm này còn hạn chế như khả năng gây ô nhiễm môi trường hoặc/và gây hại đến sức khỏe của người sử dụng. Do đó, việc tìm ra một chế phẩm sinh học có khả năng kích thích sinh trưởng, kháng một số mầm bệnh, tự phân hủy sinh học và không độc hại là rất cần thiết (có chế phẩm sinh học nào đã được ứng dụng chưa? Và nhược điểm là gì để mình phải tiến hành đề tài này?).

Chitosan là một polyme tự nhiên, được chiết tách chủ yếu từ vỏ tôm, cua, ghẹ,... (Kumar M.N.R. (2000), Rinaudo, M. (2006), Pillai, C.K.S. (2009)). Chitosan không độc, có khả năng phân hủy sinh học, tương thích sinh học cao, có khả năng kháng khuẩn và kháng nấm và kích thích sinh trưởng (Dash, M. (2011) và Kheiri, A.S.A (2016)). Do đó, chitosan được nghiên cứu

và ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực như thực phẩm, nông nghiệp, xử lý môi trường, y dược và mỹ phẩm (Minh, N.C. (2017)). Tuy nhiên, chitosan lại không tan trong nước do mạch polyme dài và nhiều liên kết nội phân tử (Kheiri, A.S.A (2016)). Để tăng tính tan và khả năng phân bố trong nước, chitosan được cắt tạo dạng mạch ngắn (oligome) hoặc tạo hạt có kích thước nano. Khi ở dạng có kích thước siêu nhỏ (nanomet), chitosan có bề mặt lớn, tính linh động và khả năng thẩm thấu rất cao (thiếu trích dẫn). Do đó, các hoạt tính sinh học của chitosan dạng hạt nano sẽ được cải thiện đáng kể so với chitosan ban đầu (thiếu trích dẫn).

Xuất phát từ những lý do trên, trong nghiên cứu này, chitosan được chế tạo dưới dạng hạt nano (nanochitosan) (nên dùng chitosan nanoparticles) và thử nghiệm làm chất kích thích sinh trưởng cho cây lan Giả hạc ở giai đoạn sau nuôi cấy mô. Mục tiêu của nghiên cứu là tìm ra được nồng độ và tần suất phun dung dịch nanochitosan thích hợp nhất cho quá trình tiền xử lý giá thể, cây lan non và chăm sóc cây lan khi trồng tại vườn ươm.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

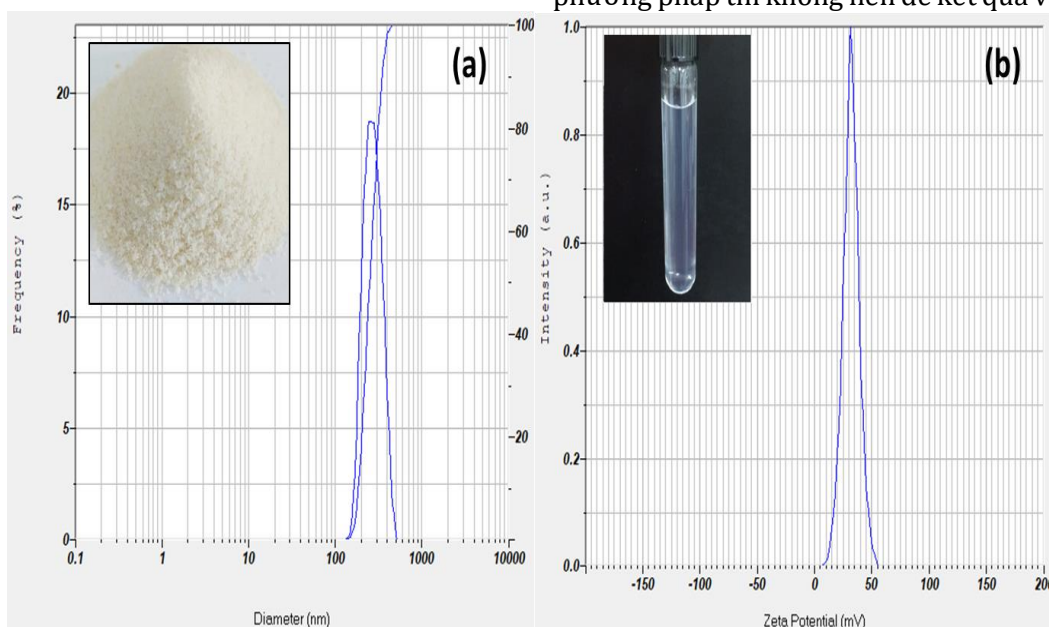
### 2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Cây lan Giả hạc được sử dụng là cây nuôi cấy mô 6 tháng tuổi, mua tại Trung tâm công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh. Cây được nuôi trong bình, có chiều cao 1,5 - 4 cm, số lá 2-5 lá, số rễ ít nhất 2 rễ. Chitosan được tách chiết từ vỏ tôm tại Phòng thí nghiệm Trường Đại học Nha Trang. Chitosan có dạng bột với khối lượng phân tử  $150 \pm 20$  kDa, độ deacetyl  $85 \pm 5\%$ , màu trắng ngà. Các hóa chất khác ở dạng tinh khiết (cấp độ) phân tích. Nước cất hai lần tại phòng thí nghiệm (nên bỏ).

## 2.2. Điều chế nanochitosan

Dung dịch nanochitosan được chế tạo bằng phương pháp tạo gel ion (trích dẫn). Hòa tan chitosan (200 mg) trong 100 ml dung dịch axit axetic 0,5% thu được dung dịch A. Hòa tan natri tripolyphosphat (TPP, 5 mg) trong 100 ml nước cất thu được dung dịch B. Nhỏ từ từ 20 ml dung dịch B vào 50 ml dung dịch A trong điều kiện khuấy với tốc độ tối thiểu 2000 vòng/phút (bằng thiết bị gì) thu được dung dịch nanochitosan.

Kích thước hạt và thế zeta của nanochitosan được xác định trên máy Nanoparticle Analyzer (SZ-100Z, Horiba, Nhật Bản). Nanochitosan thu được có kích thước hạt trung bình 268 nm và thế zeta +31,9 mV (Hình 1). Hình dạng của hạt nanochitosan được đo (xác định) trên (bằng) kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, Philips, CM-120). Kết quả cho thấy, hạt chitosan có kích thước khoảng 200 – 300 nm (Hình 2a) → Viết lại (đây là phần phương pháp thì không nên để kết quả vào).



**Hình 1.** (a) Kích thước hạt (bên trong là ảnh chụp bột chitosan), (b) thế zeta (bên trong là ảnh chụp dung dịch nanochitosan).

## 2.3. Xử lý giá thể

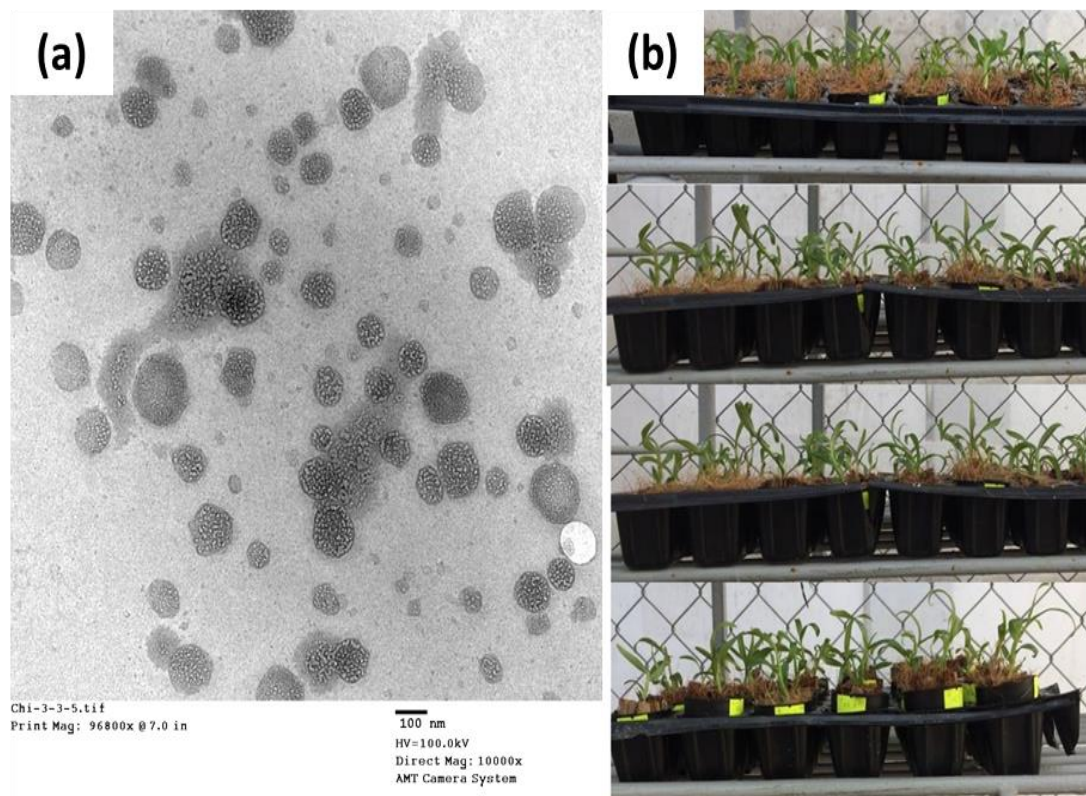
Nhằm tìm ra được nồng độ dung dịch và thời gian xử lý cho giá thể thích hợp để tăng sự thích nghi cho cây con lan, giá thể được ngâm trong các dung dịch với thời gian khác nhau. Thí nghiệm được bố trí với 18 nghiệm thức (mỗi nghiệm thức sử dụng 10 cây) gồm 2 nhân tố là các dung dịch (axit axetic 100 ppm, thuốc nấm Dithane 20 ppm, chitosan 100 ppm, nanochitosan 10

ppm, nanochitosan 50 ppm, nanochitosan 100 ppm) và thời gian xử lý (4, 14, 24 giờ). Các chỉ tiêu được theo dõi: mức tăng chiều cao thân, số rễ mới được tạo thành, tỉ lệ sống của cây. Chỉ tiêu đầu được lấy ở thời điểm 0, 5, 10, 15, 20, 30 ngày; 2 chỉ tiêu sau lấy ở thời điểm 0 và 30 ngày sau khi trồng cây vào giá thể.

## 2.4. Xử lý cây lan từ chai cấy mô

Mục tiêu là tìm ra được nồng độ dung dịch và thời gian xử lý thích hợp đối với cây lan non từ chai cấy mô để tăng sự thích nghi cho cây con lan tại vườn ươm. Thí nghiệm được bố trí với 18 nghiệm thức (mỗi nghiệm thức sử dụng 10 cây) gồm 2 nhân tố

là các dung dịch (axit axetic 40 ppm, thuốc nấm Dithane 20 ppm, chitosan 20 ppm, nanochitosan 4 ppm, nanochitosan 12 ppm, nanochitosan 20 ppm) và thời gian xử lý (2, 12, 22 phút).



**Hình 2.** (a) Ảnh TEM của nanochitosan và (b) các chậu cây lan trong vườn ươm.

Các chỉ tiêu được theo dõi: mức tăng chiều cao thân, số rễ mới được tạo thành, tỉ lệ sống của cây: chỉ tiêu đầu được lấy ở thời điểm 0, 5, 10, 15, 20, 30 ngày; 2 chỉ tiêu sau lấy ở thời điểm 0 và 30 ngày sau khi trồng cây vào giá thể.

### **2.5. Chăm sóc cây tại vườn ươm**

Mục đích của thí nghiệm là tìm ra được nồng độ dung dịch và tần suất phun thích hợp để tăng sự sinh trưởng cho cây con lan tại vườn ươm. Thí nghiệm được bố trí với 18 nghiệm thức (mỗi nghiệm

thức sử dụng 10 cây) gồm 2 nhân tố là các dung dịch (nước cất, axit axetic 20 ppm, chitosan 20 ppm, nanochitosan 4 ppm, nanochitosan 12 ppm, nanochitosan 20 ppm) và thời gian phun (4, 8, 12 ngày/lần). Các chỉ tiêu được theo dõi: mức tăng chiều cao thân, số chồi mới, số rễ mới, tỉ lệ sống của cây: 2 chỉ tiêu đầu được lấy ở thời điểm 0, 15, 30, 45, 60, 90 ngày; 2 chỉ tiêu sau lấy ở thời điểm 0 và 90 ngày sau khi trồng cây vào giá thể.

## 2.6. Xử lý số liệu

Các chỉ tiêu được theo dõi gồm: số lá mới được tạo thành so với cây khi trồng, mức tăng chiều cao thân (mm) cao thân được đo từ phần tiếp giáp giữa thân và bộ rễ đến đỉnh thân. Mức tăng chiều cao thân = (chiều cao thân thời điểm cuối) – (chiều cao thân thời điểm trồng). Tỷ lệ sống được tính bằng tỉ lệ giữa số cây sống/tổng số cây thí nghiệm  $\times 100\%$ . Tất cả số liệu của các thí nghiệm được thống kê bằng chương trình Excel của Microsoft Office 2010, được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai one-way ANOVA trên phần mềm SPSS 20 và dùng phép thử Duncan Multiple Range Test (DMRT) để so sánh kết quả của các nghiệm thức ở mức ý nghĩa 5%.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.4. Xử lý giá thể

Việc xử lý giá thể nhằm loại bỏ đi các vi sinh gây bệnh, các thành phần tanin và lignin trong xơ dừa, do đó giúp cây nhanh thích nghi và tăng tỷ lệ sống. Sau khi xử lý giá thể, tiến hành trồng cây vào giá thể và đem ra ngoài vườn ươm với điều kiện về ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm và đã được điều chỉnh phù hợp, có mái che bằng lưới lan và xả tràn nước dưới sàn. Đồng thời, tưới nước hằng ngày cho cây và theo dõi định kỳ và khảo sát định kỳ trong 30 ngày.

Bảng 1 trình bày đặc điểm của cây lan được trồng trong giá thể đã được xử lý bằng các tác nhân gồm axit axetic (aa), thuốc nấm Dithane M-45 (DT), chitosan (CTS) và nanochitosan (NCT) với thời gian xử lý khác nhau. Kết quả cho thấy,

tất cả các tác nhân xử lý đều cho tỷ lệ sống của cây rất cao. Tuy nhiên, số rễ mới và chiều cao của cây có sự khác nhau khi sử dụng các tác nhân khác nhau. Cụ thể, các cây được trồng trong giá thể xử lý bằng dung dịch chitosan và dung dịch nanochitosan có số rễ mới nhiều hơn và sự phát triển của cây tốt hơn so với việc xử lý giá thể bằng dung dịch axit axetic và dung dịch thuốc nấm. Điều này có thể được giải thích do tác dụng đồng thời các tính chất kháng khuẩn, kháng nấm cùng với khả năng kích thích sinh trưởng của chitosan đối với cây lan (Chandrkrachang, S (2005), Limpanavech, P (2003), Pornpeanpakdee (2006), Uthairatanakij, A. (2006), Win, N.K.K. (2005)). Trong khi, các dung dịch axit axetic và dung dịch thuốc nấm chỉ có tính chất kháng khuẩn và kháng nấm. Đối với cùng tác nhân sử dụng thì thời gian xử lý khác nhau (4, 14, 24 giờ) không ảnh hưởng nhiều đến sự sinh trưởng của cây lan. Đáng chú ý, dung dịch nanochitosan chỉ có tác dụng tốt khi ở nồng độ thấp 10 ppm và 50 ppm và cho tác dụng kém khi sử dụng nồng độ cao 100 ppm. Hiện tượng này cũng quan sát thấy trong một số nghiên cứu trước đây. Limpanavech và các cộng sự (2003) đã khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch chitosan (1, 10, 50, 100 ppm) đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây lan *Dendrobium Sonia Jo 'Eiskul'* (trích dẫn). Kết quả cho thấy, dung dịch chitosan chỉ có khả năng kích thích sinh trưởng với nồng độ dưới 50 ppm.

**Bảng 1.** Kết quả khảo sát việc xử lý giá thể trồng lan bằng các tác nhân khác nhau

| Nghiem thức      | Rễ mới                     | Chiều cao (mm)             | Tỉ lệ sống (%) |
|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------|
| NT1-aa-4h        | 0,60 ± 0,966 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 0,789 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT2-aa-14h       | 0,70 ± 0,949 <sup>ab</sup> | 2,10 ± 1,101 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT3-aa-24h       | 0,56 ± 0,882 <sup>ab</sup> | 1,90 ± 1,287 <sup>ab</sup> | 90             |
| NT4-DT-4h        | 0,50 ± 0,707 <sup>ab</sup> | 1,80 ± 1,135 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT5-DT-14h       | 0,11 ± 0,333 <sup>ab</sup> | 1,80 ± 1,619 <sup>ab</sup> | 90             |
| NT6-DT-24h       | 0,50 ± 0,850 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 1,229 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT7-CTS-4h       | 1,50 ± 1,080 <sup>bc</sup> | 2,50 ± 2,394 <sup>c</sup>  | 100            |
| NT8-CTS-14h      | 0,60 ± 0,966 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 1,398 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT9-CTS-24h      | 0,90 ± 1,197 <sup>ab</sup> | 2,50 ± 0,876 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT10-NCT-10-4h   | 0,60 ± 1,075 <sup>ab</sup> | 2,90 ± 0,738 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT11-NCT-10-14h  | 0,50 ± 0,707 <sup>a</sup>  | 3,00 ± 1,491 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT12-NCT-10-24h  | 0,90 ± 0,994 <sup>ab</sup> | 2,60 ± 0,700 <sup>a</sup>  | 100            |
| NT13-NCT-50-4h   | 0,40 ± 0,966 <sup>a</sup>  | 2,30 ± 0,949 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT14-NCT-50-14h  | 2,22 ± 1,481 <sup>c</sup>  | 2,40 ± 1,713 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT15-NCT-50-24h  | 0,80 ± 1,317 <sup>ab</sup> | 1,90 ± 0,110 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT16-NCT-100-4h  | 0,50 ± 0,850 <sup>ab</sup> | 2,10 ± 0,074 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT17-NCT-100-14h | 0,60 ± 0,966 <sup>ab</sup> | 1,40 ± 0,097 <sup>a</sup>  | 100            |
| NT18-NCT-100-24h | 0,50 ± 0,850 <sup>ab</sup> | 1,40 ± 0,143 <sup>a</sup>  | 100            |

### 3.5. Xử lý cây lan sau cấy mô

Kế thừa kết quả của thí nghiệm trong giai đoạn 1, sử dụng dung dịch nanochitosan 50 ppm trong quá trình xử lý giá thể. Cây con sau khi lấy ra khỏi bình nuôi cấy, rửa sạch agar, để ráo nước và tiến hành ngâm trong các dung dịch với thời gian khác nhau. Đây cũng là quá trình giúp cây nhanh thích nghi và tăng tỷ lệ sống sau thời kỳ cấy mô với điều kiện tiệt trùng cao. Sau khi

được xử lý, tiến hành trồng cây vào giá thể và đem ra ngoài vườn ươm với điều kiện về ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm và đã được điều chỉnh phù hợp, có mái che bằng lưới lan và xả tràn nước dưới sàn. Đồng thời, tưới nước hằng ngày cho cây và theo dõi định kỳ và khảo sát định kỳ trong 30 ngày.

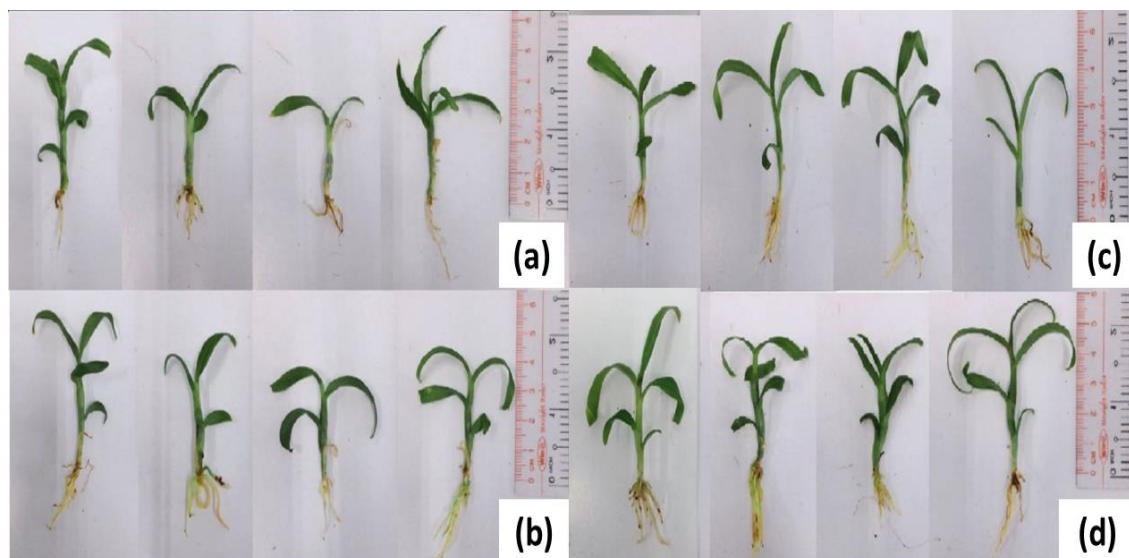
Bảng 2 trình bày đặc điểm của cây lan đã được xử lý bằng các dung dịch với thời gian xử lý khác nhau. Kết quả cho thấy, hầu

hết các tác nhân xử lý đều cho tỷ lệ sống của cây rất cao. Tuy nhiên, số rễ mới và chiều cao của cây có sự khác nhau khi sử dụng các tác nhân khác nhau. Trong đó, các cây được xử lý bằng dung dịch chitosan và dung dịch nanochitosan có nồng độ < 100 ppm cho số rễ mới nhiều hơn và sự phát triển của cây tốt hơn so với việc xử lý giá thể bằng dung dịch axit axetic, dung dịch thuốc nấm, nanochitosan 100 ppm. Điều này cũng có thể được giải thích do tác dụng bởi các tính chất kháng khuẩn, kháng nấm cùng với khả năng kích thích sinh trưởng của chitosan đối với

cây lan (Chandrkrachang, S (2005), Limpanavech, P (2003), Pornpeanpakdee (2006), Uthairatanakij, A. (2006), Win, N.K.K. (2005)). Thời gian xử lý khác nhau (2, 12, 22 phút) không ảnh hưởng nhiều đến sự sinh trưởng của cây lan. Tương tự ở trên, dung dịch nanochitosan chỉ có tác dụng tốt khi ở nồng độ thấp hơn 100 ppm. Hình 3 minh họa rõ hơn về ảnh chụp cây lan cấy ra chậu sau 30 ngày khi cây con được xử lý với các dung dịch trong thời gian 12 phút.

**Bảng 2.** Kết quả khảo sát việc xử lý cây lan non từ chai cấy mô bằng các tác nhân khác nhau.

| Nghiệm thức      | Rễ mới                    | Chiều cao (mm)            | Tỷ lệ sống (%) |
|------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|
| NT1-aa-2p        | 0,60 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 0,78 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT2-aa-12p       | 0,70 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 2,10 ± 0,10 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT3-aa-22p       | 0,56 ± 0,08 <sup>ab</sup> | 1,90 ± 0,28 <sup>ab</sup> | 90             |
| NT4-DT-2p        | 0,50 ± 0,07 <sup>ab</sup> | 1,80 ± 0,13 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT5-DT-12p       | 0,11 ± 0,03 <sup>ab</sup> | 1,80 ± 0,06 <sup>ab</sup> | 90             |
| NT6-DT-22p       | 0,50 ± 0,08 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 0,22 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT7-CTS-2p       | 1,50 ± 0,08 <sup>bc</sup> | 2,80 ± 0,39 <sup>c</sup>  | 100            |
| NT8-CTS-12p      | 0,60 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 2,20 ± 0,39 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT9-CTS-22p      | 0,90 ± 0,11 <sup>ab</sup> | 2,10 ± 0,87 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT10-NCT-10-2p   | 0,60 ± 0,07 <sup>ab</sup> | 2,90 ± 0,73 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT11-NCT-10-12p  | 0,50 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 3,00 ± 0,49 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT12-NCT-10-22p  | 0,90 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 2,60 ± 0,70 <sup>a</sup>  | 100            |
| NT13-NCT-50-2p   | 0,40 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 2,30 ± 0,94 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT14-NCT-50-12p  | 2,22 ± 0,48 <sup>c</sup>  | 2,40 ± 0,71 <sup>ab</sup> | 100            |
| NT15-NCT-50-22p  | 0,80 ± 0,03 <sup>ab</sup> | 1,90 ± 0,11 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT16-NCT-100-2p  | 0,50 ± 0,08 <sup>ab</sup> | 2,10 ± 0,07 <sup>bc</sup> | 100            |
| NT17-NCT-100-12p | 0,60 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 1,40 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 100            |
| NT18-NCT-100-22p | 0,50 ± 0,08 <sup>ab</sup> | 1,40 ± 0,14 <sup>a</sup>  | 100            |



**Hình 3.** Ảnh chụp cây lan cấy ra chậu sau 30 ngày khi cây con được xử lý với (a) dung dịch axit axetic 20 ppm, (b) thuốc nấm 20 ppm, (c) dung dịch nanochitosan 20 ppm, (d) dung dịch nanochitosan 10 ppm trong thời gian 12 phút.

### 3.6. Xử lý cây lan sau cấy mô

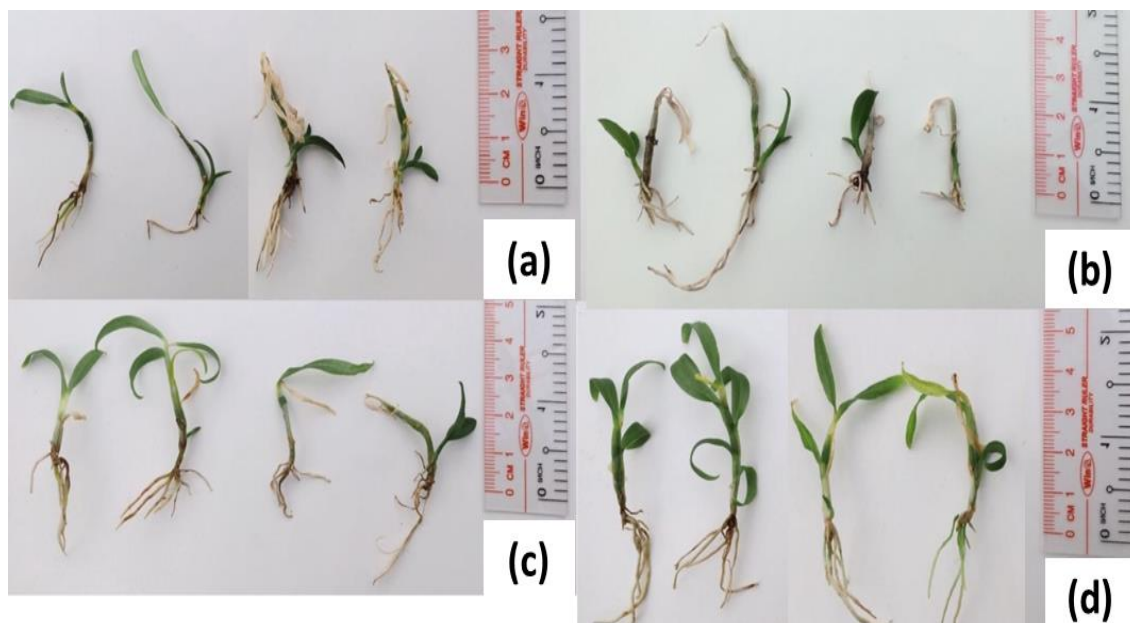
Dựa trên kết quả của thí nghiệm trong giai đoạn 1 và 2, sử dụng dung dịch nanochitosan 50 ppm và 10 ppm trong quá trình xử lý giá thể và cây lan non tương ứng. Sau khi được xử lý, tiến hành trồng cây vào giá thể và đem ra ngoài vườn ươm với điều kiện về ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm và đã được điều chỉnh phù hợp,

có mái che bằng lưới lan và xả tràn nước dưới sàn. Đồng thời, tưới nước hằng ngày cho cây và theo dõi định kì và khảo sát định kỳ trong 90 ngày.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát chăm sóc cây lan tại vườn ươm khi phun các tác nhân khác nhau

| Nghiệm thức | Rễ mới            | Chiều cao (mm)       | Độ dài chồi (mm)      | Tỉ lệ sống (%) |  |
|-------------|-------------------|----------------------|-----------------------|----------------|--|
| NT37-N-HN   | $0,88 \pm 0,09^a$ | $0,63 \pm 0,07^{ab}$ | $1,75 \pm 0,05^{abc}$ | 90             |  |
| NT38-aa-4d  | $0,56 \pm 0,07^a$ | $0,44 \pm 0,07^a$    | $1,44 \pm 0,07^{abc}$ | 90             |  |
| NT39-aa-8d  | $0,33 \pm 0,05^a$ | $0,56 \pm 0,08^{ab}$ | $1,44 \pm 0,05^{abc}$ | 100            |  |
| NT40-aa-12d | $0,33 \pm 0,05^a$ | $0,89 \pm 0,16^{ab}$ | $0,78 \pm 0,03^{ab}$  | 90             |  |
| NT41-CTS-4d | $0,38 \pm 0,05^a$ | $1,38 \pm 0,68^{ab}$ | $3,00 \pm 0,44^{ab}$  | 90             |  |

|                 |                   |                      |                        |     |  |
|-----------------|-------------------|----------------------|------------------------|-----|--|
| NT42-CTS-8d     | $1,00 \pm 0,07^a$ | $1,63 \pm 0,50^{ab}$ | $2,88 \pm 0,07^{ab}$   | 100 |  |
| NT43-CTS-12d    | $1,50 \pm 0,41^a$ | $1,63 \pm 0,06^{ab}$ | $3,25 \pm 0,43^{cd}$   | 90  |  |
| NT44-NCT-4-4d   | $2,83 \pm 0,83^b$ | $0,71 \pm 0,07^{ab}$ | $3,00 \pm 0,84^{bcd}$  | 100 |  |
| NT45-NCT-4-8d   | $0,89 \pm 0,09^a$ | $1,00 \pm 0,01^{ab}$ | $2,89 \pm 0,02^{ab}$   | 100 |  |
| NT46-NCT-4-12d  | $1,50 \pm 0,04^a$ | $1,63 \pm 0,09^{ab}$ | $2,78 \pm 0,14^{abcd}$ | 100 |  |
| NT47-NCT-12-4d  | $0,88 \pm 0,08^a$ | $1,78 \pm 0,30^{ab}$ | $2,50 \pm 0,13^{abc}$  | 100 |  |
| NT48-NCT-12-8d  | $1,38 \pm 0,05^a$ | $1,38 \pm 0,05^{ab}$ | $4,88 \pm 0,27^d$      | 100 |  |
| NT49-NCT-12-12d | $1,22 \pm 0,09^a$ | $1,56 \pm 0,01^{ab}$ | $3,11 \pm 0,75^{bcd}$  | 100 |  |
| NT50-NCT-20-4d  | $0,88 \pm 0,01^a$ | $1,11 \pm 0,26^{ab}$ | $3,33 \pm 0,78^{bcd}$  | 100 |  |
| NT51-NCT-20-8d  | $0,38 \pm 0,07^a$ | $1,88 \pm 0,07^b$    | $2,45 \pm 0,85^{abcd}$ | 100 |  |
| NT52-NCT-20-12d | $1,11 \pm 0,05^a$ | $1,89 \pm 0,016^b$   | $2,22 \pm 0,85^{abcd}$ | 100 |  |



**Hình 4.** Ảnh chụp cây lan cấy ra chậu sau 90 ngày khi (a) chỉ được tưới nước và (b) được phun với dung dịch axit axetic 20 ppm định kỳ 12 ngày/lần, (c) dung dịch nanochitosan 20 ppm định kỳ 8 ngày/lần, (d) dung dịch nanochitosan 20 ppm định kỳ 12 ngày/lần.

Bảng 3 và Hình 4 trình bày đặc điểm của cây lan đã được phun nước cất và các dung dịch với tần suất phun khác nhau. Kết quả cho thấy, cây được phun bằng nước cất và dung dịch axit axetic loãng (đối chứng) có các chỉ tiêu về sự sinh trưởng và phát triển kém hơn so với việc sử dụng chitosan và nanochitosan đối với tất cả các tần suất phun. Trong đó, các cây được phun bằng dung dịch nanochitosan nồng độ 12 ppm với tần suất phun 8 ngày/lần cho thấy sự phát triển tốt nhất. Từ đó, có thể kết luận việc sử dụng dung dịch nanochitosan trong chăm sóc cây lan non tại vườn ươm cũng chỉ cho kết quả tốt khi sử dụng dung dịch nanochitosan với nồng độ thấp. Hiện tượng này tương tự như quan sát trong các công bố của Limpanavech, P (2003), Pornpeanpakdee (2006), Uthairatanakij, A. (2006), và Win, N.K.K. (2005).

#### 4. Kết luận

Nanochitosan cho thấy khả năng kích thích sinh trưởng đối với cây lan non giả hạc (*Dendrobium Anosmum Lindl, 1845*) khi được trồng tại vườn ươm sau cấy mô. Để nâng cao khả năng thích nghi của cây lan cần tiến hành xử lý giá thể bằng dung dịch nanochitosan nồng độ 50 ppm trong 14 giờ. Sau đó, tiến hành ngâm cây lan non lấy ra từ chai cấy mô trong dung dịch nanochitosan 10 ppm trong 12 phút trước khi trồng vào chậu. Tại vườn ươm, cây lan cho thấy sự phát triển tốt nhất khi phun dung dịch nanochitosan nồng độ 20 ppm thời định kỳ 8 ngày/lần.

#### Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Trường Đại học Nha Trang đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu thông qua đề tài NCKH sinh viên Mã số SV2018-13-24.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bùi Bảo Lộc (2008), Lan Việt: Dã Hạc, Phi điệp – *Dendrobium anosmum (Lindl)*, Hội Hoa lan Việt Nam, 1-3,

Nguyễn Công Nghiệp (2004), *Trồng hoa lan* – In lần ba, NXB. Trẻ Tp. Hồ Chí Minh.

Trần Hợp (1998), *Phong lan Việt Nam*, NXB. nông nghiệp Tp. Hồ Chí Minh.

Uthaichay, N., Ketsa, S., van Doorn, W. G. (2007). 1-MCP pretreatment prevents bud and flower abscission in *Dendrobium* orchids. *Postharvest Biology and Technology*, 43, 374-380.

Chuang, H., Chang, P.Y., Syu, Y. (2014). Harpin protein, an elicitor of disease resistance, acts as a growth promoter in phalaenopsis orchids, *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 788–797.

Chen, Y.E., Yuan, S., Liu, H.M., Chen, Z.Y., Zhang, Y.H., Zhang, H.Y. (2016). A combination of chitosan and chemical fertilizers improves growth and disease resistance in begonia × hiemalis fotsch, *Horticulture Environment and Biotechnology*, 57, 1-10.

Kumar M.N.R. (2000). A Review of chitin and chitosan applications, *Reactive and Functional Polymers*, 46 1-27.

Rinaudo, M. (2006) Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632.

Pillai, C.K.S., Paul, W., Sharma, C.P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation, *Progress in Polymer Science*, 34, 641-678.

Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M., Chiellini, E. (2011). Chitosan- A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications, *Progress in Polymer Science*, 36, 981-1014.

Kheiri, A.S.A, Moosawi Jorf, A., Malihipour, H., Saremi, M. (2016). Application of chitosan and chitosan nanoparticles for the control of Fusarium head blight of wheat (*Fusarium graminearum*) in vitro and greenhouse, *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 1261-1272.

Minh, N.C., Cuong, H.N., Phuong, P.T.D., Schwarz, S., Stevens, W.F., Nguyen, V.H., Trung, T.S. (2017). Swelling-assisted reduction of chitosan molecular weight in the solid state using hydrogen peroxide, *Polymers Bulletin*, 74, 3077 – 3087.

Chandrkrachang, S., Sompongchaikul, P., Sangtain, S. (2005). Profitable spinoff from using chitosan in

orchid farming in Thailand. *Journal of Metals, Materials and Minerals* 15, 45-48.

Limpanavech, P., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, P., Chaidee, A., Akaraeakpanya, T. (2003). The effects of polymer type, concentration and %DD of bicatalyte modigied chitosan on flora production of Dendrobium 'Eiskul'. *National chitin-chitosan conference July 17-18, 2003*, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 60-64.

Pornpeanpakdee, P, Pichyangkura R, Chadchawan S, Limpanavech P (2006) Chitosan effects on Dendrobium 'Eiskul' Protocorm-like body production. *31st Congress on Science and Technology of Thailand October18-20, 2005*, Suranaree University of Technology, Thailand, 1-3.

Uthairatanakij, A., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S., Piluek, C., Obsuwan, K. (2006) Efficacy of chitosan spraying on quality of Dendrobium Sonia # 17 inflorescence. *27th International Horticultural Congress& Exhibition*, Korea, 150-151.

Win, N.K.K., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S. (2005) Preharvest chitosan spraying on leaf spot disease and growth of orchid (*Dendrobium Missteen*). *Proceedings of APEC Symposium on assuring quality and safety of fresh produce* August 1-3, 2005, Bangkok, Thailand, 457-461.