VNUHCM Journal of Engineering and Technology 2026, 9(2):2965-2974

Open Access Full Text Article

Bài nghiên cứu

Oligo alginate kích thích sinh trưởng và sinh tổng hợp hợp chất thứ cấp ở cây lan kim tuyến *Anoectochilus formosanus* Hayata *in vitro*

Trần Minh Đường[1,2], Võ Thanh Phúc[1,2,*]

Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Lan kim tuyến *Anoectochilus formosanus* Hayata là loại cây có giá trị dược liệu và kinh tế cao. Việc nghiên cứu ứng dụng các hợp chất hữu cơ vào quá trình nuôi cấy *in vitro* nhằm tạo nguồn dược liệu an toàn là rất cần thiết. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của oligo alginate ở các kích thước (20471 Da và 5666 Da) và nồng độ (1, 5, 10, 50, 75 mg/L) đối với sự tái sinh chồi lan kim tuyến *A. formosanus*. Đối với sự tăng trưởng chồi lan kim tuyến, các phân đoạn oligo alginate được khảo sát ở các nồng độ 0,5; 1; 5; 10; 50 mg/L. Chồi lan kim tuyến tái sinh được đánh giá hàm lượng flavonoid và phenolic tổng. Ở giai đoạn tái sinh chồi, môi trường MS bổ sung 50 mg/L oligo alginate 20471 Da cho kết quả tốt nhất (tỷ lệ tái sinh chồi là 80%, khối lượng tươi đạt 0,626 g/mẫu, khối lượng khô đạt 0,028 g/mẫu, đồng thời cải thiện hình thái chồi sau 4 tuần nuôi cấy). Ở nghiệm thức này, hàm lượng flavonoid tổng và phenolic tổng cũng cao vượt trội so với mẫu đối chứng (lần lượt là 82,07 mg quercetin/ khối lượng khô và 23,49 mg acid gallic/ khối lượng khô). Ở giai đoạn tăng trưởng chồi, môi trường MS 1/2 bổ sung 0,5 mg/L oligo alginate 20471 Da giúp tăng tỷ lệ ra rễ, chiều dài rễ, chiều cao cây, khối lượng tươi, khối lượng khô và hình thái cây sau 5 tuần nuôi cấy. Như vậy, oligo alginate đã giúp kích thích mẫu lan kim tuyến tăng trưởng tốt đồng thời tăng tích lũy hợp chất thứ cấp.

Từ khoá: *Anoectochilus formosanus* Hayata, elicitor, hợp chất thứ cấp, flavonoid, oligo alginate, phenolic, vi nhân giống.

[1]*Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách Khoa Tp. Hồ Chí Minh*

[2]*Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

Liên hệ

Võ Thanh Phúc, Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách Khoa Tp. Hồ Chí Minh

Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: vothanhphuc@hcmut.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 08-12-2024
- Ngày sửa đổi: 07-06-2025
- Ngày chấp nhận: 14-5-2026
- Ngày đăng: 28-06-2026

DOI : https://doi.org/10.32508/vnuhcmjet.v9i2.1482

Check for updates

Bản quyền

© Tạp chí ĐHQG-HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

MỞ ĐẦU

Chi lan kim tuyến *Anoectochilus* có hơn 30 loài và được tìm thấy ở Việt Nam, Trung Quốc, Nhật Bản,…[1]. Hiện nay, hai loài lan kim tuyến *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. và *Anoectochilus formosanus* Hayata được nghiên cứu và sử dụng nhiều để làm thuốc. Trong đó, *Anoectochilus formosanus (A. formosanus)* có giá trị thương mại và dược liệu cao nhất, có các công dụng như kháng viêm, kháng khối u, kháng khuẩn, kháng tiểu đường,…[2]. Dịch chiết lan kim tuyến chứa lượng lớn các hợp chất có hoạt tính sinh học như polysaccharide, flavonoid, các acid hữu cơ, steroid, triterpene và kinsenoside[3,4]. Trong tự nhiên, loài thực vật này ưa thích những nơi có độ ẩm cao, mát mẻ và ít ánh sáng trực tiếp. Vì thế, cây thường được tìm thấy ở những con suối, dưới rừng tre ở độ cao 500 - 1000 m so với mặt nước biển. Với nhiều công dụng có ích cho con người, lan kim tuyến bị khai thác quá mức trong tự nhiên và có nguy cơ tuyệt chủng. Do đó, các loài lan kim tuyến đã được nghiên cứu vi nhân giống nhằm bảo tồn nguồn gene quý. Tuy nhiên, các nghiên cứu tập trung nhiều trong việc sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng hóa học để nhân nhanh sinh khối. Việc nghiên cứu và sử dụng các chất hữu cơ thay thế nhằm tạo nguồn dược liệu sạch vẫn còn khá hạn chế.

Ở thực vật, quá trình sinh tổng hợp hợp chất sơ cấp và thứ cấp phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm nguồn gene, loài cây, thời kỳ sinh trưởng, bộ phận thực vật và các tác động từ môi trường (tác nhân vật lý, hóa học và sinh học). Một số tác nhân cụ thể có thể kể đến như ánh sáng, nhiệt độ, stress hạn, stress mặn hay các elicitor như alginate, chitosan, pectin,…[5]. Trong quá trình vi nhân giống, việc bổ sung các elicitor vào môi trường nuôi cấy là phương pháp hiệu quả và đơn giản. Elicitor được xem như là chất kích thích hệ thống thực vật sản sinh các hợp chất phục vụ cho quá trình sinh trưởng và miễn dịch của thực vật thông qua các con đường phức tạp mà vẫn chưa được hiểu rõ[6–8].

Alginate là một loại polysaccharide được tách chiết chủ yếu từ rong nâu và được cấu thành từ 2 đơn phân là β – D – Mannuroic acid (M) và α – L – Guluronic acid (G) bằng liên kết 1-4 glycoside. Oligo alginate (OA) là sản phẩm từ quá trình cắt mạch alginate. Phương pháp cắt mạch bao gồm vật lý (tia bức xạ γ, vi sóng,…), hóa học (xử lý với HCl, H_2O_2,..) và sinh học (enzyme alginate lyase,…)[9]. Tùy thuộc vào phương pháp thực hiện và nguồn alginate, OA sẽ

Trích dẫn bài báo này: Minh Đường T, Thanh Phúc V. **Oligo alginate kích thích sinh trưởng và sinh tổng hợp hợp chất thứ cấp ở cây lan kim tuyến *Anoectochilus formosanus* Hayata *in vitro***. *VNUHCM J. Eng. Technol.* 2026; 9(2):2965-2974.

có mức độ polymer hóa, khối lượng phân tử và tỷ lệ M/G khác nhau. OA hay alginate được nhận thấy là có thể tăng khả năng quang hợp, đồng hóa carbon và nitơ, tổng hợp auxin và gibberellin đối với cây trưởng thành và tăng khả năng nảy mầm đối với hạt [10]. Tuy nhiên, các nghiên cứu hiện nay đều cho thấy rằng OA có biểu hiện tốt hơn so với alginate nhờ vào kích thước nhỏ hơn và dễ dung nạp hơn [11,12]. Alginate ở nồng độ cao đã được ghi nhận là có thể ức chế sự sinh trưởng ở cây cỏ ngọt [13] và sự ra rễ ở hạt đậu xanh [14]. Bên cạnh đó, OA được ghi nhận là giúp kích thích sinh trưởng ở một số cây như dừa cạn [15], xà lách [16], đại mạch [17] và tăng hợp chất thứ cấp ở cây dừa cạn [18], cà chua [19]. OA có kích thước và bản chất khác nhau sẽ có những tác động khác nhau trên thực vật, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm tìm hiểu về cơ chế tác động nhưng vẫn chưa được hiểu rõ ràng. Mặt khác, việc ứng dụng OA vào quá trình vi nhân giống các loài thực vật vẫn còn chưa phổ biến, đặc biệt là chưa có nghiên cứu nào trên loài *A. formosanus*. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của OA trong quá trình vi nhân giống lan kim tuyến *A. formosanus* nhằm tạo nguồn dược liệu sạch, an toàn cho người sử dụng.

PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

Nguồn mẫu và hóa chất

Mẫu lan kim tuyến *A. formosanus* là mẫu cấy *in vitro* từ Viện Sinh học Nhiệt đới.

Alginate được cắt bằng tia bức xạ γ, thu lấy 2 phân đoạn 20471 Da (OA (I)) và 5666 Da (OA (II)) tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học Vật liệu và Nano thuộc Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh.

Môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là môi trường khoáng Murashige & Skoog (1962) bổ sung 100 mg/L inositol, 30 g/L sucrose, 7 g/L agar. pH môi trường được điều chỉnh đạt 5,8 $\pm$ 0,02. Môi trường được cho vào các lọ thủy tinh 250 mL với 40 mL môi trường và hấp vô trùng ở nhiệt độ 121^{o}C trong thời gian 20 phút.

Mẫu được nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng 16/ 24 giờ cường độ sáng 2000 lux $\pm$ 200 lux, nhiệt độ 25 $\pm$ 2^{o}C. Trong thí nghiệm tái sinh và sinh trưởng chồi, mẫu được nuôi cấy trong điều kiện tối 4 tuần và chiếu sáng 1 tuần.

PHƯƠNG PHÁP

Ảnh hưởng của oligo alginate lên sự tái sinh và sinh trưởng chồi lan kim tuyến

Thân cây lan kim tuyến *in vitro* được cắt thành các đốt thân có chiều dài 1 cm và loại bỏ lá. Mẫu được cấy vào môi trường MS bổ sung OA 20471 và 5666 Da ở các nồng độ 1, 5, 10, 50, 75 mg/L. Ngoài ra, mẫu cũng được cấy lên môi trường bổ sung 0,1 mg/L NAA kết hợp với 1,5 mg/L BA để so sánh với hiệu quả của OA. Các mẫu được khảo sát khả năng tái sinh chồi *in vitro* sau 5 tuần nuôi cấy. Đối chứng là các mẫu được nuôi cấy trên môi trường không bổ sung OA và chất điều hoà sinh trưởng thực vật (CĐHSTTV).

Chỉ tiêu theo dõi sau 5 tuần gồm: tỷ lệ tái sinh chồi, số chồi, chiều cao chồi, hình thái chồi, khối lượng tươi và khối lượng khô của mẫu, hàm lượng flavonoid và phenolic tổng. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo phương pháp sử dụng $AlCl_3$ [20]. Hàm lượng phenolic tổng được xác định theo phương pháp của Farkas và Kiraly [21].

Ảnh hưởng của oligo alginate lên sự tăng trưởng của lan kim tuyến

Chồi ngọn lan kim tuyến *in vitro* được lựa chọn đồng đều, chiều cao 3 cm. Mẫu được cấy vào môi trường MS 1/2 (môi trường MS với hàm lượng khoáng đa lượng giảm đi một nửa) bổ sung OA 20471 Da và 5666 Da ở các nồng độ 1, 5, 10, 50 mg/L và 0,5 g/L than hoạt tính. Ngoài ra, mẫu cũng được cấy lên môi trường bổ sung 1 mg/L IBA và 0,5 g/L than hoạt tính để so sánh với hiệu quả của OA. Đối chứng là các mẫu được nuôi cấy trên môi trường không bổ sung OA và CĐHSTTV. Chỉ tiêu theo dõi sau 5 tuần là tỷ lệ tạo rễ, số rễ, chiều dài rễ, chiều cao cây, hình thái mẫu, khối lượng tươi và khối lượng khô của cây.

Bố trí thí nghiệm và thống kê số liệu

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Mỗi lần lặp lại 5 mẫu, do đó mỗi nghiệm thức có tổng cộng 15 mẫu. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Sự sai khác giữa các nghiệm thức được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA), theo phép thử Duncan ở mức ý nghĩa α = 0,05, phần mềm sử dụng là SPSS (phiên bản 20.0).

KẾT QUẢ

Ảnh hưởng của oligo alginate lên sự tái sinh và sinh trưởng chồi

Sau 10 – 12 ngày nuôi cấy, các mẫu nốt đơn thân ở các nghiệm thức đều bắt đầu tái sinh chồi. Kết quả

tái sinh và sinh trưởng chồi sau 5 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 1.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ tái sinh chồi ở đa số các nghiệm thức bổ sung OA và CĐHSTTV đều cao hơn so với đối chứng. Tuy nhiên, các nghiệm thức bổ sung OA không làm tăng tỷ lệ tái sinh chồi so với nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV. Tỷ lệ tái sinh chồi có xu hướng tăng khi tăng nồng độ OA từ 1 đến 50 mg/L, sau đó giảm xuống ở nghiệm thức bổ sung OA nồng độ cao (75 mg/L). Các nghiệm thức đa số đều tạo một chồi duy nhất mà ít phát sinh chồi bên. Nghiệm thức bổ sung 75 mg/L OA 20471 và 75 mg/L OA 5666 Da cho số chồi cao nhất, lần lượt là 1,28 chồi/ mẫu và 1,33 chồi/ mẫu. Các nghiệm thức còn lại có số chồi không khác biệt về mặt thống kê so với đối chứng và nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV. Chiều cao chồi được ghi nhận cao nhất ở nghiệm thức có 5 mg/L OA 5666 Da với 1,04 cm, cao hơn so với mẫu ở nghiệm thức đối chứng (0,79 cm). Về khối lượng tươi, mẫu trên các môi trường bổ sung OA 5666 Da ở tất cả nồng độ (1 - 75 mg/L) đều có khối lượng tươi cao hơn so với đối chứng và nghiệm thức có CĐHSTTV. Trong khi đó, khối lượng tươi của mẫu trên môi trường bổ sung OA 20471 Da ở nồng độ cao hơn (10 - 75 mg/L) mới có kết quả tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng và CĐHSTTV (Hình 1). Ở chỉ tiêu khối lượng khô (Hình 1), số liệu ghi nhận cao nhất ở 50 – 75 mg/L OA 20471 Da và 75 mg/L OA 5666 Da.

Về mặt hình thái, nghiệm thức bổ sung 50 mg/L OA 20471 Da và 5 mg/L OA 5666 Da có hình thái chồi tương đối tốt (Hình 2). Chồi có màu trắng đục, to, dài hơn so với các nghiệm thức khác. Tuy nhiên, nghiệm thức bổ sung 50 mg/L OA 20471 Da có tỷ lệ tái sinh chồi cao hơn so với 5 mg/L OA 5666 Da, lần lượt là 80,00% và 67,00%. Ở nghiệm thức này, chỉ tiêu khối lượng tươi và khối lượng khô cũng cao hơn nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV. Như vậy, bổ sung 50 mg/L OA 20471 Da giúp chồi lan kim tuyến tái sinh và sinh trưởng tốt, đồng thời tích luỹ hàm lượng chất khô cao.

Hàm lượng flavonoid tổng (Total flavonoid – TF) và hàm lượng phenolic tổng (Total Phenolic – TP) trong các mẫu chồi tái sinh

Mẫu từ nghiệm thức đối chứng, nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV và 50 mg/L OA 20471 Da được xác định hàm lượng flavonoid và phenolic tổng. Hàm lượng flavonoid tổng cao nhất được ghi nhận ở nghiệm thức 50 mg/L OA 20471 Da, xấp xỉ 1,26 lần so với đối chứng và 1,11 lần so với nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV. Hàm lượng phenolic tổng của nghiệm thức bổ sung OA cao hơn 1,17 lần so với đối chứng, tuy nhiên thấp hơn so với môi trường bổ sung CĐHSTTV (Hình 3).

Ảnh hưởng của oligo alginate lên sự tăng trưởng của chồi lan kim tuyến

Trên các nghiệm thức bổ sung OA, phần lớn các chỉ tiêu thu được đều tốt hơn đối chứng và IBA. Sau 3 tuần nuôi cấy, mẫu cấy ở nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/L OA 20471 Da bắt đầu hình thành rễ. Ở các nghiệm thức còn lại, rễ xuất hiện chậm hơn. Tỷ lệ ra rễ đạt 100% ở các nghiệm thức bổ sung 0,5; 10; 50 mg/L OA 20471 Da và 1, 50 mg/L OA 5666 Da (Bảng 2). Tuy nhiên, bổ sung 1 mg/L IBA hoặc OA không làm tăng số rễ/ mẫu so với đối chứng. Bên cạnh đó, bổ sung 0,5 mg/L OA 20471 Da giúp đạt chiều dài rễ và chiều cao cây tốt nhất (lần lượt là 0,28 cm và 3,72 cm). Chỉ tiêu khối lượng khô ghi nhận cao nhất ở các nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/L OA 20471 Da và 1; 50 mg/L OA 5666 Da (Hình 5). Về hình thái, mẫu được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 0,5 mg/L OA 20471 Da cho kết quả tốt nhất với cây to, khỏe, lá xòe rộng và rễ dày hơn các nghiệm thức khác (Hình 4). Ở nghiệm thức đối chứng và bổ sung IBA, cây có thân mảnh hơn và phát triển chậm hơn. Nhìn chung, môi trường bổ sung 0,5 mg/L OA 20471 Da cho kết quả tốt nhất ở thí nghiệm này. Các chỉ tiêu tăng trưởng đạt kết quả tốt (tỷ lệ ra rễ cao 100%, số rễ 1,89 rễ/ mẫu, chiều dài rễ 0,28 cm, chiều cao cây 3,72 cm và khối lượng khô 131,67 mg).

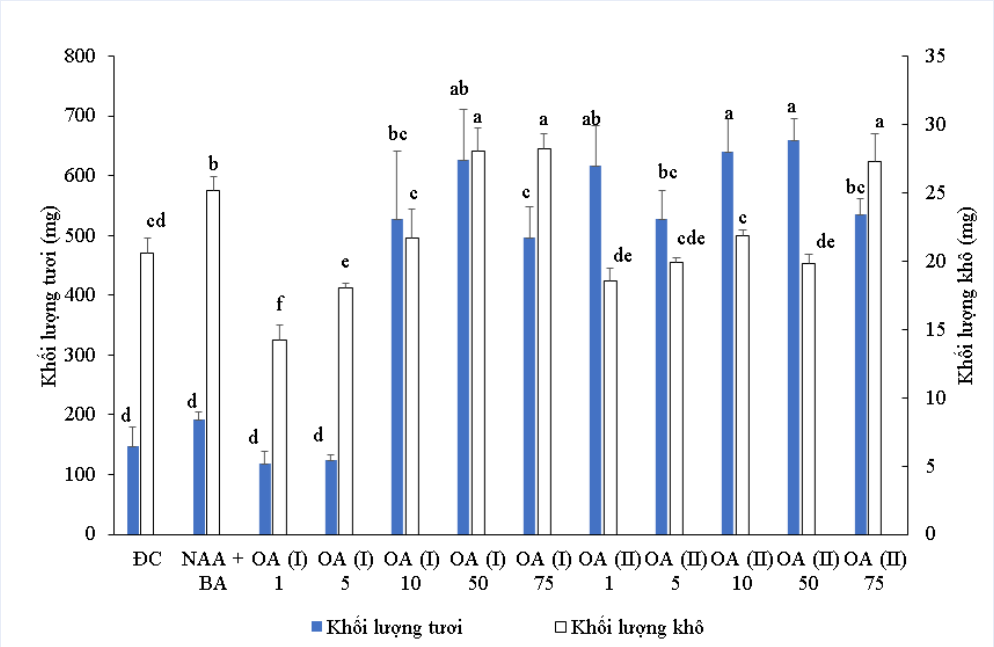
BÀN LUẬN

Cơ chế tác động của OA vẫn chưa được hiểu rõ ràng. Hiện nay, OA được xem như là một elicitor có khả năng bám lên các thụ thể trên màng tế bào để kích thích tế bào đáp ứng. Khi đó, OA tăng cường biểu hiện các gene sinh tổng hợp các CĐHSTTV nội sinh như indole-3-acetic acid (IAA) và gibberellin, giúp thực vật kéo dài chồi, tạo rễ, tăng khả năng nảy mầm,..[17,22]. Bên cạnh đó, tỷ lệ tái sinh chồi cũng phụ thuộc vào hàm lượng auxin và cytokinin[23]. Vì thế, trong nghiên cứu này, hàm lượng auxin mới được tổng hợp có thể đã kết hợp với cytokinin nội sinh tạo nên tỷ lệ phù hợp đã giúp tăng tỷ lệ tái sinh chồi ở các nghiệm thức bổ sung OA. Tuy nhiên, ở nồng độ OA cao, có thể lượng auxin và gibberellin được tổng hợp nhiều hơn và làm ức chế sự tạo chồi. OA có trọng lượng phân tử nhỏ được cho là dễ đi qua thành tế bào thực vật và bám lên thụ thể. Tuy nhiên, nếu trọng lượng phân tử quá nhỏ sẽ không kích thích tế bào đáp ứng hiệu quả. Trong khi đó, alginate hoặc OA có trọng lượng phân tử lớn sẽ khó thẩm thấu qua thành tế bào và tạo đáp ứng không hiệu quả[17]. Các OA với trọng lượng phân tử thấp có kích thước khoảng 0,2 x 2 μm, kích thước này khá tương đồng với kích thước một số loài vi khuẩn, do đó, OA có khả năng gây đáp ứng

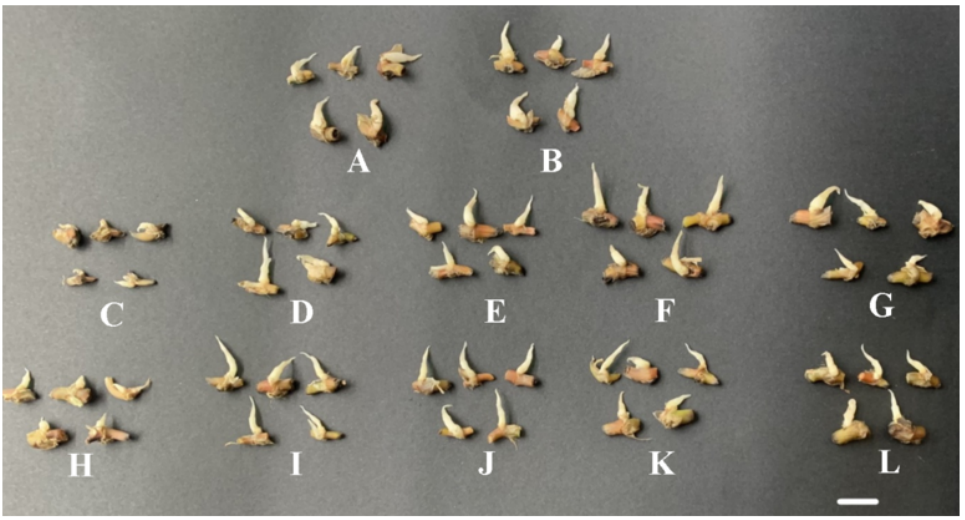
Bảng 1: Ảnh hưởng của OA và CĐHSTTV đến sự tái sinh chồi sau 5 tuần nuôi cấy.

Nồng độ (mg/L)		Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	Số chồi (chồi/ mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Hình thái
Đối chứng		$61,33 \pm 9,81^{de}$	$1,00 \pm 0,00^{c}$	$0,79 \pm 0,03^{c}$	++
0,1 NAA + 1,5 BA		$77,67 \pm 9,24^{abc}$	$1,15 \pm 0,13^{bc}$	$0,94 \pm 0,05^{b}$	++
OA 20471 Da	1	$72,33 \pm 9,24^{bcd}$	$1,00 \pm 0,00^{c}$	$0,30 \pm 0,06^{g}$	+
	5	$83,00 \pm 0,00^{ab}$	$1,07 \pm 0,12^{c}$	$0,77 \pm 0,03^{cd}$	+
	10	$88,67 \pm 9,81^{a}$	$1,00 \pm 0,00^{c}$	$0,69 \pm 0,07^{de}$	++
	50	$80,00 \pm 0,00^{abc}$	$1,08 \pm 0,14^{c}$	$0,86 \pm 0,04^{bc}$	+++
	75	$61,33 \pm 9,81^{de}$	$1,28 \pm 0,05^{ab}$	$0,82 \pm 0,06^{c}$	++
OA 5666 Da	1	$88,67 \pm 9,81^{a}$	$1,00 \pm 0,00^{c}$	$0,47 \pm 0,04^{f}$	+
	5	$67,00 \pm 0,00^{cd}$	$1,08 \pm 0,14^{c}$	$1,04 \pm 0,10^{a}$	++
	10	$77,67 \pm 9,24^{abc}$	$1,07 \pm 0,12^{c}$	$0,83 \pm 0,06^{c}$	++
	50	$77,67 \pm 9,24^{abc}$	$1,15 \pm 0,13^{bc}$	$0,64 \pm 0,02^{e}$	++
	75	$50,00 \pm 0,00^{e}$	$1,33 \pm 0,00^{a}$	$0,69 \pm 0,01^{de}$	++

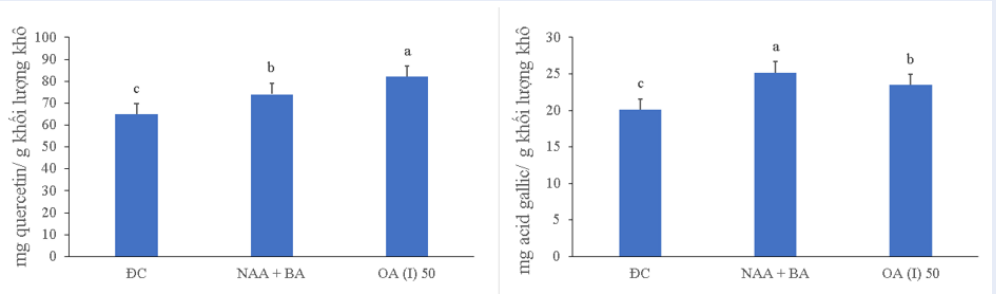
Ghi chú: Cùng một cột, các số liệu khác nhau về mặt thống kê đi kèm với các chữ cái khác nhau.
+++: chồi to, dài, thân chồi trắng ngà.
++: chồi trung bình, thân chồi trắng ngà.
+: chồi nhỏ, thân chồi mảnh, màu trắng ngà
[Nguồn: Nhóm tác giả]



Hình 1: Khối lượng tươi và khối lượng khô của mẫu cấy trên các môi trường đối chứng (ĐC), bổ sung NAA kết hợp với BA, OA (I): OA 20471 Da và OA (II): OA 5666 Da ở các nồng độ khác nhau (các chữ cái a,b,c,… theo sau số liệu khác nhau cho sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$ trong phép thử Duncan). [Nguồn: Nhóm tác giả]



Hình 2: Các mẫu chồi tái sinh trên các môi trường nuôi cấy khác nhau sau 5 tuần. Chú thích: A: đối chứng, B: NAA kết hợp BA, C – G: 1, 5, 10, 50, 75 mg/L OA 20471 Da, H – L: 1, 5, 10, 50, 75 mg/L OA 5666 Da (thang đo 1 cm). [Nguồn: Nhóm tác giả]



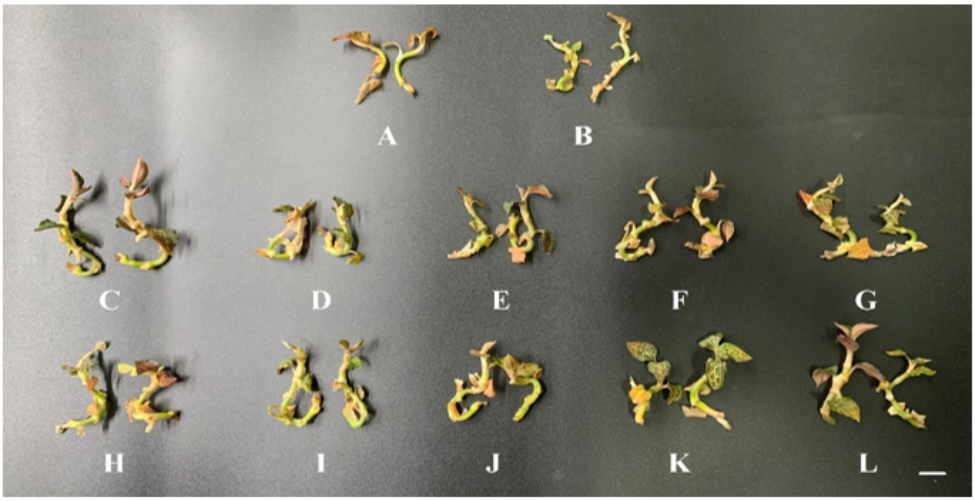
Hình 3: Biểu đồ thể hiện hàm lượng flavonoid (mg quercetin/ g khối lượng khô) và phenolic tổng (mg acid gallic/ g khối lượng khô) của các mẫu trên các môi trường tái sinh chồi khác nhau sau 5 tuần nuôi cấy. [Nguồn: Nhóm tác giả]

hiệu quả hơn với alginate hay các OA có phân tử lượng khá lớn [24]. Phần lớn các nghiên cứu đều cho thấy OA ở khối lượng phân tử 14,4 kDa [25–27] có biểu hiện tốt giúp tăng sinh khối ở một số loài thực vật. Bhanupriya Kanthaliya (2023) đã báo cáo 200 mg/L alginate làm tăng sinh khối của mẫu cấy (số chồi, khối lượng tươi, khối lượng khô), hàm lượng protein, carbohydrate, chlorophyll ở chồi *Pueraria tuberosa* [21]. OA cũng làm tăng sinh khối chồi ở một số cây khác như cây cỏ ngọt [28], cây xà lách [25],…. OA hay các loại polysaccharide khác được cho là giúp duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào và kích thích tế bào phân chia [21]. Ngoài ra, tỷ lệ M/G cũng là một yếu tố ảnh hưởng đến khả năng kích thích sinh trưởng của OA. Theo thí nghiệm của Jieru Yang và các cộng sự (2020), OA với trọng lượng phân tử 573,8 Da và tỷ lệ M/G 4,98 có khả năng kích thích sinh trưởng chồi và OA với trọng lượng phân tử 2370,5 với tỷ lệ M/G 4,46 lại có khả năng kích thích tạo rễ ở cây đại mạch [17]. Theo nhiều nghiên cứu, polyM có khả năng kích thước sinh trưởng bằng cách kích thích sản sinh các hợp chất cần cho quang hợp, giúp tăng cường độ quang hợp [21,29], trong khi đó, polyG lại kích thích miễn dịch cũng như ức chế vi sinh vật gây hại [11,12,17]. Một yếu tố nữa cũng ảnh hưởng đến khả năng kích thích sinh trưởng ở thực vật là phương pháp cắt mạch alginate, alginate được cắt bằng enzyme alginate lyase cho OA có hiệu quả kích thích sinh trưởng tốt hơn nhiều so với việc cắt bằng phương pháp hóa học hoặc vật lý [9,17]. Nguyên nhân có thể là do sản phẩm OA được tạo thành trong quá trình thủy phân bằng enzyme đã hình thành các liên kết đôi giữa C4 và C5, qua đó tăng khả năng loại bỏ gốc oxy hóa tự do

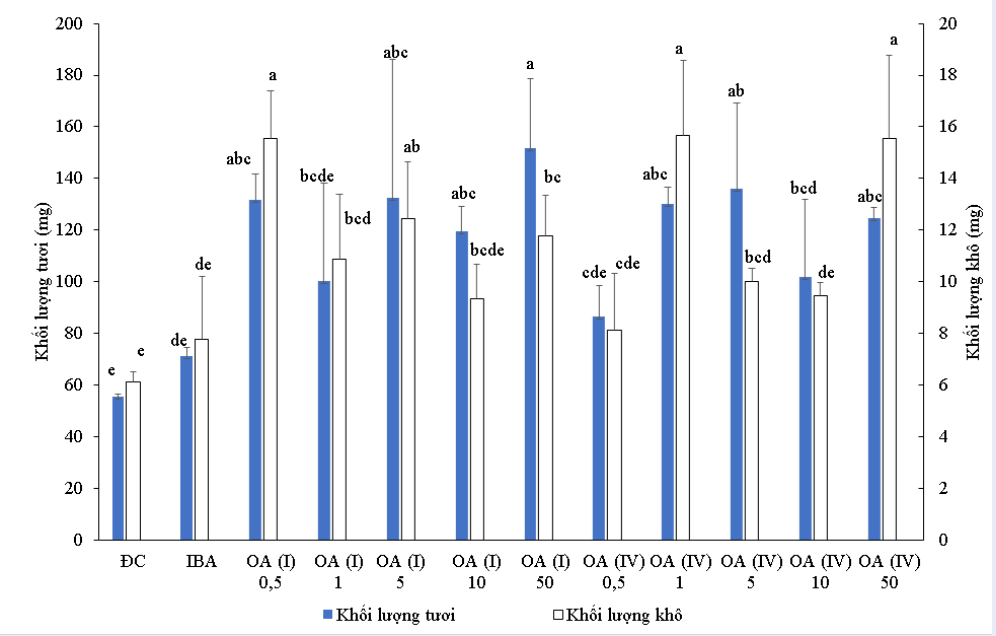
Bảng 2: Ảnh hưởng của OA và CĐHSTTV lên sự tăng trưởng của lan kim tuyến sau 5 tuần nuôi cấy.

Nghiệm thức (mg/L)		Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ (rễ/ mẫu)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)	Hình thái
Đối chứng		$66,67 \pm 0,00^{cd}$	$1,67 \pm 0,29^{ab}$	$0,16 \pm 0,01^{cd}$	$3,24 \pm 0,08^{d}$	+
IBA 1		$55,56 \pm 19,25^{d}$	$1,33 \pm 0,29^{bc}$	$0,19 \pm 0,03^{bcd}$	$3,19 \pm 0,07^{d}$	++
OA 20471 Da	0,5	$100,00 \pm 0,00^{a}$	$1,89 \pm 0,38^{a}$	$0,28 \pm 0,03^{a}$	$3,72 \pm 0,10^{ab}$	+++
	1	$77,78 \pm 19,24^{bc}$	$1,11 \pm 0,19^{d}$	$0,19 \pm 0,10^{bcd}$	$3,29 \pm 0,17^{abc}$	++
	5	$66,67 \pm 0,00^{cd}$	$1,17 \pm 0,29^{d}$	$0,18 \pm 0,03^{bcd}$	$3,63 \pm 0,18^{d}$	++
	10	$100,00 \pm 0,00^{a}$	$1,67 \pm 0,00^{ab}$	$0,23 \pm 0,01^{ab}$	$3,38 \pm 0,16^{cd}$	++
	50	$100,00 \pm 0,00^{a}$	$1,33 \pm 0,00^{bc}$	$0,25 \pm 0,01^{ab}$	$3,32 \pm 0,15^{d}$	++
OA 5666 Da	0,5	$66,67 \pm 0,00^{cd}$	$1,00 \pm 0,00^{d}$	$0,24 \pm 0,01^{ab}$	$3,39 \pm 0,05^{cd}$	+
	1	$100,00 \pm 0,00^{a}$	$1,00 \pm 0,00^{d}$	$0,21 \pm 0,01^{abcd}$	$3,76 \pm 0,08^{a}$	++
	5	$66,67 \pm 0,00^{cd}$	$1,33 \pm 0,29^{bc}$	$0,15 \pm 0,00^{d}$	$3,38 \pm 0,15^{cd}$	++
	10	$88,89 \pm 19,25^{ab}$	$1,11 \pm 0,19^{d}$	$0,22 \pm 0,04^{abc}$	$3,47 \pm 0,26^{bcd}$	++
	50	$100,00 \pm 0,00^{a}$	$1,89 \pm 0,19^{a}$	$0,23 \pm 0,03^{ab}$	$3,62 \pm 0,21^{abc}$	+++

Ghi chú: Cùng một cột, các số liệu khác nhau về mặt thống kê đi kèm với các chữ cái khác nhau.
+++: rễ to, thân cây to, lá xòe rộng.
++: rễ to, thân cây trung bình, lá xòe rộng.
+: rễ nhỏ, thân cây nhỏ, lá nhỏ.
[Nguồn: Nhóm tác giả]



Hình 4: Mẫu lan kim tuyến sau 5 tuần nuôi cấy trên môi trường bổ sung 1 mg/L IBA và OA 20471 Da, OA 5666 Da ở các nồng độ khác nhau. Chú thích: A: đối chứng, B: IBA, C – G: 1, 5, 10, 50, 75 mg/L OA 20471 Da, H – L: 1, 5,10, 50, 75 mg/L OA 5666 Da (thang đo 1 cm). [Nguồn: Nhóm tác giả]



Hình 5: Khối lượng tươi và khối lượng khô của cây lan kim tuyến sau 5 tuần nuôi cấy (các chữ cái a,b,c,… theo sau số liệu khác nhau cho sự khác biệt có ý nghĩa với p <0,05 trong phép thử Duncan). [Nguồn: Nhóm tác giả]

được sinh ra trong quá trình thực vật phát triển [11,17]. OA có khả năng kích thích thực vật ra rễ nhờ vào việc tăng biểu hiện các gene sinh tổng hợp auxin và giảm khả năng IAA bị oxy hóa [22]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chiều dài rễ ở một số nghiệm thức có bổ sung OA cao hơn so với đối chứng. Ngoài ra, kết quả cũng cho thấy OA có trọng lượng phân tử lớn ở nồng độ thấp đã kích thích chồi lan kim tuyến tạo rễ tốt hơn so với OA có trọng lượng phân tử nhỏ ở nồng độ cao. Điều này tương đồng với kết quả thí nghiệm của Jieru Yang và các cộng sự (2020). OA có trọng lượng phân tử 2370,5 Da đã kích thích tạo rễ tốt hơn so với OA có trọng lượng phân tử thấp 573,8 Da [17]. Nhìn chung, OA làm tăng trọng lượng khô của mẫu cấy so với đối chứng. OA giúp thực vật tăng trưởng nhờ vào việc tăng khả năng quang hợp, cải thiện quá trình đồng hóa carbon và nitơ, tăng khả năng phân chia tế bào, hàm lượng auxin và các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học [30]. Theo nghiên cứu của Trần Đức Trọng và các cộng sự (2020), OA có trọng lượng phân tử 14,4 kDa làm tăng sinh khối, chiều dài rễ và chiều cao cây ở cây xà lách [25]. Khả năng trên của OA cũng được ghi nhận ở một số loài thực vật khác như cây dừa cạn [31], cây cỏ ngọt [28], cây *Pueraria tuberosa* [21],…Ở cây đại mạch (*Hordeum vulgare* L), OA làm tăng sự phân chia tế bào ở vùng mô phân sinh của rễ, dẫn đến sự tăng số lượng tế bào ở vùng mô phân sinh, đồng thời kích thích sự kéo dài tế bào ở vùng kéo dài của rễ [17].

Phenolic và flavonoid là những hợp chất có hoạt tính sinh học được sinh ra qua con đường phenylpropanoid [21]. Những hợp chất này không tác động trực tiếp đến quá trình sinh trưởng và phát triển ở thực vật, mà đóng vai trò trong việc giúp thực vật kháng lại các yếu tố bất lợi từ môi trường [21]. Các nghiệm thức bổ sung CĐHSTTV và OA 20471 Da 50 mg/L đều làm tăng hàm lượng flavonoid tổng và phenolic tổng. Oligo alginate, các elicitor khác hay các điều kiện bất lợi từ môi trường như nhiệt độ, ánh sáng,… đều có khả năng kích thích thực vật sản sinh các chất chuyển hóa bao gồm cả chất sơ cấp như carbohydrate, protein và chất thứ cấp như phenolic, flavonoid,…hoặc các enzyme chống oxy hóa theo nhiều cơ chế khác nhau [32]. OA ở trọng lượng phân tử thấp được thực vật nhận dạng như là một mầm bệnh và điều này đã khiến thực vật sản xuất hợp chất thứ cấp như một phần trong hệ thống phòng thủ [8]. Ngoài ra, theo nhiều nghiên cứu, OA có khả năng tăng hoạt tính enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL), một enzyme tham gia vào con đường sinh tổng hợp flavonoid [5,19]. Nhìn chung, OA khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy có khả năng kích thích sản xuất flavonoid và phenolic tổng ở cây lan kim tuyến. Trên một số loài cây khác, OA cũng được ghi nhận là tăng tích lũy một số loại hợp chất thứ cấp ở thực vật như vinblastine và vincristine ở cây dừa cạn [31], polyphenol ở lá cây cà chua [19],….

KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy oligo alginate có hiệu quả tích cực khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy loài lan kim tuyến *A.formosanus* với nồng độ và khối lượng phân tử thích hợp. Cụ thể, môi trường MS bổ sung 50 mg/L oligo alginate 20471 Da giúp tăng tỷ lệ tái sinh chồi, khối lượng tươi, khối lượng khô và hình thái chồi so với đối chứng sau 5 tuần nuôi cấy. Hàm lượng flavonoid và phenolic tổng của nghiệm thức OA 20471 Da 50 mg/L cao hơn so với đối chứng. Chồi lan kim tuyến sinh trưởng tốt nhất trên môi trường MS 1/2 bổ sung 0,5 mg/L oligo alginate 20471 Da. Kết quả cho thấy khối lượng phân tử và nồng độ oligo alginate khác nhau có những biểu hiện khác nhau. Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo cần được tiến hành để có thể ứng dụng oligo alginate trong nuôi cấy mô tế bào thực vật.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

OA: oligo alginate
CĐHSTTV: chất điều hoà sinh trưởng thực vật

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin cảm ơn Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG – HCM đã hỗ trợ cho nghiên cứu này

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Chúng tôi đảm bảo không tranh chấp về lợi ích.

ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Trần Minh Đường thực hiện các thí nghiệm, xử lý dữ liệu và viết báo. Võ Thanh Phúc hỗ trợ trong việc thiết kế thí nghiệm và chỉnh sửa bài viết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kumar P, Gale SW. Anoectochilus formosanus (Orchidaceae), a new record for Hong Kong. Rheedea. 2020;30(2):293–298. Available from: https://doi.org/10.22244/RHEEDEA.2020.30.02.06.
2. Kayalvizhi K, Divya2 K, S A. Medicinal Orchids - An Overview. 2020;2(10):1084–1087.
3. Du XM, Ning Y, Sun. NII-Electronic Library Service. Gylcosidic Const from Vitr Anoectochilus formosanus. 2000;48(11):1803–1804.
4. Ye S, Shao Q, Zhang A. Anoectochilus roxburghii: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications. J Ethnopharmacol. 2017;209:184–202. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.07.032.
5. Humbal A, Pathak B. Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolite in plants: A review (' "VSI: secondary metabolites"'). Plant Stress. 2023;8(April):100166. Available from: https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100166.
6. Baenas N, García-Viguera C, Moreno DA. Elicitation: A tool for enriching the bioactive composition of foods. Molecules. 2014;19(9):13541–13563. Available from: https://doi.org/10.3390/molecules190913541.
7. Linh NTN, Lộc NH, Nhựt DT. Ứng dụng elicitor vào sản xuất saponin trong nuôi cấy in vitro các loài thuộc chi nhân sâm. Tạp chí Công nghệ Sinh học. 2018;16(2):211–221.
8. Guru A, Dwivedi P, Kaur P, Pandey DK. Exploring the role of elicitors in enhancing medicinal values of plants under in vitro condition. South African J Bot. 2022;149:1029–1043. Available from: https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.10.014.
9. Zhang C, Wang W, Zhao X, Wang H, Yin H. Preparation of alginate oligosaccharides and their biological activities in plants: A review. Carbohydr Res. 2020;494:108056. Available from: https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108056.
10. Riseh RS, Vazvani MG, Ebrahimi-Zarandi M. Alginate-Induced Disease Resistance in Plants. Polymers (Basel). 2022;14:1–16.
11. Li L, Jiang J, Yao Z, Zhu B. Recent advances in the production, properties and applications of alginate oligosaccharides - a mini review. World J Microbiol Biotechnol. 2023;39(8):1–14. Available from: https://doi.org/10.1007/s11274-023-03658-5.
12. Xing M, Cao Q, Wang Y. Advances in Research on the Bioactivity of Alginate Oligosaccharides. Mar Drugs. 2020;18(144):1–26.
13. Tehranian AS, Askari H, Rezadoost H. The effect of alginate as an elicitor on transcription of steviol glycosides biosynthesis pathway related key genes and sweeteners content in in vitro cultured Stevia rebaudiana. Mol Biol Rep. 2023;50(3):2283–2291. Available from: https://doi.org/10.1007/s11033-022-07906-z.
14. Di FHD, Dl AH, Rodríguez-Montesinos YE, Muñoz-Ochoa M, Hernández-Herrera RM, Hernández-Carmona G. Effect of fucoidan and alginate on germination and growth of mung bean seedling. Hidrobiológica. 2022;32(3):353–363. Available from: https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2022v32n2/Vargas.
15. Akimoto C, Aoyagi H, Tanaka H. Endogenous elicitor-like effects of alginate on physiological activities of plant cells. Appl Microbiol Biotechnol. 1999;52(3):429–436. Available from: https://doi.org/10.1007/s002530051542.
16. Iwasaki KI, Matsubara Y. Purification of alginate oligosaccharides with root growth-promoting activity toward lettuce. Biosci Biotechnol Biochem. 2000;64(5):1067–1070. Available from: https://doi.org/10.1271/bbb.64.1067.
17. Yang J, Shen Z, Sun Z, Wang P, Jiang X. Growth Stimulation Activity of Alginate-Derived Oligosaccharides with Different Molecular Weights and Mannuronate/Guluronate Ratio on Hordeum vulgare L. J Plant Growth Regul. 2021;40(1):91–100. Available from: https://doi.org/10.1007/s00344-020-10078-4.
18. Idrees M, Naeem M, Alam M. Utilizing the γ-Irradiated Sodium Alginate as a Plant Growth Promoter for Enhancing the Growth, Physiological Activities, and Alkaloids Production in Catharanthus roseus L. Agric Sci China. 2011;10(8):1213–1221. Available from: https://doi.org/10.1016/S1671-2927(11)60112-0.
19. Aitouguinane M, Bouissil S, Mouhoub A. Induction of Natural Defenses in Tomato Seedlings by Using Alginate and Oligoalginates Derivatives Extracted from Moroccan Brown Algae. Mar Drugs. 2020;18(10). Available from: https://doi.org/10.3390/MD18100521.
20. Chu X, Li R, Wei H. Determination of total flavonoid and polysaccharide content in Anoectochilus formosanus in response to different light qualities using hyperspectral imaging. Infrared Phys Technol. 2021;122:104. Available from: https://doi.org/10.1016/j.infrared.2022.104098.
21. Kanthaliya B, Joshi A, Arora J, Alqahtani MD, Abd_Allah EF. Effect of Biotic Elicitors on the Growth, Antioxidant Activity and Metabolites Accumulation in In Vitro Propagated Shoots of Pueraria tuberosa. Plants. 2023;12(6):1–16.
22. Zhang Y, Yin H, Zhao X. The promoting effects of alginate oligosaccharides on root development in Oryza sativa L. mediated by auxin signaling. Carbohydr Polym. 2014;113:446–454. Available from: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.079.
23. Đức LN, Tiên LTT. Công Nghệ Tế Bào. 2011;.
24. Hòa NTT, Trung TV, Hoà NTT, Định. Khảo sát cấu trúc của các oligoalginate thu được bằng quá trình cắt mạch alginate hệ H2O-Cu (II)-axit glutamic-H2O2 và thử nghiệm khả năng kích

thích tăng trưởng của chúng. In: Hội nghị khoa học lần thứ 20, Đại học Bách Khoa; 2006.
25. Đức TT, Tuấn NX, Anh NTN, Hà TLT, Luân LQ, Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020. Hiệu ứng tăng trưởng của chế phẩm oligoalginate được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ trực tiếp bã rong nâu trên cây xà lách (Lactuca sativa) trồng thủy canh. Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2020. vol. 2; 2020. p. 550–555.
26. Luan LQ, Hien NQ, Nagasawa N, Kume T, Yoshii F, Nakanishi TM. Biological effect of radiation-degraded alginate on flower plants in tissue culture. Biotechnol Appl Biochem. 2003;38(3):283. Available from: https://doi.org/10.1042/ba20030058.
27. Luan LQ, Ha V, Uyen N, Trang L, Hien NQ. Preparation of oligoalginate plant growth promoter by γ irradiation of alginate solution containing hydrogen peroxide. J Agric Food Chem. 2012;60(7):1737–1741. Available from: https://doi.org/10.1021/jf204469p.
28. Bayraktar M, Naziri E, Akgun IH. Elicitor induced stevioside production, in vitro shoot growth, and biomass accumulation in micropropagated Stevia rebaudiana. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2016;127(2):289–300. Available from: https://doi.org/10.1007/s11240-016-1049-7.
29. Khan ZH, Khan M, Aftab T, Idrees M, Naeem M. Influence of alginate oligosaccharides on growth, yield and alkaloid production of opium poppy (Papaver somniferum L.). Front Agric China. 2011;5(1):122–127. Available from: https://doi.org/10.1007/s11703-010-1056-0.
30. Moenne A, González A. Chitosan-, alginate- carrageenan-derived oligosaccharides stimulate defense against biotic and abiotic stresses, and growth in plants: A historical perspective. Carbohydr Res. 2021;503(March). Available from: https://doi.org/10.1016/j.carres.2021.108298.
31. Naeem M, Aftab T, Ansari AA. Radiolytically degraded sodium alginate enhances plant growth, physiological activities and alkaloids production in Catharanthus roseus L. J Radiat Res Appl Sci. 2015;8(4):606–616.
32. Humbal A, Pathak B. Influence of exogenous elicitors on the production of secondary metabolite in plants: A review (' "VSI: secondary metabolites"'). Plant Stress. 2022;8:100166. Available from: https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100166.

VNUHCM Journal of Engineering and Technology 2026, 9(2):2965-2974

Open Access Full Text Article

Research Article

Oligo alginate stimulates growth and secondary metabolite accumulation in *Anoectochilus formosanus* Hayata *in vitro*

Tran Minh Duong[1,2], Vo Thanh Phuc[1,2,*]

Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Anoectochilus formosanus Hayata, a species of jewel orchid, possesses significant medicinal and economic value. Investigating the application of organic compounds in *in vitro* cultivation to generate a safe source of medicinal materials is crucial. This study examined the effects of oligo alginate with different molecular weights (20471 Da and 5666 Da) and concentrations (1, 5, 10, 50, 75 mg/L) on the regeneration of *A. formosanus* shoots and the concentration (0.5, 1, 5, 10, 50 mg/L) on plant growth. The total flavonoid and phenolic contents of regenerated shoots were evaluated. At the shoot regeneration stage, the MS medium supplemented with 50 mg/L oligo alginate (20471 Da) gave the best results (80% shoot regeneration rate, fresh weight of 0.626 g/explant, dry weight of 0.028 g/explant, and improved shoot morphology after 4 weeks of culture). In this treatment, the total flavonoid and phenolic contents were also significantly higher compared to the control (82.07 mg quercetin/dry weight and 23.49 mg gallic acid/dry weight, respectively). At the shoot growth stage, the half-strength MS medium supplemented with 0.5 mg/L of oligo alginate 20471 Da enhanced various growth parameters, including rooting rate, root length, plant height, fresh weight, dry weight, and overall plant morphology after five weeks of culture. Thus, oligo alginate stimulated the growth of *Anoectochilus formosanus* and promoted the accumulation of secondary compounds.

Key words: *Anoectochilus formosanus* Hayata, elicitor, secondary metabolite, flavonoid, oligo alginate, phenolic, micropropagation

[1]*Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh University of Technology (HCMUT), Vietnam*

[2]*Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam*

Correspondence

Vo Thanh Phuc, Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh University of Technology (HCMUT), Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: vothanhphuc@hcmut.edu.vn

History

- Received: 08-12-2024
- Revised: 07-06-2025
- Accepted: 14-5-2026
- Published Online: 28-06-2026

DOI : https://doi.org/10.32508/vnuhcmjet.v9i2.1482

Check for updates

Copyright

© VNUHCM Journal. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.

Cite this article : Minh Duong T, Thanh Phuc V. **Oligo alginate stimulates growth and secondary metabolite accumulation in *Anoectochilus formosanus* Hayata *in vitro***. *VNUHCM J. Eng. Technol.* 2026; 9(2):2965-2974.