NGHIÊN CỨU TẠO CÂY HOÀNG TINH HOA ĐỎ (*Polygonatum kingianum*) *IN VITRO* HOÀN CHỈNH

Vũ Hoài Sâm[1*], Nguyễn Thị Xuyên[1], Lê Thị Quỳnh Nga[1],
Hoàng Thị Như Nụ[1], Đinh Thanh Giảng[1], Nguyễn Thị Hương[1]

TÓM TẮT

Hoàng tinh hoa đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll et Hemsl.) là cây dược liệu quý trong y học cổ truyền đã được nghiên cứu nhân nhanh chồi *in vitro*. Nghiên cứu này tập trung xác định ảnh hưởng của thành phần và trạng thái môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ hoàn chỉnh trong điều kiện *in vitro* trước khi đưa cây ra thích nghi ngoài vườn ươm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường ½ MS bổ sung 1,5 mg/L α-NAA + 0,2 mg/L KIN, 40 g/L sucrose và 3 g/L agar thích hợp để tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh, tỷ lệ tạo rễ đạt 97,78% với 3,93 rễ/cây và chiều dài rễ 3,35 cm sau 8 tuần nuôi cấy. Nghiên cứu tạo ra cây con khỏe mạnh góp phần xây dựng quy trình nhân giống hiệu quả, phục vụ công tác bảo tồn và phát triển cây Hoàng tinh hoa đỏ.

Từ khóa: Hoàng tinh hoa đỏ, nuôi cấy *in vitro*, môi trường nuôi cấy

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng tinh hoa đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll et Hemsl.) còn có tên gọi khác là Hoàng tinh lá mọc vòng hay củ cơm nếp, thuộc họ Thiên môn (Asparagaceae). Thân rễ chứa các hợp chất steroid saponin và polysaccharide (Wang *et al.,* 2019). Với nhiều tác dụng dược lý giá trị được ghi nhận trong y học cổ truyền như bổ khí, dưỡng âm, kiện tỳ, ích vị và y học hiện đại như chống tiểu đường và điều hòa rối loạn lipit máu (Pharmacopoeia, 2015), thân rễ cây Hoàng tinh hoa đỏ đã bị thu hái nhiều năm mà không có biện pháp bảo tồn dẫn đến trữ lượng ngày càng khan hiếm (Duan *et al.,* 2017; Nguyễn Tập, 2019). Hoàng tinh hoa đỏ cũng là một trong 23 loài cây thuốc nằm trong danh mục, chủng loại dược liệu quý, hiếm và đặc hữu phải kiểm soát (Bộ Y tế, 2022). Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật được sử dụng để nhân nhanh các loại cây trồng mang đặc tính di truyền tốt của cây mẹ một cách đồng đều và đáp ứng số lượng lớn cây giống cho sản xuất quy mô lớn trong thời gian ngắn. Do vậy, đây là phương pháp hiệu quả để nhân giống, phát triển cây dược liệu Hoàng tinh hoa đỏ hiện nay.

Các nghiên cứu trước đây mới chỉ dừng lại ở giai đoạn tạo nguồn vật liệu khởi đầu (La Việt Hồng và *cs.*, 2017) và nhân nhanh chồi (Nguyễn Thị Xuyên và *cs.,* 2021). Trước khi chuyển cây ra điều kiện *ex vitro*, chồi Hoàng tinh hoa đỏ cần được chuyển sang môi trường tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh khi số lượng chồi đủ lớn và đạt kích thước nhất định. Đây là giai đoạn quan trọng để cây con có thể sinh trưởng và phát triển tốt ở điều kiện tự dưỡng hoàn toàn. Cho đến nay, chưa có nhiều công bố khoa học về nghiên cứu tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh đối với cây Hoàng tinh hoa đỏ. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của hàm lượng khoáng môi trường Murashige & Skoog (1962) (MS) kết hợp với sucrose, các chất điều hòa sinh trưởng và trạng thái môi trường đến khả năng tạo rễ của chồi đơn được khảo sát để xác định môi trường thích hợp cho giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, nhằm hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây Hoàng tinh hoa đỏ.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi đơn *in vitro* cao 2 - 3 cm, có lá mầm tách từ cụm chồi Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* được nuôi cấy tại phòng thí nghiệm Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia - Viện Dược liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ hoàn chỉnh sử dụng môi trường cơ bản MS, được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút, pH môi trường được điều chỉnh đến 5,8 và bổ sung 6,0 g/L

[1] Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia - Viện Dược liệu
* Tác giả liên hệ, Email: samthavn@yahoo.com

agar (trừ thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của trạng thái môi trường) trước khi hấp khử trùng. Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ 25 ± 2°C, cường độ ánh sáng: 2.000 - 3.000 Lux, quang chu kỳ: 16 h sáng/8 h tối và độ ẩm phòng nuôi 60 - 70%. Các thí nghiệm được bố trí như sau:

- Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nền khoáng và nồng độ sucrose được thực hiện với 3 nồng độ khoáng (MS, 1/2 MS, 1/4 MS) và 3 nồng độ sucrose (20, 40, 60 g/L), không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

- Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của Indole-3-butyric acid IBA và α-Naphthalene Acetic Acid (α-NAA) đơn chất được thực hiện với dải nồng độ từ 0 - 2,0 mg/L, ảnh hưởng của tổ hợp α-NAA và 6-Benzylaminopurine (BAP)/Kinetine (KIN) với nồng độ khác nhau (0 - 0,4 mg/L) trên nền môi trường 1/2 MS + 40 g/L sucrose.

- Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của trạng thái môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ hoàn chỉnh được thực hiện với 3 công thức rắn (6 g/L agar), lỏng tĩnh (0 g/L agar), bán lỏng (3 g/L agar) trên nền môi trường 1/2 MS + 40 g/L sucrose + 1,5 mg/L α-NAA + 0,2 mg/L KIN.

Các chỉ tiêu theo dõi của các thí nghiệm gồm tỷ lệ tạo rễ (%) = số mẫu tạo rễ/số mẫu cấy; số rễ (rễ) = Tổng số rễ tạo thành/Tổng số mẫu cấy; chiều dài rễ (cm) = tổng chiều dài rễ/ tổng số rễ xuất hiện; trạng thái rễ (+): rễ mảnh, yếu, giòn; (++): rễ mảnh, dai; (+++) mập, chắc, khỏe.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố và phân tích hậu kiểm Duncan's multiple range test với α = 0,05 bằng phần mềm SPSS 20. Các giá trị trong bảng kết quả thể hiện giá trị Mean ± SD (standard deviation) của 3 lần lặp lại; các ký tự chữ cái thể hiện kết quả phân tích hậu kiểm (a là giá trị lớn nhất).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5/2020 đến tháng 12/2020 tại Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ khoáng và sucrose đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh

Sự tương hỗ giữa khoáng chất và đường giúp đảm bảo năng lượng và dinh dưỡng cho cây sinh trưởng và phát triển. Đặc biệt trong quá trình nuôi cấy tạo rễ *in vitro*, sự kết hợp hài hòa của hai yếu tố này có hiệu quả rõ rệt trong việc hình thành rễ *in vitro* và khả năng thích ứng của cây khi đưa điều kiện *ex vitro* (Hilae and Te cha-to, 2005). Vì vậy, trong nghiên cứu này, thí nghiệm hai nhân tố với ba mức nồng độ MS và ba mức nồng độ sucrose đã được thực hiện. Kết quả sau 10 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nền khoáng và nồng độ đường đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh (sau 10 tuần)

CTTD	TLRR (%)				Số rễ (rễ)				Chiều dài rễ (cm)			
Nồng độ sucrose (g/L) và nền khoáng MS	***MS***	***1/2 MS***	***1/4 MS***	***TB***	***MS***	***1/2 MS***	***1/4 MS***	***TB***	***MS***	***1/2 MS***	***1/4 MS***	***TB***
20	30,0	63,3	73,3	55,5^{a}	0,7	1,4	1,9	1,3^{a}	0,9	0,6	0,4	0,6^{b}
40	16,6	43,3	36,6	32,2^{b}	0,2	1,0	0,8	0,7^{b}	0,8	1,0	0,7	0,8^{a}
60	-	26,6	30,0	18,8^{c}	-	0,4	0,6	0,3^{c}	-	0,8	0,6	0,4^{c}
TB	15,5^{b}	44,4^{a}	46,6^{a}		0,32^{c}	0,9^{b}	1,1^{a}		0,6^{b}	0,8^{a}	0,6^{b}	
P-value (Sucrose)	*< 0,05*				*< 0,05*				*< 0,05*			
P-value (MS)	*< 0,05*				*< 0,05*				*< 0,05*			
P-value (Sucrose×MS)	*< 0,05*				*< 0,05*				*< 0,05*			

Ghi chú: CTTD: chỉ tiêu theo dõi; TLRR: Tỉ lệ ra rễ; TB: trung bình.

Kết quả cho thấy, tác động riêng lẻ của hàm lượng khoáng hay nồng độ đường đều ảnh hưởng đến cảm ứng tạo rễ ở chồi Hoàng tinh hoa đỏ, mặc dù không có sự có mặt của chất điều hòa sinh trưởng. Nhìn chung, hàm lượng khoáng và hàm lượng sucrose càng cao thì tỷ lệ tạo rễ và số rễ của chồi Hoàng tinh hoa đỏ có xu hướng giảm (Bảng 1). Điều này có thể do khi hàm lượng dinh dưỡng giảm làm ức chế sự sinh trưởng và phát triển của chồi, cây phát triển tạo rễ để tăng khả năng hấp thu các dưỡng chất (López-Bucio *et al.*, 2003). Thậm chí, ở công thức môi trường MS đầy đủ và hàm lượng sucrose cao (60 g/L) cũng không có mẫu cấy nào hình thành rễ. Quan sát hình thái mẫu cấy, chúng tôi nhận thấy, sau 10 tuần nuôi cấy phần gốc chồi có xu hướng phình to hơn các công thức còn lại trong thí nghiệm và không phát sinh rễ. Ở cùng mức nồng độ sucrose, rễ Hoàng tinh hoa đỏ hình thành tốt hơn trên môi trường có mức nồng độ khoáng chất giảm (1/2 MS và 1/4 MS). Việc giảm nồng độ khoáng gây hiệu ứng tốt đối với cảm ứng tạo rễ *in vitro* đã được ghi nhận ở nhiều loài cây thân rễ như gừng (Mohamed *et al.*, 2011), khoai từ *Discorea nipponica* (Shangni *et al.*, 2022).

So sánh hiệu quả của giảm nồng độ khoáng MS đối với khả năng tạo rễ của Hoàng tinh hoa đỏ cho thấy, mặc dù có sự sai khác có ý nghĩa về số rễ giữa hai mức nồng độ 1/2 MS và 1/4 MS, nhưng giá trị thực giữa các số liệu cách nhau không đáng kể (trung bình 0,9 rễ và 1,1 rễ). Đồng thời, sự sai khác về tỷ lệ tạo rễ trung bình giữa hai mức nồng độ MS này là không có ý nghĩa thống kê. Trong thí nghiệm này, tỷ lệ tạo rễ và số rễ cao nhất thu được ở công thức môi trường 1/4 MS + 20 g/L sucrose lần lượt là 73,33% và 1,9 rễ. Tuy nhiên, trạng thái rễ tỏ ra kém chất lượng (rễ mảnh, yếu và dễ gãy rụng). Kết quả theo dõi về chiều dài rễ cho thấy, công thức 1/2 MS + 40 g/L sucrose được ghi nhận là tốt hơn cả. Rễ tạo thành có kích thước trung bình 1,0 cm và khác biệt có ý nghĩa với các công thức còn lại trong thí nghiệm sau 10 tuần nuôi cấy. Mặt khác, rễ tạo thành ở công thức này cũng đã chắc và mập hơn (Hình 1).



Hình 1. Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* trên môi trường 1/2 MS + 40 g/L sucrose

Từ các kết quả thu được, chúng tôi xác định môi trường 1/2 MS với nồng độ sucrose 40 g/L là thích hợp để cảm ứng tạo rễ - tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh.

3.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh

Để khảo sát sự ảnh hưởng của auxin trong giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, IBA và α-NAA đơn chất với nồng độ 0 - 2,0 mg/L được bố trí thí nghiệm trên nền môi trường 1/2 MS + 40 g/L sucrose. Kết quả thí nghiệm sau 8 tuần được trình bày ở bảng 2.

IBA và α-NAA có ảnh hưởng tích cực khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy trong giai đoạn tạo rễ với cây Hoàng tinh hoa đỏ. Tỷ lệ tạo rễ ở các công thức môi trường có bổ sung IBA hoặc α-NAA đều cao hơn so với công thức đối chứng CT1 (Bảng 2). Nhìn chung, tất cả các chỉ tiêu theo dõi trong thí nghiệm đều tăng tỷ lệ thuận với nồng độ của IBA (0,5 - 1,0 mg/L) và α-NAA (0,5 - 1,5 mg/L). Ở những mức nồng độ cao hơn đã ức chế cảm ứng tạo rễ đối với chồi Hoàng tinh hoa đỏ, dẫn đến tỷ lệ tạo rễ, số rễ và chiều dài rễ đều có xu hướng giảm. Trạng

thái rễ chắc khỏe được ghi nhận ở mức nồng độ 1,0 - 1,5 mg/L đối với cả IBA và α-NAA (Hình 2). Tuy nhiên, ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi công thức CT8 bổ sung 1,5 mg/L α-NAA cho kết quả vượt trội hơn cả, các chỉ số đều khác biệt có ý nghĩa với các công thức còn lại trong thí nghiệm với tỷ lệ tạo rễ là 76,7%; 2,7 rễ/mẫu và chiều dài rễ 2,1 cm.

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA và α-NAA đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh (sau 8 tuần)

CT	IBA (mg/L)	α-NAA (mg/L)	TL tạo rễ (%)	Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Trạng thái rễ
CT1	0	0	$43,3 \pm 5,7^{e}$	$1,2 \pm 0,2^{d}$	$0,9 \pm 0,3^{e}$	+
CT2	0,5	-	$56,7 \pm 5,7^{cde}$	$1,5 \pm 0,3^{cd}$	$1,4 \pm 0,2^{cde}$	+
CT3	1,0	-	$70,0 \pm 10,0^{abc}$	$1,9 \pm 0,2^{bc}$	$2,5 \pm 0,3^{a}$	++
CT4	1,5	-	$60,0 \pm 10,0^{bcd}$	$2,1 \pm 0,2^{b}$	$1,8 \pm 0,4^{bc}$	++
CT5	2,0	-	$53,3 \pm 11,5^{de}$	$1,4 \pm 0,3^{cd}$	$1,2 \pm 0,1^{de}$	+
CT6	-	0,5	$53,3 \pm 11,5^{de}$	$1,4 \pm 0,2^{cd}$	$1,3 \pm 0,2^{cde}$	+
CT7	-	1,0	$73,3 \pm 5,7^{ab}$	$2,1 \pm 0,5^{b}$	$1,7 \pm 0,2^{bc}$	++
CT8	-	1,5	$76,7 \pm 5,7^{a}$	$2,7 \pm 0,1^{a}$	$2,1 \pm 0,1^{ab}$	++
CT9	-	2,0	$60,0 \pm 0,0^{bcd}$	$1,7 \pm 0,2^{bcd}$	$1,5 \pm 0,0^{cd}$	+
P-value			*< 0,05*	*< 0,05*	*< 0,05*	

Để nâng cao tỷ lệ tạo rễ và tăng sinh số rễ cũng như đảm bảo chất lượng của rễ, thí nghiệm tổ hợp 1,5 mg/L α-NAA với nồng độ thấp của cytokinin (0,2 và 0,4 mg/L) đối với BAP và Kinetin đã được khảo sát. Kết quả khảo sát sau 8 tuần nuôi cấy (Bảng 3) cho thấy, sự kết hợp giữa 1,5 mg/L α-NAA và BAP (0,2 và 0,4 mg/L) kém hiệu quả hơn so với việc sử dụng chỉ đơn chất α-NAA ở mức nồng độ 1,5 mg/L đối với chồi *in vitro* cây Hoàng tinh hoa đỏ. Trong khi 1,5 mg/L α-NAA kết hợp với KIN (0,2 và 0,4 mg/L) lại cho kết quả ngược lại. Tỷ lệ tạo rễ, số rễ và chiều dài rễ cao nhất trong thí nghiệm thu được khi tổ hợp 1,5 mg/L α-NAA với 0,2 mg/L KIN (CT4). Các chỉ số thu được ở công thức CT4 này khác biệt có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng (Bảng 3 và Hình 2). Điều này chứng tỏ, kinetin có tác động tích cực trong quá trình tạo rễ *in vitro* của chồi Hoàng tinh hoa đỏ. Hiệu quả việc tổ hợp auxin nồng độ cao với cytokinin nồng độ thấp trong tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh đã được ghi nhận ở nhiều đối tượng cây trồng. Nhiều kết quả nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả của việc kết hợp sử dụng cytokinin trong quá trình tạo rễ để tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh (Gomes *et al.,* 2010). Nghiên cứu của Heasar cũng chứng minh KIN có tác dụng tăng sinh rễ về số lượng và kích thước trên cây *Matthiola incana* (Hesar *et al.,* 2011). Kết quả nghiên cứu của Nayak *et al.* (2010) trên cây lâu năm cho thấy, tỷ lệ tạo rễ thấp trên môi trường không bổ sung KIN.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp α-NAA và cytokinin (BAP và KIN) đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh

Công thức	CĐHST			TL tạo rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Trạng thái rễ
	α-NAA	*BAP*	*KIN*				
CT1	1,5	0	0	$80,0 \pm 10,0^{ab}$	$2,5 \pm 0,4^{b}$	$2,1 \pm 0,1^{bc}$	++
CT2	1,5	0,2	0	$70,0 \pm 0,0^{bc}$	$2,3 \pm 0,5^{b}$	$2,0 \pm 0,3^{bc}$	++
CT3	1,5	0,4	0	$56,7 \pm 5,7^{c}$	$1,5 \pm 0,5^{c}$	$1,6 \pm 0,1^{c}$	+
CT4	1,5	0	0,2	$86,7 \pm 5,7^{a}$	$3,3 \pm 0,2^{a}$	$2,9 \pm 0,0^{a}$	+++
CT5	1,5	0	0,4	$73,3 \pm 11,5^{ab}$	$2,1 \pm 0,0^{bc}$	$2,2 \pm 0,4^{b}$	++
P-value				*<0,05*	*<0,05*	*<0,05*	



Hình 2. Trạng thái rễ cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* trên môi trường chứa CĐHST

Quan sát về trạng thái rễ Hoàng tinh hoa đỏ tạo thành trong thí nghiệm này cũng cho thấy, chất lượng rễ ở công thức CT4 (1,5 mg/L α-NAA + 0,2 mg/L KIN) là tốt nhất, rễ tạo thành chắc mập và trắng khỏe (Hình 2). Sự kết hợp giữa NAA và KIN trong môi trường tạo rễ cũng đã được ghi nhận khi nuôi cấy *in vitro* cây *Arachis hypogae* sau 4 tuần có tỷ lệ cây con sống sót cao nhất khi đưa ra ngoài vườn ươm (Venkatachalam & Jayabalan, 1997).

Như vậy, trong nghiên cứu này tổ hợp 1,5 mg/L α-NAA với 0,2 mg/L KIN (CT4) được xác định là tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng cảm ứng tạo rễ tốt nhất để tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh, tỷ lệ tạo rễ đạt 86,7%. Kết quả thu được ở nghiên cứu này không chỉ vượt trội so với tỷ lệ rễ tạo thành mà còn vượt trội về chất lượng rễ (số rễ, chiều dài và trạng thái rễ) so với kết quả nghiên cứu tạo rễ *in vitro* cây Hoàng tinh hoa đỏ trước đây (Hoàng Lê Thu Hà, 2017).

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng agar trong môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh

Trạng thái môi trường lỏng hay rắn có tác động đến khả năng hấp thụ dinh dưỡng cũng như khả năng sinh trưởng của cây con trong nuôi cấy *in vitro* (Hussien *et al.*, 2014). Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng trạng thái môi trường (hàm lượng agar) nuôi cấy tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tạo rễ, số rễ/mẫu và chiều dài rễ giữa các công thức trong thí nghiệm (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của agar đến khả năng tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh (sau 8 tuần)

Trạng thái môi trường	TL tạo rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Trạng thái rễ
Rắn	$86,67 \pm 6,67^{b}$	$3,48 \pm 0,08^{c}$	$3,05 \pm 0,04^{b}$	++
Bán lỏng	$97,78 \pm 3,85^{a}$	$3,93 \pm 0,12^{b}$	$3,35 \pm 0,07^{a}$	++
Lỏng tĩnh	$100 \pm 0,00^{a}$	$5,35 \pm 0,04^{a}$	$1,86 \pm 0,02^{c}$	+
P-value	*< 0,05*	*< 0,05*	*< 0,05*	

Tỷ lệ tạo rễ đạt 100% với số rễ nhiều nhất được ghi nhận ở công thức môi trường lỏng (0 g/L agar). Trạng thái môi trường lỏng đã được ghi nhận là có ảnh hưởng tích cực đến tỷ lệ tạo rễ, số rễ đối với khoai tây (Mbiyu *et al.*, 2012) và thuốc nhũ hương (Suthar *et al.*, 2011). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chiều dài rễ và trạng thái rễ Hoàng tinh hoa đỏ ở công thức 0 g/L agar kém hơn so với công thức rắn và công thức bán lỏng. Số lượng rễ nhiều, nhưng ngắn và có nhiều lông hút bám ở bề mặt (Hình 3). Trạng thái rễ này dễ bị gãy rụng khi thao tác đưa cây ra điều kiện *ex vitro*.

Trên môi trường rắn (6 g/L agar) và bán lỏng (3 g/L agar), tỷ lệ tạo rễ và số lượng rễ kém hơn so với môi trường lỏng (0 g/L agar). Tuy nhiên, trạng thái rễ của cây trên các công thức môi trường này lại tốt hơn, rễ mập, chắc khỏe và dài. Tỷ lệ tạo rễ trên môi trường bán lỏng đạt 97,78%, sai khác không có ý nghĩa về mặt thống kê so với công thức môi trường lỏng. Mặt khác, số lượng rễ và chiều dài rễ cao vượt trội hơn so với công thức môi trường rắn. Điều này có thể do môi trường bán lỏng nên các chất điều hòa sinh trưởng cũng như các chất dinh dưỡng vận chuyển dễ dàng hơn, rễ hấp thụ dễ dàng hơn nên tăng sinh về kích thước.



6 g/L agar 3 g/L agar 0 g/L agar

Hình 3. Ảnh hưởng của agar đến khả năng tạo rễ *in vitro* cây Hoàng tinh hoa đỏ

Như vậy, sử dụng agar ở nồng độ 3 g/L là thích hợp để tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được ảnh hưởng của nền khoáng và nồng độ đường, chất điều hòa sinh trưởng và trạng thái môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo rễ để tạo cây Hoàng tinh hoa đỏ *in vitro* hoàn chỉnh. Từ đó, xác định môi trường tạo rễ thích hợp là môi trường 1/2 MS + 1,5 mg/L α-NAA + 0,2 mg/L KIN + 40 g/L sucrose + 3 g/L agar cho hiệu quả tạo rễ đạt 97,78% với 3,93 rễ và trạng thái rễ tốt nhất.

4.2. Đề nghị

Áp dụng kết quả này vào quy trình nhân giống Hoàng tinh hoa đỏ bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào ở giai đoạn tạo rễ *in vitro.*

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ đề tài: "Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống cây hoàng tinh hoa đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl) bằng phương pháp nuôi cấy mô" (2019 - 2022) của Bộ Y tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y tế, 2022. Thông tư Ban hành danh mục loại, chủng loại dược liệu quý, hiếm và đặc hữu phải kiểm soát. Thông tư số 16/2022/TT-BYT ngày 30 tháng 12 năm 2022.

Hoàng Lê Thu Hà, 2017. *Nghiên cứu đặc điểm sinh học loài hoàng tinh hoa đỏ (Polygonatum kingianum* Coll et Herml) *tại Bắc Quang, Hà Giang và nhân giống in vitro.* Luận văn Thạc sĩ Lâm học. Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên. Tỉnh Thái Nguyên, 82 tr.

La Việt Hồng, Trần Hồng Thu, Phạm Thị Quy, Đinh Phương Thảo, Nguyễn Thị Thanh, Phạm Ngọc Khánh, 2017. Xác định chỉ thị phân tử và tái sinh chồi *in vitro* của loài Hoàng tinh hoa đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll et Hemsl) thu tại Sa Pa - Lào Cai. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 164 (04): 189-193.

Nguyễn Tập, 2019. Danh lục đỏ cây thuốc Việt Nam 2019. *Tạp chí Dược liệu*, 6: 319-328.

Nguyễn Thị Xuyên, Đinh Trường Sơn, Phan Thúy Hiền, Đinh Thanh Giảng, Nguyễn Thị Hương, Vũ Hoài Sâm, 2021. Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến khả năng nhân nhanh chồi cây Hoàng tinh hoa đỏ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 7: 24-29.

Duan B. Z., Zhang X. C., Du Z. F., Tao A. E., Li Z., 2017. An exploration of the continual utilization of *Polygonatum kingianum* resources. *Journal of Dali University*, 2: 10-14.

Gomes F., Simões M., Lopes M. L., Canhoto J. M. (2010). Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). *New Biotechtenology,* 27 (6): 882-892.

Hesar A. A., Kaviani B., Tarang A., Zanjani S. B., 2011. Effect of different concentrations of kinetin on regeneration of ten weeks (*Mattihiola incana*). *Plant Omics*, 4 (5): 236-238.

Hilae, A. and Te cha-to, 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis quineensis* Jacq.). *Songklanarin Journal of Science Technology,* 27 (3): 629-635.

Hussien F. A., Osman M. A. Idris T. I., 2014. The influence of liquid media support, gelling agents and liquid overlays on performance of *in vitro* cultures of ginger (*Zingiber officinale*). *International Journal of Scientific and Research Publications,* 4 (10): 2250-3153.

López-Bucio, J., Cruz-Ramırez, A., & Herrera-Estrella, L., 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Option in Plant Biology, 6: 280-287.*

Mbiyu M., Muthoni J. Kabira J., Muchira C., Pwaipwai P., Ngaruiya J., Onditi J., Otieno S. (2012). Comparing liquid and solid media on the growth of plantlets from three Kenyan potato cultivars. *American Journal of Experimental Agriculture,* 2 (1): 81-89.

Mohamed S. A., Hussenin S. T., Usama I. A., Hattem M. E., El-Sayed I. G.,(201). *In vitro* propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosco). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology,* 9: 165-172.

Murashige, T., & Skoog, F(, 196). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15 (3): 473-497.

Nayak S., Hatwar B., Jain A., 2010. Effect of cytokinin and auxins on meristem culture of *Bambusa arundinacea. Der Pharmacia Letter,* (1): 408-414.

Pharmacopoeia Chinease, 2015. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China.* China. Medico-Pharmaceutical Science & Technology Publishing House, Beijing 1: 306 pp.

Shangni D., Runmei G., Yuqing Z., Yumei F., 2022. *In vitro* regeneration and its histological characteristics of *Dioscorea nipponia* Makino. *Science Report* 12 (1): 18436.

Suthar R. K., Habibi N., Purohit S. D., 2011. Influence of agar concentration and liquid medium on *in vitro* propagation of *Boswellia serrata* Roxb. *Indian Journal of Biotechnology,* 10 (2): 224-227.

Venkatachalam and Jayabalan, 1997. Effect of auxins and cytokinins on efficient plant regeneration and multiple-shoot formation from cotyledons and cotyledonary-node expiants of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) by *in vitro* culture technology. *Applied Biochemistry and Biotechnology,* 67 (3): 237-247.

Wang Y., Liu X., Su H., Yin S., Han C., Hao D., Dong X., 2019. The regulatory mechanism of chilling-induced dormancy transition from endo-dormancy to non-dormancy in *Polygonatum kingianum* Coll. et Hermsl rhizome bud. *Plant Molecular Biology* 99: 205-217.

Study on *in vitro* plantlet regeneration of *Polygonatum kingianum*

Vu Hoai Sam, Nguyen Thi Xuyen, Le Thi Quynh Nga,
Hoang Thi Nhu Nu, Đinh Thanh Giang, Nguyen Thi Huong

Abstract

Polygonatum kingianum Coll. et Hemsl. is a precious traditional medicine that is being studied for micropropagation. This study focused on determining the influence of medium composition and physical state on *in vitro* rooting of *Polygonatum kingianum* shoots before transferring to the nursery. The results showed that, *in vitro* single shoots of *Polygonatum kingianum* were best rooted in half-strength MS medium supplemented with 1.5 mg/L α-NAA, 0.2 mg/L KIN, 40 g/L sucrose and 3 g/L agar which generated a rooting rate of 97.78%, 3.93 roots/explant and root length of 3.35 cm after 8 weeks of culture. This study has produced healthy plantlets, contributing to the establishment of an efficient micropropagation protocol for conservation and development of *P. kingianum*.

Keywords: *P. kingianum,* in vitro culture, culture medium

Ngày nhận bài: 15/02/2023
Ngày phản biện: 24/02/2023
Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Nhung
Ngày duyệt đăng: 28/3/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA THỜI VỤ GHÉP CẢI TẠO VẢI TRỨNG HƯNG YÊN TRÊN GỐC VẢI LAI PHÙ CỪ ĐẾN TỶ LỆ SỐNG VÀ KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN SAU GHÉP

Nguyễn Thị Tuyết[1*], Vũ Việt Hưng[1],
Nguyễn Ngọc Hà[1], Vương Thị Hòa[1], Ngô Thị Mai Vi[2]

TÓM TẮT

Vải Trứng Hưng Yên là giống vải chín sớm, có nguồn gốc tại huyện Phù Cừ, tỉnh Hưng Yên. Giống có nhiều đặc điểm quý nên có hiệu quả kinh tế cao, vì vậy, được chính quyền và người dân ưu tiên mở rộng diện tích trồng. Nhằm xác định được thời vụ thích hợp để ghép cải tạo vải Trứng Hưng Yên trên gốc vải Lai Phù Cừ (giống hiện có diện tích lớn xong hiệu quả kinh tế thấp hơn nhiều so với vải Trứng Hưng Yên), nghiên cứu "Ảnh hưởng của thời vụ ghép cải tạo vải Trứng Hưng Yên trên gốc vải Lai Phù Cừ đến tỷ lệ sống và khả năng sinh trưởng phát triển sau ghép" đã được triển khai. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng trong các công thức thử nghiệm, công thức ghép vụ Xuân thích hợp nhất, cụ thể: tỷ lệ sống đạt 96,44%; cành ghép sinh trưởng mạnh, sau 90 ngày có chiều dài và đường kính lần lượt đạt 60,22 và 1,31 cm; 100% số cây ghép có khả năng ra hoa vào thời điểm 10 tháng sau ghép; tỷ lệ đậu quả đạt 0,23%; năng suất đạt 12,49 kg/cây. So với công thức ghép vụ Xuân, công thức ghép vụ Hè và công thức ghép vụ Thu có tỷ lệ sống sau ghép thấp hơn rõ rệt và thời gian từ khi ghép đến khi cây ra hoa dài hơn.

Từ khóa: Thời vụ, ghép cải tạo, vải Trứng Hưng Yên, vải Lai Phù Cừ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vải Trứng Hưng Yên có nguồn gốc tại thôn Ba Đông, xã Phan Sào Nam, huyện Phù Cừ, tỉnh Hưng Yên. Giống có nhiều đặc điểm quý như sinh trưởng khỏe, năng suất cao, quả to (trung bình 50 - 60 g/quả, cá biệt có quả đạt khoảng 100 g), mẫu mã đẹp, vỏ quả có khả năng giữ màu tự nhiên dài hơn 3 - 5 lần so với các giống vải khác và có thời gian thu hoạch sớm, vào khoảng từ 15 đến 25 tháng 5 hàng năm nên có giá bán cao (100 - 150 ngàn đồng/kg). Vì vậy, giống vải này được chính quyền và người trồng vải tại huyện Phù Cừ, tỉnh Hưng Yên ưu tiên phát triển, mong muốn mở rộng nhanh diện tích trồng.

Ngoài giống vải Trứng, tại Hưng Yên hiện có khoảng 900 ha giống vải Lai Phù Cừ (Phòng Nông nghiệp & PTNT huyện Phù Cừ, 2021). Những năm trước đây, giống vải này mang lại giá trị kinh tế cao cho người trồng. Tuy nhiên, những năm gần đây, một số địa phương lân cận như Hải Dương, Bắc Giang, Quảng Ninh cũng đã và đang phát triển một số giống vải chín sớm (Nguyễn Văn Dũng và *cs.*, 2020), có thời gian thu hoạch tương đương với giống vải Lai Phù Cừ nên đã làm giảm lợi thế cạnh tranh, qua đó giảm hiệu quả kinh tế của giống vải này. Trước thực trạng trên, người trồng vải Lai Phù Cừ mong muốn cải tạo để chuyển đổi một phần diện tích thành giống vải Trứng Hưng Yên.

Trong sản xuất cây ăn quả nói chung, sản xuất vải nói riêng, ghép cải tạo được xem là biện pháp kỹ thuật nhanh và có hiệu quả trong việc chuyển đổi những diện tích trồng giống cũ sang một giống mới có hiệu quả kinh tế cao hơn, đã thực hiện thành công ở nhiều vùng sản xuất cây ăn quả. Tuy nhiên, việc ghép cải tạo đối với cây vải thường cho tỷ lệ sống không ổn định. Bên cạnh sự tương thích giữa gốc và mắt ghép (Hu *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2022) thì trạng thái sinh lý của mắt (cành) ghép (Menzel, 1985) và thời vụ ghép cũng có ảnh hưởng quan trọng đến tỷ lệ bật mầm, sinh trưởng và phát triển của cành ghép sau khi ghép cải tạo (Victor Galan Sauco *et al.*, 2018; Nguyễn Văn Nghiêm và *cs.*, 2010). Vì vậy, việc lựa chọn thời vụ ghép thích hợp để vừa đảm bảo tỷ lệ sống cao, vừa rút ngắn thời gian từ khi ghép cho đến khi thu hoạch là cần thiết.

[1]Viện Nghiên cứu Rau quả
[2]Trường Đại học Vinh
* Tác giả liên hệ, e-mail: tuyetvrq@gmail.com