

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY PHÒNG PHÒNG (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk)

Hoàng Thị Như Nụ^{1,*}, Nguyễn Thị Xuyên¹,
Lê Thị Quỳnh Nga¹, Đinh Thanh Giảng¹, Vũ Hoài Sâm¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành góp phần xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây phòng phong từ chồi đỉnh. Mẫu phòng phong được khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 12 phút cho tỷ lệ nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu sống, sạch cao đạt 60,7%, mẫu tái sinh tạo chồi tốt. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L BAP là môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi. Môi trường nhân nhanh chồi phòng phong tốt nhất là môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BAP cho hệ số nhân chồi đạt cao nhất 8,56 chồi/mẫu, chiều cao đạt 6,1 cm, chất lượng chồi tốt sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L α -NAA là môi trường ra rễ thích hợp nhất cho chồi phòng phong với tỷ lệ ra rễ đạt 68,33%, số rễ 11,67 rễ và chiều dài rễ 3,43 cm sau 10 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: Nhân giống *in vitro*, quy trình, chồi đỉnh, phòng phong.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phòng phong (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.) là loài duy nhất trong chi *Saposhnikovia* Schischk. (Umbelliferae), phân bố rộng rãi ở Trung Quốc [1]. Rễ khô chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học khác nhau như: Chromone, coumarin, polyacetylenes và polysacarit, trong đó chromone và coumarin là những thành phần chính [1, 2, 3] có tác dụng trong điều trị sốt, thấp khớp, nhức đầu, chóng mặt, đau nhức toàn thân, co giật, đau khớp và các triệu chứng viêm [4, 5]. Ở Trung Quốc, phòng phong là trong những cây thuốc hoang dã được đưa vào danh sách thực vật bảo vệ cấp độ III quốc gia [6]. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, với sự gia tăng nhu cầu thị trường, tài nguyên hoang dã này ngày càng trở nên khan hiếm. Vì vậy, vùng và diện tích trồng phòng phong dần dần được mở rộng [6, 7] và trở thành đối tượng chính trên thị trường.

Là một loại thảo dược có nhiều giá trị về y học cũng như kinh tế cao. Tuy nhiên, phần lớn các công bố khoa học trên thế giới chủ yếu tập trung nghiên cứu về tách chiết các hợp chất sinh học và tác dụng dược lý của chúng. Trong khi đó các nghiên cứu về canh tác, chọn giống và nhân

giống còn nhiều hạn chế. Ở Việt Nam, cho đến nay vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu về đối tượng này. Dược liệu phòng phong được sử dụng ở nước ta chủ yếu vẫn nhập khẩu từ Trung Quốc, chưa có nguồn gốc rõ ràng. Điều này làm hạn chế tính chủ động nguồn nguyên liệu và làm tăng giá thành. Vì vậy để có thể chủ động nguồn cung cấp dược liệu phòng phong, đáp ứng nhu cầu sử dụng trong nước, cũng như phát triển nguồn gen quý này là vấn đề rất cần thiết.

Phòng phong chủ yếu được nhân giống bằng hạt, tuy nhiên khả năng phân ly tính trạng cao. Nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* có nhiều ưu thế hơn so với các phương pháp nhân giống truyền thống như duy trì được những tính trạng quý của cây mẹ, hệ số nhân giống cao, cây con sạch bệnh và được trẻ hóa nên có tiềm năng, năng suất và chất lượng cao, phát triển lớn ở quy mô công nghiệp. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu nhân giống *in vitro* thành công cây phòng phong từ các nguồn vật liệu khác nhau (rễ, lá, đoạn thân) [8, 9]. Tuy nhiên, nhược điểm của việc nhân giống gián tiếp là có khả năng tạo biến dị cao. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát khả năng nhân giống *in vitro* cây phòng phong từ chồi đỉnh, góp phần thiết lập quy trình vi nhân giống làm cơ sở cho việc cung cấp cây giống ở thị trường dược liệu Việt Nam.

¹ Viện Dược Liệu

* Email: nhunu1912@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu nghiên cứu**

Chồi đỉnh của cây phòng phong đang trong giai đoạn sinh trưởng phát triển tốt, khỏe mạnh, không bị sâu, bệnh được trồng tại Trạm Nghiên cứu Dược liệu Tam Đảo, Viện Dược liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Khử trùng và nuôi cấy khởi động**

Chồi đỉnh được rửa sạch dưới vòi nước chảy khoảng 10 phút, sau đó mẫu được ngâm trong dung dịch xà phòng loãng 0,01%, lắc đều 2 - 3 lần trong 10 phút rồi rửa lại bằng nước cất vô trùng (3 - 5 lần). Trong box cấy, mẫu được khử trùng bằng dung dịch thủy ngân clorua ($HgCl_2$ 0,1%) với các khoảng thời gian khác nhau (6, 9, 12, 15 phút). Sau giai đoạn khử trùng với hóa chất, mẫu được rửa sạch với nước cất vô trùng 5 lần. Mẫu cấy sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS [10] để phát sinh tạo chồi. Đánh giá thí nghiệm sau 4 tuần, các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu sống (%), tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%).

2.2.2. Tái sinh chồi

Chồi từ giai đoạn nuôi cấy khởi động được tách ra và chuyển sang môi trường tái sinh cụm chồi để tạo nguồn nguyên liệu *in vitro* cho quá trình nhân nhanh. Chồi được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung benzylaminopurine (BAP: 0,0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg/L) để lựa chọn nồng độ thích hợp nhất. Đánh giá thí nghiệm sau 8 tuần, các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ tái sinh chồi (%), số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm), chất lượng chồi.

2.2.3. Nhân nhanh chồi

Chồi phòng phong *in vitro* (1 - 1,5 cm) được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung riêng rẽ benzylaminopurine (BAP: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L), kinetin (Kin: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L), kết hợp BAP (1,0 mg/L) với IBA (0,0; 0,25; 0,5 mg/L) hoặc α -NAA (0,0; 0,25; 0,5 mg/L) để lựa chọn nồng độ chất điều tiết sinh trưởng tối ưu nhân nhanh chồi. Đánh giá thí nghiệm sau 8 tuần, các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ tạo chồi (%), số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm), chất lượng chồi.

2.2.4. Tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi *in vitro* (1 - 1,5 cm) tách từ cụm chồi được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung riêng rẽ indole-3-butyric axit (IBA: 0,0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg/L) và 1-Naphthaleneacetic axit (α -NAA: 0,0; 0,25; 0,50; 0,75; 1 mg/L) để kích thích ra rễ. Đánh giá thí nghiệm sau 10 tuần, các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ chồi ra rễ (%), số rễ (cái), chiều dài rễ (cm).

2.2.5. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Tất cả môi trường được bổ sung 6 g/L agar và 30 g/L đường sucrose, pH điều chỉnh đến 5,8 - 6,0 (bằng KOH). Môi trường, dụng cụ được hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1 atm trong 20 phút. Các mẫu được nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*: Thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2.000 lux, nhiệt độ $24 \pm 2^\circ C$, độ ẩm tương đối: 70%.

2.2.6. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn (RCD) với 3 lần lặp lại, sử dụng bình tam giác 250 ml, mỗi bình chứa 80 ml môi trường (10 bình/công thức, 3 mẫu/bình). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0 và Microsoft Excel 2010.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01 đến tháng 11 năm 2023 tại Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật, Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia, Viện Dược liệu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**3.1. Nuôi cấy khởi động**

Giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu là tiền đề quan trọng quyết định sự thành công của quá trình nuôi cấy *in vitro*. Do đó, trước khi đưa vào nuôi cấy, mẫu cần phải được khử trùng. Giai đoạn này cần đảm bảo tỷ lệ mẫu nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu sống cao, mô tồn tại, phân hoá sinh trưởng tốt và tạo chồi phát triển khỏe mạnh. Thời gian khử trùng có ảnh hưởng lớn đến khả năng vô trùng mẫu. Ở thời gian khử trùng ngắn (6 phút), 100% mẫu bị nhiễm - thời gian khử trùng ngắn hóa chất chưa kịp thẩm thấu vào sâu để làm sạch các mô cơ quan bên trong. Khi tăng thời gian khử trùng lên 12 - 15 phút, tỷ lệ mẫu nhiễm giảm nhanh, tuy nhiên kéo dài thời

gian khử trùng thì tỷ lệ mẫu chết cũng tăng lên đáng kể. Sử dụng $HgCl_2$ với thời gian khử trùng kéo dài (15 phút) sẽ ngấm vào mô thực vật, làm hỏng và gây độc cho mẫu làm cho mẫu cấy bị thâm đen và chết nhiều với tỷ lệ mẫu chết đạt 35,5%.

Như vậy với thời gian khử trùng 12 phút là thời gian thích hợp nhất để khử trùng mẫu phòng phong trong khoảng thời gian thăm dò, cho tỷ lệ mẫu sống đạt cao nhất (60,7%), mẫu tái sinh tạo chồi tốt.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng vô trùng mẫu phòng phong
(Sau 4 tuần vào mẫu)**

Chất khử trùng	Thời gian (phút)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống và sạch (%)
$HgCl_2$ (0,1%)	6	100	0	0
	9	85	0	15,0
	12	34	5,3	60,7
	15	20	35,5	44,5
<i>CV%</i>		<i>1,0</i>	<i>0,8</i>	<i>0,5</i>
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,81</i>	<i>0,19</i>	<i>0,25</i>

3.2. Tái sinh chồi

Trên môi trường không bổ sung BAP, mẫu vẫn có khả năng tạo chồi, tuy nhiên tỷ lệ tái sinh chồi, số chồi/mẫu không cao chỉ đạt 66,67% và tạo được 1 - 2 chồi. Ở nồng độ 0,5 mg/L BAP số

chồi/mẫu đạt cao nhất 5,6 chồi, chiều cao trung bình chồi đạt 6,05 cm. Khi tăng lên nồng độ cao hơn, số chồi/mẫu và chiều cao chồi có xu hướng giảm đồng thời chất lượng chồi cũng kém hơn chồi nhỏ, lá nhỏ có màu xanh nhạt.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh chồi *in vitro* phòng phong
(Sau 8 tuần nuôi cấy)**

Nồng độ BAP (mg/L)	Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
0,00 (ĐC)	66,67	1,67	5,76	++
0,25	100	4,16	4,78	+++
0,50	100	5,60	6,05	+++

0,75	100	4,13	5,16	++
1,00	100	3,83	4,33	+
<i>CV%</i>		<i>2,30</i>	<i>1,50</i>	
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,16</i>	<i>0,14</i>	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá to màu xanh đậm; +++ Chồi to, lá to màu xanh đậm; ĐC là đối chứng

3.3. Nhân nhanh chồi

3.3.1. Ảnh hưởng của BAP và kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* phòng phong

Môi trường không bổ sung chất điều tiết sinh trưởng cho hệ số nhân chồi thấp. Khi bổ sung BAP hoặc kinetin, hệ số nhân chồi tăng lên rõ rệt, 100% mẫu tạo chồi. Môi trường có bổ sung BAP cho hiệu quả kích thích mẫu tạo chồi tốt hơn so với kinetin ở cùng nồng độ khảo sát: Ở nồng độ 1 mg/L BAP, hệ số nhân chồi đạt cao nhất với 8,56

chồi/mẫu, trong khi kinetin chỉ đạt 5,86 chồi/mẫu. Khi tăng nồng độ cytokinin lên từ 1,5 - 2 mg/L, hệ số nhân chồi có xu hướng giảm. Trong môi trường *in vitro*, hàm lượng cytokinin cao sẽ làm giảm số lượng chồi/cụm chồi cũng như chất lượng chồi, trong nhiều trường hợp dẫn đến hiện tượng thủy tinh hóa của cụm chồi [11]. Ở môi trường có bổ sung kinetin thì chồi thường nhỏ hơn nhưng chiều cao lại cao hơn so với môi trường bổ sung BAP.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP hoặc kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* phòng phong (Sau 8 tuần nuôi cấy)

Cytokinin	Nồng độ (mg/L)	Tỷ lệ tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
BAP	0,00	80	2,23	6,0	++
	0,50	100	6,67	5,8	+++
	1,00	100	8,56	6,1	+++
	1,50	100	5,75	5,5	++
	2,00	100	4,53	4,8	+
<i>CV%</i>			<i>2,5</i>	<i>3,1</i>	
<i>LSD_{0,05}</i>			<i>0,26</i>	<i>0,32</i>	
Kin	0,00	80	2,23	6,0	++

	0,50	100	5,14	7,2	++
	1,00	100	5,86	6,8	++
	1,50	100	4,67	6,5	+
	2,00	100	3,33	6,1	+
<i>CV%</i>			<i>3,2</i>	<i>2,2</i>	
<i>LSD_{0,05}</i>			<i>0,25</i>	<i>0,26</i>	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá to màu xanh đậm; +++ Chồi to, lá to màu xanh đậm

3.3.2. Ảnh hưởng kết hợp của BAP và IBA/ α -NAA đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* phòng phong

Hầu hết ở cơ thể sinh vật, các chất điều tiết sinh trưởng thường tương tác với nhau để tạo ra những ảnh hưởng cuối cùng trong mọi quá trình sinh trưởng, phát triển [12]. Việc phối kết hợp giữa BAP và IBA/ α -NAA vào môi trường nuôi cấy không có tác dụng tích cực đến sự nhân nhanh chồi *in vitro* cây phòng phong so với việc bổ sung

BAP đơn lẻ. Bổ sung auxin vào môi trường đã làm giảm hệ số nhân chồi từ 7,68 chồi/mẫu xuống chỉ còn 4,16 - 4,33 chồi/mẫu, chiều cao cũng như chất lượng chồi giảm một cách rõ rệt. Các chồi có xu hướng hình thành cụm nhỏ, chồi yếu và thấp, lá nhỏ màu xanh nhạt và bắt đầu có hiện tượng xoắn ở mép lá, hình thành callus ở gốc chồi ở môi trường có bổ sung 1 mg/L BAP và 0,5 mg/L IBA/ α -NAA.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BAP và IBA đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* phòng phong (Sau 8 tuần nuôi cấy)

Công thức	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
1 mg/L BAP	7,68	5,8	+++
1 mg/L BAP + 0,25 mg/L IBA	5,45	5,0	++
1 mg/L BAP + 0,50 mg/L IBA	4,16	4,3	+
<i>CV%</i>	<i>2,7</i>	<i>2,8</i>	
<i>LSD_{0,05}</i>	<i>0,31</i>	<i>0,28</i>	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, yếu, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá to màu xanh đậm; +++ Chồi to, lá to màu xanh đậm

Bảng 5. Ảnh hưởng của BAP và α -NAA đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* phòng phong (Sau 8 tuần nuôi cấy)

Công thức	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
1 mg/L BAP	7,68	5,8	+++
1 mg/L BAP + 0,25 mg/L α -NAA	5,86	5,2	++
1 mg/L BAP + 0,50 mg/L α -NAA	4,33	4,6	+
CV%	2,4	2,7	
LSD _{0,05}	0,29	0,28	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, yếu, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá to màu xanh đậm; +++ Chồi to, lá to màu xanh đậm

Như vậy, qua các thí nghiệm về việc bổ sung các hormone thực vật như BAP, kinetin đơn lẻ hoặc kết hợp giữa BAP (1 mg/L) với IBA (0,25; 0,5 mg/L) hoặc α -NAA (0,25; 0,5 mg/L) với nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng BAP là phù hợp nhất cho việc nhân nhanh *in vitro* phòng phong, hệ số nhân đạt cao nhất 8,56 chồi/mẫu, chiều cao đạt 6,1 cm trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BAP.

3.4. Tạo cây hoàn chỉnh

Trong nuôi cấy *in vitro*, auxin đóng vai trò điều khiển sự hình thành rễ ở hầu hết các loài thực vật - thúc đẩy sự phân chia giãn dài tế bào và phân hóa rễ. IBA và α -NAA là 2 loại hormone được dùng phổ biến trong nuôi cấy mô kích thích sự ra rễ.

Trên nền môi trường MS đã tiến hành bổ sung vào môi trường nuôi cấy IBA hoặc α -NAA ở các nồng độ khác nhau để khảo sát sự hình thành ra rễ của chồi phòng phong. Kết quả thu được sau 10 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của α -NAA/IBA đến khả năng ra rễ *in vitro* của chồi phòng phong (Sau 10 tuần nuôi cấy)

Auxin	Nồng độ (mg/L)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
α -NAA	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,25	50,25	7,67	3,06
	0,50	68,33	11,67	3,43
	0,75	35,86	8,54	1,63

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

	1,00	15,54	5,13	1,24
<i>CV%</i>		<i>0,5</i>	<i>1,4</i>	<i>3,3</i>
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,25</i>	<i>0,17</i>	<i>0,11</i>
IBA	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,25	40,67	5,63	1,33
	0,50	46,50	7,34	1,63
	0,75	21,23	5,23	1,23
	1,00	13,33	4,56	0,86
<i>CV%</i>		<i>0,4</i>	<i>1,8</i>	<i>6,6</i>
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,16</i>	<i>0,15</i>	<i>0,12</i>



A



B



C

Hình 1. Cây phòng phong *in vitro*

A. Cụm chồi phòng phong trên môi trường MS + 1 mg/L BAP; B. Chồi phòng phong in vitro ra rễ trên môi trường MS + 0,5 mg/L α-NAA; C. Cây phòng phong trong bầu sau 6 tuần ra ngôi trên giá thể đất phù sa

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, đã có sự phát sinh hình thành rễ ở chồi phòng phong khi môi trường có bổ sung chất điều tiết sinh trưởng. Tuy nhiên, ở những môi trường khác nhau sự tạo rễ cũng khác nhau. Trên môi trường MS không bổ sung chất

điều tiết sinh trưởng, cây phát triển về chiều cao nhưng không có sự phát sinh rễ, khi bổ sung auxin (α-NAA/IBA) vào môi trường với nồng độ từ 0,25 lên 0,5 mg/L tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ và chiều dài rễ đều tăng: Tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất 68,33% trên môi

trường có bổ sung 0,5 mg/L α -NAA, số rễ đạt 11,67 rễ, chiều dài rễ 3,43 cm. Tiếp tục tăng nồng độ auxin vào môi trường nuôi cấy từ 0,75 - 1 mg/L, bắt đầu có sự ức chế kéo dài và giảm số lượng rễ tạo ra, tỷ lệ chồi ra rễ cũng có xu hướng giảm. So với IBA thì α -NAA có ảnh hưởng tích cực hơn đến khả năng ra rễ của chồi phòng phong cả về tỷ lệ ra rễ, số rễ, chiều dài rễ cũng như chất lượng của rễ: Rễ trên môi trường có bổ sung α -NAA rễ dài màu trắng xanh, trong khi rễ trên môi trường IBA rễ ngắn màu trắng có nhiều rễ tơ mảnh rất dễ gãy. Kết quả này của nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của Tong và cs (2009) [8], Zhang và cs (2012) [9] khi sử dụng NAA là auxin thích hợp cho quá trình ra rễ *in vitro* trên cây phòng phong. Trong quá trình tạo rễ, kết quả cho thấy: Phòng phong là đối tượng khó ra rễ trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, thời gian ra rễ diễn ra rất lâu, đến khoảng tuần thứ 6, chồi mới bắt đầu ra rễ đồng thời tỷ lệ ra rễ rất thấp chỉ đạt trong khoảng 10 - 60%, cao nhất đạt hơn 68% sau 10 tuần. So với nghiên cứu của Zhang và cs (2012) [9] tỷ lệ ra rễ cũng chỉ đạt 65% trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 mg/L NAA + 0,1 mg/L BA, trong khi Tong và cs (2009) [8] lại cho thấy, môi trường ra rễ tốt nhất là $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 mg/L NAA, nhưng không thấy đề cập đến tỷ lệ ra rễ.

4. KẾT LUẬN

Mẫu phòng phong được khử trùng bằng HgCl_2 0,1% trong thời gian 12 phút cho tỷ lệ nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu sống, sạch cao đạt 60,7%, mẫu tái sinh tạo chồi tốt. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L BAP là môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi. Môi trường nhân nhanh chồi phòng phong tốt nhất là môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BAP cho hệ số nhân chồi đạt cao nhất 8,56 chồi/mẫu, chiều cao đạt 6,1 cm, chất lượng chồi tốt - chồi to, lá to có màu xanh đậm sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L α -NAA là môi trường ra rễ thích hợp nhất cho chồi phòng phong với tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất 68,33% sau 10 tuần, số rễ đạt 11,67 rễ, chiều dài rễ 3,43 cm, rễ dài chắc khỏe, màu trắng xanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang, M., Wang, C. C., Wang, W. L., Xu, J. P., Wang, J., Zhang, C. H., & Li, M. H. (2020).

Saposhnikovia divaricata - An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. *Chinese journal of integrative medicine*, 26, 873 - 880.

2. Kreiner, J., Pang, E., Lenon, G. B., & Yang, A. W. H. (2017). *Saposhnikovia divaricata*: a phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(4), 255 - 264.

3. Li, Y., Zhao, L., Zhang, H., Jia, J., Lv, L., Zhou, G., ... & Zhang, G. (2012). Comparative pharmacokinetics of prim-O-glucosylcimifugin and cimifugin by liquid chromatography-mass spectrometry after oral administration of Radix Saposhnikovia extract, cimifugin monomer solution and prim-O-glucosylcimifugin monomer solution to rats. *Biomedical Chromatography*, 26(10), 1234 - 1240.

4. Yang, J. M., Jiang, H., Dai, H. L., Wang, Z. W., Jia, G. Z., & Meng, X. C. (2016a). Polysaccharide enhances Radix Saposhnikovia efficacy through inhibiting chromones decomposition in intestinal tract. *Scientific reports*, 6(1), 32698.

5. Yang, J. M., Jiang, H., Meng, X. C. (2016b). Current situation and thinking of quality evaluation of traditional Chinese medicine Fangfeng. *J. Chin. Med. Mater.* 39, 1678 - 1681.

6. Zhou, Y. H. (2016). Discussion about range of nationalkey-protected wild medicinal materials. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1061 - 1073.

7. Feng, Z., Cui, Y. H., Li, M. S., Lian, Y. L., Zhou, R. X., Hao, Y. F., Wei, F. (2021). Research idea of quality evaluation for Saposhnikovia Radix. *Modern Chin. Med.* 23, 1686 - 1691.

8. Tong, W., Fan, R., Guo, S., & Chang, Y. (2009). Experiment on tissue culture technique of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 16(1), 19 - 24.

9. Zhang Jia-jing, Zhang Mei-zhen, Yu Yuan-jie (2012). Study on Callus Induction and Plantlet Regeneration of *Saposhnikovia divaricata*. *Shandong Agricultural Sciences*, 44(8), 13 - 16.

10. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473 – 497.
11. Wang, D., Wergin, W. P., & Zimmerman, R. H. (1984). Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of strawberry. *HortScience*, 19(1), 71 – 72.
12. Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 32, 272 – 289.

STUDY ON MICROPROPAGATION OF *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk

Hoang Thi Nhu Nu¹, Nguyen Thi Xuyen¹,

Le Thi Quynh Nga¹, Dinh Thanh Giang¹, Vu Hoai Sam¹

¹National Institute of Medicinal Materials

Summary

The aim of this study was to establish a protocol for *in vitro* propagation of *S. Divaricata* from apical bud. The buds were best sterilized with 0.1% HgCl₂ in 12 minutes. The most suitable medium for shoot regeneration is MS with 0.5 mg/L BAP. The highest shoot multiplication rate (8.56 shoot/explant; length of shoots 6.1 cm) was obtained on MS medium supplemented with 1.0 mg/L BAP after 8 weeks of culture. 68.33% of the shoots produced roots within 10 weeks on MS medium containing 0.5 mg/L α-NAA.

Keywords: *Micropropagation, process, apical bud, Saposhnikovia divaricata (Turcz.) Schischk.*

Người phản biện: PGS.TS. Ninh Thị Phíp

Ngày nhận bài: 5/01/2024

Ngày thông qua phản biện: 25/01/2024

Ngày duyệt đăng: 31/01/2024