

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *in vitro* CÂY BÌNH VÔI ĐỎ (*Stephania dielsiana* Y.C. Wu) THÔNG QUA CON ĐƯỜNG TÁI SINH CHỒI

Khuất Thị Mai Lương^{1,*}, Nguyễn Văn Dương², Nguyễn Thị Lan Anh²,
Khương Thị Thu Hương², Nguyễn Thị Hồng Lĩnh², Hoàng Diệu Linh³, Lê Hùng Lĩnh¹

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

² Trường Đại học Dược Hà Nội

³ Viện Dược liệu

*Email: hoamoclantt_36@yahoo.com

TÓM TẮT

Cây bình vôi đỏ (*Stephania dielsiana* Y.C. Wu) là loài dược liệu có giá trị, được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền nhưng đang có nguy cơ suy giảm do khai thác quá mức. Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* thông qua tái sinh chồi từ đốt thân mang mắt ngủ. Kết quả cho thấy, quy trình khử trùng sử dụng javel 5% (15 phút) kết hợp cồn 70% và HgCl₂ 0,1% (mỗi loại 5 phút) cho tỉ lệ mẫu sạch và sống đạt 75,6%. Môi trường MS bổ sung BAP 1,5 mg/l thích hợp cho cảm ứng chồi, trong khi BAP 1,5 mg/l kết hợp NAA 0,1 mg/l cho hiệu quả nhân nhanh cao nhất, với hệ số nhân đạt 2,5 lần và tỉ lệ tạo cụm chồi trên 90%. Kinetin 1,5 mg/l kết hợp NAA 0,1 mg/l góp phần cải thiện chiều cao chồi. Ở giai đoạn ra rễ, IBA 0,25 mg/l cho tỉ lệ ra rễ đạt 87,8%. Việc bổ sung 1,0 g/l than hoạt tính cùng BAP 1,5 mg/l giúp nâng cao chất lượng cây hoàn chỉnh. Nghiên cứu đã bước đầu xác định các điều kiện phù hợp cho các giai đoạn nhân giống *in vitro*, góp phần làm cơ sở cho việc xây dựng quy trình nhân giống nhằm bảo tồn và phát triển nguồn gen loài bình vôi đỏ (*Stephania dielsiana*).

Từ khóa: *Stephania dielsiana*, nhân giống *in vitro*, tái sinh chồi, bảo tồn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bình vôi đỏ (*Stephania dielsiana* Y.C. Wu) là loài cây thân leo thuộc chi *Stephania* Lour., họ Tiết dê (*Menispermaceae*), còn được gọi là củ dôm, củ gà ấp [1]. Theo Nguyễn Quốc Huy và cs (2025) [2], ở Việt Nam hiện ghi nhận 22 loài thuộc chi *Stephania*, trong đó có 9 loài đã được mô tả chi tiết đặc điểm thực vật kèm hình minh họa. Các loài trong chi *Stephania* có rễ phình to dạng củ và hình thái bên ngoài tương đối giống nhau, nên thường được gọi chung là “bình vôi”. Dựa trên đặc điểm hình thái và khóa phân loại, củ dôm (*S. dielsiana*) được nhận biết bởi cành, cuống lá, lá non và cụm hoa có màu tím, khi cắt mô cây tiết ra dịch màu tím hồng. Củ dôm (*S. dielsiana*) là loài đơn tính khác gốc. Trong tự nhiên, số lượng cá thể cái thường được ghi nhận thấp hơn cá thể đực, điều này có thể làm hạn chế khả năng tạo hạt và từ đó ảnh hưởng đến tái sinh tự nhiên của loài. Loài này phân bố tại các tỉnh

Lào Cai, Yên Bái, Bắc Kạn, Thái Nguyên, Sơn La, Hòa Bình, Phú Thọ, Hà Tây, Bắc Giang, Bắc Ninh và Quảng Ninh (theo địa danh hành chính trước đây) [2].

Các loài thuộc chi *Stephania* được biết đến là nguồn giàu alkaloid, với hơn 150 hợp chất đã được xác định, thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như: Chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn và bảo vệ thần kinh [3, 4]. Trong y học dân gian, các loài trong chi này được sử dụng để điều trị nhiều bệnh lý như: Hen suyễn, sốt, kiết lỵ, rối loạn thần kinh và sốt rét [3]. Tại Việt Nam, nghiên cứu thành phần hóa học của một số loài bình vôi cũng cho thấy sự đa dạng về các nhóm chất, trong đó alkaloid là thành phần đặc trưng. Nghiên cứu của Nguyễn Quốc Huy và cs (2025) [2] đã phân lập được 33 alkaloid từ 8 loài *Stephania* (*S. brachyandra*, *S. dielsiana*, *S. glabra*, *S. kuinanensis*, *S. pierreii*, *S. sinica*, *S. venosa*, *S. viridiflavens*), với nhiều hoạt tính dược

lý quan trọng như độc tế bào, kháng viêm và giảm đau...

Riêng đối với củ dền (*S. dielsiana*), thành phần hóa học đặc trưng là các alkaloid chủ yếu thuộc nhóm isoquinoline và aporphine. Một số hợp chất tiêu biểu đã được phân lập như oxostephanine, stephanine và crebanine [5, 6]. Hàm lượng và thành phần các hợp chất này có thể biến động tùy thuộc vào loài, kiểu gen, điều kiện sinh thái và thời điểm thu hoạch [7]. Các nghiên cứu được lý cho thấy, dịch chiết và các hợp chất phân lập từ củ dền (*S. dielsiana*) có nhiều hoạt tính sinh học. Cụ thể, stephanine và crebanine thể hiện hoạt tính kháng khuẩn rõ rệt, đặc biệt đối với vi khuẩn Gram dương [6]. Oxostephanine có khả năng ức chế sự phân chia tế bào thông qua việc gây dừng chu kỳ tế bào ở pha G2/M, từ đó thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư. Ngoài ra, các hợp chất từ loài này cũng cho thấy khả năng ức chế ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum*, gợi ý tiềm năng trong nghiên cứu hỗ trợ điều trị sốt rét [5]. Tại Việt Nam, rotundin từ cây bình vôi đã được ghi nhận có tác dụng an thần, giảm đau và hỗ trợ giấc ngủ, đồng thời còn cho thấy một số hoạt tính khác như bảo vệ thần kinh, chống co giật và hạ huyết áp [8].

Hiện nay, nguồn dược liệu bình vôi chủ yếu vẫn dựa vào việc khai thác từ tự nhiên với sản lượng ngày càng tăng để đáp ứng nhu cầu sản xuất dược phẩm. Tuy nhiên, tình trạng khai thác quá mức theo phương thức tận diệt, kết hợp với tốc độ sinh trưởng tự nhiên rất chậm, đã khiến nguồn tài nguyên này có nguy cơ suy giảm nghiêm trọng. Tại Việt Nam, các loài bình vôi được xếp vào nhóm IIA - Thực vật rừng hạn chế khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại. Vì vậy, việc nghiên cứu bảo tồn nguồn gen cây bình vôi và nhân giống là hết sức cần thiết và cấp bách. Nuôi cấy mô thực vật được coi là giải pháp hữu hiệu để nhân giống các loài cây thuốc quý hiếm. Kỹ thuật nuôi cấy mô cho phép sản xuất nhanh số lượng lớn cây con sạch bệnh, không phụ thuộc mùa vụ, điều kiện ngoại cảnh, đồng thời có thể duy trì, bảo tồn nguồn gen trong điều kiện kiểm soát [9]. Đặc biệt, đối với những loài có khả năng tái sinh tự nhiên hạn chế như bình vôi, phương pháp nuôi cấy mô từ các phần cơ quan sinh dưỡng (chồi, đỉnh sinh trưởng, mô sẹo...) sẽ rút ngắn chu kỳ nhân giống. Ngoài ra, nuôi cấy

mô còn mở ra hướng tạo sinh khối tế bào để sản xuất các hợp chất thứ cấp quý từ cây bình vôi (như oxostephanine, stephanine, crebanine ...) trong điều kiện *in vitro* [10, 11].

Tại Việt Nam, các nghiên cứu nhân giống *in vitro* đã được thực hiện trên một số loài thuộc chi *Stephania* như bình vôi trắng/củ một (*Stephania glabra*), bình vôi trắng (*Stephania rotunda*) và bình vôi hoa đầu (*Stephania cepharantha*), với các bước tạo chồi, cảm ứng mô sẹo và tái sinh cây con [8, 12, 13]. Trên thế giới, các nghiên cứu tương tự cũng đã được triển khai trên các loài như dây đồng tiền (*Stephania pierrei*) và thiên kim đằng (*Stephania japonica*), bình vôi (*Stephania dentifolia*), mở ra hướng ứng dụng nuôi cấy sinh khối và sản xuất hợp chất dược liệu theo hướng bền vững [14 - 16]. Đối với củ dền (*S. dielsiana*), kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Việt và cs (2018) [1] đã bước đầu ghi nhận khả năng tạo chồi và cảm ứng mô sẹo từ thân cây. Tuy nhiên, các nghiên cứu về nhân giống *in vitro* thông qua mắt ngủ nhằm tạo cây con hoàn chỉnh với đặc điểm sinh trưởng tốt và hình thái ổn định vẫn còn hạn chế, cho thấy cần tiếp tục hoàn thiện quy trình nhằm chủ động nguồn cây giống chất lượng và bền vững phục vụ sản xuất.

Xuất phát từ nhu cầu bảo tồn và khai thác hợp lý loài cây thuốc quý, nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây bình vôi đỏ (*S. dielsiana*) thông qua con đường tái sinh chồi được thực hiện. Nghiên cứu nhằm góp phần bảo tồn nguồn gen quý hiếm, đồng thời tạo nguồn cây giống sạch bệnh, đồng nhất về chất lượng phục vụ phát triển vùng trồng và khai thác bền vững.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật: Đoạn thân chứa mắt ngủ của cây bình vôi đỏ được trồng tại Bộ môn Sinh học phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp. Chiều dài thân từ 30 - 40 cm gồm 7 - 8 mắt ngủ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thí nghiệm

- Phương pháp khử trùng mẫu tạo vật liệu vô trùng:

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian xử lý bằng javel 5% đến khả năng tạo vật liệu sạch.

Mẫu là đoạn thân mang mắt ngủ chưa phát triển ở nách lá. Lá được cắt bỏ, giữ lại cuống, rửa dưới vòi nước chảy, tiếp theo xử lý bằng dung dịch xà phòng loãng, chải nhẹ bằng bàn chải lông mềm rồi rửa lại bằng nước sạch. Sau đó, mẫu được cắt thành các đoạn dài 3 - 4 cm, tráng nhiều lần bằng nước cất, đặt trong bình Scott và chuẩn bị cho quá trình khử trùng trong điều kiện vô trùng. Các mẫu được xử lý theo thí nghiệm: Ngâm trong cồn 70% trong 5 phút, sau đó xử lý bằng dung dịch javel 5% trong các khoảng thời gian 5, 10, 15, 20 phút. Cuối cùng, mẫu được ngâm trong HgCl_2 0,1% trong 5 phút. Toàn bộ quá trình khử trùng được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Sau mỗi bước xử lý, mẫu được rửa lại 2 - 3 lần bằng nước cất vô trùng để loại bỏ hóa chất dư. Các phần mô bị thâm đen hoặc mô già được loại bỏ bằng panh và kéo vô trùng trước khi cấy.

Các mẫu dài 2 - 3 cm, có ít nhất một mắt ngủ, được cấy vào môi trường cơ bản MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Mỗi công thức gồm 30 mẫu/lần lặp lại $\times$ 3 lần lặp lại. Mẫu được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tiêu chuẩn của phòng nuôi cấy. Các chỉ tiêu theo dõi sau 2 tuần gồm: Tỷ lệ mẫu sạch sống (%), tỷ lệ mẫu sạch chết (%) và tỷ lệ mẫu nhiễm (%).

- Phương pháp tái sinh chồi:

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi từ mắt ngủ.

Các mẫu sạch được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, có bổ sung BAP với các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l nhằm đánh giá khả năng tái sinh chồi từ mắt ngủ. Mỗi công thức gồm 30 mẫu, lặp lại 3 lần.

Sau 4 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu theo dõi gồm: Số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi.

- Phương pháp nhân nhanh chồi:

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và NAA đến khả năng tạo cụm chồi.

Môi trường nhân nhanh chồi gồm MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, kết hợp BAP ở các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l và NAA 0,1 mg/l. Mỗi công thức gồm 30 mẫu, lặp lại 3 lần.

Các chỉ tiêu đánh giá sau 8 tuần gồm: Tỷ lệ

tạo cụm chồi (%), chiều cao chồi (cm) và hệ số nhân chồi (lần).

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của kinetin và NAA đến khả năng tạo cụm chồi.

Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, kết hợp kinetin ở các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l và NAA 0,1 mg/l. Mỗi công thức gồm 30 mẫu, lặp lại 3 lần.

Các chỉ tiêu theo dõi sau 8 tuần gồm: Tỷ lệ tạo cụm chồi (%), chiều cao chồi (cm) và hệ số nhân chồi (lần).

- Phương pháp tạo cây hoàn chỉnh:

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ.

Các chồi có chiều cao 2,5 - 3,5 cm được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, có bổ sung IBA ở các nồng độ 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l. Mỗi công thức gồm 30 mẫu, lặp lại 3 lần.

Sau 4 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu gồm: Tỷ lệ ra rễ (%), số rễ/cây và chiều dài rễ (cm).

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính đến sự hình thành cây hoàn chỉnh.

Các chồi cao 2,5 - 3,5 cm được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose và 7 g/l agar, kết hợp than hoạt tính ở các nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5 g/l và BAP 1,5 mg/l. Mỗi công thức gồm 30 mẫu, lặp lại 3 lần.

Sau 4 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu theo dõi gồm: Chiều cao cây (cm), diện tích lá (cm^2) và chiều dài rễ (cm), đồng thời đánh giá chất lượng hệ rễ.

Điều kiện nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH 5,8. Điều kiện chiếu sáng 12 giờ/ngày với cường độ 2.000 - 3.000 lux; nhiệt độ phòng nuôi $23 \pm 2^\circ\text{C}$ và độ ẩm 50 - 60%.

2.2.2. Phương pháp phân tích kết quả và xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm IRRISTAT ver. 5.0 và Microsoft Excel 2010 để phân tích phương sai, hệ số biến động (CV%) và mức sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa ($\text{LSD}_{0,05}$).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 3/2025 đến tháng 02/2026.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Sinh học phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng javel 5% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây bình vôi đỏ

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng javel 5% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây bình vôi đỏ được thể hiện ở bảng 1. Số liệu cho thấy, hiệu quả của quá trình khử trùng bề mặt mẫu cây phụ thuộc rất lớn vào thời gian xử lý. Khử trùng mẫu thân bình vôi bằng dung dịch javel 5% ở các mốc thời gian khác nhau (5; 10; 15; 20 phút) cho thấy sự biến thiên rõ rệt về tỉ lệ mẫu nhiễm và tỉ lệ mẫu sống. Khi tăng thời gian xử lý mẫu với javel 5% từ 5 - 20 phút, tỉ lệ

mẫu nhiễm có xu hướng giảm mạnh, từ 32,2% (ở 5 phút) xuống còn 7,8% (ở 20 phút). Điều này chứng minh rằng, thời gian tiếp xúc càng dài, khả năng tiêu diệt vi sinh vật bám trên bề mặt mẫu càng triệt để. Tuy nhiên, tỉ lệ mẫu chết cũng tăng tỉ lệ thuận với thời gian xử lý do độc tính của hóa chất khử trùng gây hại đến mô thực vật, tăng từ 8,9% lên đến 27,8%. Công thức 3 (CT3) với thời gian xử lý 15 phút được xác định là điều kiện tối ưu nhất cho quá trình khử trùng mẫu thân bình vôi. Tại công thức này, tỉ lệ mẫu không nhiễm đạt mức cao, đồng thời cho tỉ lệ mẫu sống cao nhất là 75,6%, trong khi tỉ lệ mẫu nhiễm chỉ còn 8,9%. Việc kéo dài thời gian lên 20 phút (CT4) mặc dù làm giảm thêm tỉ lệ nhiễm nhưng lại khiến tỉ lệ mẫu chết tăng cao đáng kể (27,8%), dẫn đến tỉ lệ mẫu sống thực tế giảm xuống chỉ còn 64,4%. Kết quả này phù hợp với nguyên lý chung trong nuôi cấy mô thực vật: Hiệu quả khử trùng là sự cân bằng giữa việc loại bỏ vi sinh vật và bảo tồn sức sống của mô cây.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu bằng javel 5% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây bình vôi đỏ (sau 2 tuần nuôi cấy)

Công thức	Thời gian xử lý (phút)			Tỉ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỉ lệ mẫu không nhiễm (%)	
	Cồn 70%	Javel 5%	HgCl ₂ 0,1%		Mẫu chết	Mẫu sống
CT1	5	5	5	32,2	8,9	58,9
CT2		10		21,1	12,2	66,7
CT3		15		8,9	15,6	75,6
CT4		20		7,8	27,8	64,4

Nghiên cứu của Yu và cs (2023) [16] tiến hành khử trùng mẫu cây bình vôi (*S. dentifolia*) bằng cồn 70% trong 30 giây, sau đó xử lý bằng javel 2,5% trong 10 phút, đạt tỷ lệ nhiễm 10,6%. So với nghiên cứu này, mặc dù sử dụng nồng độ hóa chất và thời gian xử lý cao hơn, hiệu quả khử trùng trong thí nghiệm hiện tại vẫn tương đương, với tỷ lệ nhiễm 8,9% ở công thức tối ưu CT3, không khác biệt đáng kể. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến nguồn mẫu ban đầu, điều kiện sinh thái hoặc giai

đoạn phát triển của mẫu, từ đó ảnh hưởng đến mức độ nhiễm vi sinh vật. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Tangmany và cs (2020) [17] trên cây bình vôi vàng cũng ghi nhận hiệu quả khử trùng cao khi sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 5 phút. Từ các kết quả này có thể thấy rằng, việc kết hợp các tác nhân khử trùng như cồn 70%, javel và HgCl₂ với nồng độ và thời gian xử lý thích hợp có thể nâng cao hiệu quả khử trùng. Trong nghiên cứu này, công thức khử trùng gồm cồn 70% trong 5 phút, javel 5% trong 15 phút và HgCl₂ 0,1%

trong 5 phút được xác định là tối ưu, cho tỷ lệ mẫu sạch và sống cao nhất, đáp ứng yêu cầu cho các bước nhân giống tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng tái sinh chồi bình vôi đỏ

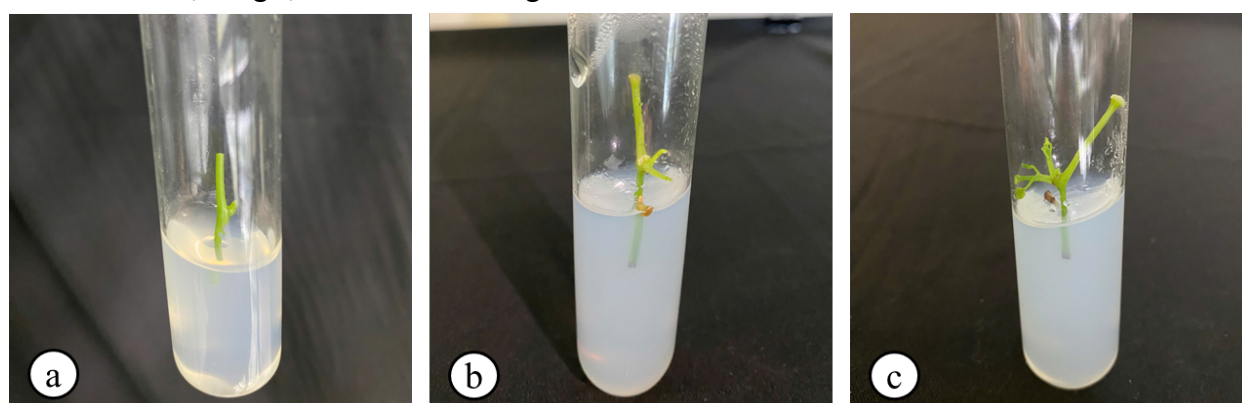
Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng tái sinh chồi bình vôi đỏ (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
CT1	0,5	1,0	0,8	4,6
CT2	1,0	1,4	1,1	5,3
CT3	1,5	1,8	1,7	6,9
CT4	2,0	1,6	1,4	4,9
$LSD_{0,05}$		0,1	0,1	0,2
$CV\%$		4,5	4,0	1,5

Kết quả nghiên cứu ghi nhận, trong môi trường nuôi cấy, khi sử dụng BAP ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến chiều cao chồi, số chồi/mẫu và số lá/chồi. Khi tăng từ 0,5 - 1,5 mg/l, các chỉ tiêu đều cải thiện và đạt giá trị cao nhất tại 1,5 mg/l, với số chồi trung bình

Sau 2 tuần nuôi cấy ở giai đoạn tạo mẫu sạch, những mẫu sống khoẻ mạnh, không nhiễm nấm và khuẩn được lấy ra cắt bỏ phần bị đen ở 2 đầu, cấy chuyển sang môi trường kích thích tái sinh chồi. Kết quả thu được sau 4 tuần cấy chuyển được thể hiện ở bảng 2.

1,8 chồi/mẫu, chiều cao chồi 1,7 cm và 6,9 lá/chồi (Hình 1). Tuy nhiên, ở nồng độ 2,0 mg/l, các chỉ tiêu này đều giảm (1,6 chồi/mẫu, 1,4 cm, 4,9 lá/chồi), cho thấy BAP ở mức cao có thể gây ức chế sinh trưởng và làm giảm hiệu quả tái sinh chồi.



Hình 1. Mẫu thân bình vôi in vitro giai đoạn tái sinh chồi trong môi trường MS bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l ở giai đoạn ban đầu (a), sau 10 ngày nuôi cấy (b), sau 15 ngày nuôi cấy (c)

Kết quả nghiên cứu của Tangmany và cs (2020) [17] trên cây bình vôi vàng (*Stephania spp.*) cho thấy, BAP là chất điều hòa sinh trưởng hiệu quả trong kích thích tái sinh chồi từ đỉnh sinh trưởng, với nồng độ tối ưu 2,0 mg/l, đạt khoảng 1,71 chồi/mẫu và chiều cao chồi 1,39 cm sau 3 tuần nuôi cấy. Các chỉ tiêu như số chồi, chiều cao chồi và số lá tăng khi nồng độ BAP tăng từ thấp đến trung bình, nhưng giảm khi vượt quá ngưỡng tối ưu. Xu hướng này tương đồng với kết quả của nghiên cứu hiện tại, tuy nhiên nồng độ tối ưu có sự khác biệt. Sự sai khác này có thể liên quan đến

đặc điểm loài (bình vôi vàng so với bình vôi đỏ), cũng như các yếu tố thí nghiệm không tương đồng. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Nhân và cs (2020) [13] trên loài bình vôi hoa đầu cho thấy, nồng độ BAP tối ưu là 1,0 mg/l, với số chồi đạt khoảng 1,67 chồi/mẫu, chiều cao chồi 0,72 cm và chiều dài lá 0,92 cm. Các chỉ tiêu sinh trưởng tăng dần theo nồng độ BAP và đạt cực đại tại 1,0 mg/l, sau đó giảm do hiện tượng ức chế sinh trưởng khi nồng độ chất điều tiết sinh trưởng quá cao. So với nghiên cứu hiện tại, các giá trị này thấp hơn nhưng không chênh

lệch lớn và có thể liên quan đến sự khác biệt về kiểu gen, trạng thái sinh lý của mẫu và điều kiện thí nghiệm. Từ các kết quả trên, có thể khẳng định rằng, việc sử dụng BAP ở nồng độ 1,5 mg/l là hiệu quả nhất cho tái sinh chồi bình vôi đỏ trong nghiên cứu này, góp phần tối ưu hóa cả số lượng và chất lượng chồi.

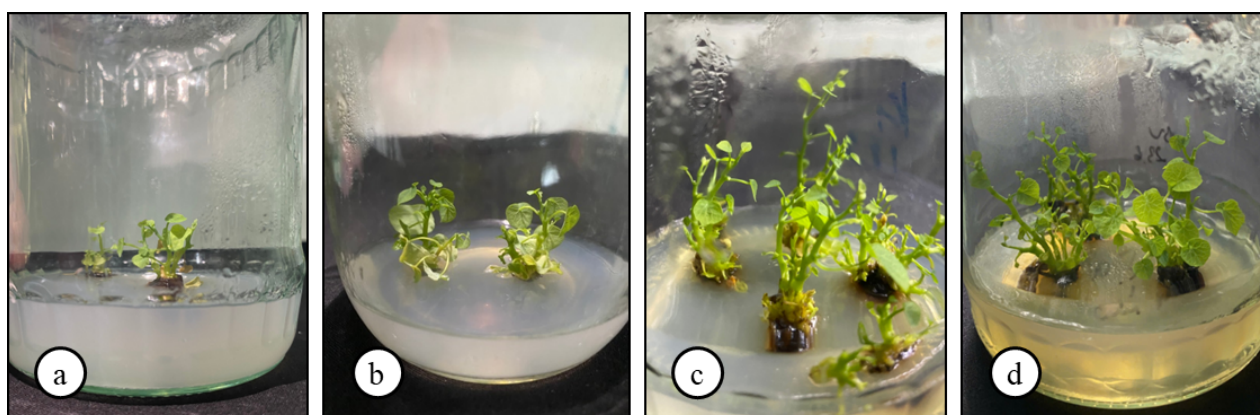
3.3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP và NAA đến khả năng tạo cụm chồi bình vôi đỏ

Kết quả sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy, BAP và NAA có ảnh hưởng đáng kể đến tỉ lệ tạo cụm chồi, chiều cao chồi và hệ số nhân chồi (Bảng 3). Khi giữ NAA ở mức 0,1 mg/l và tăng BAP từ 0,5 - 1,5 mg/l, các chỉ tiêu này đều tăng và đạt giá trị cao nhất ở công thức CT3 (1,5 mg/l BAP). Cụ thể, tỉ lệ tạo cụm chồi đạt 91,1%, chiều cao chồi trung bình 3,6 cm và hệ số nhân chồi đạt 2,5 lần, gần gấp đôi so với CT1. Kết

quả này cho thấy, sự phối hợp giữa BAP (cytokinin) và NAA (auxin) ở nồng độ thích hợp đã thúc đẩy mạnh quá trình phát sinh hình thái và nhân nhanh chồi. Hình ảnh cụm chồi *in vitro* từ đốt thân bình vôi đỏ trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA được trình bày ở hình 2. Khi tăng BAP lên 2,0 mg/l (CT4), hiệu quả nhân chồi giảm rõ rệt, với tỉ lệ tạo cụm chồi đạt 82,2%, chiều cao chồi 3,1 cm và hệ số nhân chồi 2,2 lần. Điều này cho thấy, nồng độ cytokinin cao có thể gây mất cân bằng tương tác auxin - cytokinin, từ đó ức chế sự kéo dài và phân hóa chồi. Ở mức tối ưu, sự kết hợp giữa BAP và NAA giúp tăng hiệu quả tạo cụm chồi và cải thiện chất lượng chồi, đồng thời hạn chế hiện tượng chồi yếu hoặc dị dạng. Các kết quả thu được có độ tin cậy cao, thể hiện qua hệ số biến thiên (CV%) thấp, dao động từ 3,2 - 4,0%.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP và NAA đến khả năng tạo cụm chồi bình vôi đỏ (sau 8 tuần nuôi cấy)

(sau 8 tuần nuôi cấy)					
Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)	Hệ số nhân chồi (lần)
CT1	0,5	0,1	61,1	2,1	1,3
CT2	1,0		76,7	2,6	1,9
CT3	1,5		91,1	3,6	2,5
CT4	2,0		82,2	3,1	2,2
$LSD_{0,05}$				0,1	0,2
$CV\%$				4,0	3,2



Hình 2. Cụm chồi in vitro bình vôi đỏ trong môi trường MS bổ sung BAP ở nồng độ 1,5 mg/l và NAA ở nồng độ 0,1 mg/l sau lần lượt 1 tuần cấy (a), 2 tuần cấy (b), 6 tuần cấy (c), 8 tuần nuôi cấy (d)

Kết quả nghiên cứu của Yu và cs (2023) [16] trên củ dền (*S. dielsiana*) cho thấy, việc sử dụng

NAA ở nồng độ 0,1 mg/l được ghi nhận là hiệu quả cho tạo cụm chồi. Kết quả này tương đồng

với kết quả của nghiên cứu hiện tại, khi sự hiện diện của NAA ở nồng độ thấp góp phần thúc đẩy sự sinh trưởng của chồi nách và hình thành nhiều chồi mới. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Trịnh Ngọc Nam và Nguyễn Văn Vinh (2011) [12] trên bình vôi trắng (*S. rotunda*) cho thấy, môi trường MS bổ sung BAP 1,0 mg/l kết hợp với NAA 0,2 mg/l là công thức tối ưu cho nhân nhanh chồi. Sự kết hợp giữa auxin ở nồng độ thấp và cytokinin ở nồng độ trung bình được cho là có tác dụng kích thích hình thành chồi non và tăng hoạt động của mô phân sinh. Sự khác biệt về nồng độ tối ưu giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến đặc điểm loài, trạng thái sinh lý của mẫu và điều kiện nuôi cấy. Do đó, trong nghiên cứu này, môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA được xác định là tối ưu cho tạo cụm chồi bình vôi đỏ.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ kinetin và NAA đến khả năng tạo cụm chồi bình vôi đỏ

Sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả cho thấy, sự phối hợp giữa kinetin và NAA ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tạo cụm chồi, chiều cao chồi và hệ số nhân chồi

của bình vôi đỏ. Nhìn chung, khi tăng kinetin từ 0,5 - 1,5 mg/l (kết hợp với 0,1 mg/l NAA), các chỉ tiêu sinh trưởng đều cải thiện và đạt giá trị cao nhất ở công thức CT3. Cụ thể, tại nồng độ 1,5 mg/l kinetin, tỉ lệ tạo cụm chồi đạt 85,6%, hệ số nhân chồi 2,4 lần và chiều cao chồi 3,8 cm, cao gần gấp đôi so với CT1 (1,3 lần). Điều này phản ánh vai trò kích thích mạnh của cytokinin trong việc thúc đẩy hoạt động phân chia tế bào và hình thành chồi, trong khi NAA ở nồng độ thấp góp phần duy trì cân bằng sinh lý, hỗ trợ khởi phát cụm chồi mà không gây ưu thế hình thành rễ. Khi tăng kinetin lên 2,0 mg/l (CT4), các chỉ tiêu sinh trưởng có xu hướng giảm, với chiều cao chồi còn 3,2 cm, tỉ lệ tạo cụm chồi 78,9% và hệ số nhân chồi 2,0 lần. Sự suy giảm này cho thấy, việc dư thừa cytokinin có thể làm rối loạn cân bằng nội sinh, ảnh hưởng bất lợi đến quá trình phân chia và kéo dài tế bào. Như vậy, sự kết hợp kinetin và NAA ở mức thích hợp không chỉ thúc đẩy hiệu quả tạo cụm chồi mà còn góp phần duy trì chất lượng chồi tốt, hạn chế hiện tượng sinh trưởng yếu hoặc bất thường hình thái.

Bảng 4. Ảnh hưởng của kinetin và NAA đến khả năng tạo cụm chồi bình vôi đỏ (sau 8 tuần nuôi cấy)

(Số 3 tính nước cây)					
Công thức	Nồng độ kinetin (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)	Hệ số nhân chồi (lần)
CT1	0,5	0,1	58,9	2,2	1,3
CT2	1		71,1	2,9	1,8
CT3	1,5		85,6	3,8	2,4
CT4	2		78,9	3,2	2,0
LSD _{0,05}				0,2	0,1
CV%				3,0	2,8

Kết quả nghiên cứu của Handique và Sharma (2010) [15] trên bình vôi Nhật Bản (*Stephania japonica*) cho thấy, công thức tối ưu cho tạo cụm chồi là kinetin 0,5 mg/l kết hợp với NAA 0,1 mg/l. Kinetin được ghi nhận có khả năng kích thích tăng sinh chồi, đặc biệt khi phối hợp với auxin ở nồng độ thấp. Tuy nhiên, kết quả này khác với kết quả của nghiên cứu hiện tại về nồng độ kinetin tối ưu. Sự sai khác có thể liên quan đến đặc điểm loài, nhu cầu dinh dưỡng và khả năng sinh trưởng của mẫu, cũng như các điều kiện thí nghiệm. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Việt và cs (2018) [1] trên củ dền (*S.*

dielsiana) cho thấy, sự kết hợp giữa cytokinin (0,2 mg/l kinetin và 0,9 mg/l BAP) và NAA ở nồng độ 0,3 mg/l cho hiệu quả tạo cụm chồi cao (78,3%). Kết quả này nhìn chung phù hợp với xu hướng của nghiên cứu hiện tại, khi sử dụng cytokinin ở mức trung bình kết hợp với auxin nồng độ thấp cho hiệu quả cao. Điểm khác biệt là trong nghiên cứu này chỉ sử dụng kinetin nhằm đánh giá riêng rẽ ảnh hưởng của chất này đến khả năng tạo cụm chồi. Sự khác biệt về nồng độ tối ưu giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến sự khác nhau về kiểu gen, trạng thái sinh lý của mẫu và điều kiện nuôi cấy. Từ các kết quả trên, có thể

xác định rằng, môi trường MS bổ sung kinetin 1,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l là thích hợp nhất cho tạo cụm chồi bình vôi đỏ trong nghiên cứu này.

3.5. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh bình vôi đỏ

Kết quả về ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ của chồi bình vôi đỏ được trình bày ở bảng 5. Nhìn chung, khi tăng nồng độ IBA, các chỉ tiêu ra rễ (tỉ lệ ra rễ, số rễ và chiều dài rễ) đều có xu hướng giảm, trong đó thấp nhất ở nồng độ 1,5 mg/l. Cụ thể, tỉ lệ ra rễ cao nhất đạt 87,8% tại nồng độ thấp nhất (0,25 mg/l - CT1), cùng với số rễ trung bình 3,6 rễ/cây và

chiều dài rễ 6,0 cm. Khi nồng độ IBA tăng dần, các chỉ tiêu này giảm liên tục và đạt giá trị thấp nhất ở CT4 (1,5 mg/l), với tỉ lệ ra rễ 44,4%, số rễ 1,9 rễ/cây và chiều dài rễ 4,7 cm. Sự suy giảm này có thể liên quan đến tác động ức chế sinh trưởng khi auxin tích lũy ở nồng độ cao, làm giảm khả năng khởi phát và phát triển rễ. Ngoài ra, nồng độ IBA cao có thể gây biến đổi bất lợi trong mô nuôi cấy, như tăng hình thành mô sẹo hoặc hạn chế biệt hóa mạch dẫn, dẫn đến rễ ngắn và kém chức năng. Sự khác biệt về số rễ/cây và chiều dài rễ giữa các công thức có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ của bình vôi đỏ (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỉ lệ ra rễ (%)	Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
CT1	0,25	87,8	3,6	6,0
CT2	0,5	78,9	3,0	5,4
CT3	1,0	65,6	2,3	4,9
CT4	1,5	44,4	1,9	4,7
<i>LSD</i> _{0,05}			0,2	0,2
<i>CV</i> %			3,0	1,9

Trong các nghiên cứu trên một số loài có quan hệ họ hàng gần thuộc họ Menispermaceae, vai trò của auxin, đặc biệt là IBA trong cảm ứng hình thành rễ *in vitro* đã được ghi nhận rõ rệt. Nghiên cứu của Fonseka và Kalinga (2020) [18] trên cây tiết dê (*Cissampelos pareira*) cho thấy, môi trường bổ sung IBA ở nồng độ 1 mg/l là tối ưu cho ra rễ, với tỉ lệ đạt 95%, số rễ trung bình 4,15 rễ/cây và chiều dài rễ khoảng 3,96 cm. Khi nồng độ IBA vượt quá ngưỡng này, các chỉ tiêu ra rễ bắt đầu giảm. Xu hướng này tương đồng với kết quả của nghiên cứu hiện tại, mặc dù nồng độ tối ưu có sự khác biệt. Tương tự, kết quả nghiên cứu của Mridula và cs (2017) [19] trên dây thần thông (*Tinospora cordifolia*) cho thấy, nồng độ IBA tối ưu là 0,5 mg/l, với tỉ lệ ra rễ đạt 79,3 - 81,7%, số rễ trung bình 4,0 - 5,8 rễ/cây và chiều dài rễ 4,5 - 5,0 cm. Sự sai khác về giá trị cụ thể có thể liên quan đến nguồn mẫu (lá so với thân),

kiểu gen và điều kiện nuôi cấy. Ngoài ra, nghiên cứu của Pillai và Siril (2019) [20] cũng ghi nhận hiệu quả cao của IBA trong kích thích ra rễ trên dây thần thông (*Tinospora cordifolia*), với tỉ lệ ra rễ đạt khoảng 87,77% và số rễ trung bình 7,29 rễ/cây khi sử dụng IBA ở nồng độ 30 µM. Kết quả này tiếp tục khẳng định vai trò quan trọng của IBA trong cảm ứng hình thành rễ *in vitro*. Từ các kết quả trên, có thể xác định rằng, IBA ở nồng độ thấp là tối ưu cho quá trình ra rễ. Trong nghiên cứu này, nồng độ 0,25 mg/l được xác định là tối ưu cho tạo rễ ở bình vôi đỏ.

3.6. Ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính đến sự hình thành cây hoàn chỉnh.

Nghiên cứu khả năng tạo cây hoàn chỉnh trên môi trường MS bổ sung than hoạt tính ở các nồng độ khác nhau cho kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính đến sự hình thành cây hoàn chỉnh (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ than hoạt tính (g/l)	Nồng độ BAP (mg/l)	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (cm ²)	Chiều dài rễ (cm)
CT1	0	1,5	5,0	2,1	4,8
CT2	0,5		5,1	2,2	4,9
CT3	1,0		5,7	3,3	6,0
CT4	1,5		5,3	2,6	5,4

$LSD_{0,05}$	0,1	0,2	0,2
CV%	1,3	3,1	1,9



Hình 3. Cây bình vôi hoàn chỉnh trong môi trường MS bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l và than hoạt tính nồng độ lần lượt 1 g/l (a) và 0,5 g/l (b)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc bổ sung than hoạt tính vào môi trường nuôi cấy (kết hợp với 1,5 mg/l BAP) có ảnh hưởng tích cực đến quá trình hoàn thiện hình thái của cây bình vôi *in vitro*, bao gồm sự phát triển của thân, lá và rễ. Khi tăng nồng độ than hoạt tính từ 0 - 1,0 g/l, các chỉ tiêu sinh trưởng đều tăng và đạt giá trị cao nhất tại CT3. Cụ thể, ở nồng độ 1,0 g/l, chiều cao cây đạt 5,7 cm, diện tích lá 3,3 cm² và chiều dài rễ 6,0 cm. So với công thức đối chứng không bổ sung than hoạt tính (CT1), các chỉ tiêu này đều tăng rõ rệt, trong đó diện tích lá tăng hơn 50% và chiều dài rễ tăng thêm 1,2 cm. Hiệu quả này có thể liên quan đến khả năng hấp phụ các hợp chất phenolic và chất ức chế sinh trưởng, góp phần ổn định môi trường nuôi cấy và thúc đẩy sinh trưởng của cây. Khi tăng nồng độ than hoạt tính lên 1,5 g/l (CT4), các chỉ tiêu bắt đầu giảm, với chiều cao cây còn 5,3 cm, diện tích lá 2,6 cm² và chiều dài rễ 5,4 cm. Điều này cho thấy, ở nồng độ cao, than hoạt tính có thể hấp phụ không chọn lọc, làm giảm hàm lượng các chất điều hòa sinh trưởng và dinh dưỡng cần thiết trong môi trường. Tuy nhiên, các giá trị này vẫn cao hơn so với đối chứng, chứng tỏ việc bổ sung than hoạt tính ở mức phù hợp là cần thiết cho sự hình thành cây hoàn chỉnh. Cây bình vôi hoàn chỉnh trên môi trường MS bổ sung BAP 1,5 mg/l và than hoạt tính ở các nồng độ khác nhau được thể hiện ở hình 3.

Kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Nhân và cs (2020) [13] trên loài bình vôi hoa đầu cho thấy, việc bổ sung than hoạt tính ở nồng độ 1,0 g/l kết hợp với BAP 1,0 mg/l giúp cải thiện hệ rễ và kích thích tạo cụm chồi. Kết quả này tương đồng với công thức CT3 (1,0 g/l than hoạt tính) trong nghiên cứu hiện tại, khi chiều dài rễ đạt giá trị cao nhất (6,0 cm), mặc dù có sự khác biệt về nồng độ BAP sử dụng. Sự sai khác này có thể liên quan đến việc nghiên cứu của Phạm Thị Thanh Nhân và cs (2020) [13] có bổ sung nước dừa (100 ml/l) - nguồn chứa các cytokinin tự nhiên (đặc biệt là zeatin), từ đó có thể làm giảm nhu cầu sử dụng BAP ngoại sinh. Từ các kết quả trên, có thể xác định rằng, việc sử dụng 1,0 g/l than hoạt tính kết hợp với 1,5 mg/l BAP là tối ưu cho tạo cây bình vôi hoàn chỉnh, đảm bảo các đặc điểm hình thái cần thiết cho giai đoạn huấn luyện cây ngoài tự nhiên.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện thích hợp cho nhân giống *in vitro* cây bình vôi đỏ (*Stephania dielsiana* Y.C.Wu) thông qua con đường tái sinh chồi. Xử lý khử trùng mẫu đốt thân mang mắt ngủ bằng dung dịch javel 5% trong 15 phút kết hợp với cồn 70% và HgCl₂ 0,1% (5 phút mỗi loại) cho tỉ lệ mẫu sạch và sống cao nhất (75,6%) sau 2 tuần nuôi cấy. Ở giai đoạn cảm ứng chồi, môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP cho hiệu quả tốt nhất, với chiều cao chồi đạt 1,7 cm, trung bình 1,8 chồi/mẫu và 6,9 lá/chồi sau 4 tuần nuôi cấy. Giai đoạn nhân nhanh chồi đạt hiệu quả cao trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP kết hợp 0,1 mg/l NAA, với tỉ lệ tạo cụm chồi đạt 91,1%, chiều cao chồi đạt 3,6 cm và hệ số nhân chồi đạt 2,5 lần sau 8 tuần nuôi cấy. Trong khi đó, kinetin ở nồng độ 1,5 mg/l kết hợp 0,1 mg/l NAA cho chiều cao chồi vượt trội (3,8 cm), cho thấy sự khác biệt về hiệu quả giữa các loại cytokinin trong điều hòa sinh trưởng chồi. Môi trường MS bổ sung 0,25 mg/l IBA là tối ưu cho cảm ứng ra rễ, với tỉ lệ ra rễ đạt 87,8%, chiều dài rễ trung bình 6,0 cm và số rễ trung bình 3,6 rễ/cây sau 4 tuần nuôi cấy. Việc bổ sung than hoạt tính góp phần cải thiện rõ rệt chất lượng cây hoàn chỉnh, trong đó môi trường MS bổ sung 1,0

g/l than hoạt tính kết hợp với 1,5 mg/l BAP cho sinh trưởng tốt nhất, với chiều cao cây đạt 5,7 cm, chiều dài rễ 6,0 cm và diện tích lá 3,3 cm². Các kết quả thu được cho thấy, việc tối ưu hóa đồng bộ các yếu tố điều hòa sinh trưởng có ý nghĩa quan trọng trong việc nâng cao hiệu quả nhân giống và chất lượng cây con, tạo cơ sở cho việc bảo tồn và phát triển cây bình vôi đỏ ở quy mô lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Văn Việt, Nguyễn Thị Thùy Dương, Trần Việt Hà, Phạm Thị Huyền (2018). Xây dựng hệ thống tái sinh từ nuôi cấy lát mỏng tế bào cây củ dền (*Stephania dielsiana* Y. C. Wu). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 6, 32 - 39.
- [2]. Nguyễn Quốc Huy, Phạm Thanh Kỳ, Vũ Xuân Giang, Nguyễn Tiên Vững, Hoàng Văn Thuỷ, Trần Thị Thu Hiền, Trần Bình Duyên (2025). Thực vật, hoá thực vật, độc tính, tác dụng dược lý và nguồn gen của Bình vôi (*Stephania* spp.) ở Việt Nam. *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*, 26, 39 - 77.
- [3]. Semwal D. K., Semwal R. B., Vermaak I. & Viljoen A. (2010). The genus *Stephania*: Chemical and pharmacological perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(2): 369 - 383.
- [4]. Wang M., et al. (2022). Alkaloids in genus *Stephania*: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 293. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115248
- [5]. Knockleby J., Pradines B., Gendrot M., Mosnier J., Nguyen T. T., Trinh T. T., Lee H. & Le P. M. (2020). Cytotoxic and anti-plasmodial activities of *Stephania dielsiana* Y.C. Wu extracts and the isolated compounds. *Molecules*, 25(16): DOI:10.3390/molecules25163755.
- [6]. Zhang X., et al. (2011). Antimicrobial activity of extract and two alkaloids from *Stephania dielsiana*. *Food Chemistry*, 124(4):1556 - 1560.
- [7]. Qi B., et al. (2023). Alkaloid variations within the genus *Stephania*. *Heliyon*, 9(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16344>.
- [8]. Nguyễn Thị Sen, Đỗ Tiến Vinh, Mai Thị Phương Hoa (2020). Nhân giống cây Bình vôi (*Stephania glabra* (Roxb.) Miers) *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành*, 10, 15 - 20.
- [9]. Hasnain A., Naqvi S. A. H., Ayesha S. I., Khalid F., Ellahi M., Iqbal S., Hassan M. Z., Abbas A., Adamski R., Markowska D., Baazeem A., Mustafa G., Moustafa M., Hasan M. E. & Abdelhamid M. M. A. (2022). Plants *in vitro* propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009395>.
- [10]. Thiem B., Hermosaningtyas A. A., Budzianowska A. & Kikowska M. (2023). Polish contributions in developing medicinal plant *in vitro* propagation system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 155, 1 - 28.
- [11]. Wawrosch C. & Zotchev S. B. (2021). Production of bioactive plant secondary metabolites through *in vitro* technologies-status and outlook. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(17): 6649 - 6668.
- [12]. Trịnh Ngọc Nam, Nguyễn Văn Vinh (2011). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và khảo sát hợp chất alkaloid rotundin từ cây bình vôi (*Stephania rotunda* Lour.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 49(4): 51 - 58.
- [13]. Phạm Thị Thanh Nhân, Trần Thị Hồng, Hoàng Phú Hiệp, Cao Thị Phương Thảo, Từ Quang Tân, Chu Hoàng Mậu (2020). Nghiên cứu công thức khử trùng mẫu và môi trường nuôi cấy *in vitro* cây bình vôi hoa đầu (*Stephania cepharantha* Hayata). *Tạp chí Khoa học, Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 129(5): 914 - 919.
- [14]. Laksana C., Sophiphun O., Nualkaew S., Chanprame S. (2025). *In vitro* propagation of *Stephania pierrei* Diels and exploration of its potential as sustainable phytochemical production from tuber and callus. *BMC Plant Biology*, 25, 377.
- [15]. Handique P. J., Sharma D. (2010). Micropropagation of *Stephania japonica*, a rare medicinal plant of north-east India. *Journal of Hill Agriculture*, 1(2): 143 - 147.
- [16]. Yu L., Duan Y., Zhan H. (2023). An

improved micropropagation of a medicinal plant *Stephania dentifolia*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 153, 219 - 224.

[17]. Tangmany Sysomephone, Ngô Diễm Quỳnh, Santhana Phanthahak, Nongkhan Manisok, Phạm Thị Thanh Nhân (2020). Nghiên cứu công thức khử trùng mẫu và môi trường nuôi cấy *in vitro* cây bình vôi vàng (*Stephania* spp.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Thái Nguyên*, 225(08): 239 - 244.

[18]. Fonseka D. L. C. K., Kalinga S. (2020). *In vitro* propagation of *Cissampelos pareira* Linn (Diyamiththa): An important medicinal herb.

Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, 21(25&26): 105 - 113.

[19]. Mridula K., Parthibhan S., Senthil Kumar T., Rao M. V. (2017). *In vitro* organogenesis from *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers - A highly valuable medicinal plant. *South African Journal of Botany*, 113, 84 - 90.

[20]. Pillai S. K., Siril E. A. (2019). Elite screening and *in vitro* propagation of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers ex Hook. f. & Thoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89, 551 - 557.

***In vitro* PROPAGATION OF RED *Stephania* (*Stephania dielsiana* Y.C. Wu) VIA SHOOT REGENERATION**

**Khuat Thi Mai Luong¹, Nguyen Van Duong², Nguyen Thi Lan Anh²,
Khuong Thi Thu Huong², Nguyen Thi Hong Linh², Hoang Dieu Linh³, Le Hung Linh¹**

¹*Agricultural Genetics Institute*

²*Hanoi University Of Pharmacy*

³*National Institute of Medicinal Materials*

Abstract

Stephania dielsiana Y.C. Wu is a valuable medicinal plant that is increasingly threatened due to overexploitation. This study aimed to establish an *in vitro* propagation protocol via shoot regeneration from nodal explants. Surface sterilization using 5% sodium hypochlorite (15 min) combined with 70% ethanol and 0.1% HgCl₂ (5 min each) resulted in the highest percentage of clean and viable explants (75.6%). MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP was optimal for shoot induction, while the combination of 1.5 mg/l BAP and 0.1 mg/l NAA yielded the highest shoot multiplication efficiency (multiplication rate of 2.5 and shoot cluster formation above 90%). Kinetin (1.5 mg/l) combined with 0.1 mg/l NAA significantly improved shoot elongation. For rooting, 0.25 mg/l IBA was most effective, achieving a rooting rate of 87.8%. The addition of 1.0 g/l activated charcoal with 1.5 mg/l BAP markedly enhanced plantlet quality. This study established optimal conditions for each stage of *in vitro* propagation in *S. dielsiana*, providing a scientific basis for large-scale propagation and conservation of this species.

Keywords: *Stephania dielsiana*, *in vitro* propagation, shoot regeneration, conservation.

Ngày nhận bài: 25/02/2026

Ngày chuyển phản biện: 3/3/2026

Ngày thông qua phản biện: 18/3/2026

Ngày thông qua phản biện: 2/4/2026