

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ BA (6-benzyl-adenine) ĐẾN SỰ NHÂN NHANH CHỒI CÂY NGÃI (*Kaempferia* sp.) *IN VITRO*

Trần Thị Cẩm Tú^{1,*}, Ngô Phú Cường¹, Lê Thị Trúc Phương¹,

¹ Khoa Nông nghiệp, Tài nguyên và Môi trường, Trường Đại học Đồng Tháp

*Email: ttctu@dthu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nồng độ 6-benzyladenine (BA) đến sự nhân nhanh chồi cây Ngải (*Kaempferia* sp.) *in vitro* nhằm cung cấp dữ liệu ban đầu, làm cơ sở cho chọn giống và nhân giống quy mô lớn. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (môi trường MS bổ sung BA ở nồng độ 0,50; 1,00; 1,50 và 2,00 mg/L), mỗi nghiệm thức 3 mẫu cây và 5 lần lặp lại. Sau 21 ngày nuôi cấy, môi trường MS bổ sung 2,00 mg/L BA cho số chồi cao nhất (4,20 chồi/mẫu) và chiều cao chồi lớn nhất (2,67 cm), tiếp theo là 1,50 mg/L (3,20 chồi; 2,19 cm), 1,00 mg/L (2,20 chồi; 1,76 cm) và thấp nhất ở 0,50 mg/L (1,60 chồi; 1,09 cm). Tỷ lệ nhiễm nấm thấp, ổn định và không ghi nhận nhiễm ở nồng độ 1,00 - 1,50 mg/L BA. Kết quả góp phần bổ sung dữ liệu thực nghiệm cho nguồn gene *Kaempferia* sp. địa phương tại Việt Nam.

Từ khóa: *Kaempferia* sp., cây Ngải, nhân giống *in vitro*, 6-benzyladenine (BA), hệ số nhân chồi.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Ngải (*Kaempferia* sp.) là loài cây thuốc quý thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), với khoảng 60 loài được ghi nhận trên thế giới, phân bố chủ yếu từ Ấn Độ đến khu vực Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam [1, 2]. Loài này sinh trưởng tốt trong điều kiện khí hậu nhiệt đới gió mùa, dễ trồng và thích nghi cao. Phần thân rễ phát triển mạnh, thường phình to dạng củ, là nơi tích lũy nhiều hợp chất sinh học có hoạt tính dược lý cao như flavonoid, tinh dầu và các hợp chất phenolic [1, 3].

Tuy nhiên, hiện nay trữ lượng cây Ngải trong tự nhiên tại Việt Nam đang có xu hướng suy giảm nhanh chóng, chủ yếu do khai thác quá mức để phục vụ nhu cầu làm thuốc mà chưa có chiến lược bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu bền vững [4]. Bên cạnh đó, phương pháp nhân giống hiện nay chủ yếu là sinh dưỡng thông qua thân rễ, không chỉ tiêu tốn nhiều vật liệu giống mà còn kéo dài thời gian nhân giống, khó đáp ứng nhu cầu sản xuất cây giống với số lượng lớn, đồng đều về chất lượng và sạch bệnh [5].

Trong những năm gần đây, kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất giống cây trồng và cây dược liệu nhờ các ưu

điểm vượt trội như hệ số nhân cao, cây con đồng nhất về mặt di truyền và không mang mầm bệnh [6]. Tuy nhiên, việc áp dụng các quy trình *in vitro* truyền thống vào sản xuất quy mô lớn vẫn còn gặp hạn chế do chi phí đầu tư ban đầu cao và giá thành cây giống còn lớn. Do đó, việc nghiên cứu xây dựng và tối ưu hóa quy trình nhân giống *in vitro* phù hợp cho cây Ngải là yêu cầu cấp thiết, nhằm nâng cao hiệu quả nhân giống, giảm chi phí sản xuất và đảm bảo chất lượng cây con [7].

Nghiên cứu này tập trung khảo sát ảnh hưởng của nồng độ BA đến giai đoạn nhân nhanh chồi cây Ngải (*Kaempferia* sp.) thu thập tại tỉnh Đồng Tháp - vật liệu địa phương chưa được nghiên cứu chi tiết về nhân giống *in vitro*. Kết quả sẽ góp phần hỗ trợ xây dựng quy trình nhân giống ban đầu cho nguồn gene địa phương.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là cây Ngải (*Kaempferia* sp.) được thu thập tại các hộ trồng tại địa bàn tỉnh Đồng Tháp, Việt Nam. Đây là loài địa phương, chưa được định danh chính xác đến loài và chưa có nghiên cứu nhân giống *in vitro* trước đây.

Các cây được lựa chọn làm nguồn vật liệu ban đầu là những cây trưởng thành (có thân rễ

phát triển đầy đủ, tuổi đời từ 1 - 2 năm), sinh trưởng khỏe mạnh, lá xanh tốt, không có biểu hiện sâu bệnh hại hoặc dấu hiệu nhiễm nấm, vi khuẩn. Sau khi thu thập, mẫu được bảo quản cẩn thận trong túi nylon ẩm, tránh ánh nắng trực tiếp và vận chuyển nhanh chóng về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ để đảm bảo độ tươi và khả năng sống của mẫu.

Trong giai đoạn nhân nhanh *in vitro*, vật liệu nuôi cấy chính là các chồi non (dài 1 - 2 cm) được tách ra từ cây mẹ sau quy trình xử lý vô trùng. Các chồi này được chọn từ phần ngọn hoặc chồi nách của thân rễ, đảm bảo đồng đều về kích thước và sức sống để giảm biến dị trong thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xử lý mẫu

Các cây Ngải trưởng thành, sinh trưởng tốt và không bị nhiễm bệnh được chọn làm nguồn mẫu. Chồi non được tách ra từ cây mẹ, sau đó rửa sơ bộ dưới vòi nước chảy trong 30 - 60 phút để loại bỏ đất cát, bụi bẩn và tạp chất bám trên bề mặt.

Tiếp theo, mẫu được ngâm trong dung dịch xà phòng loãng (nồng độ khoảng 0,01 - 0,02%) có bổ sung vài giọt Tween trong 10 - 15 phút nhằm loại bỏ hoàn toàn các tạp chất hữu cơ và vi sinh vật bám trên bề mặt. Sau đó, mẫu được rửa sạch lại 4 - 5 lần dưới vòi nước máy chảy để loại bỏ hết dư lượng xà phòng.

Mẫu được chuyển vào tủ cấy vô trùng, khử trùng bề mặt bằng dung dịch HgCl_2 (nồng độ 0,10%) trong thời gian 7 phút, kết hợp lắc nhẹ định kỳ để đảm bảo hóa chất tiếp xúc đều. Sau khử trùng, mẫu được rửa ngay lập tức bằng nước cất vô trùng 4 - 5 lần (mỗi lần 2 - 3 phút) để loại bỏ hoàn toàn dư lượng HgCl_2 , tránh độc tính đối với mô. Sau xử lý vô trùng, chồi non được cấy trực tiếp vào môi trường thí nghiệm (giai đoạn nhân nhanh).

2.2.2. Môi trường và điều kiện cấy mẫu

Môi trường nền là MS [7] bổ sung 30,00 g/L sucrose, 7,00 g/L agar, pH điều chỉnh 5,80 - 6,00 trước khi hấp khử trùng (121°C , 1 atm, 20 phút) và không kết hợp auxin vì mục tiêu tập trung đánh giá độc lập tác động của cytokinin BA trong khoảng nồng độ phổ biến trên chi *Kaempferia*. Chất điều hòa sinh trưởng sử dụng là 6 - benzyladenine (BA, Merck, độ tinh khiết 99%) với các nồng độ 0,50; 1,00; 1,50 và 2,00 mg/L.

Các mẫu cấy được nuôi trong phòng nuôi cấy với nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm tương đối 70%,

cường độ ánh sáng 2000 - 3000 lux và chu kỳ chiếu sáng 16 giờ/ngày.

2.2.3. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (Completely Randomized Design - CRD) với 4 nghiệm thức tương ứng với các nồng độ BA khác nhau trên môi trường MS. Mỗi nghiệm thức gồm 3 mẫu cấy (mỗi mẫu là 1 chồi non), 5 lần lặp lại (tổng 15 mẫu/nghiệm thức). Cụ thể các nghiệm thức như sau:

Nghiệm thức 1 (NT1): Môi trường MS bổ sung BA 0,50 mg/L.

Nghiệm thức 2 (NT2): Môi trường MS bổ sung BA 1,00 mg/L.

Nghiệm thức 3 (NT3): Môi trường MS bổ sung BA 1,50 mg/L.

Nghiệm thức 4 (NT4): Môi trường MS bổ sung BA 2,00 mg/L.

2.2.4. Chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển của mẫu nuôi cấy được ghi nhận và đánh giá trực quan kết hợp đo lường tại các thời điểm 7, 14 và 21 ngày sau nuôi cấy (NSNC), cụ thể như sau:

- Tỷ lệ mẫu nhiễm nấm (%): $(\text{Số mẫu nhiễm nấm} / \text{Tổng số mẫu cấy ban đầu trong nghiệm thức}) \times 100$. Mẫu được xem là nhiễm nếu xuất hiện dấu hiệu nấm mốc, màng trắng hoặc đen trên bề mặt mẫu hoặc môi trường.

- Số chồi/mẫu cấy (chồi $\geq 0,5$ cm): Đếm số chồi mới hình thành trên mỗi mẫu cấy. Chỉ tính các chồi có chiều dài $\geq 0,5$ cm, có lá rõ rệt và sinh trưởng độc lập (không tính chồi ban đầu).

- Hệ số nhân chồi: Số chồi trung bình thu được trên một mẫu cấy 21 NSNC (chỉ tính tại thời điểm cuối cùng của chu kỳ nhân nhanh).

- Chiều cao chồi (cm): Đo chồi cao nhất trên mỗi mẫu (độ chính xác 0,01 cm).

2.2.5. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0, phân tích phương sai ANOVA một nhân tố và so sánh trung bình bằng kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa thống kê 5% ($p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm nấm của chồi cây Ngải sau khi nuôi cấy

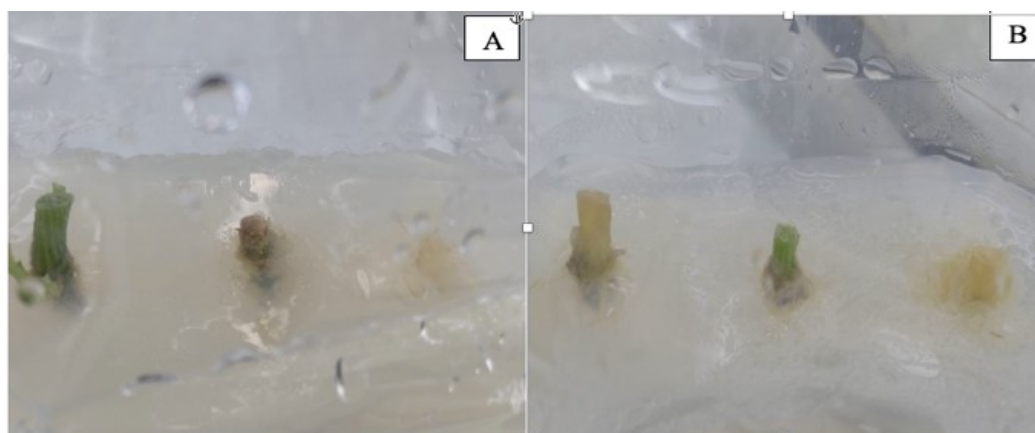
Tỷ lệ nhiễm nấm ổn định qua các thời điểm theo dõi và không tăng thêm theo thời gian nuôi

cây. Ở nghiệm thức bổ sung 0,50 mg/L và 2,00 mg/L BA, tỷ lệ nhiễm duy trì ở mức 20,00% tại tất cả các thời điểm, trong khi ở nồng độ 1,00 mg/L và 1,50 mg/L BA không ghi nhận nhiễm nấm (0%) (Bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm nấm (%) của chồi cây Ngải tại các thời điểm sau nuôi cấy

Nghiệm thức	Nồng độ BA (mg/L)	7 NSNC (%)	14 NSNC (%)	21 NSNC (%)
1	0,50	20,00	20,00	20,00
2	1,00	0,00	0,00	0,00
3	1,50	0,00	0,00	0,00
4	2,00	20,00	20,00	20,00

Ghi chú: Dữ liệu từ 15 mẫu cây/nghiệm thức (3 mẫu $\times$ 5 lặp lại). Tỷ lệ nhiễm ổn định qua thời gian, không khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các thời điểm trong cùng nghiệm thức (ANOVA, $p > 0,05$).



Hình 1. Hiện tượng nhiễm nấm ở nghiệm thức bổ sung BA thấp/cao (NT1: Hình A và NT4 - Hình B) 21 NSNC

Quy trình khử trùng bằng $HgCl_2$ 7 phút đạt hiệu quả tương đối tốt (tỷ lệ nhiễm tối đa 20 %). Nguyên nhân dẫn đến hiện tượng nhiễm nấm ở một số nghiệm thức có thể xuất phát từ các sai sót trong quá trình thao tác vô trùng, hiệu quả khử trùng mẫu chưa triệt để hoặc nguồn mẫu ban đầu còn mang mầm bệnh nội sinh. chứ không phải do nồng độ BA trực tiếp gây ra. Tuy nhiên, kết quả thu được cho thấy quy trình xử lý mẫu nhìn chung đạt hiệu quả tương đối tốt, thể hiện qua tỷ lệ mẫu nhiễm nấm thấp. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trên chi *Kaempferia*, như ở *K. galanga* khi khử trùng bằng $HgCl_2$ cũng giảm nhiễm dưới 20% [14] và ở *K. parviflora* tỷ lệ nhiễm thường 0 - 25% khi tối ưu khử trùng [8, 14].

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BA đến sự tạo chồi và hệ số nhân chồi của cây Ngải

Nồng độ BA ảnh hưởng rõ rệt ($p < 0,05$) đến số chồi và hệ số nhân chồi ở tất cả các thời điểm

theo dõi, với số chồi tăng dần theo nồng độ BA và theo thời gian nuôi cấy, đạt cao nhất ở nghiệm thức 2,00 mg/L BA (Bảng 2). Tại thời điểm sớm 7 NSNC, số chồi dao động từ 0,80 (NT1) đến 2,60 (NT4); đến 14 NSNC, số chồi tiếp tục tăng nhưng mức độ tăng chậm hơn ở các nghiệm thức BA thấp; và đạt giá trị cao nhất tại 21 NSNC.

Giá trị $F_{tính}$ tăng dần theo thời gian nuôi cấy (từ 38,24 ở 7 NSNC lên 45,32 ở 21 NSNC, với $p < 0,001$ ở tất cả thời điểm, chứng tỏ nồng độ BA có ảnh hưởng thống kê rất mạnh và ngày càng rõ rệt đến khả năng tạo chồi. Ngay từ giai đoạn sớm 7 NSNC, sự khác biệt đã rất lớn ($F_{tính} = 38,24$), cho thấy BA nhanh chóng kích hoạt mô phân sinh bên và phá vỡ ưu thế ngọn. Đến 21 NSNC, $F_{tính}$ cao nhất (45,32) phản ánh tác động tích lũy của cytokinin, dẫn đến hệ số nhân chồi tối đa ở NT4. Hệ số biến thiên CV(%) giảm dần (từ 11,70% xuống 9,10%), cho thấy độ chính xác và độ đồng đều của dữ liệu tăng lên khi thời gian nuôi cấy

kéo dài, phản ánh sự ổn định sinh trưởng của mẫu cấy dưới ảnh hưởng BA.

Ở nồng độ thấp 0,50 mg/L, BA chưa đủ phá vỡ ưu thế ngọn nên tốc độ hình thành chồi nách chậm; khi tăng lên 1,00 - 2,00 mg/L, BA kích thích mạnh phân chia tế bào tại mô phân sinh bên, nâng hệ số nhân từ 1,60 lên 4,20 mà không gây chồi bất thường. Cơ chế này liên quan đến việc BA làm giảm tỷ lệ auxin/cytokinin nội sinh, thúc đẩy phát triển chồi nách [9]. Tuy nhiên, vì xu hướng số chồi vẫn đang tăng ở mức 2,00 mg/L, nên cần khảo sát thêm các nồng độ cao hơn trong

nghiên cứu tiếp theo để xác định giới hạn tối đa trước khi xuất hiện độc tính cytokinin. Kết quả phù hợp với các nghiên cứu trên *K. galanga* đạt 6,20 - 12,10 chồi/mẫu với BA ~2,00 mg/L kết hợp IBA [16], đạt 13,00 chồi với BA ~2,70 mg/L [20], và trên *K. parviflora* ghi nhận hệ số nhân 8,00 - 10,00 chồi ở BA 2,00 - 4,00 mg/L [10]. Kết quả hệ số nhân 4,20 thấp hơn một số nghiên cứu kết hợp BA + auxin (6-13 chồi) trên các loài *Kaempferia* khác, cho thấy quy trình hiện tại chưa phải là hoàn chỉnh.

Bảng 2. Số chồi trung bình/mẫu (%) và hệ số nhân chồi của cây Ngải tại các thời điểm sau nuôi cấy

Nghiệm thức	Nồng độ BA (mg/L)	7 NSNC (%)	14 NSNC (%)	21 NSNC (%)	Hệ số nhân chồi
1	0,50	0,80 ± 0,10 ^a	1,20 ± 0,12 ^a	1,60 ± 0,15 ^a	1,60 ^d
2	1,00	1,30 ± 0,15 ^b	1,80 ± 0,18 ^b	2,20 ± 0,20 ^b	2,20 ^c
3	1,50	1,80 ± 0,16 ^c	2,50 ± 0,17 ^c	3,20 ± 0,18 ^c	3,20 ^b
4	2,00	2,60 ± 0,20 ^d	3,40 ± 0,21 ^d	4,20 ± 0,22 ^d	4,20 ^a
F _{tính}	-	38,24	42,18	45,32	-
p - value	-	< 0,001	< 0,001	< 0,001	-
CV (%)	-	11,70	9,60	9,10	-

Ghi chú: Giá trị là trung bình ± SE (n = 5 lặp lại). Các giá trị có chữ cái superscript khác nhau trong cùng một cột khác biệt có ý nghĩa thống kê (kiểm định Duncan, p < 0,05). F_{tính} tại 21 NSNC = 45,32 (p < 0,001); CV% giảm dần từ 11,70% (7 NSNC) xuống 9,10% (21 NSNC).

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ BA đến chiều cao của cây Ngải

Chiều cao chồi tăng theo nồng độ BA và thời gian nuôi cấy, với khác biệt ý nghĩa thống kê (p < 0,05) tại 7 NSNC và 21 NSNC, nhưng không khác biệt ở 14 NSNC (Bảng 3). Tại 7 NSNC,

chiều cao dao động từ 0,23 cm (NT1) đến 0,47 cm (cao nhất ở NT3); tại 14 NSNC, chiều cao tăng nhưng không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (dao động 0,78–1,36 cm); đến 21 NSNC, chiều cao đạt cao nhất ở NT4 (2,67 cm).

Bảng 3. Chiều cao chồi trung bình (cm) của cây Ngải tại các thời điểm sau nuôi cấy

Nghiệm thức	Nồng độ BA (mg/L)	7 NSNC (%)	14 NSNC (%)	21 NSNC (%)
1	0,50	0,23 ± 0,05 ^a	0,90 ± 0,10 ^{ns}	1,09 ± 0,12 ^a
2	1,00	0,35 ± 0,06 ^b	1,00 ± 0,12 ^{ns}	1,76 ± 0,15 ^b
3	1,50	0,47 ± 0,07 ^c	1,15 ± 0,11 ^{ns}	2,19 ± 0,14 ^c
4	2,00	0,40 ± 0,06 ^{bc}	1,25 ± 0,13 ^{ns}	2,67 ± 0,18 ^d
F _{tính}	-	15,67	2,18	48,15
p - value	-	< 0,01	> 0,05	< 0,001
CV (%)	-	12,50	10,80	8,90

Ghi chú: Giá trị là trung bình ± SE (n = 5 lặp lại). Các giá trị có chữ cái superscript khác nhau trong cùng một cột khác biệt có ý nghĩa thống kê (kiểm định Duncan, p < 0,05); ns: không khác biệt ý nghĩa (p > 0,05). F_{tính} tại 21 NSNC = 48,15 (p < 0,001); CV% giảm từ 12,50% (7 NSNC) xuống 8,90% (21 NSNC).

Ở giai đoạn sớm, ảnh hưởng của BA chưa rõ rệt về chiều cao, nhưng từ 14 - 21 NSNC, nồng độ BA cao (1,50 - 2,00 mg/L) thúc đẩy mạnh kéo dài tế bào và sinh trưởng chiều cao nhờ tương tác cytokinin-auxin nội sinh, tăng hoạt động mô phân sinh đỉnh [13]. Xu hướng này khác với một số loài họ Gừng khác khi BA cao thường gây chồi ngắn, lùn do ưu tiên phân chia tế bào ngang. Kết quả tương tự được ghi nhận ở chi *Kaempferia*, như *K. galanga* với BA 2,00 - 4,00 mg/L cho chồi khỏe dài 2,00 - 5,00 cm [15], trong khi ở *Zingiber officinale* BA cao (> 7,00 mg/L) thường giảm chiều cao và gây bất thường [16]. Sự khác biệt này có thể xuất phát từ đặc tính di truyền của chi *Kaempferia*, đáp ứng tốt hơn với cytokinin ngoại sinh ở mức trung bình - cao. Trong giai đoạn nhân chồi, chỉ tiêu chính là số lượng chồi khỏe; chiều cao chỉ mang tính hỗ trợ đánh giá chất lượng chồi.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ BA đến sự nhân nhanh chồi cây Ngải (*Kaempferia* sp. địa phương tại Đồng Tháp). Trong phạm vi khảo sát, môi trường MS bổ sung 2,00 mg/L BA mang lại hiệu quả cao nhất với hệ số nhân chồi 4,20 chồi/mẫu và chiều cao 2,67 cm sau 21 ngày. Tỷ lệ nhiễm nấm được kiểm soát ở mức thấp.

Kết quả cung cấp cơ sở ban đầu cho việc xây dựng quy trình nhân giống in vitro cây Ngải địa phương. Hướng nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát nồng độ BA cao hơn, bổ sung auxin (IBA hoặc NAA), tối ưu giai đoạn tạo rễ và thuần hóa cây con ngoài vườn ươm nhằm hoàn thiện quy trình nhân giống quy mô lớn. Hướng nghiên cứu tiếp theo có thể tập trung vào việc bổ sung auxin (IBA hoặc NAA) để nâng cao hơn nữa hệ số nhân chồi, tối ưu giai đoạn tạo rễ và thuần hóa cây con ngoài vườn ươm, nhằm hoàn thiện quy trình nhân giống quy mô lớn cho cây Ngải.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Kumar A., (2020). Phytochemistry, pharmacological activities and uses of traditional Indian medicinal plant *Kaempferia galanga* Linn.: An overview. *J Ethnopharmacol*, 253:112667. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112667>.

[2]. S. Basak *et al.* (2023). The industrially important genus *Kaempferia*. *Front. Pharmacol.*,

14: 1099523. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1099523>.

[3]. J. Li *et al.* (2022). Antiviral effect of an extract from *Kaempferia galanga* L. rhizome in mice infected with pseudorabies virus. *J. Virol. Methods*, 06:114588. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2022.114588>.

[4]. N. H. Loc *et al.* (2020). Medicinal plants in Vietnam: Current status and sustainable utilization strategies. *Vietnam J. Chem*, 58(4): 425 - 432. <https://doi.org/10.1002/vjch.202000048>.

[5]. N. M. Noor *et al.* (2021). Micropropagation of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) 'Bentong' using different strength of MS medium. *Plants*, 10(4):630. <https://doi.org/10.3390/plants10040630>.

[6]. E. F. George, M. A. Hall, and G.-J. De Klerk (2008). *Plant propagation by tissue culture*, 3rd ed. Dordrecht, The Netherlands: Springer.

[7]. T. Murashige and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15(3): 473 - 497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

[8]. M. W. Bairu, W. A. Stirk, K. Doležal, and J. Van Staden (2007). Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: Can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 90(1): 15 - 23. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9233-4>.

[9]. C. D. Labrooy, T. L. Abdullah, and J. Stanslas (2021). Influence of N6-benzyladenine and sucrose on *in vitro* direct regeneration and microrhizome induction of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker. *Trop. Life Sci. Res.*, 32(1): 67 - 86. <https://doi.org/10.21315/tlsr2021.32.1.5>.

[10]. S. P. O. Werbruck, M. Strnad, H. A. Van Onckelen, and P. C. Debergh (1996). Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture?. *Physiol. Plant.*, 98(2): 291-297. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00491.x>.

[11]. S. K. Singh *et al.* (2022). *In Vitro* Propagation of *Kaempferia galanga* L. - An important medicinal plant. *Agronomy*, 12(5):1094. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051094>.

[12]. R. Parida, S. Mohanty, and S. Nayak (2010). Rapid multiplication and in vitro

production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. *Electron. J. Biotechnol*, 13(4). <https://doi.org/10.2225/vol13-issue4-fulltext-8>.

[13]. L. Boonjing, S. Te-chato, and Y. Shin (2021). Establishment of a rapid micropropagation system for *Kaempferia parviflora*. *Front. Plant Sci*, 12:650878. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.650878>.

[14]. F. Shirin, S. Kumar, and Y. Mishra (2000). *In vitro* plantlet production system for *Kaempferia galanga*, a rare Indian medicinal

herb. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 63(3): 193 - 197. <https://doi.org/10.1023/A:1006454614161>.

15. M. Stanly *et al.* (2010). *In vitro* propagation and conservation of Zingiber zerumbet Smith, a medicinal ginger. *Acta Physiol. Plant.*, 32: 869 - 876. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0484-8>.

16. T. R. Sharma and B. M. Singh (1997). High-frequency *in vitro* multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc.. *Plant Cell Rep.*, 17(1): 68 - 72. <https://doi.org/10.1007/s002990050354>.

THE INFLUENCE OF THE BA (6 - BENZYL - ADENINE) CONCENTRATION TO *In vitro* SHOOT MULTICATION OF *Kaempferia* sp.

Tran Thi Cam Tu¹, Ngo Phu Cuong¹, Le Thi Truc Phuong¹

¹*Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Dong Thap University*

Abstract

This study evaluated the effect of 6-benzyladenine (BA) concentration on *in vitro* shoot multiplication of *Kaempferia* sp. (local ginger collected in Dong Thap province) to determine the optimal BA level for clone selection and large-scale propagation. The experiment was arranged in a completely randomized design with four treatments (MS medium supplemented with BA at 0.50, 1.00, 1.50, and 2.00 mg/L), three explants per treatment, and five replications. After 21 days of culture, MS medium with 2.00 mg/L BA produced the highest number of shoots (4.20 shoots/explant) and tallest shoots (2.67 cm), followed by 1.50 mg/L (3.20 shoots; 2.19 cm), 1.00 mg/L (2.20 shoots; 1.76 cm), and the lowest at 0.50 mg/L (1.60 shoots; 1.09 cm). Fungal contamination rate was low and stable, with no contamination observed at 1.00 - 1.50 mg/L BA. The results contribute initial data for the local *Kaempferia* sp. gene pool in Vietnam.

Keywords: *Kaempferia* sp., ginger, *in vitro* propagation, 6-benzyladenine (BA), shoot multiplication coefficient.

Ngày nhận bài: 02/01/2026

Ngày chuyển phản biện: 9/02/2026

Ngày thông qua phản biện: 25/02/2026

Ngày duyệt đăng: 10/3/2026