

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY LA HÁN QUẢ (*Siraitia grosvenorii*)

Hoàng Thị Như Nụ¹*, Nguyễn Thị Xuyên¹
Lê Thị Quỳnh Nga¹, Đinh Thanh Giảng¹, Vũ Hoài Sâm¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích xây dựng quy trình nhân nhanh và tạo cây la hán quả hoàn chỉnh *in vitro*. Chồi la hán quả *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường cơ bản MS có bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng để thăm dò khả năng nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA cho kết quả nhân chồi tốt nhất với 6,75 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình là 4,6 cm, số lá trung bình là 5,8 lá/chồi sau 6 tuần nuôi cấy. Môi trường ½ MS có bổ sung 0,1 mg/l IBA cho tỷ lệ chồi tạo rễ đạt 100%, số rễ đạt nhiều nhất 5,33 rễ/chồi, chiều dài rễ 5,15 cm.

Từ khóa: La hán quả, nuôi cấy mô, nhân nhanh *in vitro*, tạo cây hoàn chỉnh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

La hán quả (*Siraitia grosvenorii*) là cây thân thảo lâu năm đặc hữu ở tỉnh Quảng Tây - Trung Quốc thuộc họ bầu bí (Cucurbitaceae), quả của nó thường được gọi là Luo hanguo, có giá trị dinh dưỡng rất cao, là một trong những loại thảo dược đầu tiên được sử dụng cho cả mục đích y học và thực phẩm [1] và là loại thuốc truyền thống để điều trị viêm họng, chóng ho, long đờm tự nhiên. Gong và cs (2019) đã phân lập được hơn 100 hợp chất từ la hán quả gồm triterpenoids, flavonoid, axit amin và polysaccharide... [2], đây là những hợp chất có vai trò quan trọng trong phòng chống khối u, chống oxy hóa, tăng cường khả năng miễn dịch, bảo vệ gan, hạ đường huyết và các tác dụng dược lý khác.

La hán quả là cây thuốc có giá trị kinh tế cao cả về thực phẩm và dược liệu, do đó nhu cầu về cây giống trên thị trường là rất lớn. Việc nhân giống bằng hạt và giâm hom cho hệ số nhân giống thấp, hiệu quả kinh tế không cao, cây giống dễ bị nhiễm bệnh làm suy giảm giống cây trồng và giảm năng suất đáng kể [3], [4]. Nhân giống vô tính *in vitro* là phương pháp hiệu quả để tạo cây sạch bệnh cho phép nhân nhanh cây giống với hệ số nhân cao, cây giống đồng đều, cung cấp giống một cách chủ động, khắc phục được những hạn chế

của các phương pháp nhân giống trên. Ở Việt Nam cho tới nay chưa có nghiên cứu nào về nhân giống cây la hán quả bằng phương pháp nuôi cấy mô. Chính vì vậy, nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây la hán quả là rất cần thiết, làm cơ sở cho việc sản xuất số lượng lớn cây giống đáp ứng nhu cầu sản xuất dược liệu cho thị trường Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi la hán quả *in vitro* 3 tuần tuổi tái sinh từ đoạn thân mang mắt ngủ và đang sinh trưởng, phát triển tốt.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nhân nhanh chồi *in vitro*: Chồi la hán quả *in vitro* (1,5 – 2 cm) được cấy lên môi trường cơ bản MS [5], có bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, các chất kích thích sinh trưởng là BA (6 - benzyl adenine), Kin (kinetin), IBA (indole butyric acid), NAA (α -naphthalene acetic acid) với các nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng nhân chồi của chúng.

Tạo cây hoàn chỉnh: Các chồi *in vitro* (2 – 2,5 cm) tách từ các cụm chồi được cấy lên nền môi trường và có nồng độ khoáng khác nhau hoặc các chất kích thích sinh trưởng là α -NAA, IBA với các nồng độ khác nhau để thăm dò khả năng tạo rễ và phát triển thành cây hoàn chỉnh.

Bố trí thí nghiệm: Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), lặp lại 3 lần (mỗi công thức có 10 bình, mỗi bình có 3 mẫu), thực

¹ Viện Dược liệu

* Email: nhunu1912@gmail.com

hiện trong điều kiện nhân tạo, nhiệt độ $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, cường độ ánh sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi: Các số liệu thí nghiệm được theo dõi sau 4 đến 6 tuần nuôi cấy gồm: Hệ số nhân chồi, chiều cao chồi (cm), số lá/chồi (lá), tỷ lệ chồi ra rễ (%), số rễ/cây (rễ), chiều dài rễ (cm).

Xử lý số liệu: Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 4.0 và Microsoft Excel 2010.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1 đến tháng 11 năm 2022 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. Nghiên cứu nhân nhanh chồi

Trong giai đoạn nhân nhanh chồi, ngoài các dưỡng chất cần thiết thì môi trường nuôi cấy cần phải bổ sung thêm các chất điều tiết sinh trưởng như auxin và cytokinin. Cytokinin có tác dụng kích thích sự phân chia tế bào dẫn đến kích thích các chồi tăng nhanh về số lượng. BA và kinetin là những cytokinin tổng hợp được dùng phổ biến trong phòng thí nghiệm do có hiệu quả cao, bền nhiệt, có ảnh hưởng rất rõ rệt lên sự hình thành và phân hoá các cơ quan của thực vật, đặc biệt là sự phân hoá chồi.

Trong thí nghiệm này, chồi la hán quả *in vitro* thu được từ quá trình nuôi cấy khởi động được cấy vào môi trường nhân nhanh có bổ sung BA; kinetin với nồng độ khác nhau (0 - 1 mg/l) để theo dõi sự hình thành và nhân nhanh chồi *in vitro* la hán quả.

Kết quả theo dõi sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA và Kin đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây la hán quả (sau 6 tuần nuôi cấy)

Nồng độ (mg/l)		Hệ số nhân chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
BA	Kin				
0,00	0,00	$1,00 \pm 0,00$	$5,90 \pm 0,10$	$6,80 \pm 0,26$	+
0,25	0,00	$3,75 \pm 0,16$	$5,15 \pm 0,17$	$6,50 \pm 0,10$	++
0,50	0,00	$6,75 \pm 0,19$	$4,60 \pm 0,20$	$5,80 \pm 0,30$	+++
0,75	0,00	$5,56 \pm 0,26$	$4,85 \pm 0,29$	$6,00 \pm 0,26$	+++
1,00	0,00	$5,43 \pm 0,30$	$4,75 \pm 0,28$	$6,30 \pm 0,17$	+++
CV%		4,70	4,40	3,70	
LSD _{0,05}		0,39	0,40	0,42	
0,00	0,25	$3,25 \pm 0,07$	$4,73 \pm 0,18$	$5,90 \pm 0,17$	++
0,00	0,50	$5,13 \pm 0,12$	$4,78 \pm 0,22$	$6,10 \pm 0,10$	++
0,00	0,75	$4,67 \pm 0,21$	$5,38 \pm 0,17$	$6,60 \pm 0,17$	++
0,00	1,00	$4,48 \pm 0,16$	$5,91 \pm 0,09$	$6,80 \pm 0,20$	++
CV%*		3,60	3,00	2,90	
LSD _{0,05} *		0,24	0,29	0,34	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh đậm; +++ Chồi mập, lá to màu xanh đậm; *: Giá trị CV% và LSD_{0,05} được tính toán bao gồm cả công thức đối chứng không bổ sung cytokinin

Việc bổ sung BA và kinetin vào môi trường nuôi cấy đã làm gia tăng hệ số nhân chồi, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% ở tất cả các công thức có bổ sung cytokinin. Trong khi ở công thức đối chứng không bổ sung cytokinin, mẫu cấy không tạo chồi mà chỉ phát triển về chiều cao và số lá.

Môi trường có bổ sung BA cho thấy, hiệu quả kích thích mẫu cấy tạo chồi tốt hơn so với kinetin ở

cùng nồng độ được khảo sát: Ở nồng độ 0,5 mg/l-BA cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 6,75 chồi/mẫu, trong khi kinetin chỉ đạt 5,13 chồi/mẫu. Khi tăng nồng độ cytokinin lên, hệ số nhân chồi có xu hướng giảm.

Chất lượng chồi cũng có sự khác biệt rõ rệt ở môi trường có bổ sung các chất này: ở môi trường có bổ sung kinetin chồi nhỏ, thân mảnh, lá nhỏ có

màu xanh đậm, trong khi BA cho chất lượng chồi tốt hơn chồi to, thân mập, lá to có màu xanh đậm.

Như vậy, BA có tác dụng kích thích hình thành tạo cụm chồi mạnh hơn so với kinetin cả về hệ số nhân lẫn chất lượng chồi.

Tỷ lệ auxin/cytokinin rất quan trọng đối với sự phát sinh hình thái (morphogenesis). Đối với sự phát sinh phôi (embryogenesis), để tạo callus và rễ cần có tỷ lệ auxin/cytokinin cao, trong khi ở trường hợp ngược lại sẽ dẫn đến sự sinh sản chồi và chồi nách. Hiệu quả của một qui trình nhân

giống *in vitro* thể hiện bằng hệ số nhân giống. Trong quá trình nhân giống *in vitro* sự phối hợp giữa auxin và cytokinin ở một nồng độ và tỷ lệ thích hợp có tác động tốt tới sự hình thành chồi và chất lượng chồi tạo thành.

Vì vậy, nhằm nâng cao hệ số nhân chồi, đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng phối hợp BA ở nồng độ 0,5 mg/l - công thức tốt nhất ở thí nghiệm trên với auxin (IBA/ α -NAA) ở nồng độ từ 0 – 0,5 mg/l. Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng phối hợp của BA và IBA/ α -NAA đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây la hán quả (sau 6 tuần nuôi cấy)

Nồng độ (mg/l)			Hệ số nhân chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
BA	IBA	α -NAA				
0,5	0,0	0,0	6,53 $\pm$ 0,16	4,40 $\pm$ 0,10	5,50 $\pm$ 0,26	+++
0,5	0,1	0,0	4,38 $\pm$ 0,15	3,21 $\pm$ 0,11	6,60 $\pm$ 0,17	++
0,5	0,3	0,0	3,33 $\pm$ 0,22	3,11 $\pm$ 0,12	6,80 $\pm$ 0,20	+
0,5	0,5	0,0	3,15 $\pm$ 0,16	3,38 $\pm$ 0,06	6,10 $\pm$ 0,10	+
CV%			4,00	2,80	3,10	
LSD _{0,05}			0,33	0,18	0,36	
0,5	0,0	0,1	4,05 $\pm$ 0,17	3,13 $\pm$ 0,17	6,40 $\pm$ 0,17	++
0,5	0,0	0,3	3,48 $\pm$ 0,17	3,35 $\pm$ 0,18	6,10 $\pm$ 0,10	+
0,5	0,0	0,5	3,31 $\pm$ 0,16	3,56 $\pm$ 0,12	6,30 $\pm$ 0,20	+
CV%*			3,80	4,20	3,20	
LSD _{0,05} *			0,31	0,28	0,36	

Ghi chú: + Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh nhạt; ++ Chồi nhỏ, lá nhỏ màu xanh đậm; +++ Chồi mập, lá to màu xanh đậm; *: Giá trị CV% và LSD_{0,05} được tính toán bao gồm cả công thức đối chứng không bổ sung auxin

Bảng 2 cho thấy, các chỉ tiêu theo dõi từ số chồi/mẫu, chiều cao chồi đều có xu hướng giảm mạnh so với đối chứng (không bổ sung auxin). Việc phối hợp không những không làm tăng mà còn làm giảm khả năng nhân nhanh chồi la hán quả dẫn đến hệ số nhân chồi thấp. Đồng thời gốc chồi xuất hiện mô sẹo với kích thước lớn khi môi trường có bổ sung auxin (IBA/ α -NAA). Mô sẹo tăng trưởng quá nhiều cũng có thể làm ảnh hưởng đến sự hình thành và phát triển của chồi cũng như chất lượng chồi. Mô sẹo trên môi trường IBA có màu trắng trong, kích thước nhỏ, còn trên môi trường α -NAA mô sẹo có màu trắng đục, kích thước to hơn ở cùng một nồng độ.

Như vậy việc phối kết hợp giữa BA và IBA hoặc α -NAA làm giảm hệ số nhân chồi la hán quả so với việc sử dụng BA đơn lẻ.

Từ các thí nghiệm trên cho thấy: môi trường phù hợp cho nhân nhanh chồi la hán quả *in vitro* tốt nhất là: MS + 0,5 mg/l BA, cho hệ số nhân chồi đạt 6,75 chồi/mẫu, chồi to thân mập, lá to có màu xanh đậm.

3.2. Nghiên cứu tạo cây hoàn chỉnh

Giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống trong phòng thí nghiệm, mục đích của giai đoạn này là chồi có khả năng tái sinh được rễ bất định trước khi đưa ra vườn ươm, tạo điều kiện thuận lợi cho cây có thể tự hấp thụ nước, dinh dưỡng, tăng khả năng sống sót của cây *in vitro*. Các chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm auxin như α -NAA, IBA và thành phần môi trường dinh dưỡng gồm muối đa lượng, vi lượng và vitamin đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn này.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ khoáng MS đến khả năng tạo rễ của chồi la hán quả

Môi trường MS là môi trường giàu và cân bằng về chất dinh dưỡng, cung cấp đầy đủ các thành phần khoáng đa lượng, vi lượng cho cây sinh trưởng và phát triển. Sự cảm ứng tạo rễ bất định và dinh dưỡng khoáng có mối quan hệ mật thiết với nhau. Tùy theo đối tượng nuôi cấy mà hàm lượng các chất khoáng này cũng khác nhau. Do đó việc điều chỉnh môi trường nuôi cấy là một trong những phương pháp để làm gia tăng hiệu quả quá trình nuôi cấy mô tế bào thực vật. Vinterhalter và

Vinterhalter (1992) cho rằng chất khoáng ảnh hưởng đến sự hình thành rễ bên của loài *Dracaena fragrans* trong nuôi cấy *in vitro* và khi giảm hàm lượng các chất khoáng đa lượng sẽ kích thích sự hình thành rễ bất định [6]. Tác động tích cực của việc giảm hàm lượng muối khoáng đến sự ra rễ của chồi *in vitro* đã được công bố trong nhiều nghiên cứu trên các đối tượng cây trồng khác nhau [7].

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nồng độ khoáng MS đến khả năng tạo rễ *in vitro* của cây la hán quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ khoáng MS đến khả năng tạo rễ của chồi la hán quả (sau 6 tuần nuôi cấy)

Nồng độ khoáng	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều cao (cm)	Số lá/cây (lá)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
¼ MS	100	5,28 ± 0,06	4,90 ± 0,26	4,40 ± 0,17	3,23 ± 0,21
½ MS	100	7,31 ± 0,14	5,70 ± 0,26	5,46 ± 0,09	5,34 ± 0,30
MS	100	5,75 ± 0,17	5,40 ± 0,20	4,86 ± 0,38	4,67 ± 0,29
CV%		2,20	4,60	5,00	6,10
LSD _{0,05}		0,27	0,49	0,49	0,54

Môi trường nuôi cấy khác nhau về thành phần khoáng đa lượng có ảnh hưởng trực tiếp đến sự hình thành và phát triển rễ *in vitro* của cây la hán quả. Ở cả 3 nồng độ, chồi la hán quả ra rễ đạt 100%. Tất cả các chỉ tiêu theo dõi ở công thức (½ MS) đều đạt cao nhất với chiều cao cây đạt 7,31 cm; 5,7 lá/cây; 5,46 rễ/cây và chiều dài rễ là 5,34 cm, rễ dài, mập khỏe và có nhiều rễ phụ. Khi giảm nồng độ MS xuống thấp hơn (¼ MS) cho rễ dài nhưng mảnh và yếu.

Như vậy, ½ MS là nồng độ khoáng tốt nhất cho chồi la hán quả *in vitro* ra rễ, vừa tiết kiệm được chi phí, thời gian và công sức mà vẫn đảm bảo rễ khỏe mạnh, phát triển tốt khi đưa ra vườn ươm.

3.2.2. Ảnh hưởng của auxin (IBA/α-NAA) đến khả năng tạo rễ của chồi la hán quả

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 hai loại hormone được dùng phổ biến trong nuôi cấy mô nhằm kích thích sự ra rễ.

Trong thí nghiệm này, trên nền môi trường ½ MS đã tiến hành bổ sung vào môi trường nuôi cấy IBA và α-NAA ở các nồng độ khác nhau (0,1, 0,3, 0,5 mg/l) để khảo sát sự hình thành ra rễ của chồi la hán quả.

Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của α-NAA/IBA đến khả năng tạo rễ của chồi la hán quả (sau 4 tuần nuôi cấy)

Nồng độ (mg/l)		Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều cao (cm)	Số lá/cây (lá)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
α-NAA	IBA					
0,0	0,0	100	5,33 ± 0,40	4,30 ± 0,26	4,83 ± 0,24	4,86 ± 0,20
0,1	0,0	100	4,89 ± 0,23	3,30 ± 0,26	9,13 ± 0,22	1,24 ± 0,12
0,3	0,0	100	4,45 ± 0,22	3,10 ± 0,17	10,35 ± 0,28	0,88 ± 0,21
0,5	0,0	100	4,13 ± 0,26	3,10 ± 0,10	11,10 ± 0,23	0,68 ± 0,17
CV%			6,10	6,10	2,80	9,30
LSD _{0,05}			0,54	0,40	0,46	0,33
0,0	0,1	100	5,86 ± 0,25	4,50 ± 0,17	5,33 ± 0,16	5,15 ± 0,29
0,0	0,3	100	4,95 ± 0,16	4,00 ± 0,10	4,45 ± 0,28	3,83 ± 0,16
0,0	0,5	100	4,43 ± 0,24	3,80 ± 0,26	4,13 ± 0,18	3,75 ± 0,18

CV%*	5,40	5,10	4,70	4,80
LSD _{0,05} *	0,52	0,40	0,42	0,40

Ghi chú *: Giá trị CV% và LSD_{0,05} được tính toán bao gồm cả công thức đối chứng không bổ sung auxin.

Chồi la hán quả có khả năng ra rễ ở cả môi trường có hay không có auxin và tỷ lệ ra rễ đều đạt 100% trên tất cả các môi trường. Tuy nhiên, ở những môi trường khác nhau thì sự tạo rễ khác nhau, môi trường có bổ sung auxin thì thời gian ra rễ nhanh hơn cụ thể:

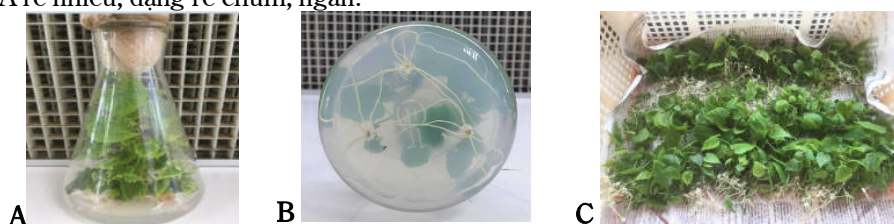
Trên môi trường có bổ sung α -NAA, số rễ tăng lên rõ rệt từ 4,83 rễ (đối chứng) lên đến 11,1 rễ (0,5 mg/l) nhưng chiều dài rễ lại có xu hướng giảm mạnh tương ứng từ 4,86 cm xuống chỉ còn 0,68 cm, điều này cho thấy khi tăng nồng độ α -NAA đã kích thích chồi tạo nhiều rễ nhưng lại ức chế sự tăng trưởng theo chiều dài rễ. Đồng thời, ở gốc chồi xuất hiện một lượng lớn mô sẹo xung quanh rễ, lượng mô sẹo này tăng lên khi nồng độ α -NAA tăng, tuy không ảnh hưởng đến số lượng rễ, nhưng nó lại làm ảnh hưởng đến hình thái của chồi cũng như chất lượng cây: cây nhỏ và thấp, lá có màu xanh nhạt ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây khi đưa ra vườn ươm.

Kết quả ở bảng trên cho thấy, IBA có ảnh hưởng tích cực hơn đến khả năng tạo rễ của chồi la hán quả so với α -NAA: Chất lượng cây tốt hơn: cây cao, khỏe, lá màu xanh đậm, chiều dài rễ được cải thiện rõ rệt, rễ dài hơn. Đặc biệt hiện tượng tạo mô sẹo ở gốc chồi không có hoặc có rất ít. So với môi trường có bổ sung α -NAA, chỉ tiêu về số rễ ở môi trường IBA ít hơn, nhưng rễ tạo ra có chất lượng tốt hơn (rễ dài, trắng có nhiều rễ phụ) - giống với rễ của cây la hán ngoài tự nhiên, còn rễ trên môi trường α -NAA rễ nhiều, dạng rễ chùm, ngắn.

Môi trường ½ MS có bổ sung 0,1 mg/l IBA là môi trường ra rễ tốt nhất (cả về chất lượng cây và rễ), 100% chồi tạo rễ, số rễ đạt cao nhất 5,33 rễ; chiều dài rễ là 5,15 cm, chiều cao 5,86 cm và số lá là 4,5 lá.

Trong quá trình nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây la hán quả, đã quan sát thấy rằng sự hình thành mô sẹo lớn xảy ra ở phần gốc của chồi trên cả môi trường nhân nhanh và ra rễ. Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn giống với một số nghiên cứu công bố trước đây. Trên môi trường nhân nhanh, khi sử dụng nhóm chất cytokinin đơn lẻ (BA hay Kin), gốc chồi xuất hiện mô sẹo, tuy nhiên lượng mô sẹo ít hơn so với việc phối kết hợp giữa cytokinin và auxin. Lượng mô sẹo tăng khi nồng độ các chất điều tiết sinh trưởng tăng. Các nghiên cứu đều khẳng định hiện tượng này được coi là không thể tránh khỏi trong vi nhân giống *S. grosvenorii* [8] và hầu hết các mô sẹo này đều không có khả năng tái sinh thành cây con hay tái sinh thì cây con đều bị biến dị [9].

Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm giải quyết vấn đề hình thành mô sẹo và cải thiện chất lượng cây con trong vi nhân giống *S. grosvenorii* như: phương pháp vi nhân giống quang tự dưỡng (photoautotrophic micropropagation) [10], phương pháp tạo rễ ngoài ống nghiệm [11] hay kỹ thuật nuôi cấy ngập chìm tạm thời (TIS - Temporary Immersion System) [12].



Hình 1. Nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh *in vitro* cây la hán quả

A. Cụm chồi la hán quả trên môi trường MS + 0,5 mg/l BA; B. Chồi la hán quả *in vitro* ra rễ trên môi trường ½ MS + 0,5 mg/l IBA; C. Cây la hán quả *in vitro* hoàn chỉnh.

4. KẾT LUẬN

Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA là môi trường phù hợp cho nhân nhanh *in vitro* chồi la

hán quả, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, hệ số nhân chồi đạt 6,75 chồi, chồi to thân mập, lá to có màu xanh đậm.

Môi trường ½ MS có bổ sung 0,1 mg/l IBA là môi trường ra rễ tốt nhất (cả về chất lượng cây và rễ), 100% chồi tạo rễ, số rễ đạt cao nhất 5,33 rễ; chiều dài rễ là 5,15 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lu, F., Li, D., Fu, C., Liu, J., Huang, Y., Chen, Y., ... Nohara, T. (2012). Studies on chemical fingerprints of *Siraitia grosvenorii* fruits (Luo Han Guo) by HPLC. *Journal of Natural Medicines*, 66 (1), 70 - 76. <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0555-5>.
2. Gong Xue, Namuhan Chen, Kai Ren, Junying Jia, Kunhua Wei, Le Zhang, Ying Lv, Jianhua Wang, and Minhui Li. (2019). The Fruits of *Siraitia grosvenorii*: A Review of a Chinese Food-Medicine. *Frontiers in Pharmacology*. 10, 1400. doi: 10.3389/fphar.2019.01400.
3. Lin Wei and Li Qiqin. (2003). Investigations of the virus disease of *Siraitia grosvenorii* in Guangxi. *Zhiwu Bao* (China).
4. Jiang, N., Hu, F. Y., Ye, Y. F., Jiang, S. Y., and Huang, X. Y. (2015). First Report of Leaf Spot Caused by *Stagonosporopsis cucurbitacearum* on Luohanguo (*Siraitia grosvenorii*) in China Plant Disease, 99 (11), 1645.
5. Murashige T, Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473 - 479.
6. Vinterhalter, D., & Vinterhalter, B. (1992). Effect of inorganic nutrition on the formation of lateral roots in *Dracaena fragrans* Ker - Gawl cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 28 (3), 267 - 274.
7. Driver, J. A. and Suttle, G. R. (1987). Nursery handling of propagules. *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Springer Dordrecht, p. 320 - 335.
8. Lin Wei, Peng Haowen, Xue JinJung, Liang Song, Huang LinYan. (2003). Problem and solution of tissue cultured seedling cultivation of *Siraitia grosvenorii*. *Guangxi Agri Sci* 34.4: 74 - 75.
9. Lan Taoju, Xu Hongyuan, He Bing, Lin Wei, Li Qiqin, Sha Bo. (2006). Studies on Direct Differentiating Regenerated Plantlets from Different Organs of *Siraitia grosvenorii* *in vitro*. *Biotechnology Bulletin*, 514 - 516.
10. Zhang, M., Zhao, D., Ma, Z., Li, X., Xiao, Y. (2009). Growth and photosynthetic capability of *Momordica grosvenori* plantlets grown photoautotrophically in response to light intensity. *HortScience* 44 (3): 757 - 763.
11. Yan, H., Liang, C., Yang L., Li Y. (2010). *In vitro* and *ex vitro* rooting of *Siraitia grosvenorii*, a traditional medicinal plant. *Acta Physiol Plant* 32.1: 115 - 120.
12. Yan, Huabing, Chunxiu Liang, Yangrui Li. (2010). Improved growth and quality of *Siraitia grosvenorii* plantlets using a temporary immersion system. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 103: 131-135. DOI 10.1007/s11240-010-9752-2.

IN VITRO MULTIPLICATION AND PLANLETS ESTABLISHMENT OF *Siraitia grosvenorii*

Hoang Thi Nhu Nu^{1*}, Nguyen Thi Xuyen¹

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

¹National Institute of Medicinal Materials

*Email: nhunu1912@gmail.com

Summary

This study established the protocol for rapid multiplication and planlet regeneration of *Siraitia grosvenorii*. The explants were cultured on the Murashige and Skoog (1962) basal medium containing 3% sucrose and 0.6% agar and supplemented with different plant growth regulators either separate or in combination. The results indicated that MS medium supplemented with 0.5 mg/l BA was the most suitable for shoot multiplication with 6.75 shoots/explant, the average shoot height of 4.6 cm, the average leaf number of 5.8 leaves. 100% shoots were rooted on the ½ MS medium supplemented with 0.1 mg/l IBA and the highest root number (5.33 roots/plant) was observed on this medium.

Keywords: *Siraitia grosvenorii*, tissue culture, rapid multiplication, plantlets regeneration.

Người phản biện: TS. Đinh Trường Sơn

Ngày nhận bài: 19/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 19/01/2023

Ngày duyệt đăng: 31/01/2023