

NHÂN GIỐNG *IN VITRO* VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA CÂY GIỐNG BÁCH BỘ (*Stemona tuberosa* Lour.) NUÔI CÂY MÔ TẠI VƯỜN ƯƠM

Nguyễn Thị Mỹ Duyên^{1*}, Trình Thị Thu Hồng¹, Trịnh Hoài Vũ¹

TÓM TẮT

Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.) là cây dược liệu quý đang cần bảo tồn và phát triển của tỉnh An Giang. Nghiên cứu “Nhân giống *in vitro* và đánh giá khả năng sinh trưởng của cây giống Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.) nuôi cấy mô tại vườn ươm” được thực hiện nhằm phát triển và sử dụng cây giống nuôi cấy mô trong điều kiện thực tiễn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cây Bách bộ có khả năng tái sinh chồi tốt nhất trên môi trường MS + 3 mg/l BA với 4,83 chồi sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường thích hợp nhất cho việc tạo rễ chồi Bách bộ là môi trường MS/2 + 1 mg/l NAA với số rễ trung bình là 7,67 rễ. Đối với giá thể sử dụng cho việc thuần dưỡng cây Bách bộ, kết quả nghiên cứu cho thấy, cát là giá thể cho tỷ lệ sống cao (66,67%), cây phát triển tốt chiều cao, lá và chồi. Bước đầu trồng thử nghiệm cây Bách bộ nuôi cấy mô ngoài vườn ươm cho thấy, giá thể cát + tro trấu + phân bò (tỷ lệ 1: 1: 1) rất thích hợp để trồng cây Bách bộ, giúp cho cây sinh trưởng và phát triển mạnh.

Từ khóa: Cây Bách bộ, vi nhân giống, *in vitro*, giá thể.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Bách bộ (*Stemona* sp.) được trồng nhiều nơi trên thế giới gồm 25 loài phân bố từ vùng Ấn Độ - Mã Lai tới Đông Á, nhiệt đới châu Mỹ và Việt Nam [1]. Việt Nam có khoảng 5 loài, trong đó có loài *S. tuberosa* Lour. [2]. Cây mọc hoang ở một số tỉnh như: Hòa Bình, Bắc Kạn, Thái Nguyên, An Giang,... Cây Bách bộ có nhiều hợp chất quý, trong đó phải kể đến nhóm hợp chất alkaloid có tác dụng chữa ho, các bệnh về da, ung thư gan [1], [2], [3], [4], [5]. Hiện nay, cây Bách bộ đang được sử dụng ngày càng phổ biến trong các bài thuốc để trị bệnh nên bị khai thác triệt để làm nguồn cây tự nhiên ngày càng khan hiếm. Chính vì vậy, nhân giống *in vitro* và đánh giá khả năng sinh trưởng của cây giống Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.) nuôi cấy mô tại vườn ươm đã được thực hiện nhằm tạo nhanh số lượng lớn cây giống đồng đều và có

năng suất và chất lượng cao, đáp ứng nhu cầu trồng sản xuất cũng như bảo tồn nguồn gen.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng Nuôi cấy mô, Trường Đại học An Giang và nhà lưới thuộc phường Mỹ Phước, thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang từ tháng 3/2019 đến tháng 4/2021.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Cây Bách bộ của vùng Bảy núi An Giang được cung cấp bởi Hội Đông y huyện Tịnh Biên được trồng ổn định tại vườn để cung cấp mầm ngủ cho vật liệu nuôi cấy.

2.3. Hóa chất nuôi cấy

- Môi trường nuôi cấy MS [6].
- Chất điều hòa sinh trưởng BA (6-benzyladenine), NAA (Napthalene acetic acid); vitamin Pyridoxine (B6), Nicotinic axit (P. P), Thiamine (B1), Glycine, Myo-Inositol của Merk.

¹ Trường Đại học An Giang,
Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh
* Email: ntmduyen@agu.edu.vn

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Khảo sát nồng độ và thành phần chất điều hòa sinh trưởng BA và NAA tối ưu để tạo chồi Bách bộ

Vật liệu: Các mầm ngủ từ nguồn gen cây Bách bộ sau khi khử trùng mẫu cấy trên môi trường MS, các chồi vô trùng tạo ra được sử dụng bố trí thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: Trong phòng nuôi cấy mô theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 13 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 bình, cây 2 chồi trên bình.

Chỉ tiêu theo dõi: Các số liệu được ghi nhận vào các thời điểm 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần, 8 tuần sau khi cấy.

- Theo dõi và ghi nhận ngày xuất hiện chồi mới đầu tiên và ghi nhận sự xuất hiện rễ (nếu có).

- Số chồi/mẫu cấy: Đếm số chồi mới hình thành trên mỗi mẫu cấy.

- Chiều cao chồi (cm): Đo từ mặt môi trường đến đỉnh chồi.

- Số lá/chồi: Đếm số lá trên mẫu cấy.

2.4.2. Khảo sát nồng độ NAA và thành phần khoáng đa lượng đến sự tạo rễ chồi Bách bộ *in vitro*

Vật liệu: Mẫu chồi Bách bộ *in vitro* được cắt khoảng 3 - 4 cm bố trí thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: Trong phòng nuôi cấy mô theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, với 12 nghiệm thức gồm 2 nhân tố là môi trường khoáng đa lượng MS (A) và nồng độ NAA (B), mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 bình. Mỗi bình cấy 2 chồi.

Chỉ tiêu theo dõi: Các số liệu được ghi nhận vào các thời điểm 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần, 8 tuần sau khi cấy.

- Chiều cao chồi (cm): Đo chồi cao nhất (từ mặt môi trường đến đỉnh chồi).

- Số rễ/mẫu cấy: Đếm số rễ trên mỗi mẫu cấy.

- Chiều dài rễ (cm): Đo trung bình 3 rễ dài nhất.

- Số lá/chồi: Đếm số lá mới trên mỗi mẫu cấy.

- Đặc điểm hình thái chồi và số chồi mới hình thành (nếu có).

2.4.3. Khảo sát thành phần giá thể thích hợp cho việc thuần dưỡng cây Bách bộ

Vật liệu: Cây Bách bộ *in vitro* hoàn chỉnh từ thí nghiệm 2 được bố trí thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: Trong nhà lưới theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 8 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 2 chậu, mỗi chậu 2 cây.

Các nghiệm thức thí nghiệm: C1 (Tro trấu), C2 (Cát), C3 (Xơ dừa), C4 (Tro trấu + cát (1: 1)), C5 (Tro trấu + cát (2: 1)), C6 (Tro trấu + xơ dừa (1: 1)), C7 (Tro trấu + cát + xơ dừa (1: 1: 1)), C8 (Tro trấu + cát + xơ dừa (2: 1: 1)).

Chỉ tiêu theo dõi: Thời gian lấy chỉ tiêu: 10, 20, 30 ngày sau khi trồng.

$$\text{Tỷ lệ cây chết (\%)} = \frac{\text{Tổng cây chết}}{\text{Tổng cây thí nghiệm}} \times 100$$

- Tỷ lệ cây sống (%) = (Tổng cây thí nghiệm - Tổng cây chết) x 100.

- Chiều cao cây (cm): Đo từ mặt giá thể đến đỉnh chồi.

- Số lá/chồi (lá): Đếm số lá trên chồi.

2.4.4. Khảo sát thành phần giá thể thích hợp cho việc thuần dưỡng cây Bách bộ

Vật liệu: Cây Bách bộ *in vitro* sống và phát triển từ thí nghiệm 3 được bố trí thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: Trong nhà lưới theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 3 chậu, mỗi chậu 2 cây.

Nghiệm thức thí nghiệm: D1 (Cát), D2 (Cát + phân bò (2: 1)), D3 (Cát + tro trấu + Phân bò (1: 1: 1)), D4 (Cát + tro trấu + xơ dừa + phân bò (1: 1: 1: 1)), D5 (Cát + tro trấu + xơ dừa (1: 1: 1)).

Chỉ tiêu theo dõi: Thời gian lấy chỉ tiêu 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 ngày.

$$\text{Tỷ lệ cây chết (\%)} = \frac{\text{Tổng cây chết}}{\text{Tổng cây thí nghiệm}} \times 100$$

- Tỷ lệ cây sống (%) = (Tổng cây thí nghiệm - Tổng cây chết) x 100.

- Chiều cao cây (cm): Đo từ mặt giá thể đến đỉnh chồi.

- Số lá/chồi (lá): Đếm số lá trên chồi.
- Diện tích lá: Đo chiều dài và chiều rộng của lá.

2.5. Phân tích dữ liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để nhập và xử lý sơ bộ dữ liệu, sau đó dùng phần mềm SAS 9.1 để phân tích phương sai và so sánh sự khác biệt giữa các trung bình nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát nồng độ và thành phần chất điều hòa sinh trưởng BA và NAA tối ưu để tạo chồi Bách bộ

Khi các chồi cây Bách bộ được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA (với các nồng độ 0, 1,0; 2,0; 3,0 mg/l) và NAA (với các nồng độ 0; 0,5; 1,0 mg/l) trong 8 tuần, kết quả thí nghiệm cho thấy, số chồi dao động từ 1,67 - 4,83 chồi, trung bình đạt 3,19 chồi. Nghiệm thức A_3 có số chồi cao nhất 4,83 chồi, nhưng khác biệt không có ý nghĩa với các nghiệm thức A_2 , A_6 , A_7 , A_{10} và A_{11} . Điều này cho thấy, nồng độ BA từ 2 - 3 mg/l thích hợp cho việc tạo chồi Bách bộ (Bảng 1).

Về chiều cao chồi, dao động từ 2,97 - 5,70 cm, trung bình 4,38 cm. Nghiệm thức A_9 có sự gia tăng chiều cao chồi nhiều nhất, đạt 5,70 cm, nhưng khác biệt không có ý nghĩa với các nghiệm thức A_2 , A_3 , A_6 , A_7 , A_{10} , A_{11} . Trong khi số lá có sự gia tăng đáng kể, trung bình đạt 6,14 lá, nghiệm thức

A_3 là cao nhất, đạt 9,33 lá, nhưng khác biệt không có ý nghĩa với các nghiệm thức A_2 , A_4 , A_6 , A_7 , A_8 , A_9 . Kết quả thí nghiệm cho thấy, ở nồng độ BA từ 2 - 3 mg/l đều khá thích hợp cho việc tạo chồi Bách bộ. Như vậy, nghiệm thức môi trường MS với nồng độ BA từ 2 - 3 mg/l thích hợp cho việc nhân tạo chồi Bách bộ.

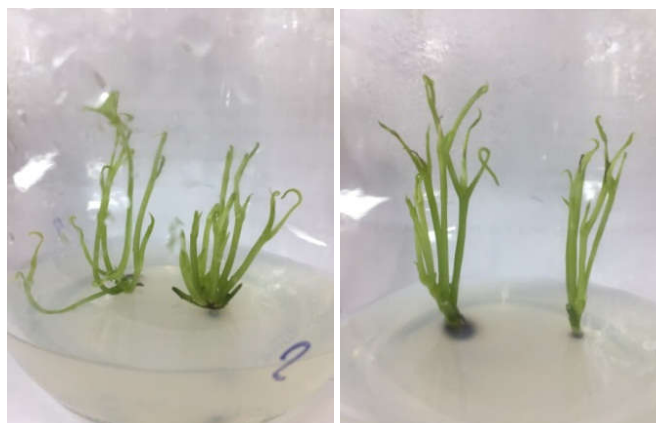
BA được xem là một trong những cytokinin hiệu quả nhất trong việc kích thích phát sinh cơ quan và được sử dụng nhiều trong vi nhân giống thực vật và sự phối hợp giữa BA và NAA thường được áp dụng trong việc kích thích sự phát sinh chồi [7]. Nghiên cứu của Murthy và cs (2013) [8] cho thấy, hiệu quả tạo chồi là $6,7 \pm 0,36$ chồi và chiều cao chồi đạt trung bình là $8,27 \pm 0,39$ cm, cao hơn so với sử dụng TDZ (2,0 mg/l) và BAP (2,0 mg/l). Sharma và cs (1993) [9] đã phát hiện môi trường MS có bổ sung 2 - 3 ml/l BA cho hiệu quả phát sinh chồi lên đến 100%, số chồi cao hơn gấp 4 lần so với đối chứng không bổ sung BA. Ngoài ra, đã có một số nghiên cứu khác được thực hiện cho thấy, khi kết hợp giữa các chất điều hòa sinh trưởng nhóm auxin ở nồng độ thấp với các chất thuộc nhóm cytokinin ở nồng độ cao hơn giúp tăng cường số lượng chồi phát sinh [9, 7] nhưng kết quả thu nhận được từ thí nghiệm này cho thấy, NAA với nồng độ bổ sung 0,5 - 1,0 mg/đều không làm gia tăng hiệu quả tạo chồi Bách bộ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự tạo chồi Bách bộ sau 8 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi (chồi)*	Chiều cao chồi (cm)*	Số lá (lá)*
A_0 (ĐC)	0,0	0,0	1,67 ^d	4,40 ^{a b}	4,00 ^c
A_1	1,0	0,0	2,17 ^{cd}	3,52 ^b	3,83 ^c
A_2	2,0	0,0	3,50 ^{abc}	4,77 ^{ab}	7,67 ^{ab}
A_3	3,0	0,0	4,83 ^a	3,88 ^{ab}	9,33 ^a
A_4	4,0	0,0	4,17 ^{ab}	3,53 ^b	7,83 ^{ab}
A_5	1,0	0,5	2,50 ^{bcd}	5,78 ^{ab}	5,67 ^{bc}
A_6	2,0	0,5	4,17 ^{ab}	4,83 ^{ab}	7,33 ^{abc}

A ₇	3,0	0,5	3,17 ^{abcd}	3,83 ^{ab}	6,50 ^{abc}
A ₈	4,0	0,5	2,75 ^{bcd}	2,97 ^b	6,00 ^{abc}
A ₉	1,0	1,0	2,83 ^{bcd}	5,70 ^a	6,33 ^{abc}
A ₁₀	2,0	1,0	3,17 ^{abcd}	4,80 ^{ab}	5,33 ^{bc}
A ₁₁	3,0	1,0	3,17 ^{abcd}	3,83 ^{ab}	5,50 ^{bc}
A ₁₂	4,0	1,0	3,33 ^{abcd}	3,45 ^b	4,50 ^{bc}
Trung bình			3,19	4,38	6,14
Mức ý nghĩa			*	*	*
CV%			27,82	24,35	30,52

Ghi chú: Các nghiệm thức có ký tự theo sau giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa; * = khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. ĐC: đối chứng.



Hình 1. Chồi Bách bộ phát triển trên môi trường MS + 3 mg/l BA

3.2. Khảo sát nồng độ NAA và thành phần khoáng đa lượng đến sự tạo rễ chồi Bách bộ *in vitro*

Sự tạo rễ cây Bách bộ *in vitro* được tiến hành trên các môi trường MS, MS/2 và MS/4 phối hợp với các nồng độ NAA thay đổi từ 0; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l trong thời gian 8 tuần. Kết quả thí nghiệm cho thấy, nồng độ môi trường MS khác nhau không ảnh hưởng đến sự hình thành rễ/cây của cây Bách bộ (Bảng 2). Số rễ được hình thành trong 3 nồng độ thay đổi từ 3,92 - 5,17 rễ với chiều dài rễ trong khoảng 0,98 - 1,3 cm. Tuy nhiên, kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, hiệu quả của NAA trong sự phát sinh rễ của cây. Trong đó, NAA ở

nồng độ 0,5; 1,0; 1,5 mg/l có số lượng rễ cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng (0 mg/l NAA) với số lượng rễ từ 4,22 - 6,67 rễ.

Đã có nhiều bằng chứng cho thấy, auxin là yếu tố chính trong sự phát sinh và hình thành rễ thực vật mặc dù việc hình thành này cũng chịu ảnh hưởng của các yếu tố nội sinh và môi trường bên ngoài. Nghiên cứu của Chotikadachanarong và cs (2003) [10] đã sử dụng môi trường MS bán rắn có bổ sung 2 và 3 mg/l NAA để kích thích sự hình thành rễ từ mô sẹo cây thuộc họ Bách bộ (*Stemona* sp.). Kết quả cho thấy, NAA ở 2 nồng độ này cho kết quả 100% hình thành rễ ở cây Bách bộ với số lượng rễ tương ứng là 12 và 14 rễ. Biswas và

cs (2011) [7] sử dụng môi trường MS/2 bổ sung 0,5 mg/l NAA đã đạt được kết quả hình thành rễ lên đến 90% số chồi được thử nghiệm trong thời gian 2 tuần với số lượng trung bình rễ là 4,7 rễ/chồi. Nghiên cứu của Sharma và cs (1993) [9] cũng đã đạt được kết quả 100% số chồi hình thành rễ với môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l NAA

với số chồi trung bình là 21,5 rễ/chồi. Nghiên cứu của Murthy và cs (2013) [8] cho thấy, IAA cũng cho kết quả tốt với 75% số chồi hình thành rễ ở nồng độ 1,0 mg/l IAA (5,6 chồi với chiều dài trung bình là 6,19 cm) và cao hơn so với 1,0 mg/l NAA (5,2 rễ với chiều dài rễ trung bình là 4,92 cm).

Bảng 2. Số rễ/cây và chiều dài rễ Bách bộ sau 8 tuần nuôi cấy

Nồng độ NAA (mg/l) (B)	Môi trường khoáng (A)			Trung bình (B) **
	A1 (MS)	A2 (MS/2)	A3 (MS/4)	
Số rễ/cây				
B1 (0 mg/l NAA)	1,33 cd	1,00 d	1,67 bcd	1,33 b
B2 (0,5 mg/l NAA)	7,00 ab	4,67 abcd	6,00 abcd	5,89 a
B3 (1,0 mg/l NAA)	6,00 abcd	7,67 a	6,33 abcd	6,67 a
B4 (1,5 mg/l NAA)	3,67 abcd	2,33 abcd	6,67 abc	4,22 a
Trung bình (A) ^{ns}	4,50	3,92	5,17	

Chiều dài rễ (cm)

Nồng độ NAA (mg/l) (B)	Môi trường khoáng (A)			Trung bình (B) ^{ns}
	A1 (MS)	A2 (MS/2)	A3 (MS/4)	
B1 (0 mg/l NAA)	1,27	1,50	0,67	1,14
B2 (0,5 mg/l NAA)	1,23	1,50	1,17	1,30
B3 (1,0 mg/l NAA)	0,93	1,50	1,90	1,44
B4 (1,5 mg/l NAA)	0,47	0,33	1,47	0,76
Trung bình (A) ^{ns}	0,98	1,21	1,30	

*Ghi chú: Các nghiệm thức có ký tự theo sau giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa; ns: khác biệt không ý nghĩa về thống kê, *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, **: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%.*

3.3. Khảo sát thành phần giá thể thích hợp cho việc thuần dưỡng cây Bách bộ

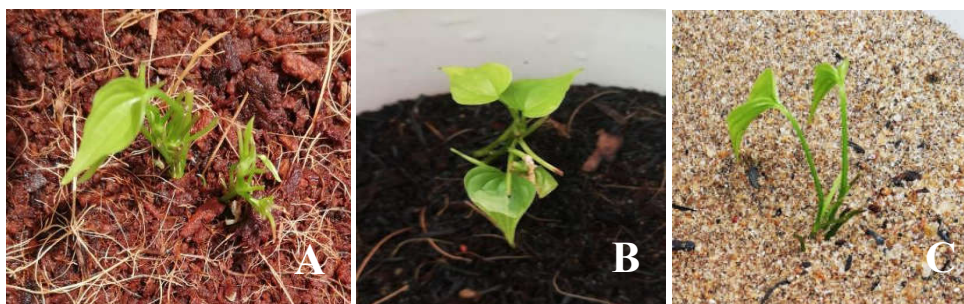
Ưu điểm và hiệu quả của việc nuôi cấy mô thực vật chỉ được nhìn nhận đầy đủ khi việc chuyển cây con từ ống nghiệm ra thuần hoá trong vườn ươm được thành công để cây con sẵn sàng đưa vào canh tác. Trong thí nghiệm này, chồi Bách bộ *in vitro* khoẻ mạnh với bộ rễ phát triển đầy đủ được đưa ra vườn ươm thuần dưỡng trên 8 loại giá thể khác nhau. Kết quả thí nghiệm sau 30 ngày thuần dưỡng được trình bày ở bảng 3 cho thấy, tỷ lệ sống của cây Bách bộ trên 8 loại nghiệm thức dao động từ 25,00 - 66,67%, trong đó, giá thể C2 với thành phần 100% cát cho tỷ lệ sống của cây Bách

bộ cao nhất là 66,67% và khác biệt không có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Chiều cao trung bình của cây sau 30 ngày trồng dao động từ 2,32 - 5,60 cm. Số lá/chồi trung bình của cây Bách bộ được trồng cao nhất là C2 (7,50 lá) và thấp nhất là C8 (3,67 lá). Ngoài ra, số chồi trung bình của cây cũng dao động từ 0,83 - 1,83 chồi và khác biệt không ý nghĩa giữa các nghiệm thức. Kết quả theo dõi việc thuần dưỡng cây con nuôi cấy mô trong nhà lưới cho thấy, cây con Bách bộ có thể thích nghi tốt trên các giá thể có độ thoáng khí, thoát nước tốt, giống môi trường sinh trưởng của cây ngoài tự nhiên.

Bảng 3. Kết quả các chỉ tiêu theo dõi cây sau 30 ngày thuần dưỡng

Nghiệm thức	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/chồi	Số chồi
C1	50,00	2,32	4,50	1,17
C2	66,67	4,05	7,50	1,50
C3	58,33	3,35	7,17	1,83
C4	41,67	2,95	6,83	1,00
C5	41,67	3,88	7,17	1,67
C6	50,00	5,60	6,67	1,17
C7	25,00	2,62	4,17	0,83
C8	58,33	2,72	3,67	1,00
Mức ý nghĩa	ns	ns	ns	ns
CV (%)	42,98	44,18	46,63	45,43

Ghi chú: Trong cùng một giá trị trung bình, các giá trị có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: khác biệt không có ý nghĩa. C1 (Tro trấu), C2 (Cát), C3 (Xơ dừa), C4 (Tro trấu + cát (1: 1)), C5 (Tro trấu + cát (2: 1)), C6 (Tro trấu + xơ dừa (1: 1)), C7 (Tro trấu + cát + xơ dừa (1: 1: 1)), C8 (Tro trấu + cát + xơ dừa (2: 1: 1)).



Hình 2. Cây Bách bộ sau 30 ngày thuần dưỡng (A: cây Bách bộ trên giá thể xơ dừa; B: cây Bách bộ trên giá thể tro trấu + cát, tỉ lệ 2: 1; C: giá thể 100% cát)

3.4. Khảo sát thành phần giá thể thích hợp cho việc thuần dưỡng cây Bách bộ

Chồi Bách bộ *in vitro* sau khi được thuần dưỡng 30 ngày được đem ra vườn ươm trồng thử nghiệm 180 ngày trên 5 loại giá thể khác nhau cho thấy, cây thích nghi khá tốt với điều kiện môi trường tự nhiên và tỷ lệ sống rất cao. Cây phát triển chiều cao, lá, chồi mới rất tốt (Bảng 4). Trong giai đoạn trồng thực nghiệm cây Bách bộ trên nền giá thể D3: Cát + tro trấu + phân bò (1: 1: 1) sau 180 ngày trồng cho kết quả ổn định nhất về các chỉ tiêu. Tỷ lệ sống 91,67%, chiều cao trung bình 13,87 cm, số lá/chồi 6,33 lá trên 1 chồi, số chồi 4,00 chồi, chiều dài trung bình 6,88 cm, chiều rộng trung bình 4,60 cm, số rễ trung bình 15,33 rễ, đường kính rễ trung bình 0,53 cm, chiều dài rễ trung bình 18,00 cm. Bách bộ là cây được liệu sử

dụng phần rễ là chính [1], vì vậy việc hình thành rễ, sự phát triển về số rễ và kích thước rễ rất quan trọng đến việc sau khi thu hoạch đem lại năng suất tốt cho nông dân và thu được được tính tốt nhất. Kết quả trên cho thấy, giá thể D3 (Cát + tro trấu + phân bò: 1: 1: 1) rất thích hợp để trồng cây Bách bộ, giúp cho cây sinh trưởng và phát triển mạnh. Đây là môi trường giá thể cung cấp đủ các chất dinh dưỡng cho cây và khả năng giữ ẩm cũng như khả năng thoát nước tốt, rất phù hợp cho sự sinh trưởng của cây con sau nuôi cấy mô. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Lê Hùng Tiến và cs (2022) [11], khi đánh giá khả năng thích nghi của cây giống Bách bộ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm với giá thể chứa cát + đất + phân chuồng (3: 1: 1) cho tỷ lệ cây sống cao nhất là 85%.

Bảng 4. Các chỉ tiêu sinh trưởng của cây Bách bộ

Nghiem thức	Chiều cao (cm)	Số lá/chồi	Số chồi	Chiều dài (cm)	Chiều rộng (cm)	Số rễ	Đường kính rễ (cm)	Chiều dài rễ (cm)
D1	11,17 ^{ab}	4,17	2,17 ^{bc}	5,13 ^{ab}	3,63 ^{ab}	5,67	0,40	12,33
D2	13,77 ^a	7,33	4,00 ^a	6,87 ^a	4,68 ^a	9,00	0,53	14,83
D3	13,87 ^a	6,33	4,00 ^a	6,88 ^a	4,60 ^a	15,33	0,53	18,00
D4	13,65 ^a	4,83	3,67 ^{ab}	6,40 ^a	4,92 ^a	15,00	0,53	24,83
D5	6,42 ^b	5,50	2,00 ^c	3,10 ^b	2,42 ^b	8,33	0,47	13,67
Mức ý nghĩa	*	ns	*	**	**	ns	ns	ns
CV (%)	17,83	31,53	25,94	14,19	14,14	39,42	7,06	31,85

Ghi chú: Trong cùng một giá trị trung bình, các giá trị có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa thống kê. ns: khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt có ý nghĩa ở mức 5%; **: khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%. D1 (Cát), D2 (Cát + phân bò (2: 1)), D3 (Cát + tro trấu + phân bò (1: 1: 1)), D4 (Cát + tro trấu + xơ dừa + phân bò (1: 1: 1: 1)), D5 (Cát + tro trấu + xơ dừa (1: 1: 1)).



Hình 3. Lá cây Bách bộ trên 5 loại nghiệm thức ở giai đoạn 180 ngày

Chú thích: D1: cát; D2: cát + phân bò (2: 1); D3: cát + tro trấu + phân bò (1: 1: 1); D4: cát + tro trấu + xơ dừa + phân bò (1: 1: 1: 1); D5: cát + tro trấu + xơ dừa (1: 1: 1)



Hình 4. Rễ cây Bách bộ trên nền giá thể D4 và D1

Chú thích: D4: cát + tro trấu + xơ dừa + phân bò (1: 1: 1: 1) và D1: cát.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cây Bách bộ tái sinh chồi tốt nhất trong môi trường MS có bổ sung 3 mg/l BA. Môi trường MS/2 + 1 mg/l NAA giúp chồi có thể phát sinh rễ tốt trong điều kiện thí nghiệm. Đối với việc thuần dưỡng cây con nuôi cấy mô, cát là giá thể cho kết quả khá cao, với tỷ lệ sống đạt 66,67% sau 30 ngày trồng vườn ươm. Trong giai đoạn trồng thử nghiệm cây Bách bộ *in vitro* ngoài vườn, cây phát triển tốt trên nền giá thể cát + tro trấu + phân bò (1: 1: 1). Đây là môi trường có độ thoáng khí cao, khả năng giữ ẩm và cung cấp chất dinh dưỡng phù hợp với sự sinh trưởng của cây sau nuôi cấy mô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học. Hà Nội.
2. Vũ Ngọc Kim, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Thanh Kỳ, Nguyễn Thị Phương Mai (1996). Chi *Stemona*

Lour. Thành phần hoá học, chế biến, tác dụng dược lý, công dụng. *Tạp chí Dược liệu*, tập 1, số 1, 5 - 12.

3. Nguyễn Mạnh Tuyền, Nguyễn Văn Hà, Nguyễn Minh Hải (2010). Thực hiện định lượng alkaloid toàn phần và tuberostemonin LG trong Bách bộ (*Radix Stemona tuberosa*) trước và sau chế biến. *Tạp chí Dược học*, 408, 20 - 24.

4. Lee, H., Jung, K. H., Park, S., Kil, Y. S., Chung, E. Y., Jang, Y. P., Seo, E. K. & Bae, H. (2014). Inhibitory effects of *Stemona tuberosa* on lung inflammation in a subacute cigarette smoke-induced mouse model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 513 - 524.

5. Lin, L., Ke, C., Wang, Y., & Ye, Y. (2014). Two New Alkaloids from Roots of *Stemona tuberosa*. *Rec. Nat. Prod.*, 8 (4), 317 - 322.

6. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473 - 497.
7. Biswas, A., Bari, M. A., Roy, M. and Bhadra, S. K. (2011). *In vitro* propagation of *Stemona tuberosa* Lour. - A rare medicinal plant through high frequency shoot multiplication using nodal explants. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 21 (2), 151 - 159.
8. Murthy, K. S. R., Reddy, M. C., Kondamudi, R. & Pullaiah, T. (2013) Micropropagation of *Stemona tuberosa* Lour. - An endangered and rare medicinal plant in Eastern Ghats of India. *Indian Journal of Biotechnology*, 12, 420 - 424.
9. Sharma, N., Chandel, K. P. S. and Paul, A. (1993). *In vitro* propagation of *Gentiana kurroo* - an indigenous threatened plant of medicinal importance. *Plant cell, tissue and organ culture*, 34, 307 - 309.
10. Chotikadachanarong, K., Jatisatienr, A. and Dheeranupattana, S. (2003). February. Micropropagation and Alkaloid Production in *Stemona* sp. In *III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 2: Conservation, Cultivation and Sustainable Use of Medicinal*, 676, 67-72.
11. Lê Hùng Tiến, Hoàng Thị Sáu, Phạm Thị Lý, Nguyễn Trọng Chung, Phạm Văn Năm, Vương Đình Tuấn, Phạm Đức Tân, Lê Thị Lan Oanh (2022). Đánh giá khả năng thích nghi, sinh trưởng, phát triển của cây giống Bách bộ *in vitro* giai đoạn vườn ươm. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Hồng Đức*, 59, 138 - 148.

**IN VITRO PROPAGATION AND EVALUATION OF THE GROWTH OF BACH BO SEEDLINGS
(*Stemona tuberosa* Lour.) IN THE NURSERY**

Nguyen Thi My Duyen¹, Trinh Thi Thu Hong¹, Trinh Hoai Vu¹

¹An Giang University, Ho Chi Minh city National University

Summary

Bach bo (*Stemona tuberosa* Lour.) is a precious medicinal plant that needs to be preserved and developed in An Giang province. The study was conducted to develop and use tissue-cultured seedlings under growing conditions. The results show that the MS medium + 3 mg/l BA was suitable for *S. tuberosa* shoots regeneration, in which an average of 4.83 shoots after 8 weeks of culture were recorded. The most appropriate medium for rooting Bach bo was MS/2 + 1 mg/l NAA. In this condition, an average number of 7.67 roots was achieved. For the media used for tamiing *S. tuberosa* plantlets, the research results showed that sand was the suitable medium with a high survival rate (66.67%), the plants were well - developed in term of height, leaves and shoots. The initial trial of growing *S. tuberosa* seedlings in the nursery showed that the substrate of sand + rice husk ash + cow dung (1: 1: 1) is very suitable for the growth of *S. tuberosa*.

Keywords: *Stemona tuberosa* Lour., micropropagation, *in vitro*, substrates.

Người phản biện: TS. Trần Ngọc Thanh

Ngày nhận bài: 27/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 25/5/2023

Ngày duyệt đăng: 14/9/2023