

Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sơn đậu căn (*Sophora tonkinensis* Gagnep) thông qua nuôi cấy đốt thân

Nguyễn Thị Lại^{1*}, Nguyễn Thị Bình¹, Phạm Anh Đức¹, Phạm Hương Sơn¹, Lương Thúy Hằng¹,
Nguyễn Minh Nam¹, Nguyễn Thị Ngọc Bích¹, Đinh Thu Linh²

¹Viện Ứng dụng Công nghệ

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 11/10/2021; ngày chuyển phân biện 15/10/2021; ngày nhận phân biện 11/11/2021; ngày chấp nhận đăng 16/11/2021

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, các tác giả trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sơn đậu căn thông qua nuôi cấy đốt thân. Kết quả cho thấy, trên môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, 0,75 mg/l TDZ thích hợp nhất cho tái sinh chồi Sơn đậu căn *in vitro* từ mẫu ban đầu. Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, 0,75 mg/l TDZ, 0,5 mg/l IBA, 2,0 g/l peptone, 30 g/l dịch nghiền cà rốt, pH 5,5 là thích hợp nhất cho nhân nhanh chồi *in vitro* (20,60 chồi/mẫu, chiều cao 3,75 cm/chồi và 4,6 lá/chồi sau 8 tuần nuôi cấy). Tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất, chất lượng bộ rễ tốt nhất trên môi trường MS + 30 g/l sucrose + 5,5 g/l agar + 200 ml/l nước dừa + 1 g/l than hoạt tính + 1,0 mg/l α NAA. Hỗn hợp đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30) được xác định là giá thể phù hợp nhất cho sinh trưởng của cây con trong vườn ươm, sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ sống đạt 92%, chiều cao cây đạt 10,3 cm, cho 7,2 lá/cây và 4,3 rễ mới/cây.

Từ khóa: cây thuốc, đốt thân, giá thể, nhân giống, Sơn đậu căn.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Sơn đậu căn thuộc họ Đậu (Fabaceae), là loài cây dược liệu quý và có giá trị kinh tế cao, mọc rải rác trên các sườn núi đá vôi thuộc vùng nhiệt đới nóng ẩm phía Nam Trung Quốc và Bắc Việt Nam.

Trong cây Sơn đậu căn có chứa hơn 150 thành phần hóa học, bao gồm alkaloid, flavonoid, polysaccharid, triterpenoid, phenol, matrine, oxymatrine... [1]. Sơn đậu căn có tác dụng điều trị bệnh chàm, viêm cổ tử cung, nhiễm trùng họng cấp tính, đau họng, kiết lỵ cấp tính và xuất huyết đường tiêu hóa [2], điều trị viêm gan B, vàng da, rối loạn nhịp tim, chống khối u, bảo vệ gan, chống viêm, tăng cường miễn dịch, chống loạn nhịp tim, bổ máu, tác dụng hạ huyết áp... [3], chống ung thư biểu mô vòm họng, gan, dạ dày, phổi và bệnh bạch cầu [4].

Do nhu cầu sử dụng dược liệu tăng mạnh trong thời gian gần đây nên loài Sơn đậu căn đã bị khai thác mạnh. Mặt khác, tỷ lệ nảy mầm từ hạt trong tự nhiên thấp và vùng phân bố của Sơn đậu căn bị tàn phá nghiêm trọng nên loài cây này đang trong tình trạng gần như tuyệt chủng và được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam (phần II - Thực vật, 2007) [5]. Vì vậy, việc nghiên cứu nhân nhanh giống dược liệu quý Sơn đậu căn sẽ giúp tạo được nguồn cây giống với số lượng lớn trong một thời gian ngắn và sạch bệnh, đồng đều, ổn định về mặt di truyền, giá cả phù hợp là vấn đề rất cần thiết. Cho đến nay, các nghiên cứu về nhân giống Sơn đậu căn chủ yếu

từ gieo hạt và giâm hom, nuôi cấy từ đỉnh sinh trưởng, đốt thân vẫn còn rất hạn chế. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sơn đậu căn thông qua phương pháp nuôi cấy đốt thân nhằm góp phần bảo tồn và phát triển loài dược liệu quý của Việt Nam.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cành Sơn đậu căn khỏe mạnh, sạch bệnh được thu thập từ huyện Trùng Khánh, tỉnh Cao Bằng ở độ cao khoảng 1.000 m trở lên so với mặt nước biển.

Các thí nghiệm được thực hiện tại Trung tâm Ươm tạo Công nghệ và Doanh nghiệp KH&CN, Viện Ứng dụng Công nghệ từ tháng 2/2020 đến tháng 8/2021.

Phương pháp

Khử trùng: đoạn thân bánh tẻ chứa mắt ngủ có kích thước khoảng 2 cm, sau khi cắt từ cây mẹ được rửa sạch bằng nước xà phòng, sau đó khử trùng bằng dung dịch NaOCl 3% trong 15 phút và rửa lại nhiều lần bằng nước cất vô trùng. Mẫu được cấy trên môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, pH 5,5. Các chồi hình thành từ đốt thân được dùng làm nguồn vật liệu cho các thí nghiệm tiếp theo.

Tái sinh chồi từ đốt thân: mẫu vô trùng được chuyển

*Tác giả liên hệ: Email: orchidnlai@gmail.com

Study on *in vitro* propagation of *Sophora tonkinensis* Gagnep through stem node culture

Thi Lai Nguyen^{1*}, Thi Binh Nguyen¹, Anh Duc Pham¹,
Huong Son Pham¹, Thuy Hang Luong¹,
Minh Nam Nguyen¹, Thi Ngoc Bich Nguyen¹, Thu Linh Dinh²

¹National Center for Technological Progress

²Faculty of Biology, University of Science, VNU, Hanoi

Received 11 October 2021; accepted 16 November 2021

Abstract:

In the present study, authors propagated *Sophora tonkinensis* Gagnep plants using stem nodal culture. The results indicated that on MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 5.5 g/l agar, 200 ml/l coconut water, 1 g/l activated charcoal, 0.75 mg/l TDZ shoots proliferated from stem segments have the best count and height of shoots. The most appropriate medium for multiplication of shoots was the MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 5.5 g/l agar, 200 ml/l coconut water, 1 g/l activated charcoal, 0.75 mg/l TDZ, 0.5 mg/l IBA, 2.0 g/l peptone, 30 g/l carrot puree, pH 5.5 with the results of 20.60 shoots/explant, shoot height of 3.75 cm and 4.6 leaves/shoot after 8 weeks of culture. Root formation of shoots carried out on the MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 5.5 g/l agar, 200 ml/l coconut water, 1 g/l activated charcoal, 1.0 mg/l α NAA gave the best result. In the nursery, a mixture of humus + coconut fiber powder (70:30 ratio) was regarded as the best substrate due to the high survival rate of plantlets (92%) and healthy plantlets (10.30 cm high with 7.2 leaves and 4.3 new roots/a plantlet) at 10 weeks after planting.

Keywords: medicinal plant, propagation, *Sophora tonkinensis* Gagnep, stem node, substrate.

Classification number: 4.6

sang nuôi cấy trên môi trường MS có 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, bổ sung BA (0,5-3,0 mg/l) và TDZ với các nồng độ khác nhau (0,25-1,5 mg/l) để thăm dò khả năng tái sinh chồi.

Nhân nhanh chồi: các chồi hình thành từ đốt thân được cấy trên môi trường cơ bản MS có 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, bổ sung 0,75 mg/l TDZ + IBA (0-1,0 mg/l) + 2 g/l petone; 0,75 mg/l TDZ + 0,5 mg/l IBA + 2 g/l petone + dịch nghiền cà rốt (0-40 g/l) để thăm dò khả năng nhân chồi.

Tạo rễ từ chồi *in vitro*: các chồi Sơn đậu căn *in vitro* có 2-3 lá, chiều cao 2-3 cm, chồi khỏe chưa có rễ được tách ra và cấy sang môi trường ra rễ có bổ sung α NAA ở các nồng độ 0, 0,5, 1,0, 1,5 và 2 mg/l, 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, pH 5,5 để khảo sát khả năng hình thành rễ.

Chuyển cây con *in vitro* trồng ngoài điều kiện tự nhiên: các cây con tái sinh hoàn chỉnh đạt chiều cao 5-7 cm, có 2-3 lá và 3-5 rễ, để bình cây ra ngoài vườn ươm 3 ngày. Cây con được rửa hết thạch, rải đều trên khay sạch để trong 1 giờ, rồi trồng vào chậu nhựa mềm kích thước 6x10 cm trên các giá thể: đất sạch Tribat, mùn cưa, đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30), đất mùn + mùn cưa (tỷ lệ 50:50), sau trồng 2 tuần phun phân bón MK 30:10:5 liều lượng 0,5 g/l/lần/tuần để khảo sát khả năng sinh trưởng của cây *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm.

Theo dõi, đánh giá các chỉ tiêu: mỗi công thức thí nghiệm cây 30 mẫu, sau 8 tuần nuôi cấy tiến hành thu thập số liệu, chỉ tiêu theo dõi là số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm), chiều cao cây (cm), số lá (lá), số rễ (rễ), chiều dài rễ (cm). Ở giai đoạn vườn ươm, tỷ lệ sống (%), chiều cao cây (cm), số lá (lá) và số rễ mới (rễ) được đánh giá sau 10 tuần nuôi trồng.

Điều kiện nuôi cấy: thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2.500 lux, nhiệt độ 25±2°C và độ ẩm không khí 70-80%. Trồng cây trong nhà lưới có mái che mưa và che lưới đen, độ che sáng >70%, tưới phun sương đều 2 lần/ngày.

Xử lý số liệu: sử dụng các phương pháp thống kê sinh học để phân tích các số liệu thí nghiệm bằng phần mềm Excel 2010 và IRRISTAT5.0.

Kết quả và bàn luận

Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi từ đốt thân

Khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi từ các đốt thân cây Sơn đậu căn sau 8 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi.

Nồng độ BA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)
0 (Đ/C)	0,50 ^f	1,25 ^e
0,5	1,10 ^e	1,75 ^c
1,0	1,70 ^d	1,90 ^{bc}
1,5	1,90 ^{bc}	2,01 ^b
2,0	2,80^a	2,37^a
2,5	2,02 ^b	1,45 ^d
3,0	1,82 ^{cd}	1,20 ^e
<i>LSD</i> _{0,05}	0,14	0,11
<i>CV</i> (%)	4,5	3,8

Đ/C: đối chứng; trong cùng một cột, các công thức có chỉ số mũ khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%.

Kết quả bảng 1 cho thấy, khi bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy đã có tác dụng tích cực lên sự tái sinh và sinh trưởng chồi, tuy nhiên nồng độ BA khác nhau thì có sự ảnh hưởng khác nhau. Ở nồng độ 2,0 mg/l BA cho thấy, chồi cây sinh trưởng tốt nhất, số chồi tái sinh là 2,8 chồi/mẫu, chiều cao cây đạt 2,37 cm. Khi tăng nồng độ BA lên 2,5 mg/l, số chồi/mẫu, chiều cao chồi giảm rõ rệt và có biểu hiện biến dị ở nồng độ 3,0 mg/l BA. Điều này có thể giải thích BA cao có tác dụng ức chế sự hình thành chồi.

Ảnh hưởng của TDZ đến khả năng tái sinh chồi

Bảng 2. Ảnh hưởng của TDZ đến khả năng tái sinh chồi.

Nồng độ TDZ (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
0 (Đ/C)	0,60 ^c	1,25 ^d	Chồi bé, có màu xanh
0,25	1,60 ^b	1,67 ^b	Chồi bình thường, có màu xanh
0,5	2,00 ^b	1,92 ^a	Chồi bình thường, có màu xanh
0,75	3,10^a	2,01^a	Chồi khỏe, có màu xanh đậm
1,0	2,30 ^{ab}	1,98 ^a	Chồi yếu, có màu nâu đen
1,25	2,10 ^b	1,42 ^c	Chồi yếu, có màu nâu đen
1,5	1,50 ^b	1,15 ^d	Chồi yếu, có màu nâu đen và chết
<i>LSD</i> _{0,05}	0,88	0,10	
<i>CV</i> (%)	2,6	3,1	

Kết quả bảng 2 cho thấy, TDZ ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng phát sinh hình thái và tái sinh chồi Sơn đậu căn. Ở nồng độ 0,75 mg/l TDZ, số lượng chồi trên mẫu đạt được tương đối cao (3,10 chồi/mẫu), chiều cao chồi đạt 2,01 cm, chồi khỏe, có màu xanh đậm. Khi tăng nồng độ TDZ lên 1,0 mg/l, số chồi/mẫu giảm xuống đáng kể, đồng thời mẫu có hiện tượng chuyển sang màu nâu đen. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Dương Tấn Nhựt (2011) [6] khi cho rằng, TDZ là chất có hoạt tính cytokinin và cũng có hoạt tính auxin nên khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ cao thường ức chế sự tái sinh, dẫn đến hiện tượng mẫu chuyển sang màu nâu đen hoặc chết.

Ảnh hưởng của TDZ và IBA tới khả năng nhân nhanh chồi

Kết quả khảo sát các nồng độ IBA kết hợp với TDZ về khả năng tái sinh và sinh trưởng chồi từ đốt thân cây Sơn đậu căn sau 8 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, khi kết hợp giữa IBA và TDZ có sự thúc đẩy tái sinh chồi, số lượng và chiều cao chồi lớn hơn khi sử dụng TDZ riêng lẻ.

Bảng 3. Kết quả ảnh hưởng của tổ hợp TDZ + IBA đến khả năng nhân nhanh chồi (sau 8 tuần nuôi cấy).

Công thức thí nghiệm	Chất kích thích sinh trưởng (mg/l)		Số chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
	TDZ	IBA				
CT1 (Đ/C)	0,75	0,0	3,4 ^d	2,02 ^d	3,5 ^b	Chồi nhỏ, lá bé
CT2	0,75	0,25	8,3 ^b	2,63 ^b	3,6 ^{ab}	Chồi bình thường, lá bé
CT3	0,75	0,50	12,5^a	3,10^a	3,9^a	Chồi to, khỏe, lá màu xanh
CT4	0,75	0,75	7,2 ^c	2,40 ^e	3,1 ^c	Chồi bình thường, lá bé
CT5	0,75	1,00	3,0 ^e	1,95 ^d	2,4 ^d	Chồi nhỏ, lá cong, vàng nhạt
<i>LSD</i> _{0,05}			0,65	0,21	0,35	
<i>CV</i> (%)			4,9	4,7	4,8	

Kết quả bảng 3 cho thấy, khi bổ sung IBA với nồng độ 0,25-1,0 mg/l, kết hợp với 0,75 mg/l TDZ vào môi trường nuôi cấy đã cải thiện số chồi Sơn đậu căn từ 3,0 đến 12,5 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Số chồi tăng dần khi tăng nồng độ IBA từ 0,25 đến 0,5 mg/l. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ IBA lên 0,75 mg/l đã ức chế khả năng nhân chồi. Điều này cho thấy, khi nồng độ IBA thấp sẽ kích thích sự sinh trưởng của chồi cây, còn ở nồng độ cao sẽ ức chế sự sinh trưởng chồi, làm chồi sinh trưởng chậm, chồi nhỏ, lá cong và vàng nhạt. Số chồi đạt cao nhất là 12,5, chiều cao chồi 3,1 cm và số lá đạt 3,9 khi bổ sung 0,5 mg/l IBA vào môi trường nuôi cấy.

Ảnh hưởng của dịch nghiền cà rốt đến khả năng nhân nhanh chồi

Bảng 4. Kết quả ảnh hưởng của dịch nghiền cà rốt đến khả năng nhân nhanh chồi (sau 8 tuần nuôi cấy).

Hàm lượng dịch nghiền cà rốt (g/l)	Số chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
0	12,5 ^c	3,12 ^c	3,8 ^c	Chồi to, khỏe, lá xanh
10	13,8 ^{bc}	3,20 ^b	4,0 ^{bc}	Chồi to, khỏe, lá xanh
20	16,0 ^b	3,36 ^b	4,2 ^b	Chồi to, khỏe, lá to màu xanh
30	20,60^a	3,75^a	4,6^a	Chồi to khỏe, lá to màu xanh đậm
40	15,3 ^{bc}	3,31 ^b	3,7 ^c	Chồi bình thường, lá màu xanh nhạt
<i>LSD</i> _{0,05}	3,38	0,26	0,30	
<i>CV</i> (%)	5,0	4,3	4,0	

Kết quả bảng 4 cho thấy, dịch nghiền cà rốt có tác dụng tốt đối với quá trình hình thành và sinh trưởng của chồi Sơn đậu căn. Các hàm lượng dịch nghiền cà rốt khác nhau, sự hình thành và sinh trưởng chồi cây cũng khác nhau, dịch nghiền cà rốt ở nồng độ 30 g/l bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho kết quả tốt nhất (20,6 chồi/mẫu, chiều cao chồi đạt

3,75 cm, 4,6 lá/chồi). Điều này có thể giải thích do trong cả rễ có chứa các nhóm chất cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của cây như: protein 0,9%, chất béo 0,2%, carbohydrate 10,6%, Ca 80 mg/100 g, Fe 2,2 mg/100 g, P 53 mg/100 g, cytokinin, vitamin, axit amin và sterol [7]. Tuy nhiên, khi bổ sung hàm lượng dịch nghiền cà rốt tăng lên 40 g/l thì sự hình thành và sinh trưởng của chồi có xu hướng giảm dần, chồi sinh trưởng chậm và lá màu xanh nhạt. Như vậy, hàm lượng 30 g/l là thích hợp nhất cho giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* Sơn đậu căn.

Ảnh hưởng của αNAA đến khả năng tạo rễ cây con *in vitro*

Rễ đóng vai trò hấp thu nước và chất dinh dưỡng từ môi trường nuôi cấy đưa lên lá để thực hiện hoạt động quang hợp và tổng hợp các chất hữu cơ. Do đó, số lượng và chất lượng rễ ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất cây trồng. Auxin thường được sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật nhằm kích thích sự phân chia tế bào và hình thành rễ. Khả năng tái sinh rễ *in vitro* của các chồi Sơn đậu căn sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung các nồng độ α NAA được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của αNAA đến khả năng tạo rễ cây con *in vitro* (sau 8 tuần nuôi cấy).

Nồng độ αNAA (mg/l)	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
0 (Đ/C)	3,60 ^d	4,5 ^d	0,00 ^d	0,00 ^e	Không xuất hiện rễ
0,5	6,23 ^b	5,4 ^{bc}	3,80 ^b	2,70 ^e	Rễ khỏe và nhiều lông hút
1,0	6,86^a	6,5^a	5,80^a	3,65^a	Rễ khỏe, to và trắng, nhiều rễ phụ
1,5	6,16 ^{bc}	5,8 ^b	3,60 ^b	3,02 ^b	Đầu rễ trắng và đều
2,0	5,10 ^c	5,0 ^{cd}	2,40 ^c	2,33 ^d	Rễ mảnh, đầu rễ có màu nâu
LSD _{0,05}	0,43	0,56	0,26	0,22	
CV%	4,2	5,0	4,5	4,9	

Kết quả bảng 5 cho thấy, các chồi Sơn đậu căn hoàn toàn không tạo rễ trên môi trường MS không bổ sung αNAA. Tại nồng độ 1,0 mg/l αNAA bổ sung vào môi trường nuôi cấy sau 8 tuần theo dõi cây đạt các chỉ tiêu sinh trưởng tốt nhất, chiều cao cây đạt 6,86 cm, số lá đạt 6,5, số rễ 5,80 và chiều dài rễ đạt 3,65 cm, chất lượng rễ rất tốt, màu trắng, khỏe, to và nhiều rễ phụ thuận lợi cho cây sinh trưởng và phát triển ở giai đoạn vườn ươm. Khi tiếp tục tăng nồng độ αNAA từ 1,5 đến 2 mg/l có sự ức chế kéo dài và giảm số lượng rễ tạo thành, rễ mảnh, đầu rễ có màu nâu. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Zhao và cs (2004) [8] khi sử dụng αNAA ở nồng độ 5,37 μM cho quá trình ra rễ *in vitro* loài *Sophora flavescens*.

Ảnh hưởng của các loại giá thể đến tỷ lệ sống của cây con *in vitro*

Sau khi cảm ứng tạo rễ để tạo cây hoàn chỉnh, cây con *in vitro* được chuyển ra vườn ươm và theo dõi sau 10 tuần.

Bảng 6. Ảnh hưởng của các loại giá thể đến tỷ lệ sống của cây con *in vitro* (sau 10 tuần nuôi trồng).

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số rễ mới xuất hiện (rễ)	Chất lượng cây
CT1	70,0 ^c	7,62 ^c	6,40 ^b	2,5 ^c	Cây còi, lá màu xanh nhạt
CT2	78,0 ^b	8,21 ^b	6,60 ^{ab}	3,3 ^{bc}	Cây bình thường, lá màu xanh
CT3	92,0^a	10,30^a	7,20^a	4,3^a	Cây cứng khỏe, mập, lá to màu xanh đậm
CT4	89,0 ^a	9,43 ^a	6,80 ^{ab}	3,9 ^{ab}	Cây khỏe, lá màu xanh
LSD _{0,05}	6,09	1,15	0,71	0,84	
CV (%)	6,7	6,5	5,3	5,2	

Ghi chú: CT1: đất sạch Tribat; CT2: mùn cưa; CT3: đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30); CT4: mùn cưa + đất mùn (tỷ lệ 50:50).

Kết quả bảng 6 cho thấy, khả năng thích nghi của cây Sơn đậu căn nuôi cấy mô khi đưa ra vườn ươm tương đối cao, tỷ lệ sống đạt 70-92% tùy thuộc vào loại giá thể. Trong đó, giá thể đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30), phun phân bón MK 30:10:5 hàm lượng 0,5 g/l/lần/tuần cho tỷ lệ cây sống cao nhất (92%), chiều cao cây đạt 10,30 cm, với 7,20 lá/cây và số rễ mới xuất hiện là 4,3. Về hình thái, cây cứng khỏe, bộ lá phát triển tốt, lá to màu xanh đậm, rễ mập khỏe và hình thành nhiều rễ mới. Giá thể bột xơ dừa nhẹ, thoát nước tốt đã giúp hệ rễ phát triển mạnh, kết hợp với đất mùn được hình thành do quá trình tích lũy và phân giải không hoàn toàn trong điều kiện yếm khí xác thực vật, giàu chất khoáng và tươi xốp phù hợp cho cây Sơn đậu căn sinh trưởng. Tiếp đến là giá thể đất mùn cưa + đất mùn cũng cho tỷ lệ sống đạt khá cao (89,0%). Còn giá thể mùn cưa thoát nước nhanh, nên cây dễ héo, riêng giá thể đất sạch Tribat do giữ nước cao, gây độ chặt cho giá thể, nên khi tưới nước lâu ngày dễ bị nén chặt xuống gây bí rễ.

Như vậy, giá thể đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30) và kết hợp phun phân bón MK 30:10:5 hàm lượng 0,5 g/l/lần/tuần thích hợp chuyển cây con Sơn đậu căn ra giai đoạn vườn ươm.

Kết luận

Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, 0,75 mg/l TDZ là phù hợp nhất cho tái sinh chồi Sơn đậu căn *in vitro* từ mẫu ban đầu sau 8 tuần theo dõi.

Trên môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, 0,75 mg/l TDZ, 0,5 mg/l IBA, 2,0 g/l peptone, 30 g/l dịch nghiền cà rốt, pH 5,5 là thích hợp nhất cho nhân nhanh *in vitro* cây Sơn đậu căn, cho 20,60 chồi/mẫu, chiều cao chồi đạt 3,75 cm, với 4,6 lá/chồi sau 8 tuần theo dõi.

Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 5,5 g/l agar, 200 ml/l nước dừa, 1 g/l than hoạt tính, 1,0 mg/l αNAA, pH 5,5

thích hợp nhất cho sự hình thành rễ *in vitro* của cây Sơn đậu căn, chiều cao cây đạt 6,86 cm, số lá đạt 6,5, số rễ đạt 5,80 và chiều dài rễ đạt 3,65 cm sau 8 tuần theo dõi.

Hỗn hợp đất mùn + bột xơ dừa (tỷ lệ 70:30) được xác định là giá thể phù hợp nhất cho sinh trưởng của cây con trong vườn ươm với tỷ lệ sống đạt 92%, chiều cao cây đạt 10,3 cm, 7,2 lá/cây và 4,3 rễ mới/cây sau 10 tuần nuôi trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Z.P. Chen, et al. (2018), “Research progress on extraction and biological activity of effective components of *Sophora tonkinensis* Gagnep”, *Applied Chemical Industry*, **47**, pp.1237-1240.
- [2] L.N. Zheng, et al. (2011), “Research progress on chemical compositions of *Sophora tonkinensis* radix et rhizoma related to its efficacy and toxicity”, *Food Drug*, **13**, pp.205-209.
- [3] Y. Zhang, Z.X. Dong, L.Y. Jin (2013), “Arsenic trioxide-induced hERG K⁺ channel deficiency can be rescued by matrine and oxymatrine through up-regulating transcription factor Sp1 expression”, *Biochem. Pharmacol.*, **85**, pp.59-68.
- [4] Shuo Wang, et al. (2021), “Chloroform extract from *Sophora Tonkinensis* Gagnep. inhibit proliferation, migration, invasion and promote apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by silencing the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway”, *Journal of Ethnopharmacology*, **271**, pp.1-13.
- [5] Bộ Khoa học và Công nghệ - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007), *Sách Đỏ Việt Nam, Phần II*, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, tr.257.
- [6] Dương Tấn Nhựt (2011), *Công nghệ Sinh học thực vật: Nghiên cứu cơ bản và ứng dụng*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- [7] Meutia Zahara, et al. (2017), “The effects of different media, sucrose concentrations and natural additives on plantlet growth of Phalaenopsis hybrid pink”, *Food/Feed Science and Technology*, **60**, pp.1-15.
- [8] D.L. Zhao, et al. (2004), “*In vitro* micropropagation of a medicinal plant species *sophora flavescens*”, *Biologia Plantarum*, **47(1)**, pp.117-120.