

HOÀN THIỆN QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG CÂY KHÔI TÍA (*Ardisia sylvestris* Pitard) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Đoàn Thị Thu Hương¹, Nguyễn Văn Việt², Nguyễn Thị Huyền³, Trần Việt Hà⁴
^{1,2,3,4}Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) là loài cây dược liệu có giá trị dược lý cao hiện đang bị khai thác quá mức dẫn đến nguồn gen bị cạn kiệt. Hoàn thiện quy trình nhân giống cây Khôi tía bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sát khuẩn bề mặt chồi non bằng ethanol 70% trong 1 phút, khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 8 phút và nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS (Murashige and Skoog, 1962) bổ sung 0,2 mg/l BAP, cho tỷ lệ mẫu sạch là 80,92%, cảm ứng tạo đa chồi trên môi trường MS bổ sung 1 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin, 0,1 mg/l NAA, 30 g/l sucrose và 7 g/l agar cho tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi 99,31% với chiều cao chồi trung bình 3,7 cm và hệ số nhân đạt 9,13 lần/chu kỳ nhân giống sau 4 tuần nuôi cấy. Tỷ lệ chồi ra rễ 97,63%, số rễ trung bình đạt 4,45 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 3,25 cm khi nuôi trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose và 7 g/l agar sau 4 tuần nuôi cấy. Quy trình nhân giống thành công có ý nghĩa lớn trong bảo tồn và phát triển loài cây dược liệu quý, đồng thời có thể áp dụng vào thực tiễn phục vụ sản xuất cây giống Khôi tía chất lượng cao, đáp ứng nhu cầu nguồn cây giống hiện nay.

Từ khóa: *Ardisia sylvestris*, cảm ứng tạo đa chồi, cây Khôi tía, nuôi cấy *in vitro*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) là một loài thực vật thuộc họ Đơn nem (Myrsinaceae), phân bố ở Việt Nam và Trung Quốc (Đảo Hải Nam). Ở Việt Nam, Khôi tía phân bố rải rác ở các tỉnh Lào Cai, Lạng Sơn, Quảng Ninh, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Hòa Bình, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Quảng Nam, Đà Nẵng. Theo tài liệu y học cổ truyền, trong lá Khôi tía có thành phần chủ yếu là tannin, các glycosid có tác dụng trung hòa, làm giảm sự gia tăng acid của dạ dày, chống viêm giảm đau, đặc biệt có tác dụng làm se vết loét, kích thích lên da non và làm lành vết thương trong đường tiêu hóa. Do vậy, Khôi tía được dùng để điều trị bệnh viêm loét dạ dày tá tràng, làm giảm ợ hơi, ợ chua, nóng rát vùng thượng vị (Quỹ Châu Á, 2012).

Nguồn tài nguyên cây dược liệu Việt Nam vô cùng đa dạng và phong phú, vai trò của cây dược liệu trong việc chăm sóc sức khỏe cộng đồng và đem lại lợi ích kinh tế to lớn cho người dân là điều không thể phủ nhận. Song thực trạng hiện nay, trước nạn phá rừng tràn lan, biến đổi khí hậu cùng với sự khai thác bừa bãi mà chưa có kế hoạch tái sinh và phát triển, nhiều loài cây dược liệu đang bị giảm sút về số

lượng và chất lượng một cách đáng báo động, đặc biệt là các loài dược liệu có giá trị sử dụng phổ biến như Khôi tía. Mặt khác, Khôi tía tuy phân bố nhiều nơi nhưng số lượng không nhiều do tái sinh hạt kém nên nguồn cây giống có thể khai thác rất hạn chế (Sách đỏ Việt Nam, 2007).

Để có thể cung cấp nguồn dược liệu Khôi tía chất lượng tốt, bền vững đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe con người đồng thời đảm bảo được hàm lượng và hoạt tính dược liệu trong sản phẩm sau thu hoạch, cần phải có biện pháp hữu hiệu trong bảo tồn và phát triển loài dược liệu quý này. Nguyễn Văn Việt và cộng sự (2016) đã nghiên cứu nhân giống thành công cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*, tuy nhiên kết quả đạt được vẫn còn khiêm tốn.

Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris*) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* cho hệ số nhân chồi và tỉ lệ chồi ra rễ cao, cây con hoàn chỉnh đạt chất lượng tốt và có thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất cây giống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nuôi cấy là chồi bánh tẻ có nguồn gốc từ các cây đầu dòng đã được tuyển chọn tại vườn cây dược liệu ở Ba Vì - Hà Nội. Được trẻ hóa tại vườn dược liệu của Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp - Trường Đại học Lâm nghiệp.

Các loại môi trường nuôi cấy được ghi ở bảng 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo mẫu sạch in vitro: Chồi Khôi tía được rửa sạch bề mặt bằng xà phòng loãng, sau đó tráng sạch xà phòng dưới vòi nước chảy. Tiếp tục sát khuẩn bề mặt mẫu bằng cồn 70% trong 1 phút và khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% với các thời gian khác nhau (từ 5 đến 10 phút). Sau đó, dùng nước cất khử trùng tráng mẫu để loại bỏ hoàn toàn hóa chất khử trùng trước khi cấy vào môi trường nuôi cấy khởi động.

Nuôi cấy khởi động: Sau khi khử trùng mẫu, cắt mẫu thành từng đoạn có chứa mắt ngủ dài khoảng 4 - 5 cm và cấy vào môi

trường nuôi cấy khởi động (MTKĐ). Sau khoảng 4 tuần nuôi cấy chồi bắt đầu tái sinh. Các chồi đạt 2 - 3 cm được sử dụng làm vật liệu cho nghiên cứu nhân nhanh tiếp theo.

Nhân nhanh chồi: Các chồi Khôi tía *in vitro* thu từ thí nghiệm trước được cắt thành các đoạn có kích thước 1,5 - 2 cm có chứa mắt ngủ, loại bỏ bớt lá và cấy lên môi trường nhân nhanh chồi (N₁ - N₆) có hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng (BAP, Kinetin, NAA) khác nhau. Sau 4 tuần nuôi cấy, mẫu tạo cụm chồi, thống kê số chồi trên cụm chồi, chồi hữu hiệu (chiều cao ≥ 2,5 cm) và tính hệ số nhân chồi.

Tạo cây hoàn chỉnh: Các chồi hữu hiệu cao từ 2 - 4 cm, chứa 3 - 5 lá, mập mạp được cấy lên môi trường kích thích ra rễ tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh (R₁ - R₆). Các bình chồi được nuôi dưới ánh sáng gián đoạn; sau 4 tuần nuôi cấy, chồi ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh, thống kê số rễ trên chồi và đo chiều dài rễ.

Bảng 1. Thành phần các loại môi trường nuôi cấy Khôi tía *in vitro*

Giai đoạn nuôi cấy	Ký hiệu môi trường	Thành phần môi trường nuôi cấy
Nuôi cấy khởi động	MTKĐ	MS bổ sung 0,2 mg/l BAP, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar
Nhân nhanh chồi	N ₁ - N ₆	MS bổ sung (0,5 - 1,5 mg/l) BAP, (0,1 - 0,5 mg/l) Kinetin, (0,1 - 0,2 mg/l) NAA, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar
Kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh	R ₁ - R ₆	MS bổ sung (0,1 - 0,5 mg/l) NAA, (0,1 - 0,3 mg/l) IBA, 20 g/l sucrose, 7 g/l agar
Ra ngôi	CT ₁ - CT ₅	CT ₁ : 100% đất tầng B; CT ₂ : 75% đất tầng B, 25% cát vàng; CT ₃ : 50% đất tầng B, 50% cát vàng; CT ₄ : 25% đất tầng B, 75% cát vàng; CT ₅ : 100% cát vàng

Huấn luyện và ra ngôi: Các cây Khôi tía *in vitro* hoàn chỉnh được huấn luyện 5 ngày dưới ánh sáng tán xạ. Sau huấn luyện, cây con được rửa sạch agar và cấy vào bầu đã có giá thể phối trộn với các công thức khác nhau (CT₁ - CT₅). Các bầu cây được đặt trong vườn ươm có che lưới đen để tránh ánh sáng trực xạ, tưới nước dạng phun sương 2 lần/ngày. Sau 8 tuần trồng, thống kê tỷ lệ cây sống/chết, chiều cao cây và đánh giá chất lượng cây.

Các thí nghiệm nuôi cấy được bố trí trong các bình tam giác thủy tinh (3 mẫu/bình 200 ml), mỗi công thức thí nghiệm cấy 30 mẫu, lặp

lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phương pháp SPSS 20.

Điều kiện nuôi cấy: Cường độ chiếu sáng 3000 lux; thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày; nhiệt độ phòng nuôi: 25 ± 2⁰C.

Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS (Murashige và Skoog, 1962).

Tất cả các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh về pH 5,8; khử trùng ở 118⁰C, trong 20 phút.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch và tái sinh chồi *in vitro*

Mẫu Khôi tía sau khi làm sạch được khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% với thời gian khác nhau từ 5 đến 10 phút. Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả thu được trình bày như ở bảng 2, cho thấy rằng tỷ lệ tạo mẫu sạch *in vitro* đạt trên 50%, bằng phương pháp khử trùng kép thì thời gian khử trùng càng dài thì tỷ lệ mẫu sạch càng cao (52,07 - 86,68%). Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu sạch càng cao thì tỷ lệ mẫu tái sinh càng giảm, điều này cũng tương đối phù hợp bởi HgCl₂ 0,1% là chất rất độc, nếu khử

trùng lâu hóa chất sẽ ngấm vào mô thực vật, làm hỏng hoặc gây độc cho mẫu do đó chồi không thể tái sinh (Nguyễn Quỳnh Trang và cộng sự, 2013).

Trong nhân giống *in vitro*, tỷ lệ tái sinh chồi cao mới có ý nghĩa nên có thể lựa chọn công thức khử trùng tạo mẫu sạch phù hợp là M₂, với thời gian khử trùng là 8 phút (lần 1: 4 phút; lần 2: 4 phút), cho tỷ lệ mẫu sạch là 80,92% và tái sinh chồi 61,83%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống và khả năng tái sinh chồi

CTTN	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)
	Lần 1	Lần 2		
M ₁	5	5	86,68 ^a	30,33 ^a
M ₂	4	4	80,92 ^b	61,83 ^b
M ₃	4	3	75,04 ^{cd}	51,33 ^{cdef}
M ₄	3	3	64,17 ^{dc}	60,10 ^{dcef}
M ₅	3	2	55,73 ^{ef}	53,34 ^{ecdf}
M ₆	5	0	52,07 ^{fe}	50,01 ^{fcde}

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a, b...) trong cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa $\alpha = 0,05$ trong phép phân tích SPSS.

3.2. Nhân nhanh chồi cây Khôi tía

Nhân nhanh chồi Khôi tía *in vitro* được thiết kế trên 6 công thức thí nghiệm với loại và hàm lượng chất ĐHST khác nhau. Kết quả thu được trình bày ở bảng 3, cho thấy rằng sau thời gian nuôi cấy trên các môi trường cảm ứng tạo cụm chồi có bổ sung chất ĐHST, các mẫu cấy đều tái sinh chồi nhưng với tỷ lệ khác nhau có ý nghĩa. Hệ số nhân nhanh chồi dao động từ 1,43 đến 9,13 lần/chu kỳ nhân (4 tuần nuôi cấy) và tỷ lệ tái sinh chồi dao động từ 37,07 – 99,31% (Hình 1a, b, c). Trong khi đó,

ở công thức đối chứng (ĐC) chỉ cho hệ số nhân chồi rất thấp (1,43 lần/chu kỳ nhân) và tỷ lệ mẫu tái sinh chồi chỉ đạt 37,07%. Trong các công thức thí nghiệm, nhận thấy môi trường dinh dưỡng MS bổ sung 1 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,1 mg/l NAA (Hình 1c) cho hệ số nhân chồi và tỷ lệ mẫu tái sinh đạt cao nhất (9,13 lần/chu kỳ nhân và 99,31% mẫu tái sinh). Kết quả trong nghiên cứu này cao hơn khá nhiều so với công trình đã công bố trước đây của tác giả Nguyễn Văn Việt và cộng sự (2016).

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)			Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Hệ số nhân chồi (lần/chu kỳ)	Chiều cao TB/chồi (cm)
	BAP	Kinetin	NAA			
ĐC	0,0	0,0	0	37,07 ^a	1,43 ^a	1,70 ^a
N ₁	0,5	0,1	0,1	77,74 ^{bc}	2,71 ^{bc}	2,23 ^{bc}
N ₂	0,5	0,2	0,2	84,60 ^{cb}	4,17 ^{cb}	2,33 ^{cb}
N ₃	1,0	0,3	0,1	99,31 ^d	9,13 ^d	3,70 ^d
N ₄	1,0	0,4	0,2	79,50 ^{efg}	5,59 ^{efg}	2,87 ^{efg}
N ₅	1,5	0,2	0,1	72,94 ^{fg}	3,22 ^{fg}	2,87 ^{fg}
N ₆	1,5	0,3	0,2	76,19 ^{ge}	1,90 ^{ge}	2,27 ^{ge}

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a, b...) trong cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa $\alpha = 0,05$ trong phép phân tích SPSS.

3.3. Kích thích chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi hữu hiệu có chiều cao $\geq 2,5$ cm được cắt và cấy trên môi trường ra rễ có bổ sung chất ĐHST: NAA và IBA với hàm lượng khác nhau. Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả thu được trình bày ở bảng 4 cho thấy: với môi trường MS không bổ sung chất ĐHST (ĐC) chồi Khôi tía không ra rễ, ngược lại trên các

công thức môi trường MS bổ sung (0,1 – 0,5 mg/l) NAA và (0,1 – 0,3 mg/l) IBA chồi Khôi tía nuôi cấy *in vitro* cho tỷ lệ ra rễ cao, dao động từ 73,50% đến 97,63% và chiều dài rễ trung bình/cây đạt 2,34 – 3,25 cm (Hình 1d, e). Tỷ lệ chồi ra rễ, chiều dài rễ và số rễ trung bình/cây đạt cao nhất là ở công thức môi trường R₃ bổ sung 0,5 mg/l NAA (Hình 1e).

Bảng 4. Ảnh hưởng của chất ĐHST NAA và IBA đến khả năng ra rễ

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây	Chiều dài rễ TB (cm)
	NAA	IBA			
ĐC	0,0	0,0	00,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
R1	0,0	0,3	83,17 ^{bf}	3,52 ^{bc}	2,73 ^{bf}
R2	0,1	0,2	85,52 ^{ce}	3,61 ^{cb}	2,90 ^{eg}
R3	0,5	0,0	97,63 ^d	4,45 ^d	3,25 ^d
R4	0,5	0,1	84,53 ^{ec}	3,25 ^{eg}	2,79 ^{ec}
R5	0,3	0,1	81,60 ^{fg}	3,30 ^{fe}	2,64 ^{fb}
R6	0,4	0,0	73,50 ^{gb}	3,12 ^{ge}	2,34 ^{gc}

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a, b...) trong cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa $\alpha = 0,05$ trong phép phân tích SPSS.

So sánh với nghiên cứu nhân giống Khôi tía của tác giả Nguyễn Văn Việt và cộng sự (2016), sử dụng MS bổ sung NAA 0,1 mg/l, IBA 0,3 mg/l cho kết quả 93,33% số chồi ra rễ với chiều dài rễ trung bình 3,15 cm và số rễ

trung bình đạt 4,14 rễ/cây, nghiên cứu của chúng tôi chỉ sử dụng NAA với nồng độ 0,5 mg/l cho tỉ lệ ra rễ cao hơn đạt 97,63%, số rễ trung bình 4,45 rễ/cây.

3.4. Huấn luyện và ra ngôi

Bảng 5. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến khả năng sống, sinh trưởng của cây Khôi tía

CTTN	Giá thể	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao TB/cây (cm)	Chiều dài rễ TB (cm)
CT ₁	100% đất tầng B	47,14 ^a	17,24 ^d	3,16 ^b
CT ₂	75% đất tầng B – 25% cát vàng	70,56 ^b	24,35 ^c	5,32 ^a
CT ₃	50% đất tầng B – 50% cát vàng	98,73 ^c	25,56 ^a	5,56 ^d
CT ₄	25% đất tầng B – 75% cát vàng	86,67 ^d	22,45 ^b	4,75 ^c
CT ₅	100% cát vàng	0,00 ^e	-	-

Ghi chú: những chữ cái khác nhau (a, b...) trong cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa với độ tin cậy $P < 0,05$ trong phép phân tích SPSS.

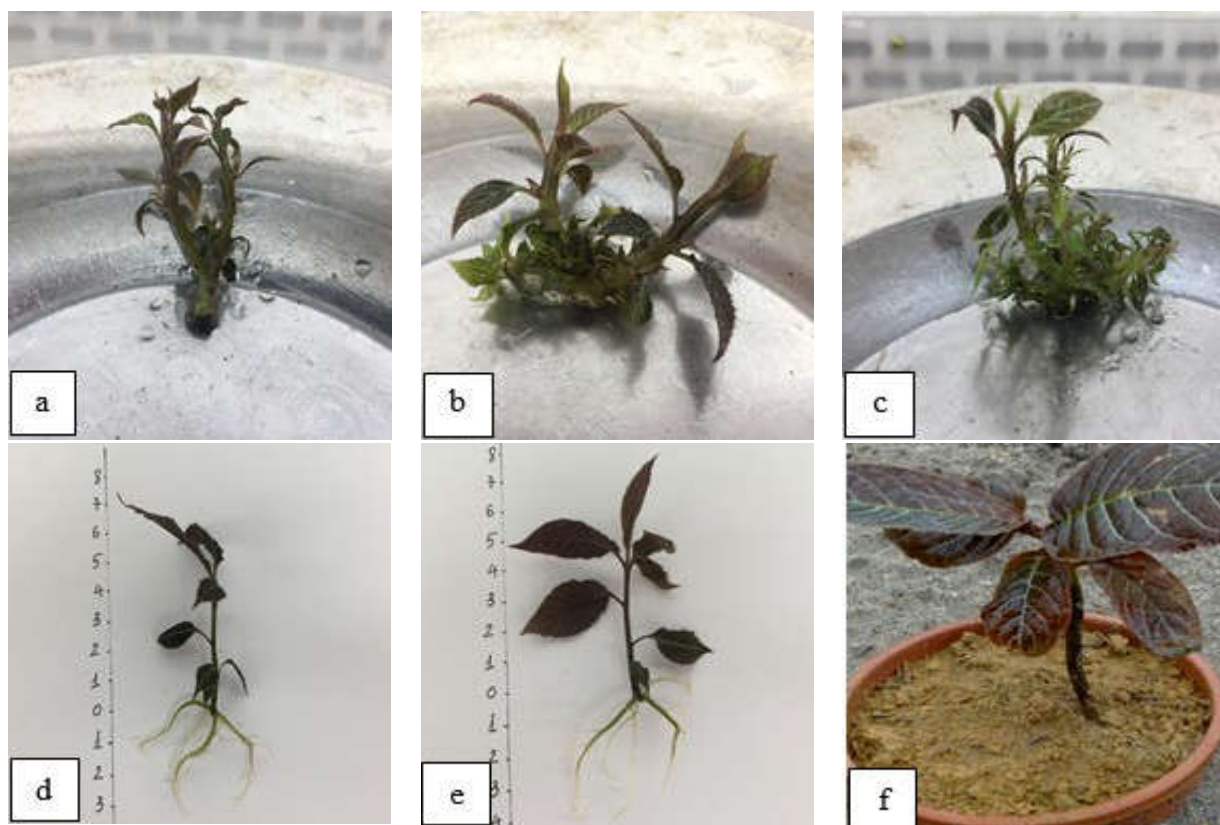
Các cây Khôi tía *in vitro* được tạo ra trên môi trường cảm ứng ra rễ được huấn luyện trong nhà lưới 5 ngày để cây thích nghi dần với điều kiện tự nhiên trước khi ra ngôi. Sau thời gian huấn luyện, cây con được trồng vào bầu với các giá thể khác nhau phục vụ nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ cây sống và sinh trưởng của cây Khôi tía *in vitro* tại

vườn ươm. Đặc biệt ở giai đoạn đầu, thành phần ruột bầu phải vừa có khả năng giữ nước cho cây con, giúp cây con hút chất dinh dưỡng nhưng cũng đồng thời thoáng khí để cây con không bị thối rễ (Bùi Văn Thắng và cộng sự, 2016). Trong thí nghiệm của chúng tôi bố trí 5 công thức thành phần ruột bầu khác nhau (CT₁ - CT₅). Các bầu bầu cây sau khi trồng được đặt

trong nhà lưới có mái che, nếu trời nắng cần che thêm bằng lưới đen để tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực xạ, tưới nước phun sương 2 lần/ngày đảm bảo độ ẩm cao.

Kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy, giá thể ruột bầu trồng cây Khôi tía giai đoạn 8 tuần

đầu thích hợp nhất là 50% đất tầng B kết hợp 50% cát vàng cho tỷ lệ cây sống 98,73%, chiều cao cây trung bình 25,56 cm và chiều dài rễ trung bình 5,56 cm, cây có chất lượng tốt (Hình 1f).



Hình 1. Cây Khôi tía qua các giai đoạn trong quy trình nhân giống

Ghi chú: a, b, c) Cụm chồi tái sinh sau 4 tuần nuôi cấy qua các công thức môi trường N_1 , N_2 , N_3 ; d, e) Cây hoàn chỉnh sau 4 tuần nuôi cấy qua các công thức thí nghiệm R_2 , R_3 ; f) Cây Khôi tía trồng trong giá thể ruột bầu ở công thức CT_3 sau 8 tuần nuôi cấy.

4. KẾT LUẬN

Mẫu chồi Khôi tía sau khi thu hái, rửa sạch bề mặt bằng xà phòng loãng trong 5 - 10 phút, sát khuẩn bề mặt bằng cồn 70% trong 1 phút, khử trùng mẫu bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 8 phút. Nuôi cấy trên môi trường khoáng cơ bản MS bổ sung 0,2 mg/l BAP, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar, cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 80,92% và tái sinh chồi 61,83%.

Nhân nhanh chồi Khôi tía *in vitro* trên môi trường khoáng MS bổ sung 1 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,1 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi và tỷ lệ mẫu tái sinh đạt (9,13 lần/chu kỳ nhân và 99,31% mẫu tái sinh) và chiều cao chồi đạt 3,70 cm.

Tạo cây khôi tía hoàn chỉnh *in vitro* trên môi trường khoáng MS bổ sung 0,5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose và 7 g/l agar, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 97,63%, trung bình đạt 4,45 rễ/cây và chiều cao cây đạt 3,25 cm.

Cây Khôi tía nuôi cấy *in vitro* hoàn chỉnh được huấn luyện 5 ngày và trồng trên giá thể ruột bầu gồm: 50% đất tầng B, 50% cát vàng, cho tỷ lệ cây sống đạt 98,73%, chiều cao cây đạt 25,56 cm sau 8 tuần, cây cứng cáp, khỏe mạnh và có màu xanh - tía tự nhiên.

Quy trình nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* được khái quát ở sơ đồ hình 2.



Tạo mẫu sạch:

Mẫu chồi Khôi tía sau khi thu hái
→ Rửa sạch bề mặt bằng xà phòng loãng trong 5 - 10 phút
Sát khuẩn bề mặt bằng cồn 70% trong 1 phút
Khử trùng mẫu bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 8 phút



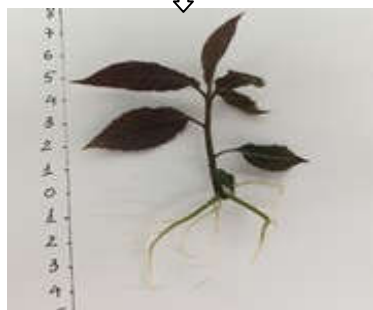
Tái sinh chồi:

→ Nuôi cấy chồi Khôi tía trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,2 mg/l BAP, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar



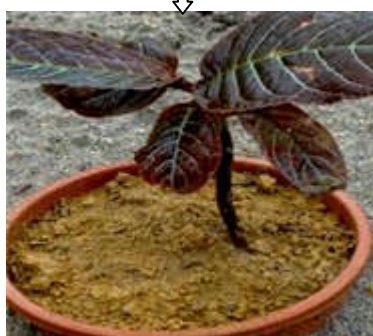
Nhanh chồi:

→ Nhân nhanh chồi Khôi tía in vitro trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 1 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,1 mg/l NAA



Tạo cây hoàn chỉnh:

→ Tạo cây Khôi tía hoàn chỉnh trên môi trường dinh dưỡng MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose và 7 g/l agar



Ra ngôi:

→ Cây Khôi tía nuôi cấy in vitro hoàn chỉnh được huấn luyện 5 ngày và trồng trên giá thể ruột bầu gồm: 50% đất tầng B, 50% cát vàng

Hình 2. Quy trình nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Văn Thắng, Cao Thị Việt Nga, Vũ Văn Kiên, Nguyễn Văn Việt (2016). Nhân giống cây Đắng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, số 4/2016: 3 - 9.

3. Sách Đỏ Việt Nam (2007). *Phần thực vật*. Nxb Khoa học Kỹ thuật và Công nghệ Hà Nội: 290 - 291.

4. Quỹ Châu Á - Trung tâm Môi trường và Phát triển cộng đồng (2012). *Cây thuốc người Dao - Ba Vì*: 64.

5. Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant*, 15: 473 - 497.

6. Nguyễn Quỳnh Trang, Vũ Thị Huệ, Khuất Thị Hải Ninh, Nguyễn Thị Thơ (2013). Nhân giống *in vitro* lan Phi điệp tím. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, số 3(1): 16 - 21.

7. Nguyễn Văn Việt, Nguyễn Thị Hương, Bùi Văn Thắng (2016). Nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 12/2016: 35-39.

ESTABLISHMENT OF AN *IN VITRO* PROPAGATION PROTOCOL FOR *Ardisia sylvestris* Pitard

Doan Thi Thu Huong¹, Nguyen Van Viet², Nguyen Thi Huyen³, Tran Viet Ha⁴
^{1,2,3,4} Vietnam National University of Forestry

SUMMARY

Ardisia sylvestris is a highly medicinal medicinal plant currently overexploited, leading to a depleted genetic resource. Complete the breeding process of *Ardisia sylvestris* by *in vitro* culture techniques has been successfully researched. The results showed that the optimal method for buds sterilization was soaked in ethanol 70% for 1 minutes, by HgCl₂ 0.1% solution for 8 minutes and then culturing the sample with Murashige and Skoog (MS) medium with 0.2 mg/l 6-Benzylaminopurine (BAP) provided the proportion of reached survival rate was 80.92%; MS medium supplemented with BAP 1 mg/l, Kinetin 0.3 mg/l, α -naphthol acetic acid (α -NAA) 0.2 mg/l, sucrose 30g/l and agar 7 g/l the rate of bud forming was 99.31% with average height of shoots is 3.7 cm and multiplication of 9.13 times/reeding cycle after 4 weeks of culture. The MS medium containing 0.5 mg/L NAA, sucrose 20 g/l and agar 7 g/l was found to be suitable for root induction which resulted in 97.63% of shoots producing roots. The average number of roots and average root length per plantlet were 4.45 and 3.25 cm, respectively. The plantlets were successfully acclimatized after 8 weeks being planted in mixture of soils and sands. This breeding process has the scientific meaning to help preserve and develop the *Ardisia sylvestris* plant, simultaneously can be applied practice to serve the production of high quality *Ardisia sylvestris* seedlings, meeting the needs of current *Ardisia sylvestris* seedlings.

Keywords: *Ardisia sylvestris*, *in vitro* culture, multi-shoot regeneration.

Ngày nhận bài : 22/8/2018
Ngày phản biện : 11/01/2019
Ngày quyết định đăng : 20/01/2019