

# Nhân giống *in vitro* cây Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson) từ mô sẹo

Nguyễn Thị Tường Vi, Hồ Lê Diễm Trinh, Phan Thị Á Kim

**Tóm tắt**—Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson) là một loại dược liệu quý trong y học cổ truyền Việt Nam được trồng để lấy rễ. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình nhân giống cây Đẳng sâm với mục đích bảo tồn và phát triển loài dược liệu quý này. Khúc cắt đoạn thân (1 – 1,5 cm) Đẳng sâm *in vitro* được dùng tạo mô sẹo trên môi trường MS (môi trường Murashige và Skoog) bổ sung 1-naphthaleneacetic acid (NAA) nồng độ từ 0,5 – 2 mg/L, kết hợp với thidiazuron (TDZ) 0,1 mg/L. Sau 4 tuần nuôi cấy, ở môi trường MS kết hợp NAA 1 mg/L và TDZ 0,1 mg/L; 85,33 % mẫu đoạn thân cảm ứng tạo mô sẹo tốt (xanh, chắc, đặc). Mô sẹo được tách ra và cảm ứng tạo chồi trên môi trường MS bổ sung 6-benzyladenine (BA) nồng độ từ 0,5 – 2,0 mg/L kết hợp với NAA 0,2 mg/L. Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS chứa BA 1 mg/L và NAA 0,2 mg/L; 82,67 % mẫu cảm ứng tạo chồi cao nhất với 9,92 chồi/mẫu. Chồi phát triển tốt được tách ra và chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi có cùng thành phần với môi trường cảm ứng tạo chồi từ mô sẹo, trong đó nồng độ NAA 0,2 mg/L được thay thế là 0,5 mg/L. Ghi nhận được khi nồng độ BA tăng thì khả năng tạo chồi và nhân nhanh sẽ gia tăng và hệ số nhân chồi đạt 5,87 lần khi BA đạt 2 mg/L sau 60 ngày nuôi cấy. Chồi được chuyển sang môi trường MS có bổ sung indole-3-butyric acid (IBA) nồng độ từ 0 – 1 mg/L cho việc tạo rễ. Tất cả các nghiệm thức đều hình thành rễ trong vòng 4 tuần và kết quả ghi nhận được ở nghiệm thức môi trường MS có bổ sung nồng độ IBA 1 mg/L vào môi trường, tỷ lệ mẫu tạo rễ đạt 88,67% với 4,33 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt được là 8,27 cm. Trên giá thể

hữu cơ phối trộn 30 % xơ dừa và 70 % phân trùn quế (v/v) cho tỷ lệ cây sống cao đạt tới 88,67 %. Cây sinh trưởng và phát triển tốt trong giai đoạn vườn ươm.

**Từ khóa**—Đẳng sâm, *in vitro*, mô sẹo, nhân chồi, môi trường MS, nuôi cấy, vườn ươm, kích thích tố.

## 1 MỞ ĐẦU

Đẳng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson) hay còn gọi là sâm dây thuộc họ Hoa chuông (Campanulaceae), là loài thân thảo, sống nhiều năm. Bộ phận dùng làm thuốc duy nhất của Đẳng sâm là rễ, với thành phần chính là saponin các polysaccharide, phenylpropanoid, alkaloid, triterpenoid và các acid amin thiết yếu. Các hoạt chất có trong Đẳng sâm giúp cho hoạt động trao đổi chất của cơ thể tốt hơn, tăng cường hệ miễn dịch [1]. Trong Đông y, Đẳng sâm được ví là nhân sâm của người nghèo vì được dùng thay thế cho nhân sâm trong các bệnh thiếu máu, da vàng, dùng làm thuốc bổ dạ dày, chữa ho, tiêu đờm, lợi tiểu [2]. Hiện nay, nạn tàn phá rừng làm nương rẫy và sự khai thác quá mức làm cho vùng phân bố của cây Đẳng sâm trong tự nhiên bị thu hẹp nhanh chóng và có nguy cơ cạn kiệt, loài cây này đã được đưa vào danh mục nguy cấp của sách đỏ Việt nam (2007) [3]. Trong khi đó nguồn cây giống Đẳng sâm phục vụ trồng trọt chủ yếu được cung cấp bằng phương pháp gieo hạt. Tuy nhiên, cây giống Đẳng sâm được tạo ra bằng phương pháp gieo hạt có sức sống yếu, chất lượng không đồng đều [4]. Công nghệ nuôi cấy mô, tế bào thực vật đã được ứng dụng rộng rãi trong nhân giống các loại cây dược liệu [5] để sản xuất số lượng lớn cây giống sạch bệnh và tương đối đồng đều về mặt di truyền trong thời gian ngắn. Nghiên

Ngày nhận bản thảo: 18-5-2018; Ngày chấp nhận đăng: 30-9-2018; Ngày đăng: 15-10-2018.

Tác giả Nguyễn Thị Tường Vi\*, Hồ Lê Diễm Trinh - Công ty CP Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Anh Đào TP. HCM;

Tác giả Phan Thị Á Kim - Sở Khoa học và Công nghệ Quảng Nam

(Email: nguyen.tuongvi2404@gmail.com)

cứu nhân giống cây Đắng sâm được thực hiện bởi một số công trình nghiên cứu trong và ngoài nước tuy nhiên hệ số nhân chồi được công bố còn thấp (7 chồi) [6, 7]. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nhân giống *in vitro* cây Đắng sâm thông qua giai đoạn mô sẹo, nhằm đáp ứng nhân nhanh, số lượng nhiều nguồn cây giống Đắng sâm *in vitro* cho mục đích bảo tồn và phát triển loại cây được liệu có giá trị kinh tế này tại địa bàn tỉnh Quảng Nam.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Hạt Đắng sâm được thu thập tại vùng núi của xã Trà Nam, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam. Hạt được rửa bằng nước sạch, sau đó lãc với ethanol 70 % trong 30 giây, tiến hành khử trùng bằng NaOCl 2 % trong 8 phút, rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3 – 4 lần. Hạt được ngâm với nước cất vô trùng ở 50°C, trong 2 giờ, sau đó gieo trên môi trường khoáng MS (Murashige và Skoog, 1962) [8].

### Tạo vật liệu khởi đầu và cảm ứng tạo mô sẹo

Đoạn thân cây Đắng sâm *in vitro* 1 tháng tuổi được cắt thành từng đoạn dài 1 – 1,5 cm rồi cấy lên môi trường MS bổ sung NAA với nồng độ tăng dần từ 0,5 – 2 mg/L, kết hợp với TDZ 0,1 mg/L.

### Tái sinh chồi từ mô sẹo

Mô sẹo được chuyển sang môi trường MS bổ sung BA nồng độ từ 0,5 – 2 mg/L kết hợp với 0,2 mg/L NAA để cảm ứng tạo chồi.

### Nhân nhanh cụm chồi

Chồi tái sinh từ mô sẹo có kích thước từ 2 – 3 cm được chuyển sang môi trường MS, bổ sung BA nồng độ từ 0,5 – 2 mg/L kết hợp với NAA 0,5 mg/L với mục đích nhân nhanh số lượng chồi. Các chồi được cấy chuyển sang môi trường mới 4 tuần 1 lần.

### Tạo rễ *in vitro*

Chồi Đắng sâm *in vitro* sau giai đoạn nhân nhanh có chiều cao khoảng 3 cm, lá xanh, sinh trưởng phát triển bình thường sẽ được chuyển sang môi trường MS có bổ sung IBA nồng độ từ 0 – 1 mg/L.

### Huấn luyện cây con ngoài vườn ươm

Sau 30 ngày nuôi cây trên môi trường cảm ứng tạo rễ, cây con hoàn chỉnh được chuyển ra các giá thể khác nhau (1/ cát sạch; 2/ xơ dừa; 3/ cát: phân trùn quế tỷ lệ 3/7 (v/v); 4/mụn dừa: phân trùn quế tỷ lệ 3/7 (v/v)) để khảo sát khả năng thích nghi của cây trong điều kiện vườn ươm. Cây được đặt trong nhà lưới, che phủ bằng nylon và lưới đen có khả năng cản ánh sáng 70 %. Tưới nước giữ ẩm 2 lần/ngày. Nhiệt độ thích hợp 25 – 30 °C, ẩm độ 70 – 80%, cường độ chiếu sáng 14.000 – 16.000 lux.

### Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần 10 mẫu. Các chỉ tiêu theo dõi được quan sát và đo đếm sau 4 tuần tương ứng với các thí nghiệm tạo sẹo, nhân nhanh và ra rễ. Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics centurion 16,1 cho Windows. Các số trung bình trong cột với các ký tự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $P < 0,05$ .

### Điều kiện nuôi cấy

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm của Công ty CP Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Anh Đào. Thời gian chiếu sáng 16 h/ngày, nhiệt độ  $25 \pm 2$  °C, cường độ chiếu sáng là 2000 – 2500 Lux. Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 trước khi hấp khử trùng ở áp suất 1,1 atm, nhiệt độ 121 °C, 20 phút.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Tạo mô sẹo từ đoạn thân cây Đắng sâm *in vitro*

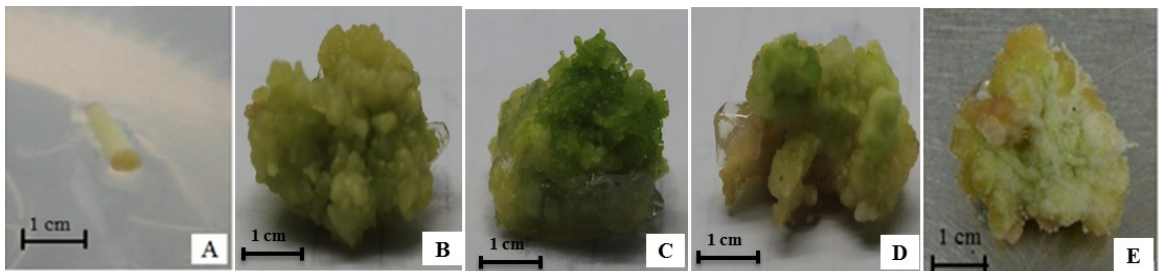
Tạo mô sẹo là khâu quan trọng và có ý nghĩa đầu tiên trong toàn bộ tiến trình nhân giống gián tiếp. TDZ có ưu điểm cho hệ số nhân cao, phát sinh hình thái thông qua cảm ứng tạo mô sẹo đã được ứng dụng để nhân giống *in vitro* trên nhiều đối tượng khác nhau [9, 10]. Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng TDZ kết hợp với NAA để cảm ứng tạo mô sẹo cho cây Đắng sâm, nguyên liệu dùng là đoạn thân cây con gieo hạt *in vitro*. Kết quả thí nghiệm cho thấy sự kết hợp giữa NAA và TDZ cho hiệu quả cảm ứng mô sẹo tốt (Bảng 1). Ngoài trừ công thức đối chứng, tất cả các công thức còn lại đều cảm ứng thành công mô sẹo (Hình 1). Tỷ lệ hình thành mô sẹo tăng từ 80,67-90,67%. Trong đó, kết hợp NAA 1 mg/L và TDZ 0,1mg/L,

cho tỷ lệ hình thành mô sẹo tương đối cao đạt 85,33%, đồng thời mô sẹo tạo thành có màu xanh, rắn chắc. Theo đánh giá cảm quan, các mô sẹo này

sẽ có khả năng tái sinh cao. Do đó công thức MS + NAA 1 mg/L + TDZ 0,1 mg/L sẽ được lựa chọn để cảm ứng tạo mô sẹo từ lát cắt đoạn thân Đàng sâm.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của NAA và TDZ lên khả năng cảm ứng mô sẹo từ đoạn thân Đàng sâm

Chất ĐHST (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo sẹo (%)	Màu sắc của sẹo	Đặc điểm của sẹo
NAA	TDZ			
0	0	0,00 ± 0,00 <sup>d</sup>	-	-
0,5	0,1	80,67 ± 2,31 <sup>c</sup>	Vàng – xanh	Chắc đặc
<b>1,0</b>		<b>85,33 ± 4,16<sup>b</sup></b>	<b>Vàng – xanh</b>	<b>Chắc đặc</b>
1,5		88,67 ± 1,15 <sup>ab</sup>	Trắng	Nốt – xốp
2,0		90,67 ± 1,15 <sup>a</sup>	Nâu – trắng	Xốp – bở



**Hình 1.** Mô sẹo của Đàng sâm sau 4 tuần nuôi cấy trên: A. MS; B. MS + NAA 0,5 mg/L + TDZ 0,1 mg/L; C. MS + NAA 1 mg/L + TDZ 0,1 mg/L; D. MS + NAA 1,5 mg/L + TDZ 0,1 mg/L; E. MS + NAA 2 mg/L + TDZ 0,1 mg/L.

### Nghiên cứu tái sinh chồi Đàng sâm từ mô sẹo

Tái sinh chồi từ mô sẹo là một khâu quan trọng trong nhân giống vô tính, nhằm tạo thành các chồi phục vụ cho nhân nhanh *in vitro*. Trong quá trình nhân giống *in vitro*, sự phối hợp giữa auxin và cytokinin với nồng độ và tỷ lệ thích hợp có tác động đáng kể tới sự hình thành chồi và chất lượng chồi. Theo dõi mẫu cấy sau 10 ngày, chúng tôi nhận thấy các khối mô bắt đầu chuyển sang màu xanh, tại một số điểm xuất hiện những chồi nhỏ hơi nhú lên nhưng chưa phân hóa rõ. Sau 30 ngày các chồi đã hình thành rõ rệt trên tất cả các môi trường với tỷ lệ mẫu tạo chồi và số lượng chồi/mẫu có sự khác biệt đáng kể giữa các công thức (Bảng 2), tỷ lệ tái sinh chồi tăng từ 13,33 – 82,67 % khi kết hợp BA ở nồng độ từ 0,5 – 2 mg/L với NAA 0,2 mg/L. Trong đó công thức MS + BA 1 mg/L + NAA 0,2 mg/L cho tỷ lệ tái sinh chồi tốt nhất đạt 82,67 % và số chồi ở mỗi mẫu đạt trung bình là 9,92 chồi, chồi tạo thành có màu xanh, sinh trưởng, phát triển bình thường.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của BA và NAA lên khả năng tạo chồi từ mô sẹo Đàng sâm

Chất ĐHST (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi trung bình/mẫu
BA	NAA		
0	0	13,33 ± 1,54 <sup>c</sup>	2,63 ± 0,42 <sup>d</sup>
0,5	0,2	73,33 ± 1,54 <sup>b</sup>	6,89 ± 0,30 <sup>b</sup>
<b>1,0</b>		<b>82,67 ± 4,16<sup>a</sup></b>	<b>9,92 ± 0,61<sup>a</sup></b>
1,5		63,33 ± 4,16 <sup>c</sup>	5,80 ± 0,14 <sup>c</sup>
2,0		36,67 ± 3,05 <sup>d</sup>	3,20 ± 0,16 <sup>d</sup>

### Nhân nhanh chồi Đàng sâm

Sự nhân nhanh chồi xảy ra trong vòng 40 – 60 ngày sau khi cấy. Các chồi xuất hiện thành từng cụm và một số chồi có kích thước từ 1 – 2 cm có thể tách ra khỏi cụm chồi và được sử dụng để tiếp tục nhân chồi sau này. Kết quả từ Bảng 3 cho thấy, trên các môi trường có bổ sung BA kết hợp với NAA 0,5 mg/L, hệ số nhân chồi có sự khác biệt đáng kể so với nghiệm thức đối chứng. Như vậy, sự có mặt của BA đã kích thích sự hình thành chồi, các chồi non cấy vào các môi trường có bổ sung BA kết hợp với NAA đều phát triển nhanh

tạo thành cụm; Tuy nhiên, ở nồng độ BA thấp (0,5 mg/L) thì hệ số nhân chồi hình thành thấp (2,25 lần); khi nồng độ BA tăng thì khả năng tạo chồi và nhân nhanh sẽ gia tăng nhưng nếu nồng độ BA cao cũng hạn chế sự hình thành và nhân nhanh chồi. Nồng độ tối ưu cho việc nhân nhanh chồi với cây Đàng sâm là BA 2,0 mg/L với hệ số nhân nhanh chồi là 5,87 lần, đồng thời chiều cao chồi trung bình đạt 4,13 cm. Auxin và cytokinin là hai chất điều hòa tăng trưởng thực vật thường dùng để kiểm soát sự phát sinh hình thái của thực vật khi nuôi cấy. BA (cytokinin) chịu tác động cân bằng của NAA (auxin) trong trạng thái mô sẹo và tạo nên sự ngủ của chồi. Khi tăng nồng độ BA làm phá vỡ thể cân bằng với auxin và mô sẹo tạo chồi dựa theo hướng tác động của BA. Tuy nhiên khi nồng độ BA quá cao dẫn đến khuynh hướng tạo chồi giảm và bị ức chế [11,12].

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của BA và NAA lên khả năng nhân chồi Đàng sâm

Chất DHST (mg/L)		Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)
BA	NAA		
0	0	1,30 ± 0,15 <sup>d</sup>	1,80 ± 0,20 <sup>d</sup>
0,5	0,5	2,25 ± 0,24 <sup>c</sup>	2,47 ± 0,31 <sup>c</sup>
1,0		3,17 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,83 ± 0,15 <sup>bc</sup>
1,5		5,62 ± 0,17 <sup>a</sup>	3,07 ± 0,21 <sup>b</sup>
2,0		5,87 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,13 ± 0,35 <sup>a</sup>

Kết quả nghiên cứu nhân giống trên cây *Codonopsis pilosula* của Slupski và cộng sự (2011) [6] đã tìm ra môi trường tối ưu cho sự phát sinh chồi từ chồi nách là BA 0,1 mg/L kết hợp với NAA 0,1 mg/L cho kết quả rất cao với 69 chồi/chồi nách.

### Tái sinh cây Đàng sâm từ chồi *in vitro*

Tạo rễ là bước khá quan trọng trong quá trình tái sinh cây, muốn cây con khỏe mạnh và sống tốt thì cây phải có bộ rễ khỏe mạnh, sức đề kháng tốt nhằm nâng cao sức sống của cây khi ra môi trường bên ngoài. Để cảm ứng ra rễ, các chồi có cùng kích thước (3 cm) được cắt ra và cấy vào

môi trường MS bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả từ Bảng 4 cho thấy trên môi trường MS có bổ sung IBA, tất cả các nghiệm thức đều hình thành rễ trong vòng 4 tuần, đồng thời số rễ và chiều dài rễ tăng khi nồng độ IBA bổ sung vào môi trường tăng. Môi trường tái sinh cây tốt nhất là môi trường MS có bổ sung IBA 1 mg/L với tỷ lệ mẫu tạo rễ là 88,67%, số rễ trung bình đạt được là 4,33 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình là 8,27 cm.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của IBA lên khả năng ra rễ cây Đàng sâm

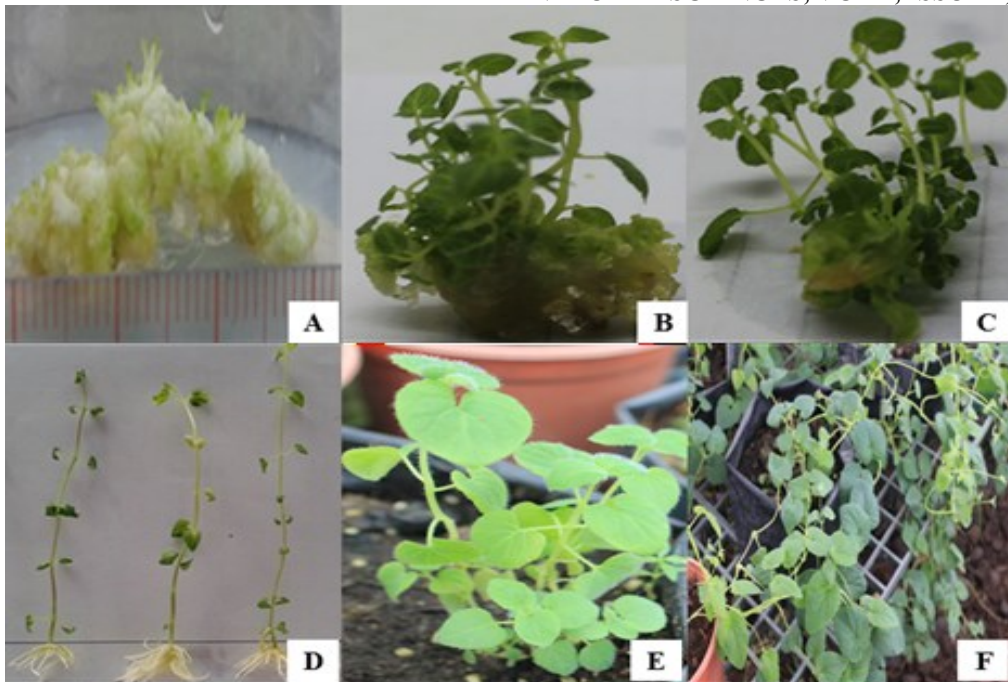
IBA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
0,0	36,00 ± 5,30 <sup>c</sup>	2,13 ± 0,24 <sup>c</sup>	1,20 ± 0,36 <sup>d</sup>
0,3	61,33 ± 3,06 <sup>d</sup>	3,23 ± 0,28 <sup>d</sup>	4,33 ± 0,40 <sup>c</sup>
0,5	72,67 ± 3,06 <sup>c</sup>	4,97 ± 0,30 <sup>b</sup>	5,90 ± 0,66 <sup>b</sup>
0,7	80,00 ± 2,00 <sup>b</sup>	7,67 ± 0,29 <sup>a</sup>	6,43 ± 0,50 <sup>b</sup>
1	88,67 ± 3,06 <sup>a</sup>	4,33 ± 0,45 <sup>c</sup>	8,27 ± 0,31 <sup>a</sup>

### Thích nghi cây ngoài vườn ươm

Những cây con *in vitro* có bộ rễ phát triển hoàn chỉnh được rửa dưới vòi nước chảy và trồng trong trên các loại giá thể khác nhau. Tỷ lệ sống của cây sâm dây dao động rất lớn giữa các giá thể khác nhau. Bảng 5 cho thấy trên giá thể cát hay xơ dừa cho tỷ lệ sống của cây con *in vitro* trên giá thể này không cao, cây thường ốm, mảnh, phiến lá nhỏ, lá thường mỏng và xanh nhạt. Khi phối trộn bổ sung thêm phân trùn quế trên giá thể cây con thường cao, mập, phiến lá to, lá xanh đậm có tỷ lệ sống tương đối cao. Tuy nhiên, rễ mới phát sinh yếu và tốc độ sinh trưởng chậm do cây chưa kịp thích nghi với giá thể và môi trường. Tỷ lệ cây sống cao nhất đạt 88,67% trên giá thể chứa 30% xơ dừa và 70% (v/v) phân trùn quế. Về hình thái cây cứng cáp, bộ lá phát triển tốt, phiến lá to, màu xanh đậm, rễ khỏe và đang hình thành nhiều rễ mới. Đây là giá thể thích hợp nhất trong số các loại giá thể đưa dùng để ươm cây trong vườn ươm.

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của giá thể lên khả năng sống và sinh trưởng của cây Đàng sâm trong vườn ươm

Giá thể	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Nhận xét
Cát	70,67	5,5	Cây ốm, mảnh, phiến lá nhỏ, lá xanh nhạt
Xơ dừa	74,00	5,8	Cây ốm, mảnh, phiến lá nhỏ, lá mỏng, xanh nhạt
Cát: phân trùn quế	81,33	6,8	Cây cao, mập, phiến lá to, lá xanh đậm
Xơ dừa: phân trùn quế	88,67	7,1	Cây cao, mập, phiến lá to, lá xanh vừa



**Hình 2.** (A) cụm chồi tái sinh từ mô sẹo 6 ngày và (B) 4 tuần. (C) Cụm chồi từ môi trường nhân chồi. (D) chồi trên môi trường ra rễ. (E) cây Đàng sâm sau 3 tuần ra vườn ươm. (F) cây Đàng sâm sau 2 tháng tại vườn ươm công ty

#### 4 KẾT LUẬN

Từ những kết quả tối ưu thu thập được trong khảo sát nhân giống cây Đàng sâm cho thấy môi trường thích hợp để tạo mô sẹo từ đoạn thân cây *in vitro* là môi trường MS kết hợp giữa NAA 1mg/L và TDZ 0,1 mg/L cho mô sẹo xanh, chắc và đặc có tỉ lệ mẫu tạo sẹo là  $85,33 \pm 4,16$  % sau 4 tuần nuôi cấy. Mô sẹo được cảm ứng tạo chồi trên môi trường MS kết hợp giữa BA 1,0 mg/L và NAA 0,2 mg/L cho tỷ lệ tạo chồi cao nhất đạt 82,67 % với 9,92 chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy. Môi trường cảm ứng chồi từ mô sẹo được dùng cho nhân nhanh chồi khi thay NAA 0,2 mg/L bởi NAA 0,5 mg/L, hệ số nhân chồi tăng cho tất cả các nghiệm thức và đạt 5,87 lần ở BA 2,0 mg/L. Môi trường thích hợp cho tạo rễ cây đàng sâm *in vitro* là MS bổ sung IBA 1 mg/L với tỷ lệ ra rễ đạt 88,67 %, số rễ trung bình đạt 4,33 rễ/chồi, chiều dài rễ 8,27 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Trên giá thể hữu cơ phối trộn 30 % xơ dừa và 70 % phân trùn quế (v/v) cho tỷ lệ cây sống cao nhất đạt tới 88,67 %, cây sinh trưởng và phát triển tốt trong giai đoạn vườn ươm. Như vậy với một cây con *in vitro* ban đầu (4 mẫu cây/cây) sau 12 tháng nhân

giống (4 chu kỳ tạo chồi) số chồi đạt được trung bình cho tạo rễ là 1000 cây/năm.

**Lời cảm ơn:** Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ chương trình nghiên cứu khoa học của Sở Khoa học Công nghệ tỉnh Quảng Nam

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. J.Y. He, N. Ma, S. Zhu, K. Komatsu, Z.Y. Li W.M. Fu, The genus *Codonopsis* (Campanulaceae): a review of phytochemistry, bioactivity and quality control. *J. Nat. Med.*, 69, 1–2, 2015.
- [2]. H.M. Chung, P.X. Sinh, Nghiên cứu tác dụng bổ khí của Đàng sâm Việt Nam. *Tạp chí Dược Liệu*, 7, 4, 118–120, 2012.
- [3]. Sách Đỏ Việt Nam, Phần II-Thực vật, trang 152, NXB. Khoa học tự nhiên & Công nghệ, Hà Nội, 2007.
- [4]. P.X. Thuyên, T.D. Hiền, Effect of culture media on *in vitro* germination rate and shoot-forming potential of *Codonopsis javanica* (Blume) Hook f. & Thomson artificial seeds. *Afr. J. Agricul. Res.*, 10, 52, 4755–4761, 2015.
- [5]. V. Sarasan, R. Cripps, M.M. Ramsay, C. Atherton, M. MCMichen, G. Premdergast, J.K. Rowntree, Conservation *in vitro* of threatened plants-progress in the past decade. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 42, 2006–2014, 2006.
- [6]. W. Slupski, B. Tubek, A. Matkowski, Micropropagation of *Codonopsis pilocula* (Franch) Nannf by auxillillary

- multiplication, *Acta Biologica Cracoviensia*. 53, 2, 87–93, 2011.
- [7]. B.V. Thắng, C.T.V. Nga, V.V. Kiên, N.V. Việt, Nhân giống cây Đàng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook f. & Thomson) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. *Tạp chí khoa học và công nghệ Lâm Nghiệp*, 4, 3–9, 2016.
- [8]. Murashige T and Skoog F, (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. Vol. 15:473-497
- [9]. Guo B., Abbasi B.H., Zeb A., Xu L.L., and Wei Y.H, (2011) Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *Afr. J. Biotech*. 10(45):8984-9000
- [10] Gondval M., Chaturvedi and Gaur A.K, (2016) Thidiazuron-induced high frequency establishment of callus cultures and plantlet regeneration in *Aconitum balfourii* Stapf.: An endangered medicinal herb of North-West Himalayas. *Ind.J.Biotech*. 25: 251-255
- [11] Miller C.O and Skoog F, (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture *in vitro*. *Sym.Soc.Exp. Biol*.11:118-131
- [12] Stephen H.H., Sonia L., and Ping C, (2003) Cytokinins and shoot development. *Trend in Plant Sci*. 8(9):453-459

# *In vitro* propagation of *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson through the callus induction

Nguyen Thi Tuong Vi<sup>1,\*</sup>, Ho Le Diem Trinh<sup>1</sup>, Phan Thi A Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Công ty CP Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Anh Đào TP. HCM

<sup>2</sup> Sở Khoa học và Công nghệ Quảng Nam

\*Corresponding author: [nguyen.tuongvi2404@gmail.com](mailto:nguyen.tuongvi2404@gmail.com)

*Received: 18-5-2017, Accepted: 30-9-2018, Published: 15-10-2018.*

**Abstract**—*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson a traditional medicine plant and now an endangered species in Vietnam is grown for roots. The research was carried out to establish the plant propagation for the purpose of conserving and exploiting this endangered medicinal herbs. *In vitro* shoot tip explants (1 – 1.5 cm) were induced to form callus on MS medium containing NAA (0.5 – 2 mg/L) with TDZ 0.1 mg/L. After four weeks of culture, in the MS medium combine with NAA 1 mg/L and TDZ 0.1 mg/L the explant induced compact callus (green, solid) was achieved 85.33%. The callus induction to form shoots on medium MS containing BA (0.5 – 2.0 mg/L) with NAA 0.2 mg/L. After 4 weeks of culture, shoot formation was higher in the MS medium containing BA 1.0 mg/L and NAA

0.2 mg/L and achieved of 82.67 % with 9.92 shoots/explant. The best shoot proliferation (2 – 3 cm) was excised and transferred to a medium shoot multiplication with the same composition as the shoot induction medium in which NAA 0.2 mg/L was replaced by NAA 0.5 mg/L. When compared the shoot multiplication between the two mediums at the same BA concentration (2 mg/L), all shoots increased and reached 5.87 times after 60 days cultured. On rooting MS medium with IBA 1 mg/L, 88.67 % *in vitro* rooting was observed with the average root yield of 4.33 roots/shoot and the length of 8.27 cm. Root length and their yield quality were highly improved when using of coconut fiber (30 %) and earthworms compost (70 %) (v/v) in the transfer medium after acclimatisation stages.

**Index Terms**—*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. et Thomson, *in vitro*, callus, culture, MS medium, nursery, propagation, phytohormones.