

## PHÁT TRIỂN HỆ THỐNG TÁI SINH *IN VITRO* PHỤC VỤ CHUYỂN GEN Ở CÂY THỔ NHÂN SÂM (*Talinum paniculatum* Gaertn.)

Vũ Thị Như Trang<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Tâm<sup>1</sup>, Chu Hoàng Mậu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

<sup>2</sup> Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Thổ nhân sâm (*Talinum paniculatum* Gaertn.) là loại cây thân thảo có giá trị dược liệu cao, có khả năng sản xuất các dược chất như saponin, 3-O- $\beta$ -D-glucosyl- $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol và một số chất khác. Cây Thổ nhân sâm được sử dụng để diệt virus, nấm molluscicidal, tác dụng long đờm, chữa ho, thông tiểu. Tái sinh *in vitro* không những nhằm tăng sinh khối mà còn phục vụ chuyển gen trong chiến lược cải thiện hàm lượng dược chất trong cây Thổ nhân sâm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả tối ưu điều kiện khử trùng hạt, tạo vật liệu, môi trường nuôi cấy *in vitro* và giá thể thích hợp đưa cây Thổ nhân sâm ra môi trường tự nhiên. Hạt này nằm cao và tỉ lệ nhiễm nấm mốc thấp nhất khi hạt được khử trùng bằng javel trong 10 phút. Đoạn thân mang mắt chồi bên là vật liệu thích hợp để tạo đa chồi. Môi trường MS cơ bản bổ sung BAP 2,0 mg/l là môi trường thích hợp cho sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên. IAA 0,5mg/l là môi trường thích hợp để tạo rễ của cây Thổ nhân sâm. Giá thể thích hợp để đưa cây ra môi trường tự nhiên là đất mùn và trấu hun với tỉ lệ 1:1. Gây tổn thương bằng cách che đậy hoặc dùng mũi kim châm vào đoạn thân mang mắt chồi bên đều cho hiệu quả tạo đa chồi cao.

**Từ khóa:** Môi trường nuôi cấy, tái sinh *in vitro*, đa chồi, *Talinum paniculatum*, đoạn thân mang mắt chồi bên

### MỞ ĐẦU

Cây Thổ nhân sâm (*Talinum paniculatum* Gaertn.) có chứa saponin là một hợp chất có vai trò đặc biệt quan trọng, như có tác dụng diệt virus, nấm molluscicidal, tác dụng chữa ho, chữa hen phế quản, thông tiểu, giảm nguy cơ ung thư đại tràng, chống oxy hóa... [2]. Tuy nhiên, hàm lượng saponin được sản xuất tự nhiên trong cây thổ nhân sâm còn rất thấp, khoảng 1000 $\mu$ g/g ở rễ 4 tuần tuổi [1], [3]. Hiện nay, người ta chú trọng đến sản xuất saponin có nguồn gốc từ thực vật vì chúng an toàn với con người. Có nhiều cách tiếp cận nghiên cứu theo hướng tăng hàm lượng saponin trong cây, như ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô để tăng sinh khối rễ tơ, tăng sinh khối tế bào hoặc chuyển gen mã hóa enzyme chia khóa tác động làm tăng cường chuyển hóa tổng hợp saponin trong cây thổ nhân sâm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu môi trường nuôi cấy *in vitro* ở cây Thổ nhân sâm.

### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hạt cây Thổ nhân sâm được thu tại tỉnh Thái Nguyên được sử dụng làm nguyên liệu nuôi cấy *in vitro*. Khử trùng hạt Thổ nhân sâm bằng cồn 70% trong thời gian 1 phút, rửa sạch bằng nước cất, sau đó khử trùng hạt bằng dung dịch javel 60% với các khoảng thời gian 5 - 10 - 15 - 20 phút. Rửa sạch hạt bằng nước cất vô trùng 8 lần, sau đó cấy lên môi trường MS cơ bản [5]. Ảnh hưởng của điều kiện khử trùng đến sự nảy mầm của hạt được đánh giá bằng tỉ lệ hạt nảy mầm, hình thái, kích thước mầm và tỷ lệ nhiễm vi sinh vật sau 10 ngày nuôi cấy.

*Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm:* lá mầm 2 tuần tuổi được gây tổn thương bằng mũi kim nhọn ở nách lá, sau đó cấy lên môi trường MS cơ bản, bổ sung BAP 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l; 2,0 mg/l. Sự phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi được đánh giá bằng các chỉ tiêu về số chồi/mẫu, chiều cao chồi, số lá/chồi, chất lượng chồi sau 2 tuần và 4 tuần nuôi cấy.

\* Tel: 0913383289; mail: chuhoangmau@tnu.edu.vn

*Nghiên cứu ảnh hưởng BAP và ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên:* Đoạn thân có kích thước 1,0 - 1,5 cm mang mắt chồi bên sau 6 - 8 tuần nuôi cấy được gây tổn thương bằng dao cùn dọc qua giữa 2 mắt chồi bên, dùng kim châm gây tổn thương ở mắt chồi bên, sau đó cấy lên môi trường MS cơ bản, bổ sung BAP 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l; 2,0 mg/l; 2,5 mg/l; 3,0 mg/l và kết hợp giữa BAP (nồng độ tối ưu) với IBA 0,2 mg/l; 0,4 mg/l; 0,6 mg/l; 0,8 mg/l; 1,0 mg/l; 1,2 mg/l. Sự phát sinh và sinh trưởng của chồi được đánh giá bằng các chỉ tiêu về số chồi/mẫu, chiều cao chồi, số lá/chồi, chất lượng chồi sau 2 tuần và 4 tuần nuôi cấy.

*Nghiên cứu ảnh hưởng của IAA và NAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm:* Sử dụng chồi tái sinh 4 - 6 tuần nuôi cấy *in vitro* có kích thước 1,0 - 1,5 cm cấy lên môi trường MS cơ bản, bổ sung IAA và NAA với các nồng độ lần lượt là 0,3 mg/l; 0,5 mg/l; 0,7 mg/l; 0,9 mg/l; 1,1 mg/l. Khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm được đánh giá bằng số lượng rễ/chồi, chiều dài rễ sau 2 tuần và 4 tuần nuôi cấy.

*Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sinh trưởng của cây con trong vườn ươm:* Cây Thổ nhân sâm *in vitro* 5 tuần nuôi cấy được chuyển ra bầu ươm với các giá thể là đất thịt trung bình, đất thịt trung bình + cát (2:1), đất thịt trung bình + trấu hun (2:1), đất thịt trung bình + cát + trấu hun (2:1:1). Mỗi công thức thí nghiệm lặp lại 3 lần, mỗi lần đánh giá 30 mẫu. Các số liệu được xử lý trên

máy vi tính bằng chương trình Excel với trị số  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$  [4].

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Kết quả khử trùng hạt

Tiến hành khử trùng hạt theo phương pháp đã trình bày, kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, thời gian khử trùng trong javel 60% tăng lên đã làm giảm khả năng nhiễm của hạt, cao nhất ở thời gian xử lý mẫu 20 phút cho tỉ lệ bình không bị nhiễm là 94,52% và khi không xử lý thì tỉ lệ bình nuôi cấy không bị nhiễm 6,02%. Tuy nhiên, tỉ lệ nảy mầm của hạt lại tỉ lệ nghịch với thời gian khử trùng. Khi thời gian khử trùng càng cao thì tỉ lệ hạt không nảy mầm (hạt chết) càng lớn. Ở thí nghiệm không xử lý cho tỉ lệ hạt nảy mầm cao nhất là 94,04%, ở thời gian khử trùng hạt 20 phút tỉ lệ hạt nảy mầm thấp nhất là 30,33%. Chồi phát triển tốt ở thời gian khử trùng hạt 5-10 phút (chồi mập, dài, có màu xanh bình thường). Thời gian xử lý mẫu càng cao thì chồi mầm có sức sống giảm, chồi gầy, màu vàng. Như vậy thời gian khử trùng hạt tối ưu ở nồng độ javel 60% là trong 10 phút (tỉ lệ bình không bị nhiễm là 92,23%, tỉ lệ hạt nảy mầm đạt 91,55%, chồi mầm phát triển tốt (chồi mập, màu xanh bình thường, kích thước chồi là 1,58 cm).

### Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm

Kết quả phân tích ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của javel đến tỷ lệ nảy mầm của hạt sau 10 ngày nuôi cấy (n=30)

Thời gian khử trùng (phút)	Tỉ lệ bình không bị nhiễm (%)	Tỉ lệ hạt nảy mầm (%)	Kích thước mầm sau 10 ngày (cm)	Hình thái mầm
Không xử lý	6,02 ± 0,15	94,04 ± 0,25	1,62 ± 0,22	Mập, XBT
5	66,66 ± 0,19	92,21 ± 0,23	1,59 ± 0,26	Mập, XBT
10	92,23 ± 0,20	91,55 ± 0,19	1,58 ± 0,25	Mập, XBT
15	92,46 ± 0,23	76,24 ± 0,29	1,25 ± 0,21	Gầy, vàng
20	94,52 ± 0,21	30,33 ± 0,24	1,17 ± 0,23	Gầy, vàng

XBT: xanh bình thường

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm (n=30)

Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu tạo chồi	Số chồi/mẫu	% so với đối chứng	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
<b>Sau 2 tuần</b>						
0	14,12 ± 0,19	1,23 ± 0,23	100	0,72 ± 0,18	3,01 ± 0,16	K
0,5	18,23 ± 0,21	1,43 ± 0,19	116,26	0,79 ± 0,10	4,21 ± 0,22	TB
1,0	20,45 ± 0,23	1,52 ± 0,25	123,57	0,81 ± 0,15	4,57 ± 0,20	TB
1,5	23,56 ± 0,18	1,68 ± 0,17	136,58	0,87 ± 0,18	4,74 ± 0,24	T
2,0	21,11 ± 0,24	1,49 ± 0,25	121,13	0,78 ± 0,16	5,22 ± 0,25	T
<b>Sau 4 tuần</b>						
0	14,45 ± 0,20	1,34 ± 0,21	100	1,92 ± 0,15	5,68 ± 0,17	K
0,5	18,68 ± 0,22	1,57 ± 0,15	117,16	2,59 ± 0,20	5,89 ± 0,24	TB
1,0	21,01 ± 0,21	1,60 ± 0,22	119,40	2,61 ± 0,22	5,96 ± 0,21	TB
1,5	24,12 ± 0,19	1,78 ± 0,14	132,83	2,88 ± 0,17	6,14 ± 0,19	T
2,0	21,56 ± 0,25	1,59 ± 0,23	118,65	2,67 ± 0,15	6,52 ± 0,26	T

Chú thích: T: chồi tốt; K: chồi kém; TB: chồi trung bình

Kết quả ở bảng 2 cho thấy môi trường MS bổ sung BAP 0,5-2,0 mg/l có số chồi tăng so với đối chứng từ 16,26 % đến 36,58 % (ở giai đoạn 2 tuần) và 17,16 % đến 32,83% (ở giai đoạn 4 tuần); chiều cao của chồi tăng từ 9,72% đến 20,83% (giai đoạn 2 tuần tuổi) và 34,89% đến 50% (giai đoạn 4 tuần tuổi). Trong đó, môi trường có bổ sung BAP 1,5 mg/l có khả năng tạo chồi và kích thích sinh

trưởng chồi lớn nhất, số chồi/mẫu đạt 0,58 (giai đoạn 2 tuần) và 0,78 (giai đoạn 4 tuần), hệ số nhân chồi tăng 27,86% so với đối chứng; kích thước của chồi đạt 0,87 cm (giai đoạn 2 tuần) và 2,88 cm (giai đoạn 4 tuần) tăng 20,83% đến 50% so với đối chứng. Khi nồng độ BAP cao hơn 1,5 mg/l thì hệ số nhân chồi, và chiều cao chồi giảm dần.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (n=30)

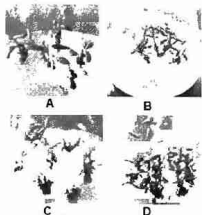
Nồng độ BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	% so với ĐC	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
<b>Sau 2 tuần</b>					
0	1,39 ± 0,25	100	0,72 ± 0,18	3,01 ± 0,16	K
0,5	1,86 ± 0,13	133,8	0,79 ± 0,10	4,21 ± 0,22	TB
1,0	2,29 ± 0,21	164,7	0,82 ± 0,15	4,57 ± 0,20	TB
1,5	2,43 ± 0,25	174,8	0,83 ± 0,18	4,74 ± 0,24	T
2,0	3,04 ± 0,10	218,7	0,87 ± 0,16	5,22 ± 0,25	T
2,5	2,84 ± 0,10	204,3	0,85 ± 0,12	5,03 ± 0,25	T
3,0	2,81 ± 0,10	202,1	0,82 ± 0,14	4,92 ± 0,25	TB
<b>Sau 4 tuần</b>					
0	1,50 ± 0,19	100	1,92 ± 0,15	5,68 ± 0,16	K
0,5	2,15 ± 0,21	143,33	2,59 ± 0,20	5,89 ± 0,22	TB
1,0	2,49 ± 0,17	166,00	2,61 ± 0,22	5,96 ± 0,20	TB
1,5	2,86 ± 0,18	190,60	2,79 ± 0,17	6,14 ± 0,24	T
2,0	3,24 ± 0,25	216,00	2,88 ± 0,15	6,52 ± 0,26	T
2,5	2,91 ± 0,22	194,00	2,64 ± 0,17	6,22 ± 0,22	T
3,0	2,86 ± 0,24	190,60	2,44 ± 0,19	5,91 ± 0,20	TB

Chú thích: T: chồi tốt; K: chồi kém; TB: chồi trung bình

### Ảnh hưởng BAP, sự kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên

Kết quả phân tích ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên được trình bày ở bảng 3 và hình 1.

Bảng 3 cho thấy môi trường MS bổ sung BAP 0,5-3,0 mg/l thì cho số chồi tăng so với đối chứng từ 33,81 % đến 118,7% (ở giai đoạn 2 tuần) và 43,33 đến 116,0% (ở giai đoạn 4 tuần); chiều cao của chồi tăng từ 9,7% đến 20% (giai đoạn 2 tuần) và 27% đến 50% (giai đoạn 4 tuần). Trong đó, môi trường có bổ sung BAP 2 mg/l có khả năng tạo chồi và kích thích sinh trưởng chồi lớn nhất, số chồi/mẫu đạt 3,04 (giai đoạn 2 tuần) và 3,24 (giai đoạn 4 tuần), hệ số nhân chồi tăng 118,7% so với đối chứng; kích thước trung bình của chồi đạt 0,87 cm (giai đoạn 2 tuần) và 2,88 cm (giai đoạn 4 tuần) tăng 20% đến 50% so với đối chứng.



**Hình 1.** Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên. A, B: Ảnh hưởng của BAP 1,0 mg/l đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên sau 2 tuần và 4 tuần. C, D: ảnh hưởng của BAP 2,0 mg/l đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên sau 2 tuần và 4 tuần.

Khi nồng độ BAP cao hơn 2,0 mg/l thì hệ số nhân chồi, và chiều cao chồi giảm dần. Kết quả ở bảng 3 còn cho thấy sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi

bên hiệu quả hơn rất nhiều so với sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm ở cùng nồng độ BAP. Vậy đoạn thân mang mắt chồi bên là vật liệu thích hợp để tạo đa chồi ở cây Thổ nhân sâm.

Kết quả phân tích ảnh hưởng của sự kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên cho thấy môi trường bổ sung BAP 2,0 mg/l kết hợp với IBA ở các nồng độ từ 0,2-1,2 mg/l thì cho số chồi không tăng so với đối chứng là BAP 2 mg/l không bổ sung IBA; đồng thời chiều cao của chồi tăng không đáng kể so với đối chứng, chồi gãy và có màu vàng (hình 2)



**Hình 2** Ảnh hưởng của BAP kết hợp với IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên. A, B: Ảnh hưởng của BAP 2,0 mg/l kết hợp IBA 0,6 mg/l đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên sau 2 tuần và 4 tuần.

### Kết quả ảnh hưởng của IAA và NAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm *in vitro*

Kết quả phân tích ảnh hưởng của IAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm được trình bày ở bảng 4. Bảng 4 cho thấy, khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy IAA 0,3-1,1 mg/l thì khả năng tạo rễ của cây Thổ nhân sâm đều cao hơn đối chứng. Ở môi trường bổ sung IAA 0,5 mg/l cho tỉ lệ cây ra rễ cao nhất đạt 80,17% tăng 2,66 lần (giai đoạn 2 tuần) và 98,12 % tăng 1,09 lần (ở giai đoạn 4 tuần) so với đối chứng. Số rễ là 5,13 (giai đoạn 2 tuần) cao gấp 3,11 lần và 13,23 (giai đoạn 4 tuần) cao gấp 1,45 lần so với đối chứng. Nhưng tỉ lệ này giảm khi bổ sung nồng độ IAA cao hơn 0,5 mg/l. Vậy nồng độ IAA tối ưu kích thích ra rễ ở cây Thổ nhân sâm *in vitro* là 0,5 mg/l.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của IAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm**

Nồng độ IAA (mg/l)	Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/ chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
<b>Sau 2 tuần</b>				
0	30,12 ± 0,20	1,65 ± 0,21	0,21 ± 0,24	TB
0,3	76,67 ± 0,15	4,16 ± 0,24	0,78 ± 0,26	T
0,5	80,17 ± 0,19	5,13 ± 0,19	0,92 ± 0,20	T
0,7	71,13 ± 0,19	3,85 ± 0,22	0,70 ± 0,25	T
0,9	68,56 ± 0,23	3,72 ± 0,26	0,65 ± 0,22	TB
1,1	50,67 ± 0,18	3,51 ± 0,29	0,61 ± 0,21	TB
<b>Sau 4 tuần</b>				
0	89,91 ± 0,14	9,12 ± 0,19	2,01 ± 0,21	TB
0,3	95,45 ± 0,23	10,31 ± 0,24	2,89 ± 0,25	T
0,5	98,12 ± 0,18	13,23 ± 0,18	3,79 ± 0,17	T
0,7	94,43 ± 0,21	11,97 ± 0,23	3,33 ± 0,22	T
0,9	93,45 ± 0,20	11,01 ± 0,19	3,12 ± 0,24	T
1,1	92,34 ± 0,19	10,45 ± 0,25	2,98 ± 0,21	T

Chú thích: T: chồi tốt; K: chồi kém; TB: chồi trung bình

**Bảng 5. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm**

Nồng độ NAA (mg/l)	Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/ chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
<b>Sau 2 tuần</b>				
0	30,12 ± 0,20	1,65 ± 0,21	0,21 ± 0,24	TB
0,3	45,83 ± 0,15	2,01 ± 0,25	0,25 ± 0,21	T
0,5	58,33 ± 0,21	3,21 ± 0,19	0,31 ± 0,18	T
0,7	16,66 ± 0,18	2,31 ± 0,15	0,18 ± 0,19	TB
0,9	14,33 ± 0,21	1,67 ± 0,21	0,16 ± 0,24	TB
1,1	9,67 ± 0,15	1,12 ± 0,26	0,12 ± 0,23	TB
<b>Sau 4 tuần</b>				
0	89,91 ± 0,14	9,12 ± 0,19	2,01 ± 0,21	TB
0,3	90,12 ± 0,15	9,56 ± 0,23	2,21 ± 0,22	T
0,5	94,36 ± 0,21	10,43 ± 0,16	2,79 ± 0,16	T
0,7	89,68 ± 0,19	9,97 ± 0,25	2,32 ± 0,25	TB
0,9	88,23 ± 0,17	9,01 ± 0,24	1,98 ± 0,19	TB
1,1	85,45 ± 0,21	8,89 ± 0,21	1,77 ± 0,27	TB

Chú thích: T: tốt; TB: trung bình

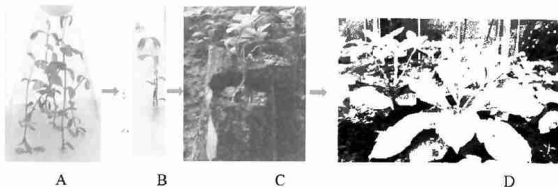
Kết quả phân tích ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của cây Thổ nhân sâm cho thấy, khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy NAA nồng độ từ 0,3-1,1 mg/l thì khả năng tạo rễ của cây Thổ nhân sâm chênh lệch không nhiều so với đối chứng. Ở môi trường bổ sung NAA 0,5 mg/l cho tỉ lệ cây ra rễ cao nhất đạt 58,33% tăng 1,93 lần (giai đoạn 2 tuần) và 94,36% tăng 1,05 lần (ở giai đoạn 4 tuần) so với đối chứng; số rễ đạt 3,21 rễ (giai đoạn 2 tuần) cao gấp 1,94 lần và 10,43 rễ (giai đoạn 4 tuần) cao gấp 1,14 lần so với đối chứng. Nhưng tỉ lệ này giảm hơn so với đối chứng khi bổ sung nồng độ NAA cao hơn 0,5

mg/l. Vậy nồng độ tối ưu NAA kích thích ra rễ ở cây Thổ nhân sâm là 0,5 mg/l (Bảng 5).

Khi so sánh các chỉ tiêu về tỉ lệ ra rễ và số rễ ở cùng thời điểm của 2 nồng độ tối ưu IAA 0,5 mg/l và NAA 0,5 mg/l thì thấy rằng IAA hiệu quả hơn NAA rất nhiều. Ở nồng độ IAA 0,5 mg/l cho tỉ lệ cây ra rễ đạt 80,17% (giai đoạn 2 tuần) cao hơn 1,37 lần và 98,12% (ở giai đoạn 4 tuần) cao hơn 1,04 lần so với NAA ở cùng thời điểm; số rễ là 5,13 (giai đoạn 2 tuần) cao hơn 1,59 lần so với NAA. Vậy chất kích thích ra rễ tối ưu ở cây Thổ nhân sâm là IAA 0,5 mg/l.

**Bảng 6.** Kết quả đưa cây Thổ nhân sâm ra môi trường tự nhiên

Giá thể	Tỉ lệ cây sống (%)	Màu sắc hình thái cây	Chiều cao cây sau 15 ngày (cm)	Chiều cao cây sau 30 ngày (cm)	Tốc độ sinh trưởng (lần)
Đất mùn	92,13 ± 0,18	XBT	9,79 ± 0,19	16,05 ± 0,17	1,64
Đất cát	89,67 ± 0,21	Vàng	8,89 ± 0,21	14,23 ± 0,24	1,60
Đất mùn+ trấu hun (1:1)	94,45 ± 0,17	XBT	9,93 ± 0,16	17,12 ± 0,18	1,72

**Hình 3.** Quy trình đưa cây ra môi trường tự nhiên

A: Kéo dài chồi; B: ra rễ; C: ra bầu (1 mùn : 1 trấu hun); D: Cây in vitro ngoài tự nhiên

### Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sinh trưởng của cây con trong vườn ươm

Sau 4 tuần tạo rễ cây Thổ nhân sâm có chiều cao trung bình 5 - 6 cm và có khoảng 10 - 13 rễ tiến hành đưa cây ra môi trường tự nhiên. Bảng 6 cho thấy, cả 3 giá thể cây Thổ nhân sâm đều sống và phát triển được. Trong đó giá thể đất mùn+ trấu hun (1:1) cho tỉ lệ sống sót cao nhất là 94,45%, thấp nhất là giá thể đất cát 89,67%. Tốc độ sinh trưởng của cây khác nhau ở các giá thể, tốt nhất là giá thể đất mùn + trấu hun (cây xanh tốt, tốc độ sinh trưởng đạt 1,72 lần giữa 2 lần theo dõi), tốc độ sinh trưởng thấp nhất là giá thể đất cát 1,60 lần, cây có màu vàng. Vậy giá thể tốt nhất cho cây Thổ nhân sâm ra môi trường tự nhiên là đất mùn + trấu hun (1:1).

### KẾT LUẬN

Khử trùng hạt bằng cồn 70<sup>0</sup> trong 1 phút và javel 60% thời gian 10 phút cho tỉ lệ hạt nảy mầm cao và tỉ lệ nhiễm nấm mốc thấp nhất. Vật liệu thích hợp để tạo đa chồi là đoạn thân mang mắt chồi bên. Môi trường MS cơ bản bổ sung BAP 2,0 mg/l thích hợp cho sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên. Chất kích thích ra rễ tối ưu ở cây Thổ

nhân sâm là IAA 0,5 mg/l và giá thể thích hợp đưa cây ra môi trường tự nhiên là đất mùn + trấu hun tỉ lệ 1:1.

### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn sự giúp đỡ của Phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào thực vật, Bộ môn Sinh học hiện đại & Giáo dục sinh học, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Herwin Suskendriyati, Solichatun Solichatun, Ahmad Dwi Setyawan (2004), The growth and saponin production of the callus culture of *Talinum paniculatum* Gaertn. with variation supplement carbon source, *BioSMART*, 6(1), pp. 19-23.
- Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Y học, Hà Nội.
- Manuhara Y. S. W., Yachya A., Kristanti A. N. (2012), "Effect of Aeration and Inoculum Density on Biomass and Saponin Content of *Talinum Paniculatum* Gaertn. Hairy Roots in Balloon-Type Bubble Bioreactor", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(4), pp. 47-52.
- Chu Hoàng Mậu (2008), *Phương pháp phân tích di truyền hiện đại trong chọn giống cây trồng*, Nxb Đại học Thái Nguyên.
- Murashige T., Skoog F. (1962), "A revised medium growth and biosynthesis with tobacco tissue culture", *Physiol Plant* 15, pp. 473-497.

## SUMMARY

THE DEVELOPMENT *IN VITRO* REGENERATION SYSTEM FOR GENE TRANSFER IN *TALINUM PANICULATUM* PLANTSVu Thi Nhu Trang<sup>1,2</sup>, Nguyen Thi Tam<sup>1</sup>, Chu Hoang Mau<sup>1\*</sup><sup>1</sup> College of Education - TNU<sup>2</sup> College of Medicine and Pharmacy - TNU

*Talinum paniculatum* is a herbaceous plant with high medicinal value and has the capacity to produce drugs such as saponins, 3-O- $\beta$ -D-glucosyl- $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol and other substances. *Talinum paniculatum* is used to kill viruses, fungi molluscicidal, expectorant effect, cough, and diuretic. *In vitro* regeneration not only to increase the biomass but also serves transgenic in aims improve pharmaceutical active substances content in the *Talinum paniculatum* plants. In this study, we present the results of the optimal conditions for sterilization particles, creating materials, *in vitro* culture medium and suitable condition to put the *Talinum paniculatum* into natural environment. Seeds have a high germination rate and lowest prevalence mold when seeds are sterilized by javen in 10 minutes. The tree trunk sections bearing the lateral bud is suitable material to create multiple shoots. The basic MS medium supplemented 2.0 mg/l BAP is the suitable environment for the generation and growing shoots from trunk sections bearing the lateral bud. 0.5 mg/l IAA is medium appropriate to create roots of *Talinum paniculatum*. The suitable condition to put tree into natural environment is humus and rice husks smoked with a ratio of 1: 1. Hurting by splitting along or using nose of needle pricking into trunk sections bearing the lateral bud are both giving highly effective in creating multiple shoots.

**Keywords:** culture medium, *in vitro* regeneration, multiple shoots, *Talinum paniculatum*, trunk sections bearing the lateral bud.

Ngày nhận bài: 24/8/2016; Ngày phản biện: 05/12/2016; Ngày duyệt đăng: 24/01/2017  
Phản biên khoa học: TS. Vũ Thị Thu Thủy - Trường ĐH Sư phạm - ĐHTN

\* Tel: 0913 383 289; Email: chuhoangmau@tnu.edu.vn