

# NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY HOÀN NGỌC TRẮNG (*Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Thị Huyền, Đoàn Thị Thu Hương, Triệu Thị Thắm, Nguyễn Văn Việt

Trường Đại học Lâm nghiệp

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2023.2.010-016>

## TÓM TẮT

Hoàn ngọc trắng (*Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.) là cây thuốc được sử dụng để điều trị nhiều bệnh khác nhau. Kết quả nghiên cứu nhân giống cây hoàn ngọc trắng bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* cho thấy: khử trùng mẫu chồi bánh tẻ bằng dung dịch  $HgCl_2$  0,1% trong thời gian 9 phút, nuôi trên môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BAP, 20 g/l sucrose, 6,5 g/l agar cho tỉ lệ mẫu sạch tái sinh chồi là 86,67% sau 4 tuần nuôi cấy khởi động. Kích thích tạo đa chồi trên môi trường MS bổ sung 0,7 mg/l BAP, 0,3 mg/l kinetin, 30 g/l sucrose, 6,5 g/l agar cho hệ số nhân chồi đạt 5,33 lần/chu kỳ nhân (4 tuần), tỉ lệ chồi hữu hiệu đạt 96,3%. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose và 6 g/l agar cho tỉ lệ chồi ra rễ đạt 98,89%, số rễ trung bình đạt 5,72 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt 4,07 cm. Cây hoàn ngọc trắng nuôi cấy *in vitro* hoàn chỉnh được huấn luyện 10 ngày trong nhà lưới cho thích nghi dần với điều kiện tự nhiên, cây được trồng trên giá thể 50% cát vàng - 50% đất tầng B đạt tỉ lệ sống 98,89%, chiều cao cây trung bình đạt 4,27 cm sau 4 tuần.

**Từ khóa:** đa chồi, hoàn ngọc trắng, *in vitro*, môi trường MS, *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hoàn ngọc trắng (*Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.) là cây thuốc thuộc họ Ô rô (Acanthaceae) lần đầu tiên được tìm thấy ở rừng Cúc Phương, sau đó được tìm thấy nhiều ở đồng bằng sông Cửu Long [1]. Hoàn ngọc trắng được đánh giá là nguồn dược liệu đa dụng trong điều trị nhiều chứng bệnh khác nhau. Cây hoàn ngọc trắng được sử dụng trong y học dân gian một số nước châu Á như Việt Nam, Thái Lan để điều trị các bệnh như tăng huyết áp, tiêu chảy, viêm khớp, trĩ, đau dạ dày, viêm đại tràng, chảy máu, tiểu đường, khối u và bệnh thận [2]. Bên cạnh việc sử dụng chữa bệnh trên người, hoàn ngọc trắng cũng được dùng để chữa bệnh cho vật nuôi như bệnh tiêu chảy ở lợn, chó, bệnh dịch tả ở gà và vịt [1]. Các bộ phận thường được khai thác sử dụng là lá và rễ. Lá của cây hoàn ngọc được báo cáo chứa một số chất có hoạt tính sinh học có giá trị như  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, kaempferol, apigenin, axit salicylic, saponin, triterpenoid, phytol... Kết quả phân tích cho thấy lá tươi cũng giàu các axit amin thiết yếu như lysine, methionine, threonine và các khoáng chất như canxi, kali, magie và sắt. Rễ cây hoàn ngọc trắng cũng được sử dụng để sản xuất các dược

phẩm điều trị những bệnh do viêm nhiễm, ung thư...[3-5].

Hiện nay, nhu cầu sử dụng nguồn dược liệu từ thực vật ngày càng lớn nên các loài cây dược liệu trong tự nhiên đang bị suy giảm về số lượng và chất lượng bởi sự khai thác quá mức và các điều kiện tự nhiên ngày càng bất lợi ảnh hưởng đến nguồn cung dược liệu, trong đó có cây hoàn ngọc trắng. Cây hoàn ngọc nằm trong danh mục các loài dược liệu được ưu tiên phát triển [6] nhưng hiện nay nhân giống chủ yếu bằng giâm hom nên năng suất, chất lượng cây con thấp dẫn đến diện tích trồng trên cả nước ngày càng thu nhỏ. Do đó, áp dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* giúp tăng năng suất và chất lượng cây con có vai trò quan trọng trong công tác nhân giống và phát triển cây hoàn ngọc trắng. Cho đến nay các nghiên cứu về nuôi cấy cây hoàn ngọc trắng *in vitro* không nhiều, chủ yếu tập trung vào nghiên cứu một số điều kiện ảnh hưởng đến tái sinh chồi từ lóng cây, mô lá, nghiên cứu sự phát sinh phôi soma từ mô sẹo lá non [7], hay nghiên cứu phát sinh mô sẹo *in vitro* phục vụ cho việc sàng lọc và tách chiết một số hợp chất thứ cấp có giá trị [8].

Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu nhân giống thành công cây hoàn ngọc trắng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đạt hệ số nhân giống cao, có thể áp dụng vào sản xuất cây con chất lượng cao phục vụ cho mục đích phát triển và thương mại.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cành bánh tẻ lấy từ cây mẹ hoàn ngọc trắng sinh trưởng tốt, không sâu bệnh được thu thập tại Quảng Ninh.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Tạo mẫu sạch in vitro:** Chồi hoàn ngọc trắng được rửa sạch bề mặt bằng nước xà phòng loãng, sau đó tráng sạch xà phòng dưới vòi nước chảy. Tiếp tục rửa trong nước cất vô trùng 2 - 3 lần và khử trùng mẫu bằng HgCl<sub>2</sub> 0,1% với các thời gian khác nhau (từ 5 - 11 phút). Cuối cùng, dùng nước cất vô trùng tráng mẫu nhiều lần để loại bỏ hóa chất khử trùng trước khi đưa vào môi trường nuôi cấy khởi động.

**Nuôi cấy khởi động:** Sau khi khử trùng, mẫu được cắt thành từng đoạn chứa mắt ngủ kích thước dài 4 - 5 cm và cấy vào môi trường nuôi cấy khởi động. Sau 4 tuần nuôi cấy, các chồi tái sinh thu được sẽ sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

**Nhân nhanh chồi:** Các chồi hoàn ngọc trắng in vitro khỏe mạnh thu được từ thí nghiệm trước được tách thành các đoạn chứa mắt ngủ kích thước dài 1,5 - 2 cm và cấy vào môi trường nhân nhanh chồi có hàm lượng các chất điều hòa sinh trưởng BAP, NAA và kinetin khác nhau. Sau 6 tuần nuôi cấy, thống kê số chồi tạo ra trên cụm chồi, số chồi hữu hiệu và

tính hệ số nhân chồi.

**Tạo cây hoàn chỉnh:** chồi hữu hiệu thu được từ giai đoạn nhân nhanh chồi có chiều cao từ 2 - 3 cm được cấy vào vào môi trường ra rễ chứa hàm lượng các chất điều hòa sinh trưởng NAA và IBA khác nhau để tạo cây hoàn chỉnh. Sau 6 tuần nuôi cấy thống kê chiều dài rễ trung bình, số rễ trung bình trên một cây và chất lượng rễ thu được.

**Huấn luyện và ra ngôi:** Các cây hoàn ngọc trắng hoàn chỉnh được huấn luyện ở nhà lưới dưới ánh sáng tán xạ với các thời gian khác nhau (từ 0 - 10 ngày). Sau đó, rửa sạch agar ở cây con và cấy vào bầu chứa giá thể phối trộn với các công thức khác nhau. Các bầu cây được đặt trong vườn ươm có che lưới đen để tránh ánh sáng trực xạ, duy trì tưới phun sương 2 lần/ngày. Sau 4 tuần ra ngôi, thống kê tỉ lệ cây sống, chiều cao và chất lượng cây con.

**Bố trí thí nghiệm:** các thí nghiệm nuôi cấy được bố trí trong bình tam giác thủy tinh (5 mẫu/bình 250 ml), mỗi công thức thí nghiệm cấy 30 mẫu, lặp lại 3 lần. Thành phần các môi trường nuôi cấy sử dụng trong thí nghiệm như mô tả ở Bảng 1.

**Điều kiện nuôi cấy:** Cường độ chiếu sáng 3000 lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày, nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2<sup>0</sup>C. Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng MS (Murashige & Skoog, 1962) và được điều chỉnh về pH 5,8, khử trùng ở 118<sup>0</sup>C trong 20 phút.

**Xử lý số liệu:** Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học ứng dụng các phần mềm như Excel và SPSS.

**Bảng 1. Thành phần các loại môi trường nuôi cấy cây hoàn ngọc trắng in vitro**

Giai đoạn nuôi cấy	Kí hiệu môi trường	Công thức môi trường
Nuôi cấy khởi động	NCKĐ	MS + 0,3 mg/l BAP + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar
Nhân nhanh chồi	N1-N8	MS + 0,3-1 mg/l BAP + 0,3-0,5 mg/l kinetin + 0-0,1 mg/l NAA + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar
Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh	RR1-RR4	MS + 0,2-0,5 mg/l NAA + 0,2-0,5 mg/l IBA + 20 g/l sucrose + 6 g/l agar
Ra ngôi	RB1-RB5	RB1: 100% đất tầng B; RB2: 25% cát vàng + 75% đất tầng B; RB3: 50% cát vàng + 50% đất tầng B; RB4: 75% cát vàng + 25% đất tầng B; RB5: 100% cát vàng

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Tạo mẫu sạch *in vitro*

Tạo mẫu sạch là yếu tố quan trọng quyết định đến sự thành công của cả quy trình nhân giống *in vitro*. Tạo được mẫu sạch *in vitro* thành công phụ thuộc vào thời gian khử trùng và nồng độ chất khử trùng. Do đó, việc tìm ra công thức khử trùng tối ưu với vật liệu nghiên

cứu để đem lại hiệu quả tạo mẫu sạch và tái sinh chồi *in vitro* cao nhất là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này sử dụng chất khử trùng là HgCl<sub>2</sub> 0,1% với thời gian khử trùng khác nhau. Hiệu quả của các công thức khử trùng được theo dõi và đánh giá thông qua tỉ lệ mẫu sạch và tỉ lệ mẫu tái sinh sau 4 tuần nuôi cấy, thể hiện trong Bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến hiệu quả tạo mẫu sạch *in vitro***

Công thức thí nghiệm (CTTN)	Thời gian khử trùng (phút)	Tỉ lệ mẫu sạch (%)	Tỉ lệ tái sinh chồi (%)
M <sub>1</sub>	5	67,78 <sup>b</sup>	61,11 <sup>a</sup>
M <sub>2</sub>	7	85,56 <sup>c</sup>	75,56 <sup>c</sup>
M <sub>3</sub>	9	95,89 <sup>a</sup>	86,67 <sup>b</sup>
M <sub>4</sub>	11	100 <sup>d</sup>	57,78 <sup>d</sup>

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ .

Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường nuôi cấy khởi động, kết quả thu được cho thấy sử dụng chất khử trùng là HgCl<sub>2</sub> 0,1% trên cây hoàn ngọc trắng với thời gian càng dài thì tỉ lệ tạo mẫu sạch thu được càng cao (thời gian tăng từ 5 - 11 phút cho tỉ lệ mẫu sạch tương ứng 67,78 - 100%). Tuy nhiên, khi so sánh tỉ lệ mẫu tái sinh chồi thì tăng thời gian khử trùng từ 5-9 phút tỉ lệ tái sinh chồi cũng tăng dần, đạt cao nhất (86,67%) ở công thức thí nghiệm M<sub>3</sub> (9 phút) và giảm mạnh xuống 57,78% khi tiếp tục tăng thời gian khử trùng lên 11 phút. HgCl<sub>2</sub> có tác dụng tiêu diệt vi sinh vật rất mạnh do chứa gốc clorua có khả năng oxy hóa các liên kết peptide nên làm biến tính protein của vi sinh vật [9]. Tuy nhiên, khi sử dụng ở thời gian dài thì không chỉ tiêu diệt vi sinh vật, HgCl<sub>2</sub> còn thẩm thấu vào bên trong và gây độc cho tế bào thực vật, làm ảnh hưởng đến sức sống và khả năng tái sinh *in vitro*. Từ đó có thể thấy, thời gian khử trùng 11 phút bằng HgCl<sub>2</sub> 0,1% là quá dài nên làm giảm khả năng tái sinh *in vitro* của cây hoàn ngọc trắng. Từ kết quả trên,

nhận thấy công thức thí nghiệm M<sub>3</sub> với thời gian khử trùng 9 phút cho tỉ lệ mẫu sạch đạt 95,89% và 86,67% mẫu tái sinh chồi là công thức khử trùng thích hợp nhất với cây hoàn ngọc trắng (Hình 1a). Kết quả phân tích so sánh các công thức thí nghiệm về chỉ tiêu tỉ lệ mẫu sạch và tỉ lệ mẫu tái sinh có Sig nhỏ hơn 0,05 nên kết quả nghiên cứu có ý nghĩa thống kê.

#### 3.2. Nhân nhanh chồi *in vitro*

Chồi hoàn ngọc trắng *in vitro* thu được ở thí nghiệm nuôi cấy khởi động (mục 3.1) có chiều cao 1,5 - 2 cm được cắt bớt lá, lựa chọn các đoạn chứa mắt ngủ cây chuyển sang môi trường nhân nhanh chứa các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau. Chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) được sử dụng trong giai đoạn này là chủ yếu là các chất thuộc nhóm cytokinin để kích thích sự phân hóa, sinh trưởng và phát triển chồi của mẫu cấy *in vitro*. Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả bảng 3 cho thấy khi bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng BAP, kinetin và NAA có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng nhân chồi hoàn ngọc trắng.

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

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)			Hệ số nhân chồi (lần)	Tỉ lệ chồi hữu hiệu (%)	Chất lượng chồi
	BAP	Kinetin	NAA			
ĐC	-	-	-	0,73 <sup>f</sup>	0 <sup>a</sup>	Chồi ngắn, nhỏ, không đồng đều
N <sub>1</sub>	0,3	0,3	0,1	3,17 <sup>e</sup>	73,73 <sup>bc</sup>	Chồi ngắn, nhỏ, không đồng đều
N <sub>2</sub>	0,5	0,3	0,1	4,17 <sup>c</sup>	89,20 <sup>bc</sup>	Chồi cao, mập, không đồng đều
<b>N<sub>3</sub></b>	<b>0,7</b>	<b>0,3</b>	<b>0,1</b>	<b>5,33<sup>c</sup></b>	<b>96,30<sup>d</sup></b>	<b>Chồi cao, mập, đồng đều</b>
N <sub>4</sub>	1	0,3	0,1	2,83 <sup>b</sup>	80,24 <sup>c</sup>	Chồi cao, mập, không đồng đều
N <sub>5</sub>	0,5	-	0,1	1,28 <sup>a</sup>	65,28 <sup>e</sup>	Chồi ngắn, nhỏ, không đồng đều
N <sub>6</sub>	1	-	0,1	1,06 <sup>a</sup>	57,94 <sup>g</sup>	Chồi ngắn, nhỏ, không đồng đều
N <sub>7</sub>	0,5	0,3	-	2,06 <sup>d</sup>	84,44 <sup>ef</sup>	Chồi cao, mập, không đồng đều
N <sub>8</sub>	1	0,5	-	1,67 <sup>ad</sup>	76,67 <sup>f</sup>	Chồi ngắn, nhỏ, không đồng đều

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$ .

Kết quả thu được ở Bảng 3 cho thấy, công thức môi trường đối chứng N<sub>1</sub> không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng cho kết quả thấp nhất khi các chồi hầu như không có khả năng phát triển chồi mới và không có chồi hữu hiệu, chất lượng chồi kém, không đồng đều nhau. Khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP, kinetin và NAA với các hàm lượng khác nhau làm cho hệ số nhân chồi tăng lên rõ rệt. Hệ số nhân chồi tăng từ 1,06 (công thức N<sub>6</sub>) lên cao nhất 5,33 lần (công thức N<sub>3</sub>). Tỉ lệ chồi hữu hiệu cũng tăng một cách đáng kể từ 57,94% (công thức N<sub>6</sub>) lên cao nhất 96,30 (công thức N<sub>3</sub>). Mục đích của nhân nhanh chồi là tạo số lượng lớn chồi hữu hiệu để cung cấp nguyên liệu cho giai

đoạn ra rễ. Do đó, dựa vào kết quả thu được công thức thí nghiệm N<sub>3</sub> với hệ số nhân nhanh chồi 5,33 lần và tỉ lệ chồi hữu hiệu 96,3% là thích hợp nhất đối với cây hoàn ngọc trắng (Hình 1b). Phân tích so sánh giữa các công thức thí nghiệm về chỉ tiêu tỉ lệ chồi hữu hiệu có Sig nhỏ hơn 0,05 nên kết quả nghiên cứu có ý nghĩa thống kê.

### 3.3. Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi hữu hiệu thu được từ thí nghiệm nhân nhanh được chuyển sang môi trường ra rễ tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh. Kết quả sau 6 tuần nuôi cấy cho thấy nồng độ NAA và IBA khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ của cây hoàn ngọc trắng.

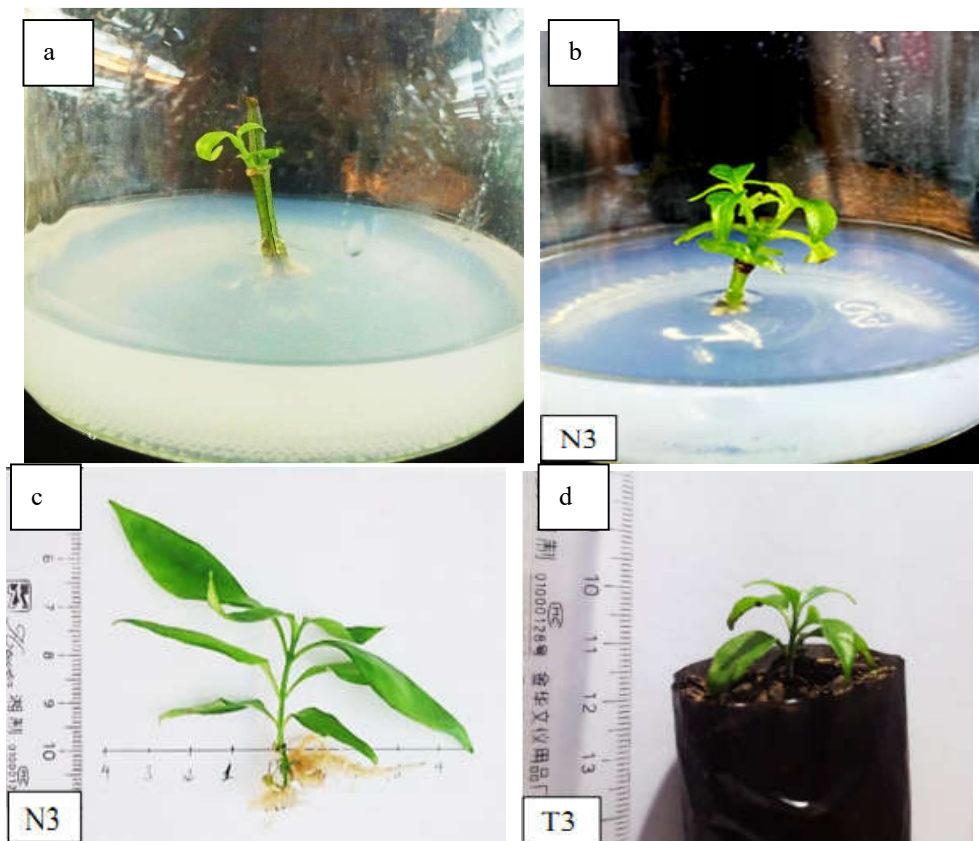
**Bảng 4. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng ra rễ *in vitro***

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều dài rễ TB (cm)	Số rễ TB/chồi (rễ)	Đặc điểm rễ
	NAA	IBA				
ĐC	-	-	25,56 <sup>c</sup>	0,73 <sup>a</sup>	0,51 <sup>b</sup>	+
RR <sub>1</sub>	0,2	0,3	75,56 <sup>b</sup>	3,07 <sup>c</sup>	2,17 <sup>a</sup>	++
RR <sub>2</sub>	0,3	0,2	81,11 <sup>b</sup>	3,27 <sup>c</sup>	2,61 <sup>a</sup>	++
<b>RR<sub>3</sub></b>	<b>0,5</b>	<b>-</b>	<b>98,89<sup>a</sup></b>	<b>4,07<sup>b</sup></b>	<b>5,72<sup>c</sup></b>	<b>++++</b>
RR <sub>4</sub>	-	0,5	87,78 <sup>d</sup>	3,42 <sup>d</sup>	4,56 <sup>d</sup>	+++

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$ ; (+): rễ ngắn, mập, ít lông hút; (++) : rễ mảnh, ngắn, ít lông hút; (+++) : rễ mập, ngắn, nhiều lông hút; (++++): rễ dài, mập, nhiều lông hút.

Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, hầu hết các chồi *in vitro* không thể tự tổng hợp auxin như cây con ngoài tự nhiên nên việc bổ sung auxin phù hợp giúp tạo rễ cho cây là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này sử dụng 2 loại auxin là NAA và IBA riêng rẽ và kết hợp với nhau. Kết quả thu được từ Bảng 4 cho thấy bổ

sung chất ĐHST cho sự khác biệt rõ rệt so với công thức đối chứng. Bổ sung NAA và IBA từ 0,2 - 0,5 mg/l giúp ích cho việc hình thành rễ ở các chồi *in vitro*. Trong đó, ở công thức RR3 bổ sung 0,5 mg/l NAA cho kết quả tốt nhất với số rễ trung bình/chồi đạt 5,72 rễ, chiều dài rễ trung bình là 4,07 cm (Hình 1c).



**Hình 1. Cây hoàn ngọc trắng nhân giống *in vitro***

- (a) Chồi hoàn ngọc trắng nảy mầm trên môi trường nuôi cấy khởi đầu sau 4 tuần;
- b) Chồi cây hoàn ngọc trắng trên môi trường N<sub>3</sub> sau 6 tuần;
- c) Rễ cây hoàn ngọc trắng phát triển trên môi trường RR<sub>3</sub> sau 6 tuần;
- d) Cây hoàn ngọc trắng trên giá thể RB<sub>3</sub> sau 4 tuần.

### 3.4. Kết quả huấn luyện và ra ngôi

Các cây con *in vitro* hoàn chỉnh được đưa ra nhà lưới huấn luyện trong thời gian 10 ngày để tạo điều kiện cho cây con làm quen dần với tự dưỡng và thích nghi với các điều kiện bên ngoài phòng thí nghiệm. Sau khi huấn luyện, cây con đủ tiêu chuẩn được rửa sạch thạch và trồng vào giá thể tại vườn ươm. Ở giai đoạn đầu ra ngôi, thành phần ruột bầu là yếu tố

quyết định sức sống và sự phát triển của cây con. Giá thể tốt sẽ giúp cung cấp đủ nước, chất dinh dưỡng đồng thời đủ độ thông thoáng không làm thối rễ cây con. Trong thí nghiệm này, thành phần ruột bầu trồng cây con hoàn ngọc trắng *in vitro* được bố trí với 5 công thức. Sau 4 tuần trồng, các chỉ tiêu để đánh giá tỉ lệ sống và sự sinh trưởng của cây con được thống kê và tổng hợp ở Bảng 5.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến khả năng sống, sinh trưởng cây hoàn ngọc trắng *in vitro***

CTTN	Thành phần ruột bầu	Tỉ lệ sống (%)	Chiều cao cây TB (cm)	Chất lượng cây con
RB <sub>1</sub>	100% đất tầng B	76,67 <sup>a</sup>	2,38 <sup>a</sup>	+
RB <sub>2</sub>	25% cát vàng - 75% đất tầng B	91,11 <sup>bc</sup>	3,42 <sup>c</sup>	++
RB <sub>3</sub>	<b>50% cát vàng – 50% đất tầng B</b>	<b>98,89<sup>bc</sup></b>	<b>4,27<sup>b</sup></b>	+++
RB <sub>4</sub>	75% cát vàng – 25% đất tầng B	85,56 <sup>d</sup>	3,02 <sup>dc</sup>	++
RB <sub>5</sub>	100% cát vàng	46,67 <sup>e</sup>	2,73 <sup>de</sup>	+

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau ở mức ý nghĩa  $\alpha=0,05$ ; (+): cây phát triển kém, lá nhạt màu; (++): cây phát triển chậm, lá xanh tốt; (+++): cây phát triển nhanh, lá xanh tốt.

Kết quả thu được ở Bảng 5 cho thấy, ở công thức RB<sub>1</sub> (100% đất tầng B – loại đất giàu dinh dưỡng nhưng có độ xốp và khả năng thoát nước kém) tỉ lệ sống không cao (76,67%), cây kém phát triển, thân cây mảnh. Ở công thức RB<sub>5</sub> (100% cát vàng) không có khả năng giữ nước và các chất dinh dưỡng nên cây mất nước và tỉ lệ cây chết cao, cây kém phát triển. Giá thể gồm 50% cát vàng và 50% đất tầng B (RB<sub>3</sub>) là thích hợp nhất cho tỉ lệ cây sống 98,89%, chiều cao cây trung bình 4,27 cm, cây có chất lượng tốt (Hình 1d). Sau 4 tuần nuôi cây ban đầu, cây sống được chuyển ra đất trồng sản xuất.

#### 4. KẾT LUẬN

- Chồi bánh tẻ hoàn ngọc trắng sau khi rửa sạch bằng nước xà phòng loãng, khử trùng diệt nấm và vi khuẩn bằng dung dịch HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong thời gian 9 phút, nuôi trên môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BAP, 20 g/l sucrose, 6,5 g/l agar cho tỉ lệ mẫu sạch tái sinh chồi là 86,67% sau 4 tuần nuôi cấy khởi động.

- Môi trường nhân nhanh chồi hoàn ngọc trắng là MS bổ sung 0,7 mg/l BAP, 0,3 mg/l kinentin, 30 g/l sucrose, 6,5 g/l agar cho hệ số nhân chồi 5,33 lần/chu kỳ nhân (4 tuần), tỉ lệ chồi hữu hiệu đạt 96,3%.

- Môi trường nuôi cấy kích thích chồi hoàn ngọc trắng ra rễ: MS bổ sung 0,5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose và 6 g/l agar cho tỉ lệ chồi ra rễ đạt 98,89%, số rễ trung bình đạt 5,72 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt 4,07 cm.

- Cây hoàn ngọc trắng nuôi cấy *in vitro* hoàn chỉnh được huấn luyện 10 ngày trong nhà lưới cho thích nghi dần với điều kiện tự nhiên, cây được trồng trên giá thể 50% cát vàng – 50%

đất tầng B đạt tỉ lệ sống 98,89%, chiều cao cây trung bình đạt 4,27 cm sau 4 tuần.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Huynh Kim Dieu, Chau Ba Loc, Yamasaki Seishi & Hitara Yutaka (2005). The ethnobotanical and botanical study on *Pseuderanthemum palatiferum* as a new medicinal plant in the Mekong Delta of Vietnam. Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ. 39(3): 191-196.
- [2]. Peerawit Padee (2009). Current information of medicinal plants: *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. J Health Sci. 8: 131-138.
- [3]. Huỳnh Kim Diệu (2008). Khảo sát thành phần hóa học của lá xuân hoa (*Pseuderanthemum palatiferum*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. (9): 232-240.
- [4]. Padee P., Nualkaew S., Talubmook C. & Sakuljaitrong S. (2010). Hypoglycemic effect of a leaf extract of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 132(2): 491-496.
- [5]. Phan Minh Giang, Ha Viet Bao & Phan Tong Son (2003). Phytochemical study on *pseuderanthemum palatiferum* (nees) radlk., acanthaceae. Journal of Chemistry 41: 115-118.
- [6]. Bộ y tế (2015). Quyết định số 206/QĐ-BYT ngày 22/01/2015 ban hành Danh mục cây dược liệu ưu tiên phát triển giai đoạn 2015-2020.
- [7]. Tran Thi Tuyet Nhung, Phan Ngo Hoang & Nguyen Du Sanh (2014). Somatic embryogenesis from Hoan ngọc (*Pseuderanthemum palatiferum* (Ness) Radlk) leaf callus. VNUHCM Journal of Science and Technology Development. 17(2): 100-107.

[8]. Nuanjan Petsangkrit & Nisit Kittipongpatana (2015). Establishment of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk callus culture and screening of secondary metabolite production. *Int J Pharm Pharm Sci.* 8: 275-80.

[9]. N Ramakrishna, J Lacey & JE Smith (1991). Effect of surface sterilization, fumigation and gamma irradiation on the microflora and germination of barley seeds. *International journal of food microbiology.* 13(1): 47-54.

## **MICROPROPAGATION OF *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk.**

**Nguyen Thi Huyen, Doan Thi Thu Huong, Trieu Thi Tham, Nguyen Van Viet**  
*Vietnam National University of Forestry*

### **ABSTRACT**

Procedure for micropropagation *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk has developed. The results showed that the most suitable method for apex meristem surface sterilization was soaked in 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 9 minutes (the regeneration percentage archived 86.67% after 4 weeks of culturing. MS basal medium supplemented with 0.7 mg/l BAP, 0.3 mg/l kinetin, 30 g/l sucrose was the most effective medium for multi-shoot regeneration (5.33 shoots/explant and the percentage of potential shoots was 96.3%). 98.89% of shoots have rooted on MS medium containing 0.5 mg/l NAA, 20 g/l sucrose and 6 g/l agar. The average roots were 5.72 roots/shoot and the average length of roots was 4.07 cm after 4 weeks of culturing. The survival rate archived at 98.89% after 4 weeks of *ex-vitro* acclimating and transplanting to pots of 50% sand, 50% B layer soil. The plantlets grew and developed well with an average height of 4.27 cm.

**Keywords:** *in vitro*, MS medium, multi-shoot, *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk, roots.

**Ngày nhận bài** : 25/11/2022

**Ngày phản biện** : 28/12/2022

**Ngày quyết định đăng** : 10/01/2023