

## NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY NGURU TẮT (*Achyranthes bidentata* Blume)

Trần Thị Thời<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hồng Gấm<sup>1</sup>, Lê Thị Mận<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Trường Đại học Hùng Vương

### TÓM TẮT

Nhân giống cây Nguru tắt (*Achyranthes bidentata* Blume) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đã được nghiên cứu thành công, kết quả cho thấy: Hạt cây Nguru tắt được khử trùng bề mặt bằng cồn 70% (v/v) trong 1 phút, Javen 6% (v/v) trong 15 phút cho tỷ lệ mẫu sạch là 80,50% và tỷ lệ nảy mầm là 93,03%. Môi trường MS cơ bản bổ sung 0,1 mg/l NAA, 0,2 mg/l BAP, 0,1 mg/l Kinetin, 7 g/l agar và 20g/l sucrose là thích hợp để nhân nhanh, cho hệ số nhân nhanh chồi cao nhất đạt 10,7 chồi/mẫu và tỷ lệ chồi hữu hiệu là 91,20%. Môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l NAA, 7 g/l agar và 20 g/l sucrose là thích hợp để ra rễ cho chồi *in vitro*, tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, chiều dài rễ trung bình là 1,1 cm và số rễ trung bình trên chồi là 8,5 rễ/chồi. Cây con *in vitro* sinh trưởng tốt với thành phần ruột bầu là 75% đất, 25% cát, tỷ lệ sống cao nhất (83,33%), rễ phát triển tốt. Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể ứng dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* vào nhân giống cây Nguru tắt, tạo ra số lượng cây giống lớn, chất lượng cao cung ứng cho nhu cầu trồng và phát triển loài cây dược liệu này.

**Từ khóa:** Cây dược liệu, cây Nguru tắt, chất điều sinh trưởng, nhân giống vô tính, nuôi cấy mô.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Nguru tắt (*Achyranthes bidentata* Blume) là một trong những loài cây thuốc quý thuộc họ Amaranthaceae. Cây Nguru tắt là một loài cây thảo mộc lâu năm phân bố ở nhiều vùng nhiệt đới châu Á và châu Phi bao gồm nhiều nước như Việt Nam, Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Nhật Bản (Chopra, 1958; Đỗ Tất Lợi, 1999). Cây này có chứa nhiều hợp chất tự nhiên có giá trị dược liệu như alkaloids (achyranthine), rutin, axit oleanolic, axit caffeic, polysaccharides, saponin, terpenoids, triterpenoid, sitosterol và stigmasterol (Nguyen và cộng sự, 1995; Nguyen and Doan, 1989). Các bộ phận khác nhau của cây được sử dụng có hiệu quả để điều trị một số bệnh như ho, hen, sốt, phát ban da, tiêu chảy, tiểu đường, đau răng, viêm loét, viêm khớp, bệnh về gan và thận, giảm huyết áp, tăng cường tuần hoàn máu, kích thích miễn dịch (Chandra and Pandey 1983; Đỗ Tất Lợi, 1999; Manandhar, 2002; Zhao và cộng sự, 2004). Do có giá trị nên loài cây dược liệu này đã bị khai thác quá mức, dẫn đến khan hiếm ngoài tự nhiên. Vì vậy, việc nghiên cứu nhân giống, bảo tồn và phát triển nguồn gen loài cây Nguru tắt là cần thiết.

Hiện nay, trên thế giới và ở Việt Nam có một số báo cáo nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Nguru Tắt, tuy nhiên hệ số tái sinh

chồi từ các loại mẫu cây là thấp; thậm chí có sự khác nhau về tỷ lệ tái sinh khi nuôi cấy cùng một loại mẫu (Dong và cộng sự, 2002; Li và cộng sự, 2004; Wesely và cộng sự, 2012; Md. Jakir và cộng sự, 2013). Trong nhân giống *in vitro*, mỗi giống xuất xứ khác nhau thì hiệu suất nhân giống khác nhau. Do đó, đối với mỗi giống cần xác định môi trường nhân giống phù hợp mới đem lại hiệu quả. Bài báo này, công bố kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Nguru tắt đạt hiệu quả cao nhằm góp phần vào công tác bảo tồn nguồn gen và nhân giống phục vụ thương mại hóa loài dược liệu có giá trị này.

### 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt Nguru tắt được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Ngũ Hiệp, Thanh Trì, Hà Nội.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### Tạo mẫu sạch từ hạt cây Nguru tắt:

Hạt Nguru tắt khô được khử trùng theo phương pháp của (Wesely và cộng sự, 2012). Hạt được bóc bỏ sạch vỏ hạt, lặt rửa mẫu bằng dung dịch xà phòng loãng trong thời gian 10 - 15 phút. Loại bỏ xà phòng và rửa sạch mẫu dưới vòi nước chảy cho hết xà phòng rồi tráng lại bằng nước cất 2 - 3 lần. Tiếp theo, hạt được khử trùng bề mặt bằng cồn 70% (v/v) trong 1

phút và Javen 6 (v/v) % trong khoảng thời gian khác nhau: 5, 7, 10, 15 và 20 (phút) . Rửa lại bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần, cấy lên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung 20 g/l sucrose và 7 g/l agar, pH = 5,8. Theo dõi tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chồi sau 2 tuần nuôi cấy.

**Nhân nhanh chồi Ngưu tất:**

Vật liệu nhân giống là những chồi sạch có kích thước từ 1 - 1,5 cm được cấy vào môi trường nhân nhanh (MS, 7g/l agar và 20g/l sucrose) có bổ sung tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) (0 - 0,3 mg/l Kinetin; 0 - 0,5 mg/l BAP; 0,1 - 0,25 mg/l NAA). Theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%), số chồi tái sinh và chiều cao chồi (cm) sau 4 tuần nuôi cấy.

**Tạo cây Ngưu tất hoàn chỉnh từ chồi in vitro:**

Chồi *in vitro* đạt tiêu chuẩn (mập, lá xanh đậm, kích thước từ 3 - 4 cm) được chuyển sang môi trường ra rễ là môi trường MS, 7 g/l agar và 20 g/l sucrose có bổ sung các tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng 0 - 0,3 mg/l NAA và 0 - 0,2 mg/l IBA. Theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ ra rễ (%) và chiều dài rễ (cm) sau 4 tuần nuôi cấy.

**Huấn luyện và đưa cây con Ngưu tất cấy mô ra vườn ương:**

Các bình cây con ra rễ *in vitro* được đưa ra

nhà lưới trong thời gian 7 đến 10 ngày. Sau đó lấy cây *in vitro* ra khỏi bình và rửa sạch thạch bằng nước máy. Cây con được cấy vào giá thể đất đồi tầng B với tỷ lệ phối trộn với cát pha khác nhau (100% đất đồi tầng B, 75% đất đồi tầng B bổ sung 25% cát, 50% đất đồi tầng B bổ sung 50% cát). Cây con được che chắn ánh sáng chiếu trực xạ bằng lưới đen, tưới nước bằng cách phun sương 2-4 lần, đảm bảo độ ẩm  $\geq 90\%$ , trong 2 tuần đầu.

**Phương pháp xử lý số liệu:**

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỷ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn khi bình phương ( $\chi^2$ ). So sánh kết quả các công thức thí nghiệm về số lượng chồi/cụm, chiều cao chồi, chiều dài rễ và số lượng rễ/cây bằng phân tích phương sai một nhân tố. Số liệu đã thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005) và phần mềm Excel.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả tạo mẫu sạch từ hạt Ngưu tất**

Tạo vật liệu khởi đầu cho nuôi cấy *in vitro* đóng vai trò quan trọng trong quy trình nhân giống *in vitro*. Trong nghiên cứu này, kết quả tạo vật liệu khởi đầu từ hạt cây Ngưu tất được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng Javen 6% (v/v) đến khả năng tạo mẫu sạch và tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (sau 2 tuần nuôi cấy)**

CTTN	Thời gian khử trùng bằng Javen (phút)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ hạt sạch nảy mầm (%)	Hình thái cây mầm
KT1	5	10,25	97,16	Mập, xanh
KT2	7	12,73	96,43	Mập, xanh
KT3	10	40,47	93,78	Mập, xanh
<b>KT4</b>	<b>15</b>	<b>80,50</b>	<b>93,03</b>	<b>Mập, xanh</b>
KT5	20	92,65	70,52	Mảnh, vàng

Từ kết quả bảng 1 cho thấy khi khử trùng bằng dung dịch Javen 6% (v/v) trong 5 phút cho tỷ lệ mẫu sạch thấp nhất (10,25%) dẫn đến số mẫu có khả năng nảy mầm cũng thấp. Khi tăng thời gian khử trùng lên 7 và 15 phút, tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ tái sinh chồi đều tăng. Đặc

biệt ở công thức 15 phút, thu được tỷ lệ mẫu sạch 80,50% và khả năng nảy mầm đạt 93,03% (hình 1a). Tuy nhiên, tiếp tục tăng thời gian khử trùng lên 20 phút tỷ lệ mẫu sạch tiếp tục tăng và đạt giá trị lớn nhất là 92,65% nhưng tỷ lệ mẫu sạch có khả năng nảy mầm lại giảm chỉ

còn 70,52% . Kết quả là do với thời gian khử trùng 5 phút thời gian ngắn chưa đủ để diệt các mầm bệnh trên mẫu dẫn đến tỷ lệ mẫu sạch thấp, với thời gian 20 phút thời gian dài đủ để tiêu diệt các mầm bệnh và hạn chế sự phát triển của vi sinh vật trên mẫu vật nhưng lại gây độc hại cho mẫu vật làm cho mẫu vật thâm đen và chết

Như vậy, thời gian khử trùng thích hợp nhất

đối với hạt Nguru tất khi khử trùng bằng Javen 6% (v/v) là trong 15 phút. Công thức này cho tỷ lệ mẫu sạch là 80,50% và tỷ lệ mẫu này mầm 93,03%.

**2. Kết quả nhân nhanh chồi Nguru tất**

Kết quả đánh giá ảnh hưởng tổng hợp của BAP, Kinetin và IBA đến khả năng nhân chồi Nguru tất sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi Nguru tất (sau 4 tuần nuôi cấy)**

CTTN	Hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)			Hệ số nhân nhanh chồi (lần)	Tỷ lệ chồi hữu hiệu (%)	Đặc điểm chồi
	Kinetin	BAP	NAA			
NT1	-	-	0,2	4,0	70,25	++
NT2	-	0,2		4,5	80,33	+
NT3		0,1		7,2	85,50	++
<b>NT4</b>		<b>0,2</b>		<b>10,7</b>	<b>91,20</b>	<b>+++</b>
NT5	<b>0,1</b>	0,3	0,1	10,2	89,55	++
NT6		0,4		9,5	78,00	++
NT7		0,5		6,0	73,56	++
NT8		-	0,2	5,5	75,60	+++
NT9	0,3	0,2	0,2	8,0	92,28	++
NT10		0,2	0,25	7,2	87,78	+++

*Ghi chú: + Chất lượng chồi kém (chồi mảnh, còi, yếu); ++ Chất lượng chồi khá (chồi trung bình, mọng nước, xanh); +++ Chất lượng chồi tốt (chồi cao, mập, thân và lá xanh đồng đều).*

Kết quả thu được cho thấy tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng trong nghiên cứu này có sự tác động rõ đến quá trình nhân nhanh. Môi trường MS có bổ sung thêm 0,1 mg/l NAA nhưng không bổ sung thêm BAP và Kinetin cho hệ số nhân chồi thấp, chỉ đạt 4,0 lần, tỷ lệ chồi hữu hiệu là 70,25% và chất lượng chồi kém (Bảng 2). Khi bổ sung NAA và BAP vào môi trường nhân nhanh thì hệ số nhân nhanh chồi, tỷ lệ chồi hữu hiệu và chất lượng chồi được cải thiện đáng kể. Kết hợp giữa Kinetin, BAP và NAA vào môi trường nhân nhanh với nồng độ từ 0,1 - 0,2 mg/l thì hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu tăng lên rõ rệt, chất lượng chồi

tốt, chồi cao, mập, thân và lá đồng đều, chồi cứng cáp không mọng nước (hình 1b), trong đó môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l Kinetin, 0,2 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA, hệ số nhân chồi đạt cao nhất 10,7 lần và tỷ lệ chồi hữu hiệu cao nhất 91,20% (Bảng 1). Tuy nhiên, tiếp tục tăng nồng độ BAP lên 0,3 - 0,5 mg/l thì khả năng nhân chồi giảm xuống, phân mô sẹo ở gốc phát triển.

Trong nghiên cứu này chúng tôi nhận thấy đối với chồi cây Nguru tất sử dụng hàm lượng chất ĐHST (BAP, Kinetin, NAA) với hàm lượng thấp kích thích tái sinh chồi tốt, số chồi hữu hiệu cao, khi tăng hàm lượng chất ĐHST

thì tỷ lệ chồi hữu hiệu giảm rõ rệt. Ngược lại nghiên cứu của Wesely và cộng sự (2012) cho thấy chồi non *A.bidentata* trên môi trường chỉ bổ sung BAB hoặc Kinetin ở hàm lượng cao cho kết quả tốt nhất. Ở hàm lượng 3,0 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi cao nhất 94,7% và 4,6 chồi/mẫu cây, Kinetin ở hàm lượng 2,0 mg/l cho hệ số nhân chồi 82,4% và 2,7 chồi/mẫu cây là cao nhất. Hơn nữa, theo báo cáo của Md. Jakir và cộng sự (2013) khi nghiên cứu tái sinh chồi *A.bidentata* từ đoạn chồi chứa mắt ngủ sử dụng BAP ở nồng độ cao kết hợp với NAA ở nồng độ thấp cho thấy công thức có 3,0 mg/l BAP+ 0,5mg/l NAA cho tỷ lệ tạo cụm chồi 96,67% và chỉ đạt 5,6

chồi/mẫu cây là công thức tốt nhất. Trong nghiên cứu này, việc kết hợp giữa 3 loại chất ĐHST (BAP, Kinetin và NAA) ở nồng độ thấp trong môi trường đã kích thích mẫu tái sinh chồi hiệu quả.

**3. Kết quả tạo cây Nguru tất hoàn chỉnh**

Sự hình thành rễ của chồi *in vitro* cây Nguru tất được đánh giá thông qua 4 công thức khác nhau về hàm lượng auxin (NAA và IBA). Trong nghiên cứu này, đánh giá khả năng ra rễ chồi Nguru tất trên môi trường MS bổ sung IBA và NAA ở nồng độ thấp (0,1 - 0,3 mg/l NAA) và (0,2 mg/l IBA), kết quả được thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh Nguru tất sau 4 tuần nuôi cấy**

CTTN	NAA	IBA	Chiều dài rễ TB (cm)	Số rễ TB/cây	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)
RT1	0,1	-	0,55	6,2	77,5
RT2	0,2	-	0,75	7,5	85,6
<b>RT3</b>	<b>0,3</b>	-	<b>1,1</b>	<b>8,5</b>	<b>94,8</b>
RT4	-	0,2	0,7	7,0	83,2

Kết quả cho thấy bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy tốt hơn IBA. Trong đó việc bổ sung 0,3 mg/l NAA vào môi trường nuôi cấy cho tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất 94,8% và 8,5 rễ/chồi. Theo báo cáo của Wesely và cộng sự (2012) khi môi trường nuôi cấy MS chỉ bổ sung IBA ở nồng độ 1,0 mg/l cho tỷ lệ chồi ra rễ là 74,7% và 9,4 rễ/chồi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy môi trường bổ sung thêm 0,3 mg/l NAA ở nồng độ thấp nhưng hiệu quả ra rễ cao (hình 1c). Khi sử dụng hàm lượng Auxin cao gốc chồi thường bị mô sẹo hóa, ảnh hưởng đến tỷ lệ sống khi ra cây (Inze và Beeckman, 2002).

**4. Kết quả huấn luyện và đưa cây con Nguru tất ra vườn ươm**

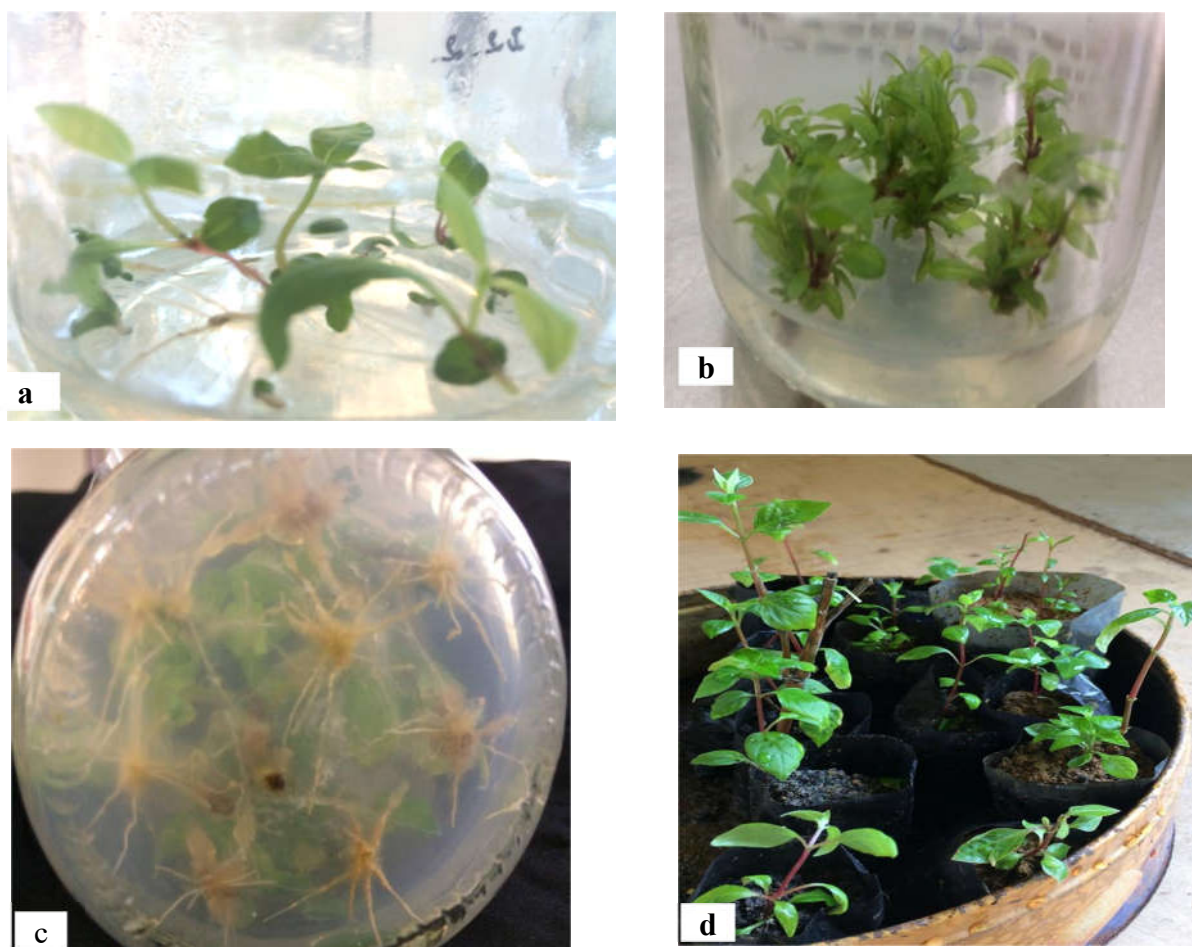
Sau khi chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh (cây cao ≥3 cm), có lá và bộ rễ phát triển), các bình cây được huấn luyện trong nhà lưới có mái che (thời gian 10 ngày) để cây thích nghi dần với

điều kiện môi trường tự nhiên. Sau thời gian huấn luyện, cây được rửa sạch loại bỏ thạch dưới vòi nước chảy và được cấy vào túi bầu đã chuẩn bị giá thể với các thành phần giá thể khác nhau (bảng 4) để đánh giá tỷ lệ sống của cây mô. Cây con được che chắn ánh sáng chiếu trực xạ bằng lưới đen, tưới nước bằng cách phun sương 2 - 4 lần, đảm bảo độ ẩm ≥ 90%, trong 2 tuần đầu; sau đó chăm sóc bình thường như cây giâm hom. Sau 2 tuần trồng, tỷ lệ cây sống ra lá mới trên các loại giá thể khác nhau dao động từ 56,7% đến 83,33%. Giá thể đất đồi tầng B phối trộn với cát tạo sự thông thoáng tốt nên cho tỷ lệ sống cao. Tỷ lệ sống cao nhất là 83,33% trồng trên giá thể 75% đất và 25% cát, cây sinh trưởng, phát triển tốt, cây con có thân cứng cáp, lá và bộ rễ phát triển tốt. Chăm sóc cây ở giai đoạn vườn ươm khoảng 2 tháng, cây cao khoảng 25 - 30 cm là đủ tiêu chuẩn xuất vườn (hình 1d).

**Bảng 4. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến tỷ lệ cây sống ở giai đoạn vườn ươm (sau 6 tuần)**

CTTN	Thành phần	Tỷ lệ cây sống (%)	Chất lượng cây con
HL4	100% đất	66,66	+
HL5	75% đất - 25% cát	83,33	++
HL6	50% đất - 50% cát	80,64	+++
HL7	100% cát	56,67	+++

*Ghi chú: + Cây con có thân yếu, lá và bộ rễ phát triển chậm; ++ Cây con có thân cứng cáp, bộ rễ phát triển tốt; +++ Cây con có thân cứng cáp, lá và bộ rễ phát triển rất tốt.*



**Hình 1. Các giai đoạn nhân giống in vitro cây Nguru tất (*A. bidentata*)**

*(a – mẫu sạch tái sinh chồi in vitro; b - Mẫu tái sinh tạo cụm chồi trên môi trường MS + 0,2 mg/l BAP + 0,1 mg/l Kin + 0,1 mg/l NAA + 20 g/l sucrose + 7 gam agar sau 4 tuần nuôi cấy; c – Chồi ra rễ trên môi trường MS + 0,3 mg/l NAA + 20 g/l sucrose + 7 gam agar sau 3 tuần nuôi cấy; d – Cây con trồng ra giá thể ở vườn ươm (giá thể 75% đất đồi tầng B + 25% cát) sau 6 tuần ra ngôi.)*

#### 4. KẾT LUẬN

Công thức khử trùng thích hợp nhất cho tạo mẫu sạch in vitro cây Nguru tất từ hạt là còn 70% (v/v) trong 1 phút, Javen 6% (v/v) trong 15 phút cho tỷ lệ mẫu sạch là 80,50% và tỷ lệ

mẫu nảy mầm 93,03%. Tổ hợp các thành phần môi trường thích hợp cho nhân nhanh chồi cây Nguru tất là môi trường MS cơ bản bổ sung, 0,1mg/l NAA, 0,2 mg/l BAP, 0,1mg/l Kinetin, 7g/l agar và 20g/l sucrose (cho 10,7 chồi/mẫu

và tỷ lệ chồi hữu hiệu là 91,20%). Môi trường thích hợp nhất cho sự hình thành rễ, tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh là môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l NAA, 7g/l agar và 20g/l sucrose, cho 100% số chồi ra rễ, chiều dài rễ trung bình là 1,1 cm và số rễ trung bình trên một cây là 8,5 rễ/mẫu. Cây con Ngưu tất *in vitro* sinh trưởng tốt với thành phần ruột bầu là 75% đất, 25% cát thì tỉ lệ sống cao nhất (83,33%), rễ phát triển tốt.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chandra, K.H. Pandey (1983). Collection of plants around agora-Dodital in Uttarkshi district, at U.P., Medicinal value and folklore claim. INT, *J. Crude Drug Res.* 21:21-28.
2. Chopra, R.N. (1958). "Indigenous Drugs of India" Art Press, Calcutta, 457-462.
3. Dong, CM.L.P.Zhang, J.Liu (2002). Study on tissue culture of *Achyranthes bidentata*, *Henan Tradit. Chin. Med.*, 22 (4):63-64.
4. Đỗ Tất Lợi (1999). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB Thời đại.
5. Inze, T. Beeckman (2002). Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation, *Plant Cell*, 14:2339-2351.
6. Manandhar, N.P. (2002). Plants and People of Nepal Timber Press. Oregon. ISBN 0-8819-527-6.
7. Md.Jakir, H.K.Laila, Al-F. Mohammad (2013). Development of an efficient *in vitro* micropagation protocol for medicinally important plant *Achyranthes bidentata* Blume, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4):6-13.
8. Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol plant*, 15:473-497.
9. Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình (2005). Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu trong lâm nghiệp, NXB Nông nghiệp.
10. Nguyen, T.S.Nikolov, T.D. Nguyen (1995). Chemical research of the aerial part of *Achyranthes bidentata* Blume. *Tạp chí Dược học*, 6:17-18.
11. Nguyen, V.D. and T.N.Doan (1989). *Medicinal Plants in Vietnam*. World Health Organization. ISBN 9290611014.
12. Randy, O.C, C.C.Hexon Angel, M.R Lourdes, L.B. Jose (2009). The role of microbialsignals in plant growth and development. *Plant Signal Behav*, 4(8): 701-712.
13. Wesely EG, M.A Johnson, R.B Mohanamathi, and M.S.Kavitha (2012). *In vitro* clonal propagation of *Achyranthes aspera* L. and *Achyranthes bidentata* Blume using nodal explants. *Asian Pac.J. Trop Biomed.*, 2 (1): 1-5.
14. Zhao, X.M.G.Z.Xu.J.L.Li (2004). Progress in modern pharmacological study of radix cyathulae and *Achyranthes bidentata*. *West China J Pharm Sci.* 19(3): 205-207.

## IN VITRO PROPAGATION OF *Achyranthes bidentata* Blume

Tran Thi Thoi<sup>1</sup>, Nguyen Thi Hong Gam<sup>1</sup>, Le Thi Man<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vietnam National University of Forestry

<sup>2</sup>Hung Vuong University

### SUMMARY

The propagation of *Achyranthes bidentata* has been successfully studied by tissue culture technique. In this study, results show that the seeds sterilized in combination of 70% (v/v) ethanol in 1 minute and Javen 6% (v/v) in 15 minutes show the optimum effect, in which the rate of disinfected explants reached 80.50% and the germination rate reached 93.03%. In addition, the MS medium added to 0.1 mg/l NAA, 0.2 mg/l BAP, 0.1 mg/l Kinetin, 7 g/l agar and 20 g/l sucrose was suitable for enhancing shoot multiplication, with 10.7 shoots/explant and shoot inducing rate was 91.20%. Moreover, the MS medium supplemented with 0.3 mg/l NAA, 7 g/l agar and 20 g/l sucrose gave the highest results including rooting rate was 100%, the average root length was 1.1 cm and the average number of roots per shoot was 8.5. The results also presented the trained plantlets had highest survival rate at 83.33% when planted on the pots containing mixture of 75% soil, 25% sand. These results demonstrated that it is possible to apply *in vitro* culture method for propagation of *Achyranthes bidentata* with large scale and high quality for growing and developing this medicinal plant.

**Keywords:** *Achyranthes bidentata* Blume, clonal propagation, medical plant, plant grow regulator, tissue culture.

Ngày nhận bài : 15/5/2019

Ngày phản biện : 15/7/2019

Ngày quyết định đăng : 02/8/2019