

Nghiên cứu khả năng tạo rễ bất định Xáo tam phân (*Paramignya trimera*) trong điều kiện thủy canh *in vivo*

Phí Thị Cẩm Miện^{1*}, Nguyễn Đức Bách¹, Nguyễn Thị Vân Anh¹,
Phạm Bích Ngọc², Chu Hoàng Hà²

¹Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 25/2/2019; ngày chuyển phản biện 28/2/2019; ngày nhận phản biện 25/3/2019; ngày chấp nhận đăng 29/3/2019

Tóm tắt:

Rễ Xáo tam phân là một loại dược liệu quý, thường được sử dụng để chữa một số bệnh ung thư, đặc biệt là ung thư gan. Tuy nhiên, do bị khai thác trong một khoảng thời gian dài nên hiện nay số lượng loài Xáo tam phân phát triển rất chậm, do đó việc tìm ra phương pháp hữu hiệu giúp chủ động sản xuất rễ, cung cấp cho ngành công nghiệp dược phẩm là hết sức có ý nghĩa. Trong nghiên cứu này, các tác giả tiến hành các thử nghiệm tạo rễ bất định Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh và tìm ra môi trường thích hợp cho sự sống và phát triển của Xáo tam phân là WPM/6 (tỷ lệ sống đạt 96,21%). Các cây có khả năng sinh trưởng tốt được chuyển sang môi trường có bổ sung IBA (7,0 mg/l), α -NAA (7,0 mg/l) để tạo rễ bất định; sau 8 tuần, số lượng rễ mới phát sinh đạt 21,12 rễ/cây con, tỷ lệ mẫu phát sinh rễ đạt 90,6%. Có thể thấy rằng, cây con Xáo tam phân có thể sống, sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện thủy canh.

Keywords: *Paramignya trimera*, rễ bất định, thủy canh, ung thư gan, Xáo tam phân.

Chỉ số phân loại: 4.1

Đặt vấn đề

Chi Cựa gà (*Paramignya* Wight, 1931) thuộc họ Cam (Rutaceae), trên thế giới gồm khoảng 15 loài cây thân gỗ nhỏ, dạng dây leo có nguồn gốc từ phía nam, đông nam châu Á và ở miền bắc nước Úc [1, 2]. Theo số liệu điều tra, ở Việt Nam hiện có 7 loài thuộc chi *Paramignya*, trong đó có 5 loài đã được sử dụng làm thuốc chữa bệnh: *P. trimera* Oliv.; *P. griffithii*; *P. monophylla*; *P. armata* Oliv. var. *Andamanica* King; *P. scandens* [3-5]. Theo báo cáo của Viện Dược liệu, Xáo tam phân (*P. trimera* Oliv.) ở tỉnh Khánh Hòa đã được thí nghiệm làm thuốc điều trị thành công bệnh viêm gan cấp trên chuột trắng. Bên cạnh đó, nhiều thử nghiệm đã cho thấy, rễ của loài cây này có hoạt tính kháng nhiều loại tế bào ung thư như ung thư gan, ung thư vú, ung thư đại tràng, ung thư buồng trứng và ung thư cổ tử cung [6]. Ngoài ra, rễ Xáo tam phân còn chứa các hoạt chất chống oxy hóa [7].

Trong những năm gần đây, do tác dụng chữa và phòng ngừa ung thư của rễ Xáo tam phân được nhiều người biết đến nên giá của các cây thuộc chi *Paramignya*, đặc biệt là cây Xáo tam phân tăng lên nhanh chóng, khiến loài cây này bị khai thác ồ ạt. Hệ quả là số lượng cây Xáo tam phân trong tự nhiên bị suy giảm nghiêm

trọng. Trong khi đó, tốc độ sinh trưởng của cây Xáo tam phân trong tự nhiên rất chậm, nên nguồn rễ không đủ đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của thị trường. Do vậy, ngoài việc lưu giữ, bảo tồn và phát triển cây Xáo tam phân trong tự nhiên, cần phải phát triển phương pháp mới để chủ động sản xuất được rễ với lượng lớn, nhằm cung cấp nguyên liệu cho ngành công nghiệp dược phẩm. Để góp phần giải quyết vấn đề đặt ra, chúng tôi triển khai nghiên cứu này, tập trung vào các thử nghiệm nhằm tìm điều kiện để cảm ứng tạo rễ bất định của cây Xáo tam phân trong môi trường nuôi thủy canh.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Cây Xáo tam phân (*P. trimera*) từ 12 đến 24 tháng tuổi thu thập tại tỉnh Khánh Hòa, được trồng trong khu nhà ươm cây tại Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các dụng cụ bao gồm bình thủy tinh, hệ thống sục khí, phòng điều hòa nhiệt độ 25°C, phòng nuôi cấy từ 25-35°C. Các môi trường nền cơ bản bao gồm Murashige et Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM) và Knudson [6, 8, 9].

*Tác giả liên hệ: Email: mienbmtvat@gmail.com

Study the ability to induce the adventitious root of *Paramignya trimera* in vivo hydroponic conditions

Thi Cam Mien Phi^{1*}, Duc Bach Nguyen¹,
Thi Van Anh Nguyen¹, Bich Ngoc Pham², Hoang Ha Chu²

¹Biotechnology Faculty, Vietnam National University of Agriculture
²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

Received 25 February 2019; accepted 29 March 2019

Abstract:

Xao tam phan, *Paramignya trimera*, is a precious medicinal plant belonging to genus *Citrus* (Rutaceae family), mainly distributed in Khanh Hoa and Tay Ninh provinces, Vietnam. For many years, *Paramignya trimera* has been used as an effectively medicinal plant to treat cancer, especially for liver cancer. Because of the natural active compounds of *Paramignya trimera* distributed mainly in the roots, the over-exploitation of *Paramignya trimera* for roots over time has resulted in the serious decline of this species. In nature, the growth of *Paramignya trimera* is slow, so it takes many years to be exploited. Therefore, in addition to planting *Paramignya trimera* in natural conditions to harvest roots, an alternative method should be developed to actively produce large amounts of roots for pharmaceutical industry. The study aims to create an method for the stimulation of adventitious roots of *Paramignya trimera* under hydroponic conditions. The results showed that *Paramignya trimera* was able to grow under hydroponic environment (WPM/6 medium) at the survival rate of 96.21%. The formation of adventitious roots in *Paramignya trimera* was observed in the WPM/6 medium supplemented with IBA (7.0 mg/l) and α -NAA (7.0 mg/l). After 8 weeks, the number of newly formed roots was 21.12 roots per plantlet, and the rate of root formation reached 90.6% in all cultured plantlets. The results exhibited that the *Paramignya trimera* could survive, grow, and develop well under hydroponic conditions.

Keywords: adventitious root, hydroponic, liver cancer, *Paramignya trimera*, Xao tam phan.

Classification number: 4.1

Phương pháp nghiên cứu

Trong thí nghiệm này, 3 loại môi trường nền cơ bản (WPM, MS và Knudson) được thử nghiệm để tìm được môi trường nền thích hợp nhất cho cây Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh. Sau khi thử nghiệm và xác định được môi trường nền phù hợp, các chất sinh trưởng thuộc nhóm auxin (IAA, IBA và α -NAA) ở các nồng độ khác nhau từ 1,0-7,0 mg/l được bổ sung vào môi trường nền để cảm ứng sinh rễ bất định trong điều kiện thủy canh.

Các cây Xáo tam phân từ 12 đến 24 tháng tuổi được đưa vào các môi trường nền cơ bản MS pha loãng 4 lần (1/4X) trong 7 ngày (nhằm giúp cây thích nghi với trạng thái thủy canh). Sau 7 ngày, các cây được chuyển sang 3 môi trường tương ứng ở nồng độ 1X để xác định môi trường nền thích hợp nhất cho sự sinh tồn và phát triển của cây Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh. Trong thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi, các cây ở độ tuổi khác nhau (từ 12 đến 24 tháng) được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, lặp lại. Môi trường thích hợp nhất cho sự phát triển của cây sẽ được tiếp tục bổ sung (α -NAA, IAA, IBA từ 1,0-9,0 mg/l) để đánh giá khả năng sản sinh rễ bất định Xáo tam phân [4, 5, 7, 10-12].

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần. Trong mỗi công thức thí nghiệm, 9 mẫu được trồng lặp lại ngẫu nhiên. Sau mỗi tuần (7 ngày) số liệu được thu thập bao gồm tỷ lệ mẫu phát sinh chồi và tỷ lệ mẫu phát sinh rễ. Các chỉ tiêu về rễ được đo đặc bao gồm số lượng rễ, hình dạng rễ, màu sắc rễ và chất lượng rễ. Sự khác biệt về các giá trị trung bình giữa các công thức thí nghiệm được đánh giá bằng phân tích ANOVA. Sự khác biệt về giá trị trung bình giữa các cặp công thức thí nghiệm được đánh giá bằng kiểm định Duncan.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của môi trường nền đến tỷ lệ sống của cây Xáo tam phân trong điều kiện nuôi thủy canh

Tỷ lệ sống là một trong những tiêu chí quan trọng nhất trong quá trình nuôi và nhân giống, đặc biệt đối với những cây thân gỗ. Trên cơ sở tham khảo các môi trường nhân giống cơ bản, 3 loại môi trường nền MS, WPM và Knudson đã được sử dụng để đánh giá khả năng thích ứng của cây [6, 8, 9]. Tỷ lệ sống và phản ứng của cây Xáo tam phân đối với các môi trường thử nghiệm được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nền tới tỷ lệ sống của cây Xáo tam phân.

Môi trường nền	Tỷ lệ cây sống (%)	Phản ứng của cây đối với môi trường
MS	60,13 $\pm$ 4,75 ^c	Cây bắt đầu chết sau 2 tuần nghiên cứu
WPM	70,6 $\pm$ 6,65 ^a	Cây sinh trưởng tốt, khỏe mạnh, lá có màu xanh đậm*
Knudson	41,23 $\pm$ 4,25 ^b	Một số cây bị héo và lá vàng xuất hiện sau 2 tuần

*Giá trị trung bình của các cây ở nhóm tuổi khác nhau. Các chỉ số a, b và c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, p<0,01.

Kết quả nghiên cứu sau 8 tuần cho thấy, tỷ lệ sống (%) của cây Xáo tam phân trong 3 môi trường MS, WPM và Knudson tương ứng là $60,13 \pm 4,75$; $70,6 \pm 6,65$ và $41,23 \pm 4,25$. Trong đó, môi trường WPM phù hợp nhất cho sự sinh trưởng của cây Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh *in vivo*. Trong môi trường WPM, cây sinh trưởng tốt, chồi mới xuất hiện nhiều, lá có màu xanh đậm, khỏe. Theo kết quả này, môi trường phù hợp cho nghiên cứu tạo rễ bất định Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh *in vivo* là WPM.

Ảnh hưởng của độ tuổi đến tỷ lệ sống của cây trong điều kiện thủy canh

Để xác định ảnh hưởng của tuổi cây đến tỷ lệ sống trong điều kiện nuôi thủy canh, 3 nhóm cây ở các độ tuổi khác nhau 12, 18 và 24 tháng (tính từ thời điểm nảy mầm từ hạt) được thử nghiệm trong môi trường WPM. Kết quả cho thấy có mối liên quan chặt giữa tỷ lệ sống của cây với độ tuổi (bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của tuổi cây Xáo tam phân đến tỷ lệ sống trong điều kiện thủy canh *in vivo*.

Tuổi cây (tháng)	Tỷ lệ sống (%)	Số lượng rễ mới phát sinh (rễ)	Đặc điểm cây
12	$68,12 \pm 4,4^c$	$3,2 \pm 0,15^c$	Hầu như không xuất hiện rễ mới, rễ cũ sinh trưởng chậm
18	$81,5 \pm 6,65^a$	$5,6 \pm 0,28^a$	Cây sinh trưởng khỏe mạnh, rễ mới xuất hiện nhiều
24	$78,11 \pm 4,75^b$	$4,4 \pm 0,31^b$	Xuất hiện một số rễ mới, rễ cũ sinh trưởng chậm

Theo kết quả ở bảng 2, tỷ lệ cây sống cao nhất ở độ tuổi 18 tháng, đạt $81,5 \pm 6,65\%$ và số lượng rễ mới xuất hiện trung bình là $5,6 \pm 0,28$ rễ/mẫu. Tỷ lệ sống giảm xuống $78,11 \pm 4,75\%$ đối với cây 24 tháng. Tỷ lệ sống thấp nhất $68,12 \pm 4,4\%$ quan sát thấy ở cây có độ tuổi 12 tháng. Như vậy, có sự ảnh hưởng của tuổi cây đến tỷ lệ sống cũng như tỷ lệ ra rễ mới khi đưa vào nuôi trong môi trường thủy canh.

Ảnh hưởng của nồng độ môi trường WPM đến tỷ lệ sống và sinh trưởng của cây Xáo tam phân

Các nồng độ khác nhau của môi trường WPM được thử nghiệm để xác định nồng độ thích hợp nhất cho sự phát triển của cây Xáo tam phân. Để tăng khả năng sống và thích nghi của cây con khi bắt đầu nuôi trồng, đồng thời giảm tỷ lệ sốc dinh dưỡng khi bắt đầu chuyển sang điều kiện thủy canh, cây con Xáo tam phân 18 tháng tuổi tiếp tục được thử nghiệm trong môi trường WPM ở các mức độ pha loãng khác nhau. Sau 4 tuần nuôi trong điều kiện thủy canh, sự xuất hiện của rễ mới và khả năng sinh trưởng ở các công thức khác nhau được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ môi trường WPM đến tỷ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây Xáo tam phân.

Nồng độ WPM	Tỷ lệ sống (%)	Đặc điểm cây
0	$22,21 \pm 1,75^c$	Tỷ lệ cây chết cao, cây héo vàng và yếu
1/8 WPM	$79,3 \pm 6,61^b$	Cây sinh trưởng chậm, lá vàng, rất ít rễ mới xuất hiện
1/6 WPM	$96,21 \pm 7,6^a$	Cây sinh trưởng khỏe, rất nhiều rễ mới xuất hiện
1/4 WPM	$91,5 \pm 6,65^a$	Cây khỏe, rễ mới xuất hiện ít
1/2 WPM	$85,62 \pm 4,92^b$	Cây khỏe, rễ mới xuất hiện ít
1 WPM	$76,3 \pm 6,0^c$	Cây sinh trưởng bình thường, tỷ lệ chết thấp
CV %	3,22	

Kết quả cho thấy, rễ mới bắt đầu xuất hiện sau 4 tuần. Ở các nồng độ WPM khác nhau, tỷ lệ sống của cây Xáo tam phân cũng có sự khác nhau ($p < 0,01$), dao động từ $22,21 \pm 1,75$ đến $96,21 \pm 7,6\%$. Phân tích Duncan cho thấy, không có sự khác biệt về mặt thống kê đối với tỷ lệ sống của cây ở môi trường WPM pha loãng 2 lần và 8 lần. Kết quả tương tự cũng quan sát được ở môi trường WPM pha loãng 4 lần và 6 lần. Nồng độ WPM cao nhất (không pha loãng) cho tỷ lệ sống thấp nhất, đạt $76,3 \pm 6,0\%$. Như vậy, môi trường WPM pha loãng 6 lần là điều kiện phù hợp nhất cho sự sinh trưởng của cây Xáo tam phân khi nuôi thủy canh. Trong môi trường WPM pha loãng 6 lần, tỷ lệ cây con sống sót đạt cao nhất ($96,21 \pm 7,6\%$) và rễ mới xuất hiện nhiều nhất.

Ảnh hưởng của hormon sinh trưởng đến khả năng tạo rễ bất định

Việc hình thành rễ bất định chịu ảnh hưởng bởi các hormon sinh trưởng thuộc nhóm auxin [13-15]. Để cảm ứng tạo rễ bất định ở Xáo tam phân, những cây khỏe mạnh được chuyển sang môi trường 1/6 WPM có bổ sung các hormon thuộc nhóm auxin (IAA, IBA, α -NAA) ở các nồng độ khác nhau để cảm ứng tạo rễ bất định.

Ảnh hưởng của IAA: môi trường 1/6 WPM được bổ sung IAA với các nồng độ từ 1,0 đến 7,0 mg/l. Kết quả cho thấy rễ mới bắt đầu xuất hiện sau 2 tuần (bảng 4). Tỷ lệ rễ mới xuất hiện cao nhất đạt $80 \pm 4,2\%$ ở môi trường bổ sung IAA nồng độ 5,0 mg/l và số lượng rễ mới xuất hiện đạt trung bình 11 rễ mới/cây con. Ở các nồng độ bổ sung IAA thấp hoặc cao hơn, tỷ lệ mẫu phát sinh rễ, số lượng rễ mới/cây và chất lượng rễ cũng giảm đáng kể.

Bảng 4. Ảnh hưởng của IAA tới khả năng tạo rễ bất định.

IAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số lượng rễ/mẫu	Số lượng rễ mới	Đặc điểm rễ
0	$15 \pm 0,8^c$	$5,6 \pm 1,23^c$	$4 \pm 0,25^d$	Mảnh, rễ yếu
1,0	$30 \pm 1,8^d$	$7,2 \pm 1,12^{bc}$	$5,2 \pm 0,49^c$	Số lượng rễ mới ít
3,0	$65 \pm 3,25^b$	$10,8 \pm 1,12^b$	$8,1 \pm 0,72^b$	Xuất hiện rễ mới
5,0	$80 \pm 4,2^a$	$15,2 \pm 1,68^a$	$11 \pm 1,21^a$	Rễ khỏe, rễ mới sinh trưởng tốt
7,0	$45 \pm 2,7^c$	$10,2 \pm 0,92^b$	$8,3 \pm 0,45^b$	Rễ mảnh, rễ mới mảnh, yếu
CV %	4,2	1,8	1,6	

Trong môi trường 1/6 WPM bổ sung IAA ở nồng độ 5,0 mg/l, lượng rễ mới xuất hiện nhiều, chất lượng rễ ban đầu và rễ mới hình thành ở trạng thái khỏe mạnh đạt $80 \pm 4,2\%$ và $11 \pm 1,21$ rễ mới/cây con.

Ảnh hưởng của IBA: IBA ở các nồng độ từ 1,0 đến 9,0 mg/l được bổ sung vào môi trường 1/6 WPM để đánh giá khả năng cảm ứng tạo rễ bất định trong điều kiện thủy canh. Sau 4 tuần nuôi, tỷ lệ mẫu xuất hiện rễ mới cao nhất đạt $80 \pm 6,3\%$ và số lượng rễ mới cao nhất đạt 13 rễ mới/cây con được quan sát thấy ở môi trường 1/6 WPM bổ sung IBA 7,0 mg/l (bảng 5, hình 1).

Bảng 5. Ảnh hưởng của IBA tới khả năng tạo rễ bất định.

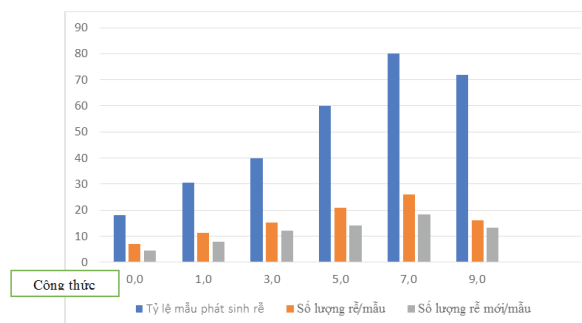
IBA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu xuất hiện rễ (%)	Số lượng rễ/mẫu	Số lượng rễ mới sản sinh	Đặc điểm rễ
0	$16,2 \pm 1,56$	$15,0 \pm 1,56$	$3,2 \pm 0,25$	Rễ bình thường, không có rễ mới xuất hiện
1,0	$30,6 \pm 2,6^c$	$15,2 \pm 1,32^c$	$8,0 \pm 0,49^c$	Rất ít rễ mới xuất hiện
3,0	$40,6 \pm 2,5^c$	$16,4 \pm 1,12^c$	$10,13 \pm 0,72^c$	Rễ cũ phát triển tốt, có xuất hiện rễ mới
5,0	$65 \pm 3,6^b$	$18,4 \pm 0,92^b$	$11,24 \pm 1,03^b$	Rễ cũ phát triển tốt, có xuất hiện nhiều rễ mới
7,0	$80 \pm 6,3^a$	$24,6 \pm 1,94^a$	$13 \pm 0,8^a$	Rễ cũ phát triển tốt, có xuất hiện rất nhiều rễ mới
9,0	$76,62^b$	$16,4 \pm 1,21^c$	$9,12^c$	Rễ bị xỉn màu
CV %	4,26	2,75	1,6	



Hình 1. Ảnh hưởng của IBA đến sự hình thành rễ bất định trong môi trường thủy canh (hình 1A, 2A và 3A tương ứng với thời điểm ban đầu, nuôi trong môi trường thủy canh sau 0,2 và 4 tuần. Các hình 1B, 2B, 3B tương ứng với việc phát sinh rễ bất định tại các thời điểm ban đầu, nuôi trong môi trường thủy canh sau 0,2 và 4 tuần).

Ảnh hưởng của α -NAA: trong nhóm auxin thì α -NAA được xem như một loại hormone phổ biến kích thích tạo rễ bất định ở các loài thực vật. Do vậy, trong nghiên cứu này,

các nồng độ α -NAA khác nhau được thử nghiệm. Kết quả sau 4 tuần cho thấy, α -NAA có tác động mạnh tới khả năng tạo rễ bất định của Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh. Nồng độ α -NAA 7,0 mg/l kích thích $80 \pm 5,6\%$ mẫu phát sinh rễ mới và lượng rễ mới cao nhất đạt 26 rễ/cây. Ở nồng độ α -NAA 7,0 mg/l, rễ cũng phát triển nhanh hơn và dài hơn so với các nồng độ α -NAA khác. Số lượng rễ/cây con dao động từ 7,6-26,2 khi nồng độ α -NAA tăng từ 0 đến 9,0 mg/l. Ở nồng độ α -NAA 9,0 mg/l, cây con sinh trưởng chậm, rễ yếu và nhanh chuyển sang màu nâu và đen (hình 2).



Hình 2. Ảnh hưởng của α -NAA tới khả năng tạo rễ bất định Xáo tam phân (sau 4 tuần).

Ảnh hưởng của IBA và α -NAA: những nghiên cứu gần đây cho thấy, sự kết hợp giữa 2 loại hormone thuộc nhóm auxin IBA và α -NAA có tác động kích thích khả năng sản sinh rễ ở thực vật [16-20]. Trong nghiên cứu này, sự kết hợp giữa α -NAA ở các khoảng nồng độ khác nhau với IBA (7,0 mg/l) đã được tiến hành. Kết quả nghiên cứu sau 4 tuần được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của sự kết hợp giữa IBA, α -NAA đến khả năng tạo rễ bất định.

α -NAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số lượng rễ/mẫu (rễ)	Số lượng rễ mới (rễ)	Đặc điểm rễ
1,0	$80,2 \pm 4,81^b$	$20,2 \pm 1,33^c$	$16 \pm 0,49^c$	Rễ yếu, lượng rễ mới xuất hiện vừa phải
3,0	$82,6 \pm 5,64^a$	$21,2 \pm 1,18^b$	$17,6 \pm 0,82^b$	
5,0	$86,2 \pm 5,37^b$	$22,6 \pm 1,58^a$	$17,92 \pm 1,33^b$	
7,0	$90,6 \pm 4,6^a$	$23,2 \pm 1,62^a$	$21,12 \pm 1,33^a$	Rất nhiều rễ mới xuất hiện, khỏe và dài
9,0	$84 \pm 4,1^c$	$20,2 \pm 1,32^c$	$16,2 \pm 1,63^c$	Rễ yếu, dài và mảnh
CV %	4,76	1,38	1,82	

Như vậy, việc bổ sung α -NAA làm tăng cả chất lượng và số lượng rễ mới hình thành. Trong nghiên cứu này, nồng độ α -NAA từ 1,0 đến 9,0 mg/l kết hợp với 7,0 mg/l IBA cho thấy, lượng rễ mới xuất hiện nhiều và rất khỏe (hình 3). Khi nuôi cây trong môi trường bổ sung 7,0 mg/l α -NAA và 7,0 mg/l IBA $90,6 \pm 4,6\%$ mẫu xuất hiện rễ và số rễ mới đạt $21,12 \pm 1,33$ rễ/cây con (bảng 6), trong khi khi sử dụng riêng rẽ IBA chỉ đạt $80 \pm 6,3\%$ mẫu tạo rễ và số rễ mới đạt 13 rễ/cây con (bảng 5).



Hình 3. Sự hình thành rễ bất định trong môi trường 1/6 WPM bổ sung IBA và α -NAA (tổ hợp hai hormon thuộc nhóm auxin IBA và α -NAA ở nồng độ 7,0 mg/l sau 4 tuần nuôi trong điều kiện thủy canh *in vivo*).

Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành các thử nghiệm tạo rễ bất định Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh và tìm ra môi trường thích hợp cho sự sống và phát triển của Xáo tam phân là WPM/6 (tỷ lệ sống đạt 96,21%). Các cây có khả năng sinh trưởng tốt được chuyển sang môi trường có bổ sung IBA (7,0 mg/l), α -NAA (7,0 mg/l) để tạo rễ bất định; sau 4 tuần, số lượng rễ mới phát sinh đạt 21,12 rễ/cây con, tỷ lệ mẫu phát sinh rễ đạt 90,6%. Có thể thấy rằng, cây con Xáo tam phân có thể sống, sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện thủy canh. Việc bổ sung kết hợp giữa IBA 7,0 mg/l và α -NAA 7,0 mg/l trong môi trường WPM/6 là phù hợp nhất để cảm ứng tạo rễ bất định Xáo tam phân trong điều kiện thủy canh *in vivo*.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Chương trình dự án Việt - Bỉ (AI Programe-VNUA, 2014-2019) đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài “A study of phylogenetics and biopharmaceutical properties of the Vietnamese traditional medicinal plants belonging to the genus *Paramignya* for the development of hepatoprotective nutraceuticals”, năm 2018-2019.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.T.L. Bùi, H.P. Đặng, T.N. Nguyễn (2015), “Khảo sát thành phần hóa học cao chloroform của thân cây Xáo tam phân - *P. trimera* oliver burkill - họ Rutaceae”, *Tạp chí Phân tích hóa, lý và sinh học*, **20(4)**, tr.37-45.
- [2] M.C. Nguyễn, T.H. Trần, N.K. Phạm, T.S. Ninh, T.C. Nguyễn, T.T. Đỗ (2016), “Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của rễ cây Xáo tam phân (*P. trimera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng Paracetamol”, *Tạp chí Khoa học và công nghệ*, **54(1)**, tr.37-45.
- [3] L.T.A. Hoang, D.C. Kim, W. Ko, T.M. Ha, N.X. Nhiem, P.H. Yen, B.H. Tai, L.H. Truong, V.N. Long, T. Gioi, T. Hong Quang, C.V. Minh,

H. Oh, Y.C. Kim, P.V. Kiem (2017), “Anti-inflammatory coumarins from *Paramignya trimera*”, *Pharm. Biol.*, **55(1)**, pp.1195-1201.

[4] S.C. Jarvis, D.J. Hatch (1985), “Rates of hydrogen-ion efflux by nodulated legumes grown in flowing solution culture with continuous pH monitoring and adjustment”, *Annals of Botany*, **55(1)**, pp.41-51.

[5] J.B. Jones (1982), “Hydroponics: Its history and use in plant nutrition studies”, *Journal of Plant Nutrition*, **5(8)**, pp.1003-1030.

[6] B.H. McCown, G. Lloyd (1981), “A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species”, *HortScience*, **16**, p.453.

[7] D.R. Hoagland, D.I. Arnon (1938), *The water culture method for growing plants without soil*, University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station, Circular 347, Berkeley, USA.

[8] T. Murashige, F. Skoog (1962), “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiol. Plant*, **15(3)**, pp.473-497.

[9] L. Knudson (1946), “A new nutrient solution for germination of orchid seeds”, *American Orchid Society Bulletin*, **15**, pp.214-217.

[10] R.B. Jackson, J.H. Manwaring, M.M. Caldwell (1990), “Rapid physiological adjustment of roots to localized soil enrichment”, *Nature*, **344(6261)**, pp. 58-60.

[11] H.A. Bilal, B. Guo, et al. (2011), “Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator”, *African Journal of Biotechnology*, **10(45)**, pp.8984-9000.

[12] P. Bradley, C. Marulanda (2000), *Potential of Simplified Hydroponics to Provide Urban Agriculture Income*.

[13] A.D. Mackay, S.A. Barber (1984), “Comparison of root and root hair-growth in solution and soil culture”, *Journal of Plant Nutrition*, **7(12)**, pp.1745-1757.

[14] M. Mehdi, G.O. Vali-Ollah, T. Sepide (2015), “The effect of different concentrations of TDZ and BA on *in vitro* regeneration of Iranian cannabis (*Cannabis sativa*) using cotyledon and epicotyl explants”, *Journal of Plant Molecular Breeding*, **3(2)**, pp.20-27.

[15] Nayan Tara, Meena (2017), “Application of nanotechnology to plant biotechnology”, *Journal of Plant Development Sciences*, **9(8)**, pp.757-760.

[16] A.G. Reza, R.S. Uma, A.A. Maheeran, M. Rosfarizan (2014), “Influence of Cytokinins in Combination with GA3 on Shoot Multiplication and Elongation of Tea Clone Iran 100 (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze)”, *Scientific World Journal*, Doi:10.1155/2014/943054.

[17] H.S. Shin, H.J. Yang, S.B. Kim, M.S. Lee (2004), “Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in gamma - irradiated silver nitrate solution”, *J. Colloid Interface Sci.*, **274(1)**, pp.89-94.

[18] V.T. Tran, V.K. Le (2017), “Effect of growth stimulants on propagation of *Paramignya trimera* (Oliver) Burkill by cuttings and extracts”, *Hue Science Journal*, **126(3)**, pp.5-11.

[19] H.D. Trịnh, T.P. Trần (2016), “Coumarin và acridon alkaloid từ rễ cây Xáo tam phân (*P. trimera*)”, *Tạp chí Khoa học*, **32(4)**, tr.115-123.

[20] G. Wang, Ch. Shi, N. Zhao, X. Du (2007), “Synthesis and characterization of Ag nanoparticles assembled in ordered array pores of porous anodic alumina by chemical deposition”, *Materials Letters*, **61(18)**, pp.3795-3797.