

## NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY KỶ TỬ (*Lycium barbarum* L.)

Bùi Thị Thơ<sup>1</sup>

Ngày nhận bài: 25/05/2024; Ngày phản biện thông qua: 27/06/2024; Ngày duyệt đăng: 28/06/2024

### TÓM TẮT

Cây Kỷ tử (*Lycium barbarum* L.) là một loài cây thực phẩm và cây dược liệu quý và quan trọng được dùng trong Đông y từ xa xưa. Hiện nay, nhu cầu về nguồn cây giống Kỷ tử sạch bệnh, số lượng lớn tại Việt Nam đang ngày càng gia tăng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây Kỷ tử từ hạt. Kết quả cho thấy, mẫu hạt được khử trùng bằng cồn 70<sup>0</sup> trong thời gian 3 phút, cho tỷ lệ mẫu nảy mầm đạt 67,2%. Môi trường MS (Murashige and Skoog) bổ sung 0,5 mg/L BAP là phù hợp cho sự tái sinh chồi *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy, với hệ số nhân chồi đạt 7,35 chồi/mẫu; chiều cao cây 1,9 cm; số lá 5,3 lá/chồi. Môi trường ½ MS thích hợp cho giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, tỷ lệ ra rễ đạt 95,57%; số rễ/chồi 5,9 rễ; chiều dài rễ 3,03 cm sau 3 tuần nuôi cấy.

**Từ khóa:** *Lycium barbarum*, Kỷ tử, *in vitro*, nuôi cấy mô.

### 1. MỞ ĐẦU

Cây Kỷ tử (*Lycium barbarum* L.) hay còn gọi là cây Câu khởi, Khởi tử, Địa cốt tử thuộc họ Cà. Đây là cây thuốc rất phổ biến hơn 2500 năm trước tại Trung Quốc, Nhật Bản, Việt Nam. Kỷ tử được biết đến như một loại siêu trái cây, siêu thực phẩm được sử dụng trong Đông y để chữa bệnh, đồng thời làm món ăn, thức uống hàng ngày (Shahrajabian, 2018).

Qua các kết quả nghiên cứu cho thấy trong quả và rễ Kỷ tử chứa các hợp chất giúp tăng cường sức khỏe, tăng tuổi thọ, tăng cường thị lực, chức năng của gan, thận, ngăn ngừa các bệnh tiểu đường, tim mạch, ung thư, tăng khả năng miễn dịch, giảm nồng độ cholesterol trong máu (Potterat, 2010) (Yu, 2017).

Trung Quốc vẫn là nhà cung cấp chính các sản phẩm Kỷ tử trên thế giới. Tuy nhiên, hiện nay một số nước đã có xu hướng nhân rộng diện tích giống cây này ở những khu vực có điều kiện thích hợp (Gidea, 2017).

Ở nước ta, cây Kỷ tử còn có tên gọi khác là củ khởi, tuy đem lại giá trị kinh tế cao, nhưng diện tích trồng còn rất hạn chế, chỉ phân bố ở một số tỉnh miền núi phía bắc như Sa Pa, Lào Cai trồng để lấy lá nấu canh, làm thuốc chữa ho, sốt. Hiện nay, chúng ta đã bắt đầu quan tâm đến việc trồng Kỷ tử. Tuy nhiên, việc nhân rộng diện tích trồng Kỷ tử còn gặp nhiều khó khăn về nguồn giống. Chủ yếu là sử dụng giống từ phương pháp giâm cành hoặc gieo hạt. Khi trồng bằng cách gieo hạt, sự nảy mầm không đồng đều, chất lượng cây giống và năng suất chưa tốt.

Nuôi cấy mô thực vật là một công cụ để nhân

giống vô tính, cho phép nhân nhanh các giống cây trồng trong điều kiện kiểm soát được các điều kiện môi trường. Là phương pháp triển vọng để cung cấp giống cây trồng chất lượng cao có khả năng thương mại, nâng cao năng suất, giảm chi phí trong trồng trọt.

Ở nước ta hiện nay vẫn chưa có quy trình sản xuất giống cây Kỷ tử *in vitro* được công bố. Xuất phát từ những cơ sở trên, chúng tôi đã tiến hành “Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Kỷ tử (*Lycium barbarum* L.).

### 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hạt giống cây Kỷ tử được cung cấp bởi công ty Nuts Talk, Trung Quốc.

#### 2.2. Phương pháp khử trùng mẫu

Hạt Kỷ tử được rửa sạch dưới vòi nước chảy, ngâm xà phòng trong 10 phút, sau đó hạt được rửa sạch lại bằng nước. Tiếp theo, hạt được khử trùng bằng cồn 70<sup>0</sup> (Việt Nam) với các khoảng thời gian khác nhau (3, 5 và 7 phút). Sau đó hạt được rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3 lần. Mẫu hạt sau khi khử trùng được cấy lên môi trường Murashige and Skoog (MS) (Sigma, Mỹ); 3% (w/v) saccrose (Merck, Đức), 0,8% (w/v) agar (Samchun, Hàn Quốc).

Đánh giá hiệu quả khử trùng mẫu sau 2 tuần nuôi cấy thông qua các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu nảy mầm (%).

#### 2.3. Phương pháp nhân nhanh chồi *in vitro*

Chồi *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy có chiều cao khoảng 5-6 cm, 6-8 lá/cây, được tái sinh

<sup>1</sup>Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Đà Nẵng;

Tác giả liên hệ: Bùi Thị Thơ; ĐT: 0931943387; Email: bttho@ued.udn.vn.

trong môi trường MS (Sigma, Mỹ); bổ sung 3% (w/v) saccrose (Merch, Đức), 0,8% (w/v) agar (Samchun, Hàn Quốc), 6-Benzylaminopurine (BAP) (BioReagent, Mỹ) (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L), Kinetin (KIN) (BioReagent, Mỹ) (1,0; 2,0; 3,0 mg/L). Đánh giá hiệu quả phát sinh chồi sau 3 tuần nuôi cấy thông qua các chỉ tiêu: số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm), số lá/chồi (lá).

#### 2.4. Phương pháp tạo rễ *in vitro*

Chồi Kỳ tử *in vitro* dài khoảng 2 - 3 cm được nuôi cấy trên môi trường bổ sung ¼ MS; ½ MS; MS (Sigma, Mỹ) cơ bản; 3% (w/v) saccrose (Merch, Đức); 0,8% (w/v) agar (Samchun, Hàn Quốc). Khả năng tạo rễ sau 3 tuần nuôi cấy được đánh giá thông qua các chỉ tiêu: tỷ lệ ra rễ (%), số rễ/chồi (rễ), chiều dài rễ (cm).

Môi trường nuôi cấy đều được điều chỉnh pH = 5,8 - 5,9; sau đó được khử trùng trong nồi hấp tiệt

trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút. Mẫu được nuôi cấy trên môi trường thích hợp ở nhiệt độ 25 ± 2°C, cường độ chiếu sáng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 12h/ngày.

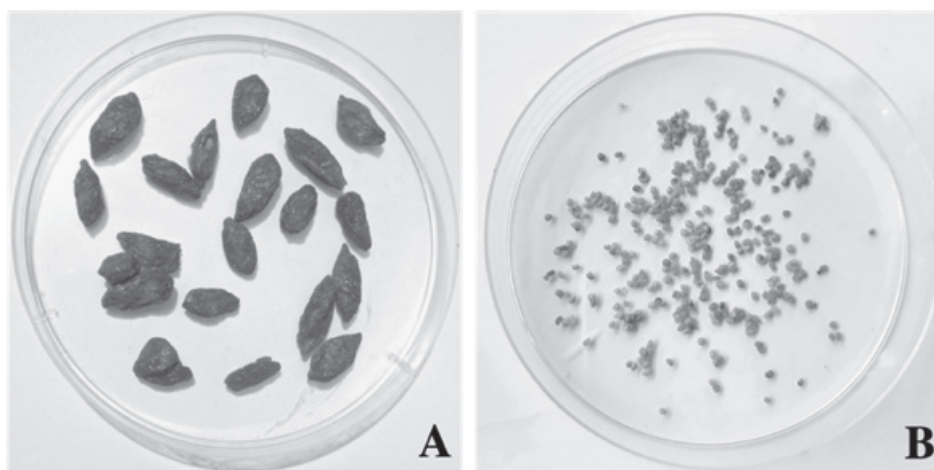
#### 2.5. Phương pháp xử lý thống kê

Mỗi thí nghiệm trên được bố trí lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng chương trình Excel và phần mềm Statistix version 9.0.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả khử trùng mẫu

Điều kiện vô trùng là một trong những yếu tố quyết định đến thành công của quá trình nuôi cấy *in vitro*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát hiệu quả khử trùng mẫu với còn 70<sup>0</sup> ở các thời gian khác nhau. Mẫu hạt sau khi được khử trùng được cấy lên môi trường MS có bổ sung 3% saccarose, 0,8% agar, pH = 5,8. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.



Hình 1. (A) Quả Kỳ tử. (B) Hạt Kỳ tử tách từ quả

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến hiệu quả khử trùng hạt Kỳ tử

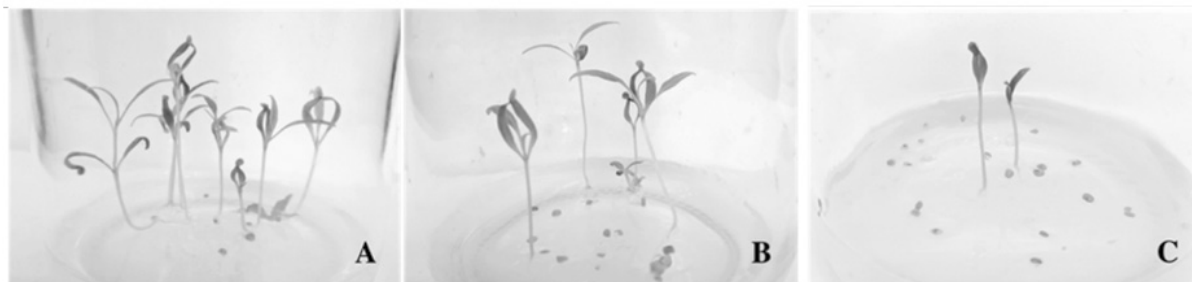
Thời gian (phút)	Hiệu quả khử trùng		
	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ nảy mầm (%)
3	19,4	23,4	67,2
5	11,1	57,8	31,1
7	6,1	79,7	14,1
9	1,2	92,3	6,5

Kết quả bảng 1 cho thấy hiệu quả sử dụng còn 70<sup>0</sup> để khử trùng hạt Kỳ tử, kết quả tốt nhất thu được khi khử trùng hạt trong thời gian 3 phút, sau 2 tuần nuôi cấy cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất đạt 67,2%, tỷ lệ mẫu chết thấp nhất đạt 23,4 % . Khi

tăng thời gian khử trùng lên 5, 7 và 9 phút thì tỷ lệ mẫu nhiễm thấp lần lượt là 11,1%; 6,1% và 1,2%, tuy nhiên tỷ lệ nảy mầm của hạt lại bị giảm đi, lần lượt đạt 31,1%; 14,1% và 6,5%.

**Bảng 2. Đánh giá tình trạng mẫu sống sót và phát triển sau khử trùng**

Thời gian khử trùng (phút)	Thời gian nảy mầm (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)
3	8	6,2 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
5	12	4,6 <sup>b</sup>	4,1 <sup>b</sup>
7	17	2,3 <sup>c</sup>	2,3 <sup>c</sup>
9	24	2,1 <sup>c</sup>	2,2 <sup>c</sup>



Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với  $p < 0,05$ .

**Hình 2. Hạt Kỷ tử nảy mầm thành cây con *in vitro* sau khi khử trùng hạt bằng cồn 70<sup>0</sup>, (A) Khử trùng 3 phút, (B) Khử trùng 5 phút, (C) Khử trùng 7 phút**

Mẫu hạt Kỷ tử được theo dõi sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy, khi tăng dần thời gian khử trùng hạt đã ảnh hưởng đến thời gian hạt nảy mầm. Ở thời gian khử trùng 3 phút, thời gian hạt nảy mầm sớm nhất (sau 8 ngày nuôi cấy), đồng thời cây cũng phát triển tốt hơn, chiều cao cây đạt 6,2 cm; số lá 7,4 lá (Bảng 2). Khi thời gian khử trùng hạt tăng lên 5, 7 và 9 phút, tốc độ nảy mầm của hạt chậm hơn (lần lượt sau 12, 17 và 24 ngày), và cây con *in vitro* cũng phát triển yếu hơn, điều này thể hiện qua giá trị chiều cao cây và số lá thấp ở bảng 2.

Như vậy, khử trùng hạt Kỷ tử với cồn 70<sup>0</sup> trong thời gian 3 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, thể hiện trên ba chỉ tiêu: tỷ lệ nảy mầm, tốc độ nảy mầm và chất lượng cây con *in vitro*. Cây con *in vitro* trong thí nghiệm được sử dụng để thực hiện các bước nghiên cứu tiếp theo.

Năm 2016, Alexandru Fira và cs đã nghiên cứu sự ảnh hưởng của sodium hypochlorite 5% đến hiệu quả khử trùng của mẫu hạt Kỷ tử. Kết quả đạt được hiệu quả nảy mầm khoảng 50% và không

có sự nhiễm mẫu được ghi lại. Hạt được nảy mầm và phát triển tốt trên môi trường MS cơ bản, sau 30 ngày nuôi cấy chiều cao cây khoảng 5-8cm, và chiều dài rễ đạt 10cm (Fira, 2016). Trong nghiên cứu này, chúng tôi dùng phương pháp khử trùng cồn 70<sup>0</sup> trong thời gian 3 phút cho hiệu quả nảy mầm 67,2%. Như vậy, phương pháp khử trùng hạt Kỷ tử của chúng tôi cho hiệu quả tương đương với nhóm tác giả trên, nhưng về mặt phương pháp thì đơn giản hơn và không dùng đến hoá chất gây ô nhiễm.

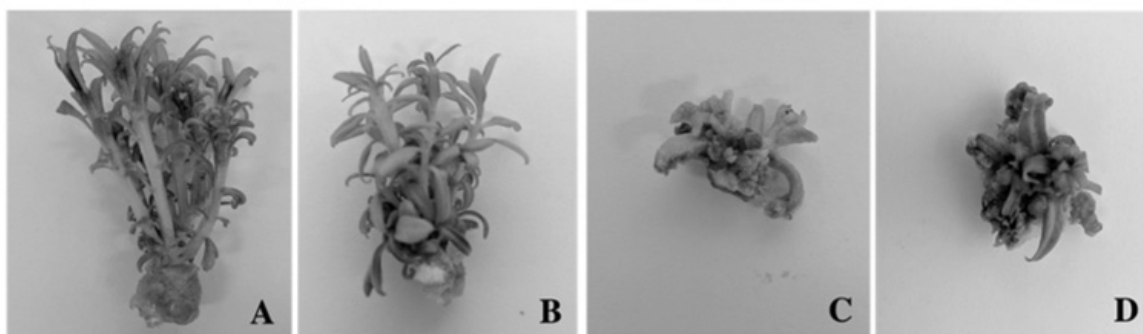
**3.2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây Kỷ tử**

6-Benzylaminopurine (BAP) và Kinetin (KIN) là hai chất điều hoà sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin, có tác dụng hoạt hóa và kích thích sự phân chia tế bào nên thường được sử dụng trong giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* (Stojakowska, 1999). Trong thí nghiệm này, BAP được bổ sung với các nồng độ khác nhau (0,5 – 2,0 mg/L) để khảo sát sự ảnh hưởng của nó đến quá trình nhân nhanh chồi *in vitro* cây Kỷ tử. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* Kỷ tử**

BAP (mg/L)	Khả năng phát sinh chồi			Callus
	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	
0,5	7,35 <sup>a</sup>	1,90 <sup>b</sup>	5,30 <sup>bc</sup>	-
1,0	5,13 <sup>b</sup>	1,71 <sup>bc</sup>	5,88 <sup>b</sup>	-
1,5	1,32 <sup>c</sup>	0,79 <sup>cd</sup>	2,09 <sup>d</sup>	+
2,0	1,18 <sup>c</sup>	0,44 <sup>d</sup>	2,01 <sup>d</sup>	+

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với  $p < 0,05$ , “-”: Không phát sinh callus; “+”: Phát sinh callus.



**Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* Kỹ tử sau 3 tuần nuôi cấy. (A) 0,5 mg/L; (B) 1,0 mg/L; (C) 1,5 mg/L; (D) 2,0 mg/L**

Kết quả ở bảng 3 cho thấy ở các nồng độ BAP khác nhau (0,5 - 2,0 mg/L) đều có ảnh hưởng đến sự phát sinh chồi *in vitro* của cây Kỹ tử sau 3 tuần theo dõi. Sự phát sinh chồi tốt nhất ở hai nồng độ 0,5 và 1,0 mg/L BAP. Ở nồng độ BAP 0,5 mg/L cho số chồi 7,3 chồi/mẫu; chiều cao chồi 1,9 cm; số lá 5,29 lá/chồi. Ở nồng độ BAP 1,0 mg/L; cho số chồi cao đạt 5,13 chồi/mẫu; chiều cao chồi 1,71 cm; số lá 5,88 lá/chồi. Ở hai nồng độ BAP tăng dần

(1,5 và 2,0 mg/L) cho số chồi/mẫu thấp, chỉ đạt lần lượt 1,32 và 1,18 chồi.

### 3.3. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây Kỹ tử

KIN được bổ sung vào môi trường MS với các nồng độ tăng dần từ 1,0 – 2,5 mg/L để khảo sát sự ảnh hưởng của KIN đến quá trình nhân nhanh chồi *in vitro* cây Kỹ tử sau 3 tuần theo dõi. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

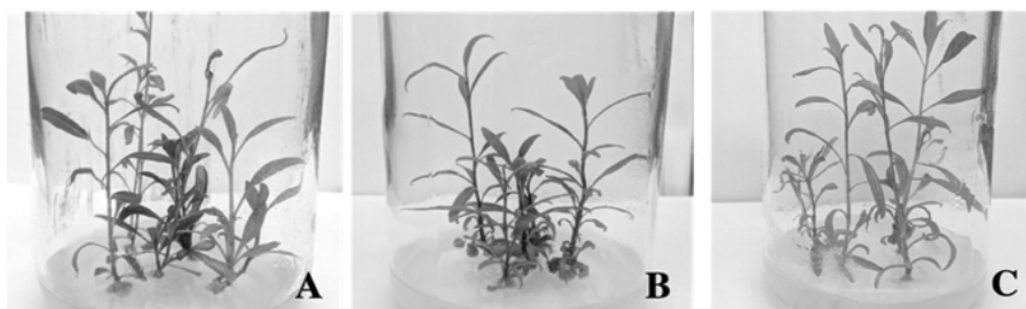
**Bảng 4. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* Kỹ tử**

KIN (mg/L)	Khả năng phát sinh chồi			Callus
	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	
1,0	1,55 <sup>c</sup>	3,50 <sup>a</sup>	7,43 <sup>a</sup>	-
1,5	1,23 <sup>c</sup>	2,03 <sup>b</sup>	5,92 <sup>b</sup>	-
2,0	1,00 <sup>c</sup>	3,30 <sup>a</sup>	4,48 <sup>c</sup>	-
2,5	0,00 <sup>d</sup>	0,0 <sup>d</sup>	0,0 <sup>d</sup>	-

*Chú thích:* Các chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với  $p < 0,05$ ; “-“: Không phát sinh callus.

Kết quả bảng 4 cho thấy KIN cho hiệu quả không cao bằng BAP trong bước nhân nhanh chồi *in vitro*. Ở cả 3 nồng độ KIN 1,0; 1,5; 2,0 mg/L đều không có sự sai khác về số chồi/mẫu. Tại nồng độ KIN cao nhất 2,5mg/L quá trình phát sinh chồi bị dừng lại. Mặc khác, ở nồng độ KIN 1,0 mg/L cho kết quả chiều cao chồi và số lá có giá trị cao nhất, đạt lần lượt là 3,5 cm và 7,43 lá/chồi. Tuy nhiên, số chồi/mẫu lại khá thấp, chỉ đạt 1,55 chồi/mẫu, thấp hơn ở BAP 0,5mg/L (4,3 chồi) (bảng 3).

Khi so sánh khả năng tác động đến hệ số nhân chồi của BAP và KIN, chúng tôi nhận thấy, KIN cho cây có chiều cao và số lá cao hơn BAP, tuy nhiên hệ số nhân chồi lại thấp hơn (Bảng 4). Còn BAP tuy cho hệ số nhân chồi cao, nhưng lại làm giảm chiều cao chồi tái sinh và số lá/chồi (Bảng 3). Cụ thể, KIN có hệ số nhân chồi dao động từ 0-1,55 chồi/mẫu, còn BAP có hệ số nhân chồi từ 1,18-7,35mg/L. Trong đó, nồng độ BAP 0,5mg/L được lựa chọn là công thức tối ưu nhất cho hệ số nhân chồi cây Kỹ tử (7,35 chồi/mẫu).



**Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ KIN đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* Kỹ tử sau 3 tuần nuôi cấy. (A) 1 mg/L; (B) 2 mg/L; (C) 3 mg/L**

Tóm lại, sau khi thử nghiệm BAP và KIN riêng lẻ cho hiệu quả nhân nhanh chồi *in vitro* Kỹ tử, xác định được ở nồng độ BAP 0,5 mg/L cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 7,3 chồi/mẫu sau 3 tuần theo dõi.

### 3.4. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng tạo rễ *in vitro*

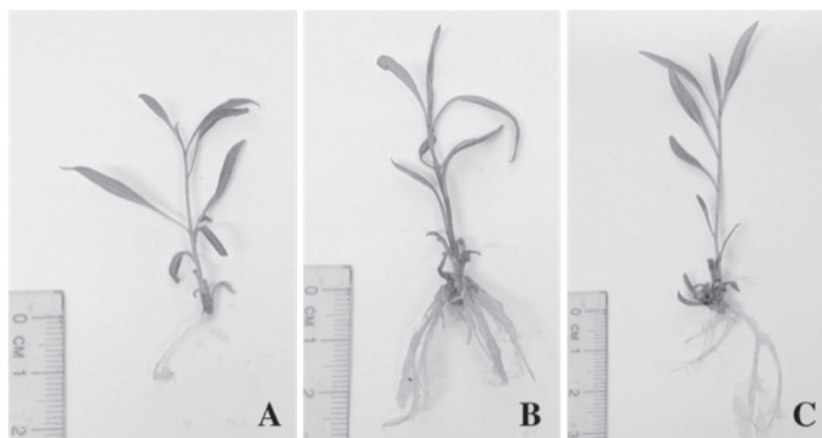
Môi trường nuôi cấy MS bao gồm các khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin và các chất hữu cơ

thiết yếu cần trong quá trình sống của thực vật. Tuy nhiên việc thay đổi nồng độ MS cũng ảnh hưởng đến quá trình phát sinh rễ ở cây *in vitro*. Ở thí nghiệm này, chúng tôi tiến hành khảo sát nồng độ môi trường MS (1, 1/2, 1/3, 1/4 MS) để khảo sát sự tác động của hàm lượng dinh dưỡng khoáng đến việc kích thích phát sinh rễ với cây Kỹ tử *in vitro*. Kết quả theo dõi sau 3 tuần nuôi cấy và được thể hiện ở bảng 5.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của môi trường MS đến khả năng tạo rễ cây Kỹ tử *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy**

Môi trường MS	Khả năng phát sinh rễ		
	Tỷ lệ cây ra rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
1/4 MS	34,40	1,93 <sup>c</sup>	1,95 <sup>b</sup>
1/3 MS	65,42	2,95 <sup>b</sup>	2,05 <sup>b</sup>
1/2 MS	95,57	5,90 <sup>a</sup>	3,03 <sup>a</sup>
MS	49,63	3,12 <sup>b</sup>	3,56 <sup>a</sup>

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với  $p < 0,05$ .



**Hình 5. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng tạo rễ *in vitro* (A) 1/3MS, (B) 1/2MS, (C) MS**

Kết quả ở bảng 5 cho thấy nồng độ các chất khoáng trong môi trường dinh dưỡng đã tác động đến sự kích thích phát sinh rễ *in vitro*. Ở nồng độ 1/2 MS cho hiệu quả ra rễ tốt nhất; với tỷ lệ phát sinh rễ 95,57%; số rễ 5,9 rễ; chiều dài rễ 3,03 cm. Ở nồng độ môi trường MS cho tỷ lệ ra rễ 49,63%, số rễ đạt 3,12 rễ; chiều dài rễ 3,56 cm. Tại nồng độ 1/4 MS cho tỉ lệ ra rễ thấp nhất, số rễ ít và chiều dài rễ ngắn, lần lượt có giá trị 34,4%; 1,93 rễ; 1,95 cm. Tóm lại, việc giảm một nửa nồng độ khoáng trong môi trường nuôi cấy MS đã có tác dụng kích thích phát sinh rễ cây *in vitro* mà không cần phải bổ sung thêm chất điều hoà sinh trưởng.

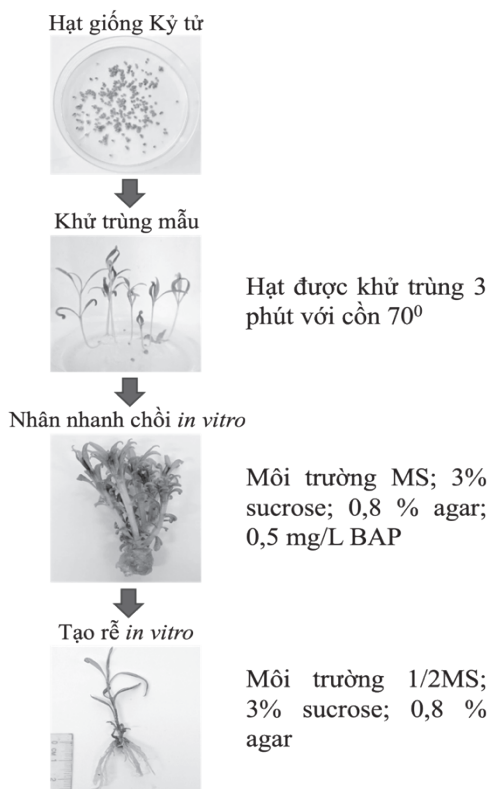
Tác giả Manal El-salato (2022) đã công bố nghiên cứu nhân nhanh chồi cây Kỹ tử Ai cập (*Lycium barbarum*). Kết quả cho thấy, trong 3 môi trường bao gồm môi trường cơ bản Murashige và Skoog (môi trường MS), môi trường Gamborg

(môi trường B5) và môi trường thực vật thân gỗ (môi trường WP), thì môi trường MS cho cảm ứng chồi tốt nhất. Tỷ lệ nhân chồi tối đa được ghi nhận trên môi trường MS bổ sung 225,24  $\mu\text{M}$  BAP. Giai đoạn ra rễ, 100% cây ra rễ trên môi trường MS bổ sung 304,86  $\mu\text{M}$  naphthalene acetic acid (NAA) (Manal El-salato, 2022). Kết quả giai đoạn nhân nhanh chồi cũng tương đồng với kết quả của chúng tôi. Còn giai đoạn ra rễ, chúng tôi chỉ sử dụng 1/2 MS và không cần bổ sung chất điều hoà sinh trưởng, chồi cho ra rễ mạnh, đạt tỷ lệ 95,57%.

### 3.5. Sơ đồ quy trình nhân giống *in vitro* cây Kỹ tử

Từ các kết quả tốt nhất thu được ở mỗi giai đoạn, chúng tôi xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây Kỹ tử như hình 6. Quy trình nuôi cấy được mô tả như sau: (1) Hạt giống Kỹ tử được thu từ quả, rửa sạch dưới vòi nước chảy, sau đó đưa vào tủ nuôi cấy để khử trùng. Công thức khử

trùng là ngâm hạt trong cồn 70<sup>0</sup> trong 3 phút. Rửa sạch hạt 3 lần với nước cất vô trùng, sau đó cấy hạt vào môi trường MS. (2) Đoạn chồi cây con *in vitro* được cắt ngắn khoảng 1-1,5 cm để tiến hành nhân nhanh chồi. Môi trường nhân chồi là MS + 3% (w/v) sucrose + 0,8% (w/v) agar bổ sung 0,5 mg/L BAP. (3). Các đoạn chồi sau nhân nhanh được tách và chuyển qua môi trường ra rễ: ½ MS có 3% (w/v) sucrose; 0,8% (w/v) agar.



Hình 6. Sơ đồ quy trình nhân giống *in vitro* cây Kỷ tử

#### 4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu chúng tôi rút ra những kết luận sau:

- Phương pháp khử trùng mẫu hạt Kỷ tử đơn giản và hiệu quả là: cồn 70<sup>0</sup> trong thời gian 3 phút, cho tỉ lệ nảy mầm 67,2% sau 2 tuần nuôi cấy.

- Môi trường MS có 3% sucrose; 0,8% agar bổ sung 0,5 mg/L BAP là môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi *in vitro* cây Kỷ tử; với hệ số nhân chồi đạt 7,35 chồi/mẫu; chiều cao chồi đạt 1,9 cm; số lá/chồi đạt 5,3 lá sau 3 tuần nuôi cấy.

- Môi trường ½ MS có 3% sucrose; 0,8% agar thích hợp để tạo rễ *in vitro*; với tỷ lệ ra rễ 95,57%; số rễ/chồi đạt 5,9 rễ; chiều dài rễ 3,03 cm sau 3 tuần nuôi cấy.

**A RESEARCH ON *IN VITRO* PROPAGATION OF GOJI PLANT  
(*Lycium barbarum* L.)**

**Bui Thi Tho<sup>1</sup>**

Received Date: 25/05/2024; Revised Date: 27/06/2024; Accepted for Publication: 28/06/2024

**ABSTRACT**

Goji berry (*Lycium barbarum* L.) is an important food and medicinal plant used in Eastern medicine since ancient times. Currently, the demand for large quantities of seedlings in Vietnam is increasing. This study aims to establish the process of *in vitro* propagation of G. berry from seeds. The results indicate that sterilizing the seeds with 70% alcohol for 3 minutes resulted in a seed germination rate of 67.2%. The MS medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 0.5 BAP was suitable for the multiplication of *in vitro* shoots after 3 weeks of culture, with a multiplication factor of 7.35 shoots/explant, an average shoot length of 1.9 cm, and 5.3 leaves per shoot. For rooting and developing plant formation, the suitable medium was ½ MS. After 3 weeks of culture, the rooting rate reached 95.57%, the average number of roots was 5.9; average root length was 3.03 cm.

**Keywords:** *Lycium barbarum*, *Goji berry*, *in vitro*, *multiplication*.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Ahmed, M.E.A.E. (2022). *In vitro* propagation and improving accumulation of coumarin in *Lycium barbarum*, a rare plant in the flora of Egypt. Bull. Natl. Res. Cent. 46, 220. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00881-2>
- Fira, A., Joshee, N., Cristea, V., Simu, M., Monica, H., Pamfil, D., Clapa, D. (2016). Optimization of Micropropagation Protocol for Goji Berry (*Lycium barbarum* L.). Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca Hort. 73, 141–150. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:12177>
- Potterat, O. (2009). Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity. Planta Med. 76, 7–19. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1186218>
- Shahrajabian, M.H., Sun, W., Cheng, Q. (2018). A review of Goji berry (*Lycium barbarum*) in Traditional Chinese medicine as a promising organic superfood and superfruit in modern industry 6, 437–445. <https://doi.org/10.15413/ajmp.2018.0186>
- Stojakowska, A., Malarz, J., Kohlmuenger, S. (2012). Micropropagation of *Scutellaria baicalensis* Georgi. Acta- Soc. Bot. Pol. 68, 103–107. <https://doi.org/10.5586/asbp.1999.015>
- Tudor, V., As, A., Ionu, Z., Gîdea, M., Veronica, J. (2017). Germination capacity of some *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. biotypes seeds. Romanian Biotechnol. Lett. 22.
- Yu, Y., Wu, X., Pu, J., Luo, P., Ma, W., Wang, J., Wei, J., Wang, Y., Fei, Z., (2018). *Lycium barbarum* polysaccharide protects against oxygen glucose deprivation/reoxygenation-induced apoptosis and autophagic cell death via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in primary cultured hippocampal neurons. Biochem. Biophys. Res. Commun. 495, 1187–1194. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.165>

<sup>1</sup>University of Science and Education, the University of Da Nang;

Corresponding author: Bui Thi Tho; Tel: 0931943387; Email: [bttho@ued.udn.vn](mailto:bttho@ued.udn.vn).