

## NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY CHÂN DANH HOA THƯA

(*Euonymus laxiflorus* Champ. ex Benth)

Mai Quốc Quân<sup>1</sup>, Dương Nguyễn Phương Dung<sup>1</sup>, Đặng Thị Ngọc Hằng<sup>1</sup>,  
Hồ Nhật Được<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huyền<sup>1</sup>

Ngày nhận bài: 18/10/2024; Ngày phản biện thông qua: 21/11/2024; Ngày duyệt đăng: 22/11/2024

### TÓM TẮT

Chân danh hoa thưa (*Euonymus laxiflorus* Champ. ex Benth) là một trong những loại dược liệu quý có phân bố hạn hẹp ở một số nước châu Á trong đó có Việt Nam. Với mục tiêu bảo tồn và tạo nguồn giống cây Chân danh hoa thưa với số lượng lớn, chúng tôi tiến hành xác định nồng độ chất khử trùng, thời gian khử trùng thích hợp và nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng nhằm góp phần xây dựng quy trình nuôi cấy *in vitro* cây Chân danh hoa thưa. Các thí nghiệm sử dụng môi trường MS (Murashige and Skoog) cải tiến bổ sung đường sucrose 30g/L, agar 7g/L và vitamin Morel. Kết quả nghiên cứu cho thấy khử trùng mẫu bằng NaClO 30% trong thời gian 15 phút đạt hiệu quả khử trùng tốt nhất, tỉ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 76,67%. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L BA cho hiệu quả 100% số mẫu phát sinh chồi với số lượng 5,04 chồi/mẫu sau 60 ngày nuôi cấy, số lá/cụm chồi đạt 19,88 lá, chiều cao chồi đạt 27,91 mm, trọng lượng tươi 0,50g. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L IBA cho hiệu quả tạo rễ cao nhất với số lượng rễ trung bình 10,98 rễ và chiều dài rễ trung bình đạt 73,47 mm.

**Từ khóa:** BA, Chân danh hoa thưa, *Euonymus laxiflorus*, IBA, *in vitro*, MS.

### 1. MỞ ĐẦU

Chân danh hoa thưa (*Euonymus laxiflorus* Champ. ex Benth) là một trong những cây thuốc thân gỗ phân bố hạn hẹp ở một số nước Châu Á như Campuchia, Trung Quốc, Ấn Độ, Myanmar, Việt Nam... (Nguyen et al., 2018). Tại Việt Nam, cây mọc hoang dã ở các khu rừng thuộc các tỉnh Nghệ An, Quảng Trị, Đắk Lắk, Lâm Đồng. Cây Chân danh hoa thưa thuộc họ Dây gối, được sử dụng từ lâu trong y học cổ truyền Việt Nam, là loại dược liệu có mặt trong nhiều bài thuốc của người dân tộc thiểu số ở tỉnh Đắk Lắk (Nguyen et al., 2017). Cây được sử dụng trong nhiều bài thuốc giúp bồi bổ gan, bổ thận, giảm đau mỏi, ngoài ra còn có thể được sử dụng để điều trị ngoại thương (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2006).

Đã có nhiều nghiên cứu về cây Chân danh hoa thưa, các nghiên cứu này tập trung chủ yếu vào việc đánh giá các hoạt tính sinh học và thành phần các hợp chất tách chiết từ vỏ và lá của loại cây này. Kou và cộng sự (2003) đã tách chiết và xác định cấu trúc hóa học của hợp chất laxifolone A từ thân cây và lá của cây Chân danh hoa thưa, được ghi nhận là hợp chất mới và có tác dụng ức chế oxit nitric (NO) cao (IC<sub>50</sub> = 0,12 mg/ml). Nghiên cứu của các nhóm tác giả Nguyễn Quang Vinh và cộng sự (2017), Nguyễn Văn Bốn và cộng sự (2018) đã chứng minh cao chiết từ vỏ và lá cây chân danh có khả năng kháng oxi hóa, ức chế enzyme và hạ đường huyết trên mô hình động vật thí nghiệm. Tuy nhiên, các nghiên cứu về nhân giống cây Chân

danh hoa thưa còn ít. Nguyễn Anh Dũng và cộng sự (2022) đã nghiên cứu nhân giống loại cây này bằng phương pháp giâm cành, tỷ lệ cành giâm ra rễ đạt 83%, tỷ lệ sống đạt 90%. Kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã được ứng dụng để nhân giống một số loài thuộc chi *Euonymus*, tuy nhiên chưa có các nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Chân danh hoa thưa.

Hiện nay, tình trạng phá rừng khai thác gỗ, lấy đất làm nông nghiệp và việc khai thác cây liên tục trong nhiều năm để làm dược liệu mà không chú ý đến tái sinh cây có thể dẫn đến khả năng cạn kiệt nguồn dược liệu (Nguyễn Trọng Chung và cộng sự, 2022). Do đó, cần có các biện pháp bảo tồn và nhân giống các loại cây dược liệu trong đó có cây Chân danh hoa thưa. Các biện pháp nhân giống truyền thống như giâm cành, chiết cành... không thể đáp ứng đủ nhu cầu về cả số lượng và chất lượng cây giống. Để tạo ra một lượng lớn cây giống dược liệu đạt chuẩn với quy mô công nghiệp cần phải tiến hành áp dụng kỹ thuật nhân giống *in vitro*. Phương pháp nhân giống *in vitro* giúp gia tăng hệ số nhân giống, chủ động sản xuất một số lượng lớn cây giống có chất lượng cao, đồng đều và sạch bệnh (Trần Văn Minh, 2001). Nâng cao hiệu quả khử trùng và cải tiến môi trường dinh dưỡng đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhân giống *in vitro*. Do đó, chúng tôi tiến hành khảo sát nồng độ, thời gian khử trùng và bổ sung chất điều hòa sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau nhằm tìm ra điều kiện phù hợp nhất cho sự sinh trưởng cây

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên;

Tác giả liên hệ: Mai Quốc Quân; ĐT: 0949683377; Email: mqquan@ttn.edu.vn.

Chân danh hoa thưa góp phần hoàn thiện quy trình nuôi cấy *in vitro* loại cây này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

+ Mẫu cây Chân danh hoa thưa được thu thập tại vườn quốc gia Yok Đôn và được trồng tại vườn thực nghiệm Trường Đại học Tây Nguyên

+ Chồi Chân danh hoa thưa *in vitro*

+ Dung dịch NaClO của Xilong scientific CO., Ltd, Trung Quốc

+ 6-Benzyladenin (BA) của Merck, Đức

+ Indole-3-Butyric Acid của Duchefa Biochemie, Hà Lan

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đối tượng, địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: cây Chân danh hoa thưa.



**Hình 1.** Cây chân danh hoa thưa được trồng tại vườn thực nghiệm Trường Đại học Tây Nguyên

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng di truyền và Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, trường Đại học Tây Nguyên.

#### 2.2.2. Khảo sát điều kiện khử trùng

Mẫu cây Chân danh hoa thưa được thu thập tại vườn quốc gia Yok Đôn và được trồng tại vườn thực nghiệm Trường Đại học Tây Nguyên. Chọn đoạn thân phát triển khỏe mạnh, chọn đoạn đốt thân từ vị trí đốt thứ 3 đến đốt thứ 5 tính từ ngọn trở xuống. Mẫu được rửa dưới vòi nước trong 30 phút, sau đó lắc với xà phòng 15 phút và rửa sạch lại dưới vòi nước. Sau đó mẫu được tiến hành xử lý vô trùng bằng NaClO ở các nồng độ pha loãng 20%, 30%, 40%, 50% trong thời gian 5 phút, 10 phút và 15 phút, mẫu đối chứng sử dụng nước cất để khử trùng mẫu.

Mẫu được cấy vào môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962), bổ sung đường sucrose 30 g/L,

agar 7 g/L, vitamin Morel (Morel & Wetmore, 1951: Pyridoxine hydrochloride: 1mg/L, Myo-Inositol 100 mg/L, Acid Nicotinic: 1 mg/L, Thyamin hydrochloride: 1 mg/L, Calcium-Pantothenate: 1mg/L), môi trường được chỉnh pH = 5,8 trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút, áp suất 1 atm. Thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 2000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 25± 1 °C, độ ẩm tương đối 50 ± 5%, thời gian nuôi cây 21 ngày. Thí nghiệm 2 yếu tố bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 13 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức có 20 bình, mỗi bình 1 mẫu. Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Sau 21 ngày nuôi cấy tiến hành ghi nhận các chỉ tiêu sau: tỷ lệ (%) mẫu sống không nhiễm (mẫu sống không nhiễm/số mẫu ban đầu), tỷ lệ (%) mẫu nhiễm nấm (mẫu nhiễm nấm/số mẫu ban đầu), tỷ lệ (%) mẫu nhiễm khuẩn (mẫu nhiễm khuẩn/số mẫu ban đầu), tỷ lệ (%) mẫu chết không nhiễm (mẫu chết không nhiễm/số mẫu ban đầu).

#### 2.2.3. Khảo sát nồng độ BA

Chồi *in vitro* cây Chân danh hoa thưa mang 1 cặp lá cao 1cm được sử dụng làm nguồn mẫu cho thí nghiệm này. Mẫu được cấy vào môi trường MS có bổ sung BA ở các nồng độ 0,5 mg/L; 1mg/L; 1,5 mg/L và 2mg/L. Mỗi nghiệm thức được bố trí với 3 lần lặp lại, mỗi lần 5 bình, mỗi bình 3 cây. Thành phần môi trường, điều kiện nuôi và cường độ chiếu sáng giống với mục 2.2.2. Kết quả được thu nhận và đánh giá sau 60 ngày nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi: số chồi/mẫu: đếm tất cả các chồi có 1 lá trở lên; số lá/cụm chồi: tính bằng cách đếm hết số lá mở hình thành trên một mẫu; chiều cao chồi (mm/cây): tính bằng cách đo từ gốc đến đỉnh ngọn; khối lượng tươi (g): làm sạch môi trường/giá thể, để ráo và tiến hành cân.

#### 2.2.4. Khảo sát nồng độ IBA

Để tìm ra môi trường phù hợp cho sự ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh, các chồi Chân danh hoa thưa mang 2 cặp lá cao 2cm thu được ở thí nghiệm trước được tách riêng và cấy vào môi trường MS bổ sung IBA ở các nồng độ 0,5 mg/L; 1 mg/L; 1,5 mg/L; 2 mg/L; 2,5 mg/L. Mỗi nghiệm thức cấy 5 bình tam giác, mỗi bình 3 cây. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Thành phần môi trường, điều kiện nuôi và cường độ chiếu sáng giống với mục 2.2.2, bổ sung thêm 1g/L than hoạt tính vào môi trường. Kết quả được thu nhận và đánh giá sau 60 ngày nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi: số lá: tính bằng cách đếm hết số lá mở hình thành trên một mẫu; chiều cao chồi (mm/cây): tính bằng cách đo từ gốc đến đỉnh ngọn; khối lượng tươi (g): làm sạch môi trường/giá thể,

đề ráo và tiến hành cân; số rễ/cây: tính bằng cách đếm hết số rễ hình thành trên một mẫu; chiều dài rễ: lấy trung bình của 3 rễ dài nhất ở mỗi mẫu.

**2.3. Xử lý và thống kê số liệu**

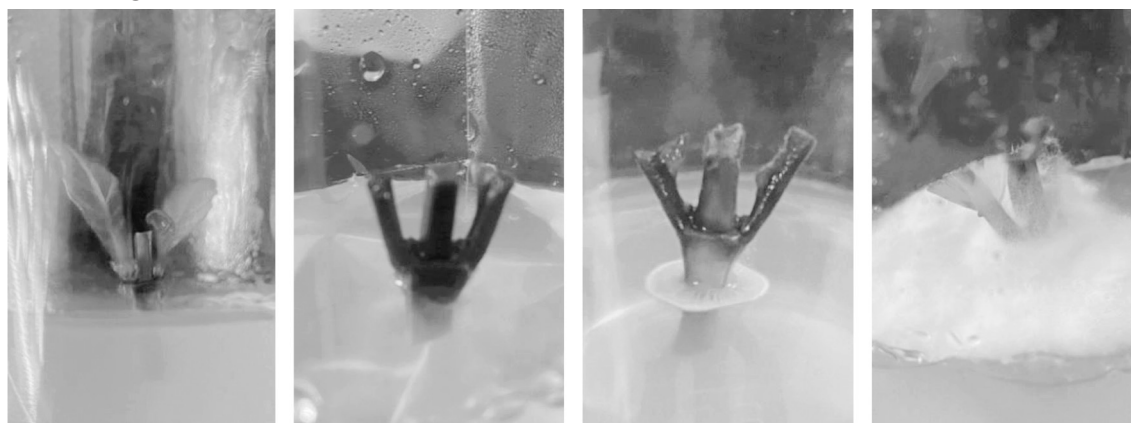
Tất cả các số liệu đều được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 20, số liệu có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$ , nhập số liệu và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2013.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Bảng 1. Kết quả khử trùng mẫu sau 21 ngày**

NT	Sống không nhiễm (%)	Nhiễm nấm (%)	Nhiễm khuẩn (%)	Chết không nhiễm (%)
ĐC	0,00±00,0e	100±0,00a	0,00±0,00b	0,00±0,00f
N <sub>20-5</sub>	0,00±00,0e	100±0,00a	0,00±0,00b	0,00±0,00f
N <sub>20-10</sub>	0,00±00,0e	96,67±2,87a	3,33±2,88ab	0,00±0,00f
N <sub>20-15</sub>	28,33±7,64d	66,67±2,87b	8,33±7,63ab	0,00±0,00f
N <sub>30-5</sub>	45,00±5,00c	50,00±5,00c	8,33±5,77ab	0,00±0,00f
N <sub>30-10</sub>	66,67±7,64b	21,67±10,41d	10,00±5,00a	1,67±2,89f
N <sub>30-15</sub>	76,67±2,89a	15,00±5,00d	5,00±5,00ab	3,33±2,89f
N <sub>40-5</sub>	38,33±5,77c	50,00±5,00c	6,67±7,63ab	13,33±2,89e
N <sub>40-10</sub>	25,00±5,00d	0,00±00,0e	0,00±0,00b	75,00±5,00c
N <sub>40-15</sub>	6,67±2,89e	0,00±00,0e	0,00±0,00b	93,33±2,89ab
N <sub>50-5</sub>	1,67±2,89e	51,67±7,63c	5,00±5,00ab	41,67±12,58d
N <sub>50-10</sub>	8,33±5,77e	0,00±00,0e	0,00±0,00b	91,67±5,77b
N <sub>50-15</sub>	0,00±00,0e	0,00±00,0e	0,00±0,00b	100±0,00a
<b>ANOVA</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>

\*Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, d, e, f trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với  $P < 0,05$ .



Mẫu sống không nhiễm

Mẫu chết không nhiễm

Mẫu nhiễm khuẩn

Mẫu nhiễm nấm

**Hình 2. Kết quả khử trùng mẫu sau 21 ngày**

Khi sử dụng NaClO 20% để khử trùng do nồng độ thấp nên không gây ảnh hưởng đến mẫu, tỷ lệ mẫu sống đạt 100%; tuy nhiên hiệu quả khử trùng thấp, các mẫu bị nhiễm khuẩn và nhiễm nấm, khi tăng thời gian khử trùng lên 15 phút số mẫu sống không nhiễm cũng chỉ đạt 28,33%.

Hiệu quả khử trùng được cải thiện khi tăng nồng độ NaClO, khi sử dụng NaClO 30% tỷ lệ mẫu sống không nhiễm tăng dần từ 45% (khử trùng trong 5 phút) lên 76,67% (khử trùng trong 15 phút), ở nồng độ này mẫu ít bị tác động nên khi khử trùng 15 phút tỉ lệ mẫu chết vẫn thấp 3,33%. Tiếp tục tăng nồng

độ NaClO lên 40%, 50% kết quả cho thấy hiệu quả khử trùng đạt tới 100% mẫu không nhiễm nếu khử trùng trong 10 - 15 phút; tuy nhiên tỉ lệ mẫu chết lên tới 93,33% nếu khử trùng bằng NaClO 40% và chết 100% nếu khử trùng bằng NaClO 50% trong 15 phút. Khi sử dụng NaClO ở nồng độ cao trong thời gian dài có thể NaClO đã gây độc cho tế bào thực vật gây nên hiện tượng hoại tử chết mẫu.

Kết quả khảo sát nồng độ và thời gian khử trùng cho thấy nồng độ NaClO thích hợp nhất để khử trùng mẫu Chân danh hoa thưa là NaClO 30% trong thời gian 15 phút. Nghiên cứu của Balnur Kali et al. (2024) trên loài *Euonymus koopmannii* cũng cho thấy sử dụng NaClO để khử trùng chồi nách tốt hơn so với sử dụng KMnO<sub>4</sub>, trong nghiên cứu này NaClO 5% được sử dụng kết hợp với Tween 20 để khử trùng mẫu trong thời gian 5 phút cho tỉ lệ mẫu sống không nhiễm lên tới 85,2% tuy nhiên khi tăng thời gian lên 10 phút thì tỉ lệ mẫu

sống không nhiễm giảm còn 67,5%.

Nghiên cứu sử dụng NaClO để khử trùng mẫu cây Sa mộc dầu thuộc nhóm cây thân gỗ của nhóm tác giả Hồ Ngọc Sơn và cộng sự (2019) cũng cho kết quả NaClO 30% cho hiệu quả khử trùng mẫu tốt nhất với thời gian khử trùng phù hợp là 30 phút cho kết quả tỉ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 73,33%.

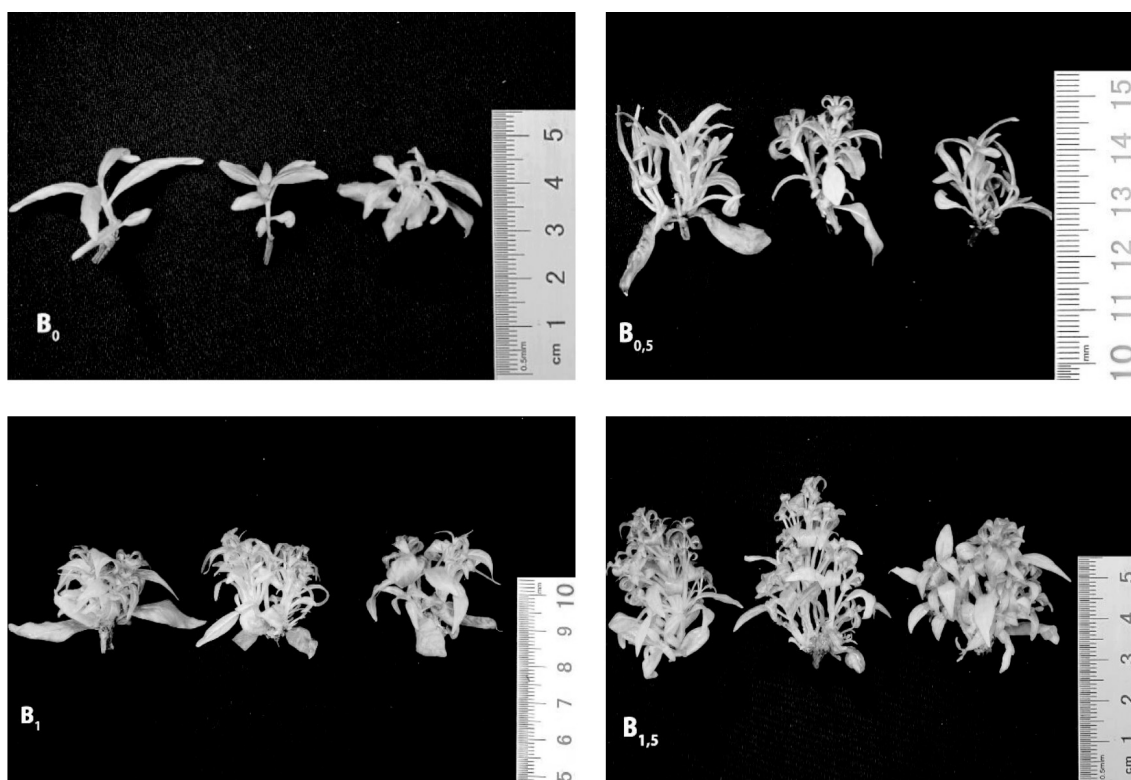
### 3.2. Ảnh hưởng của 6-Benzyladenin (BA) đến sự hình thành cụm chồi cây Chân danh hoa thưa trong điều kiện *in vitro*

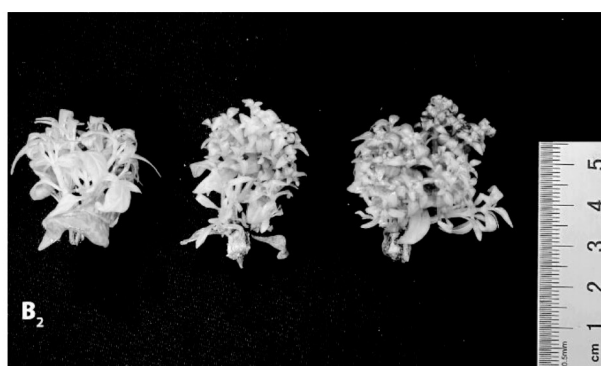
BA là một cytokinin được sử dụng nhiều trong quá trình kích thích sự sinh trưởng chồi ở các loài thực vật nuôi cấy mô. Theo Chang & Chang (2003), cytokinin thúc đẩy mạnh quá trình phát sinh hình thái *in vitro* trong ống nghiệm của thực vật, tuy nhiên nhu cầu cytokinin khác nhau ở mỗi loài thực vật, thậm chí các loài khác nhau trong cùng một chi.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của 6-Benzyladenin (BA) đến sự hình thành cụm chồi sau 60 ngày nuôi cấy**

NT	Số chồi/mẫu	Số lá/ Cụm chồi	Chiều cao chồi (mm)	Khối lượng tươi (g)
B <sub>0</sub>	1,56±0,10e	6,35±0,17d	15,29±0,30d	0,14±0,01d
B <sub>0,5</sub>	3,05±0,17d	14,66±0,31c	17,27±0,37c	0,26±0,01c
B <sub>1</sub>	3,53±0,14c	14,77±0,20c	19,53±0,48b	0,34±0,01b
B <sub>1,5</sub>	5,04±0,14a	19,88±0,48a	27,91±0,34a	0,50±0,01a
B <sub>2</sub>	4,38±0,10b	18,11±0,36b	27,49±0,70a	0,49±0,02a
ANOVA	**	**	**	**

\*Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, d, e trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với P<0,05.





**Hình 3. Ảnh hưởng của 6-Benzyladenin (BA) sau 60 ngày nuôi cấy**

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành cụm chồi cây Chân danh hoa thưa cho thấy ở các nồng độ BA khác nhau thì số lượng và kích thước chồi có sự khác biệt. Khi tăng dần nồng độ BA từ 0,5 - 1,5 mg/L thì số chồi hình thành, số lá/cụm chồi, chiều cao chồi và trọng lượng tươi tăng dần, khác biệt so với đối chứng không bổ sung BA. Mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung BA 1,5 mg/L so với mẫu đối chứng không được bổ sung BA có số chồi cao gấp 3,2 lần đối chứng; số lá/cụm chồi cao gấp 3,1 lần; chiều cao chồi gấp 1,8 lần và trọng lượng tươi cao gấp 3,6 lần đối chứng. Tuy nhiên, khi nồng độ BA tăng lên 2,0 mg/L số chồi và chất lượng chồi có khuynh hướng giảm xuống.

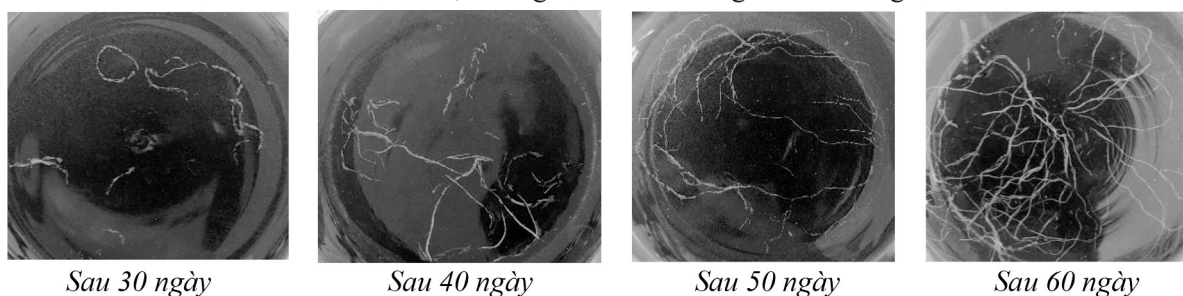
Nghiên cứu của Thammina và cộng sự (2011) cũng cho thấy khi bổ sung quá nhiều BA vào môi trường MS sẽ gây ức chế sự phát triển của chồi *in vitro* cây *Euonymus alatus*, nồng độ BA phù hợp đối với loại cây này là 4,40  $\mu$ M. Nghiên cứu của Balnur Kali et al. (2024) trên loài *Euonymus koopmannii* cũng cho thấy bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy là cần thiết cho việc nhân nhanh tạo chồi, ở nồng độ

BA 1mg/L tỷ lệ tạo chồi đạt 90%.

Từ kết quả đánh giá ảnh hưởng của BA đến khả năng hình thành cụm chồi, chúng tôi lựa chọn nồng độ BA 1,5mg/L để bổ sung vào môi trường MS với mục tiêu thúc đẩy nhân nhanh cụm chồi cây Chân danh hoa thưa trong điều kiện *in vitro*. Một số lý do cho tính ưu việt của BA có thể là do BA được chuyển hóa dễ dàng hơn so với các chất điều hòa sinh trưởng thực vật tổng hợp khác trong các mô thực vật, hoặc BA có thể tạo ra các hormone tự nhiên như zeatin trong mô thực vật (Zaerr and Mapes, 1982). Nhờ đó bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy có thể thúc đẩy nhân nhanh chồi Chân danh hoa thưa.

### 3.3. Ảnh hưởng của Indole-3-Butyric Acid (IBA) đến sự phát sinh rễ của chồi Chân danh hoa thưa trong điều kiện *in vitro*

Auxin thường được bổ sung vào môi trường để tăng cường khả năng tạo rễ cho chồi nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, với các loài cây khác nhau thì loại auxin và nồng độ sử dụng là khác nhau. Trong nghiên cứu này, IBA được sử dụng để bổ sung vào môi trường MS cảm ứng tạo rễ *in vitro*.



**Hình 4. Quá trình phát triển của rễ Chân danh hoa thưa trong môi trường MS**

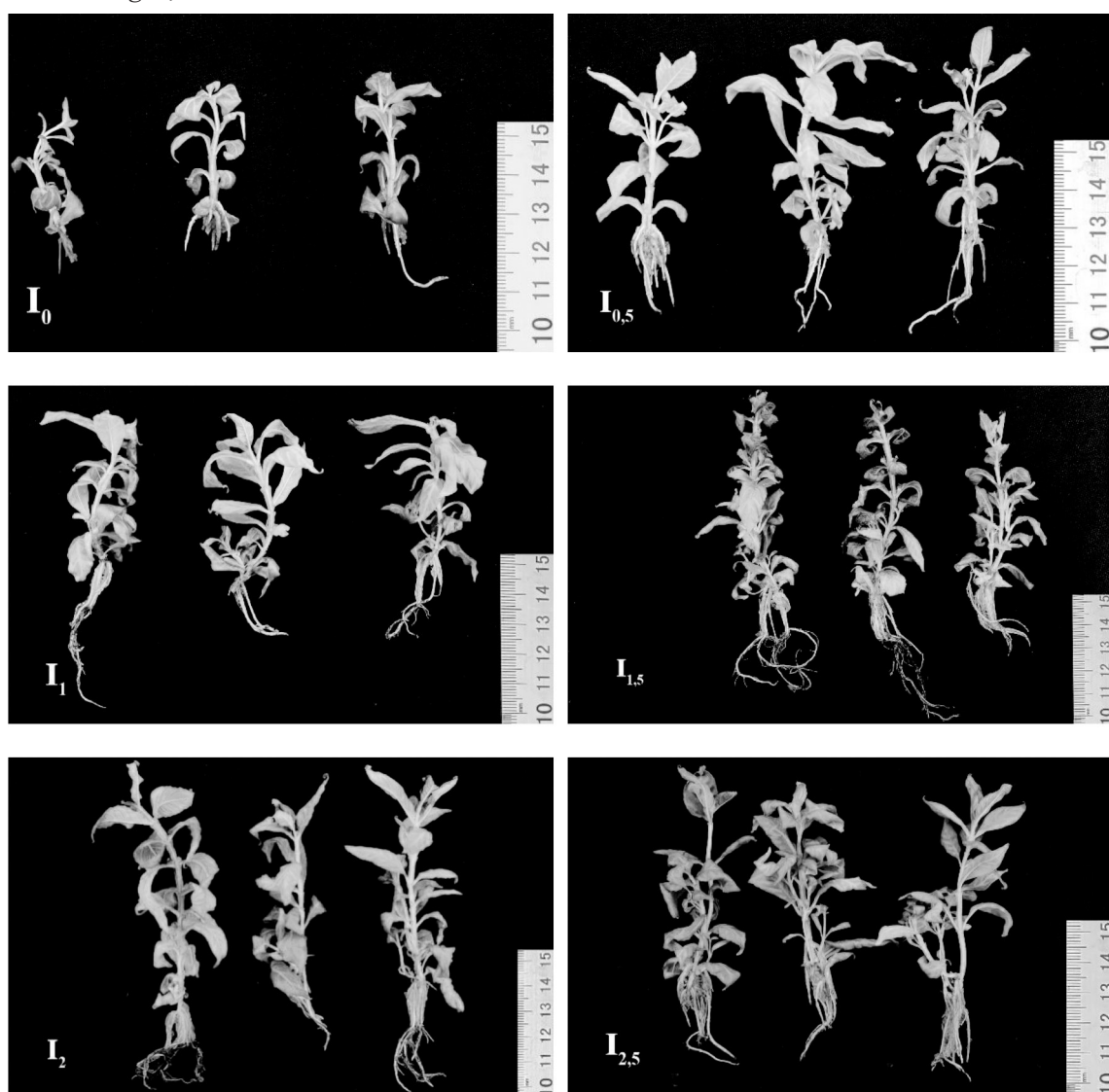
Kết quả thu được sau 60 ngày cho thấy các mẫu đều tạo rễ tuy nhiên số lượng và kích thước rễ ở các nghiệm thức có sự chênh lệch đáng kể, khác biệt có ý nghĩa thống kê. IBA có tác động tích cực giúp thúc đẩy sự hình thành rễ của chồi cây Chân danh hoa thưa. Khi tăng nồng độ IBA từ 0,5 - 1,5 mg/L số lượng rễ tăng dần từ 7,07 rễ/chồi lên 10,98 rễ/chồi, cao gấp 1,4 - 2,1 lần so với đối chứng không được bổ sung IBA. Các mẫu được nuôi cấy trên môi

trường MS bổ sung IBA nồng độ 1,5mg/L có tốc độ tăng trưởng và phát sinh rễ cao nhất, so với đối chứng không được bổ sung IBA các mẫu ở nghiệm thức này có số lá cao gấp 2,6 lần đối chứng; chiều cao cây tăng 2,5 lần; chiều dài rễ tăng 5,5 lần; số rễ tăng 2,1 lần và trọng lượng tươi gấp 7,0 lần so với mẫu đối chứng. Khi tiếp tục tăng nồng độ IBA lên 2 - 2,5mg/L số lượng rễ, chiều dài rễ và tốc độ tăng trưởng của chồi có khuynh hướng giảm dần.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA sau 60 ngày nuôi cấy**

NT	Số lá/cây	Chiều cao cây (mm)	Số rễ/cây	Chiều dài rễ (mm)	Khối lượng tươi (g)
I <sub>0</sub>	8,38±0,27f	30,80±0,29e	5,16±0,10d	13,33±0,17e	0,42±0,02e
I <sub>0,5</sub>	9,84±0,21e	41,93±0,31d	7,07±0,31c	34,29±0,72d	0,99±0,02d
I <sub>1</sub>	14,36±0,56c	53,33±1,11c	7,29±0,16c	49,58±1,24c	1,14±0,20c
I <sub>1,5</sub>	21,65±0,17a	75,67±1,60a	10,98±0,1a	73,47±1,11a	2,93±0,10a
I <sub>2</sub>	17,20±0,18b	73,24±0,86b	10,76±0,1a	53,18±1,14b	2,99±0,01a
I <sub>2,5</sub>	11,84±0,45d	55,40±2,13c	10,11±0,4b	33,60±0,63d	2,67±0,16b
<b>ANOVA</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>	<b>**</b>

\*Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, d, e trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với P<0,05.



**Hình 5. Ảnh hưởng của IBA sau 60 ngày nuôi cấy**

Nghiên cứu của Balnur Kali et al. (2024) trên loài *Euonymus koopmannii* cũng cho thấy sử dụng IBA ở nồng độ 2mg/L gây ức chế sự hình thành của chồi, khi sử dụng nồng độ IBA 0,5g/L kết hợp với 0,05mg/L NAA giúp thúc đẩy sự hình thành rễ với tỷ lệ tạo rễ đạt 67%. Thammina và cộng

sự (2011) cũng chỉ ra rằng IBA có tác động tích cực giúp thúc đẩy tạo rễ của chồi cây *Euonymus alatus*, với nồng độ IBA 4,9 μM cho kết quả 85% số chồi ra rễ.

Từ kết quả đánh giá ảnh hưởng của IBA đến khả năng hình thành cụm chồi, chúng tôi lựa

chọn nồng độ IBA 1,5mg/L để bổ sung vào môi trường MS với mục tiêu thúc đẩy sự phát sinh rễ của chồi cây Chân danh hoa thưa trong điều kiện *in vitro*.

#### 4. KẾT LUẬN

Sử dụng NaClO 30% trong 15 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, tỉ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 76,67%. Môi trường MS (Murashige and Skoog) cải tiến bổ sung đường sucrose 30g/L,

agar 7g/L, vitamin Morel và 1,5 mg/L BA thích hợp cho nhân chồi đạt 5,04 chồi sau 60 ngày nuôi cấy, số lá/cụm chồi đạt 19,88 lá; chiều cao chồi đạt 27,91 mm; trọng lượng tươi 0,50g. Chồi *in vitro* tạo rễ tốt nhất khi được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung IBA nồng độ 1,5 mg/L, sau 60 ngày số rễ đạt 10,98 rễ; chiều dài rễ 73,47 mm; trọng lượng tươi đạt 2,93g; chiều cao cây 75,67%; số lá đạt 21,65 lá sau 60 ngày nuôi cấy.

### STUDY ON *IN VITRO* PROPAGATION OF *Euonymus laxiflorus* Champ. ex Benth

Mai Quoc Quan<sup>1</sup>, Duong Nguyen Phuong Dung<sup>1</sup>, Dang Thi Ngoc Hang<sup>1</sup>,  
Ho Nhat Duoc<sup>1</sup>, Nguyen Thi Huyen<sup>1</sup>

Received Date: 18/10/2024; Revised Date: 21/11/2024; Accepted for Publication: 22/11/2024

#### ABSTRACT

*Euonymus laxiflorus* Champ. ex Benth is one of the precious medicinal herbs with limited distribution in some Asian countries including Vietnam. With the goal of conservation and creating a large number of *Euonymus laxiflorus* seedlings, we determined the concentration of disinfectant, appropriate disinfection time and concentration of growth regulators to contribute to develop an *in vitro* culture protocol of *Euonymus laxiflorus*. The experiments used the modified MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with 30g/L sucrose, 7g/L agar and Morel's Vitamin. The research results showed that sterilizing the explants with 30% NaClO for 15 minutes achieved the best disinfection effect, the rate of clean and live explants reached 76.67%. MS medium supplemented with 1.5 mg/L BA gave 100% shoot generation efficiency with 5.04 shoots/sample after 60 days of culture, number of leaves/shoot cluster reached 19.88 leaves, shoot height reached 27.91 mm, fresh weight 0.50g. MS medium supplemented with 1.5 mg/L IBA gave the highest rooting efficiency with an average number of roots of 10.98 roots and an average root length of 73.47 mm.

**Keywords:** BA, *Euonymus laxiflorus*, IBA, *in vitro*, MS.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Huy Bích, Đặng Hoàng Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập và Trần Toàn (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập II. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- Nguyễn Trọng Chung, Lê Hùng Tiến, Phạm Văn Năm và Đào Thị Châu (2022). Thực trạng phát triển dược liệu và công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc tại tỉnh Thanh Hóa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Hồng Đức*, số 62, tr 27-35.
- Nguyễn Anh Dũng, Lê Thừa Hoài Sơn, Mai Quốc Quân, Hồ Nhật Đước, Trương Hồng Hà (2022). *Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật nhân giống Chân danh hoa thưa (Euonymus laxiflorus) bằng phương pháp giâm cành*. Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2022, tr 862-867.
- Trần Văn Minh, Nguyễn Văn Uyển (2001). Vi nhân giống phong lan nhóm *Dendrobium* trên quy mô công nghiệp, nhân giống *in vitro*. *Tạp chí Khoa học Công nghệ*, 1: 1- 9.
- Hồ Ngọc Sơn, Nguyễn Thị Thoa, Lê Văn Phúc (2019). Ảnh hưởng của loại hóa chất, nồng độ hóa chất và thời gian khử trùng đến kết quả tạo mẫu sạch Sa mộc dầu (*Cunninghamia konishii* Hayata). *Tạp chí khoa học*, số 36, tr 94-101.

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University;

Corresponding author: Mai Quoc Quan; Tel: 0949683377; Email: mqquan@ttn.edu.vn.

- Chang C. & Chang W. (2000). Micropropagation of *Cymbidium ensifolium* var. *Misericors* through callus-derived rhizomes. *In vitro cellular and developmental biology – plant*, 36(6): 517-520.
- Kali, B.; Bekkuzhina, S.; Tussipkan, D.; Manabayeva, S (2024). A First Approach for the In Vitro Cultivation, Storage, and DNA Barcoding of the Endangered Endemic Species *Euonymus koopmannii*. *Plants* 2024, 13, 2174.
- Morel, G. and Wetmore, R.M. (1951). Fern Callus Tissue Culture. *American Journal of Botany*, 38, 141-143.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497.
- Quang Vinh Nguyen, Ngoc Hung Nguyen, San-Lang Wang, Van Bon Nguyen, Anh Dzung Nguyen (2017). Free radical scavenging and antidiabetic activities of *Euonymus laxiflorus* Champ. extract. *Res. Chem. Intermed*; 43:5615–5624.
- Thammina, C., He, M., Lu, L., Cao, K., Yu, H., Chen, Y., Tian, L., Chen, J., McAvoy, R., Ellis, D., Zhao, D., Wang, Y., Zhang, X., & Li, Y. (2011). In Vitro Regeneration of Triploid Plants of *Euonymus alatus* ‘Compactus’ (Burning Bush) from Endosperm Tissues. *HortScience horts*, 46(8), 1141-1147.
- Van Bon Nguyen, San-Lang Wang, Anh Dzung Nguyen, Thi Phuong Khanh Vo, Li-Jie Zhang, Quang Vinh Nguyen, Yao-Haur Kuo (2017). Isolation and identification of novel  $\alpha$  amylase inhibitors from *Euonymus laxiflorus* Champ. *Research on Chemical Intermediates*, vol. 44, pp. 1411-1424.
- Van Bon Nguyen, San-Lang Wang, Anh Dzung Nguyen, Zhi-Hu Lin, Chien Thang Doan, Thi Ngoc Tran, Hung Tse Huang, Yao-Haur Kuo (2018). Bioactivity-Guided Purification of Novel Herbal Antioxidant and Anti-NO Compounds from *Euonymus laxiflorus* Champ. *Molecules*, vol. 24, no. 1, p. 120.
- Van Bon Nguyen, San-Lang Wang, Thi Hanh Nguyen, Minh Trung Nguyen, Chien Thang Doan, Thi Ngoc Tran, Zhi-Hu Lin, Quang Vinh Nguyen, Yao-Haur Kuo, Anh Dzung Nguyen (2018). Novel Potent Hypoglycemic Compounds from *Euonymus laxiflorus* Champ, and Their Effect on Reducing Plasma Glucose in an ICR Mouse Model. *Molecules*, 2018 Aug 2; 23(8):1928, doi: 10.3390/molecules23081928.
- Yao-Haur Kuo, Hui-Chi Huang, Wen-Fei Chiou, Li-Shian Shi, Tian-Shung Wu, Yang-Chang Wu (2003). A novel NO-production-inhibiting triterpene and cytotoxicity of known alkaloids from *Euonymus laxiflorus*. *Journal of Natural Products*, Vol. 66, pp. 554-7.
- Zaerr, J.B. and Mapes, M.O. (1982). *Action of Growth Regulators*. In: Bonga, J.M. and Durzan, D.J., Eds., *Tissue Culture in Forestry*, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, 231-255.