

NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HÀ THỦ Ô ĐỎ (*Polygonum multiflorum* Thunb.) TUYỂN CHỌN TẠI TỈNH HÀ GIANG

Bùi Văn Thắng

Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nhân giống cây Hà thủ ô đỏ được tuyển chọn tại tỉnh Hà Giang bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đạt hệ số nhân cao đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sát khuẩn bề mặt chồi bằng cồn 70% trong 1 phút, khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 6 phút và nuôi mẫu trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l BAP và 30 g/l sucrose, cho tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi 48,53%, chồi vươn cao, thân và lá xanh đậm. Cầm ứng tái sinh tạo cụm chồi trên môi trường MS thêm 1,0 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin, 0,2 mg/l NAA và 30 g/l sucrose, cho hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu đạt cao nhất (9,1 chồi/mẫu cấy và 94,4% chồi hữu hiệu) chỉ sau 4 tuần nuôi cấy. Chồi ra rễ 100%, số rễ trung bình 5,58 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 4,68 cm khi nuôi trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l IBA, 0,1 mg/l NAA và 20 g/l sucrose sau 4 tuần nuôi cấy. Cây con hoàn chỉnh được huấn luyện và chuyển ra trồng trên giá thể 30% trấu toàn tính, 20% bột xơ dừa và 50% đất, cho tỉ lệ cây sống 100%. Quy trình nhân giống này có thể áp dụng để sản xuất hàng loạt cây giống Hà thủ ô đỏ chất lượng tốt, đáp ứng nhu cầu nguồn cây giống hiện nay.

Từ khóa: Cây Hà thủ ô đỏ, cụm chồi, nhân giống, nuôi cấy mô, *Polygonum multiflorum* Thunb.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiflorum* Thunb.) thuộc họ Rau răm (polygonaceae) là cây dược liệu quý, có tên trong Sách đỏ Việt Nam cần được bảo vệ. Hà thủ ô đỏ phân bố rộng rãi trên toàn thế giới, có nhiều ở Trung Quốc và Nhật Bản. Ở Việt Nam, phân bố chủ yếu từ Nghệ An trở ra, có nhiều ở Lai Châu, Sơn La, Lào Cai, Hà Giang và một số tỉnh khác như Cao Bằng, Lạng Sơn, Hòa Bình có số lượng ít hơn.

Hà thủ ô đỏ đã được sử dụng như một loại thuốc trong y học cổ truyền trong nhiều thế kỷ cho các bài thuốc bổ máu, chữa thận suy, gan yếu, tinh thần suy nhược, ngủ kém, sốt rét kinh niên, đau lưng mỏi gối, di mộng tinh, khí hư, đại tiểu tiện ra máu, táo bón, da mẩn ngứa, làm đen tóc, làm tóc đỡ khô và rụng. Ngày nay, hơn 100 các hợp chất hóa học đã được tách chiết từ củ Hà thủ ô đỏ và các thành phần chính đã được xác định là stilbenes, quinon, flavonoid... Các hợp chất này được sử dụng trong y học hiện đại cho việc chống lão hóa, chống ung thư, chống viêm, điều hòa miễn dịch. Bởi vậy, Hà thủ ô đỏ được đánh giá là cây dược liệu quý và có giá trị kinh tế cao.

Các loài cây dược liệu nói chung và Hà thủ ô đỏ nói riêng trong tự nhiên đang bị giảm về

số lượng và chất lượng dược liệu bởi sự khai thác tận diệt cộng với các điều kiện ngày càng bất lợi của môi trường sống do biến đổi khí hậu, dẫn đến nhiều loài cây dược liệu quý hiếm bị tuyệt chủng, một số loài đang bị đe dọa tuyệt chủng ngoài tự nhiên, ảnh hưởng đến nguồn cung cấp dược liệu bền vững cho con người.

Chính vì vậy, mà một số tỉnh đã đưa ra các dự án trồng Hà thủ ô đỏ để cung cấp nguồn dược liệu mà thị trường cần, xong việc trồng Hà thủ ô đỏ này vẫn áp dụng phương pháp truyền thống như giâm cành hoặc trồng bằng hạt. Phương pháp này cho hệ số nhân giống thấp, cây phát triển kém, phụ thuộc vào mùa vụ, thời tiết. Khác với phương pháp nhân giống này, đó là nhân giống cây Hà thủ ô đỏ *in vitro* sẽ cho cây giống chất lượng cao với tỉ lệ các chất emodin, physcion cao hơn so với cây tự nhiên (Chang Lin et al., 2003). Đến nay, đã có một số công trình công bố về nhân giống cây Hà thủ ô đỏ bằng phương pháp nuôi cấy mô (Trần Thị Kim Thu, 2008; Trương Thị Bích Phượng và cs, 2008; Hoàng Thị Kim Hồng); tuy nhiên các báo cáo cho thấy hiệu quả nhân giống phụ thuộc rất nhiều vào nguồn gốc vật liệu nuôi cấy, thành phần, hàm lượng chất điều

hòa sinh trưởng sử dụng. Trong nuôi cấy mô tế bào, các giống khác nhau khi nuôi cấy trên cùng một môi trường dinh dưỡng thì khả năng tái sinh có thể khác nhau do sự khác biệt về kiểu gen. Trong nội dung đề tài “Nghiên cứu sản xuất giống và phát triển các loài dược liệu trong danh mục ưu tiên của tỉnh Hà Giang”, đã tuyển chọn được giống Hà thủ ô đỏ có năng suất và chất lượng tốt. Để có lượng lớn cây giống có chất lượng tốt phục vụ phát triển cây Hà thủ ô đỏ tại tỉnh Hà Giang thì việc nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cho giống cây này là rất cần thiết.

Trong công trình này, thông báo kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* thành công cây Hà thủ ô đỏ được tuyển chọn tại Hà Giang, cho hệ số nhân giống cao.

II. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống cây Hà thủ ô đỏ vùng cao được tuyển chọn tại các huyện Đồng Văn, Quản Bạ và Hoàng Su Phì tỉnh Hà Giang.

- Cây giống Hà thủ ô đỏ được trồng để trẻ hóa chồi tại vườn cây thuốc trong nhà lưới của Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Đại học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Nuôi cấy khởi động:** Mẫu chồi sau khi cắt (kích thước 15 - 20 cm), tiến hành xử lý sơ bộ loại bỏ lá, rửa sạch bụi bẩn dưới vòi nước sạch, ngâm mẫu trong nước xà phòng loãng khoảng 5 - 10 phút, làm sạch bụi bẩn bám trên đoạn thân, loại bỏ hết xà phòng bằng nước máy và tráng lại bằng nước cất. Sau đó mẫu được cho vào các bình có nút vặn và đưa vào tủ cấy vô trùng để khử trùng. Khử trùng sơ bộ bằng cồn 70% trong 1 phút, sau đó khử trùng diệt khuẩn và nấm bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong thời gian 4 - 8 phút, mẫu được tráng bằng nước cất vô trùng 5 lần và thấm khô bằng giấy thấm vô trùng. Dùng kéo cắt các đoạn chồi có kích thước (1,5 - 2,0 cm) chứa một mắt ngủ cấy lên môi trường nuôi cấy khởi động, nuôi cấy dưới

ánh sáng gián tiếp.

- **Tái sinh chồi:** Các chồi tái sinh từ bước nuôi cấy khởi động được cắt thành các đoạn có kích thước 1,0 - 1,5 cm, loại bỏ phần lá và cấy lên môi trường tái sinh cụm chồi có hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) khác nhau. Mẫu được nuôi dưới ánh sáng gián tiếp neon, sau 4 tuần nuôi, mẫu tạo cụm chồi thống kê số mẫu tái sinh chồi, số chồi/cụm chồi, chồi hữu hiệu (chiều cao $\geq 2,0$ m) và tính hệ số nhân chồi = số chồi tái sinh/số mẫu cấy.

- **Kích thích chồi ra rễ:** Dùng kéo cắt các chồi hữu hiệu có kích thước khoảng 2,0 cm và cấy lên môi trường kích thích chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh có hàm lượng chất ĐHST khác nhau. Các bình chồi được nuôi dưới ánh sáng gián tiếp Neon, sau 4 tuần nuôi chồi ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh, thống kê số rễ trên chồi và đo chiều dài rễ bằng thước.

- **Huấn luyện và ra ngoài:** Các cây con ra rễ *in vitro* được đưa ra nhà huấn luyện cây mô trong thời gian 5 - 7 ngày để cây thích nghi dần với điều kiện tự nhiên. Sau thời gian huấn luyện cây con cứng cáp lấy ra khỏi bình và rửa bộ rễ loại bỏ thạch bằng nước máy (rửa nhẹ nhàng tránh làm gãy rễ, dập thân). Sau đó, cây con được cấy vào chậu với giá thể là 30% trấu toàn tính, 20% bột xơ dừa và 50% đất, cây được tre ánh sáng chiếu trực xạ bằng lưới đen (50%), ngày tưới nước phun sương 4 lần (2 lần vào buổi sáng và 2 lần vào buổi chiều), mỗi lần 2 phút, đảm bảo độ ẩm $\geq 90\%$.

Các thí nghiệm được bố trí trong các bình tam giác có nút bông (5 mẫu/bình 250 ml). Mỗi công thức nhắc lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm microsoft excel.

Điều kiện phòng nuôi cấy: nhiệt độ phòng nuôi $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, cường độ ánh sáng 3.000 Lux, thời gian chiếu sáng 14 h/ngày.

Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng khoáng MS của Murashige và Skoog (1962).

Bảng 1. Thành phần các loại môi trường nuôi cấy Hà thủ ô đỏ

Môi trường	Thành phần môi trường nuôi cấy
Nuôi cấy khởi động	MS bổ sung 0,2 mg/l BAP, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar
Tái sinh cụm chồi	MS bổ sung (0,5 – 2,0 mg/l) BAP, (0,3 và 0,5 mg/l) kinetin, (0,2 và 0,3 mg/l) NAA, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar (bảng 3)
Kích thích chồi ra rễ	MS bổ sung (0,1 – 1,0 mg/l) NAA, (0,1 – 0,5 mg/l) IBA, 20 g/l sucrose, 7 g/l agar (bảng 4)

Tất cả các môi trường nuôi cấy được chuẩn độ đến pH = 5,8; khử trùng ở 121°C trong 20 phút.

- Xử lý số liệu

Mỗi công thức nhắc lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS (version 16.0) và phương pháp Duncan's test (Duncan, 1995) với mức sai khác có ý nghĩa $p = 0,05$.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nuôi cấy khởi động

Sau 3 tuần nuôi cấy, số liệu thu được trình bày như bảng 2 cho thấy rằng, khử trùng chồi Hà thủ ô đỏ bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong các khoảng thời gian khác nhau (4 - 8 phút)

cho tỉ lệ mẫu sạch và mẫu tái sinh chồi khác nhau rõ rệt, cụ thể là: với công thức khử trùng mẫu trong thời gian 4 phút cho tỉ lệ mẫu sạch này chồi thấp nhất 11,76%. Qua quan sát chúng tôi thấy các mẫu mới vào có màu xanh, tươi, sau ngày thứ 5, thứ 6 có rất nhiều mẫu nhiễm nấm và khuẩn. Điều đó chứng tỏ thời gian khử trùng 4 phút chưa đủ để tiêu diệt hoàn toàn mầm bệnh trong mẫu. Ở công thức khử trùng trong thời gian 6 phút cho tỉ lệ mẫu sạch này chồi cao nhất 48,53%, chồi vươn cao, thân và lá xanh đậm. Khi tăng thời khử trùng lên 8 phút thì tỉ lệ mẫu sạch này chồi giảm mạnh, chỉ đạt 36,76%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch nảy chồi

Thời gian khử trùng (phút)	Số mẫu thí nghiệm	Số mẫu sạch nảy chồi	Tỷ lệ (%)
4	68	8	11,76
6	68	33	48,53
8	68	25	36,76

3.2. Nhân nhanh chồi *in vitro*

Trong nghiên cứu này, sử dụng 6 công thức môi trường có sự kết hợp các loại chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin và cytokinin theo tỉ lệ như đã trình bày trong phần phương

pháp và một công thức đối chứng không bổ sung chất ĐHST, môi trường dinh dưỡng sử dụng đồng nhất gồm: MS + 30 g/l sucrose + 7g /l agar + chất ĐHST; Sau thời gian theo dõi 4 tuần, kết quả tổng hợp trong bảng 3.

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

Chất ĐHST (mg/l)			Số chồi/mẫu cấy	Tỷ lệ chồi hữu hiệu (%)
BAP	Kinetin	NAA		
-	-	-	1,07 ± 0,07 f	54,52 ± 2,54 e
0,5	0,3	0,2	6,52 ± 0,62 bc	78,63 ± 4,47 cd
1,0	0,3	0,2	9,10 ± 0,45 a	94,40 ± 3,65a
2,0	0,3	0,2	5,08 ± 0,60 cd	90,72 ± 2,05a
0,5	0,5	0,3	7,40 ± 0,84 b	88,26 ± 4,26 ab
1,0	0,5	0,3	4,55 ± 0,50 cde	73,09 ± 4,05 d
2,0	0,5	0,3	3,28 ± 0,45 e	74,56 ± 2,60 d

Ghi chú: Trong phạm vi cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $P = 0,05$. Chồi hữu hiệu là chồi có kích thước $\geq 2,0$ cm, có thể cắt cho nuôi cấy ra rễ.

Kết quả thu được trình bày ở bảng 3, cho thấy rằng: Trên môi trường bổ sung loại và hàm lượng chất ĐHST khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tái sinh chồi Hà thủ ô đỏ, hệ số nhân nhanh chồi (số chồi/mẫu cấy) dao động từ 3,28 - 9,1 chồi sau 4 tuần nuôi cấy và tỷ lệ chồi hữu hiệu (chồi có kích thước $\geq 2,0$ cm) dao động từ 73,09 - 94,4%. Ngược lại, ở công thức không bổ sung chất ĐHST cho hệ số nhân chồi rất thấp (1,05 chồi/mẫu cấy) và tỷ lệ chồi hữu hiệu chỉ đạt 54,52%. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường dinh dưỡng khoáng cơ bản MS bổ sung 1,0 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,2 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi và tỉ lệ chồi hữu hiệu đạt cao nhất trong các công thức thí nghiệm (trung bình 9,1 chồi/mẫu cấy và 94,4% chồi hữu hiệu) (hình 1A,B). Theo báo cáo của Chang Lin et al. (2003) nuôi cấy chồi Hà thủ ô đỏ *in vitro* trong các môi trường bổ sung BA và NAA; kết quả cho thấy, mẫu tái sinh tạo cụm chồi trên môi trường khoáng MS bổ sung 2,0 mg/l BA và 0,2 mg/l NAA là 97% nhưng chỉ đạt 4,7 chồi/mẫu cấy sau 6 tuần nuôi cấy. Trong khi đó, Trần thị Liên (2004) nuôi cấy đoạn thân Hà thủ ô trên môi trường MS cơ bản bổ sung nước dừa và 0,5 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA cho hiệu quả tái sinh chồi tốt là 7 chồi/mẫu sau 5 tuần nuôi cấy; Hoàng thị Kim Hồng (2011) nuôi cấy chồi Hà thủ ô đỏ trên môi trường khoáng MS bổ sung 4 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA cho mẫu cấy tái sinh chồi đạt 8,54 chồi/mẫu sau 5 tuần nuôi cấy. Tuy nhiên, trong các công bố không báo cáo tỷ lệ chồi hữu hiệu trên số chồi tái sinh có thể tạo cây hoàn chỉnh, thời gian nuôi tái sinh chồi kéo dài từ 5 - 6 tuần. Trong nghiên cứu

này, chúng tôi nghiên cứu tái sinh chồi giống Hà thủ ô đỏ vùng cao được tuyển chọn tại Hà Giang trên môi trường bổ sung tổ hợp chất ĐHST gồm BAP, NAA và Kinetin, cho thấy trên môi trường MS thêm 1,0 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,2 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu đạt cao nhất (9,1 chồi/mẫu cấy và 94,4% chồi hữu hiệu) sau thời gian chỉ 4 tuần nuôi cấy, cao hơn so với công trình đã thông báo trước đây. Nguyên nhân này có thể do môi trường nuôi cấy bổ sung thêm chất ĐHST Kinetin hoặc do sự khác biệt về kiểu gen giữa các giống Hà thủ ô đỏ nghiên cứu.

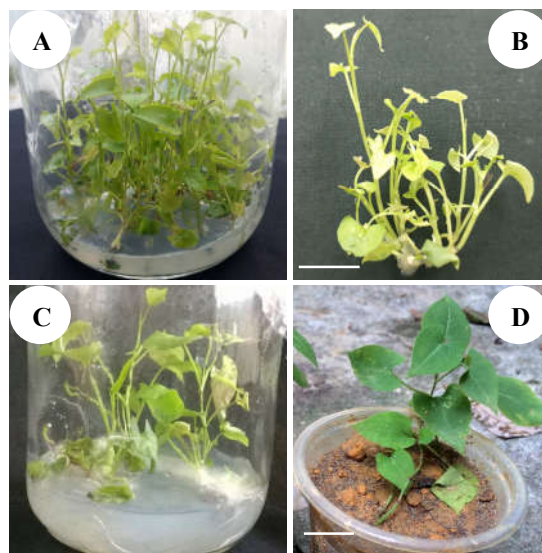
3.3. Tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi Hà thủ ô hữu hiệu *in vitro* có chiều cao $\geq 2,0$ cm tạo ra ở bước nhân nhanh chồi được cắt và cấy lên môi trường ra rễ bổ sung chất ĐHST NAA và IBA với các hàm lượng khác nhau. Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả thu được cho thấy rằng, môi trường khoáng MS không bổ chất ĐHST chồi không ra rễ, ngược lại trên các công thức môi trường bổ sung (0,1 - 0,5 mg/l) IBA và (0,1 - 1,0 mg/l) NAA chồi Hà thủ ô đỏ nuôi cấy *in vitro* cho tỉ lệ ra rễ dao động từ 30 - 100% và chiều dài rễ trung bình đạt 0,82 - 4,68 cm, số rễ trung bình/cây đạt 1 - 5,58 rễ/cây (bảng 1, hình 1C). Tỉ lệ chồi ra rễ, chiều dài rễ và số rễ trung bình/cây đạt cao nhất ở công thức môi trường khoáng MS thêm 0,2 mg/l IBA và 0,1 NAA trong các công thức thí nghiệm, 100% chồi ra rễ. Tương tự, với báo cáo của Chang Lin và cộng sự (2003) khi nuôi cấy chồi trên môi trường bổ sung NAA hoặc IBA cũng cho tỉ lệ chồi ra rễ từ 88 - 100%, chiều dài rễ từ 3,02 - 4,28 cm.

Bảng 4. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng ra rễ *in vitro* của cây Hà thủ ô đỏ

Chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)		Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)
IBA	NAA			
-	-	0 ± 0,00 i	-	-
0,3	-	30 ± 1,25 h	1,00 ± 0,00 h	0,82 ± 0,06 h
0,5	-	35 ± 1,54 h	1,10 ± 0,05 g	1,30 ± 0,13 g
-	0,5	75 ± 2,12 ef	2,87 ± 0,12 e	2,30 ± 0,25 e
-	1,0	70 ± 2,05 f	1,85 ± 0,20 f	1,72 ± 0,18 f
0,1	0,2	82 ± 1,58 cd	3,21 ± 0,37 de	2,55 ± 0,30 cde
0,1	0,3	78 ± 0,94 d	3,88 ± 0,25 c	2,80 ± 0,28 cd
0,1	0,5	62 ± 2,45 g	2,0 ± 0,15 f	1,70 ± 0,20 f
0,2	0,1	100 ± 0,00 a	5,58 ± 0,23 a	4,68 ± 0,43 a
0,3	0,1	95 ± 1,02 b	4,68 ± 0,33 b	3,38 ± 0,27 b

Ghi chú: Trong phạm vi cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $P = 0,05$.



Hình 1. Nhân giống *in vitro* cây Hà thủ ô đỏ

(A,B – Cụm chồi trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,2 mg/l NAA sau 4 tuần nuôi cấy; C - Chồi ra rễ môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l IBA, 0,1 mg/l NAA sau 4 tuần nuôi cấy; D - Cây con ra ngôi sau 4 tuần (thước 1,0 cm))

3.4. Huấn luyện và ra ngôi

Các cây Hà thủ ô đỏ ra rễ trên môi trường cảm ứng ra rễ, được huấn luyện trong nhà lưới 5 - 7 ngày để cây thích nghi dần với điều kiện tự nhiên trước khi lấy ra khỏi bình. Sau thời gian huấn luyện, cây được rửa sạch loại bỏ agar dưới vòi nước chảy và được cấy vào chậu đã chuẩn bị giá thể ruột, gồm 30% trấu toàn tính, 20% bột xơ dừa và 50% đất. Đặt chậu cây trong nhà lưới có mái che bằng lưới đen tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực xạ, ngày tưới nước phun sương 4 lần, mỗi lần 2 phút, đảm bảo độ

ẩm $\geq 90\%$, cho tỉ lệ cây sống 100%. Sau 4 tuần cây con được chuyển ra đất trồng sản xuất (hình 1D).

IV. KẾT LUẬN

Xây dựng thành công quy trình nhân giống *in vitro* cho giống Hà thủ ô đỏ vùng cao được tuyển chọn tại tỉnh Hà Giang, đạt hiệu suất cao: Nhân nhanh chồi trên môi trường MS thêm 1,0 mg/l BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,2 mg/l NAA, cho hệ số nhân chồi và tỉ lệ chồi hữu hiệu đạt cao nhất (9,1 chồi/mẫu cây và 94,4% chồi hữu hiệu) chỉ sau 4 tuần nuôi cấy; chồi nuôi cấy

trên môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l IBA, 0,1 mg/l NAA, cho tỉ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 5,58 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 4,68 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Cây hoàn chỉnh được huấn luyện 5 - 7 ngày trong nhà lưới cho thích nghi dần với điều kiện tự nhiên, cây được trồng trên giá thể gồm 30% trấu toàn tính, 20% bột xơ dừa và 50% đất, cho tỉ lệ sống 100%. Sau 4 tuần ra ngôi, cây con đủ tiêu chuẩn đem trồng sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2004). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập I+II. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
2. Hoàng Thị Kim Hồng (2011). Nghiên cứu khả năng tái sinh chồi và cụm chồi trong nuôi cấy *in vitro* cây Hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiflorum* Thunb). *Tạp chí Khoa học*, Đại học Huế, 6: 23- 32.
3. Trần Thị Liên (2004). *Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống vô tính loài Hà thủ ô bằng kỹ thuật in vitro*. Luận văn Thạc sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học

Nông nghiệp I, Hà Nội.

4. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học.
5. Trương Thị Bích Phượng, Trần Thị Kim Thu, Nguyễn Hoàng Lộc (2008). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiflorum* Thunb). *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 6 (4B): 889 – 895.
6. Trần Thị Kim Thu (2008). *Nghiên cứu nhân giống in vitro cây Hà thủ ô đỏ (Polygonum multiflorum Thunb)*. Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.
7. Chang Lin L., Manohar Nalawade S., Mulabagal V. et al. (2003). Micropropagation of *Polygonum multiflorum* Thunb and Quantitative Analysis of the Anthraquinones Emodin and Physcion Formed in *in Vitro* Propagated Shoots and Plants. *Biol. Pharn. Bull.* 26: 1467 – 1471.
8. Longfei Lin, Boran Ni, Hongmei Lin et al. (2015). Traditional usages, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Polygonum multiflorum* Thunb.: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 159: 158–183.
9. Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant*, 15: 473 – 497.

IN VITRO PROPAGATION OF *Polygonum multiflorum* Thunb. SELECTED FROM HA GIANG PROVINCE

Bui Van Thang

Vietnam National University of Forestry

SUMMARY

The Procedure for *in vitro* propagation of *Polygonum multiflorum* Thunb selected from Ha Giang province in Vietnam has been successfully developed. The result showed that the optimal method for bud sterilization was soaked in 70% ethanol for 1 minute, in 0.1% HgCl₂ for 6 minutes. The explants were grown *in vitro* on Murashige and Skoog's (MS) basal medium supplemented with 0.2 mg/l benzylaminopurine (BAP), and 30 g/l sucrose, by which the regeneration rate achieved of 48.53 percent (after 3 weeks of culture)?. MS medium supplemented with 1.0 mg/l BAP, 0.3 mg/l kinetin, 0.2 mg/l Naphthaleneacetic acid (NAA), and 30 g/l sucrose was the optimal medium for multi-shoot regeneration (9.1 shoots/explant). The percentage of potential shoots (which are more than 2.0 cm in length) was 94.4% after 4 weeks of culture. 100% shoots have rooted on MS medium and contained 0.2 mg/l indole-3-butyric acid (IBA), 0.1 mg/l NAA, and 20 g/l sucrose, with the remarkable figures being 5.58 roots/shoot and 4.68 cm/root after 4 weeks of culture. The survival rate was 100% after transplanting to pots of 30% rice husk, 20% coconut fiber, and 50% sand. The plantlets were successfully acclimatized under greenhouse conditions with high humidity before being transferred to the field. This procedure can be applied for mass production of *Polygonum multiflorum* Thunb to meet the commercial demand.

Keywords: *In vitro*, multi-shoot, *Polygonum multiflorum* Thunb, propagation, tissue culture.

Ngày nhận bài : 31/5/2017

Ngày phản biện : 07/6/2017

Ngày quyết định đăng : 20/6/2017