

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *in vitro* CÂY SÂM CAU (*Curculigo orchioides* Gaertn.) NHẪM TỐI ƯU KHẢ NĂNG PHÁT SINH CHỒI, RỄ VÀ THÍCH NGHI NGOÀI VƯỜN ƯƠM

Vũ Ngọc Lan, Nguyễn Thị Phương Dung*

Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: ntpdung@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 08.01.2026

Ngày chấp nhận đăng: 25.02.2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.). Bốn thí nghiệm đã được tiến hành: (1) Ảnh hưởng của BAP, IBA đến khả năng tạo cụm chồi; (2) Ảnh hưởng của IBA, Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi; (3) Ảnh hưởng của α -NAA, than hoạt tính đến khả năng tạo rễ *in vitro*; (4) Ảnh hưởng của độ ẩm, giá thể đến tỷ lệ sống của cây sâm cau *in vitro* trong giai đoạn vườn ươm. Kết quả xác định được môi trường tối ưu sử dụng để tạo cụm chồi là môi trường MS + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,3 g/l than hoạt tính + 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA cho tỷ lệ tạo cụm chồi cao nhất (78,33%). Môi trường nhân nhanh là MS + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,3 g/l than hoạt tính + 1,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l Kinetin, cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 17,75 chồi/mẫu. Môi trường ra rễ phù hợp nhất là MS (giảm 1/2 lượng NH_4NO_3) + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,7 g/l than hoạt tính, số rễ đạt 7,2 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 11,9cm và tỷ lệ ra rễ đạt 100%. Hỗn hợp giá thể đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) với độ ẩm 80-90% phù hợp nhất cho sự sinh trưởng của cây *in vitro* trong vườn ươm với tỷ lệ sống đạt 100%.

Từ khóa: Cụm chồi, đất phù sa, α -NAA, BAP, IBA.

In vitro Propagation Protocol of *Curculigo orchioides* Gaertn. for Optimization of Shoot and Root Regeneration and Nursery Acclimatization Success

ABSTRACT

The study aimed to improve the *in vitro* propagation of *Curculigo orchioides* Gaertn. Four experiments were conducted: (1) The effect of BAP and IBA on the ability to shoot cluster formation; (2) The effect of IBA and Kinetin on the ability to rapidly shoot multiplication coefficient; (3) The effect of α -NAA on the ability to root formation; (4) The effect of substrate moisture on the survival rate of *in vitro* plantlets. The results determined that the optimal medium used for shoot regeneration was MS medium + 20 g/l sucrose + 6.5 g/l agar + 0,3 g/l activated charcoal + 2 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA (shoot formation rate of 78.33%). The optimal shoot multiplication medium was MS + 20 g/l sucrose + 6.5 g/l agar + 0,3 g/l activated charcoal + 1.0 mg/l IBA + 1.0 mg/l Kinetin (shoot multiplication of 17.75 shoots/sample). The most suitable rooting medium was MS (with halved NH_4NO_3) + 20 g/l sucrose + 6.5 g/l agar + 0.7 g/l activated charcoal (7.2 roots/plant, root length of 11.9cm, rooting of 100%). A mixture of alluvial soil + burnt rice husk + manure (1:1:1) at 80-90% moisture content was the most suitable substrate for the growth of *in vitro* derived plantlets with a survival rate of 100%.

Keywords: Shoot regeneration, alluvial soil, α -NAA, BAP, IBA.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) thuộc họ tỏi voi lùn (Hypoxidaceae) là cây thân thảo, sống lâu năm thường có thân thật là thân rễ, phình to tạo thành củ (Asif, 2012). Loài cây này phân bố rộng rãi và được tìm thấy ở Ấn Độ,

Trung Quốc, Nhật Bản, Thái Lan, Lào, Campuchia, Malaysia, Philippines, Indonesia, Pakistan... (Chaturvedi & Srivastava, 2023).

Đây là một loài thực vật có giá trị cao trong y học cổ truyền, được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh liên quan đến sinh lý, cải thiện sức khỏe và tăng cường sinh lực (Nagesh, 2008;

Chaturvedi & Srivastava, 2023). Do nhu cầu sử dụng lớn và việc khai thác quá ồ ạt ngoài tự nhiên, sâm cau đã trở thành một loài cây dược liệu quý hiếm có nguy cơ suy giảm nghiêm trọng. Các biện pháp nhân giống truyền thống hiện nay không thể đáp ứng đủ nhu cầu về cả số lượng và chất lượng cho nguồn cung, bởi trong tự nhiên, cây sâm cau được nhân giống chủ yếu từ hạt hoặc bằng thân. Người dân miền núi chủ yếu lấy cây non ngoài tự nhiên về trồng, tuy nhiên, hạt có tỷ lệ nảy mầm thấp. Còn nhân giống bằng thân thì mỗi cây giống phải có một phần củ và phần ngọn để đảm bảo cây có thể sống, trong khi đó mỗi cây sâm cau chỉ hình thành một củ chính, vì vậy hệ số nhân giống cũng rất thấp (Nguyễn Đình Sỹ & cs., 2025). Vì vậy, việc bảo tồn và phát triển sâm cau qua phương pháp nhân giống tiên tiến là rất cần thiết để đáp ứng nhu cầu của xã hội, bảo tồn nguồn gen quý và duy trì sự bền vững của loài. Phương pháp nuôi cấy mô *in vitro* là một giải pháp hiệu quả để nhân nhanh cây sâm cau, cho phép tạo ra số lượng lớn cây giống trong khoảng thời gian ngắn, sạch bệnh và có chất lượng đồng nhất. Nhân giống *in vitro* cây sâm cau từ các mẫu thân rễ, lá và chồi đỉnh đã được thực hiện và thành công ở trên thế giới và Việt Nam như nghiên cứu của Suri & cs. (1999), Nagesh (2008), Võ Châu Tuấn & cs. (2011), Trương Thị Bích Phượng & cs. (2018) và thậm chí đã tiến hành thành công từ kỹ thuật nuôi cấy lát mỏng tế bào (Nguyễn Thị Thúy Diễm & cs., 2021), nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc và hợp chất hữu cơ trong tái sinh chồi (Nguyễn Đình Sỹ & cs., 2025). Tuy nhiên, vẫn chưa có những nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* cây sâm cau từ mắt ngủ trên thân. Do đó, để tối ưu hóa và nâng cao hiệu quả của quy trình nhân giống *in vitro*, cần có các nghiên cứu về điều kiện nuôi cấy, yếu tố dinh dưỡng, phytohormon, giá thể thích hợp để nâng cao hệ số và chất lượng cây giống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu dùng trong nhân giống là mắt ngủ trên thân của cây sâm cau ngoài tự nhiên, được thu thập ở Đà Bắc, Hòa Bình. Mẫu được ngâm

rửa trong xà phòng và được rửa sạch lại dưới vòi nước, sau đó được khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 5 phút và rửa lại nhiều lần bằng nước cất vô trùng trong tủ cấy. Các mẫu sau khi khử trùng được cấy trên môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung 20 g/l sucrose; 6,5 g/l agar; 0,3 g/l than hoạt tính.

Môi trường nuôi cấy MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung thêm sucrose, agar và các phytohormon benzyladenine (BAP), Kinetin (K), α -NAA (α -naphthalene acetic acid), IBA (indo-3-acetic acid) được sử dụng tùy thuộc vào từng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tạo cụm chồi: Mắt ngủ trên thân rễ của sâm cau được cấy vào các môi trường tái sinh nên MS có bổ sung 20 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 0,3 g/l than hoạt tính và các nồng độ BAP (1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l) và IBA (0 mg/l; 0,1 mg/l; 0,2 mg/l) để tái tạo vật liệu khởi đầu. Sau 8 tuần, mẫu được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi.

Phương pháp tái sinh và nhân nhanh chồi: Chồi sâm cau được tách ra từ cụm chồi và nuôi cấy trên môi trường nhân nhanh chồi. Tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng Kinetin, IBA với các nồng độ khác nhau đến hệ số nhân chồi sâm cau sau 8 tuần nuôi cấy.

Phương pháp tạo rễ in vitro: Chồi đơn *in vitro* (chiều cao 3cm) được cấy vào môi trường ra rễ để tạo cây hoàn chỉnh. Tiến hành bổ sung chất điều tiết sinh trưởng (α -NAA), than hoạt tính trên nền môi trường nuôi cấy phù hợp.

Nền môi trường nuôi cấy trong giai đoạn tái sinh, nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh là MS bổ sung 20 g/l sucrose; 6,5 g/l agar; 0,3 g/l than hoạt tính; pH = 5,8. Riêng đối với giai đoạn tạo rễ *in vitro* là nền môi trường MS giảm 1/2 lượng NH_4NO_3 . Điều kiện nuôi cấy *in vitro* là 14 giờ chiếu sáng, cường độ ánh sáng 2.000-2.500lux, nhiệt độ $25 \pm 1^\circ C$.

Tất cả các thí nghiệm trên đều được bố trí khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD), 30 mẫu/công thức, mỗi công thức lặp lại 3 lần.

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) nhằm tối ưu khả năng phát sinh chồi, rễ và thích nghi ngoài vườn ươm

Phương pháp đưa cây *in vitro* ra ngoài vườn ươm: Bình cây *in vitro* hoàn chỉnh được đưa ra ngoài phòng huấn luyện 7 ngày tại vườn ươm. Vườn ươm được che phủ lưới đen chắn 50% ánh sáng trực xạ.

Cây trong bình đưa ra được rửa sạch agar ở rễ và được trồng trên hai loại giá thể: đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) và đất đồi + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) với các mức độ ẩm khác nhau bằng cách tưới nước và sử dụng máy đo độ ẩm Total Meter - PMS710 (Trung Quốc) để kiểm tra, khoảng cách trồng là 2×2 cm.

Thí nghiệm ra cây được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD), 10 bình/công thức, mỗi công thức lặp lại 3 lần, với 30 cây

Các chỉ tiêu theo dõi được đo đếm 10 mẫu/công thức/nhắc lại, sau đó tính giá trị trung bình, bao gồm: tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu sống (%), chất lượng chồi, số chồi/cụm, chiều cao cây (cm), tỷ lệ chồi ra rễ (%) và số rễ/chồi (rễ).

2.3. Thời gian, địa điểm

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3/2024 đến tháng 7/2025, tại Phòng Thí nghiệm Bộ môn Sinh lý thực vật, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và IRRISTAT 5.0. Sự sai khác giữa các giá trị trung bình của các thông số được đánh giá theo phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố, so sánh giữa các cặp trung bình theo tiêu chuẩn LSD ở mức độ tin cậy $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của BAP và IBA đến khả năng tạo cụm chồi của sâm cau

Số liệu thu được cho thấy, khi chỉ bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy với các nồng độ BAP từ 1; 1,5 và 2 mg/l thì tỷ lệ tạo cụm chồi dao động từ 50-70%, trong khi đó, nếu kết hợp BAP với IBA thì khả năng tạo cụm chồi và số

chồi/cụm cao hơn khi sử dụng BAP riêng rẽ. Môi trường có bổ sung 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA cho tỷ lệ tạo cụm chồi cao nhất là 78,83%; số chồi/cụm cũng nhiều nhất là 6,19 chồi/cụm và sự sai khác là có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% so với các công thức còn lại (Bảng 1).

Nghiên cứu của Trương Thị Bích Phượng & cs. (2018) chỉ ra rằng, bổ sung 3,5 mg/l BAP vào môi trường MS thích hợp cho sự tái sinh chồi sâm cau từ đoạn thân tự nhiên với tỷ lệ mẫu tái sinh là 96,46% và số chồi/mẫu cao nhất đạt 2,65. Môi trường MS bổ sung riêng lẻ 1,5 mg/l BAP; 1,5 mg/l Kinetin thích hợp cho sự tái sinh chồi từ mẫu với tỷ lệ mẫu tái sinh chồi lần lượt là 96,68%; 92,88%. Còn nếu sử dụng nano bạc nồng độ 20% và hợp chất hữu cơ để nhân giống *in vitro* sâm cau thì tỷ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 81,6% và có 1,6% mẫu cảm ứng tạo mô sẹo (Nguyễn Đình Sỹ & cs., 2025). Trong nghiên cứu này của chúng tôi, khi sử dụng nồng độ BAP thấp hơn nghiên cứu trên (2 mg/l) nhưng kết hợp với 0,1 mg/l IBA thì tỷ lệ mẫu tái sinh là 90%, tỷ lệ tạo cụm chồi là 78,83% và số chồi/cụm lớn hơn nhiều (6,19 chồi/cụm).

3.2. Ảnh hưởng của IBA và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi của sâm cau

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nếu chỉ bổ sung Kinetin các nồng độ từ 0,5-4 mg/l khả năng kích thích phát sinh cụm chồi đều rất thấp. Số chồi chỉ đạt cao nhất là 3,75 chồi/mẫu ở nồng độ 1,0 mg/l và sự sai khác giữa các công thức chỉ bổ sung Kinetin là có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Tuy nhiên, khi bổ sung kết hợp Kinetin + IBA với tỷ lệ 1:1 ở các nồng độ từ 0,5-4,0 mg/l khả năng phát sinh cụm chồi tăng lên, số chồi tăng từ 0,5-1,0 mg/l, sau đó giảm dần và đạt cao nhất ở 1,0 mg/l mỗi loại với 17,75 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy và sai khác có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại (Bảng 2).

Chiều cao chồi lớn nhất ở công thức sử dụng đơn lẻ 1,0 mg/l Kinetin hoặc sử dụng kết hợp Kinetin và IBA theo hai tổ hợp 1,0 mg/l Kinetin + 1,0 mg/l IBA; 1,5 mg/l Kinetin + 1,5 mg/l IBA.

Sự sai khác giữa ba công thức này so với các công thức còn lại là có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Công thức có giá trị thấp nhất về chiều cao chồi là khi bổ sung 4,0 mg/l Kinetin. Các công thức kết hợp giữa Kinetin và IBA với nồng độ lớn hơn hoặc bằng 2 mg/l cho chiều cao chồi sai khác không có ý nghĩa thống kê và đều thấp hơn tổ hợp 1,0 mg/l Kinetin + 1,0 mg/l IBA.

Như vậy, khi bổ sung kết hợp Kinetin + IBA

với tỷ lệ 1:1 là 1,0 mg/l Kinetin + 1,0 mg/l IBA vừa cho số lượng chồi/mẫu lớn nhất, vừa có chiều cao chồi lớn nhất.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Lại & cs. (2018) môi trường thích hợp nhất cho nhân nhanh chồi *in vitro* cây sâm cau là MS + 30 g/l sucrose + 5,5 g/l agar + 200 ml/l nước dừa + 1 g/l than hoạt tính + 1,5 mg/l TDZ + 0,5 mg/l IBA + 1,0 mg/l AgNO₃ + 50 mg/l tảo *Spirulina* với số chồi 20,8 chồi/mẫu và 5,2 lá/cây, sau 6 tuần nuôi cấy.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BAP và IBA đến khả năng tạo cụm chồi của sâm cau *in vitro* (sau 8 tuần nuôi cấy)

Hàm lượng (mg/l)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ tạo callus (%)	Tỷ lệ tạo cụm chồi (%)	Số chồi/cụm
1 BAP	56,67	43,33	8,52	50,00	2,23 ^e
1,5 BAP	71,33	28,67	12,00	63,48	3,16 ^d
2 BAP	85,00	15,00	18,24	70,00	3,38 ^{cd}
1 BAP + 0,1 IBA	76,67	23,33	8,26	61,82	3,24 ^{cd}
1 BAP + 0,2 IBA	73,67	26,33	5,64	65,00	3,44 ^{cd}
1,5 BAP + 0,1 IBA	88,33	11,67	13,54	68,38	4,27 ^{bc}
1,5 BAP + 0,2 IBA	83,33	16,67	13,62	73,12	4,34 ^b
2 BAP + 0,1 IBA	90,00	10,00	16,38	78,83	6,19 ^a
2 BAP + 0,2 IBA	83,33	16,67	15,00	71,65	5,04 ^b
LSD _{5%}					0,89
CV%					3,6

Ghi chú: BAP: Benzyladenine, IBA: indo-3-acetic acid. Những trị số trong cùng 1 cột có cùng 1 chữ cái là không có sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Bảng 2. Ảnh hưởng IBA và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi của sâm cau *in vitro* (sau 8 tuần nuôi cấy)

Hàm lượng (mg/l)	Số chồi /mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)	Hàm lượng (mg/l)	Số chồi /mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)
0,5 Kinetin	3,25 ^k	2,57 ^c	0,5 Kinetin + 0,5 IBA	9,00 ^f	2,85 ^b
1,0 Kinetin	3,75 ⁱ	3,30 ^a	1,0 Kinetin + 1,0 IBA	17,75 ^a	3,35 ^a
1,5 Kinetin	3,18 ^k	2,91 ^b	1,5 Kinetin + 1,5 IBA	12,05 ^b	3,30 ^a
2,0 Kinetin	3,00 ^l	2,30 ^d	2,0 Kinetin + 2,0 IBA	11,00 ^c	2,95 ^b
2,5 Kinetin	3,00 ^l	2,21 ^{de}	2,5 Kinetin + 2,5 IBA	10,00 ^d	2,85 ^b
3,0 Kinetin	2,75 ^m	2,15 ^e	3,0 Kinetin + 3,0 IBA	9,50 ^e	2,85 ^b
3,5 Kinetin	3,15 ^{kl}	1,10 ^f	3,5 Kinetin + 3,5 IBA	7,75 ^g	2,77 ^b
4,0 Kinetin	3,50 ^l	0,50 ^g	4,0 Kinetin + 4,0 IBA	7,00 ^h	2,75 ^b
LSD _{5%}	0,24	0,13	LSD _{5%}	0,24	0,13
CV%	3,5	4,1	CV%	3,5	4,1

Ghi chú: Những trị số trong cùng 1 cột có cùng 1 chữ cái là không có sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.) nhằm tối ưu khả năng phát sinh chồi, rễ và thích nghi ngoài vườn ươm

Còn theo nghiên cứu của Trương Thị Bích Phượng & cs. (2018), môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BAP thích hợp nhất cho sự nhân nhanh chồi với 7,44 chồi/mẫu đến 10,13 chồi/mẫu sau 6 tuần nuôi cấy, tùy thuộc vào nguồn gốc chồi từ đoạn thân hay mẫu lá. Trong nghiên cứu này của chúng tôi, sử dụng kết hợp Kinetin + IBA với tỷ lệ 1:1 ở mức nồng độ thấp là 1,0 mg/l Kinetin + 1,0 mg/l IBA cho số chồi tạo ra nhiều và không cần sử dụng nhiều hóa chất có chi phí cao như AgNO₃ và tảo *Spirulina*.

3.3. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng tạo rễ của chồi sâm cau *in vitro*

Từ kết quả bảng 3 có thể nhận thấy, trên môi trường không chứa α -NAA, cây Sâm cau vẫn có khả năng tạo rễ *in vitro* nhưng với tỷ lệ khá thấp, chỉ khoảng 40%, rễ ngắn, rễ cây mảnh, yếu, dễ đứt. Khi bổ sung α -NAA vào môi trường, tỷ lệ tạo rễ *in vitro* của cây sâm cau tăng lên 60% (ở hàm lượng 0,25 mg/l) và 85% (ở các nồng độ 0,5-1 mg/l). α -NAA làm tăng tỷ lệ tạo thành rễ *in vitro* ở cây sâm cau. Ở nồng độ 0,25 mg/l, tỷ lệ tạo rễ đạt 60%, cao gấp 1,5 lần so với môi trường không bổ sung α -NAA. Ở các hàm lượng α -NAA từ 0,5 đến 1,0 mg/l, tỷ lệ tạo thành rễ đều đạt 85%. Tuy nhiên, nồng độ α -NAA 0,75 mg/l là thích hợp nhất, số rễ trên cây là 6,7 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 9,3cm và sự sai khác là có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95% so với các công thức còn lại. Hơn nữa, rễ *in vitro* tạo trong môi trường có bổ sung hàm lượng α -NAA này tuy mảnh nhưng rất dai, khó đứt,

tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình ra cây sau này.

Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu Wala & Jasrai (2003) với hàm lượng α -NAA bổ sung để hình thành rễ *in vitro* cây sâm cau là 0,53 mg/l, cho 12 rễ/cây và cũng gần giống nghiên cứu của Nguyễn Thị Lại & cs. (2018) khi sử dụng chất thuộc nhóm auxin là IBA nồng độ 0,5 mg/l cho sự hình thành rễ *in vitro* cây sâm cau là tối ưu nhất, với số rễ đạt 10,3 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 5,1cm sau 6 tuần nuôi cấy.

3.4. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng tạo rễ của chồi sâm cau *in vitro*

Tỷ lệ tạo rễ *in vitro* của cây sâm cau tăng lên theo hàm lượng than hoạt tính bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Khi tăng hàm lượng than hoạt tính lên 0,5 mg/l, tỷ lệ tạo rễ tăng từ 86% lên 95%, tiếp tục tăng hàm lượng than hoạt tính lên 0,7 và 1,0 g/l, tỷ lệ tạo rễ tăng lên lần lượt là 95% và 100%.

Có thể nhận thấy, khi không bổ sung than hoạt tính, cây sâm cau vẫn có khả năng tạo rễ, tuy nhiên số rễ/cây thấp hơn những công thức được bổ sung than hoạt tính và sự sai khác là có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. Mặc dù tỷ lệ ra rễ, số rễ/cây là lớn nhất và không sai khác có ý nghĩa thống kê giữa công thức bổ sung 0,7 và 1,0 g/l than hoạt tính, tuy nhiên chiều dài rễ đạt giá trị lớn nhất là 11,9cm khi bổ sung 0,7 g/l than hoạt tính. Đây là hàm lượng phù hợp nhất để tạo rễ *in vitro* cho cây sâm cau.

Bảng 3. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng tạo rễ của chồi sâm cau *in vitro*
(sau 4 tuần nuôi cấy)

Hàm lượng (mg/l)	Tỷ lệ tạo rễ (%)	Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
0 α -NAA	40	2,4 ^e	4,3 ^e	Rễ mảnh, yếu, dễ đứt
0,25 α -NAA	60	4,5 ^d	4,5 ^d	Rễ ngắn, khỏe
0,5 α -NAA	85	5,5 ^c	8,9 ^b	Rễ dài, mảnh, dai
0,75 α -NAA	85	6,7 ^a	9,3 ^a	Rễ dài, mảnh, rất dai
1 α -NAA	85	6,0 ^b	8,2 ^c	Rễ dài, mảnh, không dai
LSD _{5%}		0,45	0,15	
CV%		4,4	3,7	

Ghi chú: α -NAA: α -naphthalene acetic acid. Những trị số trong cùng 1 cột có cùng 1 chữ cái là không có sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Bảng 4. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng tạo rễ *in vitro* chồi sâm cau (sau 4 tuần nuôi cấy)

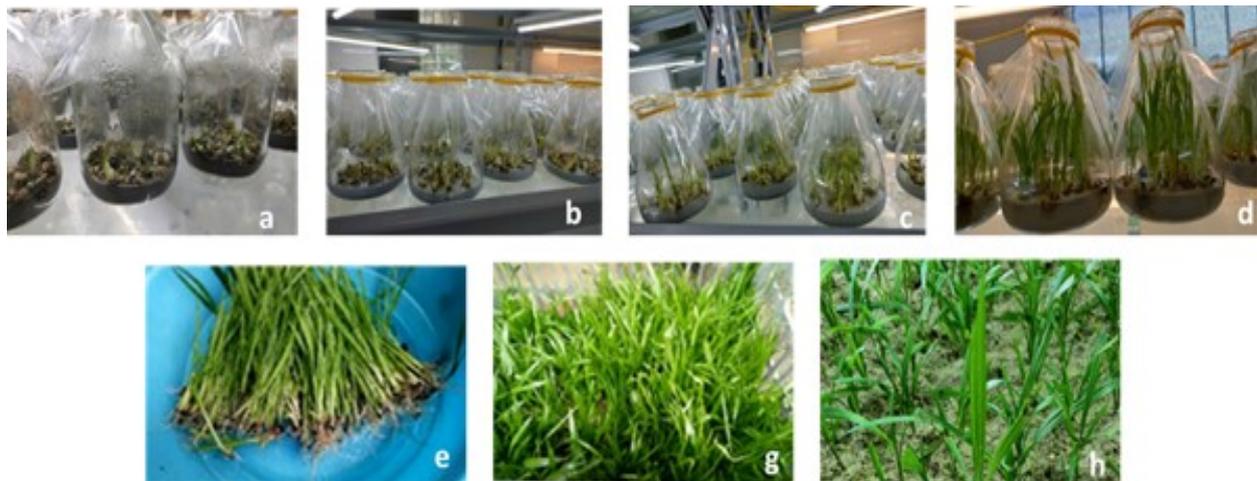
Hàm lượng than hoạt tính (g/l)	Tỷ lệ tạo rễ (%)	Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
0	86	6,4 ^c	8,7 ^c	Rễ ngắn, mảnh
0,3	90	6,8 ^b	9,2 ^c	Rễ dài, mảnh
0,5	95	6,9 ^b	9,3 ^c	Rễ dài
0,7	100	7,2 ^a	11,9 ^a	Rễ dài, dai
1	100	7,0 ^a	10,6 ^b	Rễ dài, dai
<i>LSD</i> _{5%}		0,24	1,06	
<i>CV</i> %		4,2	4,4	

Ghi chú: Những trị số trong cùng 1 cột có cùng 1 chữ cái là không có sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Bảng 5. Ảnh hưởng của độ ẩm giá thể đến sinh trưởng phát triển của cây sâm cau *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm (sau 60 ngày nuôi trồng)

Giá thể	Âm độ (%)	Tỷ lệ sống (%)	Số rễ /cây (rễ)	Chiều cao cây (cm)
Đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1)	60-70	90	10,2 ^c	9,5 ^d
	70-80	95	13,1 ^a	11,6 ^b
	80-90	100	12,7 ^a	12,0 ^a
Đất đồi + trấu hun + phân chuồng (1:1:1)	60-70	85	9,5 ^c	9,0 ^d
	70-80	90	11,1 ^b	10,5 ^c
	80-90	95	11,8 ^b	11,3 ^b
<i>LSD</i> _{5%}			8,24	0,38
<i>CV</i> %			6,1	5,7

Ghi chú: Những trị số trong cùng 1 cột có cùng 1 chữ cái là không có sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.



Ghi chú: a: Giai đoạn tạo cụm chồi; b, c: Giai đoạn nhân nhanh; d: Giai đoạn hình thành cây hoàn chỉnh; e, g, h: Ra cây con *in vitro*.

Hình 1. Cây sâm cau từ giai đoạn phát sinh chồi đến khi ra cây

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) nhằm tối ưu khả năng phát sinh chồi, rễ và thích nghi ngoài vườn ươm

Kết quả này có sai khác so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Lại & cs. (2018) về tỷ lệ chồi ra rễ cao nhất, chất lượng bộ rễ tốt nhất trong môi trường có bổ sung 1 g/l than hoạt tính.

3.5. Ảnh hưởng của độ ẩm giá thể đến tỷ lệ sống của cây sâm cau *in vitro* trong giai đoạn vườn ươm

Kết quả cho thấy, sau 60 ngày ra cây, đối với giá thể đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1), ở độ ẩm giá thể 70-80% và 80-90% không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về số rễ/cây, nhưng tỷ lệ ra rễ là lớn nhất (100%) và chiều cao cây lớn nhất (12cm) ở độ ẩm 80-90% và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại.

Tất cả các công thức giá thể đất đồi + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) ở các mức độ ẩm khác nhau đều cho tỷ lệ ra rễ nhỏ hơn 100%. Cao nhất là ở mức độ ẩm 80-90%, với tỷ lệ ra rễ, số rễ/cây, chiều cao cây lần lượt là 95%; 11,8 rễ; 11,3cm. Tuy nhiên, các chỉ tiêu này đều có giá trị thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với khi sử dụng giá thể phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1). Do đó, giá thể đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1), độ ẩm 80-90% là tối ưu và phù hợp cho cây sâm cau *in vitro* sinh trưởng tốt nhất.

Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra hỗn hợp đất mùn + vụn xơ dừa (tỷ lệ 70:30) được xác định là giá thể phù hợp nhất cho sinh trưởng của cây con sâm cau trong vườn ươm, sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ sống đạt 98%, chiều cao cây đạt 16,6cm và 6,3 rễ mới/cây (Nguyễn Thị Lại & cs., 2018). Với giá thể sử dụng trong nghiên cứu này phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1), độ ẩm 80-90%, tỷ lệ ra rễ đã đạt được 100% sau 60 ngày trồng (Bảng 5, hình 1).

4. KẾT LUẬN

Môi trường MS + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,3 g/l than hoạt tính + 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA cho tỷ lệ tạo cụm chồi cao nhất (78,33%) và số chồi/cụm là nhiều nhất (6,19 chồi/cụm) sau 8 tuần nuôi cấy.

Môi trường MS + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,3 g/l than hoạt tính + 1,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l Kinetin là tối ưu cho nhân nhanh chồi sâm cau *in vitro* với 17,75 chồi/mẫu và chiều cao chồi đạt 3,35cm sau 8 tuần nuôi cấy.

Riêng giai đoạn ra rễ cho chồi sâm cau thì điều tiết sinh trưởng α -NAA hay than hoạt tính đều có tác dụng tốt. Nền môi trường MS (giảm 1/2 lượng NH_4NO_3) + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,75 mg/l α -NAA có hiệu quả cho quá trình ra rễ của chồi sâm cau, sau 4 tuần nuôi cấy số rễ là 6,7 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 9,3cm, rễ trắng dai.

Môi trường MS (giảm 1/2 lượng NH_4NO_3) + 20 g/l sucrose + 6,5 g/l agar + 0,7 g/l than hoạt tính là phù hợp nhất để ra rễ chồi sâm cau *in vitro* với tỷ lệ ra rễ là 100%, số rễ đạt 7,2 rễ/cây và chiều dài rễ là 11,9cm chỉ sau 4 tuần nuôi cấy.

Hỗn hợp đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (tỷ lệ 1:1:1) với độ ẩm 80-90% được xác định là giá thể phù hợp nhất cho sinh trưởng của cây con trong vườn ươm cho tỷ lệ sống đạt 100%, chiều cao cây 12,0cm, số rễ xuất hiện 12,7 rễ sau 60 ngày trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Asif M. (2012). A review on phytochemical and ethnopharmacological activities of *Curculigo orchioides*. Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences. 39(3-4): 1-10.
- Chaturvedi P. & Srivastava V. (2023). *Curculigo* Species: A Wide Spectrum Research Review. Journal of Plant Science Research. 39(1): 83-93.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3): 473-497.
- Nagesh K.S. (2008). High frequency multiple shoot induction of *Curculigo orchioides* Gaertn. shoot tip v/s rhizome disc. *Taiwania*. 53(3): 242-247.
- Nguyễn Đình Sỹ, Dương Nguyễn Phương Dung, Nguyễn Ngọc Hữu, Trần Văn Cường, Trần Thị Phương Hạnh, Nguyễn Văn Minh, & Phan Xuân Huyền (2025). Nghiên cứu ảnh hưởng của NanoAg và hợp chất hữu cơ trong tái sinh chồi *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp. 9(3): 5064-5074.

- Nguyễn Thị Lại, Phạm Hương Sơn, Bùi Thị Thanh Phương, Phạm Minh Duy, Đỗ Thị Thơm, Nguyễn Thị Bình, Nguyễn Ích Tân (2018). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây Sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.) từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp. 60(12): 50-54
- Nguyễn Thị Thúy Diễm, Huỳnh Trường Huê, Nguyễn Thị Minh Châu, Võ Thị Xuân Tuyền, Nguyễn Thị Thúy Tiên, Huỳnh Thanh Quang (2021). Ảnh hưởng của TDZ và IAA lên sự phát sinh hình thái từ các lớp mỏng tế bào của lá, cuống lá và thân rễ cây sâm cau (*Curculigo Orchoides* Gaertn.) nuôi cấy *in vitro*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. 5(126): 39-46.
- Suri S.S., Jain S. & Ramawat K.G. (1999). Plantlet regeneration and bulbil formation *in vitro* from leaf and stem explants of *Curculigo orchoides*, an endangered medicinal plant. Scientia Horticulturae. 79(1-2): 127-134.
- Trương Thị Bích Phượng, Đỗ Thị Hoa Thắm, Bùi Lê Thanh Nhân & Nguyễn Đức Tuấn (2018). Nghiên cứu tạo chồi *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.) ở Thừa thiên huế. Tạp chí Y dược học. 1(8): 37-46.
- Võ Châu Tuấn, Nguyễn Thị Út & Trần Quang Dân (2011). Nhân giống *in vitro* cây sâm cau (*Curculigo orchoides* Gaertn.) - Một loài cây thuốc quý. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng. 6(47): 163-169.
- Wala B.B. & Jasrai Y.T. (2003). Micropropagation of an endangered medicinal plant: *Curculigo orchoides* Gaertn. Plant Tissue Culture. 13(1): 13-19.