

Bài báo nghiên cứu

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY
LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA CÂY GAI MA VƯƠNG (*Tribulus terrestris* L.)
TRONG ĐIỀU KIỆN *IN VITRO***

Quách Văn Toàn^{1*}, Hoàng Thị Mỹ Ngọc²

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Quách Văn Toàn Em – Email: emqvt@hcmue.edu.vn

Ngày nhận bài: 15-11-2024; ngày nhận bài sửa: 03-3-2025; ngày duyệt đăng: 05-3-2025

TÓM TẮT

Cây Gai ma vương chủ yếu phân bố ở các tỉnh ven biển miền Trung như Quảng Bình, Thừa Thiên Huế, Khánh Hòa, Ninh Thuận. Tuy nhiên, do quá trình khai thác bừa bãi và môi trường sống bị thu hẹp nên loài cây này đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng và đã được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam. Nghiên cứu đã đánh giá tác động của các môi trường nuôi cấy khác nhau lên sự sinh trưởng của cây Gai ma vương. Kết quả cho thấy thành phần và nồng độ các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng rõ rệt đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây. Cây Gai ma vương sinh trưởng tốt nhất trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* môi trường giảm giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 , các chỉ tiêu về sinh trưởng đều có kết quả tốt đạt 9,73 lá, chiều cao cây 10,7cm, trọng lượng tươi đạt 501,04mg và khô đạt 53,19mg sau 8 tuần nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường nuôi cấy có vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy sự sinh trưởng của cây Gai ma vương. Việc lựa chọn thành phần và nồng độ các chất dinh dưỡng phù hợp sẽ giúp tối ưu hóa quá trình nuôi cấy *in vitro* loài cây này.

Từ khóa: môi trường nuôi cấy; sinh trưởng; *in vitro*; Gai ma vương

1. Mở đầu

Loài Gai ma vương (*Tribulus terrestris* L.), còn được gọi là Quỷ kiến sầu hay Bạch tật lê, thuộc họ Gai chông (Zygophyllaceae), phân bố ở châu Á, châu Phi, châu Âu và các vùng khí hậu Địa Trung Hải. Tại Việt Nam, cây phân bố ở các tỉnh ven biển miền Trung như Quảng Bình, Thừa Thiên Huế, Khánh Hòa và Ninh Thuận. Gai ma vương hiện đang đối mặt với nguy cơ tuyệt chủng và đã được ghi vào Sách Đỏ Việt Nam cũng như Danh lục Đỏ thế giới ở hạng cực kỳ nguy cấp (CR) (Ministry of Science and Technology, 2007; IUCN, 2020). Nhiều nghiên cứu trong nước và quốc tế đã chỉ ra rằng loài này chứa lượng lớn hợp chất saponin steroid có tác dụng kích thích sản xuất testosterone ở nam giới (Vo, 2021). Hiện

Cite this article as: Quach, V. T. E., & Hoang, T. M. N. (2025). Effect of culture conditions on the growth of *in vitro* *Tribulus terrestris* L.. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 22(4), 610-621. [https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.4.4597\(2025\)](https://doi.org/10.54607/hcmue.js.22.4.4597(2025))

nay, nhiều sản phẩm thuốc và thực phẩm chức năng từ cây Gai ma vương, nhưng chưa có nhiều nghiên cứu trồng cây này. Các sản phẩm từ Gai ma vương chủ yếu được khai thác từ tự nhiên, dẫn đến tình trạng khan hiếm và giá thành đắt đỏ. Các hợp chất sinh học của cây Gai ma vương trong ngành dược đều thu được chiết xuất từ cây ngoài tự nhiên. Nuôi cấy mô thực vật có thể được sử dụng để vi nhân giống nhanh chóng, các cây được tạo ra trong điều kiện *in vitro* có thể được sử dụng cho mục đích thương mại. Một số nghiên cứu nhằm nhân nhanh nguồn giống Gai ma vương trong điều kiện *in vitro* đã được thực hiện (Le et al., 2022). Tuy nhiên cây *in vitro* nuôi cấy bằng phương pháp truyền thống có chất lượng không đồng nhất cũng như tỉ lệ sống không cao khi đưa ra vườn ươm. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy những nhược điểm trên khiến cho quang hợp của cây kém, có nhiều biểu hiện bất thường về sinh lí (Chen, 2004; Preceet al., 1990; Ziv et al., 1991). Phương pháp vi nhân giống khi thay đổi hàm lượng đường và khoáng đã được chứng minh có thể dẫn đến gia tăng sinh khối và tích lũy hợp chất thứ cấp trong cây cũng như gia tăng tỉ lệ sống của cây *in vitro* khi chuyển sang giai đoạn vườn ươm (Pham et al., 2012). Nhiều tác giả chứng minh rằng khi thay đổi hàm lượng dinh dưỡng khoáng trong môi trường nuôi cấy đã có ảnh hưởng tích cực đến khả năng nảy mầm của loài Gai ma vương (Quach et al., 2024). Do đó việc khảo sát khả năng sinh trưởng của cây Gai ma vương (*Tribulus terrestris* L.) nuôi cấy trên các môi trường khoáng khác nhau là rất cần thiết để xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp để gia tăng sinh khối và khả năng sinh trưởng của loài cây Gai ma vương.

2. Địa điểm, thời gian và phương pháp nghiên cứu

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- *Địa điểm thu mẫu*: tiến hành thu quả Gai ma vương tại thôn Lạc Trị, xã Phú Lạc, huyện Tuy Phong, tỉnh Bình Thuận.
- *Thí nghiệm in vitro*: tiến hành ở Phòng Thí nghiệm Sinh thái – Thực vật (M203), Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng của cây Gai ma vương

Nguyên liệu *in vitro* là các hạt chắc của cây Gai ma vương đã được bóc vỏ hạt.

Thí nghiệm gồm 8 nghiệm thức với 8 loại môi trường khác nhau, kiểu bố trí CRD thực hiện trồng trong bình nuôi cấy bổ sung các loại môi trường theo nghiệm thức khảo sát.

Mỗi nghiệm thức khảo sát 10 cây, thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Thời gian theo dõi trong 8 tuần nuôi cấy, ở nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $55\% \pm 10\%$,

Môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) lần lượt thay đổi các thành phần khoáng. $\frac{1}{2}$ MS là môi trường MS thành phần đa lượng được giảm đi $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ MS môi trường MS thành phần đa lượng được giảm đi $\frac{1}{4}$, MS có thành phần KNO_3 giảm $\frac{1}{2}$, MS có thành phần NH_4NO_3 giảm $\frac{1}{2}$, MS có thành phần KH_2PO_4 giảm $\frac{1}{2}$, MS có thành phần KNO_3 và NH_4NO_3 giảm $\frac{1}{2}$, MS bổ sung 50g/L đường.

Bảng 1. Bố trí nghiệm thức ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên sự sinh trưởng của cây Gai ma vương

Nghiệm thức	Môi trường nuôi cấy	Nghiệm thức	Môi trường nuôi cấy
1	MS	5	MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3
2	$\frac{1}{2}$ MS	6	MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4
3	$\frac{1}{4}$ MS	7	MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3
4	MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3	8	MS +50g/L Đường

2.2.1. Phương pháp vô trùng hạt Gai ma vương

Lựa chọn các hạt chắc, còn nguyên vỏ hạt, không bị tổn thương, tiến hành vô trùng theo các bước: Ngâm hạt trong nước xà phòng 2-3 phút, rửa sạch dưới vòi nước chảy; tiếp theo thực hiện ở tủ cấy lần lượt gồm: khử trùng bề mặt với cồn 70° trong 30 giây; Rửa lại 5 lần với nước cất vô trùng; Ngâm và lắc hạt trong NaOCl 1% trong 1 phút; Rửa lại 5 lần với nước cất vô trùng và tiến hành cấy mẫu.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

Dùng toán thống kê để xử lý các số liệu thu được và ứng dụng thống kê toán học trong sinh học, sử dụng phần mềm Excel 2016 và Statgraphics plus 3.0 để xử lý số liệu thu được.

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

Số chồi trung bình (chồi/mẫu) = Σ số chồi thu được / Σ số mẫu ban đầu (chồi)

Số lá trung bình (lá/cây) = Σ số lá thu được / Σ số cây ban đầu (lá)

Chiều cao cây trung bình = Σ chiều cao cây / Σ số cây thu được (cm)

Số rễ trung bình = Σ số lá thu được / Σ số cây ban đầu (rễ)

Chiều dài rễ trung bình = Σ chiều dài rễ / Σ số cây thu được (cm)

Trọng lượng sinh khối tươi = Σ trọng lượng số tươi / Σ số mẫu ban đầu (mg)

Trọng lượng sinh khối khô = Σ trọng lượng số khô / Σ số mẫu ban đầu (mg)

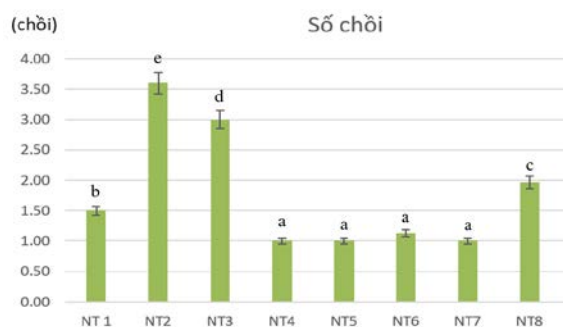
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số chồi loài Gai ma vương

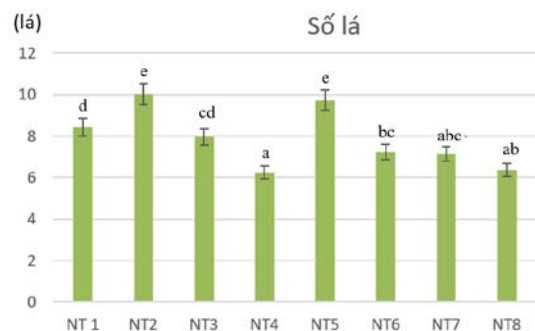
Thành phần khoáng hiện diện trong môi trường luôn đóng vai trò quan trọng tới sự tăng trưởng của cây nuôi cấy *in vitro*. Ở những môi trường khác nhau mà cây Gai ma vương có sự phát triển khác nhau về số chồi (Hình 1). Cụ thể số chồi ở các nghiệm thức môi trường khác nhau thì có sự thay đổi khác nhau và có ý nghĩa về mặt thống kê, các nghiệm thức 4, 5, 6, 7 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 , MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 , MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4 , MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đều chỉ tạo 1 chồi, khi giữ nguyên hoặc giảm tổng hàm lượng các nguyên tố đa lượng trong môi trường MS xuống $\frac{1}{2}$ và $\frac{1}{4}$ thì số chồi nhiều dần và đạt cao nhất ở môi trường $\frac{1}{2}$ MS với số chồi đạt 3,6 chồi, gấp hơn 2 lần so với nghiệm thức 1 (1,5 chồi), 8 (1,97 chồi) và gần 3 lần so với các nghiệm thức 4, 5, 6, 7.

Từ kết quả có thể nhận thấy rằng khi giảm đồng thời hàm lượng các chất đa lượng xuống ở mức phù hợp sẽ kích thích các chồi bên phát triển, phù hợp phát triển trong quy trình nhân nhanh chồi để nhân giống loài Gai ma vương. Môi trường MS rất giàu nitrogen

(N) ở cả hai dạng là nitrate và ammonium (Villamor, 2010), kết quả này tương đồng với các kết quả nghiên cứu của Julkiflee và đồng tác giả (2014) hay Kim và cộng sự (Kim et al., 2014) khi chứng minh môi trường khoáng MS cơ bản chưa phải là môi trường khoáng tối ưu giúp cây *in vitro* tăng trưởng tốt nhất.



Hình 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số chồi cây Gai ma vương



Hình 2. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số lá cây Gai ma vương

3.2. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số lá loài Gai ma vương

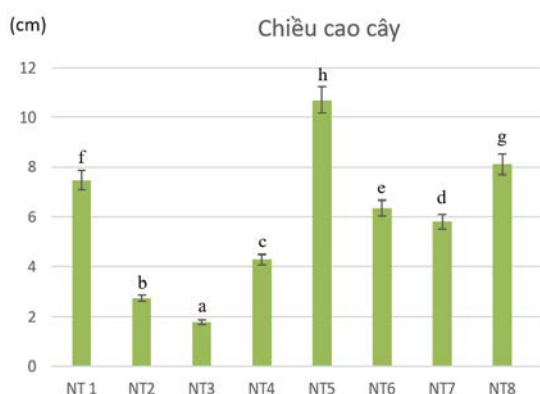
Số lá cây sẽ ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình quang hợp, làm tăng hoặc giảm lượng chất hữu cơ tạo ra, gián tiếp ảnh hưởng tới sự sinh trưởng của cây. Số lá của cây trên từng loại môi trường nuôi cấy qua 8 tuần theo dõi được thể hiện ở Hình 2.

Cùng với sự sinh trưởng và phát triển của số chồi thì số lá cũng có sự khác nhau giữa các nghiệm thức ở các môi trường nuôi cấy khác nhau. Số lá của cây Gai ma vương trong các nghiệm thức khác nhau ngoài phụ thuộc vào số chồi còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác. Ngoài sự gia tăng rõ rệt của số chồi kéo theo sự phát triển của số lá như ở nghiệm thức 2 ($\frac{1}{2}$ MS) cao nhất đạt 10,03 lá thì sự phát triển và kéo dài của mô phân sinh đỉnh ngọn chồi cũng giúp sinh ra rất nhiều lá. Khi hàm lượng nitrogen giảm ở lượng vừa phải (cụ thể là ở nghiệm thức 7 môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đạt 9,73 lá thì số lá lại tăng cao tỉ lệ thuận với chiều dài của thân cây. Số lá mới hình thành của cây Gai ma vương chịu ảnh hưởng rõ rệt của sự thay đổi hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 trong môi trường nuôi cấy. Ở các nghiệm thức 1 (MS) và 5 (MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) có hàm lượng KNO_3 được giữ nguyên, số lá đều cao hơn so với ở các nghiệm thức 4 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3). Một số nghiên cứu gần đây cũng cho thấy KNO_3 có tác dụng làm gia tăng đáng kể số lượng lá mới tạo thành ở một số loại cây trồng khác nhau (Hegazi et al., 2011; Jabeen & Ahmad, 2011). Ngoài ra việc giảm hàm lượng NH_4^+ trong môi trường ở nghiệm thức 2 ($\frac{1}{2}$ MS) và 5 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) cũng được ghi nhận làm tăng số lá, Avila và đồng tác giả (1994) cũng nhận thấy rằng số lượng lá của cây khoai tây tăng lên khi giảm hàm lượng NH_4^+ trong môi trường MS.

3.3. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên chiều cao cây loài Gai ma vương

Trong quá trình sinh trưởng của cây trồng, chiều cao cây là một chỉ tiêu chí quan trọng để đánh giá sinh trưởng của cây. Chiều cao của cây trên các môi trường nuôi cấy qua 8 tuần theo dõi được thể hiện ở Hình 3. Kết quả cho thấy sự hiện diện của NH_4^+ với hàm lượng vừa đủ giúp cây Gai ma vương tăng trưởng với số lá và chiều cao chồi đạt kết quả tốt (nghiệm

thức 5 môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 đạt 9,73 lá và cao 10,7cm). Sự hiện diện của ion NH_4^+ đóng vai trò chủ yếu trong quá trình hình thành nên các amide bằng cách liên kết phản ứng với các acid amin dicarboxylic. Phản ứng tạo amide có ý nghĩa quan trọng vì đó là phản ứng bảo vệ tế bào khỏi tác động gây độc của NH_4 tích tụ nhiều, đồng thời amide cũng là hợp chất dự trữ NH_4^+ của thực vật khi cần tổng hợp acid amin và protein nhưng nếu hàm lượng quá cao sẽ gây độc cho cây làm hạn chế khả năng sinh trưởng (Ngo et al., 2015). Tương tự, cây Ngô có thể tăng trưởng tốt khi chỉ cần kết hợp một lượng nhỏ NO_3^- và NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy so với chỉ dùng một nguồn nitơ là nitrate (Warncke & Barber, 1973).



Hình 3. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên chiều cao cây Gai ma vương

Tuy nhiên sự phối hợp các nguyên tố đa lượng có ảnh hưởng lên sự sinh trưởng của cây Gai ma vương. Ở nghiệm thức giảm $\frac{1}{2}$ MS và giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 có thể thấy nồng độ nitrogen phù hợp sẽ kích thích phát triển số lá tối ưu (10,03 lá và 9,73 lá) nhưng lại có sự khác biệt rõ rệt về chiều cao cây. Khi giảm tổng nồng độ khoáng đa lượng ở môi trường $\frac{1}{2}$ MS thì nồng độ Ca^{2+} trong môi trường cũng giảm theo. Ca^{2+} là nguyên tố quan trọng có trong vách tế bào giúp tế bào tăng nhanh khả năng phân chia và kéo dài (Bui, 2000). Do đó khi nồng độ Ca^{2+} bị giảm ở nghiệm thức 2 (môi trường $\frac{1}{2}$ MS) khiến cho chiều cao cây cũng như chiều dài rễ ở nghiệm thức này cũng bị giảm dù số lượng lá và số rễ nhiều.

3.4. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số rễ và loài Gai ma vương

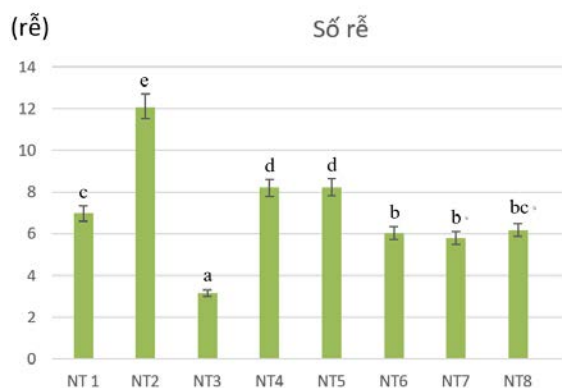
Mỗi loại môi trường khác nhau có ảnh hưởng số rễ cũng như chiều dài rễ, các khác biệt (Hình 4). Khi giảm môi trường còn $\frac{1}{2}$ MS thì kích thích phát triển nhiều rễ bên đạt 12,1 rễ, gấp gần 2 lần số rễ ở môi trường MS và gấp 4 lần môi trường $\frac{1}{4}$ MS. Nồng độ các chất khoáng trong môi trường MS cũng đóng vai trò quan trọng đến sinh trưởng của cây trong điều kiện *in vitro*, cũng như quá trình sinh tổng hợp và tích lũy các chất chuyển hóa do nó tác động đến sự thay đổi cường độ ion và áp suất thẩm thấu của môi trường. Vì vậy, môi trường giảm hàm lượng khoáng luôn tỏ ra thích hợp ở giai đoạn tạo rễ hoặc tạo củ đối với nhiều loại cây trồng (Vu et al., 2020).

Sau khi hấp thụ nguồn Nitrogen có trong môi trường, quá trình đồng hóa đạm (khử nitrate) diễn ra và các amino acid được tổng hợp. Trong vi nhân giống thực vật, khoáng MS được sử dụng phổ biến vì giàu nitơ (Villamor, 2010). Trong môi trường nuôi cấy *in vitro* chỉ

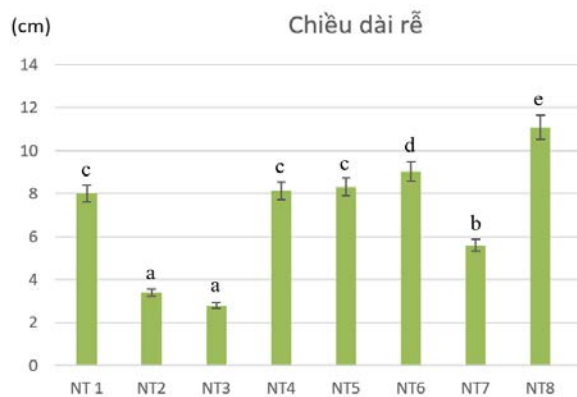
cần một lượng nhỏ NH_4^+ kết hợp với NO_3^- đã thúc đẩy sự tăng trưởng của nhiều loài cây thay vì chỉ sử dụng một nguồn nitrogen là nitrate (Cox & Reisenauer, 1973; Stitt & Quick, 1989). Tuy nhiên, nếu môi trường có NH_4^+ được cung cấp quá nhiều sẽ gây thiếu hụt K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} vì NH_4^+ thường đối kháng với K^+ , Ca^{2+} hay Mg^{2+} , khi bổ sung nồng độ đậm vượt quá nhu cầu của cây ở nghiệm thức MS làm cho khả năng hấp thu các ion K^+ , Ca^{2+} hay Mg^{2+} giảm, khiến rễ kém phát triển hơn so với môi trường $\frac{1}{4}$ MS hoặc $\frac{1}{2}$ MS (Nguyen et al., 2017; Britto & Kronzucker, 2002). Theo Geogre và Davies (2008), sự phát triển của tế bào rễ cũng sẽ bị kìm hãm nếu môi trường có chứa nhiều amonium (NH_4^+), ngược lại rễ cần nitrate NO_3^- hiện diện trong môi trường để tăng trưởng. Điều này có liên quan trực tiếp đến quá trình đồng hóa đạm xảy ra tại vùng rễ của cây vì NO_3^- là dạng oxy hóa, được hấp thụ từ môi trường để chuyển đổi thành hợp chất hữu cơ dạng khử NH_2^- . Sự dư thừa các ion NO_3^- và NH_4^+ trong môi trường MS có thể là nguyên nhân khiến cho bộ rễ của cây Gai ma vương trong môi trường MS kém phát triển hơn so với môi trường khoáng MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 (NT4), MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 (NT5) và $\frac{1}{2}$ MS (NT2) (George & Davies, 2008).

3.5. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên chiều dài rễ loài Gai ma vương

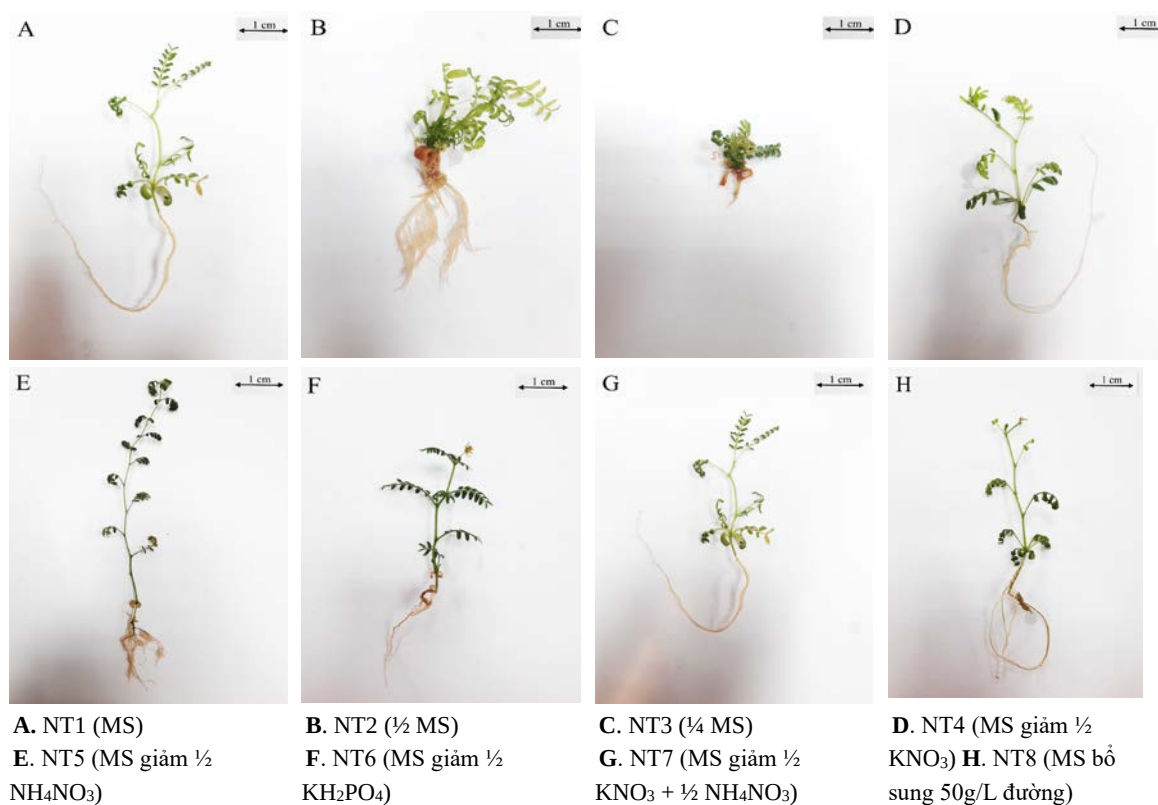
Chiều dài rễ là một trong những yếu tố quan trọng để đánh giá ảnh hưởng của môi trường lên quá trình sinh trưởng của cây Gai ma vương. Chiều dài rễ cây Gai ma vương qua 8 tuần nuôi cấy được thể hiện qua Hình 5 cho thấy số rễ ở nghiệm thức 8 (bổ sung 50g/L đường) cho chiều dài rễ cao nhất 11,09 cm gấp gần 3 lần so với nghiệm thức có số rễ nhiều nhất là môi trường $\frac{1}{2}$ MS (NT8 rễ dài 3,40 cm) và gấp gần 4 lần so với nghiệm thức đạt chiều dài thấp nhất là môi trường $\frac{1}{4}$ MS (NT3 rễ dài 2,79 cm). Vai trò của đường đối với sự hình thành củ hoặc rễ đã được nghiên cứu trên nhiều đối tượng cây trồng.



Hình 4. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên số rễ cây Gai ma vương



Hình 5 Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên chiều dài rễ cây Gai ma vương

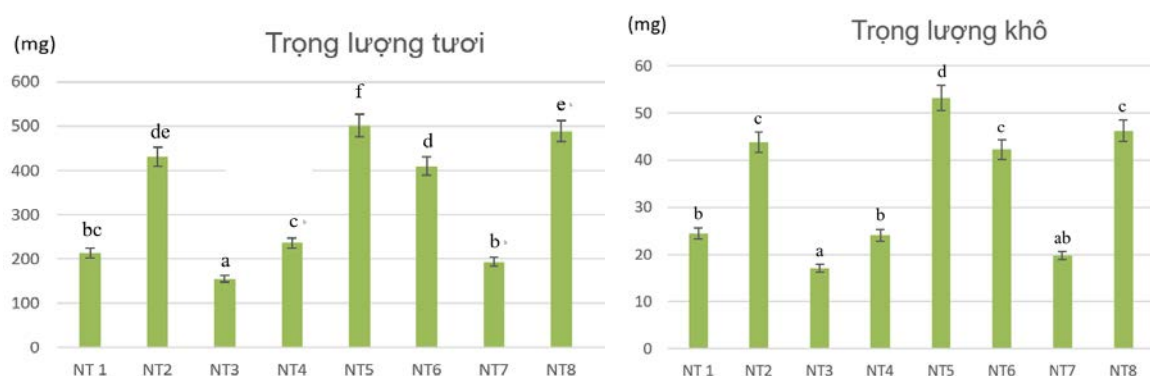


Hình 6. Ảnh hưởng của các loại môi trường lên cây Gai ma vương trong bình nuôi cấy

Kết quả cho thấy, đường là nguồn carbon cần thiết trong môi trường nuôi cấy và đồng thời là nguồn nguyên liệu quan trọng trong việc tích lũy tinh bột dẫn đến sự tạo rễ và sự hình thành và sinh trưởng phát triển của rễ hoặc củ (Staikidou et al., 2005). Việc cung cấp đường vào môi trường nuôi cấy được coi là để bù đắp cho tốc độ quang hợp thấp của thực vật. Tuy nhiên, nồng độ đường cao trong môi trường sẽ làm giảm khả năng quang hợp của thực vật, kìm hãm hoạt động của các enzyme rubisco. Đây là enzyme tham gia trực tiếp vào hoạt động quang hợp của cây, làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường, cản trở quá trình hấp thụ nước và chất khoáng của hệ rễ khiến cho hạt khó nảy mầm (Duong, 2003). Kết quả thí nghiệm này cho thấy trong điều kiện tăng lượng đường phù hợp sẽ giúp hệ rễ phát triển làm cho các bộ phận khác của cây xanh tốt do trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, chức năng phân chia tế bào của chồi hoặc cây không tối ưu do vậy nồng độ đường và cường độ ánh sáng ảnh hưởng lớn tới sinh trưởng phát triển của chồi và rễ *in vitro* (Capellades et al., 1989). Việc bổ sung đường vào môi trường nuôi cấy *in vitro* không những đóng vai trò là nguồn carbohydrate mà còn ảnh hưởng tới khả năng hấp thụ nước và dinh dưỡng của mẫu cấy *in vitro* (Williams, 1995).

3.6. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên trọng lượng tươi loài Gai ma vương

Sinh khối phụ thuộc vào đặc tính của loài và sự sinh trưởng và phát triển của cây. Dựa vào sinh khối làm tiêu chí đánh giá khả năng sinh trưởng của cây.



Hình 7. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên trọng lượng tươi và khô cây Gai ma vương

Khi cây Gai ma vương sinh trưởng ở các môi trường nuôi cấy khác nhau có số lá, số chồi, chiều cao cây, số rễ và chiều dài rễ khác nhau từ đó cũng dẫn đến trọng lượng của cây khác nhau. Khi trồng ở nghiệm thức 1 (môi trường MS) đạt trọng lượng tươi 213,43 mg; nghiệm thức 2 (môi trường $\frac{1}{2}$ MS) đạt trọng lượng tươi 430,72 mg; nghiệm thức 3 (môi trường $\frac{1}{4}$ MS) đạt trọng lượng tươi 155,17 mg; nghiệm thức 4 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3) đạt trọng lượng tươi 236,39 mg; nghiệm thức 5 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đạt trọng lượng tươi 501,04 mg; nghiệm thức 6 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4) đạt trọng lượng tươi 409,50 mg; nghiệm thức 7 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đạt trọng lượng tươi 193,57 mg; nghiệm thức 8 (môi trường MS bổ sung 50g/L đường) đạt trọng lượng tươi 488,84 mg.

Trọng lượng tươi của cây Gai ma vương phụ thuộc vào nhiều yếu tố như số lượng lá, chiều cao thân cây, số rễ, chiều dài rễ... Ở các môi trường có số lá và số rễ nhiều thì cho trọng lượng đạt kết quả cao tuy nhiên điều này cũng không phải là tuyệt đối mà chiều cao của cây và chiều dài rễ cũng gây ảnh hưởng không ít đến trọng lượng. Điều này giải thích cho môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 (NT5) tuy không có số lá và số rễ cao nhất nhưng trọng lượng tươi lại đạt kết quả tốt nhất (501,04 mg) và sai khác này cũng có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại. Các cây ở nghiệm thức 5 (MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) phát triển xanh tốt, mọc đều, thân chắc khỏe và lá xanh mọng nước không bị vàng úa.

3.7. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên trọng lượng khô loài Gai ma vương

Tương tự trọng lượng tươi, trọng lượng khô là kết quả của quá trình tổng hợp và trao đổi chất diễn ra trong đời sống của cây Gai ma vương được trình bày kết quả qua hình 7. Cụ thể nghiệm thức 1 (môi trường MS) đạt trọng lượng khô 24,48 mg; nghiệm thức 2 (môi trường $\frac{1}{2}$ MS) đạt trọng lượng khô 43,74 mg; nghiệm thức 3 (môi trường $\frac{1}{4}$ MS) đạt trọng lượng khô 17,06 mg; nghiệm thức 4 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3) đạt trọng lượng khô 24,08 mg; nghiệm thức 5 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đạt trọng lượng khô 53,19 mg; nghiệm thức 6 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4) đạt trọng lượng khô 42,21 mg; nghiệm thức 7 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KNO_3 + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) đạt trọng lượng khô 19,75 mg; nghiệm thức 8 (môi trường MS bổ sung 50g/L đường) đạt trọng lượng khô 46,20 mg.

Ở trong những điều kiện phù hợp cây có sự tổng hợp và trao đổi chất khác nhau để tạo ra các hoạt chất cần thiết cũng như chất sống mà cây tích lũy được. Ngoài nghiệm thức 5 (MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3) vì có trọng lượng tươi cao nhất nên trọng lượng khô cũng đạt kết quả tốt nhất (53,19 mg) thì ở các nghiệm thức 2, 6, 8 (môi trường $\frac{1}{2}$ MS, MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4 , 50g/L đường) cũng cho khối lượng khô khá cao. Đặc biệt ở nghiệm thức số 6 (môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4) dù không có trọng lượng tươi cao như các nghiệm thức còn lại nhưng trọng lượng khô vẫn đạt kết quả rất tốt, cây xanh đậm, thân cứng cáp và có hiện tượng ra hoa cho thấy môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ KH_2PO_4 phù hợp cho cây có thể tổng hợp các chất để bước vào quá trình sinh sản trong thời gian ngắn.

Phosphorus có tác dụng thúc đẩy sự tăng trưởng của rễ, làm cây phát dục nhanh khi ở nồng độ thích hợp (Tran, 2004). Trong các nghiên cứu ra hoa, kích thích sinh sản trong ống nghiệm thường sử dụng môi trường MS tăng hoặc giảm lượng phosphorus (KH_2PO_4) cho phù hợp và đã đạt được thành công trên trên nhiều loại cây như *Bambusa vulgaris*, *Dendrocalamus giganteus*, *D. strictus* (Rout & Das, 1994), *Cymbidium* (Kostenyuk et al., 1999), ginseng (Chang & Hsing, 1980).

Từ các chỉ tiêu theo dõi có thể nhận thấy rằng cây Gai ma vương sinh trưởng tốt trong điều kiện có hàm lượng nitrogen giảm vừa phải, nếu hàm lượng nitrogen giảm xuống quá thấp không đủ cung cấp cho cây gây ảnh hưởng đến các chỉ tiêu theo dõi khác. Pathak (1970) khi nghiên cứu trồng cây Gai ma vương ngoài môi trường cho thấy cây sinh trưởng tốt trong điều kiện đất có hàm lượng nitrogen thấp (Pathak, 1970). Số lượng rễ và lá đạt nhiều khi ở môi trường $\frac{1}{2}$ MS, chiều dài rễ đạt kết quả tốt khi ở môi trường MS cung cấp thêm hàm lượng đường ở mức vừa phải là 50g/L.

Từ kết quả khi nuôi cấy *in vitro* cây Gai ma vương cho thấy khi giảm hàm lượng khoáng sẽ gây ảnh hưởng đến những chỉ tiêu sinh lí của cây khác nhau, từ đó có thể áp dụng vào thu sinh khối từng bộ phận loài cây này theo nhu cầu. Các nghiên cứu trên các đối tượng khác cũng cho thấy việc giảm hàm lượng khoáng giúp gia tăng chất lượng cây. Đối với cây Cẩm chướng, hàm lượng thấp của các ion NO_3^- và NH_4^+ trong môi trường nuôi cấy đã giúp cải thiện sự phát sinh hình thái của cây (Ziv, 1991). Trên đối tượng sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis*) nuôi cấy quang tự dưỡng trên môi trường MS giảm NH_4NO_3 và KNO_3 một nửa, tăng diện tích lá và tăng số lượng rễ so với môi trường MS cơ bản, đồng thời trọng lượng khô cũng tăng (Ngo et al, 2015). Trên đối tượng cây Oải hương (*Lavandula angustifolia*) cây tăng trưởng tốt hơn trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS so với môi trường MS (Le et al, 2015). Trong nghiên cứu tăng trưởng cây sâm Bó Chính (*Hibiscus sagittifolius*) trong điều kiện nuôi cấy quang tự dưỡng cho thấy trên các môi trường giảm khoáng cây tăng trưởng tốt hơn so với môi trường MS (Nguyen et al., 2017). Kozai và cộng sự (Kozai et al., 1988) đã cho thấy, cây hoa cẩm chướng nuôi trên môi trường MS tăng trưởng chậm hơn so với nuôi trên môi trường Enshi-Shoho có thành phần khoáng đơn giản hơn và hàm lượng muối toàn phần thấp hơn.

4. Kết luận và kiến nghị

Môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng rõ rệt đến sự biến đổi hình thái *in vitro* của cây Gai ma vương. Với sự ảnh hưởng của môi trường MS giảm $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 các chỉ tiêu về sinh trưởng đều có kết quả tốt đạt 9,73 lá, chiều cao cây 10,7cm, trọng lượng tươi đạt 501,04mg và khô đạt 53,19mg sau 8 tuần nuôi cấy. Vì vậy cần phối hợp giữa môi trường nuôi cấy thích hợp với nồng độ các hormone sinh trưởng ở thực vật để sự tăng trưởng của loài Gai ma vương đạt kết quả tối ưu. Ngoài ra cần thêm nghiên cứu tách chiết hoạt chất từng bộ phận của cây từ đó có thể lựa chọn môi trường thích hợp để thu hoạt chất mong muốn.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Nguồn ngân sách khoa học và công nghệ Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh trong đề tài mã số CS.19.2022.15TĐ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Avilla, A., Pereira, M., & Arguello, A. (1998). Nitrogen concentration and proportion of NH_4^+ -N affect potato cultivar response in solid and liquid media. *HortScience*, 33(2), 336-338.
- Ministry of Science and Technology. (2007). *Sách Đỏ Việt Nam: Phần II - Thực vật [Vietnam Red Data Book: Part II – Plants]*. Science and Technology Publishing House.
- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of plant physiology*, 159(6), 567-584. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Bui, T. V. (2000). *Sinh lí thực vật đại cương [General Plant Physiology]*. Education Publishing House.
- Capellades, M., Vanderschaeghe, A., Lemeur, R., & Debergh, P. (1990). How important is photosynthesis in micropropagation? In *The impact of biotechnology on agriculture: Proceedings of the international conference "The meeting point between fundamental and applied in vitro culture research"* (pp. 29-38). Springer Netherlands.
- Chang, W. C., & Hsing, Y. I. (1980). In vitro flowering of embryoids derived from mature root callus of ginseng (*Panax ginseng*). *Nature*, 284(5754), 341-342. <https://doi.org/10.1038/284341a0>
- Chen, C. (2004). Humidity in plant tissue culture vessels. *Biosystems Engineering*, 88(2), 231-241.
- Cox, W. J., & Reisenauer, H. M. (1973). Growth and ion uptake by wheat supplied nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. *Plant and soil*, 38, 363-380. <https://doi.org/10.1007/BF00779019>
- Duong, C. K. (2003). *Nuôi cấy mô thực vật (II) [Plant Tissue Culture (Part II)]*. Vietnam National University – Ho Chi Minh Publishing House.
- George, E. F., & Davies, W. (2008). Effects of the physical environment. In E. F. George, M. A. Hall, & G.-J. De Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture* (3rd Ed., Vol. 1, pp. 424-468). Springer.
- Hegazi, E. S., Mohamed, S. M., El-Sonbaty, M. R., Abd El-Naby, S. K. M., & El-Sharony, T. F. (2011) Effect of potassium nitrate on vegetative growth, nutritional status, yield and fruit quality of olive cv. "Picual". *J Hort Sci & Ornament Plants*, 3(3), 252-258.

- Jabeen, N., & Ahmad, R. (2011) Foliar application of potassium nitrate affects the growth and nitrate reductase activity in sunflower and safflower leaves under salinity. *Not Bot Horti Agrobo.* 39(2), 172-178. <https://doi.org/10.15835/nbha3926064>
- Julkiflee, A.L., Uddain, J., & Subramaniam, S. (2014) Efficient micropropagation of Dendrobium Sonia- 28 for rapid PLBs proliferation. *Emir J Food Agric*, 26(6), 545-551.
- Kim, H. J., Lee, J. N., Lim, H. T., & Yeoung, Y. R. (2014) Effect of MS medium strength on the sprouting rate and growth characteristics in meristem culture of strawberry ‘Seolhyang’. *Kor J Hort Sci Technol*, 32(1), 100-104. <https://doi.org/10.7235/hort.2014.13089>
- Kostenyuk, I., Oh, B. J., & So, I. S. (1999). Induction of early flowering in Cymbidium niveo-marginatum Mak in vitro. *Plant Cell Reports*, 19, 1-5.
- Kozai, T., Kubota, C., & Watanabe, I. (1988). Effects of basal medium composition on the growth of carnation plantlets in auto- and mixotrophic tissue culture. In *Symposium on High Technology in Protected Cultivation* (Vol. 230, pp. 159-166). International Society for Horticultural Science.
- Le, N. T. N., Tran, T. T., Hoang, T. M. N., Vo, N. T. A., Tran, T. T. L., & Quach, V. T. E. (2022). A study on the effects of IBA and BA growth regulators on germination of *Tribulus terrestris* L. seeds in vitro. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 19(12), 1234-1245.
- Le, T. L., Nguyen, T. P., Nguyen, H. N. D., & Pham, M. D. N. T. Q. (2015). Effect of NH_4NO_3 and KNO_3 contents on the growth of Lavender plants cultured photoautotrophically. *Journal of Biotechnology*, 13(4A), 1313-1319.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Ngo, T. N. H., Dinh, V. K., & Nguyen, T. Q. (2015). Effect of mineral contents on the growth of Vietnamese ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et grushv.) cultured in vitro under photoautotrophic condition. *Journal of Biology*, 37(1), 96-102.
- Nguyen, L. T. M., Nguyen, T. P. D., Le, T. T. A., & Nguyen, T. Q. (2017). Effects of sucrose concentration, vitamins, light intensity and mineral components on growth of Hibiscus sagittifolius Kurz cultured in vitro. *Journal of Biology*, 39(1), 86-95.
- Pathak, P. S. (1970). Contributions to the ecology of *Tribulus terrestris* Linn. *Agra Univ. J. Res. Sci.* 19(2), 149-166.
- Pham, M. D., Nguyen, N. H., Hoang, N. N., Nguyen, D. S., & Nguyen, T. Q. (2012). Sự tăng trưởng và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây diệp hạ châu đẳng nuôi cấy quang tự dưỡng trong điều kiện môi trường giàu CO_2 . [Growth promotion and secondary metabolite accumulation of *Phyllanthus amarus* cultured photoautotrophically under carbon dioxide enriched condition] *Journal of Biology*, 34(3SE), 249-256.
- Preece, J. E., & Sutter, E. G. (1990). Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In P. C. Debergh & R. H. Zimmerman (Eds.), *Micropropagation: Technology and application* (pp. 71-93). Kluwer Academic Publishers.
- Quach, V. T. E., Thai, L. B. N. T., Tran, T. T., Hoang, T. M. N., & Tran, T. T. L. (2024). A study on the effects of lighting time and cultured medium on germination of *Tribulus terrestris* L. seeds in vitro. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(2), 219.

- Roland, C. (2020). *Tribulus terrestris*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020.
- Rout, G. R., & Das, P. (1994). Somatic embryogenesis and in vitro flowering of 3 species of bamboo. *Plant Cell Reports*, 13, 683-686. <https://doi.org/10.1007/BF00231624>
- Staikidou, I., Watson, S., Harvey, B. M., & Selby, C. (2005). Narcissus bulblet formation in vitro: effects of carbohydrate type and osmolarity of the culture medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80, 313-320. <https://doi.org/10.1007/s11240-004-1366-0>
- Stitt, M., & Quick, W. P. (1989). Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. *Physiologia plantarum*, 77(4), 633-641.
- Villamor, C. C. (2010). Influence of media strength and sources of nitrogen on micropropagation of ginger, *Zingiber officinale* Rosc. *E-International Scientific Research Journal*, 2(2), 150-155.
- Vo, V. C. (2021). *Từ điển cây thuốc Việt Nam* [Vietnamese medicinal plant dictionary]. Medical Publishing House.
- Vu, H. S., Nguyen, T. X., Nguyen, T. H., Duong, T. N. A., Nguyen, M. T., Nguyen, D. P., & Phan, T. H. (2020). Study on tuberization of *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) libosch. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 18(3), 507-516.
- Warncke, D. D., & Barber, S. A. (1973). Ammonium and Nitrate Uptake by Corn (*Zea mays* L.) as Influenced by Nitrogen Concentration and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ Ratio 1. *Agronomy Journal*, 65(6), 950-953. <https://doi.org/10.2134/agronj1973.00021962006500060031x>
- Williams, R. R. (1995). *The chemical microenvironment*. Kluwer Academic Publishers.
- Ziv, M. (1991). Vitrication: Morphological and physiological disorders of in vitro plants. In P. C. Debergh & R. H. Zimmerman (Eds.), *Micropropagation: Technology and application* (pp. 45-69). Springer.

EFFECT OF CULTURE CONDITIONS ON THE GROWTH OF IN VITRO *Tribulus terrestris* L.

Quach Van Toan Em^{1*}, Hoang My Ngoc²

¹Ho Chi Minh City University of Education, Vietnam

²University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

*Corresponding author: Quach Van Toan Em – Email: emqvt@hcmue.edu.vn

Received: November 15, 2024; Revised: March 03, 2025; Accepted: March 05, 2025

ABSTRACT

Tribulus terrestris L. is primarily distributed in the coastal provinces of Central Vietnam, such as Quang Binh, Thua Thien Hue, Khanh Hoa, and Ninh Thuan. However, due to indiscriminate exploitation and habitat reduction, this species is facing the risk of extinction and has been included in the Vietnam Red Book. The study evaluated the impact of different culture environments on the growth of *Tribulus terrestris* L. The results showed that the composition and concentration of nutrients in the culture environment significantly affected the growth indicators of the plant. *Tribulus terrestris* L. grew best in in vitro culture conditions with a MS was reduced $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 , showing favorable growth indicators with 9.73 leaves, a plant height of 10.7 cm, a fresh weight of 501.04 mg, and a dry weight of 53.19 mg after 8 weeks of culture. The research results indicate that the culture environment plays a crucial role in promoting the growth of *Tribulus terrestris* L.. Selecting appropriate nutrient composition and concentration will help optimize the in vitro culture process for this species.

Keywords: culture conditions; growth; in vitro; *Tribulus terrestris*