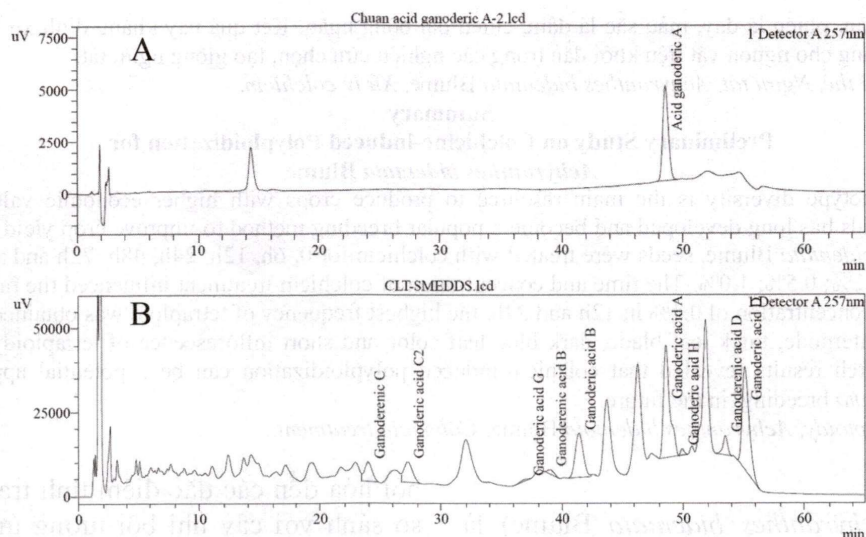




Hình 3. Sắc ký đồ HPLC của acid ganoderic A chuẩn (A) và L5 (B)

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thiết lập được công thức và quy trình bào chế TGE-SMEDDS với các thành phần PGM - Kolliphor RH40/Tween 80 - PEG 400 - TGE (16,7:33,3:33,3:16,7; w/w/w/w) có tính khả thi khi nâng cỡ lô sản xuất. Hệ phân tán có độ

bền nhiệt động học, có khả năng phân tán tạo VNT ổn định ở môi trường nước và các môi trường pH sinh lý bên trong cơ thể. Nghiên cứu tiếp tục phát triển sản phẩm viên nang mềm nano linh chi giàu triterpenoid giúp nâng cao hiệu quả trị liệu của cao chiết nấm linh chi.

Tài liệu tham khảo

1. Hsu K. D., Cheng K. C. (2018), From nutraceutical to clinical trial: frontiers in Ganoderma development. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(21), 9037-9051.
2. Qu D., He J., Liu C., Zhou J., Chen Y. (2013), Triterpene-loaded microemulsion using *Coix lacryma-jobi* seed extract as oil phase for enhanced antitumor efficacy: preparation and *in vivo* evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 109-119.
3. Zhang L., Zhang lanying, Zhang M., Pang Y., Li Y., Zhao A., Feng J. (2015), Self-emulsifying drug delivery system and the applications in herbal drugs. *Drug delivery*, 22(4), 475-486.
4. Patel M. J., Patel S. S., Patel N. M., Patel M. M. (2010), A self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(3), 29-35.
5. Rowe R. C., Sheskey P. J., Quinn M. E. (2009), Handbook of pharmaceutical excipients, *Pharmaceutical Press*.
6. Gao H., Wang M., Sun D., Sun S., Sun C., Liu J., Guan Q. (2017), Evaluation of the cytotoxicity and intestinal absorption of a self-emulsifying drug delivery system containing sodium taurocholate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106, 212-219.
7. Gullapalli R. P. (2010), Soft gelatin capsules (Softgels). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(10), 4107-4148.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 5/2022 (Trang 313 - 320)

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TẠO THỂ ĐA BỘI Ở NGƯU TẮT TỪ HẠT BÀNG XỬ LÝ COLCHICIN

**Trần Thị Trang, Đinh Thanh Giảng, Nguyễn Thị Xuyên, Trần Thị Kim Dung,
Nhữ Thu Nga, Nguyễn Đức Mạnh, Lô Đức Việt, Trần Ngọc Thanh***

Viện Dược liệu

*Email: tranngocthanh12@gmail.com

(Nhận bài ngày 28 tháng 6 năm 2022)

Tóm tắt

Trong chọn giống, đa dạng về kiểu gen là nguồn lực chính để tạo ra cây trồng có tính trạng giá trị kinh tế cao hơn. Cầm ứng nhân tạo đã phát triển từ lâu và trở thành một phương pháp tạo giống phổ biến để cải thiện năng suất và chất lượng cây trồng. Trong nghiên cứu này, hạt ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) được xử lý đột biến bằng colchicin trong thời gian 0h, 6h, 12h, 24h, 48h và 72h ở các nồng độ 0%; 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,5%; 1,0%. Thời gian và nồng độ xử lý có ảnh hưởng đến tỷ lệ và thời gian nảy mầm của hạt. Liều lượng xử lý colchicin ở nồng độ 0,1% trong thời gian xử lý 12h và 24h cho tỷ lệ tạo cây ngưu tất đa bội cao nhất. Một số đặc điểm hình thái điển hình đã được ghi nhận ở các thể ngưu tất đa bội như chiều

cao cây thấp, đốt ngắn, phiến lá dày, màu sắc lá đậm, chiều dài bông ngắn. Kết quả này khẳng định xử lý tạo đa bội thể là cách tiếp cận tiềm năng cho nguồn vật liệu khởi đầu trong các nghiên cứu chọn, tạo giống ngưu tất.

Từ khóa: Đa bội thể, Ngưu tất, *Achyranthes bidentata* Blume, Xử lý colchicin.

Summary

Preliminary Study on Colchicine-induced Polyploidization for *Achyranthes bidentata* Blume

In breeding, genotype diversity is the main resource to produce crops with higher economic value traits. Artificial induction of polyploids has long developed and become a popular breeding method to improve crop yield and quality. In this study, *Achyranthes bidentata* Blume. seeds were treated with colchicin for 0, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h and at concentrations of 0%; 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,5%; 1,0%. The time and concentration of colchicin treatment influenced the rate and time of seed germination. At the concentration of 0.1% in 12h and 24h, the highest frequency of tetraploid was obtained. As a result, short plant height, short internode, thick leaf blade, dark blue leaf color and short inflorescence of tetraploidy *A. bidentata* were observed. The research results revealed that colchicin-induced polyploidization can be a potential approach for starting materials in *A. bidentata* breeding in the future.

Keywords: Polyploidy, *Achyranthes bidentata* Blume, Colchicin treatment.

1. Đặt vấn đề

Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) là một trong những loài cây thuốc quan trọng được di thực từ Trung Quốc vào nước ta từ những năm 1960 [1]. Phần rễ củ của cây ngưu tất được sử dụng làm dược liệu và là thành phần chính trong các bài thuốc y học cổ truyền. Phân tích tế bào học cho thấy ngưu tất tồn tại hai kiểu tế bào (cytotype), cây có số nhiễm sắc thể $2n=42$ và $2n=84$ [2].

Theo Thông tư số 48/2018/TT-BYT của Bộ Y tế ngày 28 tháng 12 năm 2018, ngưu tất một trong những dược liệu cần nhập khẩu để phục vụ cho y học cổ truyền và sản xuất thuốc [3]. Giá cả cũng như chất lượng ngưu tất rất bấp bênh do phụ thuộc nhiều vào thị trường dược liệu của nước ngoài. Ngưu tất là cây có khả năng thâm canh cho năng suất cao, có giá trị và nhu cầu sử dụng lớn ở trong nước cũng như xuất khẩu do đó giá trị về kinh tế của loài dược liệu này rất lớn.

Đa bội thể là một kỹ thuật để cải thiện hàm lượng chất chuyển hóa, hạn chế thu hái nguyên liệu thực vật hoang dã. Đa bội thể thường liên quan đến kích thước tế bào và tăng cường đáng kể các enzym sinh tổng hợp làm thay đổi hàm lượng của các chất chuyển hóa thứ cấp trong phần lớn các cây thuốc. Do đó, tạo thể đa bội nhân tạo là một cách tiếp cận hiệu quả nhằm cải thiện năng suất, hàm lượng chất chuyển hóa thứ cấp quan trọng, cũng như khả năng chống chịu điều kiện bất lợi của cây trồng [4]. Ở Việt Nam, một số cây trồng như cam quýt, dưa hấu và hồng Trung Quốc đã được nghiên cứu đa bội hóa thành công [5].

Trong bài báo, lần đầu tiên chúng tôi đã thiết lập một quy trình tạo thể đa bội ở cây ngưu tất ở Việt Nam. Chúng tôi kiểm tra ảnh hưởng của đa

bội hóa đến các đặc điểm tính trạng hình thái và so sánh với cây nhị bội tương ứng. Nghiên cứu đa bội thể trên cây dược liệu tại Việt Nam còn đang rất hạn chế, mặt khác muốn tăng năng suất và chất lượng dược liệu cần có hướng nghiên cứu mới. Do đó, thăm dò khả năng tạo đa bội thể trên cây ngưu tất là việc làm cần thiết nhằm tạo được thể đa bội làm vật liệu cho các nghiên cứu chọn tạo giống ngưu tất mới sau này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên hạt giống ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume) do Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia - Viện Dược liệu cung cấp. Hạt ngưu tất được thu từ cây mẹ khỏe mạnh, không bị bệnh hại, hạt được thu hoạch và phơi khô vào tháng 6-7 trước khi được bảo quản trong kho lạnh (nhiệt độ 4°C).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tham khảo một số tài liệu về phương pháp đa bội thể từ hạt trên cây dược liệu (*Dracocephalum moldavica* L.) bằng colchicin (xử lý ở 4 nồng độ 0; 0,05; 0,1 và 0,5%) [6] và kết quả xử lý đa bội thể trên cây ngưu tất (0,2%) [7]. Trong nghiên cứu này, các thí nghiệm được thiết kế với mục đích thăm dò khả năng tạo đa bội thể của hạt ngưu tất khi xử lý colchicin ở dải nồng độ (0%; 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,5% và 1,0%) và thời lượng xử lý (0h, 6h, 12h, 24h, 48h và 72h) các thí nghiệm được thiết kế với mục đích thăm dò khả năng tạo đa bội thể của hạt ngưu tất khi xử lý colchicin của hạt ngưu tất ở dải nồng độ và thời lượng xử lý khác nhau nhằm xác định liều lượng xử lý tối ưu cũng như ngưỡng gây chết. Cho 0,5ml Dimethyl sulfoxide (DMSO) hòa tan vào 1 gam colchicin sau đó pha với nước để có nồng độ mong muốn. Mỗi công thức sử dụng 200 hạt

nguru tất và ngâm trong 50ml dung dịch. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần lặp lại.

Hạt nguru tất được gieo vào tháng 02/2022. Hạt xử lý xong được trộn với cát và gieo đều trên mặt luống. Sau khi gieo hạt xong rải một lớp vỏ trấu mỏng lên bề mặt luống và tưới nước giữ ẩm liên tục đến khi hạt nảy mầm [8].

Mức độ đa bội thể của các cá thể nguru tất sau khi xử lý colchicin được xác định bằng phương pháp đo dòng chảy tế bào (FCM). Cụ thể, mẫu lá của cây (1,0 cm²) được băm nhỏ bằng lưỡi dao lam trong 0,5ml dung dịch nhuộm CyStain UV ploididy trên đĩa petri trước khi lọc qua màng lọc Partec 30 µm CellTrics (Đức) để loại bỏ các mảnh vụn của tế bào. Kích thước hệ gen của các mẫu được đo trên máy đo dòng chảy tế bào CyFlow® Ploidy (Sysmex Partec GmbH, Goerlitz, Đức) với mẫu lá của cây nguru tất chưa xử lý làm đối chứng. Phép đo được thực hiện lặp lại 02 lần cho mỗi mẫu, và đo vào thời điểm 30 ngày (khi cây có 2 cặp lá thật) và 90 ngày sau khi gieo.

Đánh giá một số chỉ tiêu: Tỷ lệ nảy mầm (%) = Số hạt nảy mầm/ Tổng số hạt xử lý x 100%; Thời gian nảy mầm (ngày): Thời gian từ gieo đến nảy mầm; Tỷ lệ cây đa bội (%) = Số cây đa bội/ Số cây mọc x 100%; Tỷ lệ cây mang thể khảm (%) = Số cây mang thể khảm/ Số cây mọc x 100%; Tỷ lệ cây tứ bội (%) = Số cây tứ bội/ Số cây mọc x 100%.

Đánh giá một số đặc điểm hình thái nguru tất: chiều cao cây (cm), số lá (lá), chiều dài lá (cm),

chiều rộng lá (cm), chiều dài đốt (cm), độ dày lá (mm), màu sắc thân, hình dạng, màu sắc lá được theo dõi sau gieo 60 ngày, độ dài cổ bông được đo đếm khi cây bắt đầu kết hạt (80-85 ngày). Kích thước khí khổng được đo bằng kính hiển vi Olympus BX53.

Địa điểm thực hiện: Thí nghiệm được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu Nguồn gen và Giống được liệu Quốc gia - Viện Dược liệu, Thanh Trì - Hà Nội.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft excel và Irristart version 5.0.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý colchicin đến khả năng nảy mầm và tạo đa bội thể từ hạt

Colchicin đã ức chế sự hình thành các các thoi vô sắc và tạm thời ngăn chặn quá trình nguyên phân ở giai đoạn kỳ giữa phân bào. Tại thời điểm này các nhiễm sắc thể đã nhân đôi nhưng quá trình phân chia tế bào không diễn ra dẫn đến sự hình thành các tế bào tứ bội [9]. Quá trình nảy mầm của hạt được tính từ lúc hạt tách vỏ và bắt đầu kéo dài rễ. Sự ức chế của colchicin đối với sự nảy mầm không được biểu hiện cho đến khi bắt đầu kéo dài rễ. Những cây con không phát triển được lá thật sẽ không sống được. Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý colchicin đến tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ tạo cây đa bội nguru tất được trình bày qua Bảng 1.

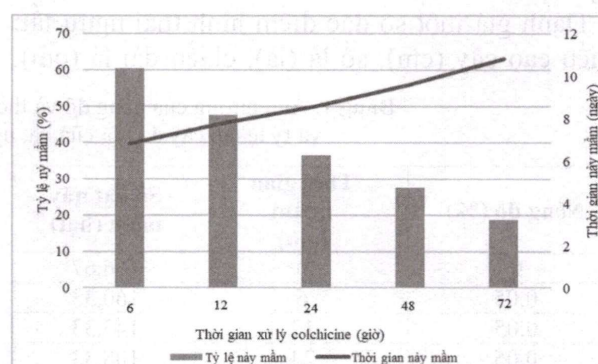
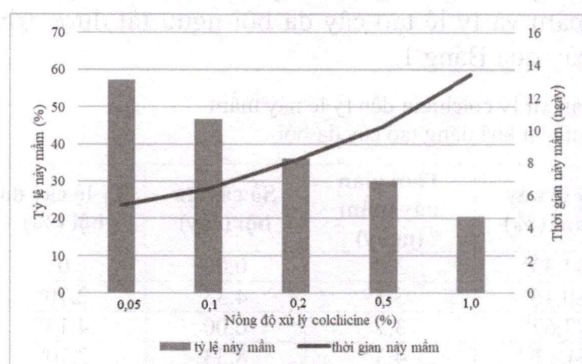
Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý colchicin đến tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ tạo cây đa bội của hạt nguru tất và khả năng tạo cây đa bội

Nồng độ (%)	Thời gian ngâm (giờ)	Số hạt nảy mầm (hạt)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian nảy mầm (ngày)	Số cây đa bội (cây)	Tỷ lệ cây đa bội (%)
0	0	166,67	83,33 ^a	3,0	0,00	0
0,05	6	160,33	80,16 ^a	3,3	4,33	2,70 ^c
0,05	12	145,33	72,67 ^b	3,7	6,00	4,13 ^c
0,05	24	108,33	54,17 ^{cd}	4,3	8,33	7,70 ^d
0,05	48	96,67	48,33 ^e	4,7	9,67	10,00 ^{bc}
0,05	72	63,33	31,67 ^{hi}	5,7	1,67	2,65 ^e
0,1	6	144,33	72,17 ^b	5,3	5,33	3,68 ^c
0,1	12	114,67	57,33 ^{bcd}	5,3	12,00	10,47 ^b
0,1	24	94,00	47,00^e	6,3	14,33	15,24^a
0,1	48	64,67	32,33 ^{hi}	7,0	4,67	7,21 ^d
0,1	72	50,33	25,17 ^l	7,7	0,33	0,67 ^f
0,2	6	115,33	57,67 ^{bc}	6,3	4,67	4,05 ^c
0,2	12	84,33	42,17 ^f	7,7	6,00	7,21 ^d
0,2	24	68,33	34,17 ^h	8,3	5,67	8,31 ^{cd}
0,2	48	54,33	27,17 ^{kl}	8,7	1,33	2,46 ^c
0,2	72	38,67	19,33 ^m	9,3	0,00	0,00
0,5	6	100,33	50,17 ^e	10,7	0,00	0,00

Nồng độ (%)	Thời gian ngâm (giờ)	Số hạt nảy mầm (hạt)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Thời gian nảy mầm (ngày)	Số cây đa bội (cây)	Tỷ lệ cây đa bội (%)
0,5	12	76,00	38,00 ^g	11,0	0,00	0,00
0,5	24	58,33	29,17 ^{ik}	11,0	0,00	0,00
0,5	48	40,00	20,00 ^m	11,7	0,00	0,00
0,5	72	28,00	14,00 ⁿ	12,3	0,00	0,00
1,0	6	83,33	41,67 ^r	12,0	0,00	0,00
1,0	12	55,67	27,83 ^{kl}	13,0	0,00	0,00
1,0	24	38,33	19,17 ^m	14,3	0,00	0,00
1,0	48	20,67	10,33 ^o	15,7	0,00	0,00
1,0	72	7,67	3,83 ^p	16,3	0,00	0,00
0,05			57,40			5,44
0,1			46,80			7,45
0,2			36,10			4,41
0,5			30,27			0,00
1,0			20,67			0,00
	6		60,37			2,08
	12		47,60			4,36
	24		36,73			6,25
	48		27,63			3,93
	72		18,80			0,66
<i>LSD_{0,05}Nồng độ</i>			11,91			2,42
<i>LSD_{0,05}Thời gian</i>			10,49			3,04
<i>LSD_{0,05}(Nồng độ*Thời gian)</i>			3,56	1,2		1,68
<i>CV%</i>			4,40	6,8		25,3

Nồng độ xử lý colchicin có ảnh hưởng đến thời gian và tỷ lệ nảy mầm của hạt nguru tất. Đối với hạt nguru tất không qua xử lý colchicin thì thời gian nảy mầm sớm (3 ngày), tỷ lệ nảy 83,33%. Khi nồng độ và

thời gian xử lý tăng thì thời gian nảy mầm của hạt cũng kéo dài. Ở nồng độ 0,05% thời gian nảy mầm là 3,3-5,7 ngày; nồng độ 1% và thời gian xử lý 72h thì thời gian để hạt nảy mầm là 16,3 ngày.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian xử lý colchicin đến tỷ lệ nảy mầm của hạt nguru tất

Tỷ lệ nảy mầm của hạt nguru tất giảm dần khi tăng nồng độ và thời gian xử lý. Tỷ lệ nảy mầm dao động rất lớn 3,83- 83,33%, thấp nhất là thời gian xử lý 72h ở nồng độ 1,0%, cao nhất là công thức không xử lý colchicin, tiếp theo là thời gian xử lý 6h ở nồng độ 0,05%. Trong cùng một nồng độ xử lý, tăng thời gian xử lý thì tỷ lệ nảy mầm giảm, tỷ lệ nảy mầm giữa các công thức sai khác có ý nghĩa ở độ

tin cậy 95%. Có sự tương quan nghịch giữa thời gian nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm của hạt nguru tất khi tăng thời gian và nồng độ xử lý colchicin (Hình 1).

Số cây nguru tất đa bội dao động trong khoảng 0,33 - 14,33 cây. Tỷ lệ tạo cây đa bội dao động 0,67 - 15,24%. Tỷ lệ tạo cây đa bội cao nhất ở nồng độ 0,1% và thời gian 24h (15,24%), tiếp đó là 12h (10,47%), sau đó giảm dần khi tăng nồng

độ và thời gian xử lý. Có sự sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy 95% giữa thời gian 12h và 24h ở cùng nồng độ xử lý 0,1%. Theo nghiên cứu của Li và cs. (2009) [7], xử lý ngưu tất bằng colchicin ở nồng độ 0,2% trong thời gian 24h cho tỷ lệ đột biến cao nhất và tương đồng về thời gian xử lý trong kết quả trong nghiên cứu này. Trong nghiên cứu bước đầu này, với mục đích thăm dò thêm

khả năng tạo cây đa bội thể ở các ngưỡng nồng độ cao ở các thời gian xử lý khác nhau để phục vụ cho các nghiên cứu hoàn thiện khi xử lý hạt ngưu tất, thí nghiệm ở các nồng độ colchicin 0,5% và 1,0 % đã được thực hiện, kết quả hạt ngưu tất khi xử lý ở các nồng độ này ở các thời gian 6h, 12h, 24h, 48h, 72h đều không tạo được cây ngưu tất đa bội.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ xử lý colchicin đến khả năng tạo cây tứ bội từ hạt

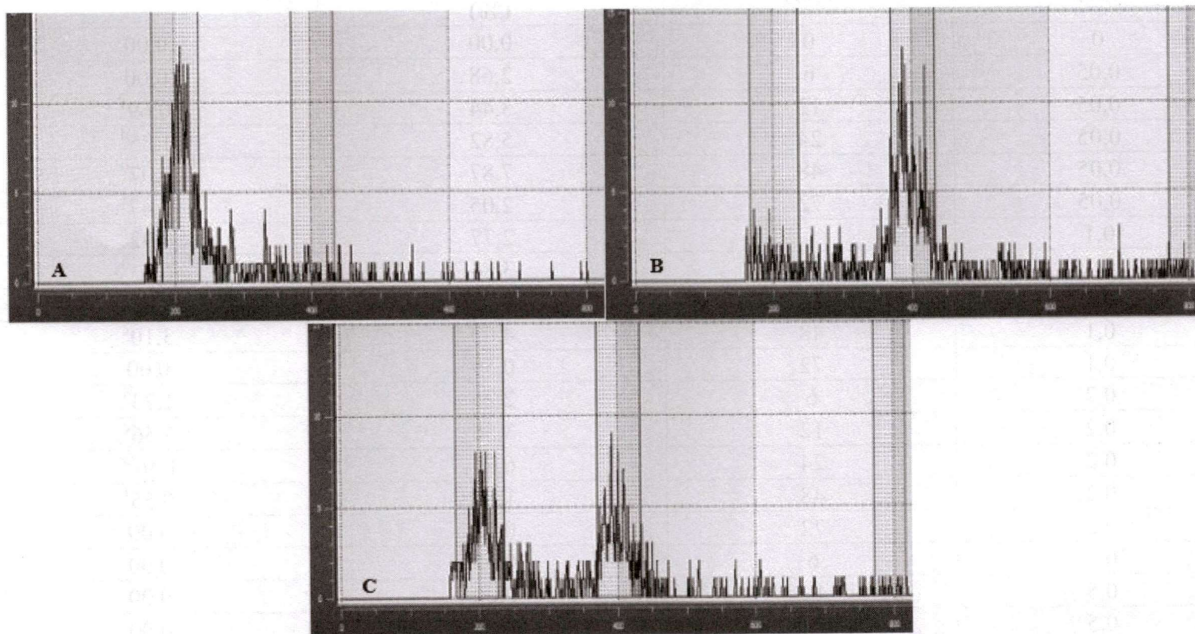
Nồng độ (%)	Thời gian (giờ)	Tỷ lệ cây mang thể khảm* (%)	Tỷ lệ cây tứ bội* (%)
0	0	0,00	0,00
0,05	6	2,68	0,00
0,05	12	3,44	0,69 ^f
0,05	24	5,82	1,85 ^d
0,05	48	7,87	2,07 ^d
0,05	72	2,05	0,47 ^f
0,1	6	2,77	0,92 ^e
0,1	12	3,84	6,63 ^b
0,1	24	7,13	8,09 ^a
0,1	48	4,02	3,10 ^c
0,1	72	0,59	0,00
0,2	6	2,25	1,73 ^d
0,2	12	3,56	3,56 ^c
0,2	24	6,73	1,46 ^{de}
0,2	48	1,84	0,55 ^f
0,2	72	0,00	0,00
0,5	6	0,00	0,00
0,5	12	0,00	0,00
0,5	24	0,00	0,00
0,5	48	0,00	0,00
0,5	72	0,00	0,00
1,0	6	0,00	0,00
1,0	12	0,00	0,00
1,0	24	0,00	0,00
1,0	48	0,00	0,00
1,0	72	0,00	0,00
0,05			0,53 ^c
0,1			3,75 ^a
0,2			1,46 ^b
0,5			0,00
1,0			0,00
	6		0,53 ^c
	12		2,18 ^a
	24		2,28 ^a
	48		1,14 ^b
	72		0,09 ^c
<i>LSD_{0,05}(Nồng độ)</i>			0,84
<i>LSD_{0,05}(Thời gian)</i>			0,61
<i>LSD_{0,05}(Nồng độ*Thời gian)</i>			0,72
<i>CV%</i>			28,15

Ghi chú: *Tỷ lệ cây tứ bội, tỷ lệ cây khảm tính trên tổng số cây theo dõi.

Một số nghiên cứu khác về ảnh hưởng của thời gian và nồng độ xử lý colchicin đến khả năng sống sót của các đối tượng cây trồng cũng cho kết quả tương tự như: nghiên cứu về lan Ngọc điểm (*Rhynchostylis gigantean*) [10], nghiên cứu về lúa mì (*Triticum aestivum*) [11], cây hoa cẩm chương gấm [5]. Một số nghiên cứu cũng chứng minh được rằng nồng độ và thời gian xử lý colchicin càng cao thì sức sống của cây bị giảm xuống [11] hay xử lý colchicin có ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất, gây hại cho

thực vật thông qua sự tác động lên các phản ứng enzyme [12].

Tỷ lệ cây mang thể khảm (vừa có tế bào 2x, vừa có tế bào 4x) (Hình 2) dao động từ 0,00 - 7,87% và đạt cao nhất ở 0,05%, thời gian xử lý 48h, tiếp theo là 7,13% ở công thức 0,1%, thời gian xử lý 24h. Tỷ lệ tứ bội đạt cao nhất khi xử lý ở cùng nồng độ 0,1%; thời gian xử lý 12h và 24h sai khác có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%. Ở nồng độ 0,2% và 72h, nồng độ 0,5%, 1% không tạo được cây tứ bội.



Hình 2. Xác định các thể đa bội bằng máy đo dòng chảy tế bào CyFlow Ploidy;
A: Thể 2n; B: Thể 4n; C: Thể khảm 2n và 4n

Sau gieo 45 ngày, các cây ngưu tất ở các công thức chết nhiều và làm giảm số thể đa bội sống sót. Trong số các cây đa bội, chúng tôi tiến hành đánh giá hình thái 08 thể đa bội ngưu tất thu được.

3.2. Bước đầu đánh giá một số đặc điểm hình thái của một số thể ngưu tất đa bội

Một số đặc điểm hình thái các thể ngưu tất đa bội được thể hiện trong Bảng 3 và Bảng 4.

Bảng 3. Một số đặc điểm hình thái của 08 thể ngưu tất đa bội

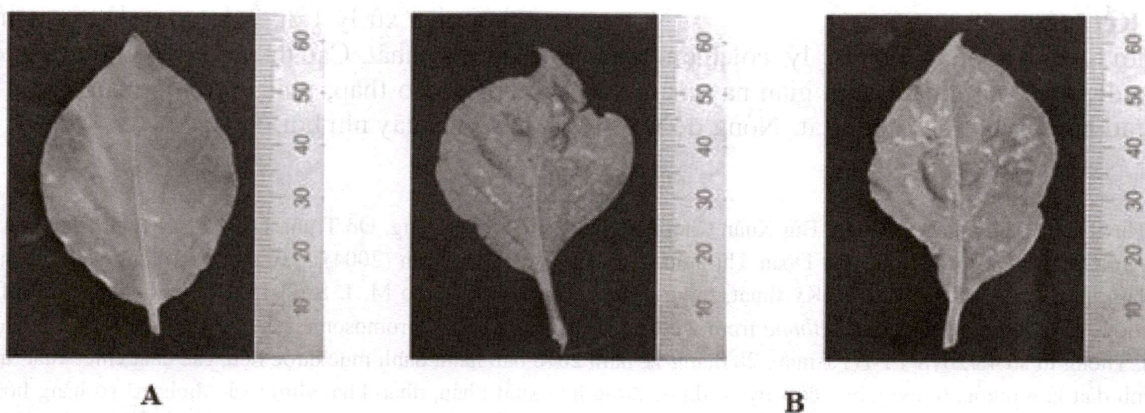
STT	Thể đa bội	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chiều dài đốt (cm)	Dày lá (mm)
1	NgT1	24,5	8	6,5 ± 1,8	4,3 ± 1,1	4,5 ± 1,2	0,28 ± 0,09
2	NgT2	21,2	10	7,5 ± 1,5	5,4 ± 1,3	3,6 ± 0,8	0,34 ± 0,06
3	NgT3	45,4	10	8,5 ± 2,1	5,4 ± 1,2	6,5 ± 2,2	0,27 ± 0,04
4	NgT4	27,6	8	7,2 ± 1,6	5,0 ± 0,8	3,5 ± 0,9	0,34 ± 0,08
5	NgT5	31,0	10	6,5 ± 1,8	5,4 ± 0,9	6,0 ± 2,0	0,28 ± 0,05
6	NgT6	36,2	10	7,0 ± 2,0	4,6 ± 0,6	5,5 ± 1,1	0,32 ± 0,05
7	NgT7	20,8	10	5,0 ± 1,0	4,2 ± 0,9	3,8 ± 0,7	0,29 ± 0,09
8	NgT8	40,3	10	6,0 ± 1,3	4,3 ± 1,0	8,0 ± 1,7	0,27 ± 0,06
9	Đ/C	52,5	10	9,0 ± 2,3	4,0 ± 0,8	10,5 ± 2,5	0,12 ± 0,04

Chiều cao cây các thể đa bội đều thấp hơn cây đối chứng, một số thể có chiều cao cây thấp như NgT1, NgT2, NgT4 và NgT7 (< 30 cm). Số lá dao động từ 8-10 lá và không chênh lệch nhiều so với đối chứng. Chiều dài lá các thể ngư tất đa bội dao động 5,0 - 8,5 cm và chiều rộng lá 4,0 - 5,4 cm. Lá cây đa bội dày hơn gấp 2 lần so với cây nhị bội.

Chiều dài đốt các thể ngư tất đa bội dao động 3,5-8,0 cm; trong khi đó đối chứng 10,5 cm. Đốt cây nhị bội có xu hướng dài hơn so với cây đa bội. Những cây đa bội nhân tạo thường có lá dày, xanh thẫm mặt lá không bằng phẳng, còn những cây nhị bội điển hình có lá to, dài đặc biệt là lá mỏng hơn cây tứ bội, phiến lá nhẵn phẳng (Hình 3).

Bảng 4. Một số đặc điểm thân, lá của các thể ngư tất đa bội

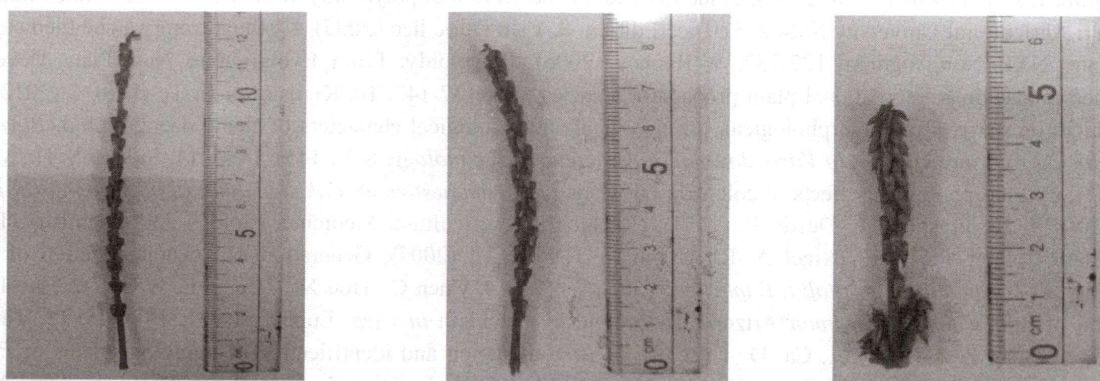
STT	Tên mẫu	Màu sắc lá	Hình dạng lá	Độ dài cổ bông
1	NgT1	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
2	NgT2	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
3	NgT3	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
4	NgT4	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
5	NgT5	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
6	NgT6	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
7	NgT7	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
8	NgT8	Xanh lục đậm	Bầu dục	Ngắn
9	Đ/C	Xanh lục nhạt	Bầu dục	Dài



Hình 3. Lá một số thể ngư tất đa bội, A: Đối chứng; B: thể đa bội

Một số đặc điểm khác nhau giữa cây nhị bội và đa bội ngư tất như: lá cây nhị bội cho màu xanh lục nhạt, cây đa bội cho màu xanh lục đậm.

Phiến lá phẳng hơn, trong khi cây đa bội phiến lá có độ phồng ít hay nhiều. Độ dài cổ bông dài hơn so với cây đa bội (Hình 4).



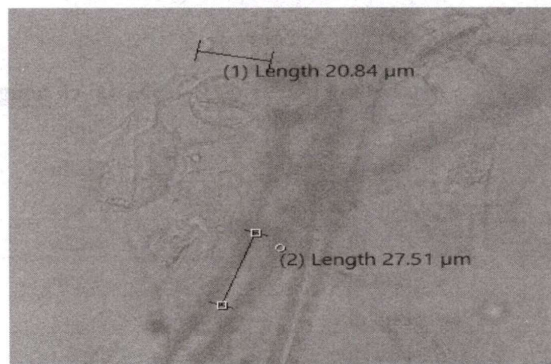
Bông ngư tất thể nhị bội (đối chứng)

Bông ngư tất thể đa bội

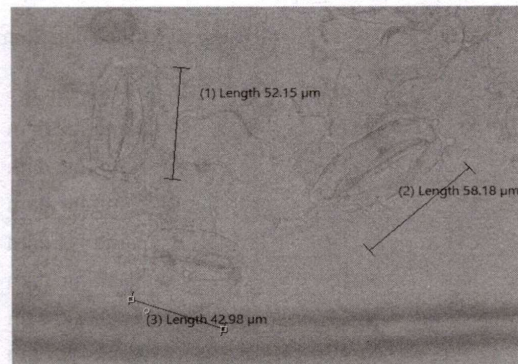
Hình 4. Bông ngư tất

Kích thước khí khổng thể nhị bội ngu ru tất bé hơn so với thể đa bội (Hình 5). Kết quả này phù hợp với các quan sát ở *Lavandula angustifolia* [13]. Thực vật có mức độ nhị bội tăng lên đôi khi được biểu hiện rõ ràng bởi hình thái riêng biệt của chúng. Sự tăng mức độ bội thể thường làm tăng kích thước

tế bào, do đó làm cho lá dày hơn, rộng hơn, hoa và quả lớn hơn. Các chồi thường dày hơn và có thể có các lông ngắn hơn và góc đáy rộng hơn. Hay lá xanh đậm hơn ở loài *Anthurium andraeanum* [14], cây thấp hơn bình thường như *Paulonia tomentosa* [15], *Pinellia ternate* [16].



Thế 2n



Thế 4n

Hình 5. Khí khổng của ngu ru tất

4. Kết luận

Thời gian và nồng độ xử lý colchicin ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm, thời gian nảy mầm và tỷ lệ tạo cây đa bội hạt ngu ru tất. Nồng độ 0,1%

và thời gian xử lý 12h, 24h tạo tỷ lệ cây ngu ru tất đa bội cao nhất. Các thể đa bội ngu ru tất thu được có chiều cao thấp, phiến lá dày, màu sắc lá đậm hơn so với cây nhị bội.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang 430.
2. Lovleen, Saggoo M. I. S (2015), Meiotic studies in different population of *Achyranthes bidentata* Blume from western Himalaya, India. *Chromosome science* 18(3-4), 39-46.
3. Bộ Y tế (2018), Thông tư số 48/2018/TT-BYT ngày 28 tháng 12 năm 2018 ban hành danh mục dược liệu, các chất chiết xuất từ dược liệu, tinh dầu làm thuốc, thuốc y học cổ truyền, thuốc dược liệu xuất khẩu, nhập khẩu được xác định mã số hàng hóa theo danh mục hàng hóa xuất khẩu, nhập khẩu Việt Nam.
4. Yan. X (2015), *Dan Shen (Salvia miltiorrhiza)* in Medicine: Volume 1, *Biology and Chemistry*, Springer Publishing.
5. Nguyen Thi Ly Anh, Nguyen Thi Thanh Phuong, Ho Thi Thu Thanh, Le Hai Ha, Nguyen Thi Han (2014), Development of China Pink (*Dianthus chinensis*) Polyploid Lines via *In vitro* Treatment with Colchicin. *Journal of Scientific Research and Development*, 12(8), 1322-1330.
6. Yavari S, Omidbaigi R, Hassani M. E, Silva J.A.T, Baba M.F.G (2010), Comparison of four different treatment methods with colchicin to induce chromosome doubling in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L. 'SZK-1'), *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 55-58.
7. Li P. F, Zhao X. M (2009), Induction and identification of polyploidy of *Achyranthes bidentata* Blume, *Journal of Shanxi Agricultural University Natural Science Edition*.
8. Viện Dược liệu (2005), Kỹ thuật trồng và chế biến cây thuốc ở Việt Nam, NXB Nông nghiệp, 127-132.
9. Ranney (2006), Polyploidy: From Evolution to New Plant Development, Combined proceedings international plant propagator's society, 56, 137-142.
10. Kerdswan N, Te-chato. S (2012), Effects of colchicin on survival rate, morphological, physiological and cytological characters of chang daeng orchid (*Rhynchostylis gigantea* var. *rubrum* Sagarik) *In Vitro. Journal of Agricultural Technology*, 8(4), 1451-1460.
11. Siddiqi S. H., Marwat K. B. (1983), Cytomorphological effects of colchicin on wheat (*Triticum aestivum*). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 4(2), 120-125.
12. Eigsti O. J., Dustin P. (1957), Colchicin in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry, Publisher: Iowa State College Press.
13. Nigel A. R., Urwin J., Therese M. (2007), Generation and characterization of colchicin autotetraploid *Lavandula angustifolia*. *Euphytica*, 156, 257-266.
14. Chen C., Hou X., Zhang H., Wang G., Tian L. (2011), Induction of *Anthurium andraeanum* "Arizona" tetraploid by colchicin *in vitro*. *Euphytica* 181, 137-145.
15. Tang Z. Q., Chen D. L., Song Z. J, He Y. C., Cai D. T (2010), *In vitro* induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 102, 213-220.
16. He L., Ding Z., Jiang F., Jin B., Li W., Ding X., Sun. J. L. G. (2012), Induction and identification of hexadecaploid of *Pinellia ternate*. *Euphytica*, 186, 479-488.