

EFFECTS OF SOME SUPPLEMENTS ON THE GROWTH OF DANG SAM (*Codonopsis Javanica* (Blume) Hook.F.) IN VITRO

Bui Thi Ha^{1*}, Nguyen Thi Tam²

¹TNU - University of Medicine and Pharmacy

²TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 06/4/2021	<i>Codonopsis Javanica</i> is a precious medicinal herb that is used in traditional medicine. This species contains many biologically active ingredients that have therapeutic effects in medicine. <i>Codonopsis Javanica</i> has therapeutic effects such as reducing inflammation and pain, relieving cough and asthma, detoxifying the liver, loosening phlegm, diuretic, laxative. It also used to treat some diseases such as scabies, nephrolithiasis, and erectile dysfunction. In addition, <i>Codonopsis Javanica</i> has the anti-fatigue effect and enhances the body's tolerance to high-temperature environments. Nowadays, <i>Codonopsis Javanica</i> in nature is depleted more and more, so <i>Codonopsis Javanica</i> preservation and breeding is very essential. In this paper, the effects of some certain supplements on the growth of <i>Codonopsis Javanica in vitro</i> will be presented. The result show that, the Murashige and Skoog medium + agar 9,0 g/l + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l is used with the supplements namely: sucrose 30 g/l, coconut water 100 ml/l, activated carbon 1 g/l, which gives the best environment for <i>Codonopsis Javanica</i> growth and development. By tissue culture technology, it helps to multiply rapidly this cultivar and it can be preserved successfully of <i>Codonopsis Javanica in vitro</i> .
Revised: 12/6/2021	
Published: 21/6/2021	
KEYWORDS	
Codonopsis Javanica	
Herb growth	
Development	
Tissue culture	
In vitro	

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHẤT BỔ SUNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA CÂY ĐĂNG SÂM (*Codonopsis Javanica* (Blume) Hook.F.) IN VITRO

Bùi Thị Hà^{1*}, Nguyễn Thị Tâm²

¹Trường Đại học Y Dược - ĐHTH Thái Nguyên, ²Trường Đại học Sư phạm - ĐHTH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 06/4/2021	ĐĂNG SÂM (<i>Codonopsis Javanica</i> (Blume) Hook.F.) là loại dược liệu quý được sử dụng trong y học cổ truyền. ĐĂNG SÂM có chứa nhiều hoạt chất sinh học được sử dụng nhiều để làm thuốc. ĐĂNG SÂM có tác dụng trị liệu như giúp giảm viêm sưng và giảm đau, dùng ĐĂNG SÂM giúp giảm cơn ho và suyễn, dùng cho một số trường hợp nam giới bất lực. Củ ĐĂNG SÂM có tác dụng lợi tiểu, nhuận tràng, làm long đờm. ĐĂNG SÂM còn được dùng trong những bệnh về da như ghẻ, dùng trong bệnh sỏi thận, giải độc cho gan. ĐĂNG SÂM có tác dụng chống một môi và tăng cường sự thích nghi của cơ thể đối với môi trường nhiệt độ cao. Hiện nay, cây ĐĂNG SÂM trong tự nhiên đang ngày càng bị cạn kiệt, vì vậy việc bảo tồn và nhân giống là rất cấp bách. Trong bài báo này chúng tôi trình bày về ảnh hưởng của một số chất đến khả năng sinh trưởng của cây ĐĂNG SÂM <i>in vitro</i> . Kết quả cho thấy, môi trường MS cơ bản + agar 9,0 g/l + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l bổ sung đường sucrose 30 g/l, nước dừa 100 ml/l, bổ sung than hoạt tính 1 g/l cho khả năng sinh trưởng và phát triển tốt nhất của cây ĐĂNG SÂM. Bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào đã nhân nhanh và bảo tồn thành công giống cây ĐĂNG SÂM trong phòng thí nghiệm.
Ngày hoàn thiện: 12/6/2021	
Ngày đăng: 21/6/2021	
TỪ KHÓA	
ĐĂNG SÂM	
Sinh trưởng	
Phát triển	
Nuôi cấy mô	
In vitro	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.4268>

* Corresponding author. Email: Buihayk@gmail.com

1. Mở đầu

Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật là một trong những kỹ thuật rất quan trọng của Công nghệ sinh học thực vật. Những thành tựu của kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật đạt được đã chứng tỏ khả năng ứng dụng hiệu quả trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là nhân nhanh và bảo tồn các loài cây thuốc quý có giá trị kinh tế cao.

Mặc dù có nguồn tài nguyên thực vật phong phú, đa dạng và kinh nghiệm sử dụng dược liệu làm thuốc của nhân dân ta đã có từ thời xa xưa, nhưng nguồn tài nguyên đó đang ngày càng suy giảm nghiêm trọng, đa số các cây thuốc quý hiếm đang có nguy cơ tuyệt chủng. Nguyên nhân là do sự khai thác một cách ồ ạt, không có kế hoạch và chưa chú ý đến việc tái sinh, bảo vệ rừng làm nguồn cây thuốc Việt Nam bị tàn phá nhanh và cạn kiệt.

Đảng sâm là một vị thuốc có rất nhiều công dụng chữa bệnh và phòng bệnh, giúp cơ thể khỏe mạnh và đề kháng tốt. Đông y coi Đảng sâm là nhân sâm của người nghèo vì có mọi công dụng của nhân sâm nhưng lại rẻ tiền hơn. Đảng sâm có tác dụng hạ huyết áp, tăng cường miễn dịch của cơ thể, có tác dụng kháng viêm, giảm ho, kháng khuẩn [1], [2]. Đối với hệ thống máu, Đảng sâm có tác dụng làm tăng số lượng hồng cầu, làm giảm số lượng bạch cầu, làm tăng nhanh máu đông khô mà không có tác dụng tán huyết [3], [4]. Thành phần có trong rễ cây Đảng sâm là đường khử, axit amin, chất béo và saponin, loại saponin chủ yếu là saponin triterpenoid [5]. Rễ cây Đảng sâm dùng chữa đau răng, đau bụng, cảm mạo, bệnh gan, cao huyết áp, tiểu đường [6].

Vì thế việc dùng Đảng sâm trở nên phổ biến rộng rãi, đáp ứng được nhu cầu sử dụng gần như không giới hạn trong y học dân tộc. Tuy nhiên, nạn tàn phá rừng làm nương rẫy quá mức trong tự nhiên khiến cho vùng phân bố của cây Đảng sâm bị thu hẹp nhanh chóng, có nguy cơ cạn kiệt. Vì vậy, việc bảo tồn cây Đảng sâm là rất cấp bách hiện nay. Xuất phát từ những lý do trên, bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất bổ sung đến khả năng sinh trưởng của cây Đảng sâm *Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. *in vitro*.

2. Vật liệu và phương pháp

Vật liệu: Sử dụng cây Đảng sâm được nuôi cấy tại phòng thí nghiệm công nghệ tế bào thực vật, trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái nguyên.

Nuôi cấy mô tế bào được tiến hành trên nền môi trường MS cơ bản (Murashige và Skoog, 1962) [7]. Nguyên tắc pha môi trường nuôi cấy với các thành phần và hàm lượng phù hợp. Nghiên cứu ảnh hưởng riêng rẽ của các chất bổ sung: Sử dụng các công thức môi trường khác nhau để đánh giá khả năng sinh trưởng của cây Đảng sâm sau thời gian 4 tuần, 6 tuần. Môi trường MS cơ bản có bổ sung BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l + chất phụ gia (đường, than hoạt tính, khoai tây) với nồng độ khác nhau. Nghiên cứu ảnh hưởng tổng hợp của các chất đến khả năng sinh trưởng của cây Đảng sâm trong ống nghiệm: Sử dụng công thức môi trường cơ bản bổ sung các chất, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Tiến hành đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển của cây sau 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần với các chỉ tiêu theo dõi. Phương pháp xử lý và tính toán số liệu: Sử dụng toán thống kê để xác định các chỉ số trung bình mẫu, phương sai, độ lệch chuẩn và sai số trung bình mẫu với $n \geq 30$, $\alpha = 0,05$, số liệu được xử lý trên phần mềm excel.

Điều kiện thí nghiệm: Các thí nghiệm *in vitro* được tiến hành trong điều kiện nhân tạo, các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm luôn được duy trì ổn định.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Ảnh hưởng riêng rẽ của các chất bổ sung đến sinh trưởng và phát triển của cây Đảng sâm *in vitro*

3.1.1. Ảnh hưởng hàm lượng đường sucrose đến sinh trưởng và phát triển của cây Đảng sâm *in vitro*

Cấy đoạn thân mang mắt chồi bên vào môi trường đối chứng (MS cơ bản + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l + agar 0,0 g/l) [8] và môi trường thăm dò hàm lượng đường sucrose 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l. Kết quả thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

Kết quả cho thấy các công thức bổ sung hàm lượng đường cho khả năng nhân chồi và chiều cao chồi vượt hơn so với công thức đối chứng không có đường sucrose. Trong đó công thức 4 bổ

sung đường với hàm lượng 30 g/l cho số chồi/mẫu cao nhất là 2,55 (sau 2 tuần), 3,34 (sau 4 tuần), 3,82 (sau 6 tuần). Đối với tiêu chí chiều cao chồi, nhận thấy chiều cao chồi tăng khi tăng hàm lượng đường bổ sung so với công thức đối chứng (không bổ sung đường sucrose). Chiều cao chồi tăng lần lượt 1,85, 2,28, 1,31 và 3,50 cm (sau 2 tuần), 2,31; 3,10; 2,00 và 6,64 cm (sau 4 tuần), 3,66; 4,08; 3,60 và 16,80 cm (sau 6 tuần).

Bảng 1. Ảnh hưởng hàm lượng đường sucrose đến khả năng nhân chồi và sự sinh trưởng của cây Đàng sâm

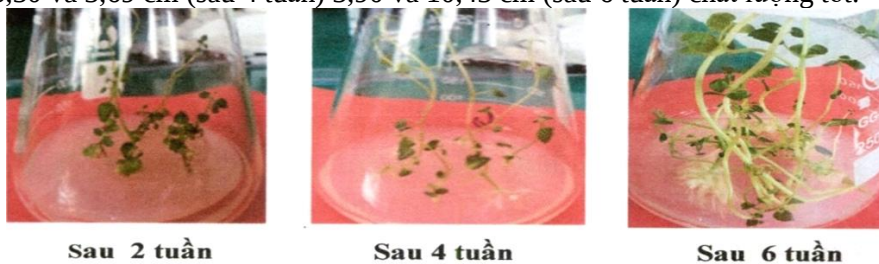
Công thức	Sucrose (g/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
Sau 2 tuần					
1	ĐC	1,24 ± 0,09	1,62 ± 0,07	2,47 ± 0,34	+
2	10	1,86 ± 0,18	1,85 ± 0,08	2,83 ± 0,27	+
3	20	2,08 ± 0,12	2,28 ± 0,10	5,97 ± 0,49	++
4	30	2,55 ± 0,04	3,50 ± 0,13	12,70 ± 0,37	+++
5	40	1,51 ± 0,16	1,31 ± 0,06	3,83 ± 0,25	++
Sau 4 tuần					
1	ĐC	1,38 ± 0,04	1,84 ± 0,08	5,37 ± 0,27	+
2	10	2,20 ± 0,08	2,31 ± 0,38	5,73 ± 0,40	++
3	20	2,47 ± 0,12	3,10 ± 0,35	9,37 ± 0,43	++
4	30	3,34 ± 0,13	6,64 ± 0,26	19,87 ± 0,50	+++
5	40	1,80 ± 0,16	2,00 ± 0,22	6,57 ± 0,33	+
Sau 6 tuần					
1	ĐC	1,60 ± 0,06	2,57 ± 0,29	6,40 ± 0,32	+
2	10	2,33 ± 0,07	3,66 ± 0,19	6,87 ± 0,17	+
3	20	2,64 ± 0,11	4,08 ± 0,68	10,39 ± 0,38	++
4	30	3,82 ± 0,12	16,80 ± 0,65	30,13 ± 0,56	+++
5	40	1,90 ± 0,14	3,60 ± 0,32	7,53 ± 0,31	++

Chất lượng chồi : +: chồi kém, ++: chồi trung bình, +++: chồi tốt

Từ kết quả thu được nhận thấy, công thức 4 (bổ sung hàm lượng đường sucrose 30 g/l) là phù hợp nhất, tỷ lệ nhân chồi và chiều cao chồi đều vượt trội so với các công thức còn lại. So sánh với kết quả nghiên cứu tái sinh cây dừa cạn của Bùi Thị Hà (2018) và cây sâm đất của Vũ Thị Như Trang (2019) thì hàm lượng đường sucrose 30 g/l là thích hợp cho nuôi cấy *in vitro* [8], [9].

3.1.2. Ảnh hưởng hàm lượng đường sucrose đến khả năng tạo rễ của cây Đàng sâm

Để đánh giá khả năng sinh trưởng của cây thì rễ là một trong những tiêu chí quan trọng, rễ tốt là rễ có bề mặt trơn nhẵn, màu vàng hoặc màu trắng sữa. Qua bảng 2 nhận thấy, khi thay đổi hàm lượng đường sucrose từ 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l trong môi trường nuôi cấy thì số rễ/ mẫu có sự thay đổi. Trong đó, số rễ và chiều dài rễ của công thức 4 cao nhất đạt được 3,30 và 3,69 cm (sau 4 tuần), 3,90 và 10,43 cm (sau 6 tuần), cao hơn so với các công thức còn lại. Như vậy, công thức 4 với việc bổ sung hàm lượng đường sucrose 30 g/l vào môi trường (MS cơ bản + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l + agar 9,0 g/l) là thích hợp nhất trong thí nghiệm cho số rễ, chồi và chiều dài rễ đạt 3,30 và 3,69 cm (sau 4 tuần) 3,90 và 10,43 cm (sau 6 tuần) chất lượng tốt.



Hình 1. Hình ảnh cây Đàng sâm sinh trưởng và phát triển trong môi trường bổ sung sucrose 30 g/l

Bảng 2. Ảnh hưởng hàm lượng đường sucrose đến khả năng tạo rễ của cây Đàng sâm

Công thức	Đường sucrose (g/l)	Số rễ/mẫu	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
Sau 4 tuần				
1	ĐC	$1,10 \pm 0,18$	$0,38 \pm 0,04$	+
2	10	$1,63 \pm 0,14$	$1,11 \pm 0,09$	+
3	20	$2,57 \pm 0,15$	$2,44 \pm 0,28$	++
4	30	$3,30 \pm 0,03$	$3,69 \pm 0,31$	+++
5	40	$2,20 \pm 0,18$	$1,73 \pm 0,18$	++
Sau 6 tuần				
1	ĐC	$1,50 \pm 0,17$	$1,08 \pm 0,12$	+
2	10	$2,33 \pm 0,17$	$2,77 \pm 0,24$	+
3	20	$3,27 \pm 0,10$	$5,70 \pm 0,33$	++
4	30	$3,90 \pm 0,07$	$10,43 \pm 0,40$	+++
5	40	$2,90 \pm 0,21$	$4,00 \pm 0,15$	++

Chất lượng rễ: +: rễ kém, ++: rễ trung bình, +++: rễ tốt

Kết quả bảng 2 và hình 2 cho thấy, khi thay đổi hàm lượng đường sucrose từ 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l trong môi trường nuôi cây thì số rễ/mẫu lần lượt là 1,63; 2,20; 2,57 và 3,30 (sau 4 tuần), 2,33; 3,27; 2,90 và 3,90 (sau 6 tuần) và chiều dài rễ lần lượt là 1,11; 2,44; 1,73 và 3,69 cm (sau 4 tuần), 2,77; 4,00; 5,70 và 10,43 (sau 6 tuần). Số rễ và chiều dài rễ của công thức 4 cao nhất đạt được 3,30 và 3,69 cm (sau 4 tuần), 3,90 và 10,43 cm (sau 6 tuần) cao hơn so với các công thức còn lại.

**Sau 4 tuần****Sau 6 tuần****Hình 2.** Hình ảnh rễ của cây Đàng sâm trên môi trường bổ sung sucrose hàm lượng 30 g/L

3.1.3. Kết quả ảnh hưởng hàm lượng than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đàng sâm in vitro

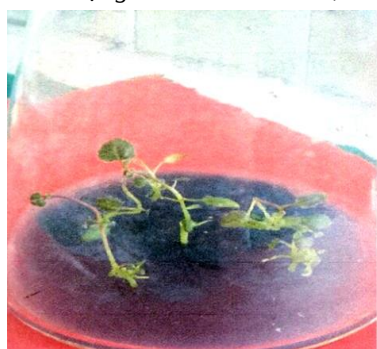
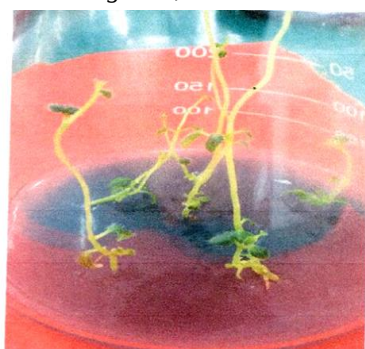
Để nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng than hoạt tính đến sự sinh trưởng của cây Đàng sâm, chúng tôi cấy đoạn thân mang mắt chồi bên có kích thước tương đối bằng nhau (1 cm) vào môi trường đối chứng (MS cơ bản + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l + agar 9,0 g/l) và môi trường thêm hàm lượng than hoạt tính 0,5 g/l; 1 g/l; 1,5 g/l; 2 g/l. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 3 và hình 3.

Kết quả cho thấy, các công thức bổ sung hàm lượng than hoạt tính cho khả năng nhân chồi cao hơn so với công thức 1 (đối chứng) không bổ sung than hoạt tính. Trong đó công thức 3 bổ sung hàm lượng than hoạt tính 1 g/l cho hệ số nhân chồi cao nhất là 1,87, chiều cao chồi 1,93 cm, số lá 6,20 (sau 2 tuần), số chồi 2,10, chiều cao chồi 4,94 cm, số lá 12,00 lá (sau 4 tuần) và số chồi 2,90, chiều cao chồi 8,22 cm, số lá 16,00 lá (sau 6 tuần). Nếu xét đồng thời các chỉ tiêu số chồi, chiều cao chồi, số lá được coi là ưu tiên trong giai đoạn nhân nhanh. Do đó có thể kết luận công thức 3 bổ sung 1 g/l hàm lượng than hoạt tính là môi trường thích hợp nhất trong thí nghiệm thêm hàm lượng than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đàng sâm.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đảng sâm trong ống nghiệm

Công thức	Than hoạt tính (g/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
Sau 2 tuần					
1	ĐC	1,60 ± 0,07	1,38 ± 0,09	1,80 ± 0,29	+
2	0,5	1,70 ± 0,15	1,55 ± 0,11	5,00 ± 0,35	++
3	1,0	1,87 ± 0,19	1,93 ± 0,18	6,20 ± 0,48	+++
4	1,5	1,43 ± 0,08	1,75 ± 0,13	4,87 ± 0,31	++
5	2,0	1,37 ± 0,10	1,83 ± 0,03	4,40 ± 0,29	+
Sau 4 tuần					
1	ĐC	1,90 ± 0,11	1,88 ± 0,38	5,47 ± 0,61	+
2	0,5	1,98 ± 0,19	3,62 ± 0,27	9,47 ± 0,48	++
3	1,0	2,10 ± 0,17	4,94 ± 0,32	12,00 ± 0,51	+++
4	1,5	1,73 ± 0,12	3,46 ± 0,44	9,30 ± 0,30	++
5	2,0	1,53 ± 0,09	2,73 ± 0,16	8,40 ± 0,55	++
Sau 6 tuần					
1	ĐC	2,05 ± 0,08	3,71 ± 0,38	8,80 ± 0,44	+
2	0,5	2,73 ± 0,19	6,03 ± 0,48	15,40 ± 0,62	+++
3	1,0	2,90 ± 0,21	8,22 ± 0,43	16,00 ± 0,66	+++
4	1,5	1,83 ± 0,12	5,92 ± 0,52	13,27 ± 0,69	++
5	2,0	1,68 ± 0,06	4,09 ± 0,37	10,40 ± 0,55	+

Chất lượng chồi : +: chồi kém, ++: chồi trung bình, +++: chồi tốt

**Sau 2 tuần****Sau 4 tuần****Sau 6 tuần**

Hình 3. Hình ảnh cây Đảng sâm sinh trưởng trên môi trường có bổ sung than hoạt tính nồng độ 1,0 g/L

3.1.4. Ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đảng sâm in vitro.

Nước dừa đã được xác định là giàu các hợp chất hữu cơ, chất khoáng và chất kích thích sinh trưởng [10]. Để nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến sự sinh trưởng của cây Đảng sâm, chúng tôi tiến hành cấy đoạn thân mang nách chồi có kích thước 1 cm vào môi trường đối chứng (MS cơ bản+ BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l + agar 9,0 g/l) và môi trường thăm dò hàm lượng nước dừa 50 ml/l, 100 ml/l, 150 ml/l, 200 ml/l. Kết quả thể hiện ở bảng 4 và hình 4 cho thấy các công thức có bổ sung hàm lượng nước dừa cho khả năng nhân chồi cao hơn so với công thức đối chứng không bổ sung nước dừa. Công thức 3 (bổ sung 100 ml/l nước dừa) cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 2,43 chồi, chiều cao chồi đạt 2,59 cm, số lá cao nhất đạt 8,27 lá (sau 2 tuần), còn sau 4 tuần số chồi cao nhất đạt 2,63, chiều cao chồi đạt 4,16 cm, số lá cao nhất đạt 16,00 lá và sau 6 tuần số chồi cao nhất đạt 2,83, chiều cao chồi cao nhất đạt 10,20 cm, số lá cao nhất đạt 24,93 lá. Kết hợp các chỉ tiêu về số chồi, chiều cao chồi, số lá có thể thấy công thức 3 có bổ sung nước dừa hàm lượng 100 ml/l vào môi trường đối chứng là môi trường thích hợp nhất trong thí nghiệm, chồi cao hơn, chất lượng chồi và lá tốt hơn.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đàng sâm trong ống nghiệm

Công thức	Nước dừa (ml/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Chất lượng chồi
Sau 2 tuần					
1	ĐC	$1,60 \pm 0,06$	$1,38 \pm 0,02$	$1,80 \pm 0,28$	++
2	50	$2,13 \pm 0,86$	$1,55 \pm 0,07$	$2,87 \pm 0,15$	++
3	100	$2,43 \pm 1,91$	$2,59 \pm 0,03$	$8,27 \pm 0,30$	+++
4	150	$1,10 \pm 0,80$	$1,43 \pm 0,06$	$2,80 \pm 0,28$	++
5	200	$1,02 \pm 0,90$	$1,39 \pm 0,00$	$2,07 \pm 0,22$	+
Sau 4 tuần					
1	ĐC	$1,90 \pm 0,10$	$1,88 \pm 0,28$	$5,47 \pm 0,27$	+
2	50	$2,50 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,16$	$10,30 \pm 0,37$	++
3	100	$2,63 \pm 0,11$	$4,16 \pm 0,15$	$16,00 \pm 0,51$	+++
4	150	$1,43 \pm 0,07$	$1,76 \pm 0,19$	$9,10 \pm 0,21$	++
5	200	$1,23 \pm 0,08$	$1,69 \pm 0,13$	$6,53 \pm 0,37$	+
Sau 6 tuần					
1	ĐC	$2,05 \pm 0,06$	$3,71 \pm 0,29$	$8,80 \pm 0,38$	+
2	50	$2,73 \pm 0,08$	$4,50 \pm 0,30$	$12,87 \pm 0,54$	+++
3	100	$2,83 \pm 0,11$	$10,20 \pm 0,45$	$24,93 \pm 0,86$	+++
4	150	$1,53 \pm 0,03$	$4,21 \pm 0,34$	$10,00 \pm 0,24$	++
5	200	$1,33 \pm 0,08$	$3,22 \pm 0,16$	$8,87 \pm 0,34$	+

Chất lượng chồi : +: chồi kém, ++: chồi trung bình, +++: chồi tốt

**Sau 2 tuần****Sau 4 tuần****Sau 6 tuần****Hình 4.** Hình ảnh cây Đàng sâm in vitro sinh trưởng trên môi trường bổ sung 100 ml/l nước dừa

3.1.5. Ảnh hưởng của nước dừa đến khả năng tạo rễ của cây Đàng sâm

Các hợp chất trong nước dừa hiện đã được chứng minh chứa myo-inositol và một số amino acid khác. Nước dừa có tác dụng để kích thích sự phân hóa và nhân nhanh của nhiều loại cây [10]. Kết quả thể hiện ở bảng 5 và hình 5 cho thấy, khi bổ sung hàm lượng nước dừa 50 ml/l, 100 ml/l; 150 ml/l; 200 ml/l trong môi trường nuôi cấy thì số rễ/mẫu sau 4 tuần lần lượt là 2,97; 2,83; 2,80 và 3,40 và chiều dài rễ lần lượt là 2,32; 1,46; 1,21 và 5,65 cm. Sau 6 tuần số rễ/mẫu lần lượt là 4,17; 4,00; 3,47; 5,17 và chiều dài rễ lần lượt là 5,53; 4,61; 4,52; 17,99 cm. Do đó có thể kết luận theo công thức 3 cho chất lượng rễ cũng như chiều dài rễ cao nhất so với các công thức còn lại. So với nghiên cứu nhân giống của cây thô nhân sâm thì hàm lượng 100 ml/l nước dừa là thích hợp cho khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đàng sâm [9].

Bảng 5. Ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng tạo rễ của cây Đàng sâm

Công thức	Nước dừa (ml/l)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
Sau 4 tuần				
1	ĐC	$1,90 \pm 0,07$	$1,10 \pm 0,16$	+
2	50	$2,97 \pm 0,17$	$2,32 \pm 0,17$	++
3	100	$3,40 \pm 0,15$	$5,65 \pm 0,32$	+++

Công thức	Nước dừa (ml/l)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
4	150	$2,83 \pm 0,16$	$1,46 \pm 0,25$	++
5	200	$2,80 \pm 0,10$	$1,21 \pm 0,06$	+
Sau 6 tuần				
1	ĐC	$3,40 \pm 0,14$	$2,68 \pm 0,24$	+
2	50	$4,17 \pm 0,24$	$5,53 \pm 0,55$	++
3	100	$5,17 \pm 0,11$	$17,99 \pm 1,20$	+++
4	150	$4,00 \pm 0,24$	$4,61 \pm 0,50$	++
5	200	$3,47 \pm 0,43$	$4,52 \pm 0,44$	++

Chất lượng rễ: +: rễ kém, ++: rễ trung bình, +++: rễ tốt



Sau 4 tuần



Sau 6 tuần

Hình 5. Hình ảnh rễ cây Đàng sâm sinh trưởng trên môi trường bổ sung 100 ml/l nước dừa

3.2. Ảnh hưởng phối hợp của các chất bổ sung đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đàng Sâm in vitro

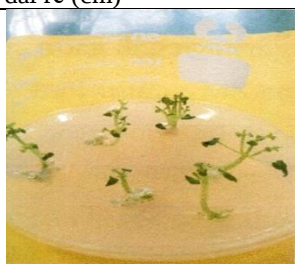
Để nghiên cứu ảnh hưởng phối hợp của hàm lượng đường sucrose, nước dừa, than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng của cây Đàng sâm trong ống nghiệm. Tiến hành cấy các mẫu là đoạn thân có kích thước khoảng 1 cm vào môi trường đối chứng (MS cơ bản + sucrose 30 g/l + agar 9,0 g/l + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l) và môi trường bổ sung đường sucrose 30 g/l, nước dừa 100 ml/l, than hoạt tính 1 g/l.

Kết quả ở bảng 6 và hình 6 cho thấy, các chỉ tiêu theo dõi được bổ sung với hàm lượng đường sucrose 30 g/l, nước dừa 100 g/l, than hoạt tính 1 g/l cho số chồi/mẫu, chiều cao chồi, số lá/chồi, số rễ/chồi và chiều dài rễ cao hơn công thức đối chứng. Đối chứng cho thấy số chồi/mẫu 1,60 chiều cao chồi 1,38 cm, số lá/chồi 1,80, số rễ/chồi 0,00 và chiều dài rễ 0,00 cm (sau 2 tuần). Sau 6 tuần đối chứng cho thấy, số chồi/mẫu 2,05, chiều cao chồi 3,71 cm, số lá/chồi 8,80, số rễ/chồi 3,40 và chiều dài rễ 2,68 cm. So với công thức bổ sung riêng rẽ 1 trong các chất thì công thức phối hợp cho kết quả cao hơn. Như vậy, môi trường có bổ sung đường sucrose 30 g/l, nước dừa 100 ml/l, than hoạt tính 1 g/l là thích hợp với cây Đàng sâm để đạt hiệu quả nhân chồi và sinh trưởng của cây tốt nhất. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu nhân giống cây dừa cạn và cây thổ nhân sâm [8], [9].

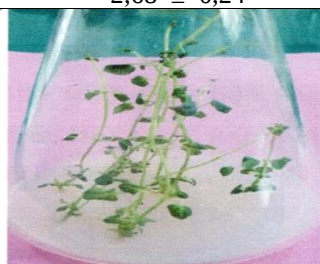
Bảng 6. Ảnh hưởng phối hợp các chất đến khả năng sinh trưởng của cây Đàng sâm

Chỉ tiêu theo dõi	Đối chứng	Thí nghiệm
Sau 2 tuần		
Số chồi/mẫu	$1,60 \pm 0,06$	$2,70 \pm 0,10$
Chiều cao chồi (cm)	$1,38 \pm 0,02$	$2,31 \pm 0,12$
Số lá/chồi	$1,80 \pm 0,28$	$7,03 \pm 0,30$
Số rễ/chồi	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
Chiều dài rễ (cm)	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
Sau 4 tuần		
Số chồi/mẫu	$1,90 \pm 0,00$	$3,70 \pm 0,10$
Chiều cao chồi (cm)	$1,88 \pm 0,22$	$5,86 \pm 0,33$

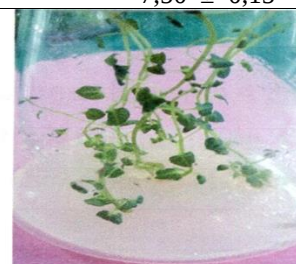
Chỉ tiêu theo dõi	Đối chứng	Thí nghiệm
Số lá/chồi	5,47 ± 0,27	13,88 ± 0,42
Số rễ/chồi	1,90 ± 0,07	3,15 ± 0,10
Chiều dài rễ (cm)	1,10 ± 0,16	5,12 ± 0,09
Sau 6 tuần		
Số chồi/mẫu	2,05 ± 0,10	3,86 ± 0,10
Chiều cao chồi (cm)	3,71 ± 0,29	9,64 ± 0,42
Số lá/chồi	8,80 ± 0,40	22,85 ± 0,91
Số rễ/chồi	3,40 ± 0,14	4,50 ± 0,00
Chiều dài rễ (cm)	2,68 ± 0,24	7,50 ± 0,15



Sau 2 tuần



Sau 4 tuần



Sau 6 tuần

Hình 6. Hình ảnh cây Đảng sâm sinh trưởng trên môi trường bổ sung phối hợp các chất

4. Kết luận

Trong nuôi cấy cây Đảng sâm *in vitro*

1. Môi trường MS cơ bản + agar 9,0 g/l + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l bổ sung 30 g/l đường sucrose là tốt nhất cho sự phát sinh chồi, sinh trưởng và phát triển chồi cây Đảng sâm *in vitro*.
2. Môi trường MS cơ bản + agar 9,0 g/l + BAP 0,6 mg/l + IBA 0,6 mg/l bổ sung nước dừa 100 ml/l là tốt nhất cho sự sinh trưởng và phát triển rễ cây Đảng sâm *in vitro*.
3. Môi trường MS cơ bản bổ sung phối hợp sucrose 30 g/l + agar 9,0 g/l + than hoạt tính 1 g/l + nước dừa 100 ml/l cho khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Đảng sâm tốt hơn so với đối chứng nhưng không cao hơn so với công thức bổ sung riêng rẽ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. L. Do, *Viet Nam medicinal Plants and Herbs*. Medicine Publishers, 2004.
- [2] W. Slupski, B. Tubek, and A. Matkowski, "Micropropagation of *Codonopsis Pilosula* (Franch.) Nannf by Axillary shoot multiplication," *Acta Biologica Cracoviensia*, vol. 53, no. 2, pp. 87-93, 2011.
- [3] T. D. Le, *Planting picking and using medicinal plant*. Agriculture Publishers, 1983.
- [4] Medicinal Institute, *Medicinal plant cultivation techniques*. Agriculture Publishers, 2013.
- [5] M. C. Hoang, X. S. Pham, and M. T. Nguyen, "Initial research on chemical composition of Vietnamese ginseng medicine," *Pharmaceutial magazine*, vol. 7, no. 1, pp 3-6, 2002.
- [6] T. D. Nguyen, C. L. Tran, and T. T. H. Nguyen, *Vietnamese ginseng and some ginseng medicinal plants*. Science and Technology Publishers, 2007.
- [7] T. Murashige and S. Folke, "Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures," *Physiology plant*, vol. 15, pp. 473-479, 1962.
- [8] T. H. Bui, "The study on the overexpression of *DAT* gene involved in alkaloid synthesis in periwinkle plants (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don)." PhD thesis in Biology, Education University, Thai Nguyen University, 2018.
- [9] T. N. T. Vu, "A study on the expression of *GmCHI* gene involved in flavonoid synthesis and hairy root induction of *Talinum paniculatum* plants." PhD thesis in Biology, Education University, Thai Nguyen University, 2019.
- [10] T. T. Nguyen and T. T. T. Vu, *Plant cell technology and its applications*. Thai Nguyen University Publishers, 2016, pp. 51-62.