

STUDY ON THE ADVENTITIOUS ROOT PROLIFERATION OF *Codonopsis javanica* IN LIQUID SHAKING CULTURE

Trinh Thi Huong^{1*}, Tran Trong Tuan², Duong Tan Nhut²

¹Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, ²Institute of Life Sciences – VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 05/6/2025 Revised: 30/10/2025 Published: 31/10/2025 KEYWORDS Auxin <i>Codonopsis javanica</i> Polysaccharide Adventitious root Liquid shaking culture	<i>Codonopsis javanica</i> is a medicinal plant that contains various valuable bioactive compounds. This study was conducted to obtain the adventitious root biomass of <i>C. javanica</i> in liquid shaking culture. Node explants derived from <i>in vitro</i> shoots were cultured on solid medium to induce adventitious roots. They were subsequently proliferated in a liquid shaking culture system. Several factors affecting the proliferation of adventitious roots in liquid shaking culture were investigated, including plant growth regulators, mineral medium, light conditions, and culture time. The results showed that the optimal medium for the proliferation of adventitious roots in the liquid shaking culture system was SH medium supplemented with 0.5 mg/L IBA, 30 g/L sucrose, pH 5.8, and the culture was kept in dark conditions. The highest proliferation rate and polysaccharide accumulation of adventitious roots were achieved on the 35th day of culture, with a multiplication coefficient of 4.3 times and polysaccharide content of 13.98%. Qualitative analysis of the chemical composition revealed that the adventitious root biomass of <i>C. javanica</i> contained bioactive compounds including alkaloids, carbohydrates, phenolics, flavonoids, oils, and fats. These findings refer to the large-scale commercial production of <i>C. javanica</i> root biomass using bioreactor systems, which offer a promising alternative to traditional cultivation methods.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH SINH KHỐI RỄ BẤT ĐỊNH TRONG HỆ THỐNG NUÔI CÂY LÔNG LẮC Ở CÂY ĐĂNG SÂM (*Codonopsis javanica*)

Trịnh Thị Hương^{1*}, Trần Trọng Tuấn², Dương Tấn Nhựt²

¹Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

²Viện Khoa học sự sống - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 05/6/2025 Ngày hoàn thiện: 30/10/2025 Ngày đăng: 31/10/2025 TỪ KHÓA Auxin Đăng sâm Polysaccharide Rễ bất định Nuôi cây lông lác	Đăng sâm (<i>Codonopsis javanica</i>) là một trong những loại cây dược liệu chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý. Nghiên cứu này tiến hành nhằm thu nhận được sinh khối rễ bất định của cây đăng sâm nuôi cấy lông lác. Mẫu đốt thân có nguồn gốc từ chồi cây đăng sâm nuôi cấy <i>in vitro</i> được nuôi cấy trên môi trường thạch cho sự tạo rễ bất định. Tiếp theo sau đó rễ bất định được nuôi cấy tăng sinh trên hệ thống nuôi cấy lông lác. Một số các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tăng sinh của quá trình nuôi cấy lông lác bao gồm chất điều hoà sinh trưởng thực vật, môi trường khoáng, điều kiện chiếu sáng và thời gian nuôi cấy được tiến hành khảo sát. Kết quả thu được cho thấy, môi trường thích hợp cho quá trình tăng sinh của sinh khối rễ bất định trong hệ thống lông lác là môi trường SH có bổ sung IBA 0,5 mg/L, sucrose 30 g/L, pH 5,8, và nuôi cấy được đặt ở điều kiện tối. Tốc độ tăng sinh và tích lũy hàm lượng polysaccharide trong sinh khối rễ cao nhất đạt được vào ngày nuôi cấy thứ 35, với hệ số nhân nhanh đạt được là 4,3 lần và hàm lượng polysaccharide là 13,98%. Phân tích định tính thành phần hoá học trong sinh khối rễ bất định đăng sâm chỉ ra rằng trong rễ bất định có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học bao gồm alkaloid, carbohydrate, phenolic, flavonoid, dầu và chất béo. Các kết quả này là tiền đề để tiến tới sản xuất thương mại sinh khối rễ cây đăng sâm với quy mô lớn thông qua các hệ thống bioreactor, được xem như là giải pháp tiềm năng thay thế cho phương pháp nuôi trồng truyền thống.

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12985>

* Corresponding author. Email: huongtt@huit.edu.vn

1. Giới thiệu

Đảng sâm là một loài cây dược liệu có giá trị và thường được gọi là “nhân sâm của người nghèo” do có công dụng chữa bệnh tương tự nhân sâm nhưng với chi phí thấp hơn nhiều. Tại Việt Nam, loài đảng sâm phổ biến nhất là *Codonopsis javanica*. Các nghiên cứu về hóa thực vật và hoạt tính sinh học của đảng sâm đã được đánh giá rộng rãi, trong đó bộ phận chứa nhiều hợp chất có giá trị dược liệu là rễ củ [1]. Cho đến nay, hơn 350 hợp chất đã được phân lập từ đảng sâm như: polyacetylene, polysaccharide, phenylpropanoid, alkaloid, triterpenoid, acid hữu cơ,... [2]. Polysaccharide (PS) của đảng sâm là nhóm hợp chất có ý nghĩa quan trọng ở đảng sâm. Lobetyolin, atractylenolide III, tangshenoside I và oligosaccharide có thể được coi là các thành phần chỉ thị đặc trưng để đánh giá chất lượng của cây đảng sâm [3]. Tuy nhiên, cây đảng sâm có thời gian sinh trưởng khá dài, thường kéo dài từ 2 - 3 năm mới có thể thu hoạch củ có giá trị dược liệu, gây mất thời gian và tốn công chăm sóc [1]. Ngoài ra, việc trồng cây ngoài tự nhiên phụ thuộc nhiều vào điều kiện khí hậu, đất đai và mùa vụ, dẫn đến sản lượng và chất lượng dược liệu không ổn định [4]. Bên cạnh đó, việc khai thác sử dụng đất canh tác cũng như đất rừng không hợp lý cũng dẫn tới giảm nhanh về số lượng cây đảng sâm, làm suy giảm nguồn gen và ảnh hưởng đến đa dạng sinh học [5]. Những yếu tố này làm cho phương pháp trồng truyền thống khó đáp ứng được yêu cầu về quy mô, chất lượng và tính bền vững trong sản xuất dược liệu hiện nay. Vì vậy, việc nghiên cứu tạo rễ bất định ở đảng sâm được xem là một hướng tiếp cận hiệu quả nhằm chủ động sản xuất nguyên liệu từ rễ trong thời gian ngắn, đồng thời giảm sự phụ thuộc vào yếu tố mùa vụ và điều kiện tự nhiên. Trịnh Thị Hương và cộng sự [6] đã tiến hành nuôi cấy tạo rễ bất định trên môi trường thạch, kết quả chỉ ra rằng, ba loại mẫu cây (lóng thân, lá và đoạn thân) đều có khả năng hình thành rễ bất định trên môi trường MS có chứa 0,5 mg/L IBA với tỷ lệ mẫu tạo rễ bất định đạt 97,78 - 100%, và số rễ/mẫu đạt được từ 23,48 - 33,87 rễ. Tuy nhiên, phương pháp nuôi cấy trên môi trường thạch tiêu tốn một lượng lớn cơ chất, nhân công, thiết bị,... cho việc cấy chuyển mẫu, và khó áp dụng để thu nhận được lượng sinh khối lớn nhằm đáp ứng nhu cầu dược liệu ngày càng gia tăng [7]. Nuôi cấy lỏng lắc mang lại nhiều ưu điểm hơn trong việc nuôi cấy rễ bất định so với môi trường thạch. Trong môi trường lỏng, rễ được tiếp xúc đều với chất dinh dưỡng và oxy nhờ chuyển động liên tục, giúp tăng hiệu quả hấp thu và thúc đẩy sinh trưởng nhanh hơn [8]. Ngoài ra, môi trường lỏng giúp loại bỏ hiện tượng rễ bám dính vào môi trường rắn, tạo điều kiện thuận lợi cho việc thu hoạch, tách chiết. Việc kiểm soát pH, nhiệt độ và nồng độ dinh dưỡng cũng dễ dàng hơn trong hệ thống lỏng, từ đó nâng cao khả năng tối ưu hóa quy trình sản xuất sinh khối rễ và các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học cao. Chính vì vậy, hệ thống nuôi cấy lỏng lắc đang được xem là phương pháp hiệu quả và phù hợp cho sản xuất rễ bất định trong quy mô nghiên cứu cũng như mở rộng để nuôi cấy trên các hệ thống có quy mô lớn.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Vật liệu thực vật: Nguồn vật liệu thực vật ban đầu sử dụng trong nghiên cứu là mẫu đốt thân có nguồn gốc từ chồi cây đảng sâm nuôi cấy *in vitro*, được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào, Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh. Sau đó, mẫu đốt thân được nuôi cấy trên môi trường thạch để cảm ứng tạo rễ bất định. Rễ bất định này là nguồn vật liệu cho các nghiên cứu trên môi trường lỏng lắc.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường nuôi cấy sử dụng là MS (Murashige & Skokg) [9] (ngoại trừ thí nghiệm khảo sát môi trường khoáng sử dụng các môi trường khoáng khác nhau), có bổ sung auxin để cảm ứng tạo rễ và tăng sinh rễ bất định, sucrose 30 g/L, agar 8 g/L, pH 5,8.

2.2. Phương pháp

Phương pháp cảm ứng tạo rễ bất định từ đốt thân trên môi trường thạch

Các chồi cây đảng sâm nuôi cấy *in vitro* 30 ngày tuổi có đường kính khoảng 1 mm được cắt bỏ hết lá và cắt thành từng đoạn đốt thân riêng lẻ có kích thước 1,0 cm. Sau đó mẫu đốt thân

được đặt theo phương nằm ngang, tiếp xúc với môi trường nuôi cấy. Môi trường sử dụng là môi trường MS có bổ sung agar 8,0 g/L, sucrose 30 g/L và IBA 0,5 mg/L [6]. Sau 30 ngày nuôi cấy, rễ bất định có nguồn gốc từ đốt thân sẽ được sử dụng làm nguồn vật liệu cho các nghiên cứu trên môi trường lỏng lắ.

Nghiên cứu nuôi cấy nhân nhanh rễ bất định đấng sâm trong môi trường lỏng lắ

Rễ bất định (khối lượng tươi 1,0 g) cảm ứng từ mẫu đốt thân, được nuôi cấy trong bình tam giác thể tích 250 mL chứa 50 mL môi trường lỏng. Sau đó, mẫu được đặt ở máy lắc tròn với tốc độ lắc 120 vòng/phút và nuôi cấy ở điều kiện không chiếu sáng. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự tăng sinh của rễ bất định được khảo sát, bao gồm: nồng độ auxin, môi trường khoáng, điều kiện ánh sáng và thời gian nuôi cấy. Để đánh giá tác động của auxin đến quá trình nuôi cấy, rễ bất định được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản có bổ sung Indole-3-butyric acid (IBA), Naphthaleneacetic acid (NAA), Indole-3-acetic acid (IAA) riêng lẻ với các nồng độ khác nhau: 0 (Đối chứng); 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg/L. Sau đó, ảnh hưởng của các môi trường khoáng khác nhau đến sự tăng sinh của rễ bất định cây đấng sâm được khảo sát bao gồm: môi trường MS, SH (Schenk & Hildebrandt) [10], WPM (Woody Plant Medium) [11] và B5 [12]. Hai điều kiện nuôi cấy là không chiếu sáng và chiếu sáng (với cường độ ánh sáng 1000 lux) cũng được đánh giá. Cuối cùng, ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sự sinh trưởng và hàm lượng PS ở rễ bất định đấng sâm được xem xét để đưa ra thời gian thu nhận sinh khối rễ bất định cây đấng sâm phù hợp.

Sự tăng sinh của rễ bất định được đo lường dựa trên hệ số tăng sinh của rễ và được tính toán theo công thức:

$$\text{Hệ số tăng sinh (lần)} = (\text{Khối lượng rễ nuôi cấy} - \text{Khối lượng rễ ban đầu}) / \text{Khối lượng rễ ban đầu} \quad (1)$$

Hàm lượng polysaccharide tích lũy trong rễ bất định được xác định bằng phương pháp đo quang phổ, dựa trên sự tương tác giữa phenol và carbohydrate tạo ra một phức hợp thơm có màu hấp thụ ánh sáng cực đại ở bước sóng 490 nm. Glucose được sử dụng làm chất chuẩn.

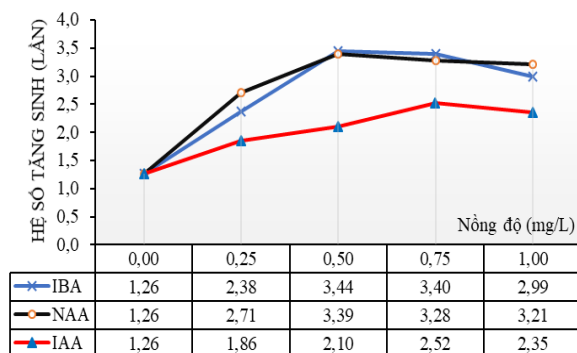
Phương pháp định tính một số nhóm hợp chất có trong mẫu rễ bất định đấng sâm

Sinh khối rễ bất định đấng sâm được sấy khô tới khối lượng không đổi rồi đem đi nghiền nhuyễn thành bột. Mẫu bột khô được bổ sung thêm ethanol 50%, theo tỷ lệ 1,0 g mẫu : 20 mL ethanol 50%. Sau đó đem đồng nhất hỗn hợp trên ở nhiệt độ 50 - 60°C trong 5 giờ. Cuối cùng, hỗn hợp được lọc, loại bã, thu được dịch chiết tổng, đem đi xác định sự hiện diện của các nhóm hợp chất có trong dịch chiết. Các nhóm hợp chất hữu cơ khác nhau được phân tách dựa vào độ hòa tan khác nhau của chúng trong các dung môi có độ phân cực khác nhau, sau đó mỗi nhóm được thử bằng thuốc thử đặc trưng [13].

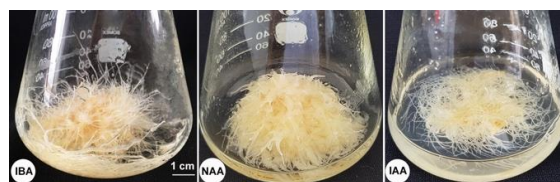
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của IBA, NAA, IAA riêng lẻ lên sự tăng sinh của rễ bất định cây đấng sâm trong môi trường lỏng lắ

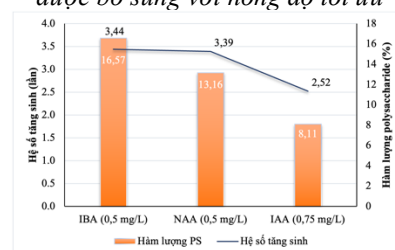
Trong thí nghiệm này, ba loại auxin riêng lẻ (IBA, NAA, IAA) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhân nhanh rễ bất định đấng sâm ở hệ thống lỏng lắ. Sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả thu được cho thấy, khối lượng rễ thu được ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung auxin đều cao hơn rõ rệt so với đối chứng. Điều này chứng tỏ rằng auxin có tác động tích cực trong quá trình nuôi cấy sinh khối rễ bất định. Khối lượng rễ gia tăng tỷ lệ thuận với nồng độ auxin bổ sung vào môi trường nuôi cấy từ 0 - 0,75 mg/L, sau đó có xu hướng giảm khi tiếp tục tăng nồng độ auxin lên 1,0 mg/L. Đối với môi trường bổ sung IBA, hệ số tăng sinh của rễ thu được đạt cao nhất ở hai nghiệm thức 0,5 và 0,75 mg/L IBA (tương ứng 3,44 và 3,40 lần), và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nghiệm thức này. Đối với môi trường bổ sung NAA, nghiệm thức 0,5 mg/L NAA có hệ số tăng sinh của rễ đạt được cao nhất (3,39 lần). Do đó, có thể kết luận sơ bộ rằng trong môi trường nuôi cấy có bổ sung IBA hoặc NAA, thì nồng độ auxin thích hợp cho nuôi cấy tăng sinh rễ là 0,5 mg/L. Trong khi đó, ở môi trường bổ sung IAA, hệ số tăng sinh của rễ đạt cao nhất (2,52 lần) ở nghiệm thức 0,75 mg/L IAA (Hình 1).



Hình 1. Biểu đồ thể hiện ảnh hưởng của auxin lên sự hệ số tăng sinh của rễ bất định đang sẫm sau 30 ngày nuôi cấy



Hình 2. Ảnh hưởng của auxin lên sự tăng sinh của rễ bất định cây đang sẫm sau 30 ngày nuôi cấy: IBA (0,5 mg/L), NAA (0,5 mg/L), IAA (0,5 mg/L) được bổ sung với nồng độ tối ưu



Hình 3. Biểu đồ so sánh ảnh hưởng của 3 loại auxin ở nồng độ tối ưu lên sự tăng sinh và hàm lượng polysaccharide của rễ bất định đang sẫm sau 30 ngày nuôi cấy

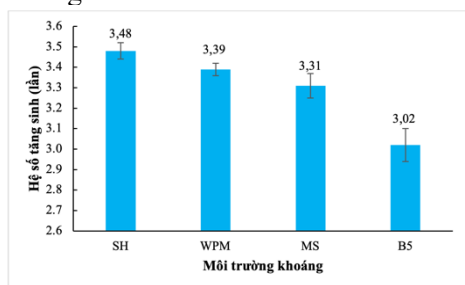
So sánh tác động của ba loại auxin ở nồng độ tối ưu của mỗi loại (0,5 mg/L IBA; 0,5 mg/L NAA; 0,75 mg/L IAA), nhận thấy hệ số tăng sinh của rễ khi nuôi cấy ở môi trường bổ sung IBA và NAA không có sự khác biệt nhau về mặt thống kê; và hệ số tăng sinh của rễ thu được trên môi trường sử dụng IAA thấp hơn so với IBA và NAA (Hình 2, 3). Điều này có thể giải thích là do IAA vốn là auxin có nguồn gốc tự nhiên, trong khi IBA và NAA là auxin tổng hợp, nên hoạt tính của IAA thấp hơn IBA và NAA. Trịnh Thị Hương và cộng sự [14] cũng chỉ ra rằng trong 3 loại auxin (IBA, NAA, IAA) thì IBA và NAA có hiệu quả cao hơn so với IAA trong quá trình nuôi cấy rễ bất định ở cây sẫm Ngọc Linh.

Do hệ số tăng sinh của rễ thu nhận được ở môi trường bổ sung 0,5 mg/L NAA và 0,5 mg/L IBA không có sự khác biệt nhau về mặt thống kê, nên chỉ tiêu hàm lượng PS trong rễ thu được ở nghiệm thức tối ưu của mỗi loại auxin (0,5 mg/L IBA; 0,5 mg/L NAA; 0,75 mg/L IAA) được đánh giá, nhằm tìm ra loại auxin phù hợp nhất cho quá trình nuôi cấy thu nhận sinh khối rễ bất định. Kết quả cho thấy, khi sử dụng IAA, cả hệ số tăng sinh và hàm lượng PS trong sinh khối rễ đều thấp hơn so với IBA và NAA. Hệ số tăng sinh của rễ không có sự khác biệt thống kê giữa NAA và IBA, tuy nhiên hàm lượng PS trong rễ nuôi cấy trên môi trường sử dụng IBA cao hơn so với NAA (Hình 3). Do vậy, có thể sử dụng 0,5 mg/L IBA là nồng độ auxin thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi cấy trong các thí nghiệm tiếp theo về nhân nhanh rễ bất định đang sẫm. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Krishna và cộng sự [15], sau 30 ngày nuôi cấy ở điều kiện lỏng lẻo, rễ bất định của loài *C. lanceolata* tăng sinh tốt nhất trong môi trường có bổ sung 0,5 mg/L IBA. Trong nghiên cứu của Kim và cộng sự [16] tiến hành nghiên cứu khả năng tạo rễ và nhân nhanh rễ bất định của ba loài thuộc chi *Codonopsis* là *C. pilosula*; *C. lanceolata*; *C. ussuriensis*. Ở điều kiện nuôi cấy lỏng lẻo trong bình tam giác 250 mL chứa 100 mL môi trường, sự tăng trưởng rễ bất định của các loài *Codonopsis* đạt tốt nhất khi nuôi cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 1,0 mg/L NAA. Như vậy, trong cùng một chi *Codonopsis*, nhưng nồng độ và loại auxin cần thiết cho quá trình nhân nhanh rễ bất định của loài đang sẫm là khác nhau. Sự khác biệt này do mỗi loài có kiểu gen khác nhau, dẫn đến khả năng phản ứng với auxin cũng khác nhau.

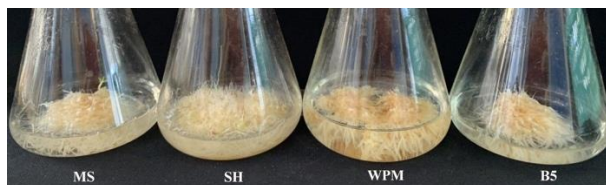
3.2. Khảo sát ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm trong môi trường lỏng lắ

Thành phần của môi trường nuôi cấy ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng và phát sinh hình thái của mô thực vật được nuôi cấy. Với các công thức môi trường nuôi cấy khác nhau sẽ tạo ra hiệu quả sinh trưởng khác nhau [17]. Nhìn chung, các môi trường khoáng thường khác nhau về hàm lượng các chất đa lượng, ví dụ, môi trường MS chứa hàm lượng amoni nitrat cao hơn so với các môi trường khác [18]. Đặc biệt, các loài khác nhau có nhu cầu khác nhau về nồng độ dinh dưỡng tối ưu trong từng loại môi trường khoáng cụ thể [19]. Khi nghiên cứu về loài *C. pilosula*, Gang và cộng sự [20] đã nhận thấy, trong số các môi trường khoáng khảo sát (MS, B5, WPM, LS, CHU, NM, QL, DJ), thì cây nuôi cấy trên môi trường MS có số lượng lá và chồi xanh nhiều hơn các môi trường khác. Điều này được giải thích rằng có thể sinh trưởng của cây *C. pilosula in vitro* liên quan đến hàm lượng nitơ cao trong môi trường, vì nitơ là yếu tố then chốt trong quá trình tổng hợp chlorophyll, hiệu suất quang hợp, và góp phần khoảng 41% vào sự sinh trưởng của cây [21].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả thu được cũng cho thấy, ở các loại môi trường khác nhau thì sự tăng sinh của rễ đẳng sâm không giống nhau. Môi trường B5 có hệ số tăng sinh rễ thấp nhất (chỉ đạt 3,02 lần); kế đến là môi trường MS (3,31 lần). Hệ số tăng sinh đạt cao nhất tại môi trường SH tương ứng 3,48 lần (Hình 4, 5). MS là môi trường dinh dưỡng được sử dụng phổ biến nhất trong nuôi cấy mô thực vật, đây là môi trường khoáng giàu dinh dưỡng, đặc biệt là hàm lượng khoáng đa lượng giàu nitơ. Theo Wu và cộng sự [22], việc bổ sung khoáng đa lượng vào môi trường ở nồng độ thấp đến trung bình thúc đẩy sự phát triển của rễ, do rễ tăng cường hấp thụ các ion có sẵn. Ngược lại, khi nồng độ khoáng đa lượng quá cao, sự phát triển của rễ bị ức chế do thế nước của môi trường giảm, cản trở quá trình hấp thụ nước và dinh dưỡng khoáng vào rễ. Điều này lý giải cho kết quả hệ số tăng sinh của rễ bất định đẳng sâm trên môi trường MS thấp hơn so với môi trường SH trong thí nghiệm này. Như vậy, trong các loại môi trường khảo sát thì môi trường khoáng SH thích hợp cho việc nhân nhanh rễ bất định trong hệ thống nuôi cấy lỏng lắ của đẳng sâm.

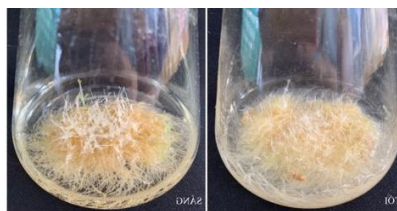
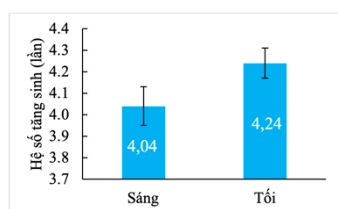


Hình 4. Biểu đồ thể hiện ảnh hưởng của môi trường khoáng lên hệ số tăng sinh của rễ đẳng sâm sau 30 ngày nuôi cấy



Hình 5. Ảnh hưởng của môi trường khoáng lên sự tăng sinh rễ đẳng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của ánh sáng lên sự tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm trong môi trường lỏng lắ



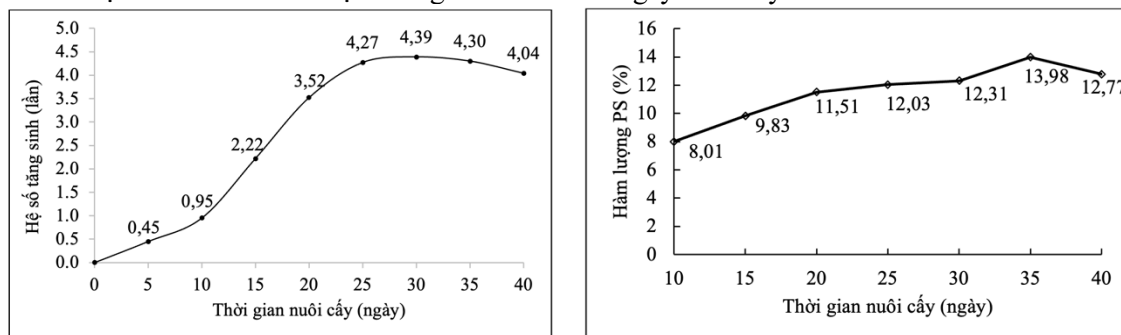
Hình 6. Ảnh hưởng của điều kiện ánh sáng đến sự tăng sinh của rễ bất định đẳng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

Trong thí nghiệm này, rễ được nuôi ở 2 điều kiện: tối và chiếu sáng với cường độ 1000 lux. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy cho thấy, rễ bất định đẳng sâm thích hợp nuôi cấy ở điều kiện tối hơn điều kiện sáng. Ở điều kiện sáng thu được hệ số tăng sinh là 4,04 lần, trong khi ở điều kiện tối thu được hệ số tăng sinh của rễ đạt 4,24 lần (Hình 6). Do vậy, trong các thí nghiệm tiếp theo, rễ bất định đẳng sâm được nuôi cấy nhân nhanh ở điều kiện tối.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên sự tăng sinh và hàm lượng polysaccharide của rễ bất định đẳng sâm

Quá trình nuôi cấy sinh khối rễ bất định hướng tới hai mục tiêu chính là (1) rễ có hệ số tăng sinh cao, và (2) rễ tích lũy các hợp chất thứ cấp. Do đó, trong thí nghiệm này, hai chỉ tiêu theo dõi chính là hệ số tăng sinh và hàm lượng polysaccharide được ghi nhận trong các khoảng thời gian nuôi cấy khác nhau. Kết quả quan sát hình thái cho thấy, sau 40 ngày rễ bắt đầu chuyển màu vàng đậm và có dấu hiệu ngưng tăng sinh, vì vậy thí nghiệm được theo dõi trong 40 ngày nuôi cấy. Kết quả trên Hình 7 cho thấy, quá trình sinh trưởng của rễ trải qua 4 giai đoạn: (i): từ ngày 0 - 10, tốc độ tăng sinh của rễ chậm, đây là giai đoạn mẫu thích nghi với môi trường mới, vì mẫu được cấy chuyển từ môi trường cảm ứng tạo rễ (môi trường thạch) sang môi trường nhân nhanh (môi trường lỏng). (ii): từ ngày 10 - 25, đây là giai đoạn rễ tăng sinh mạnh nhất, đường cong sinh trưởng có độ dốc lớn nhất. Hệ số tăng sinh tăng từ 0,95 lần (ở ngày thứ 10) lên 4,27 lần (ở ngày thứ 25). (iii): từ ngày 25 - 35, rễ bước vào pha ổn định, ở giai đoạn này hệ số tăng sinh của rễ ít biến động và đạt cao nhất tại ngày thứ 30 (4,39 lần). (iv): sau ngày nuôi cấy thứ 35: tốc độ sinh trưởng của rễ giảm, hệ số tăng sinh đạt 4,04 lần ở ngày nuôi cấy thứ 40. Như vậy, bắt đầu ngày thứ 35, rễ bắt đầu bước vào pha suy vong. Do đó quá trình nuôi cấy thu nhận sinh khối rễ bất định đẳng sâm nên được thu nhận trong khoảng thời gian 30 - 35 ngày.

Kết quả phân tích hàm lượng PS chỉ ra rằng, hàm lượng PS gia tăng theo thời gian nuôi cấy, và đạt cao nhất tại ngày thứ 35, sau đó giảm ở ngày thứ 40 (Hình 7). Như vậy, thời gian thích hợp để thu nhận sinh khối rễ bất định đẳng sâm là sau 35 ngày nuôi cấy.



Hình 7. Biểu đồ thể hiện đường cong sinh trưởng và khả năng tích lũy hàm lượng polysaccharide của rễ bất định đẳng sâm trong 40 ngày nuôi cấy

3.5. Định tính một số nhóm hợp chất hóa học hữu ích trong mẫu rễ bất định đẳng sâm

Bảng 1. Kết quả định tính một số nhóm hợp chất hoá học trong sinh khối rễ bất định đẳng sâm

Thử nghiệm/Thuốc thử		Kết quả
Alkaloid	Wagner	+
Carbohydrate	Mollish	+
	Fehling	+
Dầu và chất béo	Thử vết màu	+
	Thử xà phòng hoá	+
Phenolic	FeCl ₃	+
Flavonoid	Kiểm (Alkaline)	+

Kết quả định tính một số nhóm hợp chất trong rễ bất định đảng sâm thu nhận từ hệ thống nuôi cấy lỏng lắc cho thấy rằng, trong sinh khối rễ bất định có chứa các nhóm hợp chất hoá học hữu ích: alkaloid, carbohydrate, phenolic, flavonoid, dầu và chất béo (Bảng 1). Như vậy, trong rễ bất định nuôi cấy cũng có chứa các hợp chất thứ cấp có vai trò quan trọng tương tự như rễ củ đảng sâm trồng. Kết quả này chỉ ra rằng, rễ bất định đảng sâm được xem như là nguồn vật liệu tiềm năng bổ sung cho nguồn rễ củ đảng sâm nuôi trồng bằng phương pháp truyền thống, nhằm cung cấp nguồn dược liệu đáp ứng cho nhu cầu sử dụng dược liệu ngày gia tăng cũng như góp phần thay thế nguồn khai thác bất hợp lý trong tự nhiên.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thiết lập thành công quy trình trình nuôi cấy sinh khối rễ bất định cây đảng sâm trên hệ thống lỏng lắc hiệu quả, đạt hệ số tăng sinh của rễ là 4,3 lần và hàm lượng polysaccharide tích lũy trong rễ đạt 13,98%. Quy trình bao gồm các bước sau: (1) Mẫu đốt thân cắt từ chồi cây đảng sâm *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS đặc có chứa 0,5 mg/L IBA nhằm cảm ứng hình thành rễ bất định trong thời gian 30 ngày; (2) 1 g khối lượng tươi rễ bất định cảm ứng từ môi trường đặc được chuyển sang môi trường SH lỏng bổ sung 0,5 mg/L IBA, 30 g/L sucrose, pH 5,8 và nuôi cấy ở điều kiện không chiếu sáng để nhân nhanh sinh khối rễ; (3) Thu hoạch sinh khối rễ nuôi cấy trên hệ thống lỏng lắc sau 35 ngày nuôi cấy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. B. T. Phan, V. T. Nguyen, and M. T. Nguyen, "Some biological characteristics and chemical composition of *Codonopsis javanica* distributed in Tu Mo Rong district, Kon Tum province," (in Vietnamese), *Journal of Science and Technology, University of Sciences, Hue University*, vol. 20, no. 2, pp. 113-123, 2022.
- [2] J. Y. He, N. Ma, S. Zhu, K. Komatsu, Z. Y. Li, and W. M. Fu, "The genus *Codonopsis* (Campanulaceae): A review of phytochemistry, bioactivity and quality control," *Journal of Natural Medicines*, vol. 69, no. 1, pp. 1-21, Jan 2015, doi: 10.1007/s11418-014-0861-9.
- [3] J. Yue, X. Ying, and W. Chen, "Insights into genus *Codonopsis*: From past achievements to future perspectives," *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 54, no. 8, pp. 3345-3376, 2024, doi: 10.1080/10408347.2023.2242953.
- [4] T. B. N. Nguyen, "Quality testing seedling and variation test (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.F & Thoms) natural distribution in Son La," (in Vietnamese), *Journal of Forestry Science*, vol. 6, pp. 5-19, 2021.
- [5] C. D. Tran, K. T. Huynh, V. L. Nguyen, and M. D. Tran, "Ecological characteristics and distribution of đảng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. F.) in Tay Giang district of Quang Nam province," (in Vietnamese), *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development*, vol. 126, no. 3D, pp. 153-163, 2017.
- [6] T. H. Trinh, Q. T. Nguyen, T. H. T. Nguyen, D. G. Do, and T. T. Tran, "Induction and evaluation of secondary metabolite and antioxidant activity in adventitious root of *Codonopsis javanica*," *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 63, no. 4, pp. 11-16, 2021, doi: 10.31276/VJSTE.63(4).11-16.
- [7] T. T. T. Pham, "A study on applying temporary immersion system to *in vitro* micropropagation of *Lilium* spp," (in Vietnamese), *Can Tho University Journal of Science*, vol. 57, no. 5B, pp. 141-147, 2021.
- [8] V. M. Chu and T. A. Vu, "Investigation the impact of some elements on the *Panax vietnamensis*'s biomass on a 100 liter bioreactor," *Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 1, no. 2, pp. 55-59, 2015.
- [9] T. Murashige and F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures," *Physiologia Plantarum*, vol. 15, pp. 473-497, 2006, doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [10] R. U. Schenk and A. C. Hildebrandt, "Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures," *Canadian Journal of Botany*, vol. 50, no. 1, pp. 199-204, 1972, doi: 10.1139/b72-026.
- [11] B. H. McCown and G. Lloyd, "Woody Plant Medium (WPM) - A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species," *HortScience*, vol. 16, pp. 453-453, 1981.

- [12] O. L. Gamborg, R. A. Miller, and K. Ojima, "Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells," *Experimental Cell Research*, vol. 50, pp. 151-158, 1968.
- [13] K. P. P. Nguyen, *Methods of isolating organic compounds*. VNUHCM Press, (in Vietnamese), 2007.
- [14] T. T. Ho, T. H. Trinh, T. M. N. Ha, T. T. Ngo, P. H. Nguyen, X. C. Hoang, B. N. Nguyen, Q. L. Vu, T. H. Vu, T. T. H. Nguyen, B. N. Pham, H. H. Chu, and T. N. Duong, "Effects of explant types, explant size and some auxins on the ability to regenerate adventitious roots of Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) cultured *in vitro*, (In Vietnamese)," *Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 4A, pp. 877-886, 2012.
- [15] P. R. Krishna, M. K. Kim, S. Kalaiselvi, and D.-C. Yang, "Induction of adventitious roots and extraction of codonoposide from *Codonopsis lanceolata*," *An Indian Journal*, vol. 3, no. 3, pp. 129-131, 2007.
- [16] J. A. Kim, E. J. Park, and Y. E. Choi, "Induction and proliferation of adventitious roots in *Codonopsis* spp.," *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, vol. 20, no. 6, pp. 493-499, 2012.
- [17] R. Komakech, W. J. Kim, F. Omujal, S. Yang, B. C. Moon, D. Okello, E. Rahmat, G. N. Kyeyune, M. G. Matsabisa, and Y. Kang, "A micropropagation protocol for the endangered medicinal tree *Prunus africana* (Hook f.) Kalkman: Genetic fidelity and physiological parameter assessment," *Frontiers in Plant Science*, vol. 11, 2020, Art. no. 548003.
- [18] D. Okello *et al.*, "An *in vitro* propagation of *Aspilia africana* (Pers.) C. D. Adams, and Evaluation of its anatomy and physiology of acclimatized plants," *Frontiers in Plant Science*, vol. 12, 2021, Art. no. 704896, doi: 10.3389/fpls.2021.704896.
- [19] P. M. Priyadarshan, *Plant Breeding: Classical to Modern*. Springer Singapore, 2019.
- [20] R. Gang *et al.*, "In vitro propagation of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. using apical shoot segments and phytochemical assessments of the maternal and regenerated plants," *BMC Plant Biology*, vol. 23, 2023, Art. no. 33. doi: 10.1186/s12870-022-03950-w.
- [21] M. Ohshiro *et al.*, "Effects of soil types and fertilizers on growth, yield, and quality of edible *Amaranthus tricolor* lines in Okinawa, Japan," *Plant Production Science*, vol. 19, no. 1, pp. 61-72, 2016, doi: 10.1080/1343943X.2015.1128087.
- [22] C. H. Wu, Y. H. Dewir, E. J. Hahn, and K. Y. Paek, "Optimization of culturing conditions for the production of biomass and phenolics from adventitious roots of *Echinacea angustifolia*," *Journal of Plant Biology*, vol. 49, no. 3, pp. 193-199, 2006, doi: 10.1007/BF03030532.