

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC LOẠI ĐƯỜNG KHÁC NHAU ĐẾN QUÁ TRÌNH NHÂN NHANH SINH KHỐI RỄ BẤT ĐỊNH CÂY ĐĂNG SÂM (*Codonopsis javanica*) IN VITRO TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CÂY LỒNG LẮC

Trịnh Thị Hương^{1*}, Phạm Văn Lộc¹, Trần Thị Anh Thoa¹,
Nguyễn Minh Phương¹, Trương Quỳnh Yên Yên¹, Trần Trọng Tuấn²

¹Trường Đại học Công nghệ Thực phẩm TP.HCM

²Viện Sinh học Nhiệt đới, VAST

*Email: trinhthihuongcsdl@gmail.com

Ngày nhận bài: 26/01/2021; Ngày chấp nhận đăng: 16/4/2021

TÓM TẮT

Trong nuôi cấy *in vitro*, việc bổ sung đường vào môi trường nuôi cấy là rất cần thiết nhằm cung cấp nguồn carbohydrate cho mẫu nuôi cấy. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của 4 loại đường khác nhau đến khả năng nhân nhanh sinh khối rễ bất định cây đăng sâm (*Codonopsis javanica*) trong điều kiện nuôi cấy lồng lắc. Kết quả thu được cho thấy, cả 4 loại đường đều giúp gia tăng hệ số tăng sinh của rễ so với đối chứng (không bổ sung đường); với các nồng độ tối ưu của mỗi loại đường lần lượt là 55 g/L fructose, 58 g/L glucose, 14 g/L maltose, 57 g/L sucrose. Trong đó, sự sinh trưởng của rễ trên môi trường bổ sung sucrose tốt hơn 3 loại đường còn lại. Sau 30 ngày nuôi cấy, chỉ số tăng sinh của rễ đạt được trên môi trường bổ sung 57 g/L sucrose là 4,16 lần. Kết quả đạt được của nghiên cứu là cơ sở để tối ưu hoá quy trình nuôi cấy nhân nhanh rễ bất định nhằm mục đích thu nhận sinh khối rễ đăng sâm.

Từ khoá: Đăng sâm, fructose, glucose, maltose, rễ bất định, sucrose.

1. MỞ ĐẦU

Đăng sâm là một loài cây có giá trị dược liệu cao và được xem như là “nhân sâm của người nghèo” vì có tác dụng chữa bệnh tương tự như nhân sâm nhưng giá rẻ hơn nhân sâm. Ở nước ta, loài đăng sâm được tìm thấy chủ yếu là *Codonopsis javanica*. Theo nghiên cứu của Jing và cộng sự (2015), các loài đăng sâm chứa các hoạt chất chính là: polyacetylene, polysaccharide, phenylpropanoid, alkaloid, triterpenoid [1]. Các hoạt chất của đăng sâm đều tập trung ở rễ. Vì vậy, các nghiên cứu thu nhận rễ bất định đăng sâm được xem là một giải pháp để thu nhận được nguồn rễ đăng sâm một cách chủ động, nhanh chóng và không phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên thay thế cho phương thức nuôi trồng truyền thống.

Đường là cơ chất quan trọng trong các con đường biến dưỡng ở thực vật, tùy vào những đối tượng khác nhau, mỗi giai đoạn phát triển khác nhau của thực vật mà nó được sử dụng nhiều hay ít. Trong nuôi cấy *in vitro*, mô và tế bào thực vật sống chủ yếu theo phương thức dị dưỡng, nên việc bổ sung đường vào môi trường nuôi cấy là rất cần thiết. Đường không chỉ điều hòa áp suất thẩm thấu của môi trường mà còn là nguồn carbohydrate cung cấp cho mô và tế bào. Hai dạng đường thường gặp nhất trong nuôi cấy *in vitro* là glucose và sucrose, trong đó sucrose được sử dụng phổ biến hơn [2]. Tuy nhiên, nồng độ quá cao của đường sẽ ảnh hưởng đến áp suất thẩm thấu, khả năng hút các chất dinh dưỡng và nước từ đó ảnh hưởng đến

sự sinh trưởng của mẫu [3]. Tùy theo mục đích nuôi cấy mà hàm lượng đường cho vào môi trường khác nhau. Các loại đường khác nhau cũng có ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy *in vitro*. Do đó, đối với mỗi loại mô, tế bào nuôi cấy cần xác định được loại và nồng độ đường phù hợp cho quá trình sinh trưởng, phát triển của mẫu nuôi cấy. Ngoài ra, việc tối ưu hóa nguồn carbon không những giúp mẫu phát triển mà còn tạo điều kiện cho mẫu có đủ nguồn năng lượng để tích lũy các hợp chất thứ cấp [4], điều này rất có ý nghĩa trong nuôi cấy sinh khối mô, tế bào thực vật nhằm mục đích thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học.

Vì vậy, trong nghiên cứu này hai loại đường đơn (glucose, fructose) và hai loại đường đôi (sucrose, maltose) được nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của các loại đường khác nhau đến quá trình tăng sinh của rễ bất định cây đấng sâm nuôi cấy lỏng *in vitro*, từ đó xác định được loại và nồng độ đường thích hợp để nhân nhanh sinh khối rễ bất định đấng sâm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguồn mẫu thực vật

Nguồn vật liệu thực vật ban đầu là rễ bất định có nguồn gốc từ đốt thân cây đấng sâm (*Codonopsis javanica*) nuôi cấy *in vitro* (Hình 1b).

2.2. Phương pháp cảm ứng tạo rễ bất định từ mẫu đốt thân

Các chồi cây đấng sâm được nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS (Murashige & Skoog) [5] có bổ sung 30 g/L sucrose. Sau 30 ngày, các cây đấng sâm này (Hình 1a) được cắt thành các đoạn thân có kích thước 1 cm (không mang lá). Tiếp theo, các đoạn thân này được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 8,0 g/L agar, 30 g/L sucrose và 0,5 mg/L IBA (Indole-3-butyric acid) trong 30 ngày để cảm ứng tạo rễ bất định.

2.3. Bố trí thí nghiệm

Mẫu rễ bất định (có nguồn gốc từ nuôi cấy đốt thân) được cân với khối lượng tươi 1,0 g và nuôi cấy vào môi trường SH (Schenk & Hildebrandt) [6] có bổ sung 0,5 mg/L IBA (dựa trên kết quả nghiên cứu trước đó về môi trường khoáng và nồng độ auxin, số liệu không được thể hiện), bổ sung một trong 4 loại đường riêng lẻ (fructose, glucose, maltose, sucrose), pH môi trường được điều chỉnh 5,8 trước khi hấp khử trùng.

4 loại đường được tiến hành khảo sát ở các nồng độ: 10, 30, 50, 70 g/L. Đối chứng là môi trường không bổ sung đường.

Chỉ tiêu theo dõi: Các thí nghiệm được thu nhận sau 30 ngày nuôi cấy với chỉ tiêu theo dõi là khối lượng tươi của rễ, chỉ số tăng sinh của rễ bất định.

Chỉ số tăng sinh của rễ được xác định theo công thức:

Chỉ số tăng sinh (lần) = (KLT rễ thu được – KLT rễ ban đầu) / KLT rễ ban đầu

(KLT: khối lượng tươi)

2.4. Điều kiện nuôi cấy

Các thí nghiệm nhân nhanh rễ được nuôi cấy trong bình tam giác có chứa 30 mL môi trường SH lỏng, pH 5,8. Sau đó, mẫu được đặt ở máy lắc tròn với tốc độ lắc 100 vòng/phút.

Các thí nghiệm nuôi cấy rễ được đặt ở điều kiện tối. Các cây đấng sâm được nuôi cấy ở điều kiện chiếu sáng 12 giờ/ngày với cường độ chiếu sáng 2.000 ± 200 lux; độ ẩm phòng nuôi 50-60%, nhiệt độ 23 ± 2 °C.

2.5. Xử lý thống kê

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Số liệu thu nhận được xử lý bằng Microsoft Excel 2010 và phần mềm thống kê Statgraphics centurion XVI với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của fructose lên khả năng tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm

Sau 30 ngày nuôi cấy rễ trên môi trường lỏng lác có bổ sung đường fructose ở các nồng độ khác nhau, kết quả thu được cho thấy việc bổ sung đường có vai trò rất quan trọng trong nuôi cấy rễ bất định đẳng sâm. Ở các nghiệm thức có bổ sung đường đều thu được hệ số tăng sinh cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Hệ số tăng sinh của rễ gia tăng tỷ lệ thuận với sự gia tăng nồng độ đường fructose bổ sung vào môi trường nuôi cấy từ 10-50 g/L, tương ứng với hệ số tăng sinh là 1,12-2,02 lần (Bảng 1). Điều này có thể lý giải rằng, quá trình nuôi cấy rễ bất định đẳng sâm đòi hỏi cần cung cấp nguồn carbon để đáp ứng nhu cầu về năng lượng cho hoạt động trao đổi chất để rễ có thể tiếp tục tăng trưởng.

Tuy nhiên, khi tiếp tục gia tăng nồng độ fructose lên 70 g/L, hệ số tăng sinh của rễ có xu hướng giảm (đạt 1,93 lần) (Bảng 1). Theo Vincent và cộng sự (2000) nồng độ quá cao của đường sẽ ảnh hưởng đến áp suất thẩm thấu, làm giảm khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng, từ đó làm suy yếu hoặc ức chế sự sinh trưởng của mẫu nuôi cấy [3]. Đây là nguyên nhân dẫn đến hệ số tăng sinh của rễ bất định đẳng sâm thu được trong thí nghiệm này giảm đi khi bổ sung đường ở nồng độ 70 g/L.

Bảng 1. Ảnh hưởng của fructose lên khả năng tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

| Nồng độ fructose (g/L) | Khối lượng tươi rễ (g) | Hệ số tăng sinh rễ (lần) |
|------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 0 (ĐC) | 1,88 ± 0,05 ^{d*} | 0,88 |
| 10 | 2,12 ± 0,07 ^c | 1,12 |
| 30 | 2,85 ± 0,07 ^b | 1,85 |
| 50 | 3,02 ± 0,09 ^a | 2,02 |
| 70 | 2,93 ± 0,12 ^{ab} | 1,93 |

*Các ký tự a, b, ... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng 1 cột với mức độ tin cậy 95%.

Từ kết quả ở Bảng 1 cho thấy nồng độ 50 g/L fructose cho hệ số tăng sinh đạt cao nhất (2,02 lần). Tuy nhiên, đây có thể chưa phải là nồng độ tối ưu cho sự sinh trưởng của rễ do bước nhảy để khảo sát nồng độ đường ở thí nghiệm này là 20 g/L. Do đó, chúng tôi tiến hành xây dựng mô hình hồi quy để xác định mối tương quan giữa nồng độ đường và hệ số tăng sinh, từ đó tìm ra nồng độ fructose tối ưu nhất cho sự sinh trưởng của rễ. Sử dụng phần mềm Statgraphic XVI, kết quả thu được phương trình hồi quy tuyến tính giữa fructose và hệ số tăng sinh là:

$$Y = 0,8241 + 0,0445X - 0,0004X^2$$

(Trong đó: Y là hệ số tăng sinh; X là nồng độ đường fructose).

Hệ số tương quan của phương trình là $R^2 = 0,95$, điều này cho thấy mô hình phù hợp để đánh giá mối tương quan giữa hệ số tăng sinh và nồng độ fructose. Dựa vào phương trình hồi quy đa thức trên, có thể xác định được nồng độ fructose tối ưu là 55 g/L tương ứng với hệ số tăng sinh của rễ đạt được là 2,04 lần.

Ảnh hưởng của các loại đường khác nhau đến quá trình nhân nhanh sinh khối rễ bất định....

Quan sát về mặt hình thái nhận thấy rằng, rễ thu được có hình thái dài, mảnh, ít tạo rễ bên; rễ tăng sinh chủ yếu bằng hình thức kéo dài; và không có sự khác biệt lớn về mặt hình thái giữa các nghiệm thức với nhau (Hình 1f).

3.2. Ảnh hưởng của glucose lên khả năng tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm

Kết quả thu được ở thí nghiệm này cũng tương tự với thí nghiệm môi trường nuôi cấy có bổ sung fructose. Hệ số tăng sinh của rễ gia tăng tỷ lệ thuận với nồng độ đường glucose bổ sung vào môi trường nuôi cấy từ 10-50 g/L; sau đó giảm khi tiếp tục gia tăng glucose lên 70 g/L, do đó nồng độ đường glucose thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhân nhanh rễ bất định đẳng sâm là 50 g/L (Bảng 2). Tuy nhiên, việc sử dụng glucose bổ sung vào môi trường nuôi cấy dường như tỏ ra hiệu quả hơn so với fructose. Cụ thể, tại nồng độ 50 g/L glucose, hệ số tăng sinh của rễ đạt 3,55 lần; trong khi đó, hệ số tăng sinh của rễ thu nhận được ở nghiệm thức 50 g/L fructose thấp hơn, chỉ đạt 2,02 lần (Bảng 1 và 2). Về mặt hình thái, rễ thu nhận được ở môi trường sử dụng fructose dài, mảnh và ít phân nhánh; trong khi đó, rễ thu nhận được ở môi trường bổ sung glucose thì ngắn hơn và có sự phân nhánh tạo rễ thứ cấp nhiều hơn so với fructose (Hình 1f,g).

Bảng 2. Ảnh hưởng của glucose lên khả năng tăng sinh rễ bất định cây đẳng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

| Nồng độ glucose (g/L) | Khối lượng tươi rễ (g) | Hệ số tăng sinh rễ (lần) |
|-----------------------|---------------------------|--------------------------|
| 10 | 2,26 ± 0,04 ^{d*} | 1,26 |
| 30 | 3,90 ± 0,05 ^c | 2,90 |
| 50 | 4,55 ± 0,06 ^a | 3,55 |
| 70 | 4,32 ± 0,07 ^b | 3,32 |

*Các ký tự a, b, ... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng 1 cột với mức độ tin cậy 95%.

Tương tự với thí nghiệm trên, ở thí nghiệm này phương trình hồi quy tuyến tính giữa glucose và hệ số tăng sinh cũng được xây dựng, kết quả thu được phương trình:

$$Y = 0,6858 + 0,0966X - 0,0008X^2 \text{ (Trong đó: Y là hệ số tăng sinh; X là nồng độ đường).}$$

Hệ số tương quan $R^2 = 0,97$, điều này cho thấy mô hình phù hợp để đánh giá mối tương quan giữa hệ số tăng sinh và nồng độ glucose. Dựa vào phương trình hồi quy đa thức trên, tại nồng độ 50 g/L thu được hệ số tăng sinh là 3,44 lần; và nồng độ glucose tối ưu xác định được là 58 g/L tương ứng với hệ số tăng sinh của rễ đạt được là 3,50 lần.

3.3. Ảnh hưởng của maltose lên khả năng tăng sinh của rễ bất định cây đẳng sâm

Khác với fructose và glucose là các monosaccharide, thì maltose là một disaccharide gồm 2 phân tử glucose kết hợp lại với nhau. Do vậy, ảnh hưởng của maltose đến quá trình tăng sinh của rễ bất định đẳng sâm cũng hoàn toàn khác. Ở thí nghiệm này, hệ số tăng sinh của rễ đạt cao nhất (2,58 lần) tại nghiệm thức 10 g/L maltose. Hệ số tăng sinh của rễ giảm dần khi nồng độ maltose gia tăng từ 30-70 g/L (Bảng 3). Như vậy, maltose cũng là một nguồn đường giúp gia tăng hệ số tăng sinh của rễ nuôi cấy, tuy nhiên chỉ nên bổ sung ở nồng độ thấp (10 g/L).

Về mặt hình thái, rễ nuôi cấy trên môi trường có bổ sung maltose mảnh, kéo dài có sự phân nhánh tạo rễ thứ cấp (Hình 1m).

Bảng 3. Ảnh hưởng của maltose lên khả năng tăng sinh rễ bất định cây đảng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

| Nồng độ maltose (g/L) | Khối lượng tươi rễ (g) | Hệ số tăng sinh rễ (lần) |
|-----------------------|---------------------------|--------------------------|
| 10 | 3,58 ± 0,06 ^{a*} | 2,58 |
| 30 | 3,06 ± 0,09 ^b | 2,06 |
| 50 | 2,99 ± 0,07 ^b | 1,99 |
| 70 | 2,88 ± 0,06 ^c | 1,88 |

*Các ký tự a, b, ... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng 1 cột với mức độ tin cậy 95%.

Phương trình hồi quy tuyến tính giữa maltose và hệ số tăng sinh cũng được xây dựng để dự đoán nồng độ maltose tối ưu cho sự sinh trưởng của rễ, kết quả xác định phương trình hồi quy là $Y = 0,884 + 0,311X - 0,017X^2 + 0,0003X^3 - 0,000002X^4$ (Trong đó: Y là hệ số tăng sinh; X là nồng độ đường) với hệ số tương quan $R^2 = 0,99$, điều này cho thấy mô hình phù hợp để đánh giá mối tương quan giữa hệ số tăng sinh và nồng độ maltose. Dựa vào phương trình hồi quy đa thức này, có thể xác định được nồng độ maltose tối ưu cho sự sinh trưởng của rễ là 14 g/L tương ứng với hệ số tăng sinh của rễ đạt được là 2,70 lần.

3.4. Ảnh hưởng của sucrose lên khả năng tăng sinh của rễ bất định cây đảng sâm

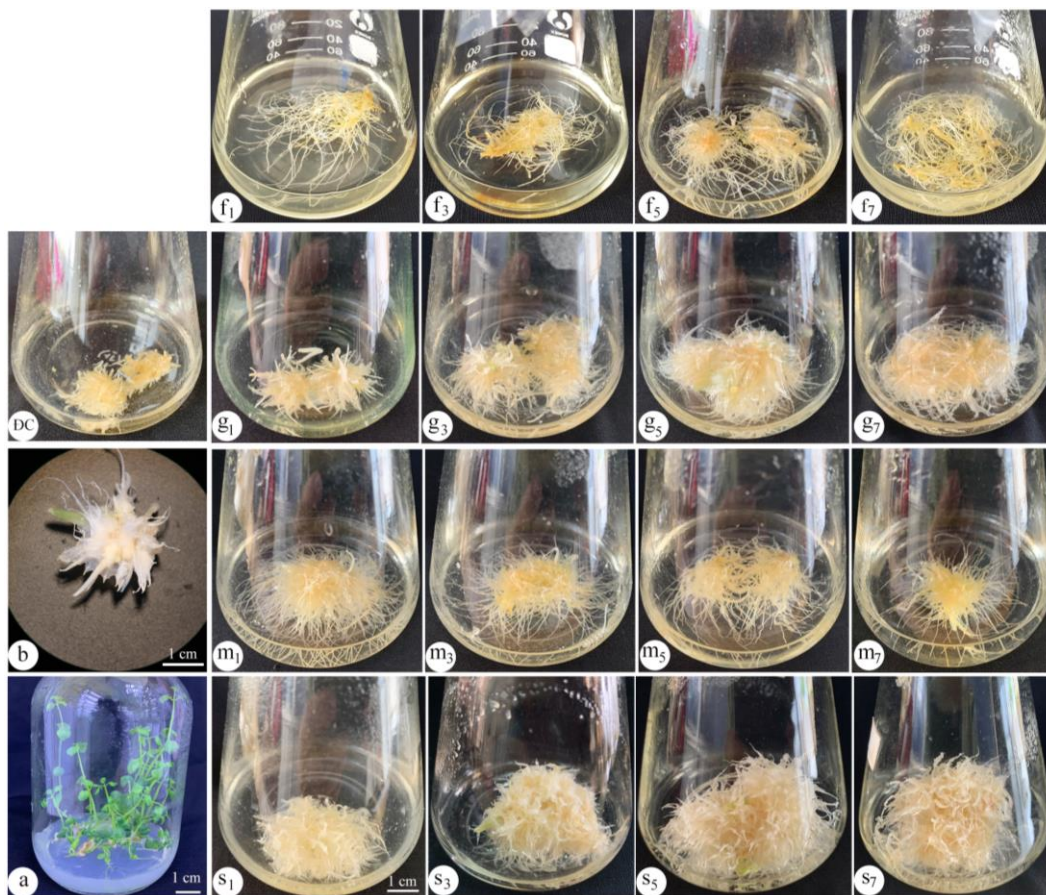
Trong thí nghiệm này, hệ số tăng sinh của rễ tăng tỷ lệ thuận với sự gia tăng nồng độ sucrose từ 10-50 g/L, tương ứng với hệ số tăng sinh là 1,17-4,13 lần. Sau đó, hệ số tăng sinh của rễ giảm khi nồng độ sucrose là 70 g/L, tương ứng với hệ số tăng sinh đạt 4,01 lần (Bảng 4). Do vậy, nồng độ sucrose thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhân nhanh rễ bất định đảng sâm là 50 g/L.

Về mặt hình thái, khi được nuôi cấy trong môi trường bổ sung sucrose, rễ ngắn và phân nhánh rất mạnh, phần rễ nằm ở phía trên bề mặt môi trường thường có nhiều lông tơ nhỏ màu trắng (Hình 1s).

Bảng 4. Ảnh hưởng của sucrose lên khả năng tăng sinh rễ bất định cây đảng sâm sau 30 ngày nuôi cấy

| Nồng độ sucrose (g/L) | Khối lượng tươi rễ (g) | Hệ số tăng sinh (lần) |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| 10 | 2,17 ± 0,10 ^{d*} | 1,17 |
| 30 | 4,34 ± 0,09 ^c | 3,34 |
| 50 | 5,13 ± 0,08 ^a | 4,13 |
| 70 | 5,01 ± 0,09 ^b | 4,01 |

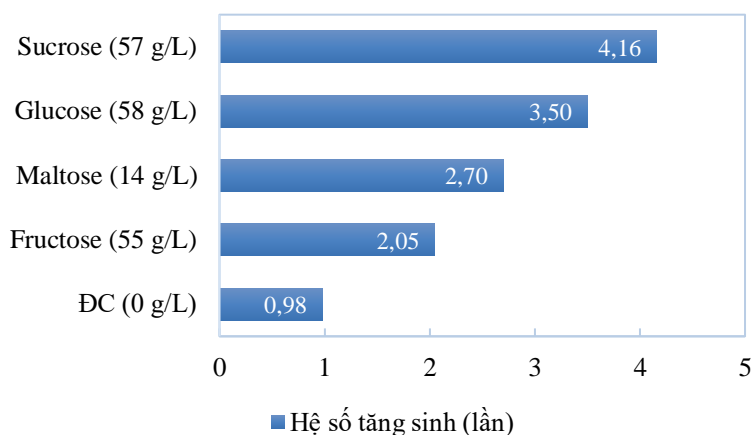
*Các ký tự a, b, ... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng 1 cột với mức độ tin cậy 95%.



Hình 1. Ảnh hưởng của loại và nồng độ đường đến quá trình nhân nhanh rễ bất định cây đấng sâm ở điều kiện lỏng lác sau 30 ngày nuôi cây. **a:** cây đấng sâm nuôi cấy *in vitro*; **b:** rễ bất định đấng sâm cảm ứng từ mẫu đốt thân chụp dưới kính hiển vi soi nổi; ĐC: mẫu rễ nuôi cấy trên môi trường không bổ sung đường (đối chứng); **f₁-f₇**: 10, 30, 50, 70 g/L fructose; **g₁-g₇**: 10, 30, 50, 70 g/L glucose; **m₁-m₇**: 10, 30, 50, 70 g/L maltose; **s₁-s₇**: 10, 30, 50, 70 g/L sucrose.

Tiến hành xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính giữa sucrose và hệ số tăng sinh thu được phương trình là $Y = 0,982 + 0,111X - 0,001X^2$ (Trong đó: Y là hệ số tăng sinh; X là nồng độ đường) với hệ số tương quan $R^2 = 0,99$, điều này cho thấy mô hình phù hợp để đánh giá mối tương quan giữa hệ số tăng sinh và nồng độ sucrose. Dựa vào phương trình hồi quy đa thức này, có thể xác định được ở nồng độ đối chứng thu được hệ số tăng sinh là 0,98 lần, nồng độ sucrose tối ưu là 57 g/L tương ứng với hệ số tăng sinh của rễ đạt được là 4,16 lần.

Từ những kết quả thu được từ mô hình hồi quy, hệ số tăng sinh của rễ đạt được ở giá trị nồng độ tối ưu của 4 loại đường được so sánh. Kết quả thể hiện ở Hình 2.



Hình 2. So sánh hệ số tăng sinh của bốn loại đường sucrose, glucose, maltose và fructose tại giá trị tối ưu của mỗi loại đường.

Như vậy, tất cả các nghiệm thức có bổ sung đường vào môi trường nuôi cấy đều thu được hệ số tăng sinh của rễ cao hơn đối chứng. Thí nghiệm đã cho thấy vai trò quan trọng của đường đối với sự sinh trưởng của rễ bất định. Ngoại trừ maltose được bổ sung vào môi trường với nồng độ thấp (14 g/L), thì 3 loại đường còn lại đều cho thấy nồng độ đường tương đối cao (55-58 g/L) phù hợp cho quá trình sinh trưởng của rễ bất định cây đảng sâm. Trong 4 loại đường khảo sát, thì sucrose phù hợp cho quá trình tăng sinh của rễ hơn so với ba loại đường còn lại, vì hệ số tăng sinh của rễ thu được trên môi trường nuôi cấy sử dụng sucrose đạt cao nhất (Hình 2). Do đó, nồng độ và loại đường thích hợp nhất cho sự sinh trưởng của rễ bất định cây đảng sâm trong điều kiện nuôi cấy lỏng lác là 58 g/L sucrose.

Sucrose là một disaccharide, gồm 1 phân tử glucose kết hợp với 1 phân tử fructose. Khi khử trùng, đường sucrose bị thủy phân một phần thành glucose và fructose, thuận lợi hơn cho mẫu hấp thụ. Trong khi đó, việc sử dụng glucose hoặc fructose đơn lẻ trong môi trường nuôi cấy làm cho sự hấp thụ hexoses không đầy đủ và sự hấp thụ hexoses không đầy đủ xuất hiện vào giai đoạn đầu tiên của quá trình nuôi cấy sẽ làm gián đoạn sự hình thành rễ [7]. Năm 2002, Jeong và cộng sự nghiên cứu tối ưu quy trình nhân nhanh rễ tóc nhân sâm (*Panax ginseng*) cũng chỉ ra rằng, trong số 7 nguồn carbon thử nghiệm (glucose, fructose, galactose, maltose, sucrose, lactose, glucose + fructose) thì trong môi trường có bổ sung sucrose rễ phân nhánh và tăng trưởng nhanh hơn so với các loại đường còn lại [8]. Sucrose cũng là nguồn carbon thông dụng được sử dụng trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật, nồng độ thích hợp phổ biến là 20-30 g/L, song cũng còn phụ thuộc vào mục đích nuôi cấy mà nồng độ bổ sung vào môi trường có thể thay đổi. Trong nghiên cứu này, rễ bất định không chứa diệp lục và được nuôi cấy ở điều kiện tối nên sự sinh trưởng của rễ hoàn toàn theo phương thức dị dưỡng. Vì vậy, nhu cầu về đường trong quá trình nuôi cấy rễ thường cao hơn ở các cơ quan khác. Điều này giải thích cho kết quả hệ số tăng sinh của rễ thu được ở nồng độ đường 50 g/L sucrose cao hơn 10 g/L và 30 g/L sucrose (Bảng 4). Nguyễn Trung Thành và Paek Kee Yoeup (2008) đã khẳng định rằng nồng độ đường ban đầu có vai trò quan trọng đến sự sinh trưởng của rễ bất định nhân sâm, và nồng độ đường 50 g/L là tối ưu cho sự tăng trưởng sinh khối [9]. Trong nghiên cứu của Ket và cộng sự (2012) trên đối tượng *Panax vietnamensis* cũng chỉ ra rằng, nồng độ sucrose 50 g/L là tối ưu nhất cho sự sinh trưởng của rễ *P. vietnamensis* [10]. Tương tự, trong nghiên cứu sản xuất sinh khối rễ bất định cây *Gynura procumbens*, bổ sung 50 g/L đường sucrose vào môi trường nuôi cấy và nuôi cấy rễ trong bioreactor có tốc độ phát triển rễ bất định cao nhất [11].

Mặc dù quá trình nuôi cấy rễ bất định nên được cung cấp nguồn carbohydrate cao hơn so với các mẫu mô khác, nhưng với nồng độ quá cao của đường sẽ ảnh hưởng đến áp suất thẩm thấu giữa môi trường dinh dưỡng với môi trường nội bào của mẫu rễ, làm giảm khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng từ đó làm suy yếu sự sinh trưởng của rễ nuôi cấy. Vì vậy, các nghiệm thức bổ sung 70 g/L của bốn loại đường đều thu được hệ số nhân nhanh rễ giảm (Bảng 1-4).

4. KẾT LUẬN

Các kết quả đạt được đã cho thấy đường đóng vai trò quan trọng đối với sự sinh trưởng của rễ bất định. Trong số bốn loại đường khảo sát thì sucrose phù hợp cho quá trình tăng sinh của rễ hơn so với ba loại đường còn lại (fructose, glucose, maltose). Trong đó, nồng độ sucrose thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho quá trình nhân nhanh sinh khối rễ bất định đang sâu ở hệ thống nuôi cấy lỏng lác là 58 g/L.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh để thực hiện nghiên cứu này, theo hợp đồng số 13/2019/HĐ-QPTKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jing Y.H., Na M., Shu Z., Katsuko K., Zhi Y.L., Wei M.F. - The genus *Codonopsis* (Campanulaceae): A review of phytochemistry, bioactivity and quality control, *Journal Natural Medicines* **69** (2015) 1-21.
2. Nguyễn Đức Lượng, Lê Thị Thuý Tiên - Công nghệ Tế bào, NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh (2002) 376.
3. Vincent D., Lecouvet V., Dupont S., Kinet J.M. - *In vitro* control of floral transition in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), the model for autonomously flowering plants, using the late flowering uniflora mutant, *Journal of Experimental Botany* **52** (357) (2000) 715-723.
4. Sivakumar G., Yu K.W., Hahn E.J., Paek K.Y. - Optimization of organic nutrients for ginseng hairy roots production in large-scale bioreactors, *Current Science* **89** (4) (2005) 641-649.
5. Murashige T., Skoog F. - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol Plant* **15** (1962) 473-497.
6. Schenk R.U., Hildebrandt A.C. - Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures, *Canadian Journal Botany* **50** (1) (1972) 199-204.
7. Inomata S., Yokoyama M., Gozu Y., Shimizu T., Yanagi M. - Growth pattern and ginsenoside production of *Agrobacterium*-transformed *Panax ginseng* roots, *Plant Cell Reports* **12** (1993) 681-686.
8. Jeong G.T., Park D.H., Ryu H.W., Lee W.T., Park K., Kang C.H., Hwang B., Woo J.C. - Optimum conditions for transformed *Panax ginseng* hairy roots in flask culture, *Faculty of Chemical Engineering* (2002) 1134-1135.
9. Nguyễn Trung Thành, Paek Kee Yoeup - Nhân nhanh rễ bất định nhân sâm *Panax ginseng* C.A. Meyer: Ảnh hưởng của một số nhân tố lý hóa lên sự tăng trưởng sinh khối và sản phẩm trao đổi chất ginsenosides, *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* **24** (2008) 318-323.

10. Ket N.V., Anh T.T.L., Dung N.H.U. - Effecting of sucrose concentrations and inoculum density on adventitious root growth in cell suspension culture of *Panax vietnamensis* and initially growth in a bioreactor, Southeast Asian Journal of Sciences **1** (2) (2012) 215-222.
11. Yosephine S., Wulan M., Dannis Y.K., Rafika L.K.S., Alfinda N.K. - Biomass production of gynura procumbens adventitious roots in different type of liquid culture, Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education **9** (3) (2017) 523-529.

ABSTRACT

EFFECT OF DIFFERENT KINDS OF SUGAR ON MULTIPLICATION OF *Codonopsis javanica*'s ADVENTITIOUS ROOTS IN LIQUID SHAKE CULTURE

Trinh Thi Huong^{1*}, Pham Van Loc¹, Tran Thi Anh Thoa¹,
Nguyen Minh Phuong¹, Truong Quynh Yen Yen¹, Tran Trong Tuan²

¹*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

²*Institute of Tropical Biology, VAST*

*Email: trinhthihuongcsdl@gmail.com

In *in vitro* culture, the addition of sugar to the culture medium is essential, aiming to provide a carbohydrate source for the sample. This study was conducted to investigate the effect of different kinds of sugar on the multiplication of adventitious root biomass of *Codonopsis javanica* in the liquid shake culture. The results showed that the addition of sugar helped increase the root proliferation coefficient. Appropriate concentrations of four kinds of sugar were 55 g/L fructose, 58 g/L glucose, 14 g/L maltose, 57 g/L sucrose. The growth of adventitious roots on sucrose-supplemented medium was better than fructose, glucose and maltose. After 30 days of incubation, the root proliferation coefficient obtained on medium supplemented with 57 g/L sucrose was 4.16 times. The results of the study are the basis to optimize the process of multiplication of adventitious roots to obtain root biomass of *C. javanica*.

Keywords: Adventitious root, *C. javanica*, fructose, glucose, maltose, sucrose.