

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* SINH KHỐI RỄ TƠ CÂY ĐĂNG SÂM (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f.)

Nguyễn Thị Huyền¹, Nguyễn Văn Việt²

^{1,2}Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân nhanh rễ tơ cây Đăng sâm (*Codonopsis javanica*) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* để thu nhận sinh khối, chiết xuất các hợp chất thứ cấp thay thế dần nguồn nguyên liệu tự nhiên đang bị suy giảm. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố lên quá trình nhân nhanh sau 2 tuần cho thấy, rễ tơ được nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng WPM có hệ số nhân đạt 9,24. Sử dụng môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung 4 mg/l IBA và 2 mg/l NAA cho chất lượng rễ tơ tốt và hệ số nhân đạt 13,35 lần. Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 30 g/l sucrose là phù hợp cho nhân nhanh rễ tơ, hệ số nhân đạt 12,42 lần. Môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung 5 g/l agar có hệ số nhân đạt 13,01 lần. Công thức môi trường phù hợp cho nhân nhanh sinh khối rễ tơ là WPM bổ sung 4 mg/l IBA, 2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose và 5 g/l agar đã được sử dụng để xác định thời điểm thu nhận sinh khối rễ tơ. Kết quả nghiên cứu tạo cơ sở để nhân sinh khối quy mô lớn phục vụ chiết xuất các hợp chất thứ cấp.

Từ khóa: *Codonopsis javanica*, hệ số nhân, nuôi cấy *in vitro*, rễ tơ, WPM.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đăng sâm (*Codonopsis javanica*) là cây dược liệu quý, có giá trị dược liệu cao (Bộ KH&CN&MT, 2007). Rễ Đăng sâm chứa hàm lượng saponin, các axit amin, các chất khoáng đa lượng, vi lượng có tác dụng tốt được sử dụng trong các bài thuốc bổ khí huyết, bổ tỳ vị, chữa bệnh mạn tính, suy nhược cơ thể, thích hợp với mọi lứa tuổi, giới tính (Đỗ Tất Lợi, 2004).

Hiện nay, nhu cầu của con người về sử dụng các loại dược liệu có nguồn gốc từ tự nhiên để chăm sóc sức khỏe, làm đẹp ngày càng nhiều. Tuy nhiên, nguồn dược liệu ngoài tự nhiên đang bị suy giảm về số lượng và chất lượng một cách nhanh chóng do việc khai thác quá mức cộng với các điều kiện bất lợi từ môi trường tự nhiên do biến đổi khí hậu. Điều này dẫn đến nhiều loài dược liệu quý bị tuyệt chủng hoặc bị đe dọa tuyệt chủng làm ảnh hưởng đến nguồn cung cấp dược liệu cho con người. Để có thể đáp ứng nhu cầu về thu hoạch

chất thứ cấp từ cây Đăng sâm thì sản xuất sinh khối thông qua nuôi cấy rễ tơ đang là một hướng đi mới. Nuôi cấy rễ tơ có tính ổn định di truyền, sinh hóa, tốc độ sinh trưởng nhanh và khả năng tổng hợp các hợp chất tự nhiên ở mức tương đương so với cây còn nguyên vẹn (Christey và Braun, 2005; Georgiev và cộng sự, 2007). Do đó, nuôi cấy rễ tơ của cây thuốc dường như là một hệ thống hữu ích cho việc sản xuất các hợp chất có hoạt tính sinh dược cao.

Trong bài báo này, chúng tôi công bố kết quả nhân sinh khối rễ tơ cây Đăng sâm bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* đạt hiệu quả cao.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nuôi cấy: là rễ cây Đăng sâm đã chuyển gen *rolB* và *rolC* (nguồn từ Phòng Công nghệ tế bào – Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam).

Ghi chú: Gen *rol B* và *rol C* là 2 gen có nguồn gốc từ vi khuẩn *agrobacterium rhizogenes*, đóng vai trò quan trọng trong quá trình kích

thích tạo rễ tơ ở thực vật.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định môi trường dinh dưỡng cho nhân nhanh: Cắt rễ (mẫu) thành các đoạn 1 cm, sau đó cấy vào các môi trường khoáng cơ bản (MS, ½ MS*, WPM) bổ sung 0,5 mg/l IBA, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar.

Xác định chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) cho nhân nhanh: Dùng môi trường khoáng cơ bản WPM, bổ sung (1 - 4 mg/l) IBA; hoặc (1 - 4 mg/l) NAA; hoặc (1 - 4 mg/l) IBA, 2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar.

Xác định hàm lượng sucrose cho nhân nhanh: Dùng môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung 0,5 mg/l IBA, (0 - 30 g/l) sucrose, 7 g/l agar.

Xác định hàm lượng agar cho nhân nhanh: Dùng môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung 0,5 mg/l IBA, 30 g/l sucrose, (0 - 7 g/l) agar.

Xác định khối lượng rễ: Rễ tơ sau khi thu sinh khối theo từng thời gian theo dõi được cân để xác định khối lượng tươi. Sau đó đem sấy ở nhiệt độ 50°C trong 120 phút để xác định khối lượng khô của rễ.

Các thí nghiệm được bố trí trong bình trụ thủy tinh dung tích 200 ml chứa 50 ml môi

trường nuôi cấy (5 mẫu/ bình). Mỗi công thức được lặp lại 3 lần.

Điều kiện phòng nuôi cấy: Nhiệt độ phòng nuôi 25°C ± 2°C, các mẫu nuôi tối hoàn toàn.

Thông kê số rễ bằng mắt thường sau 2 tuần nuôi cấy đối với các thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST, sucrose và agar đến nhân nhanh rễ tơ. Đối với thí nghiệm xác định thời điểm thu nhận sinh khối rễ tơ, số liệu được thống kê ở các thời điểm khác nhau từ 1 - 30 ngày.

Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel với mức sai khác có ý nghĩa p = 0,05.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến nhân nhanh rễ tơ

Rễ tơ cây Đẳng sâm được nuôi cấy trên ba môi trường khoáng cơ bản là MS, WPM và ½ MS*, kết quả thu được sau 2 tuần cho thấy (bảng 1), các công thức môi trường dinh dưỡng khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh rễ tơ cây Đẳng sâm. Cả ba công thức môi trường đều cho chất lượng rễ tơ tốt, tuy nhiên hệ số nhân nhanh rễ tơ cao nhất ở môi trường WPM với hệ số nhân 9,24 lần (hình 1b).

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến khả năng nhân nhanh rễ tơ

| Môi trường dinh dưỡng | Số mẫu cấy | Hệ số nhân (lần) | Chất lượng rễ |
|-----------------------|------------|------------------|---------------|
| 1/2MS* | 90 | 7,79 | ++ |
| WPM | 90 | 9,24 | +++ |
| MS | 90 | 8,54 | +++ |

Ghi chú: +: rễ mảnh, ngắn, số lượng rất ít; ++: rễ hơi mảnh, ngắn, nhỏ, số lượng rễ ít hơn; +++: rễ mập, dài, khỏe, số lượng rễ tơ nhiều.

Hệ số nhân nhanh rễ tơ trên các công thức môi trường ½ MS* và MS lần lượt là 7,79 và 8,54 lần (hình 1a). Theo ghi nhận của Xu và cộng sự (2009) thì rễ tơ cây *Angelica gigas*

phát triển tốt hơn trong môi trường SH so với MS và B₅. Hàm lượng amonium trong môi trường MS cao hơn 12 lần so với hàm lượng ammonium trong môi trường B₅ đã làm giảm

sự phát triển sinh khối rễ tơ cây Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) (Ninh Thị Thảo và cộng sự, 2015). Trong môi trường MS rễ tơ cây Bạch hoa xà tăng trưởng tốt hơn so với trong môi trường SH và B5 (Bùi Đình Thạch, 2016). Điều này cho thấy thành phần môi trường dinh dưỡng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của rễ tơ, nhưng còn phụ thuộc vào đặc điểm loài thực vật. Đối với đối tượng nghiên cứu là cây Đảng sâm, chúng tôi xác định được môi trường dinh dưỡng phù hợp với nhân nhanh sinh khối rễ tơ là WPM. Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy $56,27 = F_{\text{tinh}} > F_{\text{crit}} = 5,14$, điều này chứng tỏ môi trường dinh dưỡng khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân rễ tơ.

3.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh

trưởng đến nhân nhanh

Chất điều hòa sinh trưởng như nhóm auxin có tác dụng kích thích phân chia tế bào, kéo dài tế bào và kích thích ra rễ nên rất cần thiết cho sự hình thành rễ trong nuôi cấy *in vitro*. Trong thí nghiệm này, chúng tôi nuôi cấy các mẫu rễ Đảng sâm trên môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung thêm chất ĐHST IBA và NAA hàm lượng khác nhau. Kết quả thu được sau 2 tuần nuôi cấy cho thấy (bảng 2), ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung chất ĐHST thì rễ tơ kém phát triển, rễ trở nên đen và chết sau 2 tuần; ngược lại ở các nghiệm thức bổ sung IBA (nồng độ 1 - 4 mg/l) hoặc NAA (nồng độ 1 - 4 mg/l) thì rễ tơ Đảng sâm phát triển khá tốt với hệ số nhân dao động từ 5,97 – 12,66 lần (hình 1d).

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA, NAA đến khả năng nhân nhanh rễ tơ

| CTTN | ĐHST(mg/l) | | Hệ số nhân rễ (lần) | Chất lượng rễ |
|-----------------|------------|-----|---------------------|---------------|
| | IBA | NAA | | |
| ĐC | - | - | 1,00 | + |
| M ₁ | 1 | - | 9,25 | +++ |
| M ₂ | 2 | - | 10,83 | +++ |
| M ₃ | 3 | - | 11,91 | ++ |
| M ₄ | 4 | - | 12,66 | ++ |
| M ₅ | - | 1 | 5,97 | ++ |
| M ₆ | - | 2 | 6,24 | ++ |
| M ₇ | - | 3 | 7,41 | ++ |
| M ₈ | - | 4 | 7,09 | + |
| M ₉ | 1 | 2 | 8,70 | ++ |
| M ₁₀ | 2 | 2 | 11,32 | ++ |
| M ₁₁ | 3 | 2 | 12,90 | +++ |
| M ₁₂ | 4 | 2 | 13,35 | +++ |
| M ₁₃ | 5 | 2 | 11,05 | ++ |

Ghi chú: +: rễ mảnh, ngắn, số lượng rất ít; ++: rễ hơi mảnh, ngắn, nhỏ, số lượng rễ ít hơn; +++: rễ mập, dài, khỏe, số lượng rễ tơ nhiều.

Kết quả thu được cũng chỉ ra rằng IBA ảnh hưởng đến phát sinh rễ tơ Đảng sâm tốt hơn NAA. Do đó, chúng tôi tiếp tục đánh giá ảnh hưởng đồng thời của IBA và NAA đến sinh trưởng và chất lượng rễ tơ. Nồng độ NAA được giữ cố định 2 mg/l, thay đổi nồng độ IBA tăng dần từ 1 - 5 mg/l. Kết quả thu nhận được cho thấy hệ số nhân và chất lượng rễ tơ đạt cao nhất ở nghiệm thức M₁₂ (môi trường khoáng WPM bổ sung IBA 4 mg/l và NAA 2 mg/l), hệ số nhân đạt 13,35 lần (hình 1c). Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy $73,85 = F_{\text{tính}} > F_{\text{crit}} = 2,85$, điều này cho thấy các chất điều hòa sinh trưởng có nồng độ khác nhau tạo sự khác biệt rõ rệt về hệ số nhân rễ tơ.

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng sucrose đến khả năng nhân nhanh rễ tơ

Nuôi cấy rễ tơ bằng môi trường khoáng cơ bản WPM sung sucrose có nồng độ khác nhau (0; 10; 20; 30 và 40 g/l), sinh trưởng của rễ tơ cây Đảng sâm đã tạo ra sự khác biệt khá rõ rệt.

Kết quả thu được sau 2 tuần nuôi cấy (bảng 3) cho thấy, ở công thức đối chứng không bổ sung sucrose thì rễ tơ kém sinh trưởng. Điều đó có thể lý giải rằng, nuôi cấy rễ tơ *in vitro* đòi hỏi cung cấp nguồn carbon để đáp ứng nhu cầu về năng lượng. Tiếp tục tăng dần nồng độ sucrose ở các môi trường nuôi cấy thì hệ số nhân rễ tơ tăng dần, đạt cao nhất ở nồng độ 30 g/l sucrose. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ tới 40 g/l sucrose thì hệ số nhân lại giảm, điều này cũng có thể lý giải là nồng độ sucrose cao có thể làm tăng áp suất thẩm thấu của môi trường vì vậy làm tế bào và mô nuôi cấy chậm sinh trưởng. Như vậy, trong phạm vi thí nghiệm này có thể lựa chọn nồng độ sucrose 30 g/l là phù hợp cho sự phát triển của rễ tơ cây Đảng sâm với hệ số nhân 12,42 lần. Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy $16,69 = F_{\text{tính}} > F_{\text{crit}} = 4,07$, điều này cho thấy hàm lượng sucrose khác nhau trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng rõ rệt đến sự sinh trưởng của rễ tơ và cho hệ số nhân khác nhau.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng sucrose đến nhân nhanh rễ tơ

| CTTN | Hàm lượng sucrose (g/l) | Hệ số nhân(lần) | Chất lượng rễ |
|----------------|-------------------------|-----------------|---------------|
| ĐC | 0 | 1,00 | + |
| Đ ₁ | 10 | 10,89 | + |
| Đ ₂ | 20 | 12,02 | +++ |
| Đ ₃ | 30 | 12,42 | +++ |
| Đ ₄ | 40 | 10,51 | ++ |

Ghi chú: +: rễ mảnh, ngắn, số lượng rất ít; ++: rễ hơi mảnh, ngắn, nhỏ, số lượng rễ ít hơn; +++: rễ mập, dài, khỏe, số lượng rễ tơ nhiều.

3.4. Ảnh hưởng của hàm lượng agar đến khả năng nhân nhanh rễ tơ

Trạng thái môi trường được điều chỉnh bằng nồng độ agar thay đổi từ 0 – 7 g/l. Kết quả nhận được cho thấy, trạng thái môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đến sự sinh trưởng rễ tơ cây

Đảng sâm. Môi trường không bổ sung agar cho hệ số nhân rất thấp, đạt 1 lần, các nghiệm thức bổ sung agar với hàm lượng khác nhau (A₁₋₃) cho hệ số nhân cao gấp hơn 10 lần so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung agar. Tuy nhiên, trong các nghiệm thức bổ sung agar

nồng độ khác nhau cũng có sự khác biệt rõ rệt. Hệ số nhân rễ tăng từ 11,6 – 13,01 khi tăng nồng độ agar từ 3 – 5 g/l, đồng thời chất lượng rễ tốt hơn. Nhưng khi tăng lên nồng độ quá cao 7 g/l thì hệ số nhân rễ bắt đầu giảm xuống, đạt

12,16 lần (hình 1f). Điều này chứng tỏ ở nồng độ agar cao môi trường có xu hướng trở nên cứng hơn làm cản trở sự vận chuyển vật chất nên ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của rễ tơ.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng agar đến khả năng nhân nhanh rễ tơ

| CTTN | Hàm lượng agar (g/l) | Hệ số nhân rễ (lần) | Chất lượng rễ |
|----------------|----------------------|---------------------|---------------|
| ĐC | 0 | 1,00 | + |
| A ₁ | 3 | 11,60 | ++ |
| A ₂ | 5 | 13,01 | +++ |
| A ₃ | 7 | 12,16 | +++ |

Ghi chú: +: rễ mảnh, ngắn, số lượng rất ít; ++: rễ hơi mảnh, ngắn, nhỏ, số lượng rễ ít hơn; +++: rễ mập, dài, khỏe, số lượng rễ tơ nhiều.

Theo Ninh Thị Thảo và cộng sự (2015), kết quả nuôi cấy rễ tơ cây Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) trên môi trường đặc (7% agar) cho hiệu quả cao hơn so với ba phương thức nuôi cấy trên môi trường bán lỏng, lỏng và phân lớp. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ agar 5 g/l là thích hợp cho rễ tơ cây Đan sâm phát triển với giá trị cao nhất ở nghiệm thức A₂ đạt 13,01 lần (hình 1e). Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy $71,8 = F_{\text{tính}} > F_{\text{crit}} = 4,07$, điều này cho thấy

hàm lượng agar khác nhau trong môi trường nuôi cấy là yếu tố gây ra sự khác biệt về sinh trưởng và chất lượng của rễ tơ Đan sâm.

3.5. Thu nhận sinh khối và đánh giá tốc độ sinh trưởng của rễ

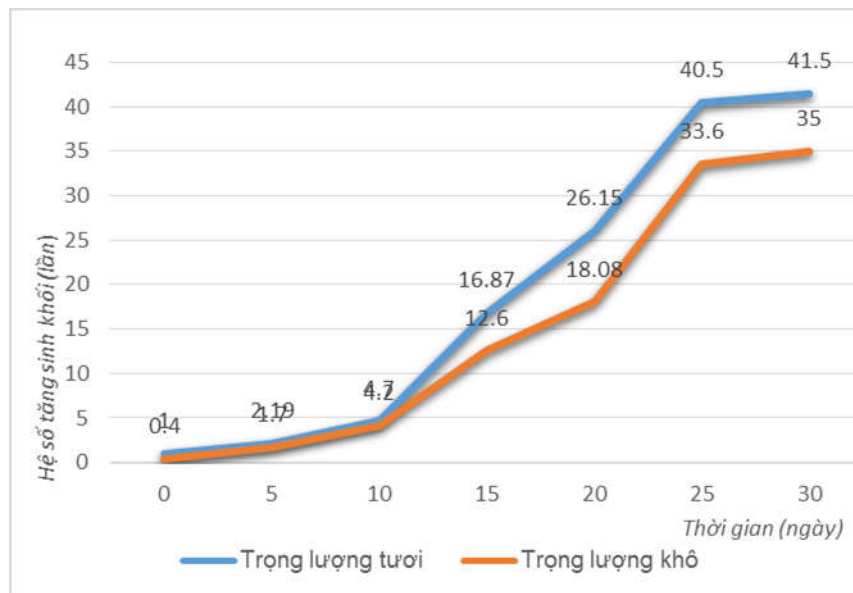
Thí nghiệm đánh giá sinh trưởng sinh khối rễ tơ được sử dụng là môi trường dinh dưỡng WPM bổ sung 4 mg/l IBA, 2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose, 5 g/l agar. Sau các thời gian thay đổi từ 1 – 30 ngày theo dõi, thu thập số liệu. Kết quả nhân sinh khối rễ tơ được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng của rễ tơ

| Thời gian thu sinh khối (ngày) | Hệ số nhân rễ (lần) | Hệ số tăng sinh khối tươi (lần) | Hệ số tăng sinh khối khô (lần) |
|--------------------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 1,00 | 1,00 | 0,40 |
| 5 | 1,30 | 2,19 | 1,70 |
| 10 | 10,92 | 4,70 | 4,20 |
| 15 | 15,63 | 16,87 | 12,60 |
| 20 | 20,49 | 26,15 | 18,08 |
| 25 | 31,98 | 40,50 | 33,60 |
| 30 | 32,07 | 41,50 | 35,00 |

Kết quả (bảng 5) cho thấy, sự sinh trưởng của rễ tơ trải qua 3 giai đoạn có sự khác biệt rõ rệt. Giai đoạn đầu từ 0 - 5 ngày, rễ sinh trưởng kém, ít phân nhánh, có thể đây là giai đoạn khởi đầu của nuôi cấy, các tế bào rễ hấp thu chất dinh dưỡng tích lũy chuẩn bị cho quá trình phân chia tế bào nên chưa có sự tăng sinh khối mạnh mẽ, sinh khối tươi chỉ tăng 2,19 lần, thời điểm này các tế bào còn non, nhiều nước nên tỷ lệ hao hụt nước khi sấy cao nên sinh khối

khô cũng chỉ 1,7 lần. Chuyển sang giai đoạn từ 10 đến 25 ngày, rễ phát triển rất tốt, phân thành nhiều rễ thứ cấp, sinh khối tăng mạnh (hình 1). Giai đoạn từ 25 - 30 ngày sinh khối rễ dừng tăng hoặc bị giảm do chất dinh dưỡng đã hết, rễ có thể bị chết, mềm, màu nâu, sinh khối bị giảm đi. Như vậy, có thể nhận thấy thời điểm thu sinh khối tốt nhất là 25 ngày kể từ khi bắt đầu nuôi cấy.



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của rễ tơ

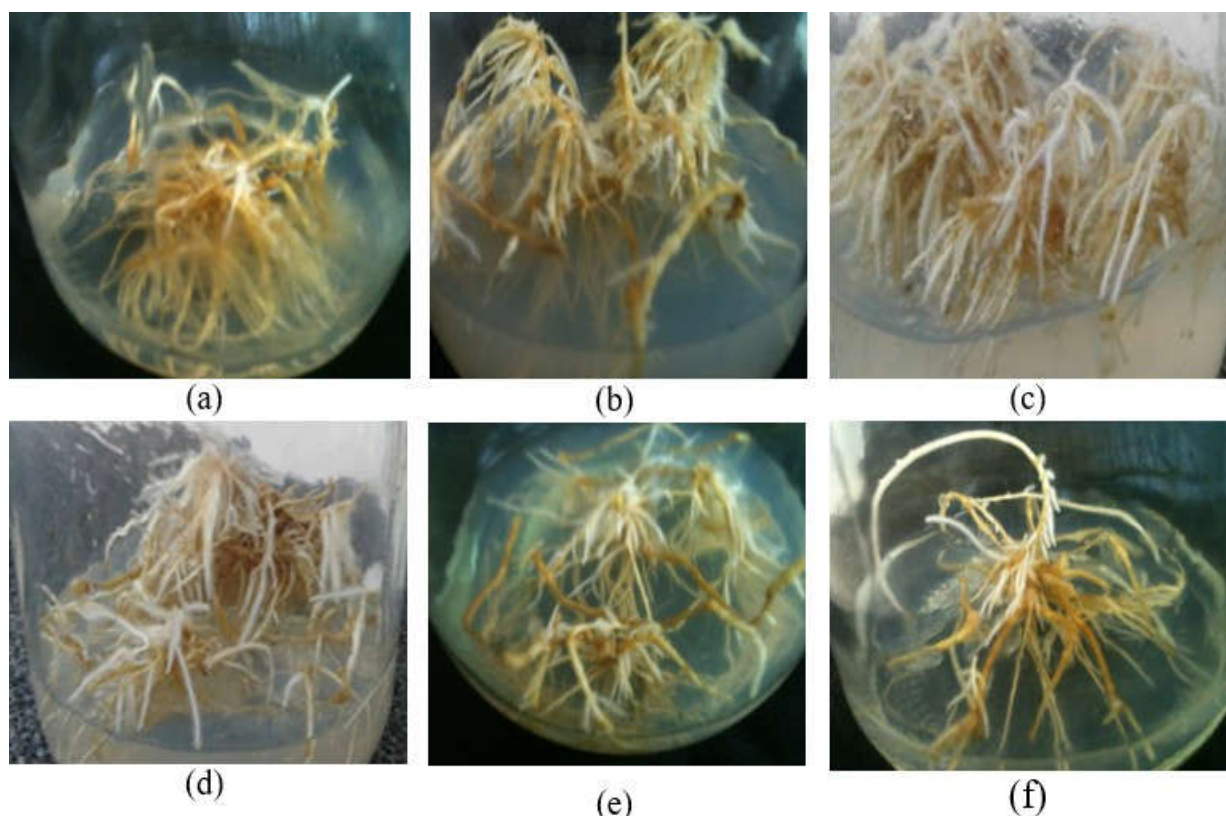
IV. KẾT LUẬN

- Môi trường dinh dưỡng thích hợp cho nhân nhanh rễ tơ cây Đẳng sâm là môi trường WPM với hệ số nhân 9,24 lần và chất lượng rễ tốt;

- Môi trường dinh dưỡng WPM bổ sung 4 mg/l IBA, 2 mg/l NAA phù hợp cho nhân nhanh rễ tơ cây Đẳng sâm với hệ số nhân 13,35 lần;

- Môi trường nuôi cấy bổ sung hàm lượng 30 g/l sucrose và 5 g/l agar phù hợp cho nhân nhanh sinh khối rễ tơ cây Đẳng sâm với chất lượng rễ tốt;

- Thời điểm thu nhận sinh khối rễ tơ thích hợp nhất là 25 ngày khi nuôi cấy rễ tơ cây Đẳng sâm trên môi trường WPM bổ sung 4 mg/l IBA, 2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose, 5 g/l agar.



Hình 2. Ảnh rễ tơ nuôi cấy trên các công thức môi trường khác nhau

Ghi chú: a) Rễ tơ nuôi trên môi trường MS; b) Rễ tơ nuôi trên môi trường WPM; c) Rễ tơ nuôi trên môi trường M_{12} ; d) Rễ tơ nuôi trên môi trường M_1 ; e) Rễ tơ nuôi trên môi trường A_2 ; f) Rễ tơ nuôi trên môi trường A_3 .

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường (2007). *Sách đỏ Việt Nam*. Phần Thực vật, trang 152.
2. Bùi Đình Thạch (2016). *Nghiên cứu tạo rễ tơ cây Bạch hoa xà (Plumbago zeylanica L.) và khảo sát khả năng tạo plumbagin trong nuôi cấy in vitro*. Luận án tiến sĩ Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.
3. Christey M. C., Braun R. H. (2005). Production of hairy root cultures and transgenic plants by *Agrobacterium rhizogenes* – mediated transformation. *Methods in Molecular Biology*, 286: 47 – 60
4. Dupraz J. M., Christen P., Kapetanidis I. (1994). Tropane Alkaloids in transformed roots of *Datura quercifolia*. *Planta Medica*, 60: 158-62
5. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học: 811 - 813
6. Georgiev M. I., Pavlov A. I., Bley T. (2007). Hairy root type plant *in vitro* systems as sources of bioactive substances. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74: 1175 – 1185.
7. Murthy H. N., Dijkstra C., Anthony P., White D. A., Davey M. R., Power J. B., Hahn E. J., Paek K. Y. (2008). Establishment of *Withania somnifera* hairy root cultures for the production of withanolide A. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50: 975 – 981.
8. Ninh Thị Thảo, Lê Tiến Vinh, Lã Hoàng Anh, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Thị Phương Thảo (2015). Nghiên cứu cảm ứng và nuôi cấy rễ tơ cây Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza bunge*). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, Vol.13, No. 2: 251-258.
9. Xu H., Park J. H., Kim Y. K., Park N., Lee S. Y., Park S. U. (2009). Optimization of growth and pyranocoumarins production in hairy root culture of *Angelica gigas* Nakai. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3: 978 – 981.

**STUDY ON *IN VITRO* CULTURE OF HAIRY ROOTS
OF *CODONOPSIS JAVANICA* (BLUME) HOOK.F.**

Nguyen Thi Huyen¹, Nguyen Van Viet²

^{1,2}*Vietnam National University of Forestry*

SUMMARY

In vitro culture hairy roots of (*Codonopsis javanica*) for mass-production of secondary metabolites is a potential substitution of declining natural resources. In this study we cultured the hairy roots of (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f) with different nutrient culture media, plant growth regulators, sucrose concentrations and agar concentrations with the aim of optimizing the growth of the hairy roots. The study on the impacts of variable factors on multiplication after 2 weeks resulted in the development of the hairy roots in WPM media with multiplication rate of 9.24 times, which is higher than multiplication rates in MS media and ½ MS* media. In addition, with the combination of IBA with concentration of 4 mg/l and NAA with concentration of 2 mg/l, the hairy roots grew well with multiplication rate of 13.35 times. Sucrose concentration of 30 g/l and agar concentration of 5 g/l were appropriate for the growth of the hairy roots, with multiplication rate of 13.01 times. Then, the WPM medium supplemented with 4mg/l IBA, 2 mg/l NAA, 30 g/l sucrose and 5 g/l agar which was suitable for root biomass multiplication was used for determining the time of obtaining the root biomass. The results have laid the foundations for large-scale and mass production of secondary metabolites.

Keywords: *Codonopsis javanica*, hairy root, *in vitro* culture, WPM.

Ngày nhận bài : 24/8/2017

Ngày phản biện : 18/9/2017

Ngày quyết định đăng : 27/9/2017