

Nghiên cứu cảm ứng và bước đầu nhân nuôi sinh khối rễ cây dược liệu rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* L.)

Đặng Thu Hòa¹, Vũ Hương Giang², Vũ Thanh Phong², Đặng Thị Thanh Tâm^{2*}

¹Viện Nghiên cứu Rau quả

²Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Studying the induction and culturing adventitious root of medicinal *Glinus oppositifolius* L.

Dang Thu Hoa¹, Vu Huong Giang², Vu Thanh Phong², Dang Thi Thanh Tam^{2*}

¹Fruit and Vegetable Research Institute

²Vietnam National University of Agriculture

*Corresponding author: thanhtam@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.13.2.2024.022-030>

TÓM TẮT

Rau đắng đất (*Glinus oppositifolius* L.) là một cây dược liệu có giá trị trong y học cổ truyền và hiện đại. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng rễ cây Rau đắng đất tích lũy nhiều hợp chất thứ cấp có giá trị. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định các thông số kỹ thuật để cảm ứng và nhân nuôi rễ cây Rau đắng đất trong điều kiện *in vitro*. Vật liệu để cảm ứng rễ được sử dụng là chồi đỉnh và mô lá cây Rau đắng đất *in vitro*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu chồi cảm ứng ra rễ đạt 100% và có số rễ, chiều dài rễ trung bình cao nhất trên môi trường MS có bổ sung 0,75mg/l α -NAA. Với mẫu cấy là mô lá, môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l α -NAA là môi trường cảm ứng rễ tối ưu. Trong giai đoạn nuôi cấy rễ, các nhân tố như auxin, cao nấm men, điều kiện chiếu sáng đều tác động đến sự tăng trưởng sinh khối rễ. Rễ *in vitro* của cây Rau đắng đất sinh trưởng tốt trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l α -NAA và 0,75 mg/l cao nấm men. Nuôi cấy rễ trong điều kiện tối kích thích rễ tăng trưởng tốt hơn điều kiện có chiếu sáng 16 giờ trên ngày. Các kết quả thu được là kết quả bước đầu cho hướng nghiên cứu ứng dụng nuôi cấy sinh khối rễ cây dược liệu Rau đắng đất để thu các hợp chất thứ cấp có giá trị.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/12/2023

Ngày phản biện: 10/01/2024

Ngày quyết định đăng: 31/01/2024

Từ khóa:

Auxin, cao nấm men, nuôi cấy rễ, rễ bất định, α -NAA.

ABSTRACT

Glinus oppositifolius L. is a valuable medicinal plant in both traditional and modern medicine. Numerous studies have shown that its roots accumulate high concentrations of valuable secondary compounds. This study aims to determine the root induction and root culturing of *G. oppositifolius* L. under *in vitro* conditions. To induce adventitious roots, the materials used were the *in vitro* apical shoots and leaf tissues. The results showed that all apical shoots (100%) generated roots and had the highest root number as well as the longest induced roots on MS medium supplemented with 0.75 mg/l α -NAA. On the leaf tissue, MS medium supplemented with 0.5 mg/l α -NAA was the optimal root induction medium. In the root culturing stage, factors such as auxin, yeast extract, and lighting conditions stimulate the growth of the root. *In vitro* roots of *G. oppositifolius* L. grew well in MS medium supplemented with 0.5 mg/l α -NAA and 0.75 mg/l yeast extract. Root culture in dark conditions stimulated root growth better than in conditions with 16 hours of light per day. These results are the initial data for the approach of root culturing the medicinal *G. oppositifolius* L. to obtain valuable secondary compounds.

Keywords:

Adventitious roots, auxin, root culturing, yeast extract, α -NAA

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thuốc là nguồn nguyên vật liệu quan trọng trong ngành dược phẩm phục vụ nhu cầu chăm sóc sức khỏe con người trên toàn thế giới. Hiện nay, nhu cầu trên toàn cầu về các hợp chất sinh học từ cây thuốc đã tạo nên sự khai thác quá mức các cây dược liệu có giá trị. Áp dụng nuôi cấy mô và tế bào thực vật để sản xuất các thành phần quan trọng của các sản phẩm dược phẩm được thương mại hóa đã trở nên phổ biến trong những năm qua [1]. Quá trình nuôi cấy tế bào, mô và cơ quan của các cây dược liệu để thu nhận các hoạt chất sinh học vừa mang ý nghĩa cho ngành dược phẩm vừa mang các giá trị về kinh tế. Trong đó, hướng ứng dụng nuôi cấy rễ bất định và rễ tơ (rễ chuyển gen của vi khuẩn) được đánh giá là cách thay thế hiệu quả cho phương pháp thông thường để sản xuất các hợp chất thứ cấp có giá trị từ cây thuốc nhờ khả năng tăng trưởng nhanh, khả năng tổng hợp cao và sự ổn định về di truyền của tế bào thực vật [2]. Trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, tốc độ phân chia của tế bào thực vật diễn ra nhanh hơn, tế bào có tiềm năng tích lũy hợp chất thứ cấp cao hơn và tạo ra các hoạt chất một cách ổn định nhờ các gốc tự do trong môi trường nuôi cấy [3]. Bên cạnh ưu thế về khả năng sinh trưởng và tích lũy, quá trình nuôi cấy rễ càng được dễ dàng ứng dụng hơn với sự phát triển về công nghệ bioreactor. Hiện nay, có rất nhiều cây thuốc được ứng dụng theo hướng tiếp cận này và đã nuôi cấy thành công, cung cấp nguyên liệu cho các sản phẩm thương mại hóa [2].

Cây Rau đắng đất (*G. oppositifolius* L.) là cây dược liệu thân thảo sống lâu năm thuộc họ Rau đắng (Molluginaceae), cây có chiều cao tối đa 40-50 cm [4]. Cây thường được tìm thấy ở các vùng đất cát ở các nước nhiệt đới hoặc cận nhiệt đới như Ấn Độ, Pakistan, Phillipine, Mali, Thái Lan, Việt Nam và Trung Quốc hoặc vùng Đông Phi từ Senegal tới Nam Nigeria [5]. Cây Rau đắng đất là cây thuốc quý chứa các

hoạt chất sinh học như saponin, flavonoid, carbohydrate, và một số hợp chất thơm khác [6]. Đặc biệt chất spinasterol, được phân lập từ rễ cây Rau đắng đất, có tiềm năng điều trị các bệnh thoái hoá thần kinh gây ra bởi stress oxy hoá và viêm thần kinh, tiềm năng trong điều trị các bệnh tiểu đường loại 2 [7]. Hơn nữa, có rất nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, có nhiều hợp chất khác nhau trong cây Rau đắng đất như benzoic axit [8], trans-ferulic axit [9], vanillin, stigmasterol, spinasterol, β -sitosterol [10], vitexin, vicenin, kaempferol đã được chứng minh ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư [4]. Từ lâu, loại dược liệu này được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền của nhiều quốc gia và hiện nay được nghiên cứu và áp dụng nhiều trong y học hiện đại. Tuy nhiên, nguồn nguyên liệu cây Rau đắng đất hiện nay sử dụng đều từ thu hái tự nhiên. Do đó, con người khó chủ động về nguồn vật liệu phục vụ cho nhu cầu của mình. Rễ cây Rau đắng đất được xác định là bộ phận tích lũy nhiều hợp chất thứ cấp có giá trị. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả lần đầu tiên thử nghiệm cảm ứng tạo rễ bất định của cây Rau đắng đất trong điều kiện *in vitro* và xác định một số nhân tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy sinh khối. Có thể thấy rằng, để chủ động thu nhận được các hợp chất thứ cấp sạch của cây Rau đắng đất trong tương lai, hướng nghiên cứu cảm ứng và nuôi cấy rễ cây Rau đắng đất là hướng nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, hóa chất cho nghiên cứu

Cây Rau đắng đất (*G. oppositifolius* L.) được thu thập từ Kiên Giang, Việt Nam. Mẫu được khử trùng và nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige và Skoog) bổ sung 30 g/l sucrose, pH = 5,8. Đoạn chồi và mô lá của cây *in vitro* Rau đắng đất được sử dụng làm vật liệu. Môi trường nuôi cấy sử dụng môi trường MS pha sẵn hãng Duchefa Biochemie (M02220050). Các chất điều tiết sinh trưởng

sử dụng IBA, α -NAA và IAA.

2.2. Cảm ứng rễ từ chồi *in vitro* và mô lá *in vitro* cây Rau đắng đất

Chồi đỉnh Rau đắng đất với kích thước 2 cm được cấy vào môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar, pH=5,8 bổ sung IBA hoặc α -NAA ở các nồng độ 0,25; 0,5; 0,75 mg/l để cảm ứng tạo rễ. Các chỉ tiêu được theo dõi trong 28 ngày.

Mô lá Rau đắng đất được cấy vào môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar, pH = 5,8 bổ sung riêng rẽ chất điều tiết sinh trưởng IBA, α -NAA ở các nồng độ 0,25, 0,5 và 0,75 mg/L, hoặc kết hợp IBA, α -NAA ở các nồng độ 0,5 và 0,75 mg/l. Các chỉ tiêu được theo dõi trong 28 ngày.

2.3. Ảnh hưởng của auxin đến quá trình tăng sinh khối rễ

Rễ có nguồn gốc từ chồi *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar, pH = 5,8 bổ sung riêng rẽ chất điều tiết sinh trưởng IAA, α -NAA ở các nồng độ 0,25; 0,5 và 0,75 mg/l. Các chỉ tiêu được theo dõi trong 35 ngày nuôi cấy.

$Khối\ lượng\ rễ\ tăng = Khối\ lượng\ rễ\ sau\ một\ chu\ kỳ\ nuôi\ cấy - khối\ lượng\ rễ\ ban\ đầu;$

$Chiều\ dài\ rễ\ trung\ bình = Tổng\ chiều\ dài\ rễ - Tổng\ số\ rễ;$

$Số\ rễ\ trung\ bình/Mẫu\ cấy = Tổng\ số\ rễ\ của\ các\ mẫu/Tổng\ số\ mẫu;$

$Tỷ\ lệ\ mẫu\ hình\ thành\ rễ\ mới\ (%) = (Tổng\ số\ mẫu\ hình\ thành\ rễ\ mới/Tổng\ số\ mẫu\ ban\ đầu) *100\%.$

- Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Excel và Infostat.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Cảm ứng rễ từ chồi *in vitro* cây Rau đắng đất

Tác động của hai hợp chất auxin IBA, α -NAA ở các nồng độ khác nhau đến sự ra rễ và hình thái rễ của chồi *in vitro* cây Rau đắng đất thể hiện trong Bảng 1 và Hình 1. Kết quả cho thấy, khi nồng độ IBA hoặc α -NAA bổ sung vào môi trường tăng thì số rễ trung bình trên mẫu cấy tăng so với đối chứng (Bảng 1). Tuy nhiên, với chỉ tiêu chiều dài rễ trung bình, tác động của hai hợp chất IBA và α -NAA lại khác nhau. Khi bổ sung IBA vào môi trường nuôi cấy ở nồng

2.4. Ảnh hưởng của cao nấm men đến sự tăng sinh khối rễ Rau đắng đất

Rễ cảm ứng từ chồi đỉnh trên môi trường tối ưu được nuôi cấy trên môi trường MS + 0,75 mg/l α -NAA + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar, pH = 5,8 bổ sung cao nấm men ở các nồng độ 0,5; 0,75; 1; 1,5 và 2 mg/l. Các chỉ tiêu được theo dõi sau 35 ngày nuôi cấy.

2.5. Ảnh hưởng của điều kiện ánh sáng đến sự tăng sinh khối rễ Rau đắng đất

Rễ được cảm ứng từ chồi được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,75 mg/l α -NAA + 30 g/l sucrose + 6,5 g/l agar, pH = 5,8. Nuôi cấy trong điều kiện tối và điều kiện có chiếu sáng (16h sáng/8h tối). Các chỉ tiêu được theo dõi trong 35 ngày.

2.6. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

- Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và được lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu được theo dõi trong 28-35 ngày phụ thuộc từng thí nghiệm. Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ 22-25°C, cường độ ánh sáng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

độ thấp 0,25 mg/l thì không có sự sai khác với đối chứng về chiều dài rễ nhưng khi tăng lên 0,5 mg/l số rễ tăng lên và có sai khác với đối chứng. Tuy nhiên đặc điểm tác động của IBA lên rễ cảm ứng là rễ mảnh, nhỏ và chiều dài rễ không có sai khác với đối chứng. Ngược lại, khi bổ sung α -NAA (0,25 - 0,75 mg/l) vào môi trường nuôi cấy, kích thích chồi tăng số lượng rễ và ức chế sự kéo dài của rễ. Rễ bất định cảm ứng dưới tác động của α -NAA có màu vàng sáng, rễ ngắn, to hơn so với đối chứng (Hình 1). Công thức bổ sung 0,75 mg/L α -NAA cho số rễ/mẫu cấy cao nhất với 16,13 \pm 0,84 rễ và chiều dài rễ đạt 2,60 \pm 3,62 cm.

Bảng 1. Ảnh hưởng của hợp chất auxin đến khả năng tạo rễ từ chồi *in vitro* cây Rau đắng đất (sau 28 ngày nuôi cấy)

Công thức	Hợp chất auxin	Nồng độ (mg/l)	Số rễ TB/mẫu (rễ)	Chiều dài rễ TB (cm)
CT1	0	0	8,80 ^{ab} ± 1,37	3,49 ^{de} ± 3,12
CT2	IBA	0,25	9,27 ^{ab} ± 1,51	3,31 ^{cd} ± 2,60
CT3	IBA	0,50	10,53 ^b ± 1,59	4,27 ^e ± 3,11
CT4	IBA	0,75	10,00 ^{ab} ± 0,89	2,82 ^{bcd} ± 2,14
CT5	α-NAA	0,25	8,47 ^a ± 0,50	2,24 ^{ab} ± 2,42
CT6	α-NAA	0,50	14,07 ^c ± 0,43	1,75 ^a ± 2,37
CT7	α-NAA	0,75	16,13 ^d ± 0,84	2,60 ^{bc} ± 3,62
<i>p-value</i>			< 0,05	< 0,05

Ghi chú: TB: trung bình. Môi trường nền MS + 30 g/l sucrose. Mẫu ra rễ 100% ở tất cả các công thức. Các giá trị có chữ cái viết thường theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 1. Hình thái rễ bất định của cây Rau đắng đất cảm ứng từ chồi *in vitro* (sau 28 ngày nuôi cấy)

(CT1: Đối chứng, CT2: 0,25mg/l IBA, CT3: 0,5mg/l IBA, CT4: 0,75mg/l IBA, CT5: 0,25 mg/l α-NAA, CT6: 0,5mg/l α-NAA, CT7: 0,75mg/l α-NAA)

3.2. Cảm ứng rễ từ mô lá *in vitro* cây Rau đắng đất

Cảm ứng rễ từ mô lá cây Rau đắng đất được tiến hành trên môi trường nuôi cấy bổ

sung riêng rẽ và kết hợp hai chất auxin là IBA và α-NAA. Sau 28 ngày nuôi cấy, kết quả được thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của hợp chất auxin đến khả năng tạo rễ từ mô lá *in vitro* (sau 28 ngày nuôi cấy)

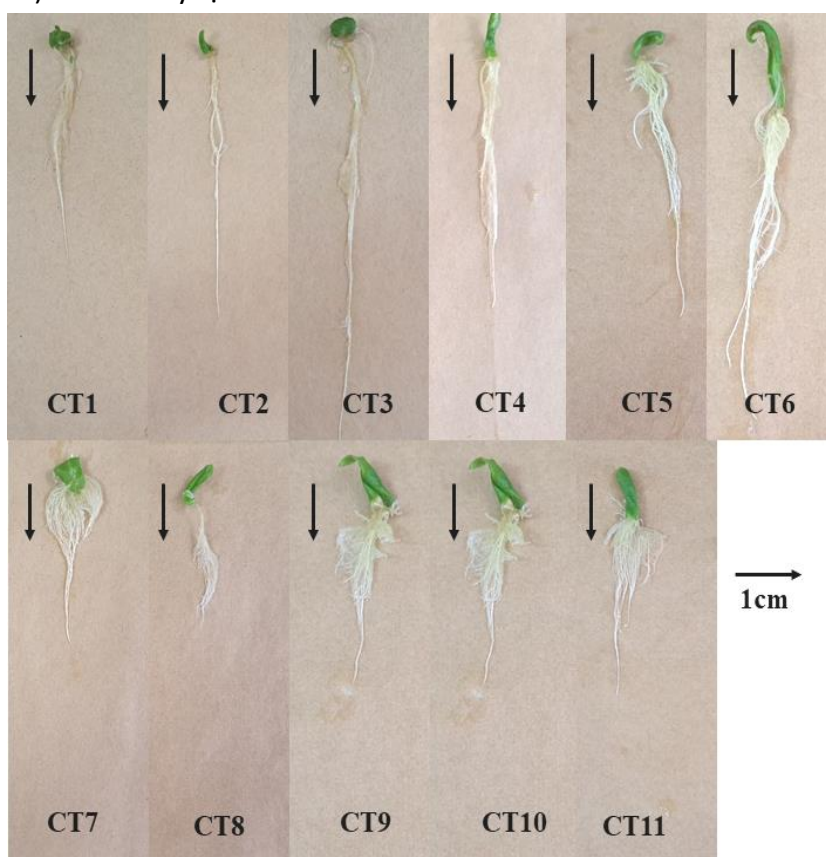
Công thức	Hợp chất auxin	Nồng độ (mg/l)	Số rễ/mẫu cấy (rễ)	Tỷ lệ mẫu ra rễ
CT1	0	0	9,33 ^{ab} ± 1,05	63%
CT2	IBA	0,25	7,33 ^a ± 2,52	79%
CT3	IBA	0,50	8,73 ^{ab} ± 1,34	76%
CT4	IBA	0,75	7,47 ^a ± 3,75	65%
CT5	α-NAA	0,25	10,93 ^{ab} ± 2,23	74%
CT6	α-NAA	0,50	25,73 ^e ± 4,95	100%
CT7	α-NAA	0,75	16,47 ^d ± 2,38	96%
CT8	IBA + α-NAA	0,25+0,25	10,60 ^{ab} ± 2,86	100%
CT9	IBA + α-NAA	0,5+0,25	10,33 ^{ab} ± 3,38	100%
CT10	IBA + α-NAA	0,25+0,5	12,27 ^{bc} ± 3,38	100%
CT11	IBA + α-NAA	0,5+0,5	15,93 ^{cd} ± 2,87	100%
<i>p-value</i>			<0,05	

Ghi chú: Môi trường nền MS + 30 g/l sucrose. Các giá trị trung bình có chữ cái viết thường theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả Bảng 2 cho thấy, sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp IBA và α -NAA đều kích thích mô lá hình thành rễ bất định. Tuy nhiên, IBA khi bổ sung riêng rẽ vào môi trường cho tỷ lệ mẫu ra rễ đạt 65-79%, số rễ cảm ứng trung bình không có sự sai khác với công thức đối chứng (không bổ sung chất điều tiết sinh trưởng), hình thái rễ mảnh. Ngược lại, α -NAA khi bổ sung riêng rẽ vào môi trường cho tỷ lệ mẫu ra rễ đạt (74 - 100%), rễ mập hơn so với đối chứng. Ở nồng độ 0,5 mg/l α -NAA bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho 100% mẫu lá cảm ứng tạo rễ, số rễ trung bình cũng đạt cao nhất $25,73 \pm 4,95$ (rễ/mẫu cấy). Đây là công thức tối ưu nhất cho sự cảm ứng ra rễ từ mô lá cây Rau đắng đất. Bên cạnh đó, việc kết hợp IBA và α -NAA (CT8-CT11) đều cho tỷ lệ ra rễ 100%.

Ngoài ra, ở các công thức này rễ có hình thái màu vàng tươi, rễ mập ngắn, có số rễ/mẫu cấy từ 10,33-15,93 rễ.

So sánh kết quả thí nghiệm về cảm ứng rễ cảm ứng từ chồi, mô lá *in vitro* cây Rau đắng đất bằng chất điều hòa sinh trưởng auxin cho thấy rễ cảm ứng có nguồn gốc từ chồi cho tỷ lệ rễ đạt 100% ở tất cả các công thức, còn rễ cảm ứng có nguồn gốc từ lá chỉ có các công thức bổ sung kết hợp IBA, α -NAA và công thức bổ sung riêng rẽ 0,5mg/l α -NAA cho tỷ lệ ra rễ đạt 100%. Rễ cảm ứng có nguồn gốc từ chồi cho rễ to và mập, còn rễ cảm ứng từ lá cho rễ nhỏ và mảnh hơn. Từ kết quả hai thí nghiệm cho thấy rễ cảm ứng có nguồn gốc từ chồi phù hợp hơn để làm nguồn vật liệu cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của hợp chất auxin đến sự cảm ứng rễ từ mô lá cây Rau đắng đất (sau 28 ngày nuôi cấy)

(CT1: Đối chứng, CT2: 0,25mg/l IBA, CT3: 0,5mg/l IBA, CT4: 0,75mg/l IBA, CT5: 0,25 mg/l α -NAA, CT6: 0,5mg/l α -NAA, CT7: 0,75mg/l α -NAA, CT8: 0,25mg/l IBA+ 0,25mg/l α -NAA, CT9: 0,5mg/l IBA+0,25mg/l α -NAA, CT10: 0,25mg/l IBA+ 0,5mg/l α -NAA, CT11: 0,5mg/l IBA+0,5mg/l α -NAA)

3.3. Ảnh hưởng của hợp chất auxin đến quá trình tăng trưởng rễ trong điều kiện *in vitro*

Rễ bất định sau quá trình cảm ứng được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng có bổ

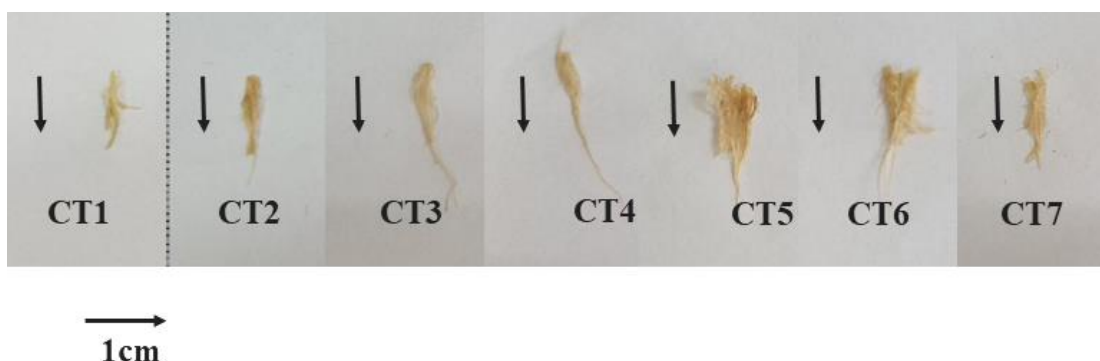
sung các hợp chất auxin IAA, α -NAA ở nồng độ khác nhau để đánh giá tác động ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của rễ. Kết quả ở Bảng 3 và Hình 3 cho thấy, khi bổ sung hợp chất auxin IAA vào môi trường nuôi cấy, chỉ tiêu số rễ/mẫu cấy không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng. Tuy nhiên, chỉ tiêu chiều dài rễ trung bình lại tăng (dao động 2,06 - 2,48 cm) có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($1,27 \pm 0,38$ cm). Về hình thái, rễ ở các CT2, CT3 và CT4 có kích thước nhỏ, màu vàng nâu, không có sự hình thành rễ tơ. Ngược lại, khi bổ sung α -NAA, rễ có hình thái nhỏ nhưng có màu vàng sáng, chiều dài rễ đạt từ 1,44 - 2,65 cm. Bên cạnh đó, trong các công thức bổ sung α -NAA, công thức 6 bổ sung 0,5 mg/l α -NAA cho số rễ/mẫu cấy đạt

13,20 là công thức có số rễ cao nhất trong cả 7 công thức và chiều dài rễ cũng cao nhất đạt $2,65 \pm 0,40$ cm. Tác động của α -NAA tới sự tăng sinh khối rễ *in vitro* của nhiều đối tượng cây dược liệu cũng được ghi nhận như *Andrographis paniculate* [11], *Phyllanthus stipulatus* [12], *Rumex crispus* [13]. Qua đây có thể thấy rằng α -NAA là auxin thích hợp hơn IAA để bổ sung vào môi trường nhân nuôi rễ bất định cây Rau đắng đất. Tuy nhiên, môi trường bổ sung 0,5 mg/l α -NAA vẫn có thời gian hình thành rễ mới còn dài, số nhánh ít, rễ mới nhỏ và ngắn. Vì vậy, cần thực hiện các thí nghiệm bổ sung phối hợp các hợp chất có ảnh hưởng tích cực tới khả năng ra rễ của cây Rau đắng đất.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IAA và α -NAA đến quá trình tăng trưởng rễ Rau đắng đất (sau 35 ngày nuôi cấy)

Công thức	Hợp chất auxin	Nồng độ (mg/l)	Số rễ/mẫu cấy (rễ)	Chiều dài rễ TB (cm)
CT1		0	$8,70^a \pm 1,16$	$1,27^a \pm 0,38$
CT2	IAA	0,25	$10,20^a \pm 2,90$	$2,48^{bc} \pm 0,34$
CT3	IAA	0,5	$9,10^a \pm 1,79$	$2,10^b \pm 0,44$
CT4	IAA	0,75	$10,10^a \pm 2,13$	$2,06^b \pm 0,47$
CT5	α -NAA	0,25	$10,30^a \pm 2,87$	$2,62^c \pm 1,00$
CT6	α -NAA	0,5	$13,20^b \pm 2,53$	$2,65^c \pm 0,40$
CT7	α -NAA	0,75	$10,40^a \pm 2,22$	$1,44^a \pm 0,22$
<i>p-value</i>			< 0,05	< 0,05

Ghi chú: Nền môi trường: môi trường MS + 30 g/l sucrose. Các giá trị trung bình có chữ cái viết thường theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (95%).



Hình 3. Ảnh hưởng của IAA, và α -NAA đến sự tăng trưởng và hình thái rễ bất định cây Rau đắng đất (sau 35 ngày nuôi cấy)
 (CT1: Đối chứng, CT2: 0,25mg/l IAA, CT3: 0,5mg/l IAA, CT4: 0,75mg/l IAA, CT5: 0,25 mg/l α -NAA, CT6: 0,5mg/l α -NAA, CT7: 0,75mg/l α -NAA)

3.4. Ảnh hưởng của cao nấm men đến sự tăng sinh khối rễ Rau đắng đất trong điều kiện *in vitro*

Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, bên cạnh các yếu tố như thành phần môi trường, nồng độ các chất dinh dưỡng, hàm lượng

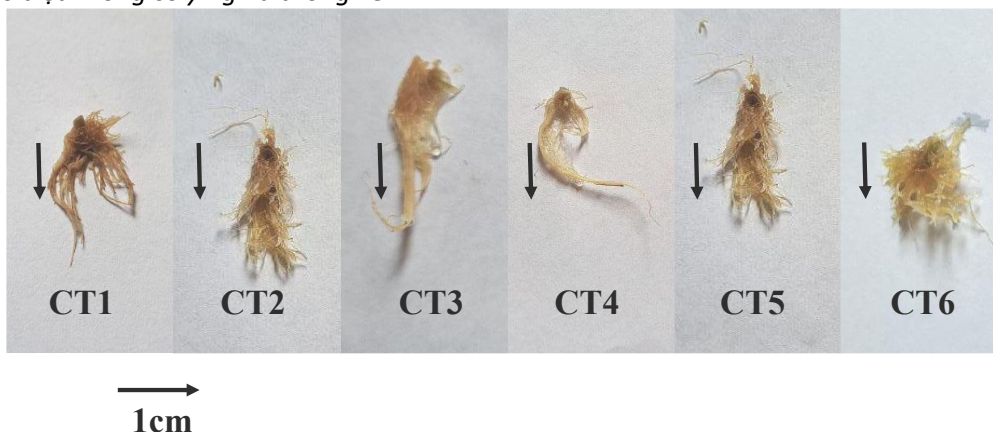
đường, ánh sáng thì các hỗn hợp dinh dưỡng hữu cơ, và trạng thái môi trường lỏng hay rắn cũng đóng một vai trò hết sức quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của rễ bất định. Trong thí nghiệm này, sử dụng nền môi trường tối ưu nhất thu được từ thí nghiệm 3 và bổ sung cao nấm men ở các nồng độ khác nhau được sử dụng để đánh giá sự ảnh hưởng tới sự tăng sinh khối rễ Rau đắng đất trong điều kiện *in vitro*. Kết quả Bảng 4 cho thấy, khi bổ sung cao nấm men vào môi trường nuôi cấy, khối lượng rễ ở các công thức đều tăng hơn so với đối chứng sau một chu kỳ nuôi cấy. Khối lượng rễ tăng dao động từ 23,85 - 85,39 mg và sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Công thức đối chứng (CT1) có các chỉ tiêu theo dõi thấp nhất với khối lượng rễ tăng đạt $23,85 \pm 5,76$ mg, số rễ/mẫu cấy đạt $11,80 \pm 3,36$ rễ, chiều dài

trung bình rễ đạt $2,33 \pm 0,85$ cm. Môi trường bổ sung 0,75 mg/l cao nấm men (CT3) cho khối lượng rễ sau 35 ngày nuôi cấy cao nhất đạt $85,39 \pm 6,11$ mg. Đồng thời, số rễ/mẫu cấy và chiều dài trung bình rễ cũng vượt trội hơn các công thức khác với số liệu lần lượt là $19,10 \pm 6,66$ rễ, $3,78 \pm 0,92$ cm. Như vậy, kết quả cho thấy bổ sung cao nấm men với lượng 0,75 mg/l là tối ưu nhất với các chỉ tiêu đặt ra. Kết quả nghiên cứu thu được hoàn toàn phù hợp với tác dụng của cao nấm men nói chung đã được chỉ ra trong các nghiên cứu khác. Cao nấm men là một chất kích thích phi sinh học thường được bổ sung vào nuôi cấy tế bào thực vật để tăng tích lũy hợp chất thứ cấp, kích thích tăng trưởng do có nhiều thành phần vi lượng, các hợp chất kích thích sinh trưởng và nó là thành phần của nhiều quá trình chuyển hóa các hợp chất thứ cấp ở thực vật [14].

Bảng 4. Sự phát triển của rễ cảm ứng trên môi trường bổ sung cao nấm men (sau 35 ngày nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ cao nấm men (mg/l)	KLG rễ tăng (mg)	Số rễ/mẫu cấy (rễ)	Chiều dài TB rễ (cm)
CT1	0	$23,85^a \pm 5,76$	$11,80^{ab} \pm 3,36$	$2,33^{ab} \pm 0,85$
CT2	0,5	$29,93^b \pm 6,04$	$15,40^b \pm 4,95$	$2,46^{ab} \pm 0,73$
CT3	0,75	$85,39^c \pm 6,11$	$19,10^c \pm 6,66$	$3,78^d \pm 0,92$
CT4	1	$27,51^{ab} \pm 6,44$	$13,80^b \pm 3,43$	$2,30^{ab} \pm 0,43$
CT5	1,5	$24,67^{ab} \pm 4,71$	$12,50^{ab} \pm 4,88$	$2,75^{bc} \pm 0,80$
CT6	2	$26,98^{ab} \pm 7,44$	$13,70^b \pm 4,03$	$2,00^a \pm 0,51$
<i>p-value</i>		<0,05	<0,05	<0,05

Ghi chú: KLG: khối lượng, TB: trung bình. Các giá trị trung bình có chữ cái viết thường theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 4. Ảnh hưởng của cao nấm men đến sự tăng trưởng sinh khối rễ Rau đắng đất (sau 35 ngày nuôi cấy)

(CT1: Đối chứng, CT2: 0,5mg/l cao nấm men, CT3: 0,75mg/l cao nấm men, CT4: 1mg/l cao nấm men, CT5: 1,5mg/l cao nấm men, CT6: 2mg/l cao nấm men. Môi trường nền: MS + 0,5mg/l α -NAA)

3.5. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến sự tăng sinh khối rễ Rau đắng đất trong điều kiện *in vitro*

Ánh sáng được đánh giá là một nhân tố quan trọng trong sự điều khiển tích lũy các hợp chất sơ cấp và thứ cấp để đạt được sự tăng trưởng tối ưu của tế bào thực vật của nhiều cây dược liệu trong nuôi cấy *in vitro* [15]. Trong nghiên cứu này, rễ Rau đắng đất được nuôi cấy trên môi trường thích hợp trong hai điều kiện chiếu sáng là có chiếu sáng (16h

sáng/8h tối) và tối hoàn toàn. Kết quả cho thấy, rễ Rau đắng đất tăng sinh khối trong điều kiện tối tốt hơn ở ngoài ánh sáng. Ở điều kiện nuôi cấy tối hoàn toàn, khối lượng rễ tăng trong 28 ngày đạt $199,37 \pm 5,58$ mg cao hơn so với công thức có chiếu sáng ($108,24 \pm 7,58$ mg). Bên cạnh đó, số rễ/mẫu cấy cũng cao hơn ở điều kiện chiếu sáng hoàn toàn đạt $20,70 \pm 2,87$ rễ. Như vậy, điều kiện nuôi cấy rễ trong tối là tối ưu hơn cho sự tăng sinh khối của rễ cây Rau đắng đất.

Bảng 5. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến quá trình sinh trưởng rễ cây Rau đắng đất sau 28 ngày nuôi cấy.

Công thức	Điều kiện ánh sáng	KLG rễ tăng (mg)	Số rễ/mẫu cấy (rễ)
CT1	16h sáng/8h tối	$108,24^a \pm 7,58$	$11,90^a \pm 3,18$
CT2	Tối hoàn toàn	$199,37^b \pm 5,58$	$20,70^b \pm 2,87$
<i>p-value</i>		< 0,05	< 0,05

Ghi chú: KLG: khối lượng. Các giá trị trung bình có chữ cái viết thường theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

4. KẾT LUẬN

Trên vật liệu cây Rau đắng đất *in vitro*, nghiên cứu đã xác định được một số thông số kỹ thuật như sau: Để cảm ứng rễ bất định từ chồi Rau đắng đất, môi trường MS bổ sung 0,75 mg/l α -NAA là tối ưu nhất với tỷ lệ ra rễ đạt 100%, số rễ/mẫu cấy đạt $16,13 \pm 0,84$ rễ, chiều dài trung bình rễ $2,60 \pm 3,62$ cm, rễ có màu vàng tươi và có rễ tơ. Với vật liệu từ mô lá, môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l α -NAA là công thức thích hợp, rễ cảm ứng có màu vàng tươi, tỷ lệ tạo rễ đạt 100%, số rễ/mẫu cấy đạt $25,73 \pm 4,95$ rễ. Để nhân nuôi sinh khối rễ Rau đắng đất, môi trường MS với 0,5 mg/l α -NAA cho tỷ lệ ra rễ cao, số rễ/mẫu cấy đạt $13,20 \pm 2,53$ rễ, chiều dài trung bình rễ đạt $2,65 \pm 0,40$ cm. Cao nấm men có tác động tích cực đến sự tăng sinh khối rễ, môi trường bổ sung 0,75 mg/l cao nấm men cho sự tăng trưởng rễ cao đạt $85,39 \pm 6,11$ mg sau một chu kỳ nuôi cấy. Rễ cây Rau đắng đất tăng trưởng tốt trong điều kiện nuôi cấy tối hoàn toàn. Các kết quả nghiên cứu về cảm ứng và nhân nuôi sinh khối

rễ cây Rau đắng đất là các thông tin có ý nghĩa cho hướng nghiên cứu nhân nuôi sinh khối rễ cây Rau đắng đất nói riêng và cây dược liệu nói chung để thu nhận các hợp chất thứ cấp có giá trị cho ngành dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Shi-Lin Chen, Hua Yu, Hong-Mei Luo, Qiong Wu, Chun-Fang Li & André Steinmetz (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chinese Medicine*. 11(1): 37.
- [2]. M. J. Hussain, Y. Abbas, N. Nazli, S. Fatima, S. Drouet, C. Hano & B. H. Abbasi (2022). Root Cultures, a Boon for the Production of Valuable Compounds: A Comparative Review. *Plants (Basel)*. 11(3).
- [3]. K. W. Yu, H. N. Murthy, C. S. Jeong, E. J. Hahn & K. Y. Paek (2005). Organic germanium stimulates the growth of ginseng adventitious roots and ginsenoside production. *Process Biochemistry*. 40(9): 2959-2961.
- [4]. Tania Chakraborty & Santanu Paul (2017). *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.: A Repository of Medicinal Potentiality. *International Journal of Phytomedicine*. 9: 543.
- [5]. Walter H. Lewis (1986). The Useful Plants of West Tropical Africa. *Economic Botany*. 40(2): 176-176.
- [6]. Shi-Yuan Sheu, Chun-Hsu Yao, Yi-Chih Lei & Tzong-Fu Kuo (2014). Recent progress in *Glinus oppositifolius* research. *Pharmaceutical Biology*. 52(8): 1079-1084.

[7]. D. Lee, J. Y. Kim, H. C. Kwon, J. Kwon, D. S. Jang & K. S. Kang (2022). Dual Beneficial Effects of α -Spinasterol Isolated from *Aster pseudoglehnii* on Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells and Glucose-Stimulated Insulin Secretion in Pancreatic β -Cells. *Plants (Basel)*. 11(5).

[8]. Carole Seidel, Michael Schneckenger, Aloran Mazumder, Marie-Hélène Teiten, Gilbert Kirsch, Mario Dicato & Marc Diederich (2016). 4-Hydroxybenzoic acid derivatives as HDAC6-specific inhibitors modulating microtubular structure and HSP90 α chaperone activity against prostate cancer. *Biochemical Pharmacology*. 99: 31-52.

[9]. Yao Fong, Chia-Chun Tang, Huei-Ting Hu, Hsin-Yu Fang, Bing-Hung Chen, Chang-Yi Wu, Shyng-Shiou Yuan, Hui-Min David Wang, Yen-Chun Chen, Yen-Ni Teng & Chien-Chih Chiu (2016). Inhibitory effect of trans-ferulic acid on proliferation and migration of human lung cancer cells accompanied with increased endogenous reactive oxygen species and β -catenin instability. *Chinese Medicine*. 11(1): 45.

[10]. A. B. Awad, R. Roy & C. S. Fink (2003). Beta-sitosterol, a plant sterol, induces apoptosis and

activates key caspases in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Oncol Rep*. 10(2): 497-500.

[11]. S. N. Sharma, Z. Jha & R. K. Sinha (2013). Establishment of in vitro adventitious root cultures and analysis of andrographolide in *Andrographis paniculata*. *Nat Prod Commun*. 8(8): 1045-7.

[12]. Elizabete Catapan, Michel Otuki & Ana Viana (2001). In vitro culture of *Phyllanthus stipulatus* (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. 24.

[13]. Majid Mahdieh, M. Noori & Simin Hoseinkhani (2015). Establishment of In vitro Adventitious Root Cultures and Analysis of Flavonoids in *Rumex crispus*. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. 25.

[14]. Poornananda Naik & Jameel Al-Khayri (2016). Abiotic and Biotic Elicitors—Role in Secondary Metabolites Production through In Vitro Culture of Medicinal Plants. 247-277.

[15]. Hina Fazal, Bilal Haider Abbasi, Nisar Ahmad, Syed Shujait Ali, Fazal Akbar & Farina Kanwal (2016). Correlation of different spectral lights with biomass accumulation and production of antioxidant secondary metabolites in callus cultures of medicinally important *Prunella vulgaris* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 159: 1-7.