TAP CHI SINH HOC 2015, 37(1): 96-102
DOI: 10.15625/0866-7160/v37n1.6202

ẢNH HƯỞNG CỦA THÀNH PHẦN KHOÁNG LÊN SINH TRƯỞNG CỦA CÂY SÂM VIỆT NAM (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) NUÔI CẤY *IN VITRO* TRONG ĐIỀU KIỆN QUANG TỰ DƯỠNG

Ngô Thị Ngọc Hương[1], Đinh Văn Khiêm[2], Nguyễn Thị Quỳnh[1]*

[1]Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *qtnguyen_vn@yahoo.com
[2] Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. là một trong các loài cây dược liệu quý ở Việt Nam và được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị bệnh và tăng cường sức khỏe. Nhằm tìm ra môi trường nuôi cấy thích hợp để tạo nguồn cây giống *in vitro* có chất lượng cao phục vụ sản xuất, chồi sâm *in vitro* mang 1 lá, được sử dụng làm mẫu nuôi cấy theo phương pháp quang tự dưỡng trao đổi khí tự nhiên. Môi trường nuôi cấy không bổ sung đường sucrose, vitamin và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Các mẫu được nuôi trong hộp Magenta (V=370 ml, nắp có 2 màng millipore) chứa 70 ml môi trường của một trong bốn loại khoáng khác nhau: MS nguyên, MS cải tiến, Enshi-Shoho hay Heller. Ở ngày thứ 90, cây sâm *in vitro* trên môi trường MS cải tiến (giảm một nửa hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3) có khả năng quang hợp và tăng trưởng tốt hơn so với các cây nuôi trên môi trường sử dụng nguyên khoáng MS, hay khoáng Enshi-Soho hoặc Heller, và có gia tăng khối lượng tươi (261,3 mg/cây), gia tăng khối lượng khô (61,0 mg/cây), khối lượng khô thân rễ và rễ (51,2 mg/cây) và số rễ (7,6 rễ/cây) lớn nhất. Các cây sâm nuôi cấy quang tự dưỡng ở tất cả các công thức đều biểu hiện sự hình thành và phát triển thân rễ theo thời gian nuôi cấy.

Từ khóa: Hiệu suất quang hợp thuần, sâm Việt Nam, thân rễ, trao đổi khí tự nhiên, vi nhân giống quang tự dưỡng.

MỞ ĐẦU

Hiện nay, việc sử dụng các loại thuốc có nguồn gốc thảo dược thiên nhiên đang ngày càng phổ biến trên thế giới. Cây sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một loài thực vật quý hiếm có giá trị về mặt y dược, kinh tế cũng như trong nghiên cứu khoa học. Đây là loài cây có chứa rất nhiều hợp chất thứ cấp có dược tính, đặc biệt là majonoside-R_2 (MR_2), một hợp chất giúp phân biệt sâm Việt Nam với các loài sâm khác cùng chi [2]. Do điều kiện phân bố hẹp và điều kiện sống đặc biệt nên cây sâm rất khó sinh trưởng ở các vùng sinh thái khác, đồng thời do khai thác quá mức khiến cây sâm Việt Nam ngày càng trở nên khan hiếm. Vi nhân giống cây sâm Việt Nam đã được biết đến trong vòng 20 năm gần đây, tuy nhiên, cây sâm *in vitro* nuôi cấy bằng phương pháp truyền thống (trên môi trường có đường và vitamin) có chất lượng không đồng nhất cũng như tỷ lệ sống không cao khi đưa ra vườn ươm. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy những nhược điểm trên là do nuôi cấy trong bình kín khiến cho quang hợp của cây kém, có nhiều biểu hiện bất thường về sinh lý [1, 11, 15].

Phương pháp vi nhân giống quang tự dưỡng ra đời vào thập niên 80 của thế kỷ 20 đã được chứng minh có nhiều ưu việt hơn so với phương pháp vi nhân giống truyền thống, vì giúp kích thích khả năng quang hợp của cây, dẫn đến gia tăng tích lũy sinh khối và hợp chất thứ cấp trong cây cũng như gia tăng tỷ lệ sống của cây *in vitro* khi chuyển sang giai đoạn *ex vitro* [3].

Trong bài này, chúng tôi khảo sát khả năng sinh trưởng của cây sâm Việt Nam được nuôi cấy theo phương pháp quang tự dưỡng trao đổi khí tự nhiên trên các môi trường khoáng khác nhau nhằm mục tiêu tìm được điều kiện nuôi cấy thích hợp cho sự gia tăng sinh khối góp phần xây dựng quy trình sản xuất cây sâm *in vitro* có chất lượng tốt.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu ban đầu là chồi sâm Việt Nam trước đó được nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS [10] có khoáng đa lượng giảm 1/2, vitamin Gamborg's B5 [5], bổ sung 10 g/l đường sucrose (công ty Đường Biên Hòa, Đồng Nai), 2

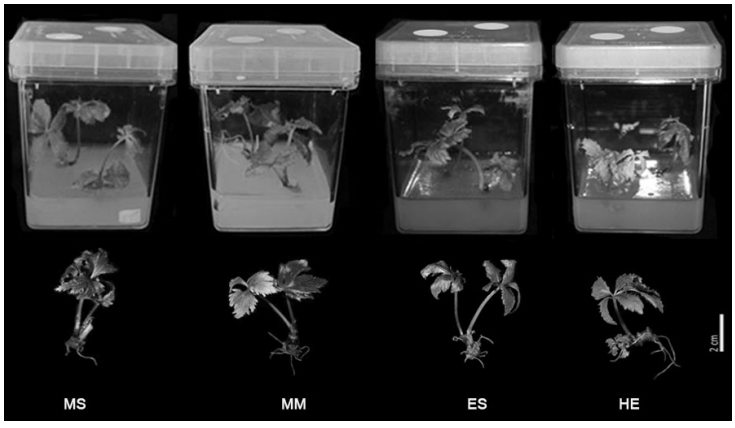
g/l than hoạt tính (công ty Duchefa Biochemie, Hà Lan), với giá thể sử dụng là 8 g/l agar (công ty Cổ phần Đồ hộp Hạ Long, Hải Phòng).

Chồi sâm *in vitro* mang 1 lá kép có cuống lá dài 2-3 cm, khối lượng tươi ban đầu 190±20 mg được sử dụng làm mẫu nuôi cấy. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 công thức với 1 yếu tố khác biệt về thành phần khoáng: (MS) môi trường khoáng MS, (MM) môi trường khoáng MS cải tiến với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, (ES) môi trường khoáng Enshi-Shoho [8] và (HE) môi trường khoáng Heller [7]. Môi trường không có sự hiện diện của đường, vitamin và chất điều hòa sinh trưởng thực vật, nhưng được bổ sung 8 g/l agar làm giá thể. pH của môi trường được điều chỉnh trước khi khử trùng là 5,8. Môi trường được khử trùng ở nhiệt độ 121^{o}C, 1 atm trong 20 phút. Mỗi công thức có 3 hộp Magenta GA-7 (V = 370 ml) trên nắp gắn 2 màng Millipore (kích thước lỗ màng φ = 0,45 µm) giúp trao đổi khí. Mỗi hộp chứa 70 ml môi trường với 2 mẫu cấy và được đặt trong buồng điều khiển vi khí hậu Sanyo, model MLR-351H (Sanyo Electric Co. Ltd., Nhật Bản). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Buồng nuôi cây được điều chỉnh nhiệt độ ở giai đoạn sáng/tối tương ứng là 22^{o}C/16^{o}C, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 40 µmol m^{-2} s^{-1}, độ ẩm tương đối 70±5%.

Các chỉ tiêu tăng trưởng đo ở ngày thứ 90 bao gồm khối lượng tươi (KLT) và khối lượng khô (KLK) của cả cây và bộ rễ, gia tăng khối lượng tươi (GTKLT), gia tăng khối lượng khô (GTKLK), phần trăm chất khô (%CK), số lá (SL), diện tích lá (DTL) của cây, số rễ (SR) và chiều dài rễ (CDR). Hiệu suất quang hợp thuần (P_n) của cây sâm *in vitro* được tính ở các ngày 15, 30, 45, 60, 75 và 90, dựa trên sự chênh lệch nồng độ CO_2 trong và ngoài hộp nuôi cây đo được bằng máy GC 2010 (Shimadzu Co. Ltd., Nhật Bản), theo phương pháp của Fujiwara et al. (1987) [4]. Các chỉ tiêu sinh trưởng được phân tích ANOVA một yếu tố bằng phần mềm Statgraphic Centurion (version 15) và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2007.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thành phần khoáng hiện diện trong môi trường luôn đóng vai trò quan trọng tới sự tăng trưởng của cây nuôi cấy *in vitro*. Trong thí nghiệm này, kết quả việc nuôi cây sâm *P. vietnamensis* trên các môi trường khoáng khác nhau dưới điều kiện quang tự dưỡng (môi trường nuôi cấy không có đường, vitamin và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật) ở ngày thứ 90 đã cho thấy, sự tăng trưởng của cây bị ảnh hưởng rõ rệt bởi sự hiện diện của một số khoáng ở những hàm lượng khác nhau. Cây sâm Việt Nam *in vitro* được đặt trên môi trường khoáng MS cải tiến với hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 được giảm 1/2 đã tăng trưởng tốt hơn so với cây sâm nuôi cấy trên các môi trường khoáng MS, Enshi-Shoho hay Heller (hình 1).



Hình 1. Cây sâm Việt Nam *in vitro* được nuôi cấy quang tự dưỡng trên các môi trường khoáng khác nhau ở ngày thứ 90

MS, MM, ES và HE ký hiệu cho các môi trường khoáng MS, MS với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, Enshi-Soho hay Heller.

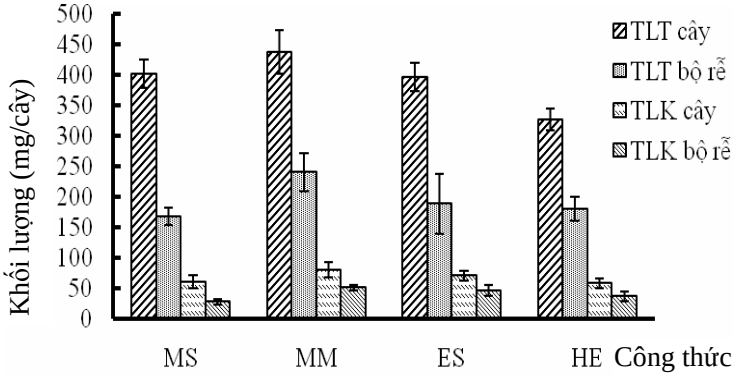
Sự gia tăng khối lượng tươi của cây sâm Việt Nam trong 90 ngày nuôi cấy khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các công thức (bảng 1). Khối lượng tươi của cây sâm gia tăng nhiều nhất (261,3 mg/cây) ở công thức MM (có hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 giảm 1/2), ít nhất (148

mg/cây) ở công thức HE và không khác biệt về phương diện thống kê ở hai công thức MS hay ES. Nhiều loài thực vật khi được nuôi cấy trên môi trường khoáng MS có bổ sung đường, vitamin và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đã cho kết quả tốt trong việc tái sinh chồi thành cây hoàn chỉnh. Tuy nhiên, một số thí nghiệm cũng đã chứng minh hàm lượng một số loại khoáng trong môi trường này vượt quá mức cần thiết đối với sự tăng trưởng của thực vật nuôi cấy *in vitro*. Kozai et al. (1988) đã cho thấy, cây hoa cẩm chướng nuôi trên môi trường MS tăng trưởng chậm hơn so với cây nuôi trên môi trường Enshi-Shoho có thành phần khoáng đơn giản hơn và hàm lượng muối toàn phần thấp hơn [9]. Cây sâm được nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS đã giảm 1/2 hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 có khối lượng khô gia tăng (GTKLK) cao hơn (61 mg/cây) so với cây nuôi trên môi trường khoáng MS (42,3 mg/cây) hay môi trường Heller (39,2 mg/cây), tuy nhiên, không khác biệt về mặt thống kê khi so với cây nuôi cấy trên môi trường Enshi-Shoho (51 mg/cây) ở ngày thứ 90. Phần trăm chất khô của cả cây sâm (%CK cả cây) không có sự khác biệt giữa các công thức và giao động trong khoảng từ 15-18% (bảng 1).

Bảng 1. Gia tăng khối lượng của cây sâm Việt Nam nuôi cấy *in vitro* trên các môi trường khoáng khác nhau ở ngày 90

Công thức [z]	GTKLT (mg/cây)	GTKLK (mg/cây)	% CK cả cây	% CK bộ rễ
MS	218,5 b [x]	42,3 b	14,9	15,9 c
MM	261,3 a	61,0 a	18,2	21,4 ab
ES	218,3 b	51,0 ab	17,6	25,0 a
HE	148,0 c	39,2 b	17,6	19,8 bc
ANOVA [y]	**	*	NS	**
CV (%)	5,7	16,7	9,6	10,2

[z]MS, MM, ES và HE ký hiệu cho các môi trường khoáng MS, MS với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, Enshi-Soho hay Heller; [y]NS: khác biệt không có ý nghĩa; * và **: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$ và $p \leq 0,01$; [x]Các số có chữ cái giống nhau trên cùng một cột thì không có sự khác biệt theo phân hạng LSD-test.



Hình 2. Sinh khối của cây sâm Việt Nam nuôi cấy *in vitro* trên các môi trường khoáng khác nhau ở ngày thứ 90

MS, MM, ES và HE ký hiệu cho các môi trường khoáng MS, MS với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, Enshi-Soho hay Heller.

Khối lượng tươi của cây sâm nuôi cấy *in vitro* dưới điều kiện quang tự dưỡng đều cao và khác biệt ở cả 3 công thức MS, MM và ES mặc dù không có ý nghĩa về phương diện thống kê (hình 2). Ngoài ra, cây sâm ở tất cả các công thức đều hình thành thân rễ, nơi tích lũy chủ yếu các hợp chất thứ cấp của cây sâm *P. vietnamensis*, theo thời gian nuôi cấy. Bộ phận thân rễ và rễ của cây sâm có khối lượng tươi tương đồng ở tất cả các công thức, nhưng khối lượng khô của bộ phận thân rễ và rễ khác biệt rất có ý nghĩa giữa 4 công thức, cao nhất (51,2 mg/cây) khi cây được nuôi trên môi trường khoáng MS cải tiến và thấp nhất (27,7 mg/cây) trên môi trường khoáng MS cơ bản ở ngày nuôi cấy thứ 90 (hình 2). Như vậy, sự khác

biệt của thành phần khoáng trong môi trường nuôi cấy dẫn đến sự khác biệt về khối lượng khô của thân rễ và rễ của cây sâm *in vitro*. Kết quả là phần trăm chất khô của bộ phận thân rễ và rễ (%CK bộ rễ) khác biệt rất có ý nghĩa giữa các công thức (bảng 1). Phần trăm chất khô của bộ rễ của cây sâm *in vitro* cao nhất (25%) trên môi trường khoáng Enshi-Shoho và thấp nhất (15,9%) trên môi trường khoáng MS (bảng 1).

Môi trường nuôi cấy khác nhau về thành phần khoáng cũng ảnh hưởng đến việc hình thành rễ của cây sâm Việt Nam ở ngày thứ 90 (bảng 2). Số rễ (SR) của cây sâm *in vitro* nhiều nhất (7,6 rễ) trên môi trường khoáng có hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 giảm 1/2 và ít nhất (3,1 rễ) trên môi trường Heller. Tuy nhiên, chiều dài rễ (CDR) của cây sâm *in vitro* giữa các công thức không có sự khác biệt (bảng 2). Đối với thực vật, canxi có tác dụng kích thích sự phát triển của bộ lá và bộ rễ. Thực vật bị thiếu canxi sẽ hạn chế hình thành rễ phụ và lông hút, đồng thời rễ tăng trưởng chậm lại. Môi trường khoáng Heller có hàm lượng ion Ca^{2+} (0,5 mM/l) ít hơn từ 6-8 lần so với các môi trường khoáng MS, MS cải tiến hay Enshi-Shoho (tương ứng 3 mM/l, 3 mM /l hay 4 mM/l), dẫn đến cây sâm nuôi cấy *in vitro* ở công thức HE có số lượng rễ ít nhất. Theo Geogre et al. (2008) [6], sự phát triển của tế bào rễ cũng sẽ bị kìm hãm nếu môi trường có chứa nhiều amonium (NH_4^+), ngược lại rễ cần nitrate (NO_3) hiện diện trong môi trường để tăng trưởng. Điều này có liên quan trực tiếp đến quá trình đồng hóa đạm xảy ra tại vùng rễ của cây vì NO_3^- là dạng oxy hóa, được hấp thụ từ môi trường để chuyển đổi thành hợp chất hữu cơ dạng khử NH_3^-. Đối với cây cẩm chướng, hàm lượng thấp của các ion NH_4^+ và NO_3 trong môi trường nuôi cấy đã giúp cải thiện sự phát sinh hình thái của cây [15]. Sự dư thừa các ion NO_3 và NH_4^+ trong môi trường MS có thể là nguyên nhân khiến cho cho bộ rễ của cây sâm trong môi trường MS kém phát triển hơn so với môi trường khoáng MS có hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 giảm 1/2.

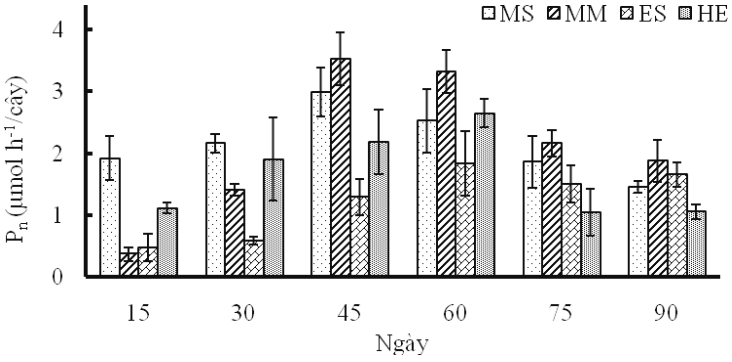
Bảng 2. Sự tăng trưởng của bộ phận lá và rễ của cây sâm Việt Nam nuôi cấy *in vitro* trên môi trường khoáng khác nhau ở ngày 90

Công thức [z]	SL (lá/cây)	DTL (cm^2)	SR (rễ/cây)	CDR (mm)
MS	1,7 b [x]	6,3 b	3,7 bc	11,7
MM	1,6 b	8,0 a	7,6 a	9,7
ES	1,7 b	5,8 b	5,1 b	8,3
HE	2,3 a	3,8 c	3,1 c	10,0
ANOVA [y]	*	**	**	NS
CV (%)	12,1	9,2	21,4	45,2

[z] MS, MM, ES và HE ký hiệu cho các môi trường khoáng MS, MS với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, Enshi-Soho hay Heller; [y] NS: khác biệt không có ý nghĩa; , * và **: khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$ và $p \leq 0,01$; [x] Các số có chữ cái giống nhau trên cùng một cột thì không có sự khác biệt theo phân hạng LSD-test.

Môi trường khoáng cũng ảnh hưởng không nhỏ lên sự phát triển bộ lá của cây sâm *P. vietnamensis* nuôi cấy *in vitro* ở ngày thứ 90 (bảng 2). Cây sâm *in vitro* ở công thức HE tạo ra nhiều lá nhất (2,3 lá/cây) so với các cây sâm ở các công thức MS, MM hay ES. Tuy nhiên, diện tích lá của cây sâm ở công thức HE lại nhỏ nhất (3,8 cm^2/cây). Diện tích lá của cả cây lớn nhất (8,03 cm^2/cây) khi cây sâm được nuôi trên môi trường MS cải tiến (bảng 2). Điều này có thể do trong môi trường Heller không có sự hiện diện của ion NH_4^+ mà ion này đóng vai trò chủ yếu trong quá trình hình thành nên các amide bằng cách liên kết phản ứng với các acid amin dicarboxylic. Phản ứng tạo amide này có ý nghĩa quan trọng vì đó là phản ứng bảo vệ tế bào khỏi tác động gây độc của NH_4^+ khi bị tích lại nhiều, đồng thời amide cũng là hợp chất dự trữ NH_4^+ cho cơ thể thực vật khi cần tổng hợp acid amin và protein. Trong thí nghiệm này, sự hiện diện

của NH_4^+ trong môi trường Enshi-Shoho, dù hàm lượng thấp (1,3 mM/l), vẫn giúp cây sâm tăng trưởng với diện tích lá cũng như số lượng rễ của cây lớn hơn so với khi nuôi trên môi trường Heller. Tương tự, cây ngô có thể tăng trưởng khi chỉ cần kết hợp một lượng nhỏ NH_4^+ với NO_3 trong môi trường nuôi cấy so với chỉ sử dụng một nguồn nitơ chủ yếu là nitrate [13]. Hiệu suất quang hợp thuần (P_n) của cây sâm Việt Nam nuôi cấy *in vitro* dưới ảnh hưởng của các thành phần khoáng khác nhau tăng dần từ ngày 15 cho đến ngày 45, sau đó giảm dần theo thời gian nuôi cấy (hình 3). Ở ngày thứ 15, P_n của cây sâm ở công thức MM thấp nhất (0,4 µmol h^{-1}/cây), sau đó tăng dần đến mức 3,5 µmol h^{-1}/cây đo được ở ngày thứ 45 rồi giảm dần xuống mức 1,9 µmol h^{-1}/cây ở ngày thứ 90. P_n thấp nhất thuộc về các cây sâm *in vitro* trong công thức HE với mức 1,1 µmol h^{-1}/cây ở ngày thứ 15 và giữ gần như ổn định đến ngày nuôi cấy thứ 90 với P_n là 1,06 µmol h^{-1}/cây ở. Từ ngày 30 đến ngày 60 của thí nghiệm, P_n của cây sâm *in vitro* ở công thức MM luôn ở mức cao nhất so với các công thức còn lại (hình 3).



Hình 3. Hiệu suất quang hợp thuần (P_n) của cây sâm Việt Nam trên các môi trường khoáng khác nhau theo thời gian nuôi cấy

MS, MM, ES và HE ký hiệu cho các môi trường khoáng MS, MS với hàm lượng NH_4NO_3 và KNO_3 giảm 1/2, Enshi-Soho hay Heller.

Stitt & Quick (1989) [12] đã chứng minh hiệu suất quang hợp của cây tăng khi số lá và diện tích lá tăng. Trong thí nghiệm này, dựa trên số liệu và quan sát trong suốt giai đoạn nuôi cấy cây sâm *in vitro*, số lá của cây sâm trong công thức HE nhiều nhất, nhưng diện tích lá ban đầu còn xanh (lá có hoạt động quang hợp) lại nhỏ hơn nhiều so với cây sâm *in vitro* trong công thức MM. Vì vậy, cây sâm ở công thức HE có tăng thêm nhiều lá, nhưng lá mới còn non khả năng quang hợp yếu không đủ giúp cây sâm gia tăng P_n để bù lại phần P_n giảm do lá ban đầu héo đi.

Ngoài thành phần khoáng đa lượng thành phần khoáng vi lượng trong môi trường nuôi cấy cũng có vai trò thiết yếu đối với sự tăng trưởng của cây. Môi trường khoáng Enshi-Shoho và Heller có hàm lượng ion Cu^{2+} cao hơn (tương ứng 0,40 µM/l và 0,12 µM/l) so với 2 môi trường còn lại (0,10 µM/l). Khi nghiên cứu trên đối tượng tảo lục *Chlorella*, Wu et al. (1984) đã chứng minh Cu có liên quan đến chuỗi truyền điện tử từ quang hệ thống II (PSII) và có tác dụng ức chế quá trình quang hợp [14]. Vì thế, cây sâm nuôi cấy quang tự dưỡng trên môi trường khoáng MS hay MS cải tiến đã có khả năng quang hợp hay hiệu suất quang hợp thuần cao hơn so với cây nuôi trên môi trường Enshi-Shoho hay Heller.

KẾT LUẬN

Việc thay đổi thành phần khoáng của môi trường nuôi cấy đã có ảnh hưởng nhất định lên sự sinh trưởng của cây sâm *P. vietnamensis* nuôi cấy *in vitro*. Cây sâm khi được nuôi cấy quang tự dưỡng trên môi trường khoáng MS cải tiến với hàm lượng KNO_3 và NH_4NO_3 giảm 1/2 đã tăng trưởng tốt hơn so với cây nuôi trên môi trường MS, Enshi-Shoho hay Heller. Các nghiên cứu tiếp theo về yếu tố môi trường cần được tiến hành để tìm ra điều kiện thích hợp cho việc sản xuất cây sâm P. *vietnamensis in vitro* bằng phương pháp nuôi cấy quang tự dưỡng đạt chất lượng tốt nhất.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu nhận được sự hỗ trợ về trang thiết bị của Phòng thí nghiệm Trọng điểm phía Nam về Công nghệ tế bào thực vật, Viện Sinh học Nhiệt đới, và kỹ thuật của Trịnh

Thị Thanh Vân, Hoàng Ngọc Nhung và Phạm Minh Duy, phòng Công nghệ Tế bào Thực vật, Viện Sinh học nhiệt đới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chen C., 2004. Humidity in plant tissue culture vessels. Biosyst. Eng., 88(2): 231-241.
2. Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương, 2007. Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ Nhân sâm. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 422 trang.
3. Phạm Minh Duy, Nguyễn Như Hiến, Hoàng Ngọc Nhung, Nguyễn Du Sanh, Nguyễn Thị Quỳnh, 2012. Sự tăng trưởng và tích lũy hợp chất thứ cấp của cây diệp hạ châu đắng nuôi cấy quang tự dưỡng trong điều kiện môi trường giàu CO_2. Tạp chí Sinh học, 34(3SE): 249-256.
4. Fujiwara K., Kozai T., Watanabe I., 1987. Measurements of carbon dioxide gas concentration in closed vessels containing tissue culture plantlets and estimates of net photosynthesis rates of the plantlets. J. Agri. Meteorol., 43(1): 21-30.
5. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K., 1968. Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res., 50: 151-158.
6. George E. F., Davies W., 2008. Effects of the Physical Environment. In: George E.F., Hall M.A., Klerk G.J. (eds.) Plant Propagation by Tissue Culture (3rd ed.) , Vol. 1: The Background. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 424-468.
7. Heller R., 1953. Researches on the mineral nutrition of plant tissues, Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg. 11th Ser., 14: 1-223.
8. Hori H., 1966. Gravel culture of vegetables and ornamentals. In: Nutrient Solution (3rd ed.), Yokendo, Tokyo, Japan, pp. 60-80 (in Japanese).
9. Kozai T., Kubota C., Watanabe I., 1988. Effects of basal medium composition on the growth of carnation plantlets in auto and mixo-trophic tissue culture. Acta Hort., 230: 159-166.
10. Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays wirh tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.
11. Preece J. E., Sutter E. G, 1990. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: Debergh P. C., Zimmerman R. H. (eds) Micropropagation: Technology and Application, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 71-93.
12. Stitt M., Quick W. P., 1989. Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. Plant Physiol., 77: 633-641.
13. Warncke D. D., Barber S. A., 1973. Ammonium and nitrate uptake by corn as influenced by nitrogen concentration and NH_4^+/NO_3^- ratio. Agron. J., 65: 950-953.
14. Wu J. T., Lorenzen H., 1984. Effect of copper on photosynthesis in synchronous Chlorella cells. Bot. Bull. Academia Sinica, 25: 125-132.
15. Ziv M., 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders of in vitro plants, In: Debergh P. C., Zimmerman R. H. (eds.) Debergh P. C., Zimmerman R. H., Eds., Micropropagation: Technology and Application, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 45-69.

EFFECT OF MINERAL CONTENTS ON THE GROWTH OF VIETNAMESE GINSENG (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) CULTURED *IN VITRO* UNDER PHOTOAUTOTROPHIC CONDITION

Ngo Thi Ngoc Huong[1], Dinh Van Khiem[2], Nguyen Thi Quynh[1]

[1]Institute of Tropical Biology, VAST
[2]Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST

SUMMARY

Panax vietnamensis Ha et Grushv. is one of valuable ginseng plants in Vietnam for illness treatment and health maintenance in traditional medicine. With the aim of finding proper culture medium to produce *in vitro* plants of a high quality, *in vitro* ginseng shoots, each with an unfolded leaf, were used as explants and cultured photoautotrophically by a natural ventilation method. The culture medium was not supplemented with sucrose, vitamins and plant growth substances. Explants were put into Magenta vessels (V = 370 ml with 2 Millipore filter membranes on each vessel lid) contained 70 ml of one among four different culture media, including full-strength MS, modified MS, Enshi-Shoho or Heller medium. On day 90, ginseng plants cultured on the modified MS medium with a half-strength of both KNO_3 and NH_4NO_3 had better photosynthetic ability and growth when compared with those cultured on the full-strength MS, Enshi-Shoho or Heller medium. The plants also had the greatest increase in plant fresh weight (261,3 mg/plant), dry weight (61,0 mg/plant), the greatest dry weight of rhizomes and roots (51,2 mg/plant) and the largest number of roots (7,6 roots/plants). Ginseng plants, cultured *in vitro* under photoautotrophic condition, of all treatments showed rhizome formation and development during the culture period.

Keywords: Panax vietnamensis, natural ventilation, net photosynthetic rate, photoautotrophic micropropagation, rhizome.

Ngày nhận bài: 5-12-2014