

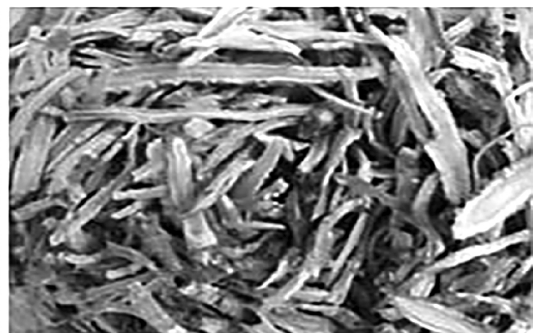
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG NGUỒN GEN DƯỢC LIỆU SA SÂM TẠI HUYỆN DIỄN CHÂU

■ Phạm Xuân Trung, Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Văn Sơn
Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ KH&CN Nghệ An

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sa sâm là tên gọi chung của 2 loại dược liệu là Sa sâm bắc (*Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq. họ Hoa tán (*Apiaceae*) và Sa sâm nam (*Launaea sarmentosa* (Willd.) họ Cúc (*Asteraceae*)). Sa sâm nam phân bố tại các vùng ven biển phía nam Trung Quốc (đảo Hải Nam), Việt Nam, Nhật Bản, Ấn Độ, Ai Cập và một số nơi ở châu Phi [10]. Cây ưa sáng, chịu được mặn, thường mọc trên bãi cát ven biển, thành từng đám hoặc rải rác thành khóm riêng rẽ lẫn với một số loài cây thảo khác như muống biển,

cỏ chông, dứa cạn, củ gấu biển... Cây ra hoa quả hàng năm, quả có túm lông thuận lợi cho việc phát tán nhờ gió [10]. Đây là loài dược liệu bản địa có giá trị sử dụng và giá trị kinh tế cao đối với bà con nông dân ở các huyện, từ lâu đã được người dân sử dụng làm thuốc bổ, chữa các bệnh mất ngủ, nhức đầu, sốt nóng, đờm ho, hen suyễn, khó thở, hạ huyết áp... và là những sản phẩm quý hiếm [7]. Để góp phần bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu quý của địa phương, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng nhân giống nguồn gen dược liệu Sa sâm (*Launaea*



sarmentosa Willd) nhằm tạo cây giống phục vụ nhu cầu của người dân, hướng đến xây dựng quy trình trồng và phát triển nguồn được liệu này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Sa sâm (*Launaea sarmentosa*) mọc ở ven biển các xã Diên Trung, Diên Thành, Diên Hải thuộc huyện Diên Châu.

2. Vật liệu nghiên cứu

Chất kích thích sinh trưởng Cytokinin DA6 98%, GA3 (Axit gibberellic).

3. Mục tiêu nghiên cứu

- Nghiên cứu thử nghiệm khả năng nhân giống cây giống Sa sâm.
- Phân tích, đánh giá thành phần hóa học chính có trong nguồn gen Sa sâm.

4. Phương pháp nghiên cứu

4.1. Nghiên cứu khả năng nhân giống hữu tính cây được liệu Sa sâm

Nhân giống bằng hạt, với 3 công thức bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên

(RCBD) với 3 lần nhắc lại, dung lượng mẫu 100 hạt/công thức, diện tích mỗi ô thí nghiệm là 0,5m².

4.2. Phương pháp nhân giống vô tính

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD), thí nghiệm 1 nhân tố, bố trí 5 công thức và 3 lần nhắc lại, diện tích mỗi ô thí nghiệm 1m². Sơ đồ bố trí thí nghiệm như sau:

Dải bảo vệ				
CT(ĐC)		CT1		CT2
CT2		CT(ĐC)		CT4
CT1		CT3		CT(ĐC)
CT4		CT4		CT3
CT3		CT2		CT1
Dải bảo vệ				

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nghiên cứu khả năng nhân giống hữu tính của cây Sa sâm

1.1. Nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm và thời gian nảy mầm của hạt Sa sâm

Tiến hành thí nghiệm nhân giống nguồn gen được liệu Sa sâm (*Launaea sarmentosa*) bằng hạt, kết quả thu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thời gian và tỷ lệ nảy mầm của Sa sâm ở các phương pháp xử lý hạt khác nhau

TT	Công thức	Thời gian nảy mầm (ngày)	Tỷ lệ nảy mầm (%)
1	NT1 (nước ấm)	8,8 ^b	22,7 ^b
2	NT2 (GA ₃)	9,5 ^b	20,4 ^b
3	NT3 (ĐC)	17,5 ^a	15,8 ^a
	LSD _{0,05}	2,5	2,5
	CV%	9,5	5,7

Ghi chú: Các số liệu trong cùng 1 hàng có ký hiệu mũ khác nhau là sai khác nhau có ý nghĩa (P<0,05).

Các công thức xử lý đều có thời gian nảy mầm nhanh hơn so với công thức đối chứng. Hạt xử lý bằng nước ấm (NT1) và xử lý bằng chất kích thích GA₃ đều cho thấy sự sai khác có ý nghĩa P<0,05 so với công thức đối chứng.

1.2. Theo dõi tỷ lệ sống của cây Sa sâm nhân giống bằng hạt

Nghiên cứu theo dõi tỷ lệ sống của cây Sa sâm nhân giống bằng hạt từ 10-60 ngày sau nảy mầm ở các công thức, kết quả thu được số liệu trong Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ sống của cây Sa sâm nhân giống bằng hạt ở các công thức thí nghiệm*DVT: %*

TT	Công thức	Ngày sau nảy mầm				
		Sau 10 ngày nảy mầm	Sau 20 ngày nảy mầm	Sau 30 ngày nảy mầm	Sau 45 ngày nảy mầm	Sau 60 ngày nảy mầm
1	NT1 (nước ấm)	98,5 ^a	95,6 ^a	94,3 ^a	94,4 ^a	94,4 ^a
2	NT2 (GA ₃)	98,6 ^a	95,4 ^a	94,7 ^a	93,7 ^a	93,7 ^a
3	NT3 (ĐC)	98,1 ^b	94,2 ^b	93,2 ^b	94,2 ^a	94,2 ^a
	<i>LSD_{0,05}</i>	0,3	0,7	0,9	0,8	0,8
	<i>CV%</i>	0,1	0,4	0,5	0,1	0,1

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số khác nhau biểu thị sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

Lúc này cây con đã lớn, bộ rễ đã phát triển mạnh nên tỷ lệ sống không có sự biến động lớn và giữa các công thức không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê.

2. Nghiên cứu khả năng nhân giống vô tính của cây Sa sâm

2.1. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số chồi còn sống của cây Sa sâm

Nghiên cứu số chồi còn sống của cây Sa sâm qua

2 năm 2022-2023, kết quả cho thấy giai đoạn này cũng có sự khác biệt lớn giữa các công thức thí nghiệm. CT1 (100ppm), CT2 (500ppm) và CT3 (1500ppm) có số chồi còn sống cao nhất (89,7-92,0 chồi), cao hơn công thức đối chứng ở mức ý nghĩa $P < 0,05$. Sau giai đoạn này thì số chồi/cây đã ổn định nên không theo dõi thêm.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số chồi còn sống cây Sa sâm qua các công thức thí nghiệm năm 2022*DVT: Chồi*

TT	Công thức	Ngày sau giâm		
		Sau giâm 10 ngày	Sau giâm 20 ngày	Sau giâm 30 ngày
1	CT Đ/C	91,3 ^b	85,3 ^c	83,7 ^b
2	CT1	96,3 ^a	93,7 ^{ab}	89,7 ^a
3	CT2	96,0 ^a	93,3 ^{ab}	90,3 ^a
4	CT3	96,7 ^a	94,7 ^a	92,0 ^a
5	CT4	94,7 ^a	90,0 ^b	87,7 ^{ab}
	<i>LSD_{0,05}</i>	2,4	4,0	4,5
	<i>CV%</i>	1,3	2,4	2,8

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số khác nhau biểu thị sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số chồi còn sống của cây Sa sâm qua các công thức thí nghiệm năm 2023

ĐVT: Chồi

TT	Công thức	Ngày sau giâm			
		Sau giâm 10 ngày	Sau giâm 20 ngày	Sau giâm 30 ngày	Sau giâm 45 ngày
1	CT Đ/C	92,3 ^b	87,3 ^d	83,3 ^c	82,0 ^c
2	CT1	97,3 ^{ab}	94,7 ^{ab}	90,7 ^{ab}	90,0 ^{ab}
3	CT2	96,0 ^{ab}	93,0 ^{bc}	90,0 ^{ab}	89,0 ^{ab}
4	CT3	97,3 ^a	95,7 ^a	94,0 ^a	92,7 ^a
5	CT4	94,3 ^{ab}	91,3 ^c	88,7 ^b	87,7 ^b
<i>LSD 0,05</i>		<i>3,1</i>	<i>1,9</i>	<i>4,1</i>	<i>4,2</i>
<i>CV%</i>		<i>1,7</i>	<i>1,1</i>	<i>2,4</i>	<i>2,6</i>

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số khác nhau biểu thị sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

Giai đoạn sau giâm 30 ngày: Số chồi còn sống đạt cao nhất ở CT3 (1.000ppm) và đạt 94,0 chồi, cao hơn so với công thức đối chứng và CT4 (1.500ppm) ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Giai đoạn sau giâm 45 ngày: Giai đoạn này cũng có sự biến động tương tự. CT3 (1.000ppm) có số chồi còn sống cao nhất (92,7 chồi), cao hơn công thức đối chứng và CT4 (1500ppm) ở mức ý nghĩa

$P < 0,05$. Sau giai đoạn này, số chồi/cây đã ổn định nên không có sự biến động ở các giai đoạn sau.

2.2. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số rễ của cây Sa sâm

Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến tăng trưởng số rễ cây Sa sâm.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số rễ của cây Sa sâm qua các công thức thí nghiệm năm 2022

ĐVT: số rễ/cây

TT	Công thức	Ngày sau giâm				
		Sau giâm 10 ngày	Sau giâm 20 ngày	Sau giâm 30 ngày	Sau giâm 45 ngày	Sau giâm 60 ngày
1	CT Đ/C	4,5 ^{ab}	6,5 ^a	7,8 ^{ab}	10,2 ^{ab}	13,1 ^b
2	CT1	4,8 ^a	6,5 ^a	7,7 ^b	10,1 ^{ab}	12,9 ^{bc}
3	CT2	4,8 ^a	6,5 ^a	8,0 ^{ab}	10,2 ^{ab}	13,0 ^{bc}
4	CT3	4,8 ^a	6,7 ^a	8,2 ^a	10,6 ^a	13,8 ^a
5	CT4	4,4 ^b	6,4 ^a	7,8 ^{ab}	10,0 ^b	12,8 ^c
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>0,4</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,5</i>	<i>0,4</i>
<i>CV%</i>		<i>5,4</i>	<i>4,1</i>	<i>3,7</i>	<i>2,7</i>	<i>2,0</i>

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số khác nhau biểu thị sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

Qua số liệu cho thấy: Số rễ/cây đạt cao nhất ở CT3 là 10,6 rễ/cây và cao hơn so với CT4 1.500ppm ở mức ý nghĩa $P < 0,05$. Giai đoạn 60 ngày sau giâm cũng có sự biến động tương tự, CT3 (1.000ppm) có số rễ/cây

đạt cao nhất (13,8 rễ/cây) và có sự sai khác có ý nghĩa với các công thức sử dụng Cytokinin DA-6 (100ppm, 500ppm, 1.500 ppm và công thức đối chứng) ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ Cytokinin DA-6 đến số rễ của cây Sa sâm qua các công thức thí nghiệm năm 2023

DVT: số rễ/cây

TT	Công thức	Ngày sau giâm				
		Sau giâm 10 ngày	Sau giâm 20 ngày	Sau giâm 30 ngày	Sau giâm 45 ngày	Sau giâm 60 ngày
1	CT Đ/C	4,5 ^{abc}	5,6 ^c	8,1 ^b	9,9 ^b	11,6 ^b
2	CT1	4,8 ^{ab}	6,6 ^{ab}	9,0 ^{ab}	10,6 ^{ab}	12,5 ^{ab}
3	CT2	4,9 ^a	6,2 ^{bc}	8,7 ^{ab}	10,5 ^{ab}	12,2 ^{ab}
4	CT3	4,3 ^{bc}	7,0 ^{ab}	8,9 ^{ab}	10,6 ^{ab}	12,7 ^{ab}
5	CT4	4,2 ^c	7,3 ^a	9,2 ^a	10,7 ^a	12,8 ^a
<i>LSD_{0,05}</i>		0,5	1,0	0,8	0,5	0,7
<i>CV%</i>		6,5	8,7	4,9	3,0	3,0

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ số khác nhau biểu thị sự sai khác ở mức ý nghĩa $P < 0,05$

Qua kết quả ở bảng trên cho thấy: Số rễ/cây có quy luật biến động tương tự giai đoạn sau giâm 30 ngày. CT4 (1.500ppm) có số rễ/cây đạt cao nhất (10,7-12,8 rễ/cây), cao hơn ở mức ý nghĩa $P < 0,05$ so với công thức đối chứng. Tuy nhiên lại không có

sự sai khác với các CT1, CT2 và CT3.

3. Kết quả phân tích thành phần hóa học chính nguồn gen Sa sâm

Kết quả định tính các nhóm chất hữu cơ có trong Sa sâm nam.

Bảng 7. Kết quả định tính các nhóm chất hữu cơ trong Sa sâm nam

TT	Nhóm chất	Phản ứng	Kết quả	Kết luận
1	Saponin	Phản ứng tạo bọt	(+)	Có
		Phản ứng Salkowski	(+)	
2	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	(++)	Có
		Phản ứng với FeCl ₃ 5%	(++)	
		Phản ứng với kiềm	(++)	
3	Coumarin	Quan sát huỳnh quang		Có
4	Alkaloid	Phản ứng với thuốc thử Mayer		Có
5	Polysaccharid	Phản ứng với thuốc thử Lugol	(+)	Có
6	Chất béo	Tạo vết mờ trên giấy	(+)	Có
7	Glycosid tim	Phản ứng Liebermann	(-)	Không có
		Phản ứng Baljet	(-)	
		Phản ứng Legal	(-)	
8	Phytosterol	Phản ứng Liebermann-Burchardt	(+++)	Có
9	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	(-)	Không có
10	Acid hữu cơ	Phản ứng với Na ₂ CO ₃	(+)	Có
11	Acid amin	Phản ứng với Ninhydrin	(+)	Có
12	Đường khử	Phản ứng với thuốc thử Fehling	(+)	Có
13	Carotenoid	Phản ứng với H ₂ SO ₄ đặc	(+)	Có
14	Tannin	Phản ứng với FeCl ₃ 5%	(++)	Không có

Qua các phản ứng định tính, sơ bộ thấy trong củ Sa sâm nam có chứa các hợp chất của: chất béo, carotenoid, phytosterol, saponin, coumarin, flavonoid, acid amin,

đường khử, polysaccharid và alcaloid.

Tiến hành phân tích định lượng 3 nhóm chất trong củ cây Sa sâm nam, thu được số liệu trong bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân tích định lượng các chất trong Sa sâm nam

Nội dung	Phương pháp	Thông số	Kết quả				
			Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4	Mẫu 5
Độ ẩm		(%)	7,00	6,97	7,11	5,96	5,98
Flavonoid tổng (tính theo luteolin)	UV-VIS	HL (%)	2,82	2,66	2,92	1,37	1,37
Polysaccharid tổng (tính theo glucose khan)	UV-VIS	HL (%)	4,26	2,60	2,12	5,06	3,32
Saponin tổng	PP cân	HL (%)	2,34	1,98	2,21	2,01	1,98

Kết quả trong bảng 8 cho thấy: Hoạt chất sinh học quan trọng nhất trong cây Sa sâm là Saponin. Hàm lượng hoạt chất này ở các mẫu Sa sâm trong nghiên cứu này dao động từ 1,98-2,34%, trung bình đạt 2,11%.

IV. KẾT LUẬN

Thực hiện nghiên cứu khả năng nhân giống nguồn gen dược liệu Sa sâm (*Launaea sarmentosa*) có ý nghĩa quan trọng trong việc tìm ra phương pháp sản xuất cây giống, góp phần vào quá trình bảo tồn và nhân giống cây Sa sâm phục vụ nhu cầu trồng.

Kết quả nghiên cứu bước đầu đã xác định được phương pháp nhân giống hữu tính bằng xử lý nước ấm (2 sôi, 3 lạnh) cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất là 22,7% và xác định phương pháp nhân giống vô tính bằng chồi sử dụng chất kích thích sinh trưởng Cytokinin DA-6 xử lý ở nồng độ 1.000ppm có tỷ lệ chồi sống cao nhất 92,7%./.

Tài liệu tham khảo:

1. Nguyễn Tiến Bản (chủ biên) (2007), *Sách đỏ Việt Nam, phần II: Thực vật*, NXB, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Hà Nội.
2. Hoàng Văn Hào (chủ biên) (2009), *Cây thuốc Nghệ An*, NXB Nghệ An.

3. Viện Dược liệu (2020), *Nghiên cứu cây Sa sâm Việt - Dược liệu quý Việt Nam*, Nxb Khoa học kỹ thuật.
4. Đỗ Ngọc Đài và cộng sự (2012), *Nguồn tài nguyên cây làm thuốc dưới tán rừng khoanh nuôi của đồng bào Thái xã Hạnh Dịch, huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An*, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Số 11, 57-64.
5. Đỗ Huy Bích, Bùi Xuân Chương, 1980, “*Sổ tay cây thuốc Việt Nam*”, NXB Y học, Hà Nội.
6. Nguyễn Nghĩa Thìn, Nguyễn Thị Hạnh, 2010, *Cây thuốc của đồng bào Thái, Con Cuông, Nghệ An*, Nxb Nông nghiệp.
7. Bộ Y tế (2017), Báo cáo Hội nghị về phát triển dược liệu.
8. Bộ Y tế, 2019; Thông tư số 19/2019/TT-BYT, của Bộ trưởng Bộ Y tế, 30/7/2019; V/v: *Quy định thực hành tốt nuôi trồng, thu hái dược liệu và các nguyên tắc, tiêu chuẩn khai thác dược liệu tự nhiên*.
9. Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Đăng Tùng, Ngụy Khắc Đức, Nguyễn Văn Mạnh, Nguyễn Văn Sinh, Ngô Hoàng Linh (2021c), *Nghiên cứu ảnh hưởng của loại hom và chất kích thích ra rễ đến nhân giống cây Mú tằm (Rourea oligophlebia Merr.)*, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, số 16/2021.
10. Abouzied, A. S., Break, M. K., Younes, K., Alafnan, D., Alsulami, G., & Hussein, W. A. (2021). In vitro antimicrobial, anticancer, and apoptosis-inducing effects of the methanolic extract of *Launaea mucronata*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49 (4), 12556-12556.
11. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.