

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ CHẤT KÍCH THÍCH SINH TRƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG NUÔI CẤY *IN VITRO* CÂY ĐĂNG SÂM BẮC (*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.)

Trần Văn Chí¹, Cao Thị Mai Phương², Ngô Thị Ngân², Trần Thị Thu Hà^{1*}

TÓM TẮT

Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng BAP, BAP kết hợp với Kinetin, NAA và IBA với các nồng độ khác nhau đến hiệu quả nuôi cấy *in vitro* loài Đăng sâm Bắc (*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.). Từ các thí nghiệm tiến hành cho thấy các đoạn chồi được cấy trong môi trường MS (Murashige và Skoog) có bổ sung 1,0 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 17,56 lần/chu kỳ nhân. Các chồi tạo thành đạt tiêu chuẩn được tách ra và đưa vào môi trường kích thích tạo rễ. Trong đó môi trường có bổ sung 0,5 mg/l NAA cho tỷ lệ mẫu ra rễ cao nhất đạt 95,55%.

Từ khóa: Đăng sâm Bắc, *in vitro*, chất kích thích sinh trưởng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đăng sâm bắc có tên khoa học là *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.), thuộc họ Hoa Chuông (Campanulaceae) là cây thuốc quý, có giá trị dược liệu cao (Sách Đỏ Việt Nam, 2007). Cây có nguồn gốc ở khu vực Đông Bắc châu Á và bán đảo Triều Tiên. Hiện nay cây phân bố tại Trung Quốc, Nhật Bản, Đài Loan (Lê Thị Diên và cộng sự, 2013). Ở Việt Nam, Đăng sâm bắc phân bố ở Hà Giang, Lào Cai,... Lá Đăng sâm non chứa nước 77,5%, protid 4,2%, glucid 13,1%, xơ 3,3%, caroten 3,6mg%, vitamin C 85,5mg%. Củ Đăng sâm Bắc có đường, chất béo, tinh dầu, glucosid sentellarin (Hoàng Thị Sản, 2009). Nhiều nghiên cứu về dược tính đã chứng minh củ Đăng sâm Bắc thường được dùng làm thuốc để chữa cơ thể suy nhược, bệnh bạch huyết, viêm thượng thận, chân phù đau, chữa ho, ... (Phạm Thanh Huyền, 2016; Chen et al., 2013; Ngô Triệu Anh, 2011).

Loài này được xem là một loại dược liệu quý, chỉ gây trồng được ở vùng núi cao và đang có nguy cơ bị tuyệt chủng bởi nhu cầu sử dụng và khai thác bất hợp lý. Để phát triển loài này, việc nhân giống từ phương pháp vô tính để tạo ra số lượng giống lớn phục vụ cho sản xuất là rất cần thiết. Phương pháp nhân giống bằng *in vitro* đang được thử nghiệm và có kết quả khả quan. Trong bài báo này, kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất kích thích

đến khả năng nuôi cấy *in vitro* loài cây Đăng sâm Bắc nhằm tìm ra tổ hợp chất kích thích cho hệ số nhân chồi cao nhất được trình bày.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây Đăng sâm Bắc được lưu trữ tại vườn giống gốc của Viện Nghiên cứu và Phát triển Lâm nghiệp tại Vị Xuyên - Hà Giang được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi Đăng sâm Bắc: Môi trường MS có bổ sung BAP với dãy nồng độ: 1; 2; 3; 4; 5 mg/l. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên với 5 công thức, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 15 cây. Các chỉ tiêu theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy, gồm: hệ số nhân chồi (lần), hình thái chồi.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP kết hợp Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi Đăng sâm Bắc: Môi trường MS + nồng độ BAP thích hợp trong thí nghiệm 1 được bổ sung thêm Kinetin theo dãy nồng độ: 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/l. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên với 06 công thức, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 15 mẫu. Nồng độ BAP được sử dụng từ kết quả thí nghiệm 1. Các chỉ tiêu theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy gồm: hệ số nhân chồi (lần), hình thái chồi.

¹ Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên.

² Viện Nghiên cứu & Phát triển Lâm nghiệp - Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của Đảng sâm Bắc: Lựa chọn những chồi khỏe đạt chiều cao ≥ 3 cm, cây thẳng, cứng cáp, chuyển sang môi trường tạo rễ. Thành phần môi trường ra rễ là 1/2MS có bổ sung các chất NAA với dãy nồng độ: 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên với 5 công thức, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 15 cây. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ ra rễ (%), chất lượng rễ.

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ của Đảng sâm Bắc: Lựa chọn những chồi khỏe đạt chiều cao ≥ 3 cm, cây thẳng, cứng cáp, chuyển sang môi trường tạo rễ. Thành phần môi trường ra rễ là 1/2MS có bổ sung các chất IBA với dãy nồng độ: 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên với 5 công thức, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 15 cây. Các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ ra rễ (%), chất lượng rễ.

* **Điều kiện nuôi cấy:** Trong tất cả các thí nghiệm nuôi cấy, pH môi trường là 5,8 và được khử trùng ở 1,0 atm, 121°C trong thời gian 20 phút. Các mẫu được nuôi trong phòng nuôi ở nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, thời gian chiếu sáng 10 - 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 2000 - 2500 lux. Môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS của Murashige và Skoog (1962).

* **Xử lý số liệu:** Số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Excel và phần mềm thống kê Irristat 5.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi Đảng sâm Bắc

Trong thí nghiệm này, mẫu được đưa vào môi trường có bổ sung BAP với nồng độ từ 0 – 2,5 mg/l. Kết quả theo dõi mẫu cấy sau 4 tuần nuôi cấy ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi Đảng sâm Bắc sau 4 tuần nuôi cấy

Công thức (CT)	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Hệ số nhân chồi (lần)	Hình thái chồi
CT1 (ĐC)	0	45	2,09	Chồi kém
CT2	0,5	45	11,00	Chồi tốt
CT3	1,0	45	17,56	Chồi tốt
CT4	1,5	45	8,13	Chồi tốt
CT5	2,0	45	5,51	Chồi trung bình
CT6	2,5	45	4,00	Chồi kém
<i>LSD_{0,05}</i>			0,65	
<i>CV%</i>			4,5	

(Môi trường nền: MS + 25 g/l đường sucrose + 5,5 g/l agar, pH 5,8)

Chồi tốt: xanh, khỏe; chồi trung bình: xanh, mọng nước. Chồi kém: vàng, mọng nước.

Trong môi trường không có BAP, hệ số nhân chồi thấp nhất đạt 2,09 chồi (hình 1). Khi bổ sung BAP có nồng độ từ 0,5 - 1,0mg/l vào môi trường nuôi cấy, hệ số nhân chồi tăng dần từ 11,00 chồi lên 17,56 chồi (cao nhất đạt 17,56 chồi ở nồng độ 1,0 mg/l ở hình 2). Tuy nhiên khi tăng nồng độ BAP từ 1,5-2,5 mg/l thì hệ số nhân chồi có xu hướng giảm xuống từ 8,13 - 4,00 chồi. Đặc biệt khi nồng độ BAP ≥ 2 mg/l gây ức chế khả năng tạo, chồi phát triển trung bình và có hiện tượng mọng nước.

Kết quả thu được có thể được giải thích như sau: BAP là một trong các cytokinin có vai trò trong việc hoạt hóa quá trình phân bào, nhờ đó có tác dụng tái sinh và phân hóa chồi cho cây. Khi tăng dần nồng độ

BAP trong môi trường nuôi cấy thì tỷ lệ tái sinh chồi tăng và hệ số nhân chồi tăng. Nhưng khi tiếp tục tăng nồng độ BAP lên 1,5-2,5 mg/l không cho kết quả cao hơn đồng thời có xu hướng giảm do hàm lượng BAP cao có thể gây độc cho mẫu, từ đó gây ức chế khả năng tạo chồi cho mẫu. Kết quả nghiên cứu trên đã xác định được nồng độ BAP thích hợp nhất để nhân nhanh chồi Đảng sâm bắc là 1,0 mg/l. Kết quả này được sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

Theo nghiên cứu của Zhang và cs (2013) về nhân giống loài *Codonopsis pilosula* này cho thấy chồi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA sau 9 tuần nuôi cấy tỷ lệ chồi tái sinh tạo cụm chồi đạt 75 và có từ 15-18

chồi/cụm. Kết quả ở nghiên cứu sử dụng môi trường nhân nhanh chồi MS bổ sung 1,0 mg/l BAP sau 4 tuần nuôi cấy cho số chồi/ cụm đạt 17,56 chồi. Đồng thời nghiên cứu nhân nhanh chồi trên đối tượng *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson của Bùi Văn Thắng và cs. (2016) cho thấy khi môi



Hình 1. CT1-ĐC không bổ sung BAP

3.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP kết hợp với Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi Đảng sâm bắc

trường bổ sung 0,5 mg/l Kinetin + 0,2 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi 16,55 lần/chu kỳ. Như vậy, kết quả ở nghiên cứu này cho số chồi lớn trong thời gian ngắn hơn nghiên cứu của Zhang và cs (2013), và có hệ số nhân chồi lớn hơn kết quả nghiên cứu của Bùi Văn Thắng và cs (2016).



Hình 2. CT3 bổ sung 1,0 mg/l BAP

Nồng độ BAP 1,0 mg/l tốt nhất ở thí nghiệm 1 được kết hợp với Kinetin với các nồng độ khác nhau. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP 1,0 mg/l kết hợp với Kinetin có nồng độ từ 0,2 - 1,0 mg/l (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP kết hợp với Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi Đảng sâm bắc sau 4 tuần nuôi cấy

tuan nuoc cay					
Công thức (CT)	Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ kinetin (mg/l)	Số mẫu	Hệ số nhân chồi (lần)	Hình thái chồi
CT1 (ĐC)	1,0	0	45	17,56	Chồi tốt
CT2		0,2	45	12,75	Chồi tốt
CT3		0,4	45	14,87	Chồi tốt
CT4		0,6	45	8,07	Chồi tốt
CT5		0,8	45	4,60	Chồi trung bình
CT6		1,0	45	3,11	Chồi kém
LSD _{0,05}				0,70	
CV%				3,8	

(Môi trường nền: MS + 25 g/l đường sucrose + 5,5 g/l agar, pH 5,8)

Chồi tốt: xanh, khoẻ; chồi trung bình: xanh, mỏng nước; chồi kém: vàng, mỏng nước.

Với giá trị $LSD_{0,05}$ đạt 0,70 thì các công thức có sự sai khác nhau có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%. Như vậy, khi kết hợp BAP 1,0 mg/l với kinetin 0,2 mg/l cho hệ số nhân chồi là 12,75 lần; kết hợp với kinetin 0,4 hệ số nhân chồi tăng lên 14,87 lần (hình 4); khi tăng nồng độ Kinetin lên 0,6 - 0,8 mg/l thì hệ số nhân chồi không tăng mà bị giảm xuống lần lượt là 8,07

lần, 4,60 lần và 3,11 lần, đồng thời chồi có hiện tượng bị mỏng nước. Tuy nhiên khi kết hợp BAP với kinetin ở các nồng độ khác nhau không cho kết quả tốt hơn công thức đối chứng chỉ sử dụng BAP 1,0 mg/l. Hệ số nhân chồi cao nhất ở CT1 (Đối chứng) với nồng độ BAP 1,0 mg/l không có sự kết hợp với Kinetin đạt hệ số nhân chồi 17,56 lần (hình 3).



Hình 3. Đang sâm Bắc ở môi trường nhân nhanh bổ sung BAP 1,0 mg/l (CT1-ĐC)



Hình 4. Đang sâm Bắc ở môi trường nhân nhanh bổ sung BAP 1,0 mg/l + Kinetin 0,4 mg/l (CT3)

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của Đang sâm Bắc

Ra rễ là khâu cuối cùng của giai đoạn nhân giống *in vitro*. Chất kích thích sinh trưởng được dùng chủ yếu của giai đoạn này thuộc nhóm auxin. Các chồi tạo thành đạt tiêu chuẩn sẽ được tách ra đưa vào môi trường kích thích tạo rễ. Mẫu sau thời gian theo

dõi nhân nhanh sẽ được tách riêng từng chồi và đưa vào môi trường có bổ sung NAA để theo dõi khả năng ra rễ. Các chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ mẫu ra rễ và chất lượng rễ.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng NAA đến khả năng ra rễ của chồi Đang sâm Bắc được tổng hợp ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của Đang sâm Bắc sau 4 tuần nuôi cấy

Công thức (CT)	Nồng độ NAA (mg/l)	Tổng số mẫu theo dõi (mẫu)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chất lượng rễ
CT1	0,0	45	48,89	Rễ kém
CT2	0,5	45	95,55	Rễ tốt
CT3	1,0	45	77,78	Rễ tốt
CT4	1,5	45	68,89	Rễ trung bình
CT5	2,0	45	57,78	Rễ trung bình
LSD _{0,05}			6,88	
CV%			5,2	

(Môi trường nền: MS + 20 g/l đường succrose + 5,5 g/l agar, pH 5,8)

Rễ tốt: Rễ dài, nhiều lông hút; rễ trung bình: Rễ ngắn, nhiều lông hút; rễ kém: Rễ ngắn, nhỏ, ít lông hút.

Kiểm tra thống kê cho giá trị LSD_{0,05} = 6,88; CV%=5,2 có nghĩa tỷ lệ ra rễ ở các công thức thực sự khác nhau và có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%. Kết quả nghiên cứu nhận thấy NAA có tác dụng trong việc tạo rễ cây Đang sâm Bắc, tỷ lệ ra rễ từ 48,89% đến 95,55%. Nồng độ NAA 0,5 mg/l cho tỷ lệ ra rễ tốt nhất là 95,55%, chất lượng rễ tốt, rễ dài, nhiều lông hút (hình 5a). Tăng nồng độ NAA lên 1,0-2,0 mg/l thì tỷ lệ ra rễ giảm từ 77,78% xuống 57,78%, chất lượng rễ trung bình.

Điều này có thể lý giải là do NAA có tác dụng chính trong sự sinh trưởng của rễ, bổ sung NAA với nồng độ thấp giúp kích thích rễ phát triển, tuy nhiên nồng độ cao có thể dẫn tới ức chế, làm giảm tỷ lệ tạo

rễ và chất lượng rễ. Kết quả của nghiên cứu phù hợp với kết quả nghiên cứu của De Klerk (1999) cho rằng nồng độ auxin quá cao có tác động ngăn cản sự phát triển của rễ.

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ của Đang sâm Bắc

Cùng với NAA, IBA là chất điều hòa sinh trưởng tổng hợp điển hình của nhóm auxin. Nhiều nghiên cứu cho thấy, sử dụng IBA trong môi trường ra rễ đạt kết quả tốt hơn NAA. Vì vậy, tiếp tục tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ Đang sâm Bắc *in vitro*. Tương tự như thí nghiệm NAA, IBA được đưa vào môi trường với nồng độ 0-2,0 mg/l.

Bảng 4. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ của Đảng sâm Bắc (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức (CT)	Nồng độ IBA (mg/l)	Tổng số mẫu (mẫu)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Hình thái rễ
CT 1	0,0	45	48,89	Rễ kém
CT 2	0,5	45	64,45	Rễ trung bình
CT 3	1,0	45	82,22	Rễ tốt
CT 4	1,5	45	91,11	Rễ tốt
CT 5	2,0	45	73,33	Rễ trung bình
LSD _{0,05}			6,68	
CV%			4,9	

(Môi trường nền: MS + 20 g/l đường succrose + 5,5 g/l agar, pH 5,8)

Rễ tốt: Rễ dài, nhiều lông hút; rễ trung bình: Rễ ngắn, nhiều lông hút; rễ kém: Rễ ngắn, nhỏ, ít lông hút.

Bảng 4 cho thấy kết quả phân tích cho giá trị LSD_{0,05} = 6,68, CV% = 4,9 cho thấy số tỷ lệ ra rễ ở các công thức khác nhau có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%. Có thể kết luận rằng, khi bổ sung IBA với nồng độ 0,5 - 1,5 mg/l vào môi trường tỷ lệ ra rễ tăng từ 64,45 - 91,11%, trong đó công thức CT4 bổ sung IBA 1,5 mg/l đạt tỷ lệ ra rễ cao nhất là 91,11% (hình 5b). Tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ IBA lên 2,0 mg/l thì

tỷ lệ ra rễ không tăng mà có xu hướng bị giảm xuống còn 73,33%. Như vậy khi nồng độ IBA tăng cao quá ngưỡng sẽ dẫn đến ức chế sự hình thành rễ của chồi Đảng sâm Bắc.

So sánh giữa các môi trường nuôi cấy có IBA và NAA, nhóm nghiên cứu nhận thấy các môi trường có bổ sung NAA 0,5 mg/l cho tỷ lệ chồi ra rễ cao hơn công thức bổ sung IBA 1,5 mg/l.



a. NAA 0,5 mg/l



b. IBA 2,0 mg/l

Hình 5. Ảnh hưởng của NAA và IBA đến kết quả ra rễ chồi Đảng sâm Bắc

4. KẾT LUẬN

- Môi trường nhân nhanh chồi Đảng sâm MS có bổ sung 1,0 mg/l BAP + 25 g/l đường succrose 5,5 g/l agar cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 17,56 lần/chu kỳ nhân.

- Môi trường ra rễ Đảng sâm gồm MS bổ sung 0,5 mg/l NAA + 20 g/l đường succrose 5,5 g/l agar cho tỷ lệ mẫu ra rễ cao nhất đạt 95,5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Triệu Anh (2011). *Y dược học Trung Hoa*, NXB Y học.

2. Lê Thị Diên, Lê Thái Hùng, Trần Nam Thắng, Phan Thị Tú (2013). Xây dựng khóa định loại một số loài trong chi Đảng sâm (Codonopsis). Tạp chí Rừng và Môi trường, tr. 38-44.

3. Phạm Thanh Huyền (2016). Báo cáo tổng hợp kết quả KH&CN nhiệm vụ “*Khai thác và phát triển nguồn gen Hà thủ ô đỏ và Đảng sâm Việt Nam làm nguyên liệu sản xuất thuốc*”, NVQG-2011/10, Bộ Khoa học và công nghệ.

4. Muraghige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay, with tobacco tissue culture. *Physiol plant*, 15: 473 - 496.

5. Sách đỏ Việt Nam (2007). Phần thực vật - Thomson bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học và công nghệ Lâm nghiệp, số 4 - 2016. Trang 152.
6. Hoàng Thị Sản (2009). *Phân loại học thực vật*, NXB Giáo dục.
7. Bùi Văn Thắng, Cao Thị Việt Hà, Vùi Văn Kiên, Nguyễn Văn Việt (2016). Nhân giống cây Đắng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học và công nghệ Lâm nghiệp, số 4 - 2016.
8. Zhang Y, Gao S, Du T, Chen H, Wang H, Zhu T, and Zang J (2013). "Direct multiple shoot induction and plant regeneration from dormant buds of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.", *African journal of Biotechnology* 10(51):10509 – 10515.

STUDY ON THE EFFECTS OF SOME GROWTH STIMULANTS ON THE CULTIVATING POSSIBILITY *IN VITRO* OF *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.

Tran Van Chi¹, Cao Thi Mai Phuong², Ngo Thi Ngan², Tran Thi Thu Ha^{2*}

¹ Thai Nguyen University of Agriculture & Forestry.

² Institute of Research & Forestry Development - Thai Nguyen University of Agriculture & Forestry.

Summary

This article presents the research results on the effect of growth stimulants (BAP, BAP combines Kinetin, NAA and IBA with different concentration) on *in vitro* culture of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. The results show that the shoot segments transplanted in MS medium (Murashige and Skoog) supplement with 1.0 mg/l BAP for the highest shoot multiplier of 17.56 times/multiplication cycle. The well-formed shoots are separated and placed into a root-stimulating medium. Among these, the medium supplemented with 0.5 mg / l NAA gives the highest rooting sample rate of 95.55%.

Keywords: *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., *in vitro*, growth stimulant.

Người phản biện: PGS.TS. Bùi Văn Thắng

Ngày nhận bài: 2/11/2020

Ngày thông qua phản biện: 2/12/2020

Ngày duyệt đăng: 10/12/2020