

ĐÁNH GIÁ SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỦA MỘT SỐ DÒNG ĐAN SÂM (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) TỪ BỘI THỂ

Trần Ngọc Thanh¹*, Đinh Thanh Giảng¹, Trần Thị Trang¹,
Trần Thị Kim Dung¹, Nguyễn Thị Xuyên¹, Nguyễn Thị Mai Phương¹,
Lô Đức Việt¹, Nguyễn Văn Tâm¹, Nguyễn Thị Hà Ly¹

TÓM TẮT

Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) là một loại thảo dược quan trọng, được sử dụng chủ yếu để điều trị bệnh tim mạch. Mười dòng tứ bội đã được tạo ra bằng phương pháp xử lý colchicine từ nghiên cứu trước. Nghiên cứu này, tiến hành đánh giá 10 dòng tứ bội thể cùng 1 mẫu đối chứng nhị bội tại Tam Đảo. Có sự khác biệt đáng kể về năng suất và hàm lượng hoạt chất giữa các dòng tứ bội thể cũng như so với dòng nhị bội. Khi thu hoạch dòng ĐS7 có các thông số năng suất như chiều dài rễ 37,81 cm, đường kính rễ 1,96 cm, năng suất thực thu 2,57 tấn/ha, năng suất khô của rễ 51,33 g/cây, hàm lượng hoạt chất tanshinon IIA (0,38%), axit salvianolic B (5,84%) đạt cao nhất, với dòng đối chứng nhị bội tăng năng suất trên 20%, hàm lượng tanshinon IIA tăng trên 90%, hàm lượng axit salvianolic B tăng trên 33% so với cây lưỡng bội thông thường. Kết quả nghiên cứu cho thấy, dòng đan sâm tứ bội thể ĐS7 có năng suất hoạt chất thể hiện kết quả tốt nhất so với các dòng tứ bội thể thu được và cao hơn so với dòng đối chứng. Đây là kết quả nghiên cứu bước đầu trên 10 dòng tứ bội thể, vì vậy cần có những nghiên cứu tiếp theo tạo ra nhiều dòng đa bội thể hơn để phục vụ công tác tuyển chọn giống đan sâm đa bội thể ở Việt Nam.

Từ khóa: Đan sâm, tứ bội thể, năng suất, tanshinon IIA, axit salvianolic B.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thuốc đang có nhu cầu rất lớn vì tiêu thụ ngày càng phổ biến và ngày càng tăng trên toàn cầu. Các chương trình chọn giống thông thường phụ thuộc vào môi trường, dễ bị ảnh hưởng bởi các điều kiện bất lợi sinh học và phi sinh học cũng như hàm lượng chất chuyển hóa thứ cấp quá thấp để thu hoạch. Trong bối cảnh này, việc phát triển các cá thể đa bội nhân tạo là cách tiếp cận đáng chú ý để tăng cường sức sống và đạt được mục tiêu trên. Các thể đa bội thường biểu hiện một số đặc điểm hình thái, có hình dạng lớn hơn và hàm lượng hoạt chất cao hơn so với các thể lưỡng bội.

Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) là một loại thảo dược quan trọng, được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền ở Trung Quốc. Rễ cây đan sâm chứa các hoạt chất có tác dụng giãn động

mạch vành, cải thiện chức năng tim, hạn chế nhồi máu cơ tim, cải thiện tuần hoàn ngoại vi, chống đông máu, hạ huyết áp, kháng khuẩn, an thần....[1]. Từ cây đan sâm đã tạo ra rất nhiều chủng loại thuốc Đông y, trong đó có dạng thuốc tiêm, viên nén xông van tim, viên nén xông dẫn tim... và nhiều loại thực phẩm chức năng. Nếu như năm 2002, nhu cầu đan sâm trên thế giới mới chỉ ở mức khoảng 10.000 tấn/năm thì nay con số đã lên tới hơn 20.000 tấn/năm [2]. Cho đến nay, các thành phần hóa học của đan sâm đã cũng được xác định, trong đó có hơn 30 hợp chất lipophilic có một cấu trúc diterpene chinone (tanshinone I-VI, cryptotanshinone, isotanshinone I-II, Danshenol A...) và hơn 50 hợp chất ưa nước mà chủ yếu có cấu trúc axit phenolic (Danshensu, axit salvianolic A, axit salvianolic B, aldehyde protocatechuic...) [3].

Các yếu tố chịu trách nhiệm về hàm lượng chất chuyển hóa thứ cấp có trong cây thuốc bao

¹ Viện Dược liệu

* Email: tranngocthanh12@gmail.com

gồm: Kiểu gen, địa lý, khí hậu và thời kỳ thu hoạch... Đa bội thể có vai trò quan trọng trong thúc đẩy chuyển hóa. Cây đa bội không chỉ thể hiện khả năng vượt trội hình dạng và kích thước lớn mô sinh dưỡng, hoa, chống lại các điều kiện bất lợi sinh học và phi sinh học so với cây nhị bội [4] mà còn tạo ra hàm lượng các hoạt chất lớn [5, 6]. Cây đa bội thường lớn hơn so với cây nhị bội có thể là lý do để tăng sinh khối hoặc năng suất sản phẩm [7, 8]. Kaensaksiri (2011) [9] đã tạo cây tứ bội rau má (*Centella asiatica*) và cho thấy sự gia tăng 11% triterpen trong cây tứ bội so với nhị bội đối chứng. Gao và cs (2002) [10], chỉ ra khối lượng khô của rễ dòng D-20 tứ bội của hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis*), cho hàm lượng *baicalin* vượt trội so với đối chứng. Heping và cs (2008) [8], kết luận giảm hàm lượng diosgenin trên mỗi gram khối lượng trong hầu hết các cây tứ bội 2 tuổi so với các đối chứng, nhưng năng suất diosgenin tổng thể của mỗi cây cao hơn vì khối lượng thân rễ tối đa của chúng lớn hơn. Gao và cs (1995) [11] đã công bố tạo ra được 20 dòng cây đơn sâm tứ bội, hầu hết chúng có rễ, thân, lá lớn và phát triển mạnh, nhưng hàm lượng thành phần hóa học của chúng không cao, trong đó chỉ có dòng 61-2-22 là dòng cho hàm lượng dược tính cao nhất. Dòng 61-2-22 có năng suất và hàm lượng dược chất cao, đáp ứng được kỳ vọng. Hàm lượng tanshinone IIA trung bình là 0,3155, cao hơn 53,16% so với hàm lượng 0,206 của cây nhị bội ban đầu và năng suất của các nguyên liệu làm thuốc cao hơn 71,1% so với các cây nhị bội ban đầu [2]. Năm 2018 - 2020, Viện Dược liệu đã tiến hành thực hiện đề tài “Nghiên cứu tạo một số dòng đa bội thể ở giống Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) bằng xử lý colchicine”, kết quả đã tạo ra được 10 dòng đơn sâm đa bội thể và đây cũng là một trong những nghiên cứu về đa bội thể đầu tiên trên cây dược liệu tại Việt Nam. Chính vì vậy, đánh giá đặc điểm sinh trưởng, năng suất và chất lượng các dòng đơn sâm đa bội là cần thiết nhằm chọn lọc được dòng ưu tú phục vụ sản xuất dược liệu bền vững.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 10 dòng đơn sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) đa bội thể có nguồn

gốc từ xử lý colchicine do Trung tâm Nghiên cứu nguồn gen và Giống dược liệu Quốc gia, Viện Dược liệu cung cấp.

Vật liệu: Cây nuôi cấy *in vitro* từ 10 dòng đơn sâm.

Hóa chất: Chất chuẩn tanshinon IIA, chất chuẩn salvianolic axit B, dung dịch CyStain UV, acetonitril, cồn 700, phân bón, vật tư nông nghiệp...

Máy móc, vật tư: máy Flow Cytometry (Sysmex, Đức), màng lọc partec 30 µm CellTrics (Đức), máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC-20A (Nhật Bản).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm: 10 dòng đơn sâm đa bội thể cùng với đối chứng được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ, mỗi dòng trồng theo từng ô riêng biệt, lặp lại 3 lần trên diện tích 360 m².

Các biện pháp, kỹ thuật áp dụng của Viện Dược liệu [12]

+ Thời vụ nghiên cứu: Tháng 3.

+ Đất trồng: Đất được cày bừa kỹ, nhặt sạch cỏ dại, cày sâu 25 - 30 cm, lên luống cao 30 - 35 cm, rộng 70 - 80 cm.

+ Mật độ, khoảng cách trồng: 30 x 30 cm (mật độ 75.000 cây/ha sau khi trừ rãnh).

+ Phân bón: 20 tấn phân chuồng + 200 kg N + 100 kg P₂O₅ + 80 kg K₂O (tương ứng 434 kg urê + 625 kg super lân + 134 kg kali clorua). Bón lót toàn bộ phân hữu cơ vi sinh và lân, trộn đều. Bón thúc đợt 1: Sau trồng 1 tháng, bón ¼ lượng đạm urê; đợt 2: Sau đợt 1, 30 - 40 ngày, bón thúc ¼ lượng đạm; đợt 3: Sau đợt 2, 40 - 50 ngày bón ¼ lượng đạm và ½ lượng kali; đợt 4: Sau đợt 3, 40 - 50 ngày bón nốt lượng phân còn lại.

+ Kỹ thuật trồng: Trồng ngập phần rễ cây, cách lá gốc 1 cm, ấn chặt gốc, tưới nước giữ ẩm.

+ Chăm sóc: Làm cỏ kết hợp xới xáo phá vầng, bón thúc cho cây. Có biện pháp phòng trừ bệnh phù hợp.

+ Thu hoạch: Khi cây úa vàng, tàn lụi, thu hoạch vào ngày khô ráo, đào xung quanh gốc sau đó đào vào gốc, lưu ý tránh làm đứt gãy.

Chỉ tiêu theo dõi:

+ Thời gian sinh trưởng (ngày), chiều cao cây (cm), chiều dài lá (cm), chiều rộng lá (cm), số lá/cây (lá), đường kính tán (cm).

+ Các chỉ tiêu về năng suất: Số nhánh rễ củ/cây (nhánh), chiều dài rễ (cm), đường kính rễ (cm), năng suất cá thể (g), tỷ lệ tươi/khô, năng suất lý thuyết (tấn/ha), năng suất thực thu (tấn/ha), năng suất hoạt chất (kg/ha).

+ Các chỉ tiêu về chất lượng: Định lượng tanshinon IIA (%) và axit salvianolic B (%) bằng phương pháp phân tích sắc ký lỏng cao năng (HPLC)

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016, Irristart version 5.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Một số tính trạng số lượng về thân, lá các dòng đan sâm đa bội thể

TT	Dòng	Bắt đầu đẻ nhánh (ngày)	Ra hoa (ngày)	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây cuối cùng (cm)	Số lá/cây (lá)	Số nhánh (nhánh)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Đường kính tán (cm)
1	ĐS1	53	108	287	45,42	68,62	6,0	8,20	6,33	35,33
2	ĐS2	60	192	310	43,03	45,42	6,0	7,90	7,42	26,33
3	ĐS3	52	108	280	47,00	65,00	5,0	10,67	6,08	41,83
4	ĐS4	57	108	287	45,25	53,42	6,0	7,08	5,83	29,17
5	ĐS5	55	193	310	46,02	52,40	6,0	7,07	7,25	26,83
6	ĐS6	47	97	280	48,92	61,20	6,0	11,53	5,67	40,58
7	ĐS7	56	108	287	45,92	52,12	6,0	6,08	6,58	27,92
8	ĐS8	52	105	287	45,17	50,22	5,0	7,00	4,97	31,42
9	ĐS9	58	120	293	47,67	60,20	5,0	7,98	4,25	33,75
10	ĐS10	60	126	300	48,58	62,78	5,0	8,92	5,33	37,83

3.1. Đánh giá sinh trưởng, đặc điểm hình thái của các dòng sâm đa bội thể

Thời gian từ trồng - bắt đầu đẻ nhánh: Là thời gian cây bắt đầu sinh trưởng sinh dưỡng mạnh, đan sâm đối chứng bắt đầu đẻ nhánh sau 53 ngày trồng, dòng đẻ nhánh sớm hơn (ĐS6, ĐS8), dòng ĐS2 và dòng ĐS10 có thời gian bắt đầu đẻ nhánh muộn (60 ngày).

Thời gian từ trồng - ra hoa: Là thời gian cây bắt đầu bước vào thời kỳ sinh trưởng sinh sản. Các dòng đan sâm đa bội 97 - 193 ngày, đối chứng 110 ngày, có sự dao động lớn về thời gian ra hoa.

Thời gian từ trồng - thu hoạch: Thời gian thu hoạch được liệu các dòng đan sâm dao động 280 - 310 ngày, trong đó đối chứng thu hoạch muộn nhất, các dòng ĐS3, ĐS6 cho thời gian thu hoạch sớm nhất (Bảng 1).

TT	Dòng	Bắt đầu đẻ nhánh (ngày)	Ra hoa (ngày)	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây cuối cùng (cm)	Số lá/cây (lá)	Số nhánh (nhánh)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Đường kính tán (cm)
11	Đối chứng	53	110	310	48,52	62,72	6,0	9,00	5,33	39,42
<i>LSD_{0,05}</i>		-	-	-	2,48	5,55	0,92	1,51	0,52	1,09
<i>CV%</i>		-	-	-	6,9	5,7	9,4	10,7	5,1	1,9

Hình thái là các tính trạng đặc trưng có thể dễ dàng phân biệt các dòng/giống. Những đặc điểm này có những ảnh hưởng nhất định đến một số đặc tính như: Khả năng chống chịu với các điều kiện bất thuận của môi trường hay khả năng chống chịu với sâu, bệnh hại.

Chiều cao cây các dòng đơn sâm dao động 43,03 - 48,92 cm, cao nhất là dòng ĐS6 (48,92 cm) và thấp nhất là ĐS2 (43,03 cm), dòng đối chứng 48,52 cm. Các dòng đơn sâm có màu sắc thân từ xanh nhạt đến xanh đậm.

Số lượng lá trên cây cùng với diện tích tiếp xúc của lá với ánh sáng mặt trời có mối tương quan tới năng suất cây trồng nói chung và cây đơn sâm nói riêng. Số lá các dòng đơn sâm dao động rất lớn, từ 45,42 - 68,62 lá/cây. Lá các dòng đơn sâm dày hơn, phiến lá gồ ghề, lá hình trứng hoặc bầu dục, trong khi đó dòng đơn sâm đối chứng lá mỏng, mặt lá ít gồ ghề hơn, lá hình bầu dục. Chiều dài các lá dao động 6,08 - 11,03 cm, chiều rộng lá dao động 4,25 -

7,25 cm.

Số nhánh các dòng đơn sâm dao động 5 - 6 nhánh, có sự sai khác số nhánh giữa các dòng ĐS1, ĐS2, ĐS4, ĐS5, ĐS6, ĐS7 và đối chứng với các dòng ĐS3, ĐS8, ĐS9, ĐS10 ở độ tin cậy 95%. Đường kính tán một số dòng lớn như ĐS3 (41,83 cm), ĐS6 (40,58 cm). Những kết quả này phù hợp với các quan sát ở *Lavandula angustifolia* [13]. Thực vật có mức độ bội tăng lên đôi khi được biểu hiện rõ ràng bởi hình thái riêng biệt của chúng. Sự tăng mức độ bội thể thường làm tăng kích thước tế bào, do đó làm cho lá dày hơn, rộng hơn. Các chồi thường dày hơn và có thể có các lông ngắn hơn và góc đáy rộng hơn.

Cụm hoa đơn sâm đa bội mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sít nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm. Quả bế, đầu tù, hạt màu nâu đen.

Bảng 2. Đặc điểm hình thái thân, lá và hoa các dòng đơn sâm đa bội thể

TT	Dòng	Màu sắc thân	Đặc điểm lá	Đặc điểm hoa	Đặc điểm quả, hạt
1	ĐS1	Xanh nhạt	Có 3 lá chét hình trứng tròn, phiến lá gồ ghề không bằng phẳng	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sít nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

TT	Dòng	Màu sắc thân	Đặc điểm lá	Đặc điểm hoa	Đặc điểm quả, hạt
2	ĐS2	Xanh đậm	Có 3 lá chét hình trứng tròn, phiến lá gồ ghề không bằng phẳng. Lá chét chính to vượt trội hơn lá chét phụ	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
3	ĐS3	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục, mép lá răng cưa, đỉnh lá chét nhọn. Phiến lá hơi gồ ghề	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
4	ĐS4	Xanh đậm	Có 5 lá chét hình trứng tròn mép lá răng cưa, gân lá nổi rõ rệt, phiến lá hơi gồ ghề	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
5	ĐS5	Xanh đậm	Có 1 lá chét hình trứng tròn	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
6	ĐS6	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
7	ĐS7	Xanh đậm	Có 3 - 5 lá chét hình trứng chóp tròn, phiến lá gồ ghề không bằng phẳng	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

TT	Dòng	Màu sắc thân	Đặc điểm lá	Đặc điểm hoa	Đặc điểm quả, hạt
8	ĐS8	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục, mép lá răng cưa, đỉnh lá chét tù	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
9	ĐS9	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục, mép lá răng cưa, đỉnh lá chét tù	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
10	ĐS10	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục, mép lá răng cưa, đỉnh lá chét tù	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen
11	Đối chứng	Xanh nhạt	Có 3 - 5 lá chét hình bầu dục, mép lá răng cưa, đỉnh lá chét nhọn	Cụm hoa mọc ở đầu ngọn thành bông, nhiều vòng sát nhau ở ngọn, mỗi vòng có 3 - 10 hoa màu tím nhạt, đài chia 2 môi, môi trên nguyên, môi dưới xẻ 2 thùy, tràng 2 môi, cong hình lưỡi liềm	Quả bế, đầu tù, hạt nâu đen

Các dòng đàn sâm đều có đặc điểm như rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, mặt ngoài màu nâu đỏ. Số nhánh dao động 5,00 - 9,67 nhánh, có sự sai khác về số lượng nhánh củ của các dòng đàn sâm đa bội thể với đối chứng (13,33 nhánh).

Bảng 3. Đặc điểm rễ các dòng đàn sâm đa bội thể

TT	Dòng	Số nhánh rễ/cây (nhánh)	Chiều dài rễ (cm)	Đường kính rễ (cm)	Đặc điểm rễ
1	ĐS1	5,00	24,73	1,38	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
2	ĐS2	8,00	31,77	1,63	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, mập, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

3	ĐS3	5,33	30,83	1,56	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
4	ĐS4	6,00	30,46	1,51	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
5	ĐS5	8,00	27,88	1,48	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
6	ĐS6	9,00	31,50	1,54	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
7	ĐS7	6,00	37,81	1,97	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, mập, có phân nhánh, mặt ngoài đỏ nâu
8	ĐS8	9,67	26,95	1,39	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
9	ĐS9	8,00	26,00	1,43	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
10	ĐS10	9,00	25,17	1,39	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
11	Đối chứng	13,33	25,58	1,33	Thân rễ cứng, chắc, hình trụ dài, có phân nhánh, vỏ ngoài đỏ nâu
<i>LSD_{0,05}</i>		<i>1,07</i>	<i>1,96</i>	<i>0,07</i>	-
<i>CV%</i>		<i>7,9</i>	<i>4,0</i>	<i>2,9</i>	-

Chiều dài rễ các dòng đàn sâm đa bội dao động 24,73 - 37,81 cm, trong đó dòng ĐS7 có chiều dài dài nhất (37,81 cm), dòng đàn sâm đối chứng có rễ chính dài 25,58 cm. Đường kính thân rễ dao động 1,38 - 1,96 cm, dòng đàn sâm đối chứng 1,33 cm. Một số dòng có đường kính >1,5 cm như: ĐS7, ĐS6,

ĐS4, ĐS3, ĐS2. Nhìn chung, bộ rễ của các cây đàn sâm tứ bội có kích thước lớn hơn so với cây nhị bội. Kết quả nghiên cứu của cũng tương tự các kết quả công bố trước đó của Gao và cs (1995) [11].

3.2. Đánh giá năng suất các dòng sâm đa bội thể

Bảng 4. Năng suất và chất lượng các dòng đàn sâm đa bội thể

TT	Dòng	Khối lượng củ khô (g)	Tỷ lệ tươi/khô	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
1	ĐS1	47,67 ^{bc}	4,25	3,63	2,36 ^c
2	ĐS2	54,38 ^a	4,32	4,07	2,52 ^{ab}
3	ĐS3	49,37 ^{ab}	4,35	3,69	2,49 ^{ab}

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

4	ĐS4	47,20 ^{bc}	4,25	3,57	2,43 ^{bc}
5	ĐS5	46,57 ^c	4,21	3,49	2,25 ^d
6	ĐS6	47,48 ^{bc}	4,34	3,55	2,38 ^c
7	ĐS7	51,33 ^a	4,07	3,84	2,57 ^a
8	ĐS8	47,68 ^{bc}	4,10	3,57	2,17 ^{de}
9	ĐS9	46,86 ^c	4,27	3,54	2,20 ^d
10	ĐS10	46,44 ^c	4,25	3,46	2,21 ^d
11	Đối chứng	45,56 ^c	4,16	3,44	2,10 ^e
<i>LSD</i> _{0,05}		2,46	-	-	0,10
<i>CV%</i>		3,0	-	-	2,7

Ghi chú: Trong cùng một cột, những số có chữ cái theo sau khác nhau thì có sai khác ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Bảng 4 cho thấy, khối lượng củ khô các dòng đàn sâm tứ bội dao động 46,44 - 54,38 g. Các dòng đàn sâm tứ bội đều có khối lượng củ khô lớn hơn so với đối chứng (45,56 g). Trong đó, khối lượng củ khô dòng ĐS2 (54,38 g) và ĐS7 (51,33 g) cao nhất và sai khác có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với đối chứng. Tỷ lệ tươi/khô các dòng dao động 4,07 - 4,35.

Năng suất thực thu các dòng đàn sâm đa bội dao động 2,17 - 2,57 tấn/ha, đối chứng 2,10 tấn/ha. Dòng ĐS7 có năng suất thực thu cao nhất 2,57 tấn/ha; tiếp đến là ĐS2: 2,52 tấn/ha. Một số dòng còn lại có năng suất >2,3 tấn như: ĐS1, ĐS3, ĐS4, ĐS6.

Sự biến đổi di truyền các tính trạng góp phần nâng cao năng suất, là yêu cầu cơ bản của người trồng trọt để bố trí kỹ thuật, chăm sóc nhằm tăng sản lượng. Do vậy, phân tích hệ số tương quan giữa các tính trạng cấu thành năng suất để làm cơ sở trong việc đánh giá, chọn lọc kiểu gen ưu việt trong chọn tạo giống cây trồng. Hệ số tương quan giữa một số tính trạng được thể hiện ở bảng 5. Theo đó, năng suất thực thu có tương quan thuận với chiều dài rễ, đường kính rễ và khối lượng rễ khô (r lần lượt là 0,82, 0,73 và 0,79), những tính trạng này tương quan chặt - rất chặt với năng suất. Do đó, muốn tăng năng suất cần tăng kích thước của thân rễ như chiều dài và đường kính thân rễ.

Bảng 5. Tương quan một số tính trạng và năng suất đàn sâm đa bội thể

	CDR	ĐK	KLR	TLTK	NSLT	NSTT
CDR	1,00					
ĐK	0,96	1,00				
KLR	0,65	0,63	1,00			
TLTK	-0,10	-0,21	0,12	1,00		
NSLT	0,65	0,63	1,00	0,12	1,00	
NSTT	0,82	0,73	0,79	0,23	0,79	1,00

Ghi chú: CDR: Chiều dài rễ, ĐK: Đường kính, KLR: Khối lượng rễ, TLTK: Tỷ lệ tươi khô, NSLT: Năng suất lý thuyết, NSTT: Năng suất thực thu

3.3. Đánh giá chất lượng dược liệu các dòng sâm đa bội thể

Chất lượng dược liệu đan sâm được quy định bởi Dược điển Việt Nam V, theo đó hàm lượng Tashinon IIA không được thấp hơn 0,2% và hàm lượng salvianolic acid B không thấp hơn 3,0%.

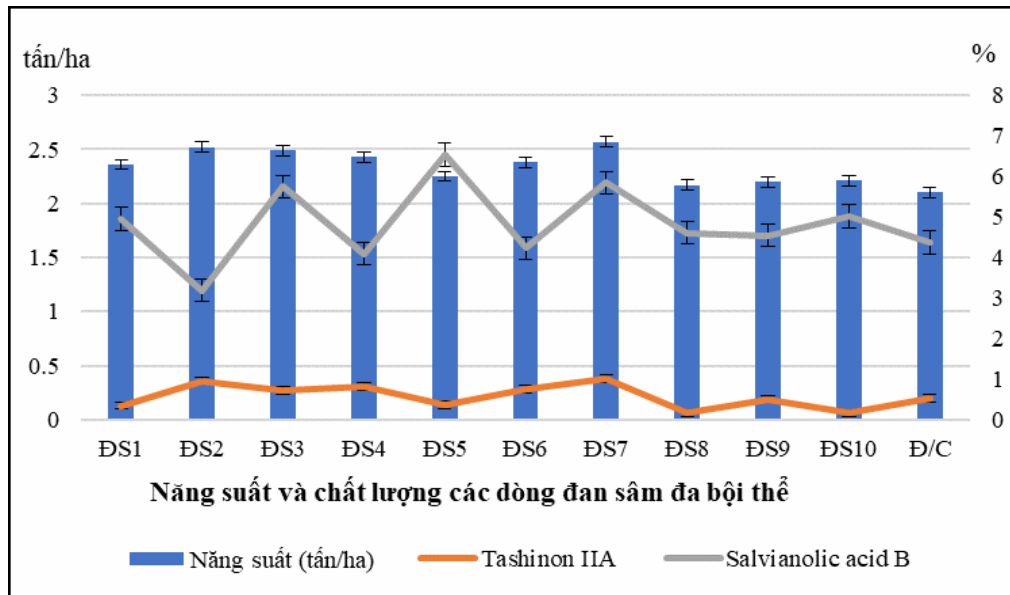
Theo đó, một số dòng đan sâm có hàm lượng Tashinon IIA không đạt Dược điển như: ĐS1, ĐS5, ĐS8, ĐS9, ĐS10 và dòng đối chứng. Các dòng đan sâm có hàm lượng Tashinon IIA khá cao như: ĐS7 (0,38%), ĐS2 (0,36%), ĐS4 (0,31%); ĐS3 (0,27%), ĐS6 (0,28%).

Bảng 6. Chất lượng dược liệu các dòng đan sâm đa bội thể

TT	Dòng	Tashinon IIA		Salvianolic axit B	
		Hàm lượng (%)	Tăng/giảm so với đối chứng (%)	Hàm lượng (%)	Tăng/giảm so với đối chứng (%)
1	ĐS1	0,13	-35,00	4,95	13,27
2	ĐS2	0,36	80,00	3,19	-27,00
3	ĐS3	0,27	35,00	5,75	31,58
4	ĐS4	0,31	55,00	4,09	-6,41
5	ĐS5	0,14	-30,00	6,54	49,66
6	ĐS6	0,28	40,00	4,23	-3,20
7	ĐS7	0,38	90,00	5,84	33,64
8	ĐS8	0,06	-70,00	4,61	5,49
9	ĐS9	0,19	-5,00	4,54	3,89
10	ĐS10	0,06	-70,00	5,01	14,65
11	Đối chứng	0,20	-	4,37	-

Về hàm lượng salvianolic axit B, tất cả các dòng đan sâm đều đạt so với Dược điển Việt Nam V, dao động 3,19 - 6,54%. Dòng có hàm lượng salvianolic axit B cao nhất là ĐS5, tiếp đến là ĐS7 và ĐS3.

Dựa vào mục tiêu chọn lọc là năng suất và hàm lượng hoạt chất, chọn lọc được dòng ĐS7 có tiềm năng năng suất khô 2,57 tấn/ha, hàm lượng tanshinon IIA 0,38% và hàm lượng salvianolic axit B 5,84% phục vụ sản xuất.



Hình 1. Năng suất và chất lượng dược liệu các dòng đơn sâm đa bội thể

4. KẾT LUẬN

Mười dòng đơn sâm đa bội và một dòng đối chứng nhị bội được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô, cây được trồng để đánh giá năng suất và hàm lượng hoạt chất. Dòng ĐS7 có năng suất cao nhất 2,57 tấn/ha cao hơn 20% so với đối chứng; hàm lượng tanshinon IIA 0,38% tăng hơn 90% so với đối chứng; hàm lượng salvianolic axit B 5,84% tăng hơn 33% so với đối chứng. Phương pháp tạo đa bội thể là một phương pháp thích hợp để nâng cao năng suất và chất lượng cây dược liệu đơn sâm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chang H. M., But P. (1986). Pharmacology and applications of Chinese materia medica. World Science, 1, 255 - 268.
- Luqi H, Lianniang L, Houwei L. (2015). Biology and chemistry. Yan, X. (Eds.) Dan Shen (*Salvia miltiorrhiza*) in medicine: Volume 1. Netherlands, Springer Publishing Co.
- Liu ZM, Xu SW, Liu PQ. (2018). *Salvia miltiorrhiza* Burge: A golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics. Acta Pharmacol Sin, 39, 802 - 824.
- Liu SY, Chen SM, Chen Y, Guan ZY, Yin DM, Chen FD. (2011). *In vitro* induced tetraploid

of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tzvel. Shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Sci. Hortic*, 127, 411 - 419.

- J. Iannicelli, M. A. Elechosa, M. A. Juárez, A. Martínez, V. Bugallo, A. L. Bandoni, A. S. Escandón, C. M. van Baren. (2016). Effect of polyploidization in the production of essential oils in *Lippia integrifolia*. Industrial Crops and Products, 81, 20 - 29.

- Zahedi AA, Hosseini B, Fattahi M, Dehghan E, Parastar H, Madani H. (2014). Overproduction of valuable methoxylated flavones in induced tetraploid plants of *Dracocephalum kotschy* Boiss. Bot. Stud, 55, 1 - 10.

- Adaniya S, Shirai D. (2001). *In vitro* induction of tetraploid ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its pollen fertility and germinability. Sci. Hortic. 88, 277 - 287.

- Heping H, Shanlin G, Lanlan C, Xiaoke J. (2008). *In vitro* induction and identification of autotetraploids of *Dioscorea zingiberensis*. In vitro Cell Dev. Biol.-Plant, 44, 448 - 455.

- Kaensaksiri (2011). *In vitro* induction of polyploidy in *Centella asiatica* (L.) Urban. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 107 (2), 187 - 194.

- Gao SL, Chen BJ, Zhu DN. (2002). In vitro production and identification of autotetraploids of

Scutellaria baicalensis. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 70, 289 - 293.

11. Gao SL, Zhu DN, Cao CH, Xu DR. (1995). The selective breeding and identification of excellent new strain of 61-2-22 in Danshen tetraploids. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 20, 333 - 335.

12. Viện Dược liệu (2022). *Cây đan sâm. Trong quy trình kỹ thuật nhân giống, trồng và sơ chế dược liệu theo GACP-WHO*. Nxb Nông nghiệp, tr. 136 - 147.

13. Maxted, N., Scholten, M., Codd, R., & Ford-Lloyd, B. (2007). Creation and use of a national inventory of crop wild relatives. *Biological Conservation*, 140 (1 - 2), 142 - 159. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.08.006>

ASSESSMENT OF THE GROWTH, YIELD AND ACTIVE COMPOUNDS CONTENT OF TETRAPLOIDIZATION *Salvia miltiorrhiza* Bunge CLONES

Tran Ngoc Thanh¹, Dinh Thanh Giang¹, Tran Thị Trang¹,
Tran Thị Kim Dung¹, Nguyen Thi Xuyen¹, Nguyen Thị Mai Phuong¹,
Lo Duc Viet¹, Nguyen Van Tam¹, Nguyen Thị Ha Ly¹

¹ National institute of Medicinal materials

Summary

Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) is an important medicinal plant used for the treatment of cardiovascular disease. Ten tetraploid danshen clones induced using colchicine in the previous study and 1 diploid control were evaluated in Tam Dao Vinh Phuc province. Tetraploid danshen clones exhibited either similar or shorter growth periods compared to that of the diploid control. There were significant differences in yield and active compounds content among tetraploid clones and the diploid. Among those tetraploid clones, ĐS7 showed potential in both yield and active compound contents, with over 20% higher yield, over 90% increase in tanshinon IIA and over 33% higher salvianolic B acid content. These preliminary results on 10 tetraploids of Danshen implies the production potentials of polyploid resources to support the breeding of polyploid Danshen varieties in Vietnam.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza* Bunge, tetraploid, yield, tanshinon IIA, acid salvianolic B.

Người phản biện: TS. Phùng Thị Thu Hà

Ngày nhận bài: 30/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/11/2023

Ngày duyệt đăng: 23/02/2024