



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003212

(51)⁷ **C12N 15/05; A01H 4/00**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00329

(22) 14/08/2019

(45) 25/07/2023 424

(43) 25/02/2021 395

(73) **TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH (VN)**
2374 quốc lộ 1, phường Trung Mỹ Tây, quận 12, thành phố Hồ Chí Minh

(72) Hà Thị Loan (VN); Lâm Vỹ Nguyên (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT SINH KHỐI RỄ TÓC SÂM NGỌC LINH (PANAX
VIETNAMENSIS HA ET GRUSHV.) TRÊN HỆ THỐNG PHẢN ỨNG SINH HỌC**

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học (Bioreactor) bao gồm các bước như sau: chuẩn bị nguồn nguyên liệu rễ tóc sâm Ngọc Linh trên môi trường thạch; nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời (Temporary Immersion System - TIS); nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống nuôi cấy phản ứng sinh học; và thu hoạch sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh. Rễ tóc sâm Ngọc Linh được thu hoạch sau 3 tháng nuôi cấy trong hệ thống phản ứng sinh học này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến lĩnh vực nuôi cấy mô thực vật, cụ thể là ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật trong việc sản xuất sinh khối cây dược liệu, cụ thể đề cập đến quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học (bioreactor).

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Đã biết, sâm Ngọc Linh hay sâm Việt Nam (tên khoa học *Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một trong 4 loài sâm quý của thế giới. Sâm này mọc tập trung ở vùng núi Ngọc Linh có đỉnh cao 2.578m thuộc địa phận hai tỉnh Quảng Nam và Kon Tum. Ngoài ra Sâm Ngọc Linh cũng được đi thực đến các nơi khác ngoài khu vực núi Ngọc Linh nhưng chưa mang lại hiệu quả. Việc trồng sâm gặp nhiều khó khăn do yêu cầu điều kiện canh tác, thời gian trồng lâu, sâu bệnh và công tác bảo quản... Do vậy Sâm Ngọc Linh cực kỳ quý hiếm và đứng trước nguy cơ tuyệt chủng do bị săn lùng ráo riết. Hiện nay giá bán loại sâm này khá cao từ 70 triệu đến 100 triệu cho 1 kg sâm tươi tùy theo độ tuổi nhưng khó mua và nguy cơ mua phải sâm giả.

Đã biết, việc ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật vào việc nhân sinh khối sâm Ngọc Linh đã được tiến hành tại Việt Nam. Cụ thể như:

- Bằng kỹ thuật nhân sinh khối tế bào, các nhà khoa học của Học viện Quân y đã bắt đầu sản xuất sâm Ngọc Linh với số lượng đáng kể trong khoảng 20 – 30 ngày.
- Nguyễn Thành Sum và cộng sự (Trường Đại học Công nghiệp TP. HCM) đã nghiên cứu tạo mô sẹo, sau đó tạo rễ bất định và nhân sinh khối rễ bất định.
- Dương Tấn Nhựt và cộng sự cũng đã thành công trong nghiên cứu tạo rễ bất định của loài sâm này. Tuy nhiên khả năng sinh trưởng cũng như hệ số tăng sinh khối của các dòng rễ bất định này còn rất khiêm tốn và cần phải sử dụng nhiều chất điều hoà sinh trưởng (Dương Tấn Nhựt và cộng sự, 2009).
- Nhóm nghiên cứu của Nguyễn Hữu Hổ đã nghiên cứu tạo rễ tóc nhưng các nghiên cứu này cũng chỉ dừng lại ở quy mô nhỏ, quy mô phòng thí nghiệm.

Đã biết, các nghiên cứu tạo rễ bất định và sản xuất sâm Ngọc Linh bằng nuôi tế bào dạng huyền phù có hệ số nhân thấp và ở quy mô phòng thí nghiệm chưa thể cho khối lượng lớn đáp ứng yêu cầu mong muốn. Và trong quá trình nuôi cấy đòi hỏi sử dụng chất kích thích sinh trưởng và có thể gây ảnh hưởng đến người sử dụng nếu còn tồn dư trong sản phẩm ...

Trung tâm Công nghệ sinh học Tp. HCM đã nghiên cứu tạo được 31 dòng rễ tóc sâm Ngọc Linh, một số dòng rễ có hệ số nhân lớn lên đến 20 lần sau 2 tháng nuôi cấy trong điều kiện không bổ sung chất kích thích sinh trưởng và nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học. Quy trình này cho phép sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh quy mô công nghiệp ở bất cứ nơi đâu được đầu tư các máy móc thiết bị nuôi cấy mô và hệ thống phản ứng sinh học và không cần bổ sung chất kích thích sinh trưởng.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích này là khắc phục được những nhược điểm của các quy trình sản xuất sinh khối sâm Ngọc Linh đã biết. Để đạt được mục đích đó, giải pháp hữu ích đề xuất quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học (Bioreactor). Quy trình này cho phép sản xuất số lượng lớn sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh mà không bị ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh (điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu, vùng địa lý), không sử dụng chất kích thích sinh trưởng để từ đó làm cơ sở để sản xuất các thực phẩm chức năng quy mô lớn, giá thành sản phẩm thấp và sản phẩm sẽ dễ dàng đến với người tiêu dùng. Quy trình này được thực hiện cụ thể như sau:

i. Chuẩn bị nguồn nguyên liệu rễ tóc sâm Ngọc Linh trên môi trường thạch: rễ tóc đã được nuôi 2 tháng trong chai nước biển hoặc trong bình tam giác, đĩa petri... được cắt thành các đoạn 1 – 2 cm cấy vào chai môi trường Schenk & Hildebrandt (môi trường SH) mới có bổ sung thạch với hàm lượng 8 gam/lít và không bổ sung chất điều hoà sinh trưởng; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; rễ tóc được cấy chuyển định kỳ 2 tháng 1 lần để lưu giữ nguồn mẫu;

ii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời (Temporary Immersion System – TIS): rễ tóc sau nuôi cấy 2 tháng trên môi trường thạch được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm cấy vào các hộp TIS có chứa 250 mL môi

trường SH đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút, thông số cài đặt 5 giờ bơm một lần, thời gian ngập 3 phút, quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C và khối lượng mẫu sâm Ngọc Linh ban đầu 3 gam;

iii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học: rễ tóc đã nuôi 2 tháng trên các hộp TIS được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm, sau đó cấy vào bình phản ứng sinh học, mỗi bình 100 gam rễ tóc; lượng khí đi vào bình tốt nhất là 0,5 mL/giây hoặc giai đoạn 20 ngày đầu 0,3 mL/giây, giai đoạn 2 là 0,5 mL/giây với ống dẫn khí có đường kính 1 cm; thể tích môi trường SH trong bình phản ứng sinh học là 8 lít, môi trường được khử trùng ở 121°C trong 20 phút; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; sau khi nuôi cấy 1 tháng, bổ sung thêm 4 lít môi trường SH đã khử trùng vào mỗi bình phản ứng sinh học để tăng khả năng phát triển của rễ tóc sâm Ngọc Linh;

iv. Thu hoạch sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh: rễ tóc sâm Ngọc Linh được thu hoạch sau 3 tháng nuôi cấy trong hệ thống bình phản ứng sinh học.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1. Rễ tóc sâm Ngọc Linh

Hình 2. Rễ tóc sâm Ngọc Linh nuôi cấy trên hệ thống ngập chìm tam thời – TIS

Hình 3. Rễ tóc sâm Ngọc Linh nuôi cấy trên hệ thống phản ứng sinh học

Hình 4. Sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Trong phạm vi của giải pháp hữu ích, quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học (Bioreactor) sẽ được bộc lộ rõ ràng thông qua các phương pháp thực hiện giải pháp hữu ích.

Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào trên môi trường thạch, trên hệ thống TIS và trên hệ thống phản ứng sinh học là kỹ thuật chuẩn và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật của giải pháp hữu ích. Môi trường SH (Schenk and Hidebrandt) là môi trường nuôi cấy mô tiêu chuẩn và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm các thành phần khoáng đa lượng và vi lượng đầy đủ đã được sử dụng rộng rãi trong nuôi cấy mô tế bào thực vật. Ví dụ về môi trường nuôi cấy và kỹ thuật nuôi cấy mô chuẩn có thể tìm thấy trong các tài liệu: Lê Văn Hoàng, Công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật, Đại học Đà Nẵng; Trần Văn Minh, Nuôi cấy mô tế bào thực

vật, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, 1994; Hà Thị Loan, Nghiên cứu nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) và kích thích hình thành các hoạt chất thứ cấp hướng tới sản xuất quy mô pilot, đề tài khoa học cấp Thành phố, 2017.

Quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học được thực hiện cụ thể như sau:

i. Chuẩn bị nguồn nguyên liệu rễ tóc sâm Ngọc Linh trên môi trường thạch: rễ tóc đã được nuôi 2 tháng trong chai nước biển hoặc trong bình tam giác, đĩa petri... được cắt thành các đoạn 1 – 2 cm cấy vào chai môi trường Schenk & Hildebrandt (môi trường SH) mới có bổ sung thạch với hàm lượng 8 gam/lít và không bổ sung chất điều hoà sinh trưởng; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; rễ tóc được cấy chuyển định kỳ 2 tháng 1 lần để lưu giữ nguồn mẫu;

ii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời (Temporary Immersion System – TIS): rễ tóc sau nuôi cấy 2 tháng trên môi trường thạch được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm cấy vào các hộp TIS có chứa 250 mL môi trường SH đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút, thông số cài đặt 5 giờ bơm một lần, thời gian ngập 3 phút, quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C và khối lượng mẫu sâm Ngọc Linh ban đầu 3 gam;

iii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học: rễ tóc đã nuôi cấy 2 tháng trên các hộp TIS được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm, sau đó cấy vào các bình phản ứng sinh học, mỗi bình 100 gam rễ tóc; lượng khí đi vào bình tốt nhất là 0,5 mL/giây hoặc giai đoạn 20 ngày đầu 0,3 mL/giây giai đoạn 2 là 0,5 mL/giây với ống dẫn khí có đường kính 1 cm; thể tích môi trường SH trong bình phản ứng sinh học là 8 lít, môi trường được khử trùng ở 121°C trong 20 phút; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; sau khi nuôi cấy 1 tháng, bổ sung thêm 4 lít môi trường SH đã khử trùng vào mỗi bình phản ứng sinh học để tăng khả năng phát triển của rễ tóc sâm Ngọc Linh;

iv. Thu hoạch sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh: rễ tóc sâm Ngọc Linh được thu hoạch sau 3 tháng nuôi cấy trong hệ thống phản ứng sinh học.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Các ví dụ dưới đây chỉ nhằm minh họa các phương án thực hiện giải pháp hữu ích mà không làm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Ví dụ 1: Khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sự tăng trưởng của rễ tóc Sâm Ngọc Linh trên hệ thống TIS

a. Khảo sát tần suất ngập chìm lên sự tăng trưởng của rễ tóc sâm Ngọc Linh

Chúng tôi sử dụng thể tích dung dịch nuôi cấy là 250 mL, nuôi cấy 3 gam mẫu và hệ thống được thiết kế cho thời gian ngập mẫu trong 4 phút.

Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 1 cho thấy:

- Khối lượng rễ khô cao ở nghiệm thức có tần suất bơm là 5 giờ/lần và 6 giờ/lần.
- Hệ số nhân đạt cao nhất ở tần suất bơm 5 – 6 giờ/lần, đạt từ 13,2 – 13,5 lần. Trong khi đó, hệ số nhân đạt rất thấp (4,1 lần) ở tần suất bơm 4 giờ/lần.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tần suất ngập chìm lên sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống TIS

Tần suất bơm (giờ)	Khối lượng rễ tươi sau 2 tháng (g)	Khối lượng rễ khô sau 2 tháng (g)	Hệ số nhân (lần/ 2 tháng)
4h	12,7b	1,13b	4,1b
5h	40,5a	3,84a	13,5a
6h	39,5a	3,6a	13,2a
CV%	10,2	9,2	9,8

Chú thích: Những chữ cái khác nhau (a, b) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong LSD test

b. Khảo sát thời gian ngập chìm lên sự tăng trưởng của rễ tóc sâm Ngọc Linh

Thử nghiệm thời gian ngập 2, 3 và 4 phút.

Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 2 cho thấy: Thời gian ngập 3 phút với chu kỳ 5 giờ cho sinh khối rễ tươi cao (44,7 gam so với 18,3 gam và 23,3 gam), khối lượng rễ khô cao (4,2 gam so với 2,2 gam và 1,7 gam) và hệ số nhân tương ứng là 14,9; 6,1 và 7,8 lần).

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian ngập chìm lên sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống TIS

Thời gian ngập chìm (phút)	Khối lượng rễ tươi sau 2 tháng (g)	Khối lượng rễ khô sau 2 tháng (g)	Hệ số nhân (lần/ 2 tháng)
-------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------------	------------------------------

2	23,3b	2,2b	7,8b
3	44,7a	4,2a	14,9a
4	18,3b	1,7c	6,1b
CV %	13,3	12,4	13,3

Chú thích: Những chữ cái khác nhau (a,b,c) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong LSD test

c. Khảo sát ảnh hưởng mật độ nuôi cấy lên sự tăng trưởng của rễ tóc sâm Ngọc Linh

Để xác định mật độ rễ tóc thích hợp cho quá trình nuôi cấy trên hệ thống TIS chúng tôi khảo sát các khối lượng 1, 3, 5 và 7 gam rễ/hộp, thể tích môi trường SH là 250 mL. Với thời gian bơm là 3 phút trong chu kỳ 5 giờ. Sau 2 tháng chúng tôi nhận thấy khối lượng mẫu ban đầu là 3 gam cho hệ số nhân cao nhất (13,3 lần).

Bảng 3. Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy lên sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống TIS

Mật độ rễ ban đầu (w/v)	Khối lượng rễ tươi sau 2 tháng (g)	Khối lượng rễ khô sau 2 tháng (g)	Hệ số nhân (lần/ 2 tháng)
1 g/ 250ml	7,2 c	0,7 c	7,2b
3 g/ 250 ml	39,7a	3,9 a	13,3a
5 g/ 250 ml	36,9a	3,4 a	7,4b
7 g/ 250 ml	23,1b	2,0 b	3,2c
CV %	22,1	16,8	17,7

Chú thích: Những chữ cái khác nhau (a,b,c) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong LSD test

Ví dụ 2: Khảo sát ảnh hưởng của một số điều kiện nuôi cấy lên sự phát triển của rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học

a. Khảo sát lượng khí cung cấp lên sự tăng trưởng của rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học

Rễ tóc sâm Ngọc Linh 100 gam được cấy vào bình phản ứng sinh học loại 18 lít chứa 12 lít môi trường SH đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút (ban đầu chứa 8 lít môi trường, 30 ngày sau nuôi cấy bổ sung 4 lít môi trường) và được bố trí với 3 lượng khí khác nhau từ 0,3; 0,5 và 0,7 mL/giây, đường kính ống dẫn khí 1 cm. Kết quả trình bày bảng 4 cho thấy lượng khí 0,5 mL/giây cho kết quả tăng trưởng tốt nhất, có ý nghĩa thống kê so với 2 nghiệm thức còn lại.

Bảng 4. Ảnh hưởng của lượng khí cung cấp lên sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học

Lượng khí cung cấp (ml/s)	Khối lượng rễ tươi sau 2 tháng (g)	Khối lượng rễ khô sau 2 tháng (g)	Hệ số nhân (lần/ 2 tháng)
0,3	468,3 b	40,7c	4,7 c
0,5	1.043,3 a	94,9a	10,4 a
0,7	676,7 b	61,2b	6,8 b
CV %	17,1	15,8	17,1

Chú thích: Những chữ cái khác nhau (a,b,c) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong LSD test

b. Khảo sát mật độ nuôi cấy lên sự tăng trưởng của rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học

Thí nghiệm 4 khối lượng rễ khác nhau (50; 100; 200 và 300 gam) trên bình phản ứng sinh học 18 lít chứa 12 lít môi trường SH đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút, lượng khí cung cấp vào bình 0,5 mL/giây. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 5 cho thấy:

- Với mật độ rễ ban đầu là 100 gam và 300 gam/ 12 lít, sau 2 tháng nuôi cấy gia tăng sinh khối cao (tương ứng khối lượng rễ tươi là 2,016 gam và 2,400 gam); khối lượng rễ khô là 193,9 gam và 212,4 gam.

- Nghiệm thức sử dụng 100 gam cho hệ số nhân cao nhất (đạt 20,2 lần). Ở nghiệm thức sử dụng 300 gam hệ số nhân 8,0 lần.

Bảng 5. Ảnh hưởng của mật độ rễ ban đầu lên sự nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học

Mật độ rễ ban đầu (w/v)	Khối lượng rễ tươi sau 2 tháng (gam)	Khối lượng rễ khô sau 2 tháng (gam)	Hệ số nhân (lần/ 2 tháng)
50 gam/12 lít	810 c	75,7 c	16,2 a
100 gam/12 lít	2,016 a	193,9 a	20,2 a
200 gam/12 lít	1,475 b	123,9 b	7,4 b
300 gam/12 lít	2,400 a	212,4 a	8,0 b
CV %	17,4	16,1	16,9

Chú thích: Những chữ cái khác nhau (a,b,c) thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với $\alpha=0,05$ trong LSD test

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học cho phép sản xuất số lượng lớn sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh mà không bị ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh (điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu, vùng địa lý), không sử dụng chất kích thích sinh trưởng để từ đó làm cơ sở để sản xuất các thực phẩm chức năng quy mô lớn, giá thành sản phẩm thấp và sản phẩm sẽ dễ dàng đến với người tiêu dùng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) trên hệ thống phản ứng sinh học bao gồm các bước sau:

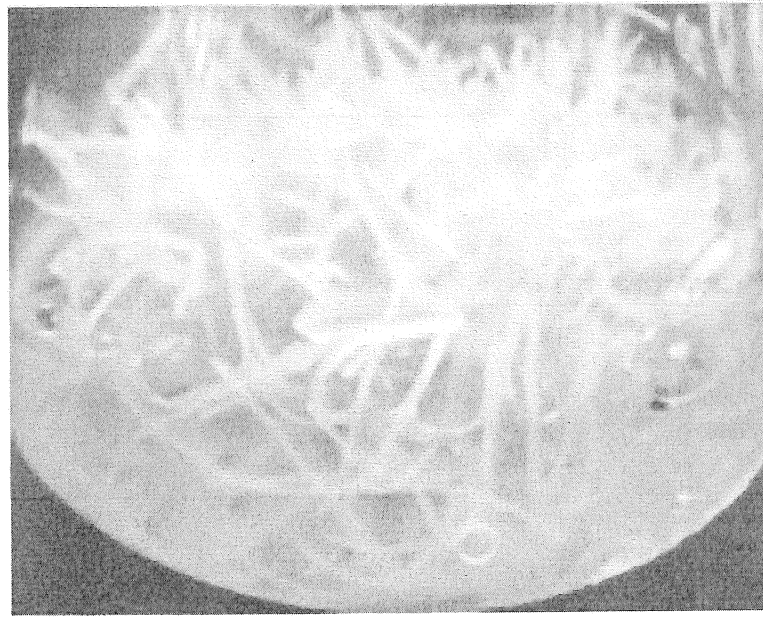
i. Chuẩn bị nguồn nguyên liệu rễ tóc sâm Ngọc Linh trên môi trường thạch: rễ tóc đã được nuôi 2 tháng trong chai nước biển, trong bình tam giác, hoặc đĩa petri được cắt thành các đoạn 1 – 2 cm cấy vào chai môi trường Schenk & Hildebrandt (môi trường SH) có bổ sung thạch với hàm lượng 8 gam/lít và không bổ sung chất điều hoà sinh trưởng; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; rễ tóc được cấy chuyển định kì 2 tháng 1 lần để lưu giữ nguồn mẫu;

ii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống nuôi cấy ngập chìm tạm thời (Temporary Immersion System – TIS): rễ tóc sau nuôi cấy 2 tháng trên môi trường thạch SH như nêu trong bước (i) được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm, cấy vào các hộp TIS có chứa 250 mL môi trường SH đã được khử trùng ở 121°C trong 20 phút, thông số cài đặt 5 giờ bơm một lần, thời gian ngập 3 phút, quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C và khối lượng mẫu sâm Ngọc Linh ban đầu 3 gam;

iii. Nhân nhanh sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh trên hệ thống phản ứng sinh học: rễ tóc đã nuôi 2 tháng trên các hộp TIS như nêu trong bước (ii) được cắt thành các đoạn dài 1 – 2 cm, sau đó cấy vào bình phản ứng sinh học, mỗi bình 100 gam rễ tóc; lượng khí đi vào bình tốt nhất là 0,5 mL/giây hoặc giai đoạn 20 ngày đầu là 0,3 mL/giây giai đoạn 2 là 0,5 mL/giây với ống dẫn khí có đường kính 1 cm; thể tích môi trường SH trong bình phản ứng sinh học là 8 lít, môi trường được khử trùng ở 121°C trong 20 phút; điều kiện nuôi cấy quang kỳ 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 1500 lux, nhiệt độ 25°C; sau khi nuôi cấy 1 tháng, bổ sung thêm 4 lít môi trường SH đã khử trùng vào mỗi bình phản ứng sinh học để tăng khả năng phát triển của rễ tóc sâm Ngọc Linh;

iv. Thu hoạch sinh khối rễ tóc sâm Ngọc Linh: rễ tóc sâm Ngọc Linh được thu hoạch sau 3 tháng nuôi cấy trong hệ thống phản ứng sinh học.

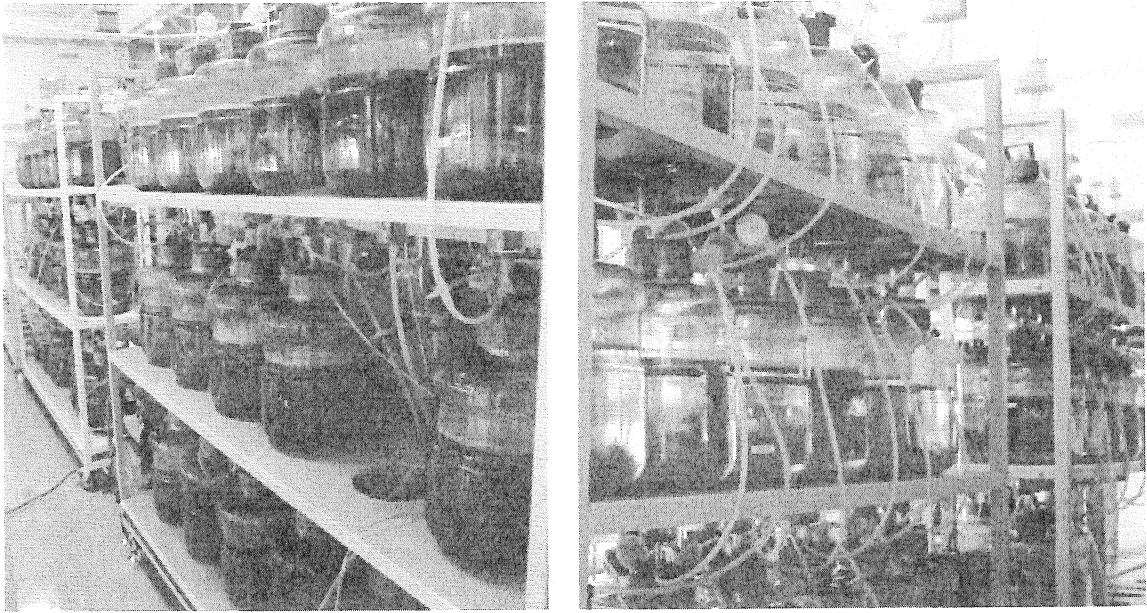
Hình 1. Rễ tóc sâm Ngọc Linh



Hình 2. Rễ tóc sâm Ngọc Linh nuôi cây trên hệ thống Ngập chìm tạm thời - TIS



Hình 3. Rễ tóc sâm Ngọc Linh nuôi cấy trên hệ thống Bioreactor



Hình 4. Sinh khối rễ tóc Sâm Ngọc Linh

