



Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học

website: sj.ctu.edu.vn



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.026

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ ĐƯỜNG, LOẠI BIOREACTOR VÀ THỂ TÍCH BÌNH NUÔI CÂY LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA HUYỀN PHỤ TẾ BÀO SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* HA et GRUSHV.)

Trần Diệu Thái¹, Nguyễn Văn Dự¹, Đỗ Đăng Giáp¹, Trịnh Thị Hương² và Trần Trọng Tuấn^{*}

¹Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Sinh học nhiệt đới Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Công nghiệp Thực Phẩm Thành phố Hồ Chí Minh

^{*}Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Trọng Tuấn (email: trantrongtuan.com@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 05/04/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Effects of sucrose concentrations and type of bioreactors and erlenmeyer flasks on the growth of cell suspension of Ngọc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.)

Từ khóa:

Bioreactor, huyền phù tế bào, nuôi cấy lỏng lắc, Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.), sucrose

Keywords:

Bioreactor, cell suspension, liquid shake culture, Ngọc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.), sucrose

ABSTRACT

Ngọc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) is a precious ginseng with high economical value, which is an endemic plant of Vietnam. In this study, experiments on the effects of sucrose concentrations and various sizes of erlenmeyer flasks and bioreactors were carried out to determine the appropriate medium for the growth of cell suspension. The results of sucrose concentration showed that the highest biomass obtained from the treatment of MS medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 1.5 mg/L NAA and 50 g/L sucrose (37.4 mg/mL of fresh weight and 3.6 mg/mL of dry weight). In 3 L, 5 L and 10 L bioreactor, the growth of cell suspension increased 2.1–2.3 times higher than the initial callus biomass after 4 weeks. The culture in liquid medium of 500 mL erlenmeyer flasks on rotary shaker at 120 rpm showed that the amount of cell suspension was increased and reached to the highest yield (50.2 mg/mL of fresh weight and 3.2 mg/mL of dry weight).

TÓM TẮT

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một loại sâm quý có giá trị kinh tế cao, là loại thực vật đặc hữu của Việt Nam. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose bổ sung và thể tích bình nuôi cấy trong hệ thống nuôi cấy lỏng lắc và bioreactor để xác định môi trường thích hợp cho sự gia tăng sinh khối của tế bào huyền phù. Kết quả thí nghiệm cho thấy nồng độ đường cho tăng trưởng của huyền phù tế bào đạt tốt nhất trong môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung 1,5 mg/L NAA và 50 g/L sucrose (khối lượng tươi và lượng khô lần lượt là 37,4 mg/mL và 3,6 mg/mL). Nuôi cấy trong hệ thống bioreactor 3 L, 5 L và 10 L thì huyền phù tế bào tăng trưởng tốt với lượng sinh khối thu được gấp 2,1 đến 2,3 lần so với lượng mẫu mô sẹo ban đầu sau 4 tuần. Kết quả chỉ ra khi được nuôi cấy trong bình tam giác 500 mL ở điều kiện lỏng lắc với tốc độ 120 vòng/phút, lượng tế bào huyền phù tăng sinh từ dịch huyền phù tế bào ban đầu đạt tốt nhất khi so sánh với các nghiệm thức khác (khối lượng tươi và lượng khô thu được lần lượt là 50,2 mg/mL và 3,2 mg/mL).

Trích dẫn: Trần Diệu Thái, Nguyễn Văn Dự, Đỗ Đăng Giáp, Trịnh Thị Hương và Trần Trọng Tuấn, 2019. Ảnh hưởng của nồng độ đường, loại bioreactor và thể tích bình nuôi cấy lên sự sinh trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 203-208.

1 GIỚI THIỆU

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một loài sâm quý, đặc hữu của Việt Nam, được phát hiện tại vùng núi Ngọc Linh thuộc 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam. Sâm Ngọc Linh từ xưa đã được đồng bào dân tộc thiểu số Xê-đăng xem như “thần dược” vì khả năng trị nhiều bệnh, kéo dài tuổi thọ và tăng cường sức khỏe (Thanh *et al.*, 2007). Các nghiên cứu về thành phần hoá học trong sâm Ngọc Linh cho thấy đây là một trong những loại sâm có hàm lượng saponin khung dammaran cao nhất (khoảng 12–15%) và lượng saponin nhiều nhất so với các loài khác của chi *Panax*. Những đặc điểm như vậy nên sâm Ngọc Linh đã trở thành một trong những loài sâm quý, không chỉ của Việt Nam mà còn trên thế giới (Nguyễn Thượng Dong và *ctv.*, 2007).

Sự sinh trưởng chậm, kéo dài, cùng với việc khai thác quá mức, sâm Ngọc Linh đã được ghi vào Sách đỏ Việt Nam (1994) với mức phân loại bảo động có nguy cơ tuyệt chủng. Vì vậy, việc bảo tồn nguồn gen quý bằng các biện pháp nhân giống truyền thống và hiện đại là rất cần thiết. Tuy nhiên, với nhu cầu sử dụng hiện nay, biện pháp nhân giống truyền thống dường như không hiệu quả, vì phải mất từ 7 đến 10 năm thì mới có thể thu hoạch được củ sâm chất lượng. Ứng dụng phương pháp nuôi cấy tế bào thực vật đã và đang được nghiên cứu nhằm tái sinh các thảm rừng sâm Ngọc Linh, cũng như tạo nguồn nguyên liệu có hoạt tính sinh học cao, phục vụ cho các ngành công nghiệp dược phẩm, mỹ phẩm.

Các nghiên cứu về nuôi cấy tế bào trên sâm Ngọc Linh hiện nay chủ yếu tập trung vào rễ bất định, rễ tơ, phôi vô tính và huyền phù tế bào. Mỗi hướng có các ưu điểm và nhược điểm riêng. Hiện nay, ở Việt Nam và trên thế giới, các nghiên cứu về nuôi cấy huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh còn rất ít, chủ yếu là khảo sát về nguồn mô sẹo khởi tạo huyền phù và đường cong tăng trưởng tế bào. Nghiên cứu này đánh giá vai trò của nồng độ đường, môi trường nuôi cấy và loại bình nuôi cấy ảnh hưởng lên sự cảm ứng tạo huyền phù tế bào từ mô sẹo được khảo sát.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mô sẹo sâm Ngọc Linh khởi tạo từ lớp mỏng các mảnh lá nuôi cấy *in vitro* trong môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung 1,0 mg/L 2,4-D, 0,2 mg/L TDZ, 30 g/L sucrose và 8 g/L agar, được sử dụng làm vật liệu cho các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

Các thí nghiệm khảo sát sự tăng trưởng huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh đều sử dụng môi trường

MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA và kết quả được thu nhận vào ngày nuôi cấy thứ 24 (Tuan *et al.*, 2017).

Điều kiện phòng nuôi cấy chiếu sáng 12 giờ/ngày với cường độ 45 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, nhiệt độ 24 $\pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm 55 – 60%.

2.1 Bố trí thí nghiệm

2.1.1 *Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường sucrose lên sự tăng trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh*

Sử dụng 2 g mô sẹo được nuôi cấy trong erlen 500 ml có chứa 100 mL môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA và sucrose ở các nồng độ khác nhau (0, 30, 50, 70, 90 g/L) ở điều kiện lỏng lắc với tốc độ 120 vòng/phút. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần (3 bình erlen/ lần lặp lại). Khối lượng tươi (mg/mL) và khối lượng khô (mg/mL) được thu nhận vào ngày nuôi cấy thứ 24.

2.1.2 *Khảo sát khả năng tăng trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh trong bioreactor với thể tích khác nhau từ mẫu mô sẹo*

Khối lượng mô sẹo sử dụng ban đầu lần lượt là 18, 30 và 60 g được nuôi cấy trong 1,8; 3,0 và 6,0 L môi trường nuôi cấy, tương ứng với các bioreactor 3 L, 5 L và 10 L (Duran, Đức). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Thí nghiệm sử dụng môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA và sucrose ở nồng độ tốt nhất theo thí nghiệm khảo sát trên và nuôi trong bioreactor có sục khí. Sau 24 ngày nuôi cấy, thu nhận chỉ tiêu khối lượng tươi (g).

2.1.3 *Khảo sát khả năng tăng sinh huyền phù tế bào từ huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh trong bình nuôi cấy với thể tích khác nhau*

Huyền phù tế bào được tăng sinh từ dịch huyền phù tế bào đã được khởi tạo từ mô sẹo với tỷ lệ thể tích mẫu và thể tích môi trường được trình bày ở Bảng 1. Thí nghiệm sử dụng môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA và sucrose ở nồng độ tốt nhất theo thí nghiệm khảo sát trên trong các bình nuôi cấy có thể tích khác nhau (Bảng 1) với tốc độ máy lắc 120 vòng/phút. Khối lượng tươi (mg/mL) và khối lượng khô (mg/mL) được thu nhận sau mỗi 3 ngày nuôi cấy trong 30 ngày.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, một yếu tố, gồm 3 nghiệm thức, nghiệm thức được lặp lại 3 lần (3 bình erlen/một lần lặp lại).

Bảng 1: Các thể tích nuôi cấy huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh tương ứng với các thể tích bình nuôi cấy khác nhau

Thể tích bình nuôi cấy (mL)	Thể tích mẫu huyền phù tế bào (mL)	Thể tích môi trường mới (mL)	Tổng thể tích nuôi cấy (mL)
250	37,5	50	87,5
500	75,0	100	175,0
1000	150,0	200	350,0

2.2 Phân tích kết quả

Các số liệu thu nhận được phân tích thống kê One-way ANOVA theo phương pháp LSD với $p < 0,05$ sử dụng phần mềm Statgraphics Centurion XV.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của nồng độ sucrose lên sự tăng trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh

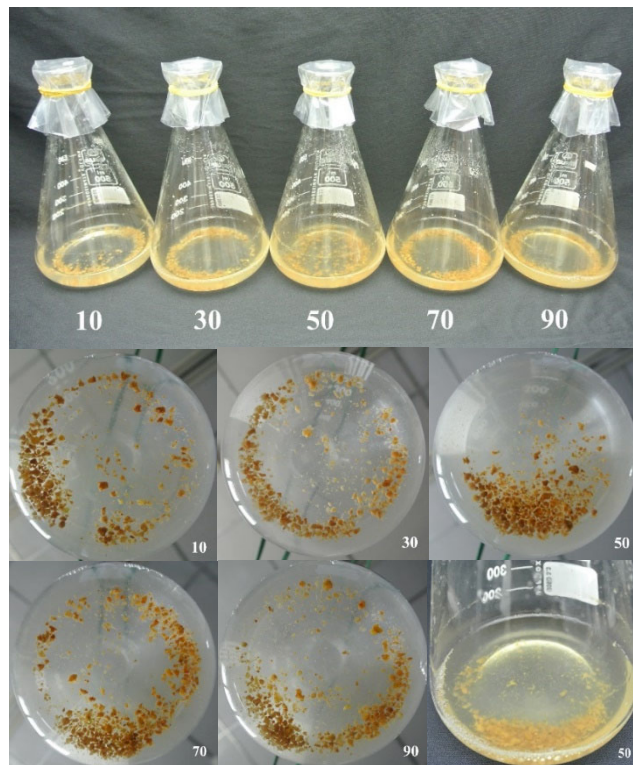
Kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy, nồng độ sucrose khác nhau có sự ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh. Ngày nuôi cấy thứ 24 thì lượng sinh khối thu được tăng dần theo tăng nồng độ sucrose từ 10 – 50 mg/L, sau đó giảm dần khi tăng hàm lượng sucrose lên 70 và 90 g/L (Hình 1). Khối lượng tươi và khối lượng khô tốt nhất lần lượt đạt 37,4 mg/mL và 3,6 mg/mL ở nồng độ sucrose bổ sung là 50 mg/L. Các nghiên cứu trên rễ bất định sâm Ngọc Linh (Ket *et al.*, 2012),

sâm Triều Tiên (Nguyễn Trung Thành và Paek Kee Yoeup, 2008) ở điều kiện nuôi cấy lỏng, sucrose bổ sung ở nồng độ 50 g/L được ghi nhận là phù hợp nhất cho quá trình tăng sinh rễ. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Yu *et al.* (2003) khi nghiên cứu trên đối tượng rễ tóc sâm Ngọc Linh.

Bảng 2: Ảnh hưởng của sucrose lên sự gia tăng sinh khối huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh ngày thứ 24

Nồng độ sucrose (g/L)	Khối lượng tươi (mg/mL)	Khối lượng khô (mg/mL)
10	30,8 ^c	2,8 ^b
30	32,5 ^c	2,6 ^{bc}
50	37,4 ^a	3,6 ^a
70	35,2 ^b	3,0 ^b
90	30,4 ^c	2,2 ^c

Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt của các kết quả với mức ý nghĩa $p < 0,05$ trong phép thử LS



Hình 1: Ảnh hưởng của sucrose ở các nồng độ 10, 30, 50, 70 và 90 g/L lên tăng sinh huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh từ mẫu mô sẹo ban đầu sau 24 ngày nuôi cấy

Ngoài ra, nồng độ bổ sung sucrose 50 g/L đã được chứng minh là có hiệu quả không chỉ trong việc tăng sinh tế bào, mà còn trong tích lũy các hợp chất thứ cấp khi nuôi cấy huyền phù tế bào ở một số loài thực vật khác. Bùi Văn Lê và Nguyễn Ngọc Hồng (2006) khi nuôi cấy huyền phù tế bào cây dứa cựa (*Cantharanthus roseus*) ghi nhận rằng khi bổ sung 60 g/L sucrose vào môi trường nuôi cấy, hiệu quả tăng sinh và tổng hợp alkaloid đạt tốt nhất. Trong nuôi cấy huyền phù cây kiwi (*Actinidia deliciosa*), kết quả cho thấy tế bào huyền phù tăng sinh tốt nhất khi có mặt 60 g/L sucrose (Dương Tấn Nhựt và ctv., 2012).

Ở một số loài khác, sucrose bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ 30 g/L lại có tác dụng hiệu quả hơn trong việc tăng trưởng tế bào, như

nghiên cứu của Phạm Thị Mỹ Trâm và Lê Thị Thuý Tiên (2012) khi nuôi cấy huyền phù tế bào cây dâu tây (*Fragaria ananassa*), Lê Thị Thuý Tiên và ctv. (2006) khi nuôi cấy huyền phù tế bào cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc).

3.2 Khả năng tăng trưởng của huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh trong bioreactor 3 L, 5 L và 10 L

Huyền phù tế bào sau tuần đầu tiên nuôi cấy đã có dấu hiệu tăng trưởng tốt. Sau đó, huyền phù tế bào trở nên mịn dần với sự tách rời các nhóm tế bào, tế bào phân chia mạnh dẫn đến dịch nuôi cấy trở nên đục hơn và có rất nhiều cụm tế bào dính trên thành bioreactor. Ngoài ra, mô sẹo thu được sau 24 ngày nuôi cấy đã có dấu hiệu hình thành phôi soma, một số mô sẹo còn tái sinh chồi trong môi trường lỏng.

Bảng 3: Ảnh hưởng của sucrose lên sự gia tăng sinh khối huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh ngày thứ 24

Bioreactor	Môi trường (lít)	Khối lượng mô sẹo ban đầu (g)	Sinh khối cuối (g)
Bioreactor 3 lít	1,8	18	41,75
Bioreactor 5 lít	3,0	30	62,92
Bioreactor 10 lít	6,0	60	121,89



Hình 2: Thu nhận sinh khối huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh nuôi cấy trong bioreactor 5 L sau 24 ngày nuôi cấy (dấu gạch ngang chỉ lượng mô sẹo ban đầu)

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy với lượng mô sẹo ban đầu là 18,0 g thì sau 24 ngày nuôi cấy, lượng sinh khối thu được trong bioreactor 3 L là 41,75 g (tăng khoảng 2,3 lần so với ban đầu). Lượng mô sẹo ban

đầu là 30,0 g thì sinh khối thu được trong bioreactor 5 L là 62,92 g (tăng 2,1 lần so với ban đầu) (Hình 2). Bioreactor 10 L thì lượng sinh khối thu được là 121,89 g (tăng khoảng 2,0 lần so với ban đầu).

Kết quả thử nghiệm ban đầu trên hệ thống bioreactor đã mở ra một triển vọng sản xuất sinh khối sâm Ngọc Linh ở quy mô lớn lên đến hàng nghìn lít. Sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh thu được còn có thể được sử dụng để tách chiết hoạt chất saponin, hoặc được sử dụng làm nguồn nguyên liệu cho các quá trình biotransformation nhằm gia tăng hàm lượng saponin.

3.3 Khả năng tăng sinh huyền phù tế bào nuôi cấy 250 mL, 500 mL và 1.000 mL

Kết quả thu nhận sau 30 ngày nuôi cấy đã xác định được đường cong sinh trưởng tế bào huyền phù khởi tạo từ huyền phù tế bào đi vào pha cân bằng sớm hơn (ngày thứ 18) so với huyền phù tế bào được khởi tạo từ mô sẹo. Nghiệm thức bình nuôi cấy 250 mL thì khối lượng khô thu được đạt 1,2 mg/mL, thấp hơn hẳn so với khối lượng khô huyền phù tế bào được khởi tạo từ mô sẹo (đạt 2,4 mg/mL) (Bảng 4).

Thể tích bình nuôi cấy khác nhau cũng có ảnh hưởng đến sự tăng trưởng của huyền phù tế bào. Trong đó, huyền phù tế bào nuôi cấy trong bình 500 mL có sự tăng trưởng tốt hơn hẳn so với 2 loại bình nuôi cấy còn lại. Kết quả này có thể là do khi nuôi cấy ở cùng một điều kiện lắc, các bình có thể tích khác nhau sẽ tạo ra các tác động khác nhau. Bình có thể tích càng nhỏ sẽ tạo ra tác động lắc càng mạnh

lên tế bào và ngược lại. Bình 250 mL sẽ tạo ra tác động lắc mạnh nhất lên tế bào, bình 1.000 mL sẽ tạo tác động lắc nhẹ nhất. Tác động mạnh khi nuôi cấy trong bình 250 mL có thể làm mà tế bào bị tổn thương, dẫn đến ức chế sự phân chia tế bào. Bình lớn 1.000 mL lại không tạo đủ oxy hoà tan cung cấp

cho các hoạt động biến dưỡng của tế bào. Như vậy, tùy điều kiện tốc độ lắc khác nhau mà lựa chọn bình nuôi cấy thích hợp. Bình 500 mL được xem là thích hợp nhất trong việc tăng sinh huyền phù tế bào từ huyền phù tế bào (Hình 3).

Bảng 4: Ảnh hưởng của thể tích bình nuôi cấy lên sự gia tăng sinh khối của huyền phù tế bào tăng sinh từ huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh ở ngày nuôi cấy thứ 18 đến 28

	Thể tích (mL)	Ngày nuôi cấy			
		18	21	25	28
Khối lượng tươi (mg/L)	250	23,9 ^b	25,0 ^b	25,6 ^c	23,1 ^b
	500	45,6 ^a	50,2 ^a	51,8 ^a	42,6 ^a
	1.000	18,1 ^c	18,5 ^b	34,6 ^b	38,9 ^a
Khối lượng khô (mg/L)	250	1,2 ^b	1,2 ^b	1,4 ^b	1,3 ^c
	500	3,0 ^a	3,2 ^a	2,7 ^a	2,5 ^a
	1.000	1,1 ^b	1,0 ^b	1,8 ^{ab}	2,0 ^b

Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt của các kết quả với mức ý nghĩa $p < 0,05$ trong phép thử LSD



Hình 3: Huyền phù tế bào sâm Ngọc Linh tăng sinh từ huyền phù tế bào nuôi cấy trong các bình có thể tích khác nhau (1.000, 500 và 250 mL)

4 KẾT LUẬN

Huyền phù tế bào đạt tốt nhất khi được nuôi cấy trong môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung 1,5 mg/L NAA và 50 g/L sucrose (khối lượng tươi và khô lần lượt là 37,4 mg/mL và 3,6 mg/mL). Khi nuôi cấy trong hệ thống bioreactor 3 L thì huyền phù tế bào hình thành và tăng trưởng tốt, lượng sinh khối thu được gấp 2,3 lần so với lượng mẫu mô sẹo ban đầu sau 4 tuần. Tế bào huyền phù

được nuôi cấy trong bình tam giác 500 mL ở điều kiện lỏng lắc với tốc độ 120 vòng/phút thì sinh khối tế bào huyền phù tăng trưởng tốt nhất (khối lượng tươi và khô thu được lần lượt là 50,2 mg/mL và 3,2 mg/mL).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bùi Văn Lệ và Nguyễn Ngọc Hồng, 2006. Ảnh hưởng của chất điều hoà tăng trưởng thực vật và đường saccharose lên dịch nuôi cấy huyền phù tế

- bào dừa cạn *Catharanthus roseus*. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ. 9(6): 59-66.
- Dương Tấn Nhật, Trần Thị Thu Hà, Trịnh Thị Hương, Hoàng Văn Cương và Nguyễn Phúc Huy, 2012. Nghiên cứu hình thành mô sẹo và tế bào đơn cây kiwi (*Actinidia deliciosa*). Tạp chí Sinh học. 34(4): 505-514.
- Ket, N.V., Anh, T.T.L. and Dung, N.H.U., 2012. Effecting of sucrose concentrations and inoculum density on adventitious root growth in cell suspension culture of *Panax vietnamensis* and initially growth in a bioreactor. Southeast-Asian Journal of Sciences. 1(2): 215-222.
- Lê Thị Thủy Tiên, Bùi Trang Việt và Nguyễn Đức Lượng, 2006. Tìm hiểu về sự tăng trưởng của dịch treo tế bào *Taxus wallichiana* Zucc. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ. 9(5): 47-51.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.
- Nguyễn Thượng Đông, Trần Công Luận và Nguyễn Thị Thu Hương, 2007. Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ Nhân sâm, 1. Khoa học và Kỹ thuật, 422 trang.
- Nguyễn Trung Thành và Paek Kee Yoeup, 2008. Nhân nhanh rễ bất định Nhân sâm *Panax ginseng* C.A. Meyer: ảnh hưởng của một số nhân tố lý hoá lên sự tăng trưởng sinh khối và sản phẩm trao đổi chất ginsenosides. Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ. 24: 318-323.
- Phạm Thị Mỹ Trâm và Lê Thị Thủy Tiên, 2012. Khảo sát sự tăng trưởng của huyền phù tế bào Dâu tây *Fragaria ananassa* L. có khả năng sinh tổng hợp anthocyanin. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ. 15(1): 69-77.
- Thanh, N.T., Ket, N.V. and Paek, K.Y., 2007. Effecting of medium composition on biomass and ginsenoside production in cell suspension culture of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. VNU Journal of Science, Natural Sciences and Technology. 23: 269-274.
- Tuan, T.T., Dieu-Hien, T., Hoang, C.N., Dieu-Thai, T., Huyen-Trang, N.T., Giap, D.D. and Ho, N.H., 2017. Biomass accumulation of *Panax vietnamensis* in cell suspension cultures varies with addition of plant growth regulators and organic additives. Assian Pacific Journal of Tropical Medicine. 10(9): 907-915.
- Yu, K.W., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2003. Ginsenoside production by hairy root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer in bioreactors. Acta Horticulturae. 597: 237-243.