



NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG CÂY BA KÍCH (*MORINDA OFFICIANALIS* HOW) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ

Phạm Thùy Dung^a, Nguyễn Văn Giáp^a, Vũ Thị Mây^a, Phạm Thị Mai Trang^{a*}

^aTrường Đại học Tân Trào

*Email: maitrang.bvtvtq@gmail.com

Thông tin bài viết

Ngày nhận bài:

7/8/2020

Ngày duyệt đăng:

12/8/2020

Từ khóa:

Ba kích tím, *Morinda officianalis* How, Môi trường nhân giống

Tóm tắt

Cây Ba kích (*Morinda officianalis* How) là cây thuốc quý trong y học cổ truyền. Củ của cây Ba kích được sử dụng rộng rãi như một loại dược liệu có tác dụng bổ thận âm, bổ thận dương, tăng cường gân cốt, tăng sức đề kháng, sức dẻo dai, khử phong thấp. Dịch chiết từ củ ba kích có tác dụng giảm huyết áp, tác dụng nhanh với các tuyến cơ năng, bổ trí não, giúp ăn và ngủ ngon (Hoàng Thị Thế và cs 2013).

Để đáp ứng nguồn giống cây Ba kích chất lượng cao, số lượng lớn, đòi hỏi phải có được phương pháp nhân giống nhanh, quy mô công nghiệp, vì vậy chúng tôi đã thực hiện nghiên cứu môi trường nhân giống cây Ba kích bằng phương pháp nuôi cấy mô. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh chồi Ba kích là MS + 3,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin + 30g/l đường + 5g/l agar, hệ số nhân chồi đạt 10,14 lần. Môi trường thích hợp cho sự tạo rễ của chồi Ba kích là 1/2MS + 0,3 mg/l IBA + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,4 g/l than hoạt tính, tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100% và số rễ trung bình đạt 3,44 rễ/chồi. Tỷ lệ sống tại vườn ươm đạt 95,20%.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Ba kích có tên khoa học *Morinda officianalis* How, có phân bố tự nhiên ở Lào, Trung Quốc và Việt Nam. Ở Việt Nam, Ba kích mọc hoang, phân bố nhiều ở vùng đồi núi thấp của miền núi và trung du ở các tỉnh phía Bắc như Quảng Ninh, Bắc Giang, Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Tuyên Quang, Thái Nguyên, Cao Bằng, Lạng Sơn ... (Nguyễn Chiêu, Nguyễn Tập, 2007). Cây Ba kích ngoài tự nhiên đang bị khai thác cạn kiệt khiến loài cây này lâm vào tình trạng gần như tuyệt chủng. Hiện nay, Ba kích thường được nhân giống bằng giâm cành và gieo hạt (Bùi Thị Hương Phú, 2012). Phương pháp giâm cành cho hệ số nhân thấp, chất lượng cây giống không cao, cây giống giâm hom sức sống kém. Nhân giống bằng hạt có nhiều hạn chế: thời gian nảy mầm dài, tỷ lệ nảy mầm thấp, chất lượng cây giống không đồng đều.

Xuất phát từ giá trị của cây Ba kích và thực trạng nhu cầu về giống cây Ba kích ở nước ta, việc tạo ra được một số lượng lớn cây giống sạch bệnh, chất lượng tốt, nâng cao hệ số nhân giống là hết sức cần thiết. Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô có thể đáp ứng được các yêu cầu trên: là phương pháp có hệ số nhân cao, tạo ra số lượng lớn cây giống sạch bệnh, chất lượng tốt, có thể nhân giống ở quy mô công nghiệp.

II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Môi trường nhân giống cây Ba kích tím

2. Địa điểm nghiên cứu

Phòng nuôi cấy mô và vườn ươm thuộc Trung tâm Thực nghiệm thực hành và Chuyển giao khoa học công nghệ, trường Đại học Tân Trào.

3. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh và tạo rễ của chồi cây Ba kích

* Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh chồi cây Ba kích

+ Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, không nhắc lại

+ Thực hiện thí nghiệm với 5 công thức, 6 bình/công thức:

$$+ \text{Hệ số nhân chồi} = \frac{\text{Tổng số chồi}}{\text{Tổng số cụm chồi nuôi cấy}}$$

* Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự tạo rễ của chồi cây Ba kích

+ Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, không nhắc lại

+ Thực hiện thí nghiệm với 5 công thức, 6 bình/công thức :

Công thức 1: Môi trường nền 2 + 0,2 mg/l IBA (đối chứng)

$$+ \text{Tỷ lệ ra rễ (\%)} = \frac{\text{Tổng số chồi ra rễ}}{\text{Tổng số chồi nuôi cấy}} \times 100 \%$$

Nội dung 2: Ra ngôi cây Ba kích nuôi cấy mô

Chọn những bình cây ra rễ đủ tiêu chuẩn để đem ra huấn luyện từ 1-2 tuần. Sau thời gian huấn luyện lấy cây trong bình rửa sạch agar, cắt ngắn rễ chuyển ra luống ươm đã chuẩn bị sẵn. Cắm che lưới đen vào luống mới cấy cây. Tưới nước thường xuyên cho cây.

$$+ \text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{Tổng số cây con sống sót}}{\text{Tổng số cây con ra vườn}} \times 100\%$$

4. Phương pháp nghiên cứu

Nội dung 1: Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh và tạo rễ của chồi cây Ba kích

* Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh

Mẫu cấy sử dụng là đoạn thân có chồi ngủ được tách ra từ chồi của cây Ba kích in vitro được nuôi cấy trên môi trường nền 1: MS + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin có bổ sung BAP ở các nồng độ của công thức 1, 2, 3, 4, 5 để khảo sát khả năng nhân nhanh chồi Ba kích in vitro. Theo dõi kết quả trong 45 ngày nuôi cấy.

* Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự tạo rễ của chồi

Công thức 1: Môi trường nền 1 + 3,0 mg/l BAP (đối chứng)

Công thức 2: Môi trường nền 1 + 2,0 mg/l BAP

Công thức 3: Môi trường nền 1 + 2,5 mg/l BAP

Công thức 4: Môi trường nền 1 + 3,5 mg/l BAP

Công thức 5: Môi trường nền 1 + 4,0 mg/l BAP

Môi trường nền 1: MS + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin (theo Hoàng Thị Thế)

Công thức 2: Môi trường nền 2 + 0,0 mg/l IBA

Công thức 3: Môi trường nền 2 + 0,1 mg/l IBA

Công thức 4: Môi trường nền 2 + 0,3 mg/l IBA

Công thức 5: Môi trường nền 2 + 0,4 mg/l IBA

Môi trường nền 2: 1/2MS + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,4 g/l than hoạt tính (theo Hoàng Thị Thế)

Nội dung 3: Đánh giá tỷ sống của cây Ba kích nuôi cấy mô ngoài vườn ươm.

+ Theo dõi tỷ lệ sống của Ba kích khi ra vườn ươm sau 30 ngày

Chọn những chồi in vitro cao khoảng 3cm có từ 2 cặp lá trở lên lấy từ các cụm chồi trên môi trường nhân nhanh được cấy trên môi trường nền 2: 1/2MS + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,4 g/l than hoạt tính có bổ sung IBA nồng độ từ 0,0-0,4 mg/l để khảo sát khả năng ra rễ của chồi Ba kích in vitro. Theo dõi kết quả trong 35 ngày nuôi cấy.

Nội dung 2: Ra ngôi cây Ba kích nuôi cấy mô

Chọn những bình cây ra rễ đủ tiêu chuẩn (lá xanh đậm, thân mập mạp, rễ dài từ 2-3 rễ) để đem ra huấn luyện từ 1-2 tuần. Sau thời gian huấn luyện lấy cây trong bình rửa sạch agar, cắt ngắn rễ chuyển ra luống ươm đã chuẩn bị sẵn. Đất đã được xử lý, làm nhỏ, đóng bầu, xếp trên luống, trước khi cấy cây cần tưới nước cho đất ẩm để tránh làm tổn thương rễ cây. Sau

khi cây xong phủ ni lông trắng và che bằng lưới đen. Một ngày tưới nước 2 lần, sau 3 tuần cây đã cứng cáp có thể bỏ ni lông phủ ra, che lưới đen.

Nội dung 3: Theo dõi tỷ lệ sống khi ra vườn ươm

Cây sau khi được cấy chuyển vào bầu ngoài vườn ươm 30 ngày, tiến hành theo dõi đánh giá tỷ sống của cây Ba kích nuôi cấy mô ngoài vườn ươm. (Áp dụng quy trình kỹ thuật trồng và chăm sóc của Trung tâm Thực nghiệm thực hành và Chuyển giao khoa học công nghệ - Trường Đại học Tân Trào)

5. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2018 đến tháng 12/2018

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh và tạo rễ của chồi cây Ba kích

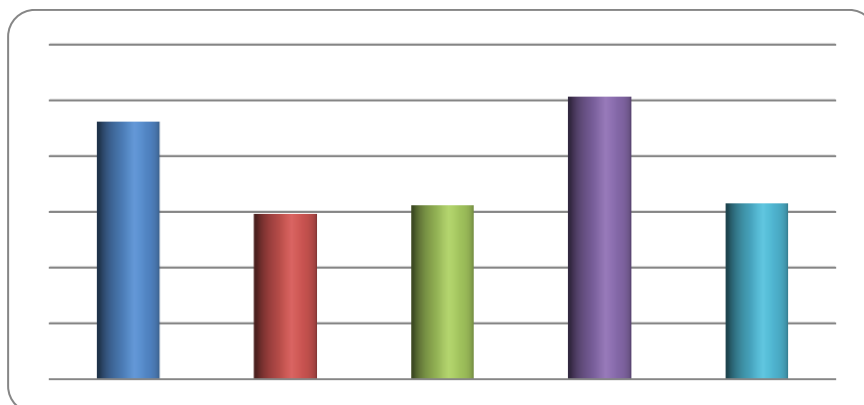
***Kết quả 1: Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự nhân nhanh của chồi Ba kích**

Sau 45 ngày nuôi cấy trên các công thức thí nghiệm, từ đoạn thân có chứa chồi ngủ đã tạo thành các cụm chồi, kiểm tra tỷ lệ nhân nhanh chồi trong từng công thức thí nghiệm.

Bảng 01: Tỷ lệ nhân nhanh chồi Ba kích sau 45 ngày nuôi cấy

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chất lượng chồi
Công thức 1 (đối chứng)	3,0	9,24	+++
Công thức 2	2,0	5,94	++
Công thức 3	2,5	6,25	++
Công thức 4	3,5	10,14	+++
Công thức 5	4,0	6,30	++

(Chú thích: +: chồi sinh trưởng kém ++: chồi sinh trưởng trung bình +++: chồi sinh trưởng tốt)



Đồ thị 1: Tỷ lệ nhân nhanh chồi Ba kích in vitro sau 45 ngày nuôi cấy



Hình 1: Chồi Ba kích sinh trưởng trên môi trường nhân nhanh chồi

(A: Môi trường nền + 2,0 mg/l BAP B: Môi trường nền + 3,5 mg/l BAP)

Kết quả nuôi cấy được trình bày trong bảng 01, đồ thị 01 và hình 01 cho thấy, công thức 4 với nồng độ BAP bổ sung là 3,5 mg/l cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 10,14 lần cao hơn công thức đối chứng (9,24 lần). Các công thức thí nghiệm còn lại 2, 3, 5 có hệ số nhân chồi lần lượt là 5,94 lần; 2,34 lần và 2,22 lần thấp hơn công thức đối chứng. Từ kết quả thí nghiệm có thể rút ra kết luận công thức 4 có bổ sung 3,5 mg/l BAP vào môi trường nền MS + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,2 mg/l

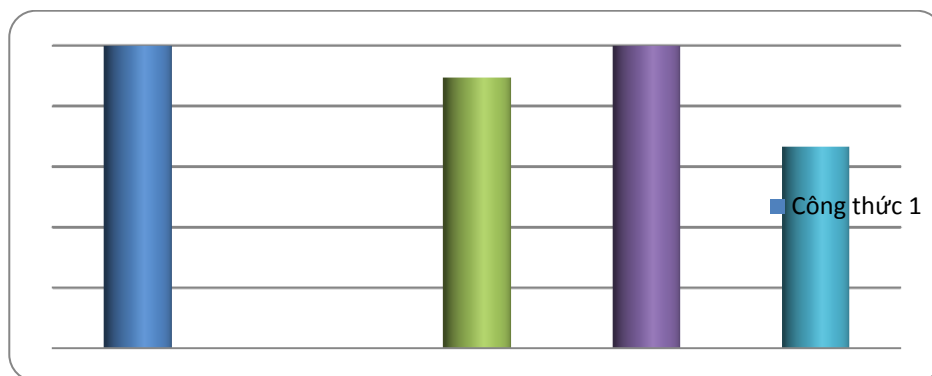
IBA + 10 mg/l Riboflavin là thích hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi cây Ba kích.

***Kết quả 2: Nghiên cứu môi trường thích hợp cho sự tạo rễ của chồi cây Ba kích**

Sau 35 ngày nuôi cấy trên các công thức thí nghiệm, kiểm tra tỷ lệ ra rễ của chồi Ba kích trong từng công thức thí nghiệm.

Bảng 02: Tỷ lệ chồi Ba kích ra rễ sau 35 ngày nuôi cấy

Công thức	Số chồi / bình	Số chồi ra rễ	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ trung bình / chồi
Công thức 1 (đối chứng)	35	35,00	100	3,43
Công thức 2	35	0	0	0
Công thức 3	35	31,33	89,52	3,43
Công thức 4	35	35,00	100	3,44
Công thức 5	35	23,33	66,67	3,27



Đồ thị 02: Tỷ lệ chồi Ba kích ra rễ sau 35 ngày nuôi cấy



Hình 02: Chồi Ba kích hình thành rễ in vitro

Kết quả nuôi cấy được trình bày trong bảng 2 và đồ thị 2 cho thấy: công thức đối chứng và công thức 4 có tỷ lệ chồi ra rễ đều bằng 100%, tuy nhiên công thức 4 số lượng rễ trung bình là 3,44 rễ cao hơn công thức đối chứng là 3,43 rễ. Ở công thức 2 không bổ sung chất IBA vào môi trường dinh dưỡng nên số chồi ra rễ là 0%. Công thức 3 và 5 có tỷ lệ chồi ra rễ lần lượt là 89,52% và 66,67%.

+ 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,4 g/l than hoạt tính là thích hợp nhất cho sự tạo rễ của chồi Ba kích, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100% và số rễ trung bình đạt 3,44 rễ/chồi.

2. Ra ngôi 2.000 cây Ba kích nuôi cấy mô

Cây Ba kích ra ngôi theo 2 đợt

+ Đợt 1 (Ngày 29/6/2018): Ra ngôi 1600 cây Ba kích

+ Đợt 2 (Ngày 03/9/2018): Ra ngôi 1630 cây Ba kích

Từ kết quả thí nghiệm ta rút ra kết luận: công thức 4 có bổ sung 0,3 mg/l IBA vào môi trường nền: 1/2MS

Tổng số lượng cây ra ngôi sau 2 đợt là: 3230 cây Ba kích.



Hình 3: Cây Ba kích in vitro được xử lý để đưa ra ngôi

3. Kết quả theo dõi tỷ lệ sống cây Ba kích khi ra vườn ươm

* Kết quả theo dõi tỷ lệ sống cây Ba kích khi ra vườn ươm

Được thể hiện tại bảng 3

Bảng 3: Tỷ lệ sống của cây Ba kích khi ra vườn ươm sau 30 ngày

Thời gian ra cây	Số cây ra vườn ươm (Cây)	Số cây còn sống (Cây)	Tỷ lệ sống (%)
Đợt 1 29/6/2018	1600	1530	95,62
Đợt 2 03/9/2018	1630	1545	94,79
Tổng	3230	3075	95,20

Kết quả bảng 3 cho thấy sau 30 ngày theo dõi tổng số cây mầm Ba kích sau 2 đợt ra ngôi là 3230 cây, số cây còn sống là 3075 cây. Tỷ lệ cây in vitro sống đạt

95,20%, cây sinh trưởng phát triển tốt, không bị nhiễm sâu, bệnh.



Hình 4: Cây mầm Ba kích ngoài vườn ươm sau 30 ngày chăm sóc

IV. KẾT LUẬN

- Môi trường nuôi cấy MS + 3,5 mg/l BAP + 0,2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin + 30 g/l đường + 5 g/l agar là thích hợp cho sự nhân nhanh chồi Ba kích, cho hệ số nhân chồi đạt 10,14 lần.

- Môi trường nuôi cấy 1/2MS + 0,3 mg/l IBA + 30 g/l đường + 5 g/l agar + 0,4 g/l than hoạt tính là thích hợp cho sự tạo rễ của chồi Ba kích, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100% và số rễ trung bình đạt 3,44 rễ/chồi.

- Cây Ba kích in vitro ngoài vườn ươm đạt tỷ lệ sống cao: 95,20%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bui Thi Huong Phu (2012), Propagation of Bacon (*Morinda officinalis* How) by tissue culture method in Quang Ninh.

2. Hoang Thi The, Nguyen Thi Phuong Thao, Ninh Thi Thao, Nguyen Thi Thuy (2013). The process of in vitro propagation in vitro (*Morinda officinalis*. How). Journal of Science and Development, vol.11, number 3.

3. Nguyen Chieu, Nguyen Tap (2007), Ba Kich, support project specialized in NTFPs of Vietnam, Publisher: Labor.

4. Vo Chau Tuan, Huynh Minh Tu (2010), Research on propagation of baum (*Morinda officinalis*. How) by tissue culture method. Journal of Science and Technology, University of Da Nang, No. 5 (40).

5. Li YF., Gong DH., Yang M., Zhao YM., Luo ZP. (2003). *Inhibition of the oligosaccharides extracted from Morinda officinalis, a Chinese traditional herbal medicine, on the corticosteron induced apoptosis in PC12 cells*. Life Science, 72: 933-942

Study on the medium of propagation *Morinda officinalis* How by tissue culture

Pham Thuy Dung, Nguyen Van Giap, Pham Thi Mai Trang, Vu Thi May

Article info

Received:
7/8/2020
Accepted:
12/8/2020

Keywords:
Morinda officinalis
How, Breeding medium

Abstract

Morinda officinalis How is a valuable medical plant in traditional medicine. The tuber of the *Morinda officinalis* How is widely used as a medicinal effect for tonic kidney, tonic kidney, strengthen tendons, increase resistance, toughness, reduce rheumatism. The extract of *Morinda officinalis* How has the effect of reducing blood pressure, quickly acting on the functional glands, improving the brain, helping to eat and sleep well (Li et al., 2003).

To meet the source of high quality, bulk, it is necessary to have a fast, industrial-scale propagation method, so we have studied the medium of *Morinda officinalis* How propagating the plant by using the tissue culture method. The results of the study showed that: The suitable medium for the rapid multiplication of *Morinda officinalis* How was MS + 3.5 mg/l BAP + 0.2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin + 30 g/l sugar + 5 g/l agar, shoot factor multiplier reaches 10.14 times. The appropriate medium for rooting is 1/2MS + 0.3 mg/l IBA + 30 g/l sugar + 5 g/l agar + 0.4 g/l coal activated, rooting rate reached 100% and the average number of roots reached 3.44 roots / shoot. Survival rate at the nursery reached 95.20%.
