

QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY BA KÍCH (*Morinda officinalis* How)

Hoàng Thị Thế¹, Nguyễn Thị Phương Thảo², Ninh Thị Thảo^{2*}, Nguyễn Thị Thủy²

¹Trung tâm Khoa học và sản xuất lâm nông nghiệp Quảng Ninh

²Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Email*: npthao@hua.edu.vn

Ngày gửi bài: 15.04.2013

Ngày chấp nhận: 18.06.2013

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cây ba kích (*Morinda officinalis* How) từ vật liệu đoạn thân. Trên môi trường MS + 0,25 mg/l kinetin + 1,0 mg/l BA, 96,6% đoạn thân ba kích cảm ứng tạo chồi sau 30 ngày nuôi cấy. Hệ số nhân chồi đạt cao nhất (10,13 lần) sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 10,0 mg/l Riboflavin. Môi trường thích hợp để cảm ứng tạo rễ cho chồi *in vitro* là ½ MS + 0,2 mg/l IBA + 0,4 g/l than hoạt tính. Tỷ lệ chồi tạo rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 3,5 rễ/chồi sau 30 ngày nuôi cấy. Cây *in vitro* sau tạo rễ 35 ngày tỏ ra là thích hợp nhất để chuyển ra trồng ở vườn ươm. Trên giá thể hữu cơ gồm 50% bột dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn, tỷ lệ cây sống cao, cây sinh trưởng, phát triển tốt.

Từ khóa: BA, ba kích, *in vitro*, kinetin, nhân nhanh.

In vitro Propagation of *Morinda officinalis* How

ABSTRACT

The study was conducted to establish the protocol for *in vitro* propagation of *Morinda officinalis* How. using stem segments. The stem segment culture was initiated on MS medium containing 0.25 mg/l Kinetin and 1.0 mg/l BA. 96.6% of explants induced shoots after 30 days of culture. The highest shoot multiplication rate) was obtained on MS medium supplemented with 3.0 mg/l BA; 0.2 mg/l IBA and 10.0 mg/l Riboflavin after 45 days of culture. Root induction medium was ½ MS containing 0.2 mg/l IBA and 0.4 g/l activated charcoal. The average rooting frequency was 100% with a mean of 3.5 roots/shoot within 30 days. *In vitro* plantlets after 35-day period of rooting seemed to be most appropriate for successful acclimatization in greenhouse. The highest plantlets survival and optimal plant growth were obtained using organic substrate containing 50% of coconut fiber and 50% of mushroom compost.

Keywords: BA, *in vitro*, kinetin, *Morinda officinalis* How, propagation.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây ba kích (*Morinda officinalis* 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 (Li và cs., 2003).

Do nhu cầu sử dụng dược liệu tăng mạnh trong thời gian gần đây nên cây ba kích bị khai thác ồ ạt, dẫn đến nguồn nguyên liệu đang trở

nên kiệt quệ. Mặt khác, vùng phân bố của ba kích bị tàn phá nghiêm trọng khiến loài cây này rơi vào tình trạng gần như tuyệt chủng và được đưa vào sách đỏ Việt Nam cần phải được bảo vệ (Nghị định số 48/2002/NĐ-CP).

Việc đáp ứng nhanh và bền vững nguồn giống ba kích có chất lượng tốt đang là yêu cầu cấp bách. Nguồn cung cấp cây giống ba kích hiện nay chủ yếu bằng phương pháp giâm cành, nhưng hệ số nhân giống đạt rất thấp, chỉ đạt 0,6 lần/năm, chất lượng cây giống lại không cao (Triệu Văn Hùng, 2007). Để cải thiện hệ số nhân giống cây ba kích, một số tác giả đã nghiên cứu sử dụng phương pháp nuôi cấy mô tế

bào. Tuy nhiên kết quả mà các tác giả thu được chưa thực sự khả quan, khi hiệu quả khử trùng chỉ đạt 32,8% mẫu sạch (He và cs., 2000) hay hệ số nhân cao nhất chỉ đạt 6,0 chồi/mẫu cấy (Chen và cs., 2006). Tại Việt Nam, mới chỉ có duy nhất một nghiên cứu nhân giống cây ba kích có nguồn gốc từ huyện Tây Giang, Quảng Nam bằng nuôi cấy mô được thực hiện bởi Võ Châu Tuấn và Huỳnh Minh Tư (2010). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm thiết lập quy trình nhân giống *in vitro* cây ba kích có nguồn gốc từ huyện Hoàn Bô, tỉnh Quảng Ninh, bắt đầu từ khâu vào mẫu cho đến khâu thích nghi cây ngoài vườn ươm, có hệ số nhân giống cao và chất lượng cây giống tốt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đoạn thân cây ba kích 1 năm tuổi có nguồn gốc từ huyện Hoàn Bô, tỉnh Quảng Ninh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khử trùng mẫu cấy

Đoạn thân ba kích chứa mắt ngủ có kích thước khoảng 1,5 cm sau khi cắt từ cây mẹ được ngâm trong nước sạch. Sau đó được rửa bằng nước xà phòng loãng và rửa lại dưới vòi nước chảy. Tiếp theo, mẫu cấy được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút, khử trùng lần 1 bằng $\text{Ca}(\text{HClO})_2$ 10% trong 15 phút, lần 2 bằng HgCl_2 0,1% trong 5 phút, rồi rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3-4 lần.

Phương pháp tái sinh chồi từ mẫu cấy

Mẫu cấy sau khi khử trùng được cấy vào môi trường nền MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung 0,25 mg/l kinetin kết hợp với BA với nồng độ từ 0-2,0 mg/l để tái sinh chồi, cụm chồi.

Phương pháp nhân nhanh

Chồi tái sinh từ mẫu cấy có chiều cao 2-2,5 cm và 2-3 cặp lá được chuyển sang môi trường nhân nhanh là môi trường MS, bổ sung BA và IBA ở các nồng độ khác nhau. Các chồi được cấy chuyển sang môi trường mới 45 ngày 1 lần.

Phương pháp tạo rễ cho chồi in vitro

Các chồi có chiều cao 3-3,5cm, sinh trưởng và phát triển bình thường được cấy chuyển sang môi trường MS bổ sung auxin (α -NAA, IBA) hoặc than hoạt tính để kích thích tạo rễ.

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 trước khi hấp khử trùng ở áp suất 1,1 atm, nhiệt độ 121°C trong 20 phút. Điều kiện nuôi cấy *in vitro*: 14h sáng, cường độ ánh sáng 2000 - 2500 lux, nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Phương pháp thích nghi cây ngoài vườn ươm

Cây *in vitro* hoàn chỉnh được chuyển ra vườn ươm, sử dụng giá thể đất (đất cát pha và đất tầng B - lớp đất thứ 2 từ trên mặt xuống, sau lớp tầng đất mặt hay tầng lớp canh tác (đất tầng A), tích tụ các chất rửa trôi từ tầng A xuống) hoặc giá thể hữu cơ gồm 50% bột dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn. Giá thể trước khi sử dụng được xử lý bằng KMnO_4 1-2%, sau đó đóng vào bầu làm từ sợi vải dệt hữu cơ (nhập khẩu từ Trung Quốc) có kích thước 8 x 13 cm.

Cây được đặt trong nhà lưới, che phủ bằng nylon và lưới che râm. Lưới che râm có khả năng cản 70% ánh sáng. Tưới nước giữ ẩm 3 lần/ngày trong tháng đầu tiên và 2 lần/ngày từ tháng thứ 2. Tưới thúc bằng phân bón NPK Đầu Trâu sau 15-20 ngày chuyển cây ra vườn ươm với nồng độ tăng dần từ 0,4-1%, định kỳ 10 ngày/lần.

Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm trong phòng thí nghiệm được bố trí nhắc lại 3 lần mỗi công thức, mỗi lần 10 mẫu. Các chỉ tiêu theo dõi được quan sát và đo đếm sau 30 ngày đối với các thí nghiệm vào mẫu, sau 45 ngày đối với các thí nghiệm nhân nhanh và sau 30 ngày đối các thí nghiệm ra rễ. Các thí nghiệm ngoài vườn ươm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần 100 mẫu, theo dõi sau 60 ngày ra cây.

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình Excel và IRRISTART 4.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo vật liệu khởi đầu

Ảnh hưởng của Kinetin và BA đến khả năng tái sinh chồi

Ở công thức đối chứng (0,25 mg/l kinetin), 80,33% mẫu đoạn thân ba kích cảm ứng tạo chồi. Kết hợp 0,25 mg/l kinetin và BA ở nồng độ 0,5-1,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo chồi tăng hơn so với đối chứng và đạt cao nhất (96,6%) ở nồng độ 1,0 mg/l BA. Khi tăng nồng độ BA lên 2,0 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo chồi và số chồi/mẫu giảm rõ rệt, thấp hơn so với công thức đối chứng (Bảng 1).

Như vậy, môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi ba kích là MS + 0,25 mg/l kinetin + 1,0 mg/l BA (Hình 1). Võ Châu Tuấn và Huỳnh Minh Tư (2010) sử dụng môi trường bổ sung 0,25 mg/l kinetin để tái sinh chồi ba kích, tuy nhiên tác giả không đề cập đến tỷ lệ mẫu tạo chồi. Theo He và cs. (2000), tỷ lệ đoạn thân ba kích tạo chồi cao nhất (97,8%) đạt được trên môi trường chứa 1,0 mg/l BA và tỷ lệ này giảm dần khi nồng độ BA tăng lên.

3.2. Nhân nhanh chồi

3.2.1. Ảnh hưởng của BA đến hiệu quả nhân nhanh chồi ba kích

Trước khi tiến hành thí nghiệm này, ảnh hưởng của kinetin, tổ hợp kinetin và α -NAA, kinetin và IBA đến hiệu quả nhân nhanh chồi ba kích đã được nghiên cứu. Tuy nhiên, hệ số nhân chồi và chất lượng chồi thu được rất thấp. Hệ số nhân chồi đạt được cao nhất (4,38 lần)

trên môi trường chứa 1,0 mg/l kinetin và 0,4 mg/l IBA, chồi sinh trưởng phát triển chậm, chiều cao chồi thấp (số liệu không được chỉ ra ở bài báo này).



Hình 1. Chồi ba kích tái sinh trên môi trường MS + 0,25 mg/l Kinetin + 1,0 mg/l BA sau 30 ngày nuôi cấy

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, khi bổ sung BA vào môi trường, hệ số nhân chồi ba kích đạt được từ 2,37-9,86 lần, cao hơn so với công thức đối chứng (0,87 lần). Hệ số nhân chồi ba kích tăng dần khi nồng độ BA tăng từ 0,5 đến 3,5 mg/l. Tuy nhiên ở nồng độ cao (4,0 mg/l), BA ức chế khả năng nhân chồi, các chỉ tiêu hệ số nhân chồi, chiều cao chồi và chất lượng chồi đều giảm. Hệ số nhân chồi đạt cao nhất (9,86 lần) trên môi trường bổ sung BA ở nồng độ 3,5 mg/l, tuy nhiên chiều cao chồi và chất lượng chồi kém hơn so với các chồi trên môi trường chứa 3,0 mg/l BA. Do vậy, 3,0 mg/l được lựa chọn là nồng độ BA tốt nhất để nhân chồi ba kích.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tổ hợp Kinetin và BA đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân sau 30 ngày nuôi cấy

Kinetin (mg/l)	BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)	Số chồi/mẫu cấy (chồi)
0,25	0,0	80,33	1,83
0,25	0,5	90,00	2,16
0,25	1,0	96,86	2,65
0,25	1,5	85,30	1,46
0,25	2,0	63,13	1,17
	CV%	2,7	3,6
	LSD _{0,05}	4,23	0,12

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi ba kích sau 45 ngày nuôi cấy

BA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao TB chồi (cm)	Chất lượng chồi
0,0	0,87	1,56	+
0,5	2,37	2,10	++
1,0	3,27	2,72	++
1,5	5,11	2,35	++
2,0	5,59	2,06	+++
2,5	7,80	1,95	+++
3,0	9,53	1,83	+++
3,5	9,86	1,21	++
4,0	7,63	0,73	+
CV%	2,3	4,6	
LSD _{0,05}	0,23	0,18	

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

3.2.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và IBA đến hiệu quả nhân nhanh chồi ba kích

Bổ sung IBA ở nồng độ thấp (0,2 mg/l) kết hợp với 3,0 mg/l BA, hệ số nhân chồi (10,13 lần) cao hơn so với môi trường chỉ chứa 3,0 mg/l BA (9,53 lần), chiều cao trung bình và chất lượng chồi cũng cao hơn (Bảng 3). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ IBA (0,4-1,0 mg/l), hệ số nhân chồi giảm, các chồi có xu hướng tạo rễ. Khi bổ sung IBA ở nồng độ cao (1,0 mg/l), hệ số nhân chồi giảm mạnh, chỉ còn 4,38 lần, chất lượng chồi kém, chồi mảnh, ngắn, lá vàng. Hệ số nhân chồi ba kích đạt cao nhất (10,13 lần) sau 45 ngày nuôi cấy trên môi trường chứa 3,0 mg/l BA và 0,2 mg/l IBA, các chồi sinh trưởng phát triển tốt.

Theo kết quả nghiên cứu của Huang và cs. (2007), hệ số nhân chồi cây ba kích cao nhất (6,0

lần) đạt được trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BA và 0,2 mg/l IBA sau 60 ngày nuôi cấy. Võ Châu Tuấn và Huỳnh Minh Tư (2010) đã tìm ra môi trường chứa 3,5 mg/l BA và 0,2 mg/l IBA là môi trường thích hợp nhất cho nhân chồi ba kích. Tuy nhiên, khác với các tác giả trên sử dụng đoạn thân có một mắt lá tách ra từ chồi *in vitro* để nhân nhanh, vật liệu nhân nhanh được sử dụng trong nghiên cứu này là chồi *in vitro*. Hơn nữa, theo nghiên cứu của Võ Châu Tuấn và Huỳnh Minh Tư (2010), sau 60 ngày nuôi cấy, số chồi đạt được tối đa từ một mẫu cấy ban đầu là 15,0 chồi, trong khi đó kết quả bảng 1 và bảng 3 trong nghiên cứu này cho thấy từ một mẫu cấy ban đầu có thể tạo ra số lượng chồi gần gấp đôi (26,8 chồi) sau 30 ngày nuôi cấy khởi động và 45 ngày nhân nhanh.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và IBA đến hiệu quả nhân nhanh chồi ba kích

BA (mg/l)	IBA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao TB chồi (cm)	Chất lượng chồi
3,0	0,0	9,53	1,83	+++
3,0	0,2	10,13	2,33	+++
3,0	0,4	9,04	3,24	+++
3,0	0,6	7,25	2,93	++
3,0	0,8	5,78	2,82	++
3,0	1,0	4,38	1,59	+
CV%		2,3	4,4	
LSD _{0,05}		0,31	0,19	

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

Nhằm nâng cao chất lượng chồi ba kích, 2 loại vitamin, acid ascorbic và riboflavin, đã được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Kết quả cho thấy, chiều cao và chất lượng chồi ba kích được cải thiện rõ rệt, đặc biệt là khi bổ sung 10 mg/l riboflavin (số liệu không được chỉ ra ở bài báo này). Do vậy, môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 10 mg/l Riboflavin được lựa chọn là môi trường nhân nhanh chồi ba kích (Hình 2)



Hình 2. Chồi ba kích nhân nhanh trên môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 10,0 mg/l Riboflavin

3.3. Tạo rễ cho chồi *in vitro*

3.3.1. Ảnh hưởng của α -NAA và IBA đến khả năng ra rễ chồi ba kích

Các chồi ba kích hoàn toàn không tạo rễ trên môi trường nền MS. Bổ sung α -NAA, IBA vào môi trường nuôi cấy đã kích thích chồi ba kích tạo rễ với tỷ lệ nhất định (Bảng 4). Trong trường hợp bổ sung α -NAA, tỷ lệ chồi tạo rễ đạt cao nhất trên môi trường chứa 0,4 mg/l α -NAA (66,6%) sau 30 ngày nuôi cấy và giảm dần khi nồng độ α -NAA tăng lên. Số rễ/chồi cũng như chất lượng bộ rễ trên môi trường chứa α -NAA chưa cao, hầu hết các chồi chỉ sùi to gốc, ít rễ, rễ ngắn. Theo nghiên cứu của He và cs. (2002), tỷ lệ chồi tạo rễ đạt được cao nhất (80%) khi bổ sung α -NAA vào môi trường với nồng độ 0,2-0,5 mg/l.

IBA có ảnh hưởng tích cực hơn đến khả năng tạo rễ của chồi ba kích so với α -NAA, do các chỉ

tiêu về tỷ lệ chồi tạo rễ, số rễ/chồi và chiều dài rễ đều cao hơn. Các rễ tạo ra có chất lượng tốt hơn, rễ trắng, nhiều rễ phụ. Đặc biệt, khi bổ sung 0,2 mg/l IBA, 100% chồi tạo rễ, số rễ/chồi đạt cao nhất (3,16) và chiều dài rễ là 2,53 cm.

3.3.2. Ảnh hưởng của than hoạt tính tới chất lượng rễ

Mặc dù IBA và α -NAA có tác dụng kích thích tạo rễ cho chồi ba kích, tuy nhiên các rễ xộp và dễ gãy khi chuyển ra thích nghi ngoài vườn ươm. Để làm tăng chất lượng bộ rễ, than hoạt tính (THT) với nồng độ 0,2-1,0 mg/l được bổ sung vào môi trường MS và 0,2 mg/l IBA. Kết quả sau 30 ngày nuôi cấy cho thấy, chất lượng bộ rễ ba kích đã được cải thiện đáng kể, các rễ có màu trắng, khỏe mạnh, sinh trưởng tốt. Tuy nhiên nồng độ THT cao (0,6-1 mg/l) lại ức chế sự tạo rễ của chồi ba kích. Nồng độ THT thích hợp nhất trong quá trình tạo rễ là 0,4 mg/l, cho tỷ lệ chồi tạo rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ và chất lượng rễ cao nhất (Bảng 5).

3.4. Thích nghi cây ngoài vườn ươm

3.4.1. Ảnh hưởng của tuổi cây *in vitro* đến tỷ lệ sống của cây con ngoài vườn ươm

Khi đưa cây ra thích nghi ngoài vườn ươm, cây *in vitro* 35 ngày tuổi trên môi trường ra rễ có tỷ lệ sống cao nhất (96%), trong khi đó cây non hơn hoặc già hơn có tỷ lệ sống thấp hơn (Bảng 6). Điều này có thể giải thích do cây *in vitro* 25-30 ngày tuổi có bộ rễ còn non, chưa có khả năng hút nước mạnh; trong khi cây *in vitro* 40-45 ngày tuổi sinh trưởng chậm do cạn kiệt về nguồn dinh dưỡng *in vitro*, làm ảnh hưởng đến chất lượng bộ rễ.

3.4.2. Ảnh hưởng của các loại giá thể đến khả năng sống của cây con ngoài vườn ươm

Tỷ lệ sống sót của cây *in vitro* ba kích sau khi thích nghi ngoài vườn ươm khá cao, từ 94,7-96,3% tùy thuộc vào loại giá thể (Bảng 7). Chen và cs. (2006) ghi nhận kết quả 90% cây *in vitro* ba kích sống sót sau khi chuyển ra ngoài điều kiện tự nhiên.

Bảng 4. Ảnh hưởng của α -NAA và IBA tới khả năng ra rễ của chồi ba kích sau 30 ngày nuôi cấy

Nồng độ α -NAA/IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)		Số rễ TB/chồi (rễ)		Chiều dài TB rễ (cm)	
	α -NAA	IBA	α -NAA	IBA	α -NAA	IBA
0	0	0	0	0	0	0
0,1	6,37	89,76	1,23	2,73	0,63	2,36
0,2	22,37	100,00	1,57	3,16	1,03	2,53
0,3	36,56	100,00	1,83	2,90	1,30	2,23
0,4	66,6	63,30	1,03	2,40	1,30	2,06
0,5	24	37,86	0,76	2,10	0,83	1,76
1,0	15,3	27,06	0,63	1,56	0,46	1,13
CV%	4,2	3,8	4,8	4,5	4,6	4,9
LSD _{0,05}	1,85	3,12	0,25	0,24	0,38	0,19

Bảng 5. Ảnh hưởng của than hoạt tính tới chất lượng bộ rễ của chồi ba kích sau 30 ngày cấy

THT (g/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB (rễ)	Chiều dài TB rễ (cm)
0,0	100,00	3,16	2,53
0,2	100,00	3,32	2,83
0,4	100,00	3,50	3,02
0,6	92,00	3,16	2,70
0,8	64,20	2,43	2,06
1,0	17,43	1,86	1,73
CV%	1,3	4,1	2,2
LSD _{0,05}	1,77	0,26	0,99

Bảng 6. Ảnh hưởng của tuổi cây *in vitro* đến tỷ lệ sống của cây con ngoài vườn ươm trên giá thể đất tầng B

Cây <i>in vitro</i>	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)
25 ngày tuổi	74,0	8,6
30 ngày tuổi	87,7	9,3
35 ngày tuổi	96,0	12,5
40 ngày tuổi	92,7	11,7
45 ngày tuổi	86,6	10,7
CV%	2,2	5,2
LSD _{0,05}	3,5	1,03

Bảng 7. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sống sót và sinh trưởng của cây ba kích

Giá thể	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)
Đất tầng B	95,3	12,3
Giá thể hữu cơ	96,2	17,7
Đất cát pha	94,7	14,7
CV%	0,5	4,5
LSD _{0,05}	1,0	1,5

Kết quả bảng 7 cũng cho thấy, cây sinh trưởng phát triển tốt nhất trên giá thể hữu cơ, đạt 17,7 cm sau 60 ngày trồng, cây sinh trưởng chậm hơn trên giá thể đất tầng B và đất cát pha. Điều này có thể giải thích do đất tầng B dễ bị bí chặt và đất cát pha dễ bị mất kết cấu sau khi tưới nước nhiều lần, làm ảnh hưởng đến hệ rễ cây con. Giá thể hữu cơ không chỉ nhẹ, thoát nước tốt, giúp hệ rễ cây phát triển mạnh, việc trồng cây ba kích trong giá thể này không cần bóc vỏ bầu, rất thuận tiện trong việc trồng, chăm sóc và vận chuyển cây giống. Theo Võ Châu Tuấn và Huỳnh Minh Tư (2010), tỷ lệ cây ba kích sống sót trên giá thể đất cát pha cao hơn so với giá thể trấu-đất (1:1) và giá thể trấu hun.

4 KẾT LUẬN

- Môi trường MS + 0,25 mg/l kinetin + 1 mg/l BA thích hợp cho tái sinh chồi ba kích từ đoạn

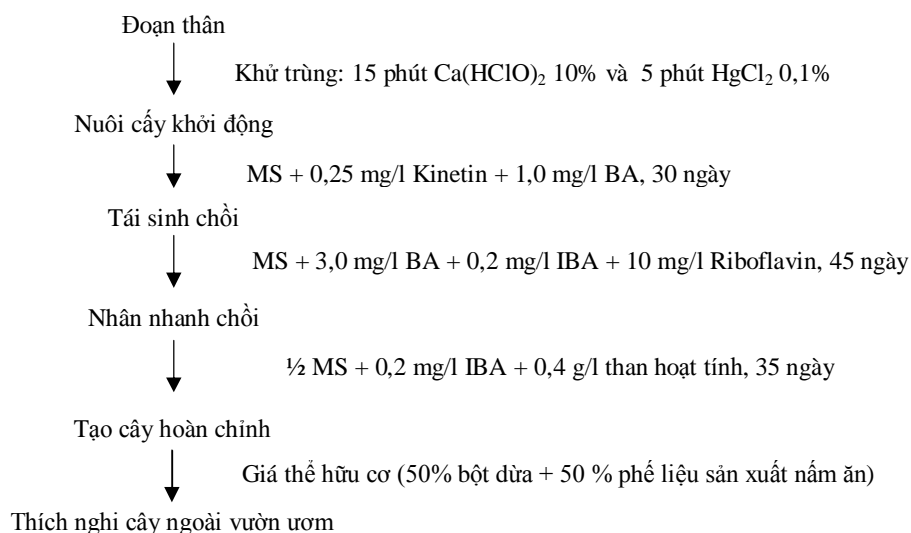
thân, cho tỷ lệ mẫu cảm ứng tái sinh chồi đạt 96,86% và 2,65 chồi/mẫu sau 30 ngày nuôi cấy.

- Môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 10,0 mg/l Riboflavin thích hợp cho nhân nhanh chồi ba kích, đạt hệ số nhân 10,13 lần sau 45 ngày nuôi cấy.

- Môi trường thích hợp để tạo rễ cho chồi cây ba kích là MS + 0,2 mg/l IBA + 2 g/l than hoạt tính, cho tỷ lệ ra rễ đạt 100%, 3,5 rễ/chồi, chất lượng bộ rễ tốt.

- Tuổi cây *in vitro* thích hợp để chuyển cây ra ngoài vườn ươm là 35 ngày tuổi. Giá thể thích hợp để tiếp nhận cây là giá thể hữu cơ (50% bột dừa + 50% phế liệu sản xuất nấm ăn), cho tỷ lệ cây sống đạt 96,1% sau 60 ngày.

Quy trình nhân giống *in vitro* cây ba kích từ đoạn thân có thể tóm tắt như sau:



TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nghị định số 48/2002/NĐ-CP ngày 22 tháng 4 năm 2002. Quy định danh mục thực vật, động vật rừng quý hiếm và chế độ quản lý, bảo vệ.

Triệu Văn Hùng (2007). Lâm sản ngoài gỗ Việt Nam - Dự án hỗ trợ chuyên ngành lâm sản ngoài gỗ tại Việt Nam - Pha II. Nhà xuất bản Bản đồ Hà Nội, tr. 396-399.

Võ Châu Tuấn, Huỳnh Minh Tư (2010). Nghiên cứu nhân giống cây ba kích (*Morinda officinalis*. How) bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng, 5(40): 1-9.

Chen W, Xu L., Li Z. and Li K. (2006). Tissue culture and rapid propagation of *Morinda officinalis* How. Plant Physiology Communication 42 (3): 475.

He H, Xiao S., Xian J., Xu H. (2000). *In-vitro* culture and plant regeneration of *Morinda officinalis* How. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine 17 (4): 353-354.

- He H., Xu HH. (2002). *In vitro* culture and the Agrobacterium-mediated genetic transformation of *Morinda officinalis*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 27 (10): 733-735.
- Huang NZ., Fu CM., Zhao ZG., Tang FL., Li F. (2007). Tissue culture and rapid proliferation of *Morinda officinalis* How. *Guihaia*, 27(1): 127-131.
- 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.
- Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*, 15: 473-497.