

ĐÁNH GIÁ CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN CÂY BA KÍCH TÍM (*Morinda officinalis* How.) NUÔI CÂY MÔ TRONG QUÁ TRÌNH THUẦN DƯỠNG Ở GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

Lê Thái Hùng*, Hồ Thanh Hà, Phạm Cường, Trần Minh Đức, Huỳnh Kim Hiếu

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: lethaihung@huaf.edu.vn

Nhận bài: 19/10/2021 Hoàn thành phản biện: 30/11/2021 Chấp nhận bài: 15/12/2021

TÓM TẮT

Ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) là cây có giá trị dược liệu cao nên được trồng trong những năm gần đây. Việc thuần dưỡng cây nuôi cấy mô thành công góp phần cung cấp nguồn cây giống chất lượng tốt cho sản xuất. Các thí nghiệm về ảnh hưởng của thành phần giá thể, độ che sáng, loại phân và liều lượng bón đến tỷ lệ sống, sinh trưởng và phẩm chất của cây con được triển khai tại Trung tâm thực hành và nghiên cứu Lâm nghiệp Hương Vân, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng cây con ba kích tím nuôi cấy mô được thuần dưỡng ở giai đoạn vườn ươm sử dụng công thức giá thể ruột bầu với 85% đất phù sa + 15% phân chuồng hoai mục, độ che sáng 50% và sử dụng phân hữu cơ vi sinh bón thúc với liều lượng 300 g/m² bầu, sau 6 tháng đạt chiều cao 22,40 ± 1,41 cm, đường kính gốc 1,90 ± 0,06 mm, số lá ≥ 11,46 ± 0,53 lá/cây, tỷ lệ sống 86,1% và 87,1% cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn. Kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn trong việc thuần dưỡng cây giống nuôi cấy mô ở giai đoạn vườn ươm, góp phần tạo ra nguồn giống đủ phục vụ cho công tác trồng, phát triển bền vững cây ba kích.

Từ khóa: Ba kích tím, Giá thể, Ánh sáng, Nuôi cấy mô, Thuần dưỡng

EVALUATION OF THE FACTORS AFFECTING THE TISSUE-CULTURED *Morinda officinalis* How. DURING DOMESTICATION PROCESS AT THE NURSERY STAGE

Le Thai Hung*, Ho Thanh Ha, Pham Cuong, Tran Minh Duc, Huynh Kim Hieu

University of Agriculture and Forestry, Hue University

ABSTRACT

The medicinal plant *Morinda officinalis* How. has been planted recently due to its medicinal high value. Successfully domesticated tissue-culture plants will provide high quality seedling sources for production needs. The experiments on the effect of growing media, shading, type of fertilizers and fertilizer dosage on the survival, growth and quality of seedlings were carried out at Center for Forestry Research and Practice at Huong Van, the University of Agriculture and Forestry, Hue University. The results of the study showed that tissue-cultured seedlings were domesticated at the nursery stage using a growing media containing 85% alluvial soil and 15% manure, 50% shading gave and the application of micro-organic fertilizers at a dose of 300 grams square meter for a period of 6 months, produced the best results in the optimum height 22,40 ± 1,41 cm, the root diameter 1,90 ± 0,06 mm, the number of leaves 11,46 ± 0,53 leaves/sapling, 86,1% of survival rate and 87,1% of qualified sapling rate. These research results have scientific and practical significance for the domestication of tissue-cultured plants at the nursery stage, contributing to the creation of qualified and good quality seedlings sources for planting, sustainable development of the medicinal plant *Morinda officinalis* How.

Keywords: *Morinda officinalis* How., Growing media, Shading, Tissue-cultured, Domestication

1. MỞ ĐẦU

Cây ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) thuộc chi *Morinda*, họ cà phê (Rubiaceae), hay còn gọi cây dây ruột gà. Đây là một loài dược liệu quý, sử dụng để chữa các bệnh phong thấp, giảm huyết áp, bổ dưỡng và được xem là thực phẩm chức năng, tăng cường sức khỏe cho nam giới (Võ Văn Chi, 2012). Cây dạng thân leo sống nhiều năm, thân có nhiều lông mịn, có lông thân dài từ 5 - 10 cm. Lá đơn nguyên mọc đối, phiến lá hình bầu dục thuôn ngược, đầu ngọn gấp, đuôi lá hình tim, phiến lá lúc non màu xanh, già màu trắng mốc. Hoa trắng sau chuyển vàng. Quả kép, khi chín có màu đỏ. Rễ cây phình to dạng củ (Phạm Hoàng Hộ, 1999; Võ Văn Chi, 2012). Ở Việt Nam, cây ba kích tím phân bố nhiều ở các tỉnh phía Bắc, cũng như ở miền Trung và được chú ý trồng và phát triển (Trần Lê Đức, 1997; Trần Minh Đức và cs., 2015).

Hiện nay, ba kích tím là một trong 36 loài cây dược liệu bản địa cần được ưu tiên phát triển quy mô lớn ở Việt Nam và thuộc nhóm 12 loài cây dược liệu ưu tiên gây trồng và phát triển ở tỉnh Thừa Thiên Huế (Quyết định 1976/QĐ-TTg; Quyết định số 1622/QĐ-UBND) nên các giải pháp kỹ thuật về nguồn giống cần phải ưu tiên nghiên cứu nhằm đưa ra những luận cứ khoa học cho việc phát triển gây trồng tại các địa phương. Trong kỹ thuật gieo ươm cây giống lâm nghiệp việc xác định giá thể, cường độ chiếu sáng và phân bón có ý nghĩa quan trọng đến sức sinh trưởng, tỷ lệ sống và phẩm chất xuất vườn của cây giống (Trần Minh Đức và cs., 2015; Võ Châu Tuấn và cs., 2010; Hoàng Thị Thế và cs., 2013; Lê Xuân Phúc, 2015). Đối với ba kích tím, trong môi trường in vitro cây con được nuôi cấy từ cành bố mẹ một năm tuổi (Võ Châu Tuấn và cs., 2010). Sau khi tạo rễ 35 ngày, cây con có thể chuyển ra trồng ở vườn ươm với tỷ lệ sống đạt 90% (Chen và cs., 2006).

Tại vườn ươm, cây con có thể phát triển tốt trên giá thể đất cát pha có tỷ lệ sống cao hơn so với giá thể trấu - đất (1:1) và giá thể trấu hun (Võ Châu Tuấn và cs., 2010) hoặc giá thể hữu cơ gồm 50% bột dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn cho tỷ lệ sống đạt 96,1% sau 60 ngày gieo ươm (Hoàng Thị Thế và cs., 2013). Tuy nhiên, các nghiên cứu trên mới chỉ đề cập đến ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống mà chưa phân tích ảnh hưởng của chế độ che sáng, các loại phân bón, liều lượng bón thúc cho cây con trong giai đoạn vườn ươm. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của các yếu tố ánh sáng, giá thể và phân bón lên sinh trưởng và tỷ lệ sống của cây ba kích tím trong giai đoạn thuần dưỡng tại vườn ươm ở Thừa Thiên Huế. Từ đó lựa chọn được các giải pháp kỹ thuật thích hợp và hoàn thiện quy trình nhân giống cây ba kích tím đạt tỷ lệ sống cao, sinh trưởng và phẩm chất cây giống tốt nhất tại địa phương.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, thời gian nghiên cứu và kỹ thuật chăm sóc cây con tại vườn ươm

Cây ba kích nuôi cấy mô đủ tiêu chuẩn về chiều cao từ 2 - 3 cm, số lá 1 - 3 cặp và phẩm chất tốt được cấy vào túi bầu PE (polyetylen) có kích thước 7 x 12 cm. Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 6 đến tháng 12 năm 2020 tại vườn ươm Trung tâm thực hành và nghiên cứu Lâm nghiệp Hương Vân, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

Các thí nghiệm được áp dụng kỹ thuật chăm sóc đồng nhất một số yếu tố trong giai đoạn vườn ươm như độ ẩm không khí tương đối, nhiệt độ, sử dụng hệ thống tưới phun sương tự động với số lần phun, thời gian phun được điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện thời tiết và từng giai đoạn của cây con.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các thí nghiệm 1, 2 được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, thí nghiệm 3 được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp có dung lượng mẫu $n = 36$, tổng dung lượng mẫu cho mỗi thí nghiệm là 108 cây/thí nghiệm. Các thí nghiệm được bố trí song song cùng thời điểm nghiên cứu.

Ảnh hưởng chế độ che sáng đến cây nuôi cấy mô giai đoạn vườn ươm

Độ che sáng được xác định theo công thức thực nghiệm của Nguyễn Hữu Thước (được trích dẫn bởi Nguyễn Việt Cường, 2014): $S = Scb/Stn \times 100\%$, trong đó: S là độ che sáng, Scb: tổng diện tích che sáng, Stn: tổng diện tích thí nghiệm. Vật liệu che sáng được sử dụng là lưới Thái Lan được sản xuất theo tiêu chuẩn để đảm bảo độ che sáng. Mức độ che sáng được giữ nguyên trong quá trình thực hiện thí nghiệm. Giá thể được sử dụng là các loại đất pha cát có sẵn tại địa phương kết hợp với phân chuồng hoai theo tỷ lệ 85% đất: 15% phân chuồng. Loại phân bón được sử dụng là NPK 16:16:8, với liều lượng bón là 70 g/m^2 bầu cây ($12 \times 12 = 144 \text{ bầu/m}^2$). Các công thức thí nghiệm gồm có: CS1: độ che sáng 0%; CS2: độ che sáng 25%; CS3: độ che sáng 50%; CS4: độ che sáng 75%.

Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến cây nuôi cấy mô giai đoạn vườn ươm

Theo kết quả nghiên cứu của Võ Châu Tuấn và cs. (2010), cây con ba kích tím có tỷ lệ sống cao hơn khi phát triển trong giá thể đất cát pha. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng các loại đất phù sa có sẵn tại địa phương để làm giá thể trong nghiên cứu. Các thí nghiệm được thiết kế bao gồm: GT1: 85% đất phù sa + 15% phân chuồng hoai; GT2: 85% đất feralit đỏ vàng + 15% phân chuồng hoai; GT3: 90% đất

phù sa + 5% vỏ trấu + 5% phân chuồng hoai. Trong đó, đất phù sa được lấy từ các bãi bồi thuộc hệ thống sông Bò, phường Hương Vân, thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế; đất feralit đỏ vàng tầng B được lấy dưới tán rừng keo tại Trung tâm thực hành và nghiên cứu Lâm nghiệp Hương Vân và phân chuồng hoai là phân bò đã ủ hoai mục. Các điều kiện thí nghiệm được bố trí đồng nhất ở tất cả các thí nghiệm gồm: độ che sáng 50%, phân bón NPK 16:16:8 với liều lượng bón là 70 g/m^2 bầu cây.

Ảnh hưởng loại phân bón và lượng phân bón đến cây nuôi cấy mô giai đoạn vườn ươm

Thí nghiệm được bố trí với các công thức phân khác nhau, mỗi công thức phân là 1 khối đồng nhất, gồm có: PB1 (phân NPK 16:16:8) với 4 liều lượng bón là 30 g/m^2 bầu (A1), 50 g/m^2 bầu (A2), 70 g/m^2 bầu (A3), 90 g/m^2 bầu (A4); PB2 (phân NPK 12:5:10) với 4 liều lượng bón là 30 g/m^2 bầu (B1), 50 g/m^2 bầu (B2), 70 g/m^2 bầu (B3), 90 g/m^2 bầu (B4); PB3 (phân hữu cơ vi sinh) với 4 liều lượng bón là 100 g/m^2 bầu (C1), 200 g/m^2 bầu (C2), 300 g/m^2 bầu (C3), 400 g/m^2 bầu (C4). Các loại phân được hòa tan vào nước với liều lượng tương ứng vào bình phun 2 lít và tiến hành phun trực tiếp lên lá, mặt bầu của cây con trên 1 m^2 bầu ươm, định kỳ phun một lần/tháng vào ngày 15 hàng tháng.

2.2.2. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp thu thập số liệu

Các chỉ tiêu về sinh trưởng được thu thập theo định kỳ 1 tháng một lần từ tháng thứ 2 đến tháng thứ 6 của giai đoạn thí nghiệm. Trong đó, chiều cao cây (cm) được đo bằng thước thép khắc vạch đến milimet; đường kính gốc (mm) sử dụng thước palme điện tử MITUTOYO 500 - 181 - 30 có độ chính xác 0,02 mm. Chỉ tiêu số lá trên cây được đếm trực tiếp và theo dõi từ tháng thứ 2 đến tháng thứ 4 vì từ tháng thứ 5 đã có sự

rụng lá và biến động số lượng lá lớn nên quá trình quan sát trở nên khó khăn và sai số lớn. Tất cả các số liệu được đo đếm trên toàn bộ cây thí nghiệm với tổng số lượng cây theo dõi của 3 thí nghiệm là 2052 cây (trong đó thí nghiệm 1 có 324 cây, thí nghiệm 2 có 432 cây và thí nghiệm 3 là 1,296 cây). Tỷ lệ sống (%), phẩm chất cây và tỷ lệ cây xuất vườn (%) được xác định vào thời điểm sau 6 tháng ươm (trước khi xuất vườn). Cây có phẩm chất tốt là những cây không sâu bệnh, chiều cao trên 15 cm; cây xấu là những cây có sâu bệnh như bệnh lở cổ rễ, bệnh vàng lá chết khô héo, sâu xanh ăn lá hoặc chiều cao nhỏ hơn 10 cm; còn lại là những cây trung bình là những cây có chiều cao từ 10 - 15 cm. Cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn là những cây có phẩm chất trung bình trở lên (chiều cao cây trên 10 cm, không có sâu bệnh). Tỷ lệ sống = tổng số cây còn sống / tổng số cây ban đầu * 100% và Tỷ lệ cây xuất vườn = tổng số cây đạt tiêu chuẩn / tổng số cây ban đầu * 100%.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp thành các bảng, biểu đồ theo các đặc trưng mẫu. Sử dụng tiêu chuẩn Khi bình phương (Chi-squared test) để so sánh, đánh giá tỷ lệ sống, phẩm chất cây của các tổng thể. Đánh giá sự ảnh hưởng của các nhân tố thí nghiệm đến sinh trưởng cây con bằng phương pháp phân tích phương sai 1 nhân tố (One-Way ANOVA) và sử dụng tiêu chuẩn DUNCAN trong kiểm tra hậu kiểm (post-hoc) cho các số liệu ở lần đo cuối với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 25 và Excel 2013 theo phương pháp thống kê sinh học trong Lâm nghiệp (Nguyễn Hải Tuất và cs., 2006).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng chế độ che sáng đến sinh trưởng, tỷ lệ sống, phẩm chất và tỷ lệ xuất vườn của cây giống sau thời gian thuần dưỡng

Ánh sáng thích hợp cho quá trình ra rễ của đa số các loài cây nhiệt đới là ánh sáng tán xạ có cường độ tương đương trong bóng râm, khoảng $4.000 \div 8.000$ lux tùy thuộc mùa và thời điểm trong ngày (Dương Mộng Hùng, 2005; Lê Xuân Phúc, 2015). Kết quả thí nghiệm ở Bảng 1 cho thấy, chế độ che sáng có ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây ba kích tím trong giai đoạn vườn ươm. Tất cả các công thức che sáng được đưa vào thí nghiệm đều có ảnh hưởng tích cực lên sinh trưởng về chiều cao, đường kính gốc và số lá của cây con sau 6 tháng ươm so với nghiệm thức đối chứng ($p < 0,05$). Trong đó, độ che sáng 50% (CS2) cho thấy giá trị sinh trưởng cao hơn các nghiệm thức khác về chiều cao, đường kính gốc và số lá từ tháng thứ 2. Ở tháng ươm thứ 6, các giá trị sinh trưởng của CS2 đạt $23,49 \pm 1,39$ cm chiều dài; $1,95 \pm 0,04$ mm đường kính gốc và $11,53 \pm 0,48$ lá/cây. Các giá trị về chiều cao và số lá giữa các nghiệm thức CS1, CS2 và CS3 không có sai khác về ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), ngoại trừ đường kính gốc ($p < 0,05$). Vì vậy, sử dụng công thức CS2 để che sáng cho cây ba kích tím cho giá trị sinh trưởng tốt nhất về đường kính gốc so với các chế độ che sáng ĐC (0%), 25% và 75%. Trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Khánh và cs. (2020), về ảnh hưởng của các chế độ che sáng đến sinh trưởng của cây con sau 2 tháng thuần dưỡng cũng cho thấy, ở chế độ che sáng là 50% cây đạt tiêu chuẩn sinh trưởng tốt nhất về chiều cao (10 - 12 cm), số lá (12 - 14 lá/cây). Các kết quả từ nghiên cứu này có sự tương đồng với kết quả của Thí nghiệm 1 ở tháng ươm thứ 2 đến tháng thứ 3.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến tỷ lệ sống, sinh trưởng của cây con

Chỉ tiêu	Nghiệm thức	Số tháng sau thuần dưỡng				
		2	3	4	5	6
Chiều cao (cm)	Che sáng 0%	6,11 ± 0,29	8,97 ± 0,69	12,45 ± 0,87	13,77 ± 1,09	15,98 ^a ± 1,29
	Che sáng 25%	7,70 ± 0,69	10,25 ± 0,76	16,79 ± 0,78	20,65 ± 1,21	22,77 ^b ± 1,49
	Che sáng 50%	8,40 ± 0,23	13,64 ± 0,29	18,55 ± 0,89	21,50 ± 1,11	23,49 ^b ± 1,39
	Che sáng 75%	6,64 ± 0,39	9,79 ± 0,89	12,13 ± 0,92	16,42 ± 1,23	18,76 ^b ± 2,26
Đường kính góc (mm)	Che sáng 0%	1,16 ± 0,03	1,27 ± 0,02	1,44 ± 0,02	1,49 ± 0,03	1,56 ^a ± 0,05
	Che sáng 25%	1,32 ± 0,02	0,32 ± 0,03	1,45 ± 0,03	1,62 ± 0,02	1,70 ^a ± 0,06
	Che sáng 50%	1,26 ± 0,03	0,41 ± 0,03	1,79 ± 0,03	1,88 ± 0,01	1,95 ^b ± 0,04
	Che sáng 75%	1,23 ± 0,02	1,33 ± 0,01	1,40 ± 0,02	1,59 ± 0,04	1,62 ^a ± 0,05
Số lá	Che sáng 0%	7,54 ± 0,25	7,87 ± 0,29	8,98 ^a ± 0,41	-	-
	Che sáng 25%	8,70 ± 0,19	9,12 ± 0,30	11,52 ^b ± 0,58	-	-
	Che sáng 50%	8,53 ± 0,21	9,87 ± 0,32	11,53 ^b ± 0,48	-	-
	Che sáng 75%	8,75 ± 0,20	9,01 ± 0,22	11,37 ^b ± 0,63	-	-

^{a, b}: Giá trị trung bình trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là khác nhau ($p < 0,05$).

Mặc dù, các công thức che sáng cho thấy không có sự khác biệt lớn giữa các chỉ tiêu sinh trưởng nhưng giá trị về tỷ lệ sống lại cho thấy sự khác nhau giữa chúng. Các kết quả ở Bảng 2 cho thấy, nghiệm thức CS2

có tỷ lệ sống (81,5%) thấp hơn so với các nghiệm thức còn lại (88,0 - 91,7%) sau 6 tháng ươm cây. Nghiệm thức CS3 luôn cho tỷ lệ sống cao nhất 91,7%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến phẩm chất và tỷ lệ xuất vườn sau 6 tháng thuần dưỡng

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ xuất vườn (%)
		Tốt	Trung bình	Xấu	
Che sáng 0%	89,8	23,7	30,9	45,4	54,6
Che sáng 25%	88,0	31,6	36,8	31,6	68,4
Che sáng 50%	81,5	51,1	36,4	12,5	87,5
Che sáng 75%	91,7	34,4	31,3	34,3	65,7

Bảng 2 cho thấy chế độ che sáng khác nhau có ảnh hưởng đến phẩm chất và tỷ lệ cây giống đủ tiêu chuẩn xuất vườn sau 6 tháng thuần dưỡng. Nghiệm thức CS2 có ảnh hưởng tốt nhất lên phẩm chất và tỷ lệ xuất vườn của cây ba kích tím với tỷ lệ cây có phẩm chất tốt (51,1%) và cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (87,5%) cao nhất. Các nghiệm thức CS1 và CS3 có tỷ lệ cây phẩm chất tốt và tỷ lệ xuất vườn cao hơn ĐC (31,6 & 34,4 so với 23,7; và 68,4 & 65,7 so với 54,6%). Như vậy, sử dụng công thức che sáng 50% (CS2) có ảnh hưởng tốt nhất đến khả năng sinh trưởng của cây ba kích tím giai đoạn thuần dưỡng tại vườn ươm với tốc độ tăng trưởng về chiều cao là $23,49 \pm 1,39$ cm; đường kính gốc là $1,95 \pm 0,04$ mm sau 6 tháng và số lá $11,53 \pm 0,48$ sau 4 tháng

thuần dưỡng cây con trong giai đoạn vườn ươm.

3.2. Ảnh hưởng giá thể đến tỷ lệ sống và khả năng sinh trưởng của cây ba kích tím giai đoạn thuần dưỡng

Các loại giá thể khác nhau có sự ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng của cây ba kích tím trong giai đoạn thuần dưỡng. Trong đó, các chỉ tiêu sinh trưởng về chiều cao cây, đường kính gốc ở GT1 cho giá trị cao hơn các nghiệm thức khác, đạt chiều cao cây $22,80 \pm 0,82$ cm, đường kính gốc là $1,85 \pm 0,03$ mm sau 6 tháng ($p < 0,05$). Tất cả các cây đưa vào thí nghiệm đều có số lá từ 9 - 11 lá/cây và không có sự khác biệt giữa các giá thể với nhau ($p > 0,05$) (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng các loại giá thể đến sinh trưởng của cây con

Chỉ tiêu	Loại giá thể	Số tháng sau thuần dưỡng				
		2	3	4	5	6
Chiều cao (cm)	Giá thể 1	8,57 ± 0,02	11,74 ± 0,04	16,65 ± 0,05	20,08 ± 0,05	22,80 ^a ± 0,82
	Giá thể 2	6,68 ± 0,03	10,24 ± 0,04	14,81 ± 0,04	18,51 ± 0,06	20,47 ^b ± 0,78
	Giá thể 3	5,50 ± 0,02	8,60 ± 0,03	11,94 ± 0,05	15,70 ± 0,07	17,00 ^c ± 0,68
Đường kính gốc (mm)	Giá thể 1	1,45 ± 0,02	1,50 ± 0,01	1,60 ± 0,02	1,72 ± 0,03	1,85 ^a ± 0,03
	Giá thể 2	1,21 ± 0,02	1,36 ± 0,01	1,53 ± 0,02	1,70 ± 0,02	1,82 ^a ± 0,03
	Giá thể 3	1,09 ± 0,01	1,23 ± 0,02	1,36 ± 0,02	1,47 ± 0,03	1,54 ^b ± 0,03
Số lá (lá/cây)	Giá thể 1	8,90 ± 0,10	9,45 ± 0,12	10,92 ^a ± 0,24	-	-
	Giá thể 2	8,00 ± 0,21	8,47 ± 0,22	10,71 ^a ± 0,29	-	-
	Giá thể 3	7,90 ± 0,15	8,38 ± 0,17	10,44 ^a ± 0,29	-	-

a, b: Giá trị trung bình trong cùng một cột có chữ khác nhau là khác nhau ($p < 0,05$).

Sau 6 tháng thuần dưỡng, sử dụng GT1 cũng cho thấy sự ảnh hưởng tốt hơn lên tỷ lệ sống, phẩm chất cây và tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn cao hơn các nghiệm thức khác (Bảng 4). Cụ thể, GT1 có tỷ lệ phẩm chất cây tốt cao nhất (50,8%), tiếp theo công thức GT2, GT3 với tỷ lệ đạt

24,5% và 31,1%. Công thức GT3 có tỷ lệ cây trung bình cao nhất (49,6%) và thấp nhất là GT2 (28,2%). Tỷ lệ cây con đủ tiêu chuẩn xuất vườn ở công thức GT1 cho tỷ lệ cao nhất (88,3%), tiếp theo là công thức GT3 (80,7%) và thấp nhất là GT2 (80,7%).

Bảng 4. Ảnh hưởng giá thể đến tỷ lệ sống, phẩm chất và tỷ lệ xuất vườn của cây con sau 6 tháng thuần dưỡng

Nghiệm thức	Tỷ lệ sống (%)	Phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ xuất vườn (%)
		Tốt	Trung bình	Xấu	
Giá thể 1	91,8	50,8	37,5	11,7	88,3
Giá thể 2	84,9	34,5	28,2	37,3	80,7
Giá thể 3	71,3	31,1	49,6	19,3	80,7

Các kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu của các tác giả trước đây về giá thể cho cây giống ba kích tím ở giai đoạn vườn ươm. Theo Chen và cs. (2006), cây giống ba kích tím nuôi cấy mô đạt tỷ lệ sống 90% khi được thuần hóa ra môi trường tự nhiên. Sử dụng giá thể hữu cơ gồm 50% bột dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn, cây đạt tỷ lệ sống từ 94,7 - 96,3% (Hoàng Thị Thế và cs., 2013). Theo Võ Châu Tuấn (2010), cây sinh trưởng tốt trên giá thể đất cát pha, chiều cao đạt 9,9 cm sau 30 ngày và 15,14 cm sau 45 ngày trồng nhưng lại sinh trưởng chậm trên hỗn hợp bầu trộn với trấu chỉ đạt 6,88 - 7,98 cm sau 45 ngày chăm sóc ở vườn ươm. Tại Trung tâm thực hành và nghiên cứu Lâm nghiệp Hương Vân sử dụng giá thể 85% đất phù sa + 15% phân chuồng hoai cho cây ba kích tím ở giai đoạn

vườn ươm là phù hợp, cho tốc độ sinh trưởng chiều cao là 22,80 ± 0,82 cm, đường kính gốc là 1,85 ± 0,03 mm, 10,92 ± 0,24 lá/cây, tỷ lệ sống đạt 91,8%, với 50,8% cây có phẩm chất tốt và tỷ lệ cây đạt chuẩn xuất vườn đạt 88,3%.

3.3. Ảnh hưởng của loại phân và liều lượng bón đến tỷ lệ sống, sinh trưởng, phẩm chất của cây con trong giai đoạn thuần dưỡng

Bảng 5 cho thấy các loại phân bón, liều lượng bón khác nhau có ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của cây sau 6 tháng thuần dưỡng. Cụ thể, ở công thức phân P1 có sự dao động về chiều cao từ 18,75 ± 1,34 cm đến 20,69 ± 1,57 cm; đường kính gốc khoảng từ 1,62 ± 0,05 mm đến 1,91 ± 0,07 mm và số lá từ 10,15 ± 0,43 đến 11,53 ±

0,49 lá/cây. Các giá trị về sinh trưởng chiều cao cây và số lá không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) giữa các liều lượng, giá trị sinh trưởng đường kính gốc ở liều lượng A1, A2 cao hơn các liều lượng A3, A4 ($p < 0,05$). Ở công thức PB2, chiều cao cây đạt $19,48 \pm 1,49 - 22,77 \pm 2,30$ cm; đường kính gốc đạt $1,67 \pm 0,04 - 1,77 \pm 0,05$ mm với $8,98 \pm 0,41 - 11,52 \pm 0,59$ lá/cây. Trong công thức PB1, các liều lượng khác nhau có ảnh hưởng như nhau lên sinh trưởng của cây con ($p > 0,05$). Ở công thức PB3, sau thời gian ươm, cây sinh trưởng đạt $15,99 \pm 1,31 - 23,49 \pm 1,49$ cm về chiều cao và $1,56 \pm 0,05 - 1,95 \pm 0,06$ mm về đường kính gốc; số lượng lá từ $8,98 \pm 0,41$ đến $11,52 \pm 0,59$ lá/cây. Liều lượng C1 có sự tăng trưởng chậm hơn các liều lượng khác (ngoại trừ đường kính gốc). Các liều lượng C3, C4 có ảnh hưởng tốt nhất lên sinh trưởng của cây con với $p < 0,05$ ở tất cả các chỉ tiêu. Như vậy, có thể lựa chọn các liều lượng A1, B1 và C3 cho các loại phân PB1, PB2 và PB3 để bón thúc cho cây giống ba kích tím giai đoạn thuần dưỡng tại vườn ươm. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn

Văn Khánh và cs. (2020), về các giải pháp kỹ thuật ươm giống cây ba kích tím đã sử dụng phân bón NPK với hàm lượng 2 g/L/m² cho mỗi lần bón và tưới nước 1 lần/ngày với 3 L/m², sau hai tháng thuần dưỡng cây đạt chiều cao thân cây 10 - 12 cm, số lá 12 - 14 lá/cây. Kết quả trên phù hợp với kết quả của nghiên cứu này ở thời điểm tháng ươm thứ 4 (sau 2 tháng ươm trồng tại vườn ươm). Các chỉ tiêu sinh trưởng trong nghiên cứu này ở các tháng tiếp theo đều cao hơn.

Bên cạnh đó, so sánh kết quả về sinh trưởng của cây con ở các loại phân bón khác nhau (Bảng 5) cho thấy, sử dụng công thức PB3 với liều lượng tối ưu (C3) có ảnh hưởng tốt hơn lên sinh trưởng của cây ba kích tím so với 2 loại phân PB1 và PB2. Kết quả này cho thấy, để tiết kiệm chi phí sản xuất và nâng cao hiệu quả sinh trưởng của hoạt động thuần dưỡng giống cây ba kích tím tại vườn ươm thì sử dụng phân bón hữu cơ vi sinh với liều lượng 300 g/m² bầu là lựa chọn tốt nhất.

Bảng 5. Ảnh hưởng loại phân, liều lượng bón đến sinh trưởng của cây con sau 6 tháng thuần dưỡng

Loại phân	Lượng phân bón	Chiều cao (cm)	Đường kính gốc (mm)	Số lá sau 4 tháng
Phân bón 1	A1	$20,69^{a,1} \pm 1,57$	$1,91^{a,2} \pm 0,07$	$10,15^{a,1} \pm 0,43$
	A2	$20,18^a \pm 1,73$	$1,88^a \pm 0,05$	$10,88^a \pm 0,61$
	A3	$19,99^a \pm 1,61$	$1,75^{ab} \pm 0,06$	$10,92^a \pm 0,60$
	A4	$18,75^a \pm 1,34$	$1,62^b \pm 0,05$	$11,53^a \pm 0,49$
Phân bón 2	B1	$19,48^{a1} \pm 1,49$	$1,67^{a1} \pm 0,04$	$9,95^{a1} \pm 0,56$
	B2	$20,00^a \pm 1,37$	$1,68^a \pm 0,04$	$10,25^a \pm 0,55$
	B3	$20,08^a \pm 1,88$	$1,77^a \pm 0,05$	$10,65^a \pm 0,64$
	B4	$22,77^a \pm 2,30$	$1,69^a \pm 0,05$	$11,05^a \pm 0,65$
Phân bón 3	C1	$15,99^b \pm 1,31$	$1,56^b \pm 0,05$	$8,98^b \pm 0,41$
	C2	$20,51^a \pm 1,26$	$1,67^b \pm 0,04$	$11,08^a \pm 0,52$
	C3	$22,40^{a,2} \pm 1,41$	$1,90^{a,2} \pm 0,06$	$11,46^{a,2} \pm 0,53$
	C4	$23,49^a \pm 1,49$	$1,95^a \pm 0,06$	$11,52^a \pm 0,59$

Trung bình trong cùng một cột có ký tự khác nhau là khác nhau ($p < 0,05$). Các chữ cái ^{a,b,c} thể hiện sự sai khác của các liều lượng khác nhau trong cùng 1 loại phân; các chữ số 1,2,3 thể hiện sự sai khác giữa các loại phân khác nhau ($p < 0,05$).

Bảng 6 cho thấy loại phân PB1 với các liều lượng bón khác nhau thì tỷ lệ sống của cây biến động từ 75,0 - 91,7%; Công thức PB2 trong khoảng từ 73,2 - 93,5% và PB3 dao động từ 81,5 - 89,8%. Trong đó, tỷ

lệ sống cao nhất ở thí nghiệm phân PB2, với lượng bón B1 (93,5%), tiếp theo là phân PB1, với lượng bón A4 (91,7%) và PB3 với lượng bón C1 đạt tỷ lệ sống 89,8%.

Bảng 6. Ảnh hưởng loại phân, liều lượng bón đến tỷ lệ sống, phẩm chất cây và tỷ lệ xuất vườn sau 6 tháng thuần dưỡng

Loại phân	Liều lượng bón	Tỷ lệ sống (%)	Phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ xuất vườn (%)
			Tốt	Trung bình	Xấu	
Phân bón 1	A1	88,9	34,4	42,7	22,9	77,1
	A2	75,0	32,1	40,7	27,2	72,8
	A3	89,8	33,0	35,1	32,0	68,1
	A4	91,7	34,3	31,3	34,3	65,6
Phân bón 2	B1	93,5	30,7	44,6	24,8	75,3
	B2	73,2	33,7	41,1	25,3	74,8
	B3	88,0	30,4	41,8	27,8	72,2
	B4	87,9	31,6	36,8	31,6	68,4
Phân bón 3	C1	89,8	23,7	30,9	45,4	54,6
	C2	87,9	36,8	47,4	15,8	84,2
	C3	86,1	45,2	41,9	12,9	87,1
	C4	81,5	51,1	36,4	12,5	87,5

Bảng 6 cho thấy, loại phân và lượng bón phân không chỉ ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, khả năng sinh trưởng mà còn ảnh hưởng đến phẩm chất của cây con trong giai đoạn thuần dưỡng. Công thức PB1 có tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 65,6 - 77,1% với tỷ lệ cây có phẩm chất tốt là 32,1 - 34,4% (cao nhất ở liều lượng A1 với 77,1% và 34,4% tương ứng. Công thức PB2 có tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn là 68,4 - 75,3% với 30,4 - 33,7% cây có phẩm chất tốt. Ở công thức PB3, 54,6 - 87,5% cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn với 23,7 - 51,5% cây có phẩm chất tốt. Liều lượng phân bón C4 và C3 của công thức PB3 có tỷ lệ cây xuất vườn và cây có phẩm chất tốt cao nhất với tỷ lệ tương ứng là 87,5 và 51,5% và 87,1 và 45,2%).

4. KẾT LUẬN

Đối với cây ba kích tím nuôi cấy mô được thuần dưỡng ở vườn ương cần sử dụng công thức giá thể ruột bầu với 85% đất phù sa + 15% phân chuồng hoai, độ che sáng 50% và biện pháp bón thúc phân hữu cơ vi sinh với liều lượng bón là 300 g/m² bầu cho

kết quả sinh trưởng, tỷ lệ sống, phẩm chất cây và tỷ lệ xuất vườn tốt nhất. Cây con sau 6 tháng thuần dưỡng cho tỷ lệ sống đạt 86,1%, sinh trưởng về chiều cao đạt 22,40 ± 1,41 cm, đường kính gốc 1,90 ± 0,06 mm, số lá sau 4 tháng đạt 11,46 ± 0,53 lá/cây và phẩm chất cây giống đạt tiêu chuẩn xuất vườn từ 87,1%. Các kết quả nghiên cứu này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn trong việc thuần dưỡng cây giống nuôi cấy mô ở giai đoạn vườn ương, góp phần tạo ra nguồn giống đủ tiêu chuẩn và phẩm chất tốt phục vụ cho công tác bảo tồn và phát triển tài nguyên cây dược liệu ba kích tím.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Võ Văn Chi. (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
- Chính phủ Việt Nam. (30/10/2013). *Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30 tháng 10 năm 2013 phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030*. Khai thác từ http://vanban.chinhphu.vn/portal/page/portal/chinhphu/hethongvanban?class_id=2&_page=1&mode=detail&document_id=170540
- Nguyễn Việt Cường, Nguyễn Minh Ngọc và Phạm Ngọc Tuấn. (2014). Kết quả nghiên

- cứ bước đầu về ảnh hưởng của thành phần ruột bầu và ánh sáng đến sinh trưởng cây Mỏ chim giai đoạn vườn ươm. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, (2), 3283 - 3287.
- Lê Trần Đức. (1997). *Cây thuốc Việt Nam: trồng, hái, chế biến, trị bệnh ban đầu*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Trần Minh Đức (Chủ biên), Võ Thị Minh Phương, Trần Nam Thắng, Nguyễn Thị Thương, Lê Thái Hùng, Nguyễn Hợi, Hồ Đăng Nguyên, Lê Thị Diên, Huỳnh Thị Ngọc Diệp, Nguyễn Ngọc Hòa và Trần Công Định. (2015). *Kỹ thuật trồng một số loài cây thuốc nam*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Phạm Hoàng Hộ. (1999). *Cây cỏ Việt Nam*. Tập III (tr.215). Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Trẻ Thành phố Hồ Chí Minh.
- Dương Mộng Hùng. (2005). *Kỹ thuật nhân giống cây rừng*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Nguyễn Văn Khánh, Kiều Thị Kính và Vũng Thị Phương Anh. (2020). Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật trồng cây Ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) nuôi cây mô trong giai đoạn chuyển cây ra vườn ươm để sản xuất cây giống. *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn*, 10(385), 55 – 60.
- Lê Xuân Phúc. (2015). *Kết quả nghiên cứu chọn loại vật liệu che và xác định chế độ che sáng trong nhà giám hom theo yêu cầu công nghệ giám hom cây lâm nghiệp*. Báo cáo kết quả nghiên cứu, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
- Hoàng Thị Thế, Nguyễn Thị Phương Thảo, Ninh Thị Thảo và Nguyễn Thị Thủy. (2013). Quy trình nhân giống In vitro cây Ba kích tím (*Morinda officinalis* How.). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 3(11), 285-292.
- Võ Châu Tuấn và 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.
- Nguyễn Hải Tuất (Chủ biên), Vũ Tiến Hình và Ngô Kim Khôi. (2006). *Phân tích thống kê trong Lâm nghiệp*. Hà Nội: Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
- Ủy ban Nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế. (06/7/2020). *Quyết định số 1622/QĐ-UBND, ngày 06 tháng 7 năm 2020 phê duyệt Đề án Phát triển vùng nguyên liệu và các sản phẩm dược liệu gắn với chương trình mỗi xã một sản phẩm ở tỉnh Thừa Thiên Huế đến năm 2030*. Khai thác từ <https://thuathienhue.gov.vn/vi-vn/thu-vien-van-ban?vb=35290>.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

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