

NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN KỸ THUẬT TẠO CÂY CON BA KÍCH TÍM (*Morinda officinalis* How.) Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG *IN VITRO*

Tôn Thất Ái Tín^{1,*}, Phạm Cường², Lê Thị Thúy Nga¹, Tống Phước Bình¹,
Nguyễn Thị Mỹ Phương¹, Nguyễn Cao Danh¹, Phan Thiên Giang¹,
Hoàng Huy Tuấn², Hồ Thanh Hà², Nguyễn Duy Phong², Hồ Đăng Nguyên²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện tại Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nhà nước Một thành viên Lâm nghiệp Tiên Phong (Công ty Lâm nghiệp Tiên Phong) nhằm hoàn thiện kỹ thuật tạo cây con ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) bằng phương pháp nhân giống *in vitro* cho hiệu quả cao ở tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng mẫu bằng Javel 25% hai lần trong 5 phút và 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống tạo chồi đạt 87,4%. Môi trường MS + 1 mg/l BA + 30 g/l đường + 6 g/l agar cho 9,7 chồi/cụm và chiều cao chồi đạt 1,6 cm. Môi trường 1/2 MS + 15 g/l đường + 1,5 mg/l NAA cho tỷ lệ ra rễ trên 93,0% với 5,9 rễ/cây và chiều dài rễ 2,9 cm. Kết quả nghiên cứu ở vườn ươm cho thấy, giá thể 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương, tưới nước phun sương 6 phút phun một lần, mỗi lần phun 10 giây, che sáng 75% trong 3 tháng đầu, sau giảm còn 50% cho tỷ lệ cây sống sót cao (trên 90%) sau 6 tháng ươm trồng. Cây ba kích tím *in vitro* ở vườn ươm có chiều cao trên 25 cm, đường kính cổ rễ tối thiểu 1,5 mm và có trên 5 cặp lá; cây phẩm chất tốt, xanh tươi, không sâu, bệnh đạt tiêu chuẩn xuất vườn.

Từ khóa: Ba kích tím, thích nghi, nhân giống *in vitro*, khí hậu, Thừa Thiên Huế.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) là cây dược liệu quý phân bố chủ yếu ở các tỉnh phía Bắc và phân bố rải rác ở các tỉnh Quảng Nam và Thừa Thiên Huế [1]. Ba kích có tác dụng chống phong tê thấp, cải thiện giấc ngủ, tăng cường sinh lực,... [2], [3]. Theo định hướng quy hoạch phát triển vùng sản xuất dược liệu quy mô lớn ở Việt Nam, ba kích tím là một trong những cây dược liệu bản địa được ưu tiên trồng và phát triển [4]. Do hệ số nhân giống hữu tính thấp nên nhiều nghiên cứu nhân giống cây ba kích tím bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* [5], [6], [7] và huấn luyện cây con ba kích tím *in vitro* ở vườn ươm [8], [9] được thực hiện.

Tuy nhiên, mỗi nguồn gen thực vật có những đặc tính di truyền khác nhau. Hiện nay, chưa có nghiên cứu nhân giống *in vitro* từ nguồn gen ba kích tím ở tỉnh Thừa Thiên Huế và đặc biệt là nghiên cứu đầy đủ quy trình kỹ thuật từ giai đoạn nuôi cấy mô để tạo cây con *in vitro* và đưa ra huấn luyện ở vườn ươm (*ex vitro*) để tạo cây con ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh đủ tiêu chuẩn xuất vườn. Chính vì vậy, nghiên cứu hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân giống cây ba kích tím ở tỉnh Thừa Thiên Huế bằng phương pháp *in vitro* nhằm mục tiêu cung cấp đầy đủ các bước của quy trình nuôi cấy một cách hệ thống và hiệu quả từ giai đoạn nuôi cấy *in vitro* đến chuyển cây *in vitro* từ phòng thí nghiệm ra vườn ươm và chăm sóc cây con để tạo ra cây ba kích tím nuôi cấy mô đạt tiêu chuẩn xuất vườn quy mô lớn.

¹ Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nhà nước Một thành viên Lâm nghiệp Tiên Phong

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

* Email: tintnbth@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Nguyên liệu sử dụng là ngọn non (dài 3 - 4 cm có mang mắt ngủ) thu hái ở vườn cây mẹ, được dẫn dòng từ cây ba kích tím tuyển chọn có xuất xứ từ mô hình của dự án “*Xây dựng mô hình phát triển một số cây lâm sản ngoài gỗ dưới tán rừng tự nhiên dựa vào cộng đồng dân cư xã Phong Mỹ, huyện Phong Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế*” và sử dụng làm mẫu để nhân giống *in vitro*. Thí nghiệm *in vitro* được thực hiện từ tháng 01 đến tháng 6/2022 và thí nghiệm huấn luyện cây con *in vitro* từ tháng 7 đến tháng 12/2022 tại vườn ươm của Trung tâm Khoa học Kỹ thuật và Sản xuất lâm nông nghiệp Thiên An, Công ty Lâm nghiệp Tiên Phong.

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* nguồn gen ba kích tím**

- *Điều kiện phòng nuôi cấy*: Mẫu được nuôi cấy trong điều kiện vô trùng ở nhiệt độ 27 - 29°C, cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux và chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày.

- *Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel đến khả năng khử trùng chồi non ba kích tím*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp, mỗi công thức 270 mẫu, gồm 3 công thức (CT) thời gian xử lý Javel lần 2: CT1: 5 phút; CT2: 10 phút và CT3: 15 phút. Mẫu cấy là đoạn ngọn non *in vivo* (3 - 4 cm, có chứa một đốt thân) sau khi được rửa sạch bụi bẩn, được khử trùng bằng Javel 25% (Javel thương mại Mỹ Hảo có hoạt chất Sodium hypochloride 5% được pha loãng với nước cất vô trùng theo tỷ lệ 1: 3) 2 lần: Lần 1 trong 5 phút và lần 2 trong các khoảng thời gian ở mỗi công thức, sau mỗi lần xử lý Javel, mẫu được tráng lại 7 lần bằng nước cất vô trùng. Sau đó, được cắt bỏ phần mô hỏng do tiếp xúc với Javel và cấy vào môi trường cơ bản MS có bổ sung 1,5 mg/l BA + 30 g/l đường + 6 g/l agar. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu sống sạch (%) sau 30 ngày nuôi cấy.

- *Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi ba kích tím*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, mỗi công thức 270 mẫu, gồm 4 công thức: CT1: 0,5 mg/l BA; CT2: 1 mg/l BA; CT3: 1,5 mg/l BA; CT4: 2 mg/l BA trên nền môi trường MS + 30 g/l đường thương mại + 6 g/l agar. Mẫu cấy là các chồi tái sinh *in vitro* (cao 0,5 - 1,0 cm). Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) sau 40 ngày nuôi cấy.

- *Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo cây ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, mỗi công thức gồm 270 mẫu, gồm 4 công thức: CT1: 0,5 mg/l NAA; CT2: 1 mg/l NAA; CT3: 1,5 mg/l NAA; CT4: 2 mg/l NAA trên nền môi trường 1/2 MS + 15 g/l đường + 6 g/l agar. Mẫu cấy là chồi đơn *in vitro* (cao từ 1 - 2 cm). Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ tạo rễ (%), số rễ/cây (rễ) và chiều dài rễ (cm) sau 30 ngày nuôi cấy.

2.2.2. Nghiên cứu đưa cây ba kích tím *in vitro* ra vườn ươm

- *Điều kiện tự nhiên*: Khu vực thực hiện nghiên cứu (Trung tâm Khoa học Kỹ thuật và Sản xuất lâm nông nghiệp Thiên An, Công ty Lâm nghiệp Tiên Phong) chịu ảnh hưởng chung của thời tiết khí hậu nhiệt đới gió mùa, độ ẩm trung bình 85%, nhiệt độ trung bình 25°C. Khí hậu được chia 2 mùa rõ rệt: Mùa nắng từ tháng 3 đến tháng 8, thời gian khô hạn kéo dài, gây khó khăn cho sản xuất và sinh trưởng cây trồng. Tổng số giờ nắng trong năm đạt 1.900 giờ. Độ ẩm trung bình năm khoảng 87%, tập trung vào các tháng mùa mưa từ tháng 10 đến tháng 02 năm sau và độ ẩm giảm trong giai đoạn từ tháng 3 đến tháng 9.

- *Điều kiện vườn ươm*: Có hệ thống tưới phun bằng nước sạch và hệ thống hẹn giờ phun thời gian phun.

- *Tiêu chuẩn cây con *in vitro**: Cây có từ 3 - 5 rễ, cao từ 4 - 6 cm, chiều dài rễ 1,0 - 2,5 cm, 4 - 8 lá, cây sinh trưởng tốt, lá xanh đậm, bộ rễ trắng và không bị nhiễm nấm, bệnh, được huấn luyện ở nhà lưới (nhiệt độ từ 45 - 50°C).

- *Kỹ thuật huấn luyện thích nghi*: Bình cây đạt tiêu chuẩn được đặt ở vườn ươm (nhiệt độ 45 - 50°C) trong 30 - 45 ngày, sau đó cây được rút ra khỏi bình nuôi cấy và được loại bỏ sạch môi trường thạch ở rễ.

- *Kỹ thuật chăm sóc cây ở vườn ươm*: Tưới phun sương 10 giây, khoảng cách giữa 2 lần phun là 6 phút, không che lồng (trừ thí nghiệm chế độ tưới nước và che lồng), che sáng trong suốt quá trình thí nghiệm là 75% (trừ thí nghiệm che sáng); thành phần ruột bầu 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương (trừ thí nghiệm thành phần ruột bầu).

- *Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng thành phần ruột bầu đến sinh trưởng cây ba kích tím in vitro ở vườn ươm*

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần lặp, 270 cây/công thức, gồm 6 công thức:

RB1: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân chuồng hoai;

RB2: 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 10% phân chuồng hoai;

RB3: 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương;

RB4: 87% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 3% phân vi sinh Sông Hương;

RB5: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương;

RB6: 90% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay (Đối chứng, không phân bón).

- *Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che lồng đến sinh trưởng cây ba kích tím in vitro ở vườn ươm*

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần lặp, 270 cây/công thức, gồm 6 công thức:

TN1: Có lồng che + tưới (Tn = 2 phút, Tp = 10 giây);

TN2: Có lồng che + tưới (Tn = 4 phút, Tp = 10 giây);

TN3: Có lồng che + tưới (Tn = 6 phút, Tp = 10 giây);

TN4: Không có lồng che + tưới (Tn = 2 phút, Tp = 10 giây);

TN5: Không có lồng che + tưới (Tn = 4 phút, Tp = 10 giây);

TN6: Không có lồng che + tưới (Tn = 6 phút, Tp = 10 giây).

- *Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng chế độ che sáng đến sinh trưởng cây ba kích tím in vitro ở vườn ươm*

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần lặp, 270 cây/công thức, gồm 3 công thức:

CS1: 1 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%;

CS2: 2 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%;

CS3: 3 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%.

- *Chỉ tiêu theo dõi*: Số liệu về tỷ lệ sống (%), H_{vn} (cm): Chiều cao vút ngọn, D_{00} (mm): Đường kính cổ rễ, số lá (lá); tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%) sau 6 tháng ươm trồng. Phẩm chất cây được chia thành 3 loại:

+ Loại I: $H_{vn} > 25$ cm, $D_{00} > 1,5$ mm, có > 4 cặp lá. Cây xanh tươi, cứng cáp, cân đối.

+ Loại II: 20 cm $\leq H_{vn} \leq 25$ cm, $1,2$ mm $\leq D_{00} \leq 1,5$ mm, có 3 - 4 cặp lá. Cây cứng cáp, không bị sâu, bệnh.

+ Loại III: $H_{vn} < 20$ cm, $D_{00} < 1,2$ mm, có < 3 cặp lá. Cây còi cọc, vàng úa, cụt ngọn, sâu, bệnh.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích phương sai một nhân tố (One-Way ANOVA) và phân tích hậu kiểm theo DUNCAN (post-hoc) với mức ý nghĩa $p < 0,05$ bằng phần mềm SPSS 25. Số liệu được trình bày trong bảng kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn, các chữ cái a, b, c... là kết quả phân tích hậu kiểm theo Duncan's Test.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* cây ba kích tím

3.1.1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel đến khả năng khử trùng mẫu ba kích tím

Kết quả khử trùng mẫu ngọn non ba kích tím *in vivo* sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel đến hiệu quả khử trùng mẫu

Công thức	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ (%)		
	Lần 1	Lần 2	Mẫu sống tạo chồi	Mẫu chết	Mẫu nhiễm
CT1	5	-	54,1 ^a	0,0 ^a	45,9 ^d
CT2	5	5	67,8 ^b	1,1 ^b	31,1 ^c
CT3	5	10	87,4 ^d	2,6 ^b	10,0 ^a
CT4	5	15	77,0 ^c	7,8 ^c	15,2 ^b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Bảng 1 cho thấy, khử trùng mẫu 2 lần cho hiệu quả tốt hơn khử trùng 1 lần. Ở CT1 (khử trùng 1 lần), tỷ lệ mẫu sống sạch là thấp nhất và tỷ lệ mẫu nhiễm là cao nhất trong thí nghiệm. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ mẫu chết cao nhất trong các công thức xử lý mẫu bằng Javel 2 lần xảy ra ở CT4 (thời gian xử lý Javel lần 2 là 15 phút). Như vậy, tổng cộng thời gian xử lý Javel sau 2 lần khử trùng là 20 phút đã gây độc cho các mẫu ngọn non ba kích tím *in vivo*. Tỷ lệ mẫu sống sạch đạt cao nhất (87,4%) và tỷ lệ mẫu nhiễm thấp nhất (10%) đều được ghi nhận ở CT3, các giá trị này đều khác biệt có ý nghĩa với các công thức còn lại ($p <$

0,05). Như vậy, CT2 (khử trùng Javel 2 lần, 5 phút lần 1 và 10 phút lần 2) cho hiệu quả tốt nhất.

3.1.2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi ba kích tím

BA thường được sử dụng ở nồng độ cao và tổ hợp với chất thuộc nhóm auxin nồng độ thấp trong các nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây ba kích trước đây [6], [7]. Nghiên cứu này tiến hành khảo sát ảnh hưởng của BA đơn chất với dải nồng độ từ 0,5 - 2,0 mg/l đến khả năng nhân nhanh từ mẫu cấy chồi tái sinh của cây con ba kích tím *in vitro* (0,5 - 1,0 cm). Kết quả theo dõi sau 40 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng BA đến khả năng nhân nhanh chồi ba kích tím (sau 40 ngày nuôi cấy)

Công thức	BA (mg/l)	Số chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)
CT1	0,5	4,56 ^a ± 0,06	1,11 ^b ± 0,02
CT2	1,0	9,68 ^c ± 0,08	1,56 ^c ± 0,01
CT3	1,5	8,87 ^b ± 0,09	1,04 ^b ± 0,01
CT4	2,0	5,78 ^a ± 0,06	0,51 ^a ± 0,01

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 2 cho thấy, nồng độ BA đơn chất có ảnh hưởng rõ rệt đến số chồi và chiều cao chồi sau 40 ngày nuôi cấy. Trong đó, CT2 (1 mg/l BA) cho số chồi

(9,68 chồi/cụm) và chiều cao chồi (1,56 cm) lớn nhất và sai khác có ý nghĩa so với các công thức còn lại (CT1, CT3 và CT4). Hệ số nhân chồi thu

được ở nghiên cứu này tương tự hệ số nhân chồi ba kích trong nghiên cứu của Hoàng Thị Thế và cs (2013) [6]. Tuy nhiên, hệ số nhân chồi đạt 10,1 lần trong nghiên cứu được đánh giá sau 45 ngày trên môi trường có bổ sung tổ hợp các chất kích thích sinh trưởng BA (3 mg/l), IBA (0,2 mg/l) và 10 mg/l Riboflavin [6]. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, 1,0 mg/l BA là mức nồng độ thích hợp nhất để nhân nhanh chồi *in vitro* từ nguồn gen ba kích tím đã được tuyển chọn.

3.1.3. Ảnh hưởng của α -NAA đến khả năng tạo cây rễ ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh

α -NAA là chất thuộc nhóm auxin có khả năng kích thích sự hình thành rễ ở nhiều loại cây trồng. Tuy nhiên, nồng độ α -NAA thích hợp để tạo cây ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh chưa được xác định. Trong nghiên cứu này các chồi ba kích tím cao 1 - 2 cm, có 2 - 3 cặp lá, được cấy vào môi trường ra rễ bổ sung nồng độ α -NAA từ 0,5 - 2,0 mg/l. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của α -NAA đến tạo cây ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh (sau 30 ngày nuôi cấy)

Công thức	α -NAA (mg/l)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ (%)	
				Ra rễ	Không ra rễ
CT1	0,5	2,16 ^b ± 0,082	0,6425 ^a ± 0,010	53,3	46,7
CT2	1,0	3,41 ^b ± 0,067	1,2591 ^b ± 0,010	79,6	20,4
CT3	1,5	5,89 ^c ± 0,079	2,9657 ^c ± 0,014	93,0	7,0
CT4	2,0	1,23 ^a ± 0,040	0,8654 ^a ± 0,015	63,3	36,7

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 3 cho thấy, có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tạo rễ, số rễ/cây và chiều dài rễ giữa các công thức trong thí nghiệm. Số rễ, chiều dài rễ và tỷ lệ ra rễ tăng dần và đạt cực đại ở CT3 (1,5 mg/l NAA), sau đó bắt đầu giảm dần. Ở mức nồng độ 1,5 mg/NAA, tỷ lệ tạo rễ đạt 93%, số rễ/cây đạt 5,89 rễ và chiều dài rễ đạt 2,97 cm... Trong các nghiên cứu trước đây chủ yếu sử dụng IBA trong môi trường tạo cây hoàn chỉnh [6], [7]. Ở giai đoạn trước, trên nền môi trường MS đầy đủ có bổ sung 30 g/l đường, đã xác định α -NAA 1,0 mg/l cho hiệu quả tốt sau 30 ngày nuôi cấy. Tuy nhiên, tỷ lệ tạo rễ và số rễ/cây thu được khá thấp, chỉ đạt 42,7% và 1,5 rễ/cây [10]. Kết quả cho thấy, thành phần môi trường đầy đủ như vậy đã kích thích sự tăng sinh tế bào, chồi cũ tăng trưởng mạnh, có sự xuất hiện chồi mới và đặc biệt có biểu hiện sùi lớn ở gốc (mặt cắt), rễ ít và ngắn. Do vậy, nghiên cứu này đã thực hiện thí nghiệm trên nền môi trường ½ MS + 15 g/l đường + 6 g/l agar. Kết quả cho thấy, sau 10 - 15 ngày, rễ sơ khởi đã bắt đầu được hình thành từ phần gốc của mẫu cấy.

Việc giảm hàm lượng khoáng (1/2 MS) và hàm lượng đường trong môi trường tạo rễ có tác dụng thúc đẩy mạnh sự hình thành và tăng trưởng của rễ *in vitro* đã được chứng minh ở nhiều đối tượng cây trồng nói chung và ở ba kích nói riêng [6], [7].

Từ các kết quả thu được đã xác định được α -NAA 1,5 mg/l là thích hợp để bổ sung vào nền môi trường ½ MS + 15 g/l đường + 6 g/l agar cho nuôi cấy tạo cây ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh.

3.2. Nghiên cứu đưa cây con ba kích tím *in vitro* ra vườn ươm

3.2.1. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến sinh trưởng và tỷ lệ cây xuất vườn

Việc đưa cây trong nuôi cấy *in vitro* ra vườn ươm (*ex vitro*) là bước cuối cùng, quyết định thành công của quá trình nhân giống cây trồng bằng phương pháp nuôi cấy mô. Đây là một kỹ thuật khó, đòi hỏi những yếu tố thích hợp để cân bằng độ ẩm, dinh dưỡng cho sự sinh trưởng và phát triển của cây nuôi cấy *in vitro* khi chuyển ra điều kiện quang tự dưỡng. Thành phần ruột bầu là một

trong những yếu tố có tác động đáng kể đến sức sống và khả năng sinh trưởng của cây mầm mô khi đưa ra vườn ươm. Nghiên cứu này đã tiến hành khảo sát khả năng sống sót và sinh trưởng của cây con ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh (có từ 3 - 5 rễ,

cao từ 4 - 6 cm, chiều dài rễ 1,0 - 2,5 cm, 4 - 8 lá) trên 6 công thức thành phần ruột bầu. Kết quả theo dõi ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây mầm mô ba kích tím được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến sinh trưởng cây ba kích tím *in vitro*

Công thức	Sinh trưởng cây ba kích tím <i>in vitro</i> ở vườn ươm (sau 6 tháng)		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (mm)	Số lá (lá)
RB1	20,93 ^a ± 1,10	1,57 ^b ± 0,03	7,91 ^a ± 0,30
RB2	21,72 ^a ± 1,28	1,67 ^b ± 0,03	8,36 ^a ± 0,34
RB3	34,09 ^c ± 1,68	1,91 ^c ± 0,14	11,04 ^b ± 0,46
RB4	31,91 ^c ± 2,00	1,54 ^b ± 0,04	10,50 ^b ± 0,57
RB5	30,28 ^b ± 2,07	1,48 ^a ± 0,04	10,31 ^b ± 0,47
RB6	30,27 ^b ± 2,45	1,43 ^a ± 0,04	9,88 ^a ± 0,51

Ghi chú: RB 1: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% PCH; RB2: 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 10% PCH; RB3: 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương; RB4: 87% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 3% phân vi sinh Sông Hương; RB5: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương; RB6: Đối chứng (Không phân bón). Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 4 cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các chỉ tiêu H_{vn}, D₀₀ và số lá giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$). Trong đó, giá trị trung bình về chiều cao cây, đường kính thân và số lá cao nhất thu được ở công thức RB3, lần lượt là H_{vn} = 34,09 cm; D₀₀ = 1,91 mm; số lá: 11,04 lá. Ở cùng điều kiện sinh thái, Lê Thái Hùng và cs (2022) [8] đã sử dụng giá thể chứa 85% đất cát pha + 15% phân chuồng hoai để trồng cây ba kích tím có nguồn gốc từ nuôi cấy mô, sau 6 tháng chăm sóc cây sinh trưởng tốt (H_{vn} = 34,09 cm; D₀₀ = 1,91 mm và 11,04 lá) và vượt trội hơn so với các chỉ tiêu sinh trưởng trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, có sự khác nhau giữa các giá trị trung bình của các chỉ tiêu sinh trưởng giữa 2 nghiên cứu này là do sử dụng loại vật liệu nghiên cứu khác nhau. Nghiên cứu của Lê Thái Hùng và cs (2022) [8] cho thấy, chỉ những cây mầm mô đã trồng trong bầu P.E. 1 tháng tuổi, ổn định ở vườn ươm đạt chiều cao 2 - 3

cm và có 1 - 3 cặp lá mới đủ tiêu chuẩn làm vật liệu cho nghiên cứu. Nhưng trong nghiên cứu này, vật liệu nghiên cứu được sử dụng là cây con *in vitro* từ môi trường nuôi cấy dị dưỡng, do vậy thành phần giá thể cần tối ưu, nhẹ, không bị nhiễm nấm bệnh và giữ được cây đứng vững, cứng cáp. Do đó, vỏ trấu (5%) và vỏ đậu phộng xay (5%) đã được phối trộn vào tất cả các công thức để hạn chế những tổn thương cho cây mầm mô ba kích tím khi mới đưa ra. Chiều cao cây thu được ở tất cả các công thức thành phần ruột bầu trong nghiên cứu này đều vượt trội so với nghiên cứu của Nguyễn Văn Khánh và cs (2020) [9] khi bổ sung phân bón NPK với hàm lượng 2 g/lít/m² trong giai đoạn chuyển cây ba kích tím nuôi cấy mô ra vườn ươm, chiều cao thân chỉ đạt từ 10 - 12 cm.

Theo dõi về ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến tỷ lệ cây sống khi đưa ra và tỷ lệ cây xuất vườn sau 6 tháng ra cây được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến tỷ lệ sống và tỷ lệ xuất vườn của cây ba kích tím *in vitro* (6 tháng sau ra cây)

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ phân loại phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		Loại I	Loại II	Loại III	
RB1	46,7	21,4	54,8	23,8	76,2
RB2	48,1	22,3	52,3	25,4	74,6
RB3	90,7	24,9	58,0	17,1	82,9
RB4	52,6	21,8	52,1	26,1	73,9
RB5	53,0	21,0	50,3	28,7	71,3
RB6	57,4	22,6	52,3	25,2	74,8

Ghi chú: RB 1: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% PCH; RB2: 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 10% PCH; RB3: 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương; RB4: 87% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 3% phân vi sinh Sông Hương; RB5: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương; RB6: Đối chứng (Không phân bón).

Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ cây sống ở các công thức thí nghiệm dao động từ 46,7 - 90,7%. Công thức cho tỷ lệ sống (90,7%) và tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn (82,9%) cao nhất là RB3 (89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương). Tỷ lệ cây mô sống sót trong các công thức còn lại (RB1, RB2, RB4 và RB5) đều tương đương với công thức đối chứng (RB6). Điều này cho thấy, cây mầm mô ba kích tím cần một lượng phân vi sinh vừa đủ trong thành phần giá thể khi chuyển từ điều kiện *in vitro* ra điều kiện *ex vitro*. Lượng phân vi sinh lớn (RB4 và RB5), phân chuồng (RB1 và RB2) hoặc không có phân bón (RB6) trong thành phần ruột bầu có tác động lớn đến tỷ lệ sống (~ 50%) của cây ba kích tím mầm mô khi đưa ra. Kết quả phân loại những cây sống sót đến 6 tháng cho thấy, sự khác biệt giữa tỷ lệ mỗi loại cây ở 6 công thức

thành phần ruột bầu đều không đáng kể. Trong đó, chủ yếu là cây loại II (chiếm trên 50% ở cả 6 công thức). Sau khi ra cây và chăm sóc ổn định ở vườn ươm, cây ba kích tím mầm mô loại I và loại II là những cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn [8]. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ cây xuất vườn đạt cao nhất thu được ở công thức RB3 với tỷ lệ 82,9%. Do vậy, thành phần ruột bầu thích hợp để đưa cây ba kích tím *in vitro* ra điều kiện *ex vitro* là 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương.

3.2.2. Ảnh hưởng chế độ tưới nước và che lỏng đến sinh trưởng và tỷ lệ cây xuất vườn

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che lỏng đến sinh trưởng của cây ba kích tím *in vitro* khi đưa ra điều kiện *ex vitro* được thể hiện ở bảng 6

Bảng 6. Ảnh hưởng của chế độ tưới và che lỏng đến sinh trưởng của cây con ba kích tím *in vitro*

Công thức	Sinh trưởng cây ba kích tím <i>in vitro</i> ở vườn ươm (sau 6 tháng)		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (mm)	Số lá (lá)
TN1	19,49 ^a ± 0,35	1,21 ^a ± 0,04	4,88 ^a ± 0,20
TN2	19,00 ^a ± 0,33	1,07 ^a ± 0,03	6,20 ^b ± 0,20
TN3	30,28 ^c ± 1,43	1,38 ^b ± 0,02	7,43 ^b ± 0,29
TN4	18,98 ^a ± 0,37	1,22 ^a ± 0,04	4,87 ^a ± 0,20

Công thức	Sinh trưởng cây ba kích tím <i>in vitro</i> ở vườn ươm (sau 6 tháng)		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (mm)	Số lá (lá)
TN5	22,61 ^b ± 0,70	1,36 ^b ± 0,04	5,56 ^a ± 0,24
TN6	36,36 ^d ± 1,91	1,57 ^c ± 0,04	9,44 ^c ± 0,38

Ghi chú: TN1: Có lồng che + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); TN2: Có lồng che + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); TN3: Có lồng che + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây); TN4: Không có lồng che + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); TN5: Không có lồng che + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); TN6: Không có lồng che + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây). Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 6 cho thấy, chiều cao vút ngọn, đường kính gốc và số lá bình quân đều có xu hướng tăng dần khi tăng khoảng cách thời gian giữa 2 lần phun. Cây con ba kích tím *in vitro* sinh trưởng tốt nhất ở TN6 về cả 3 chỉ tiêu: Chiều cao vút ngọn ($H_{vn} = 36,36$ cm), đường kính cổ rễ ($D_{00} = 1,57$ mm) và số lá (9,44 lá).

Bảng 7. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che lồng đến tỷ lệ sống và tỷ lệ xuất vườn cây ba kích tím *in vitro* ở vườn ươm (6 tháng sau ra cây)

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ phân loại phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		Loại I	Loại II	Loại III	
TN1	43,7	21,2	50,8	28,0	72,0
TN2	64,1	22,5	50,3	27,2	72,8
TN3	69,6	23,4	53,2	23,4	76,6
TN4	48,5	22,1	51,9	26,0	74,0
TN5	67,0	23,2	52,5	24,3	75,7
TN6	92,6	24,8	56,0	19,2	80,9

Ghi chú: TN1: Có lồng che + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); TN2: Có lồng che + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); TN3: Có lồng che + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây); TN4: Không có lồng che + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); TN5: Không có lồng che + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); TN6: Không có lồng che + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây).

Đánh giá ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che lồng đến tỷ lệ sống, phẩm chất cây và tỷ lệ cây xuất vườn sau 6 tháng đưa cây ra vườn ươm (Bảng 7) cho thấy, có sự dao động khá lớn (từ 43,7 - 92,6%) về tỷ lệ sống của cây giữa các công thức trong thí nghiệm. Tỷ lệ sống cao nhất, đạt 92,6% thu được ở nghiệm thức TN6 (Không có lồng che + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây)). Trong khi, cùng với chế độ tưới nước này ở nghiệm thức

TN3 (không che lồng), tỷ lệ cây sống kém hơn đáng kể, chỉ đạt 69,6%. Điều này cho thấy, chế độ tưới nước cộng với việc che lồng có ảnh hưởng lớn đến sự sống của cây ba kích tím *in vitro* khi đưa ra vườn ươm với điều kiện thời tiết ở Thừa Thiên Huế (nóng bức và khô hạn). Như vậy, việc đảm bảo độ ẩm để cây không bị mất nước do quá trình chuyển từ điều kiện *in vitro* sang điều kiện *ex vitro*, đồng thời đảm bảo nhiệt độ thích hợp

cho quá trình hô hấp để cây ba kích tím sống sót và sinh trưởng ở vườn ươm là vô cùng quan trọng và cần thiết. Đánh giá về phân loại phẩm chất cây và tỷ lệ cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn sau 6 tháng đưa ra cho thấy, tỷ lệ cây loại II cũng chiếm đa số và tỷ lệ cây đủ tiêu chuẩn giữa các công thức là không đáng kể khi cây đã được sống ở điều kiện vườn ươm.

Kết quả ở bảng 6 và 7 cho thấy, chế độ tưới nước 6 phút phun một lần, mỗi lần phun 10 giây và không che lỏng là thích hợp để đưa cây ba kích

tím *in vitro* ra vườn ươm cho tỷ lệ cây xuất vườn đạt cao nhất.

3.2.3. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến tỷ lệ sống và tỷ lệ cây xuất vườn

Nghiên cứu này tiến hành thực hiện với 2 khoảng thời gian che sáng ở mỗi công thức, cụ thể: Giai đoạn đầu khi mới đưa cây ra tiến hành che sáng 75%, giai đoạn sau chỉ che sáng 50%. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của thời gian che sáng giữa các giai đoạn đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây ở thời điểm 6 tháng sau ra cây được thể hiện ở bảng 8.

Bảng 8. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến sinh trưởng của cây ba kích tím *in vitro*

Công thức	Chỉ tiêu sinh trưởng sau 6 tháng đưa ra		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (cm)	Số lá (lá)
CS1	18,13 ^a ± 0,35	0,89 ^a ± 0,03	7,14 ^a ± 0,21
CS2	27,17 ^b ± 0,23	1,11 ^b ± 0,04	8,09 ^a ± 0,21
CS3	35,96 ^c ± 1,87	1,60 ^c ± 0,04	9,61 ^b ± 0,37

Ghi chú: CS1: 1 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%; CS2: 2 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%; CS3: 3 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%. Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Bảng 8 cho thấy, cây con ba kích tím *in vitro* sinh trưởng tốt nhất ở CS3 về cả 3 chỉ tiêu: Chiều cao vút ngọn (H_{vn} = 35,96 cm), đường kính cổ rễ (D₀₀ = 1,60 mm) và số lá (9,61 lá). Kết quả phân tích thống kê cho thấy, sự khác biệt về các chỉ tiêu sinh trưởng cây con ba kích tím *in vitro* giữa các

công thức độ che sáng khác nhau ($p < 0,05$) là các sai khác có ý nghĩa. Như vậy, chế độ che sáng 75% ở 3 tháng đầu (CS3) khi đưa cây ba kích tím *in vitro* ra vườn ươm là phù hợp để cây sinh trưởng, phát triển tốt.

Bảng 9. Ảnh hưởng của chế độ che sáng đến tỷ lệ sống và tỷ lệ xuất vườn cây con ba kích tím *in vitro*

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ sống (%)	Phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ cây con xuất vườn (%)
		Tốt	Trung bình	Xấu	
CS1	38,5	20,2	52,9	26,9	73,1
CS2	79,6	22,8	54,9	22,3	77,7
CS3	90,0	28,0	56,0	16,0	84,0

Ghi chú: CS1: 1 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%; CS2: 2 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%; CS3: 3 tháng đầu che sáng 75%, sau đó che sáng 50%.

Bảng 9 cho thấy, tương tự như các chỉ tiêu sinh trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ cây xuất vườn cũng tăng dần theo thời gian che sáng. Ở công thức độ che sáng 75% trong 3 tháng đầu và giảm còn 50% trong các tháng còn lại cho tỷ lệ sống và tỷ lệ cây con xuất vườn lần lượt là 90,0% và 84,0%. Ba kích tím là cây chịu bóng sống dưới tán rừng nên trong giai đoạn vườn ươm cần độ che sáng cao trong giai đoạn đầu, đặc biệt tại thời điểm sau khi cấy cây mầm mô vào bầu P.E. Sau khi chăm sóc cây sinh trưởng, phát triển ổn định, giảm và duy trì chế độ che sáng 50% cho đến khi xuất vườn để cây sinh trưởng tốt. Kết quả đạt được về tỷ lệ cây sống và tỷ lệ cây xuất vườn trong nghiên cứu này tương tự với kết quả nghiên cứu đưa cây ba kích tím ra vườn ươm của Lê Thái Hùng và cs (2022) [8].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã hoàn thiện được kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* cây ba kích tím và đưa cây con ra vườn ươm cho hiệu quả cao hơn so với các nghiên cứu trước đây. Khử trùng ngọn non ba kích tím *in vivo* 2 lần: Lần 1 trong 5 phút và lần 2 trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất. Môi trường nhân nhanh chồi tốt nhất là MS + 1 mg/l BA + 30 g/l đường + 6 g/l agar, đặt 9,7 chồi/cụm và chiều cao chồi 1,6 cm. Môi trường 1/2 MS + 15 g/l đường + 1,5 mg/l NAA là thích hợp để tạo cây ba kích tím *in vitro* hoàn chỉnh, cho tỷ lệ ra rễ trên 93,0% với 5,9 rễ/cây và chiều dài rễ 2,9 cm. Giá thể 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương, tưới nước phun sương 6 phút phun một lần, mỗi lần phun 10 giây và che sáng 75% trong 3 tháng đầu, sau giảm còn 50% là thích hợp nhất để đưa cây ba kích tím *in vitro* ra điều kiện *ex vitro*, cho tỷ lệ cây sống sót cao (trên 90%). Cây ba kích tím *in vitro* ở vườn ươm có chiều cao trên 25 cm, đường kính cổ rễ tối thiểu 1,5 mm và có trên 5 cặp lá; cây có phẩm chất tốt, xanh tươi, không sâu, bệnh, cắt ngọn đạt tiêu chuẩn xuất vườn sau 6 tháng đưa ra *ex vitro*.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án khoa học và công nghệ cấp tỉnh "Xây dựng mô hình trồng và chăm sóc cây ba kích tím, trà gió *in vitro* phục vụ phát triển vùng nguyên liệu dược

liệu tỉnh Thừa Thiên Huế" được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*, chuyên luận dược liệu ba kích. Nxb Y học Hà Nội, tập 2, tr. 1064.
2. Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, tập I, tr. 68 - 69.
3. Đỗ Tất Lợi (1999). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, tr. 910.
4. Thủ tướng Chính phủ (2014). *Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30 tháng 10 năm 2013 về việc phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030*.
5. Phạm Thùy Dung, Nguyễn Văn Giáp, Vũ Thị Mây, Phạm Thị Mai Trang (2020). Nghiên cứu môi trường nhân giống cây ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) bằng phương pháp nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học Đại học Tân Trào*, số 7 tháng 8, tr. 125 - 130.
6. Hoàng Thị Thế, Nguyễn Thị Phương Thảo, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Thủy (2013). Quy trình nhân giống *in vitro* ba kích tím (*Morinda officinalis* How.). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 11, số 3, tr. 285 - 292.
7. Võ Châu Tuấn, Huỳnh Văn Tư (2010). Nghiên cứu nhân giống cây ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) bằng phương pháp nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng*, số 5 (40), tr. 1 - 9.
8. Lê Thái Hùng, Hồ Thanh Hà, Phạm Cường, Trần Minh Đức, Huỳnh Kim Hiếu (2022). Đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến cây ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) nuôi cấy mô trong quá trình thuần dưỡng ở giai đoạn vườn ươm. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, tập 6 (2), tr. 3058 - 3066.
9. Nguyễn Văn Khánh, Kiều Thị Kính, Vũ Thị Phương Anh (2020). Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật trồng cây ba kích tím (*Morinda officinalis* How.) nuôi cấy mô trong giai đoạn chuyển cây ra vườn ươm để sản xuất cây giống. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 10 (385), tr. 55 - 60.

10. Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nhà nước năm 2020 về việc công nhận các quy trình kỹ thuật.
Một thành viên Lâm nghiệp Tiền Phong (2020).
Quyết định số 70/QĐ-CTLNTP ngày 30 tháng 12

STUDY ON IMPROVING SOME TECHNIQUES OF PRODUCING *Morinda officinalis* SEEDLINGS IN THUA THIEN HUE PROVINCE THROUGH *IN VITRO* PROPAGATION METHOD

**Ton That Ai Tin¹, Pham Cuong², Le Thi Thuy Nga¹, Tong Phuoc Binh¹,
Nguyen Thi My Phuong¹, Nguyen Cao Danh¹, Phan Thien Giang¹,
Hoang Huy Tuan², Ho Thanh Ha², Nguyen Duy Phong², Ho Dang Nguyen²**

¹ Tien Phong Forestry Company

² University of Agriculture and Forestry, Hue University (HUAF)

Summary

This study was conducted at Tien Phong Forestry Company to improve the efficiency of techniques of *Morinda officinalis in vitro* propagation. Research results showed that disinfected twice with Javel 25% for 5 minutes and 10 minutes obtained the rate of living explants inducing shoots to reach 87.4%. Full MS + 1 mg/l BA + 30 g/l sugar + 6 g/l agar gave 9.7 shoots per cluster and 1.6 cm in height. 1/2 MS medium + 15 g/l sugar + 1.5 mg/l NAA appropriated for rooting with 5.9 roots/plant, 2.9 cm in root length and a rooting rate of over 93.0%. Evaluation after 6 months of *ex vitro* acclimatization found that the composition of potting medium mixing 89% soil + 5% husk + 5% minced peanut shell + 1% Song Huong micro - fertilizer; misting watering mode every 6 minutes and spray in 10 seconds and shading 75% in the first 3 months and reducing it to 50% in the following months for a high survival rate (over 90%) after six months tending in the nursery. The plantlets with over 25 cm in tower height, a minimum of 1.5 mm in root collar diameter and at least 5 pairs of leaves, no pests, and diseases reach the quality of *Morinda officinalis in vitro* seedlings for planting

Keywords: *In vitro* propagation, acclimatization, *Morinda officinalis*, climate, Thua Thien Hue province.

Người phản biện: TS. Võ Hoài Sâm

Ngày nhận bài: 25/8/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/9/2023

Ngày duyệt đăng: 12/10/2023