

XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CÂY GIỐNG *IN VITRO* SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) ĐƯA RA VƯỜN ƯƠM

Đinh Xuân Tú^{1*}, Nguyễn Phúc Quân¹, Vũ Duy Dũng²,

Hoàng Thị Giang³, Nguyễn Thanh Tuấn⁴

TÓM TẮT

Sâm Ngọc Linh là cây dược liệu quý và đặc hữu của Việt Nam. Mở rộng diện tích trồng sâm Ngọc Linh sử dụng cây giống *in vitro* đang là hướng đi đúng đắn trong bối cảnh khan hiếm nguồn cây giống. Tuy nhiên, việc xây dựng tiêu chuẩn của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh để chuyển ra vườn ươm vẫn chưa được nghiên cứu nhiều. Trong bài báo này đã xác định được tiêu chuẩn để lựa chọn cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh đưa ra vườn ươm, gồm: cây *in vitro* đạt 8 tháng tuổi, củ có đầu mầm, thân rễ phình tạo củ có đường kính đạt từ 0,5 - 1,0 cm; chiều cao cây từ 4 - 5 cm; có 1 lá kép màu xanh đậm và có tối thiểu 2-3 rễ. Sau 6 tháng ươm trồng dưới tán rừng tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum cho cho tỷ lệ cây sống đạt 82,72 - 88,74%, tỷ lệ ra rễ mới đạt 77,93 - 83,14% và trung bình số lượng rễ đạt 5,12 - 5,29 rễ/cây.

Từ khóa: Cây giống, *in vitro*, tiêu chuẩn, sâm Ngọc Linh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Ngọc Linh là một loại thảo dược quý, hiếm và đặc hữu của Việt Nam, có tên khoa học là *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae). Đây là loài sâm trên thế giới có dải phân bố địa lý hẹp (từ 14°55' đến 15°07' vĩ độ Bắc và từ 107°51 đến 108°05' kinh độ Đông) thuộc vùng núi Ngọc Linh trên địa bàn hai tỉnh Kon Tum và Quảng Nam. Trong thân rễ sâm Ngọc Linh có tới 52 hợp chất thuộc nhóm saponin, trong đó có 26 hợp chất mới không có ở các loài sâm khác trong họ Nhân sâm, hàm lượng saponin tổng số trong thân rễ cao gấp 3 lần so với thân rễ sâm Hàn Quốc (Duc *et al.*, 1999). Theo các nghiên cứu dược lý, sâm Ngọc Linh có nhiều tác dụng như tăng lực, kích thích thần kinh trung ương, bảo vệ gan, hoạt tính androgen, kích thích miễn dịch, cải thiện trí nhớ, hạ đường huyết, chống stress, chống trầm cảm, chống oxy hóa và chống khối u,... (Nguyễn Thượng Dong và cs, 2007). Do đó, sâm Ngọc Linh là cây có giá trị kinh tế, y tế cao, được Thủ tướng Chính phủ ban hành Quyết định 787/QĐ-TTg ngày 5/6/2017 phê duyệt bổ sung

sâm Ngọc Linh (hay sâm Việt Nam) vào danh mục sản phẩm Quốc gia thuộc Chương trình phát triển sản phẩm Quốc gia đến năm 2020.

Hiện nay nhu cầu về cây giống sâm Ngọc Linh để mở rộng diện tích trồng rất lớn. Tuy nhiên, nguồn cây giống sản xuất từ hạt và giâm hom vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu do số lượng cây mẹ còn hạn chế, hệ số nhân giống thấp: chu kỳ sinh trưởng của cây dài, sau 3 năm mới bắt đầu ra hoa tạo quả, số hạt thu được trên mỗi cây ít, hạt sâm Ngọc Linh sau khi gieo 5 - 6 tháng mới nảy mầm và tỉ lệ mọc mầm thấp (Nguyễn Bá Hoạt, 2004). Trong bối cảnh nguồn giống khan hiếm và giá thành cây giống từ hạt cao (250 - 300 ngàn đồng/cây giống 1 năm tuổi) như hiện nay, việc áp dụng kỹ thuật nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* trong sản xuất cây giống là hướng đi đúng đắn. Trên thế giới, phương pháp nhân giống *in vitro* đã được áp dụng thành công ở một loạt các cây thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae), các tiêu chuẩn để lựa chọn cây giống *in vitro* khi đưa ra vườn ươm đã được xác định ở các loài *Eleutherococcus sessiliflorus*, *Aralia cordata*, *Panax quinquefolius*, *Eleutherococcus koreanum* và *Panax ginseng* (Choi *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2011; Uchendu *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2016).

Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* sâm Ngọc Linh được thực hiện (Dương Tấn Nhựt và cs., 2006, 2010;

¹ Trung tâm Quốc gia Nghiên cứu Phát triển Sâm Ngọc Linh

Email: dinhxt@gmail.com

² Trung tâm Ươm tạo và Hỗ trợ doanh nghiệp Khoa học và Công nghệ

³ Viện Di truyền Nông nghiệp

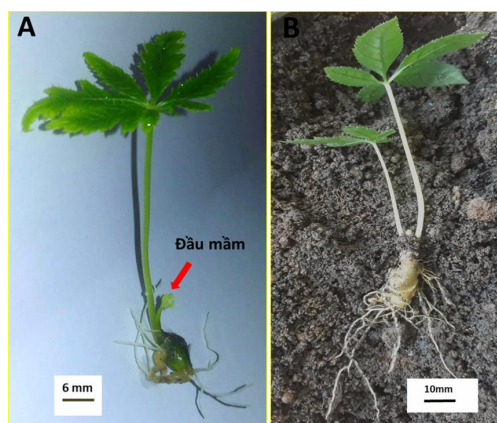
⁴ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Hoàng Xuân Chiến và cs., 2011; Vũ Thị Hiền và cs., 2014, 2015, 2018). Trong nghiên cứu này đã tiến hành xây dựng tiêu chuẩn cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh cho vùng núi Ngọc Linh thuộc xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum với mục đích xác định được một số chỉ tiêu như: tuổi cây, đường kính thân rễ, chiều cao cây, màu sắc lá,... để đưa ra vườn ươm cho tỷ lệ sống cao và ổn định, góp phần hoàn thiện quy trình sản xuất cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh ở quy mô công nghiệp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây *in vitro* sâm Ngọc Linh 8 tháng tuổi được tạo ra từ quy trình nhân giống trong phòng thí nghiệm của Trung tâm Ươm tạo và Hỗ trợ doanh nghiệp Khoa học và Công nghệ. Các cây sử dụng làm thí nghiệm đều được chọn lựa đảm bảo có thân rễ phình tạo củ, củ có đầu mầm (chồi ngủ), cây có 1 lá kép và tối thiểu 2-3 rễ (Hình 1A).



Hình 1. A - Cây *in vitro* sâm Ngọc Linh; B - Cây sâm Ngọc Linh sau 6 tháng ươm

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh 8 tháng tuổi được đưa ra ươm trồng vào đầu mùa khô (9/2018 - 02/2019) dưới tán rừng nguyên sinh ở xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum (tọa độ 14°58'34"N, 107°54'39"E và độ cao 1777 m so với mực nước biển).

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thực hiện 3 thí nghiệm, mỗi thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, lặp lại 3 lần, mỗi lần 150 cây. Giá thể sử dụng ở tất cả các thí nghiệm đều đồng nhất, gồm 3/4 mùn rừng và 1/4 cát sông.

Hoạt động chăm sóc cây giống *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm được tiến hành theo quy trình của Trung tâm Ươm tạo và Hỗ trợ doanh nghiệp KH&CN (Bộ Khoa học và Công nghệ) ban hành theo Quyết định số 15/QĐ-TTUT ngày 01 tháng 3 năm 2018. Theo dõi đánh giá tỷ lệ cây sống, tỷ lệ cây ra rễ mới và khả năng thích nghi của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh sau 6 tháng đưa ra vườn ươm.

Thí nghiệm 1. Nghiên cứu ảnh hưởng của đường kính thân rễ đến khả năng thích nghi của cây *in vitro* ngoài vườn ươm: Cây *in vitro* đồng đều nhau về hình thái thân lá và số lượng rễ (2 – 3 rễ) được đem rửa sạch khỏi môi trường thạch, tránh làm tổn thương các bộ phận của cây. Phân loại cây *in vitro* và ươm trồng tại vườn ươm theo 3 nhóm cây có đường kính củ khác nhau: CT1: 0,3 – 0,4 cm; CT2: 0,5 – 1,0 cm; CT3: 1,1 – 1,5 cm.

Thí nghiệm 2. Nghiên cứu ảnh hưởng của chiều cao cây đến khả năng thích nghi của cây *in vitro* ngoài vườn ươm: Các cây *in vitro* hoàn chỉnh đồng đều nhau về hình thái lá, kích thước củ (~0,5 cm), số lượng rễ (2 – 3 rễ) được phân loại theo chiều dài thân theo: CT1: 2 – 3 cm; CT2: 4 – 5 cm; CT3: 6 – 7 cm).

Thí nghiệm 3. Nghiên cứu ảnh hưởng của màu sắc củ đến khả năng thích nghi của cây *in vitro* ngoài vườn ươm: Lựa chọn các cây *in vitro* hoàn chỉnh đồng đều nhau về hình thái thân lá, kích thước củ (~0,5 cm), số lượng rễ (2 – 3 rễ) và khác nhau về màu sắc lá: CT1: xanh đậm; CT2: xanh non; CT3: vàng mép.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Statgraphics centurion XVII ở mức $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của đường kính thân rễ cây giống *in vitro* đến sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống ngoài vườn ươm

Thân rễ là bộ phận quan trọng, đóng vai trò dự trữ và cung cấp chất dinh dưỡng cho cây sinh trưởng và phát triển. Vì vậy, trong nhân giống *in vitro* ở các loài thuộc chi *Panax* nói chung và cây sâm Mỹ nói riêng, thân rễ là tiêu chí được nhiều nhà nghiên cứu chú trọng để lựa chọn cây giống đưa ra trồng ngoài vườn ươm (Uchendu *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2005). Trong nghiên cứu này đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của đường kính thân rễ đến khả năng sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây *in vitro* ở giai

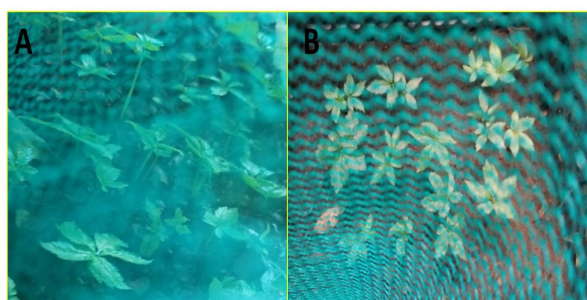
đoạn vườn ươm. Kết quả đánh giá sau 6 tháng theo dõi được trình bày ở bảng 1.

Phân tích số liệu ở bảng 1 cho thấy đường kính thân rễ có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống và tỷ lệ cây phát sinh rễ mới của cây *in vitro* ngoài vườn ươm. Sự khác biệt giữa các công thức thí nghiệm đều có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy ở mức 95%. Ở CT1 cây có đường kính củ < 0,5 cm cho tỷ lệ sống và phát sinh rễ mới thấp nhất, lần lượt là 33,84% và 18,0%. Tỷ lệ sống ở CT2 là 87,45% và ở CT3 là 93,29% (Hình 2).

Bảng 1. Ảnh hưởng của đường kính thân rễ đến khả năng thích nghi của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum từ 9/2018 – 2/2019

Công thức	Đường kính thân rễ (cm)	Tỷ lệ sống (%)	Số lượng rễ/cây	Tỷ lệ ra rễ mới (%)	Đặc điểm
CT1	0,3 – 0,4	33,84 ± 8,54 ^a	2,73 ± 0,57 ^a	18,0 ± 5,63 ^a	Cây phục hồi chậm, lá màu xanh nhạt
CT2	0,5 – 1,0	87,45 ± 12,31 ^b	5,29 ± 0,95 ^b	82,31 ± 13,41 ^b	Cây phục hồi nhanh, lá màu xanh đậm
CT3	1,1 – 1,5	93,29 ± 15,53 ^c	3,25 ± 0,67 ^c	76,33 ± 8,81 ^c	Cây phục hồi nhanh, lá màu xanh đậm

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$



Hình 2. Cây *in vitro* sâm Ngọc Linh sau 6 tháng ở giai đoạn vườn ươm: A - CT3, B - CT2

Đánh giá khả năng phục hồi nhận thấy, chỉ sau 3 tuần ươm cây ở CT2 và CT3 đã phục hồi với tán lá tươi có màu xanh đậm, và bắt đầu bật lên chồi mới. Trong khi đó cây ở CT1 có khả năng phục hồi chậm, tỷ lệ chết cao, đến tuần thứ 5 mới bật lên chồi mới. Xử lý thống kê số lượng rễ mới hình thành sau 6 tháng ươm trồng cho thấy ở CT2 cây có số rễ trung bình cao nhất ($5,29 \pm 0,95^b$ rễ/cây), tiếp đến là CT3 ($3,25 \pm 0,67^c$ rễ/cây) và thấp nhất là CT1 ($2,73 \pm 0,57^a$ rễ/cây).

Như vậy, trong ba công thức nghiên cứu thì CT2 là ưu thế hơn cả, cây có đường kính thân rễ 0,5 – 1,0 cm cho tỷ lệ cây sống 87,45% và tỷ lệ cây phát sinh rễ

Điều đó chứng tỏ khi kích thước củ tăng thì tỷ lệ sống cũng tăng. Tuy nhiên, đối với củ có kích thước lớn hơn 1,0 cm (CT3), số lượng rễ mới phát sinh ít hơn, đạt 76,33% thấp hơn so với CT2 (82,31%). Mặt khác, xét về thời gian nhân giống *in vitro*, để thu được cây có đường kính củ lớn hơn 1,0 cm thường cần thời gian nuôi cấy dài hơn 2 – 3 tháng so với cây có đường kính củ từ 0,5 – 1,0 cm. Trường hợp này sẽ làm phát sinh thêm chi phí cho hoạt động sản xuất, dẫn đến đội giá thành sản phẩm cây giống.

mới cao 82,31%, trung bình số lượng rễ đạt $5,29 \pm 0,95^b$, cây phục hồi nhanh. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam xây dựng tiêu chuẩn lựa chọn cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh theo đường kính thân rễ để đưa ra vườn ươm trồng cho tỷ lệ sống cao và ổn định. Trước đó, nghiên cứu của Vũ Thị Hiền đã công bố kết quả khảo sát khả năng thích nghi của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh ở giai đoạn vườn ươm trồng vào mùa mưa tại xã Trà Linh, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam cho tỷ lệ sống đạt 93% sau 6 tháng ra cây (Vũ Thị Hiền, 2018). Tỷ lệ sống này tương đương với kết quả khảo sát của chúng tôi ở CT3 (93,29%), nhưng cao hơn ở CT2 (87,45%). Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Vũ Thị Hiền (2018) không chỉ ra được các tiêu chí lựa chọn cây giống để đưa ra vườn ươm. Trong hoạt động ra cây *in vitro*, chất lượng cây giống luôn là yếu tố được đặt lên hàng đầu bởi nó ảnh hưởng lớn đến tính ổn định và khả năng thích nghi ở giai đoạn vườn ươm. Chất lượng ban đầu của cây giống không được xác định có thể là một trong những lý do dẫn đến tỷ lệ sống của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh giảm mạnh (chỉ đạt 70%) tại khu vực Cổng Trời, Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà - Lâm Đồng (Vũ Thị Hiền, 2018). Ngoài ra, sự khác biệt về vùng sinh thái ươm trồng cũng được xem là một

trong những nguyên nhân quan trọng trong nghiên cứu của Vũ Thị Hiền (2018). Trong quá trình nghiên cứu đã nhận thấy, ngoài yêu cầu về kích thước củ thì đầu mầm (chồi ngủ) ở củ cũng là một trong những tiêu chí quan trọng quyết định khả năng sống sót và mọc lại của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh. Điều này đã được ghi nhận trước đó ở cây Nhân sâm (*Panax ginseng*) trong công trình công bố của nhóm các nhà khoa học Hàn Quốc (Kim *et al.* (2016), đã sử dụng củ Nhân sâm *in vitro* có chồi ngủ và đường kính củ ≥ 3 mm làm tiêu chuẩn lựa chọn cây giống chuyển ra đất ươm trồng. Kết quả tỷ lệ sống và mọc lại sau 4 tháng là 84%. Nghiên cứu Kim *et al.* (2018) đã cho thấy yêu cầu về đường kính củ của cây *in vitro* Nhân sâm nhỏ hơn so với cây sâm Ngọc Linh. Điều này chứng tỏ, các loài khác nhau thuộc chi sâm *Panax* cần tiêu chuẩn đặc trưng riêng về đường kính củ để lựa chọn đưa cây *in vitro* ra trồng ở vườn ươm.

3.2. Ảnh hưởng của chiều cao cây đến khả năng sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh ngoài vườn ươm

Chiều cao là một trong những tiêu chí quan trọng để lựa chọn cây giống *in vitro* trước khi đưa ra vườn ươm. Chiều cao cây phù hợp sẽ đảm bảo cho cây giống sinh trưởng và phát triển tốt, thích nghi nhanh với điều kiện môi trường bên ngoài. Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng, tùy thuộc vào từng loài cây, vị trí và phương pháp trồng mà cây giống có tiêu chuẩn về chiều cao khác nhau (Lee *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2011). Để xác định chiều cao thích hợp cho cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh trước khi đưa ra vườn ươm, đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của chiều cao cây đến tỷ lệ sống, khả năng ra rễ mới của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh sau 6 tháng ươm trồng. Kết quả xử lý số liệu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chiều cao cây đến khả năng sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum từ 9/2018 – 2/2019

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Tỷ lệ sống (%)	Số lượng rễ/cây	Tỷ lệ ra rễ mới (%)	Đặc điểm thích nghi
CT1	2 – 3	57,82 $\pm$ 12,46 ^a	3,41 $\pm$ 0,67 ^a	53,82 $\pm$ 13,86 ^a	Cây phục hồi chậm, thối đầu mầm và chết nhiều, mép lá hơi vàng
CT2	4 – 5	88,74 $\pm$ 22,46 ^b	5,27 $\pm$ 1,38 ^b	77,93 $\pm$ 18,46 ^b	Cây phục hồi nhanh; thối đầu mầm và chết ít, lá màu xanh đậm
CT3	6 – 7	83,16 $\pm$ 20,73 ^b	5,10 $\pm$ 1,18 ^b	63,09 $\pm$ 15,84 ^{ab}	Cây phục hồi nhanh, thối đầu mầm và chết ít, lá màu xanh nhạt.

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$.

Số liệu phân tích ở bảng 2 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ sống giữa các công thức CT1, CT2, và CT3. Ở CT1, cây *in vitro* có chiều cao 2 – 3 cm cho tỷ lệ sống thấp nhất, trung bình đạt 57,82%. Khi chiều cao cây đạt 4 – 7 cm tỷ lệ sống tăng, đạt giá trị cao nhất bằng 88,74% ở CT2, tuy nhiên tỷ lệ sống ở CT2 và CT3 không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Quá trình tiến hành thí nghiệm thấy rằng, đối với cây có chiều cao 2 – 3 cm (CT1) việc ươm trồng thường dễ làm tổn thương bộ lá và đầu mầm củ, dẫn đến vi sinh vật gây hại xâm nhập làm thối củ và chết cây. Mặt khác, khi chiều cao cây *in vitro* thấp, quá trình chăm sóc thường làm giá thể bám dính vào

bộ lá gây ảnh hưởng đến quá trình hô hấp quang hợp, làm giảm khả năng thích nghi của cây. Đây có thể là nguyên nhân làm tỷ lệ sống của cây ươm ở CT1 thấp nhất.

Phân tích tỷ lệ ra rễ mới của cây nhận thấy, tỷ lệ cây ra rễ mới tốt nhất ở CT2 (77,93%). Giá trị này khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với CT1 nhưng không khác biệt về mặt thống kê với CT3 (Bảng 2). Mô tả và đánh giá về mặt hình thái cho thấy, các cây thí nghiệm ở CT2 và CT3 đều có khả năng phục hồi nhanh và có số lượng rễ mới nhiều hơn so với CT1. Trung bình số lượng rễ ở CT1, CT2 và CT3 lần lượt là 3,41 $\pm$ 0,67^a; 5,27 $\pm$ 1,38^b; và 5,10 $\pm$

1,18^b rễ/cây. Tuy nhiên, số lượng rễ của cây ở CT2 và CT3 khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

Như vậy, cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh 8 tháng tuổi có chiều cao từ 4 – 5 cm là thích hợp để đưa ra trồng ngoài vườn ươm, cho tỷ lệ sống đạt 88,74% sau 6 tháng. Kết quả này đã chứng tỏ chiều cao cây là một trong những tiêu chí quan trọng để lựa chọn cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh đưa ra vườn ươm trồng cho tỷ lệ sống cao và ổn định. Tiêu chí này lần đầu tiên được đề cập và xác định ở Việt Nam trên đối tượng cây sâm Ngọc Linh *in vitro*. Các nghiên cứu trước đó không đề cập đến chất lượng chiều cao cây giống đưa ra vườn ươm, mà chỉ chú trọng đến khảo sát khả năng thích nghi với các điều kiện sinh thái khác nhau. Theo đó, tỷ lệ sống của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh sau 6 tháng ra cây có sự dao động đáng kể giữa 2 điểm thử nghiệm, cụ thể tại xã Trà Linh, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam là 93%, và khu vực Cổng Trời, Vườn Quốc gia Bidoup - Núi Bà - Lâm Đồng là 70% (Vũ Thị Hiền, 2018). Các nghiên cứu khác ở các loài thuộc họ Nhân sâm Araliaceae trên thế giới đều xác định chiều cao là một trong những tiêu chuẩn chính đối với cây giống *in vitro* để đưa ra vườn ươm. Theo Park *et al.* (2005) chiều cao thích hợp đối với cây giống *in vitro* loài *Eleutherococcus koreanum* là 3 – 5 cm và cho tỷ lệ sống sau 8 tuần ở giai đoạn vườn ươm đạt 92%.

Nghiên cứu khác ở *Kalopanax septemlobus* (Kim *et al.*, 2011) và *Aralia cordata* (Lee *et al.*, 2002) cũng cho kết quả tương tự, cây giống *in vitro* có chiều cao 4 – 5 cm có khả năng thích nghi tốt nhất sau 2 tuần, với tỷ lệ sống đạt 90%. Như vậy, tiêu chuẩn về chiều cao cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh được đưa ra trong nghiên cứu này khá tương đồng với công bố ở các loài thuộc họ Nhân sâm Araliaceae. Điều này củng cố niềm tin và tạo cơ sở khoa học vững chắc cho việc xây dựng tiêu chuẩn lựa chọn cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh đưa ra vườn ươm.

3.3. Ảnh hưởng của màu sắc lá đến khả năng sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh ngoài vườn ươm

Lá có vai trò quan trọng trong đời sống sinh lý của cây, thực hiện các chức năng quang hợp, trao đổi khí và hô hấp đảm bảo sự sống, sinh trưởng và phát triển của cây. Theo Tiêu chuẩn quốc gia Hoa Kỳ đối với cây giống ngoài vườn ươm (2014) có quy định màu sắc bộ lá là một trong những tiêu đề chỉ lựa chọn cây giống ươm trồng. Do đó, trong nghiên cứu này đã tiến hành đánh giá ảnh hưởng của màu sắc lá đến khả năng thích nghi của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh. Kết quả đánh giá sau 6 tháng ươm trồng được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của màu sắc lá đến khả năng sinh trưởng, phát triển và tỷ lệ sống của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh tại xã Măng Ri, huyện Tư Mờ Rông, tỉnh Kon Tum từ 9/2018 – 2/2019

Công thức	Màu sắc lá	Tỷ lệ sống (%)	Số lượng rễ/cây	Tỷ lệ ra rễ mới (%)	Đặc điểm
CT1	Xanh non	61,94 ± 12,36 ^a	2,92 ± 0,57 ^a	28,31 ± 4,11 ^a	Mép lá bị héo ngay ở tuần đầu, khả năng phục hồi nguyên vẹn tán lá chậm, chồi mới mọc yếu
CT2	Xanh đậm	82,72 ± 18,52 ^b	5,12 ± 0,99 ^b	83,14 ± 17,27 ^b	Tán lá giữ nguyên trạng thái, mép lá ít bị héo, khả năng phục hồi tốt, chồi mới mọc khỏe và đều
CT3	Vàng mép	34,28 ± 14,4 ^c	3,82 ± 0,57 ^c	17,66 ± 11,92 ^c	Lá bị héo rũ và rụng sau tuần ươm đầu tiên, thối đầu chồi, chồi mới mọc chậm

Ghi chú: Trong cùng một cột, các chữ cái khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$.

Phân tích hai chỉ số đánh giá ở bảng 3 cho thấy: tỷ lệ sống và tỷ lệ ra rễ mới đều có giá trị khác biệt về mặt thống kê giữa ba công thức thí nghiệm (CT1, CT2, CT3). Điều này chứng tỏ trạng thái màu sắc lá ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng thích nghi của cây giống *in vitro* ngoài vườn ươm. Cây *in vitro* có lá màu

xanh đậm (CT2) cho tỷ lệ sống cao nhất, đạt 82,72%. Tỷ lệ sống thấp nhất (34,28%) ghi nhận ở công thức CT3 cây giống với mép lá màu vàng.

Đánh giá khả năng thích nghi trong quá trình ươm trồng nhận thấy, ở CT2 cây thí nghiệm có biểu hiện phục hồi tốt nhất, lá giữ được trạng thái ban

đầu, không bị héo mép lá ở tuần ương đầu tiên. Trái ngược với CT2, cây giống ở hai công thức còn lại sinh trưởng phục hồi chậm, lá dễ bị tổn thương, mép lá bị héo (CT1) hoặc toàn cây bị héo rụi và rụng lá (CT3) sau tuần đầu ương trồng. Đến tuần ương thứ 3 quan sát thấy hiện tượng mọc chồi mới ở tất cả các công thức thí nghiệm, tuy nhiên ở CT2 chồi mới mọc nhanh và đồng đều, còn ở CT1 và CT3 tốc độ mọc chồi mới chậm và rải rác, đặc biệt ở CT3 có hiện tượng thối đầu chồi và chết cây.

Đánh giá tỷ lệ ra rễ mới sau 6 tháng ương trồng cho thấy, số lượng cây ra rễ mới cao nhất ở CT2, đạt 83,14%; tiếp đến là CT1 – 28,31% và thấp nhất ở CT3 – 17,66%. Trung bình số lượng rễ của cây ở CT2 là $5,12 \pm 0,99^b$ rễ/cây; CT1 – $2,92 \pm 0,57^a$ rễ/cây và CT3 – $3,82 \pm 0,57^c$ rễ/cây. Sự khác biệt này đều có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Điều này chứng tỏ trạng thái màu sắc lá của cây giống ban đầu ảnh hưởng lớn đến khả năng phát sinh rễ mới của cây. Cây có bộ lá khỏe màu xanh đậm có thể giúp cây sớm ổn định bộ rễ, thích nghi nhanh với điều kiện quang tự dưỡng.

Như vậy, cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh có lá màu xanh đậm cho khả năng thích nghi tốt nhất sau 2 tháng ương trồng và có tỷ lệ sống sau 6 tháng đạt 82,72%. Kết quả này có ý nghĩa quan trọng góp phần xây dựng tiêu chuẩn bộ lá của cây *in vitro* sâm Ngọc Linh trước khi chuyển ra vườn ương. Trong Tiêu chuẩn quốc gia Hoa Kỳ (2014) có quy định đối với các cây giống *in vitro* đưa ra ương trồng phải có bộ lá khỏe, màu xanh đậm (AmericanHort, 2014).

4. KẾT LUẬN

Cây giống *in vitro* sâm Ngọc Linh đảm bảo tiêu chuẩn 8 tháng tuổi (trong phòng thí nghiệm), củ có đầu mầm, thân rễ phình tạo củ có đường kính đạt 0,5 - 1,0 cm; chiều cao cây từ 4 - 5 cm; 1 lá kép, màu xanh đậm, và có tối thiểu 2-3 rễ; cho tỷ lệ sống đạt 82,72 - 88,74%, tỷ lệ ra rễ mới đạt 77,93 - 83,14% và trung bình số lượng rễ đạt 5,12 - 5,29 rễ/cây sau 6 tháng ương trồng dưới tán rừng tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ từ Đề tài "Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống in vitro sâm Ngọc Linh (Panax vietnamensis Ha et Grushv.) bằng công nghệ bioreactor"; thuộc nhiệm vụ khoa học và công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2018 – 2020.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Tấn Nhựt (2006). Hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào trong nghiên cứu tái sinh, nhân giống và chuyển gene thực vật. NXB Nông nghiệp.
2. Dương Tấn Nhựt, Hoàng Xuân Chiến, Nguyễn Bá Trục, Nguyễn Bá Nam, Trần Xuân Tình, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Văn Bình, Vũ Thị Hiền, Trịnh Thị Hương, Nguyễn Cửu Thành Nhân, Lê Nữ Minh Thùy, Lý Thị Mỹ Nga, Thái Thương Hiền, Nguyễn Thành Hải (2010). Nhân giống vô tính cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 8(3B), 1211–1219.
3. Hoàng Xuân Chiến, Ngô Thanh Tài, Nguyễn Bá Trục, Trần Xuân Tình, Lâm Bích Thảo, Trần Công Luận, Dương Tấn Nhựt (2011). Nghiên cứu một số yếu tố tạo củ sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro* và xác định hàm lượng saponin trong cây tạo từ củ trồng thử nghiệm ở núi Ngọc Linh. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 9(3), 325–339.
4. Nguyễn Bá Hoạt (2004). Nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất giống, kỹ thuật trồng và quy hoạch phát triển trồng sâm Ngọc Linh tại Kon Tum (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). Kết quả báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Kon Tum.
5. Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương (2007). Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ Nhân sâm. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Bùi Văn Thế Vinh, Thái Xuân Du, Dương Tấn Nhựt (2014). Phát sinh phôi trực tiếp từ lá, cuống lá và thân rễ cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.). *Tạp chí Sinh học*, 36(1se): 277–282.
7. Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Thị Kim Loan, Nguyễn Thanh Sang, Vũ Thị Thủy, Nguyễn Hồng Hoàng, Thái Xuân Du, Dương Tấn Nhựt (2015). Sử dụng kỹ thuật nuôi cấy lớp mỏng tế bào trong nghiên cứu quá trình phát sinh hình thái của cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(4): 661-669.
8. Vũ Thị Hiền (2018). Nghiên cứu quá trình tái sinh và nhân giống *in vitro* cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) bằng kỹ thuật

nuôi cấy lớp mỏng tế bào. Luận án tiến sĩ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. TP. Hồ Chí Minh.

9. AmericanHort (2014). American Standard for Nursery Stock (ANSI Z60.1-2014). Columbus, OH: AmericanHort.

10. Choi Y. E., Ko S. K., Lee K. S., & Yoon E. S. (2002). Production of plantlets of *Eleutherococcus sessiliflorus* via somatic embryogenesis and successful transfer to soil. *Plant cell, tissue and organ culture*, 69(2), 201–204.

11. Duc N. M., Kasai R., Yamasaki K., Nham N. T., Tanaka O. (1999). New dammarane saponins from Vietnamese ginseng. *Studies in Plant Science*. Elsevier, 6, 77–82.

12. Kim J. Y., Kim D. H., Kim Y. C., Kim K. H., Han J. Y., & Choi Y. E. (2016). *In vitro* grown thickened taproots, a new type of soil transplanting source in *Panax ginseng*. *Journal of Ginseng Research*, 40(4), 409–414.

13. Kim S. J., Dewir Y. H., & Moon H. K. (2011). Large-scale plantlets conversion from cotyledonary somatic embryos of *Kalopanax septemlobus* tree using bioreactor cultures. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 20(2), 241–248.

14. Lee K. S., Lee J. C., & Soh W. Y. (2002). High frequency plant regeneration from *Aralia cordata* somatic embryos. *Plant cell, tissue and organ culture*, 68(3), 241–246.

15. Park S. Y., Ahn J. K., Lee W. Y., Murthy H. N., Paek K. Y. (2005). Mass production of *Eleutherococcus koreanum* plantlets via somatic embryogenesis from root cultures and accumulation of eleutherosides in regenerants. *Plant Science*, 168(5), 1221–1225.

16. Uchendu E. E., Paliyath G., Brown D. C. W., Saxena P. K. (2011). *In vitro* propagation of North American ginseng (*Panax quinquefolius* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 47(6), 710–718.

17. Zhang J. Y., Sun H. J., Song I. J., Bae T. W., Kang H. G., Ko S. M., Lee H. Y. (2014). Plant regeneration of Korean wild ginseng (*Panax ginseng* Meyer) mutant lines induced by γ -irradiation (60C^o) of adventitious roots. *Journal of Ginseng Research*, 38(3), 220–225.

18. Zhou S., Brown D. C. W. (2005). High efficiency plant production of North American ginseng via somatic embryogenesis from cotyledon explants. *Plant Cell Reports*, 25(3), 166–173.

STANDARDS OF *IN VITRO* PLANTLETS OF NGOC LINH GINSENG (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) FOR TRANSFERRING TO THE NURSERY

Dinh Xuan Tu, Nguyen Phuc Quan, Vu Duy Dung,
Hoang Thi Giang, Nguyen Thanh Tuan

Summary

Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) is a valuable and endemic medicinal plant species of Vietnam. In the context of scarcity of Ngoc Linh ginseng seeds for planting, production of *in vitro* plantlets is a right direction for expansion of growing area. However, the standardization of size and morphological descriptions of *in vitro* plantlets for Ngoc Linh ginseng have not been well studied. In this article, standardized parameters of *in vitro* 8 months old Ngoc Linh ginseng plantlets for transferring to the nursery were determined, including: microrhizomes and dormant buds; microrhizomes with diameter of 0.5 - 1.0 cm; plantlets with height of 4 - 5 cm; one leaf with dark green color; and 2 - 3 roots. After 6 months of nursery under the forest canopy in the Mang Ri commune, Tu Mo Rong district, Kon Tum province, the survival rate reached 82.72 - 88.74% and the new rooting rate was 77.93 - 83.14% and the average number of roots reached 5.12 - 5.29 roots /plant.

Keywords: *In vitro*, plantlets, standards, Ngoc Linh ginseng.

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 3/4/2020

Ngày thông qua phản biện: 5/5/2020

Ngày duyệt đăng: 12/5/2020