

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN NGOẠI CẢNH ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA CÂY ĐĂNG SÂM NUÔI CẤY MÔ GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM

Nguyễn Trịnh Hoàng Anh¹, Nguyễn Phương¹,
Phạm Tuấn Đạt¹, Đỗ Trọng Tấn¹, Trịnh Thị Thương¹,
Trần Hùng Thuận¹, Tưởng Nguyệt Ánh¹

TÓM TẮT

Đăng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume)) thuộc họ Campnulaceae, là một trong những dược liệu quý có giá trị y học cao. Tuy nhiên, số lượng cây Đăng sâm đang bị khai thác triệt để dẫn đến làm giảm khả năng tái sinh loài trong tự nhiên. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm hoàn thiện kỹ thuật gây trồng, quy trình nhân giống góp phần bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu quý. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh đến sự phát triển của cây Đăng sâm nuôi cấy mô giai đoạn vườn ươm cho thấy: Thời gian huấn luyện cây *in vitro* trước khi trồng ngoài vườn ươm tốt nhất là 5 ngày; Xử lý giá thể bằng dung dịch Daconil 500SC, nồng độ 100ml/100 lít nước, thời gian 15 phút giúp hạn chế tốt một số bệnh trong vườn ươm; Ẩm độ môi trường 60 - 80% là phù hợp nhất; Giá thể phối trộn Đất phù sa + rêu Canada + phân trùn quế với tỷ lệ 40: 20: 40 là thích hợp nhất.

Từ khóa: Đăng sâm, nuôi cấy mô, vườn ươm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đăng sâm [*Codonopsis javanica* (Blume)] thuộc họ Campnulaceae, là một trong những dược liệu quý có giá trị y học cao trong Sách đỏ Việt Nam (*Sách đỏ Việt Nam, 2007*). Đăng sâm có tác dụng bổ ngũ tạng, nâng cao thể lực, tăng sức dẻo dai, tăng cường khả năng miễn dịch cho cơ thể; có tác dụng ích huyết, sinh tân dịch, chống mệt mỏi, giảm stress. Rễ cây Đăng sâm chứa saponins, polysaccharides, alkaloids... (Hoàng Minh Chung, Phạm Xuân Sinh, 2002; Li C. Y, *et al.*, 2009; Zhu E, *et al.*, 2001). Các hoạt chất có trong rễ Đăng sâm giúp cho các hoạt động trao đổi chất của cơ thể tốt hơn. Đăng sâm được dùng thay thế cho nhân sâm trong các bệnh thiếu máu, da vàng, bệnh bạch huyết, viêm thượng thận, nước tiểu có abumin, hợp chân phù đau; dùng làm thuốc bổ dạ dày, chữa ho, tiêu đờm, lợi tiểu (Đỗ Huy Bích và *ctv.*, 2006). Do có tác dụng dược lý và có giá trị kinh tế nên người dân tập trung khai thác rễ cây Đăng sâm trong rừng một cách triệt để; làm cạn kiệt và giảm khả năng tái sinh của loài trong tự nhiên.

Để bảo vệ nguồn cây dược liệu mang tính đặc hữu của các vùng cần có các hướng nghiên cứu, bảo tồn, nhân giống, phát triển nguồn cây dược liệu này. Tuy nhiên, đến nay vẫn có rất ít công trình nghiên cứu về loài Đăng sâm cũng như quy trình nhân giống cây Đăng sâm bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm hoàn thiện kỹ thuật gây trồng, quy trình nhân giống sản xuất cây Đăng sâm góp phần bảo tồn và phát triển nguồn dược liệu quý, phục vụ sản xuất quy mô lớn nhu cầu cho thị trường.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Cây Đăng sâm được tạo ra bằng phương pháp nuôi cấy mô công nghệ cao.
- Chất khử trùng và hóa chất dùng trong thí nghiệm: dung dịch Anolyte, Rhidomil 68WP và Daconil 500SC.
- Giá thể sử dụng: đất phù sa, rêu Canada, phân chuồng hoai mục, phân trùn quế.
- Châu ươm cây con bằng vật liệu composit nền sợi xơ dừa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Ảnh hưởng của một số biện pháp huấn luyện cây con trong bình: xác định tỷ lệ sống, khả năng sinh trưởng của cây với các 4 mốc thời gian khác nhau: CT1 - Ra cây ngay; CT2 - Để bình cây ra ngoài nhà lưới 3 ngày; CT3 - Để bình cây ra ngoài nhà lưới 5 ngày; CT4 - Để bình cây ra ngoài nhà lưới 7 ngày.
- Ảnh hưởng của một số loại thuốc xử lý giá thể đất: nghiên cứu ảnh hưởng của Rhidomil 68WP và Daconil 500SC tới khả năng sinh trưởng, phát triển của cây với 3 công thức: CT1 - Ngâm xử lý bằng nước lã (Đ/C); CT2 - Rhidomil 68WP, liều lượng 30g/10 lít nước, CT3 - Daconil 500SC, liều lượng 10 ml/10lít nước. Các bước tiến hành:
- Ảnh hưởng của ẩm độ môi trường: xác định khả năng sinh trưởng, phát triển của cây với 3 mức ẩm độ môi trường khác nhau: CT1 - Ẩm độ từ 40 - 60%; CT2 - Ẩm độ từ 60 - 80%; CT3 - Ẩm độ từ 80 - 100%.

¹ Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ

- Ảnh hưởng của giá thể trồng cây: xác định khả năng sinh trưởng, phát triển của cây khi trồng trong chậu ươm là vật liệu dễ phân hủy compost trên nền nhựa sinh học và xơ dừa (70: 30) với 3 loại giá thể khác nhau: C1 - Đất phù sa + rêu Canada (70: 30); CT2 - Đất phù sa + rêu Canada + phân chuồng hoai (40: 20: 40); CT3 - Đất phù sa + rêu Canada + phân trùn quế (40: 20: 40).

- Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại, n = 30 chậu.

2.3. Chỉ tiêu theo dõi và xử lý số liệu thí nghiệm

Tỷ lệ sống (%); tỷ lệ chết (%); tỷ lệ cây bị bệnh (%); chiều cao cây (cm); số lá (lá/cây); số nhánh (nhánh/cây). Cây con được trồng trong điều kiện: thời gian chiếu sáng là 12 giờ/ngày, nhiệt độ 20 - 25°C.

Các số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng chương trình Microsoft Excel và IRRISTAT 5.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện cây con trong bình trước khi ra trồng ở ngoài vườn ươm

Cây Đàng sâm *in vitro* được nuôi cấy trong phòng trong một thời gian dài với các điều kiện nhân tạo, khi đưa cây ngay ra ngoài vườn ươm cây dễ bị sốc do chưa kịp thời thích nghi với điều kiện bên ngoài như nhiệt độ, ánh sáng, dinh dưỡng... Vì vậy, cần thiết phải có quá trình huấn luyện cây, để cây dần thích nghi với môi trường tự nhiên. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian huấn luyện cây con trong bình trước khi trồng được thể hiện ở bảng 1.

Ở bảng 1 cho thấy: Khi chuyển cây ngay ra vườn ươm không qua thời gian huấn luyện (CT1) cho tỷ lệ cây sống thấp (63,4%), thời gian ra rễ chậm, cây sinh trưởng, phát triển kém, tỷ lệ bệnh thối cây cao nhất (25,3%). Khi trải qua thời gian huấn luyện, tỷ lệ sống cũng như là các chỉ tiêu về sinh trưởng, phát triển của cây con đều tăng. Đặc biệt, CT3 cho tỷ lệ cây sống cao nhất (89,1%), cây con sinh trưởng, phát triển tốt, thời gian ra lá và rễ mới ngắn, tỷ lệ bị bệnh thấp nhất (9,2%).

Như vậy, thời gian huấn luyện cây 5 ngày trước khi trồng ngoài vườn ươm là thích hợp nhất.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện cây con trong bình trước khi trồng ngoài vườn ươm (6 tuần)

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây sống (%)	Thời gian xuất hiện rễ mới TB (ngày)	Số lá TB (lá/cây)	Tỷ lệ bệnh thối cây (%)
CT1 (0 ngày)	63,40 c	13,30	5,89	25,30 c
CT2 (3 ngày)	75,35 b	11,25	6,05	16,10 b
CT3 (5 ngày)	89,1 a	10,65	6,40	9,20 a
CT4 (7 ngày)	71,40 bc	12,73	6,10	13,50 ab
LSD _{α≤0,05}	10,3	-	0,41	5,24

Ghi chú: Bảng 1, 2: Những số trên cùng một cột có cùng chữ số thì không có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha \leq 0,05$



Hình 1. Cây Đàng sâm trong phòng nuôi cấy, tại thời điểm huấn luyện và sau khi ra vườn ươm

3.2. Ảnh hưởng của một số loại thuốc xử lý giá thể đến tỷ lệ sống, tỷ lệ bệnh hại và khả năng sinh trưởng phát triển của cây Đàng sâm

Cây con khi ra ngoài vườn ươm thường dễ bị nhiễm một số bệnh do nấm hoặc vi khuẩn, nguồn lây bệnh chính và tiếp xúc trực tiếp là giá thể trồng. Để cây có tỷ lệ sống cao và giảm tỷ lệ bệnh hại, trước khi

đưa cây ra, các loại giá thể cần thiết phải được xử lý bằng thuốc hóa học để diệt trừ mầm bệnh. Sử dụng 2 loại thuốc là Rindomil 68WP và Daconil 500SC để xử lý giá thể, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy, các công thức có xử lý giá thể đều làm giảm đáng kể thiệt hại do bệnh hại gây ra so với đối chứng, từ đó làm tăng tỷ lệ sống cho cây con.

Cụ thể, khi sử dụng Daconil 500SC tỷ lệ cây bệnh thấp nhất (6,8%), tỷ lệ cây sống cao nhất (92,8%), sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất $\alpha \leq 0,05$

so với đối chứng không xử lý thuốc. Sử dụng thuốc Rhidomil 68WP cũng cho hiệu quả khá tốt với tỷ lệ bệnh giảm còn 10,2% và tỷ lệ cây sống đạt 82,1%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của một số loại thuốc hóa học xử lý giá thể đến tỷ lệ cây sống, bệnh hại và khả năng sinh trưởng phát triển của cây Đàng sâm (6 tuần)

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây bị bệnh (%)	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây TB (cm)	Số lá TB (lá/cây)
Đ/C (Nước lã)	15,30 b	71,4 c	7,2	6,10
Ridomil 68WP	10,20 a	82,1 b	8,4	6,21
Daconil 500SC	6,80 a	92,8 a	9,2	6,46
<i>LSD</i> _{$\alpha \leq 0,05$}	5,48	8,63	-	-

3.3. Ảnh hưởng của ẩm độ môi trường đến sự sinh trưởng, phát triển của cây Đàng sâm

Nghiên cứu ảnh hưởng của ẩm độ đến khả năng sống và khả năng sinh trưởng, phát triển của cây Đàng sâm giai đoạn vườn ươm với 3 dải ẩm độ khác nhau (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của ẩm độ đến sinh trưởng và phát triển của cây Đàng sâm *in vitro* giai đoạn vườn ươm

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ chết (%)	Chiều cao cây TB (cm)	Số lá TB (lá/cây)
CT1	82,50	17,50	11,68	8,22
CT2	90,30	9,70	15,34	11,15
CT3	80,10	19,90	12,05	9,86

Kết quả nghiên cứu sau 12 tuần thấy rằng, ẩm độ quá thấp hoặc quá cao đều không thuận lợi cho sự sinh trưởng, phát triển của cây con *in vitro* khi ra vườn ươm. Cụ thể: khi ẩm độ môi trường quá thấp (CT1) hoặc quá cao (CT2) thì tỷ lệ sống của cây chỉ đạt khoảng 80%, chiều cao cây dưới 15cm và số lá không vượt quá 10 lá/cây; ở khoảng ẩm độ 60 - 80% (CT3) cây sinh trưởng, phát triển tốt nhất, tỷ lệ sống trên 90%, số lá đạt 11,15 lá/cây, chiều cao cây đạt 15,34 cm.

Như vậy, ẩm độ 60 - 80% là phù hợp nhất cho cây Đàng Sâm ở giai đoạn ngoài vườn ươm.

3.4. Ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng, phát triển của cây Đàng sâm

Mỗi một giá thể có đặc tính khác nhau, và với mỗi loài cây trồng khác nhau cũng thích ứng với những loại giá thể khác nhau. Giá thể tốt là giá thể có khả năng giữ ẩm và thoát nước tốt, có khả năng cung cấp dinh dưỡng cho cây con giai đoạn đầu dễ dàng tiếp cận với môi trường sống tự nhiên. Để xác định giá thể phù hợp cho cây Đàng sâm, đã tiến hành nghiên cứu trồng cây trong chậu ươm là vật liệu để phân hủy composit trên nền nhựa sinh học và xơ dừa (70: 30) với 3 loại giá thể khác nhau. Kết quả thể hiện ở bảng 4.

Qua bảng 4 cho thấy, Ở CT1 khi dùng giá thể chỉ có đất phù sa và rêu Canada tỷ lệ cây sống thấp (60,5%), khả năng sinh trưởng phát triển kém, cây gầy, yếu. Khi bổ sung thêm phân chuồng hoặc phân trùn quế (CT2) đã cải thiện khả năng sinh trưởng, phát triển của cây nhờ vào nguồn dinh dưỡng từ phân hữu cơ, tỷ lệ sống cũng tăng đáng kể. Đặc biệt, khi bổ sung phân trùn quế vào giá thể có sẵn đất phù sa và rêu Canada (CT3) tỷ lệ sống của cây đạt cao nhất (89,6%), cây cao hẳn lên (10,68cm), số lá và rễ phát triển mạnh, cây con mập, khỏe, lá xanh và cứng cáp hơn so với các giá thể còn lại.

Trong nghiên cứu này, giá thể thích hợp nhất cho cây Đàng sâm trong giai đoạn vườn ươm là giá thể phối trộn Đất phù sa + rêu Canada + phân trùn quế với tỷ lệ phối trộn tương ứng là: 40: 20: 40.

Bảng 4. Ảnh hưởng của giá thể trồng khác nhau đến sự sinh trưởng phát triển của cây Đàng sâm (sau 6 tuần)

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)	Số nhánh TB (nhánh)	Số rễ mới TB xuất hiện (rễ)
CT1	60,50	8,74	5,20	1,20	1,40
CT2	73,80	9,53	5,90	1,50	1,80
CT3	89,60	10,68	7,80	1,90	2,30

IV. KẾT LUẬN

- Thời gian huấn luyện cây Đàng sâm *in vitro* trong bình trước khi trồng ra ngoài vườn ươm 5 ngày cho tỷ lệ sống cao nhất đạt 89,1%, ra rễ mới chỉ sau 10 ngày, cây sinh trưởng, phát triển tốt, tỷ lệ bệnh thối cây thấp.

- Xử lý giá thể bằng cách ngâm trong dung dịch Daconil 500SC, nồng độ 100ml/100 lít nước, thời gian ngâm 15 phút giúp hạn chế phát sinh một số bệnh trong vườn ươm, tỷ lệ bệnh giảm từ 15,3% xuống còn 6,8%.

- Ẩm độ 60 - 80% là phù hợp nhất cho cây Đàng Sâm sinh trưởng ở giai đoạn trồng ở ngoài vườn ươm đến 12 tuần tuổi, tỷ lệ sống trên 90,3%, số lá đạt 11,15 lá/cây, chiều cao cây đạt 15,34 cm.

- Giá thể thích hợp nhất cho cây Đàng sâm trong giai đoạn vườn ươm là giá thể phối trộn Đất phù sa + rêu Canada + phân trùn quế với tỷ lệ 40: 20: 40.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Huy Bích và Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn, 2006. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập I. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- Hoàng Minh Chung, Phạm Xuân Sinh, 2002. Nghiên cứu thành phần hóa học của vị thuốc Đàng sâm Việt Nam. *Tạp chí dược liệu*, 7(1), pp.3-6.
- Sách đỏ Việt Nam, 2007. Phần II - Thực vật. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và công nghệ, trang 152.
- Li C. Y., Xu H. X., Han Q. B., Wu T. S., 2009. Quantity assessment of Radix Codonopsis by quantitative nuclear magnetic resonance. *NCBI*, 1216(11), pp.2124-9.
- Zhu E., Wang Z., Xu G., Leung H., Yeng H., 2001. HPLC/MS fingerprint analysis of tangshenosides. *Zhang Yao Cai*, 24(7), pp.488-90.

Effect of external conditions on development of *Codonopsis javanica* (Blume) culturing in nursery gardens

Nguyen Trinh Hoang Anh, Nguyen Phuong, Pham Tuan Dat, Do Trong Tan, Trinh Thi Thuong, Tran Hung Thuan, Tuong Nguyet Anh

Abstract

Dang Shen (*Codonopsis javanica* (Blume)) belongs to family of Campanulaceae, one of the precious medicinal herbs with high medical value. However, the number of Dang Shen has been thoroughly exploiting and is resulting in reduction of regeneration ability in nature. The research aimed to improve planting technique and breeding process for preservation and development of precious medicinal herbs. The result of assessment of the external conditions effects on the development of Dang Shen tissue culture in the nursery gardens showed that: The *in vitro* training time before planting in the nursery was 5 days; Treatment of substrate with Daconil 500SC solution, concentration of 100 ml/100 liter of water, duration of 15 minutes limited some diseases in the nursery; Environmental humidity of 60 – 80% was best suited; Substrate by mixed with Alluvial soil + Canadian moss + Vermicard fertilizer with the ratio of 40: 20: 20 was most suitable.

Key words: *Codonopsis javanica* (Blume), *in vitro*, nursery

Ngày nhận bài: 16/4/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày phản biện: 19/4/2017

Ngày duyệt đăng: 24/7/2017

NGHIÊN CỨU NHÂN NUÔI SÂU KÉO MÀNG (*Hellula undalis* Fabricius) HẠI RAU CẢI XANH

Trần Thanh Thy¹, Lê Văn Vàng²

TÓM TẮT

Sau 3 thế hệ nhân nuôi ngài *H. undalis* trong điều kiện phòng thí nghiệm của trường Đại học Cửu Long, kết quả cho thấy ngài *H. undalis* có khả năng phát triển quần thể rất cao khi được nuôi bằng cải xanh trong điều kiện phòng thí nghiệm. Số lượng cá thể và tỷ lệ hoàn thành vòng đời qua 3 thế hệ không khác biệt ý nghĩa ở các giai đoạn trứng, ấu trùng tuổi 1 và 2. Từ giai đoạn ấu trùng tuổi 3 trở đi giữa các thế hệ là có sự khác biệt ý nghĩa. Qua 3 thế hệ khảo sát, tỷ lệ gia tăng quần thể của *H. undalis* là khá cao ($r = 0,56 - 0,57$), hệ số nhân của một thế hệ khá lớn ($R_0 = 31,12 - 38,73$),

¹ Trường Đại học Cửu Long, ² Đại học Cần Thơ