



NHÂN GIỐNG *IN VIVO* CÂY BÁCH BỆNH (*EURYCOMA LONGIFOLIA* JACK)

Trần Minh Đức¹, Văn Thị Yến¹, Nguyễn Hợi¹, Phạm Thị Ngọc Lan^{1,2*}

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

² Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

Tóm tắt: Bài báo này trình bày các nghiên cứu về nhân giống cây bách bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack) bằng kỹ thuật giâm hom và gieo hạt. Hom giâm trước khi xử lý chất kích thích sinh trưởng đã được ngâm trong dung dịch diệt nấm Benlat-C 0,1 %. Kết quả cho thấy sau 4 tháng hom giâm bắt đầu nảy chồi và sau 6 tháng đã xuất hiện rễ. Trong đó, xử lý bằng Auxin Indole acetic acid (IAA) nồng độ 1250 mg/L cho kết quả tốt nhất đối với hom đầu ngọn (23,45 % nảy chồi và 5,56 % xuất hiện rễ), IAA nồng độ 1000 mg/L thích hợp cho hom đoạn thân (51,84 % nảy chồi và 52,22 % xuất hiện rễ). Ở trường hợp gieo hạt, tỉ lệ nảy mầm cao nhất đạt được đối với hạt có độ thuần 78 % sau 30 ngày gieo là 28 % khi được xử lý nhiệt trong khoảng 40-45 °C trong 8 giờ. Giá thể có thành phần 89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân cho kết quả cao nhất về tỷ lệ sống, chiều cao và đường kính gốc lần lượt là 100 %, 7,98 cm và 0,27 cm.

Từ khóa: bách bệnh, giâm hom, gieo hạt, nhân giống

1 Đặt vấn đề

Việt Nam là một trong những quốc gia có nguồn tài nguyên cây thuốc rất phong phú và đa dạng. Thống kê của Viện Dược liệu năm 2005 [1] đã ghi nhận được 3948 loài cây dùng làm thuốc chữa bệnh, trong đó chữa được cả những bệnh nan y hiểm nghèo. Tuy nhiên, nhiều năm trở lại đây, nước ta đang phải đối mặt với tình trạng suy giảm trầm trọng nguồn dược liệu do hoạt động khai thác, buôn bán và quản lý kém hiệu quả tại nhiều địa phương [2]. Nhất là hiện nay, nhu cầu của con người về nguồn dược liệu tự nhiên ngày càng tăng đang gây lên áp lực lớn với vấn đề bảo tồn và phát triển bền vững loại tài nguyên này [6,7].

Cây bách bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack) hay còn gọi là mật nhân, bá bệnh, hậu phác nam... là một loài thuộc họ Thanh thất (Simaroubaceae) là loại cây trung bình, có chiều cao dưới 15 m, thường mọc dưới tán lá của những cây lớn, có giá trị dược liệu cao [3]. Trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu về loài này nhằm sử dụng trong điều trị bệnh ở người. Cây bách bệnh phân bố rộng rãi khắp nơi, nhưng nhiều nhất là ở khu vực Đông Nam Á, và Việt Nam là một trong các nước có số lượng cá thể khá lớn [8].

Các chất nhóm quassinoid tìm thấy trong cây bách bệnh có hiệu quả giảm sốt tốt, có khả năng làm ấm cơ thể nhờ tăng nhịp tim, đẩy nhanh tốc độ lưu thông máu [4]. Theo Varghese và

* Liên hệ: ngoclanz@yahoo.com

cs., cây bách bệnh chứa các enzyme chống oxy hóa như superoxide dismutase có tác dụng tiêu hủy các gốc tự do có thể gây tổn hại cho những tế bào sống khác [10]. Ở Việt Nam, từ lâu cây bách bệnh đã được dùng nhiều trong các loại thuốc đông y và trong thuốc dân gian với nhiều công dụng như chữa ăn uống không tiêu, đau mỏi lưng, ngộ độc, say rượu, trị giun... [5]. Một số tài liệu nghiên cứu gần đây cho thấy bách bệnh có tác dụng kích thích sinh dục nam, cải thiện sức khỏe và hỗ trợ điều trị sinh lý ở nam giới [9].

Do có giá trị về dược liệu cao nên loài cây này đang bị đe dọa nghiêm trọng. Phần lớn các cá thể bách bệnh tại các khu vực thuận lợi đều đã bị đào và làm mất khả năng tái sinh, làm cho số lượng và trữ lượng của loài này suy giảm nhanh và không thể quản lý. Tình trạng khai thác cũng đang là vấn đề nóng bỏng ở tỉnh Thừa Thiên Huế, cần có các giải pháp quản lý và bảo vệ phù hợp. Bài báo này tập trung nghiên cứu nhân giống cây bách bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack) bằng kỹ thuật giâm hom và nảy mầm từ hạt.

2 Đối tượng và phương pháp

2.1 Đối tượng

Cây bách bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack) phân bố ở tỉnh Thừa Thiên Huế. Hạt giống được sử dụng để nghiên cứu có đặc điểm sau: độ thuần của lô hạt giống: 78,16 %; khối lượng trung bình của 1.000 hạt: 197,96 g; số hạt/g: 5,05 hạt; số hạt/kg: 5051,57 hạt.

2.2 Phương pháp

Giâm hom

Hom giâm có chiều dài 20 cm được cắt từ đầu ngọn hay đoạn thân, phần cuối hom được xử lý chất kích thích sinh trưởng (KTST). Hom được giâm sâu khoảng 1 cm trong cát ẩm đã được xử lý nấm bệnh bằng dung dịch Benlat-C 0,1 %. Sau khi giâm xong che nắng cho khu vực giâm hom.

Sử dụng các chất KTST khác nhau như indolebutyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA) và indoleacetic acid (IAA) ở các nồng độ khác nhau trong khoảng 250–3000 mg/L, ngâm phần gốc hom trong dung dịch chất KTST trong thời gian 15 phút trước khi giâm vào giá thể. Đối chứng (ĐC) không được xử lý với chất KTST.

Các công thức thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại, số lượng mẫu trong mỗi lần lặp là 30 hom.

Sau khi giâm hom, đặt chế độ phun sương tự động 5 phút/lần mỗi lần kéo dài 10 giây. Định kỳ 15 ngày tiến hành theo dõi động thái thay đổi của hom như nảy mầm, hình thành mô

sẹo, tỷ lệ chết, ra rễ. Thời gian theo dõi thí nghiệm được tiến hành định kỳ liên tục đến 6 tháng kể từ lúc gieo hom (hom đã ra rễ).

Gieo hạt

Số lượng hạt giống với một công thức là 50 hạt, mỗi công thức lặp lại 3 lần. Sau khi gieo tiến hành chăm sóc theo dõi hàng ngày về số lượng hạt nảy mầm, theo dõi liên tục đến 35 ngày sau chuỗi 5 ngày liên tục không thấy hạt nào nảy mầm.

Ảnh hưởng của nhiệt độ

Xử lý hạt giống bằng chế độ nhiệt ẩm (từ nhiệt độ phòng đến 100 °C) và thời gian ngâm hạt từ 8 đến 24 giờ. Ký hiệu các công thức như sau: CT-N1: nhiệt độ phòng (đối chứng), CT-N2: 40–45 °C, CT-N3: 60–65 °C, CT-N4: 100 °C.

Ảnh hưởng của hóa chất

Sử dụng ống đong bằng thủy tinh dung tích 500 ml để pha hóa chất bao gồm: thuốc tím (KMnO_4) Trung Quốc; super lân ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) Long Thành, Đồng Nai và axit Nitric (HNO_3) Hàn Quốc ở các nồng độ KMnO_4 0,05 %, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 5 %, HNO_3 5 %. Ngâm hạt giống trong các dung dịch KMnO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, (HNO_3) đã pha ở các nồng độ trên trong 10–15 phút ở nhiệt độ phòng. Ký hiệu các công thức như sau: CT-H1: Ngâm hạt trong nước ấm (40–45 °C) trong 8 giờ làm đối chứng, CT-H2: KMnO_4 0,05 %, CT-H3: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ 5 %, CT-H4: HNO_3 5 %.

Ảnh hưởng của giá thể đến sinh trưởng và phát triển của cây con

Mỗi công thức dùng 30 bầu, một công thức được lặp lại 3 lần. Ký hiệu các công thức như sau: CT-G1: 89 % đất phù sa + 10 % phân chuồng + 1 % lân, CT-G2: 89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân, CT-G3: 89 % xơ dừa + 10 % phân chuồng + 1 % lân.

Các chỉ tiêu theo dõi

Hình thái

Đường kính gốc dùng thước Panme, chiều cao (vút ngọn) dùng thước kẻ đến mm và đếm số thân của cây. Sau khi cây con nảy mầm, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu tỷ lệ sống, chiều cao, số lá, đường kính gốc, định kỳ 30 ngày lấy số liệu một lần, số liệu theo dõi trong ba tháng đầu tiên tính từ khi cây con nảy mầm từ hạt và chồi nảy mầm từ gieo hom.

Hạt giống

Khối lượng 1000 hạt được cân bằng cân kỹ thuật: lấy ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Từ khối lượng 1.000 hạt, tính ra số hạt/1 g hoặc số hạt/1 kg. Độ thuần của hạt giống được tính theo công thức:

$$\text{Độ thuần (\%)} = (\text{Tổng số hạt chắc} / \text{Tổng số hạt}) \times 100$$

Kích cỡ của hạt giống: lấy ngẫu nhiên 30 hạt thuần (lặp lại 3 lần). Đo bằng thước kẹp Panme và sau đó cân bằng cân kỹ thuật.

Xử lý số liệu

- Các số liệu nghiên cứu được tính trung bình cộng. Phương pháp phân tích phương sai 1 nhân tố được sử dụng để xác định sự sai khác về các chỉ tiêu sinh trưởng của cây. Phương pháp phân tích phương sai 2 nhân tố được sử dụng để xác định sự sai khác về tỷ lệ nảy mầm khi xử lý bằng nhiệt. Dùng phân bố Student để lựa chọn công thức tốt nhất.

3 Kết quả và thảo luận

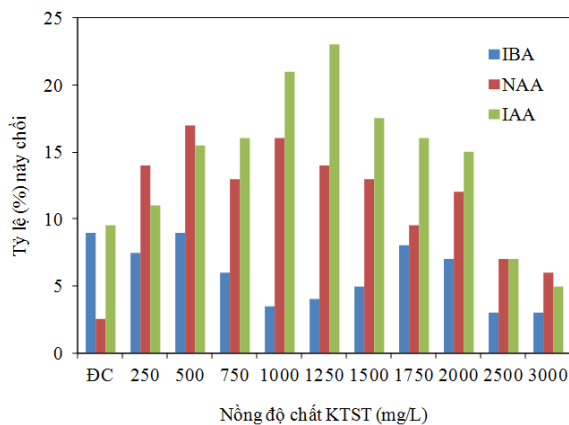
3.1 Nhân giống bằng hom giâm

Tỷ lệ nảy chồi của hom giâm

Kết quả sau 4 tháng theo dõi thí nghiệm cho thấy hom giâm của cây bách bệnh đã bắt đầu nảy chồi, nhưng tỷ lệ nảy chồi là khá thấp.

Đầu ngọn

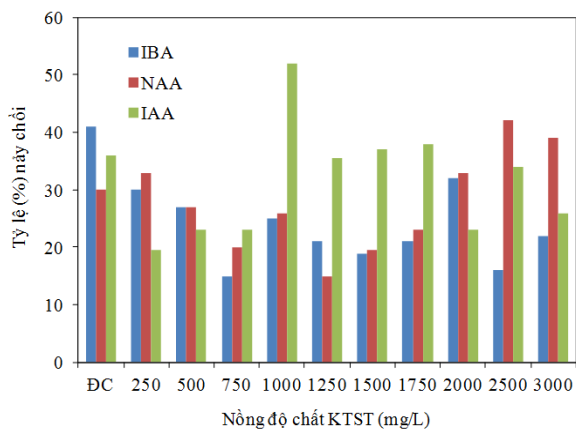
Loại hom giâm được cắt từ đầu ngọn cây có tỷ lệ nảy chồi dưới 25 %, xử lý IAA ở nồng độ 1.250 mg/L cho tỷ lệ nảy chồi cao nhất (Hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ nảy chồi của hom giâm có nguồn gốc đầu ngọn sau 4 tháng

Đoạn thân

Hom lấy từ đoạn thân cho tỷ lệ nảy chồi cao hơn hom đầu ngọn, trong khoảng 15–50 %, xử lý IAA ở nồng độ 1000 mg/L cho tỷ lệ nảy chồi cao nhất (Hình 2). Đồng thời, ở thời điểm này gốc hom bắt đầu xuất hiện mô sẹo (dấu hiệu trước khi hình thành rễ).



Hình 2. Tỷ lệ nảy chồi của hom giâm có nguồn gốc đoạn thân sau 4 tháng

Tỷ lệ ra rễ của hom giâm

Kết quả thí nghiệm sau 6 tháng theo dõi cho thấy có sự khác biệt về tỷ lệ ra rễ của 2 loại vật liệu giâm hom ở các nồng độ chất KTST khác nhau trong khoảng 250–3000 mg/L.

Đầu ngọn

Sau giai đoạn nảy chồi, một số hom vẫn có hiện tượng chết dần do không tạo rễ được.

Nhìn chung, tỷ lệ ra rễ của hom đầu ngọn là khá thấp (< 10 %). Xử lý IAA trong khoảng 1000–1500 mg/L cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ ra rễ là 5,56–6,67 % (Bảng 1).

Phân tích phương sai 2 nhân tố cho thấy các chất KTST không ảnh hưởng đến tỷ lệ ra rễ của hom ($F_t = 3,09 < F_{0,5} = 3,49$). Nồng độ các chất KTST cũng cho kết quả tương tự ($F_t = 0,77 < F_{0,5} = 2,35$). Trong đó F_t là giá trị tính toán theo tiêu chuẩn Fisher, F_{05} là giá trị tra bảng với mức độ chấp nhận giả thuyết nhỏ hơn 5 %.

Bảng 1. Tỷ lệ ra rễ của đầu ngọn ở các nồng độ chất KTST khác nhau sau 6 tháng (%)

| Chất KTST (mg/L) | SL hom/CT | IBA | | NAA | | IAA | | $F_{(nồng\ độ)}$ |
|------------------|-----------|-----|------|-----|------|-----|------|------------------|
| | | SL | % | SL | % | SL | % | |
| 0 (ĐC) | 90 | 1 | 1,11 | 1 | 1,11 | 1 | 1,11 | |
| 250 | 90 | 0 | 0,00 | 1 | 1,11 | 0 | 0,00 | |
| 500 | 90 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 2 | 2,22 | $F_t = 0,77$ |
| 750 | 90 | 1 | 1,11 | 2 | 2,22 | 1 | 1,11 | $F_{0,5} = 2,35$ |
| 1000 | 90 | 0 | 0,00 | 2 | 2,22 | 5 | 5,56 | |
| 1250 | 90 | 0 | 0,00 | 1 | 1,11 | 5 | 5,56 | |
| 1500 | 90 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 6 | 6,67 | |

| Chất KTST (mg/L) | SL hom/CT | IBA | | NAA | | IAA | | $F_{(nồng\ độ)}$ |
|---------------------|-----------|--------------|------|------------------|------|-----|------|------------------|
| | | SL | % | SL | % | SL | % | |
| 1750 | 90 | 2 | 2,22 | 0 | 0,00 | 3 | 3,33 | |
| 2000 | 90 | 2 | 2,22 | 1 | 1,11 | 0 | 0,00 | |
| 2500 | 90 | 1 | 1,11 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | |
| 3000 | 90 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | |
| Trung bình | | | 0,71 | | 0,81 | | 2,32 | |
| $F_{(chất\ KTST)}$ | | $F_t = 3,08$ | | $F_{0,5} = 3,49$ | | | | |

Đoạn thân

Khác với hom đầu ngọn, đoạn thân sau khi nảy chồi có tỷ lệ sống và ra rễ tương đối ổn định. Sau 6 tháng, tỷ lệ ra rễ của của hom dao động trong khoảng 14–52 % khi được xử lý các chất KTST có nồng độ trong khoảng 250–3000 mg/L, trong đó hiệu quả nhất là IAA ở nồng độ 1000 mg/L với tỉ lệ ra rễ là 52,22 % (Bảng 2).

Tuy nhiên, tỷ lệ sai khác giữa các chất KTST và các nồng độ khác nhau của chúng là không đáng kể. Phân tích phương sai 2 nhân tố cho thấy nồng độ chất KTST có $F_t = 1,69 < F_{0,5} = 3,49$. Loại chất KTST có $F_t = 0,80 < F_{0,5} = 2,35$.

Bảng 2. Tỷ lệ ra rễ của đoạn thân ở các nồng độ chất KTST khác nhau sau 6 tháng (%)

| Chất KTST (mg/L) | SL Hom/CT | IBA | | IAA | | NAA | | $F_{(nồng\ độ)}$ |
|---------------------|--------------|--------------|-------|------------------|-------|-----|-------|------------------|
| | | SL | % | SL | % | SL | % | |
| 0 (ĐC) | 90 | 4 | 4,50 | 3 | 3,56 | 3 | 3,56 | |
| 250 | 90 | 27 | 30,00 | 17 | 18,89 | 30 | 33,33 | |
| 500 | 90 | 24 | 26,67 | 21 | 23,33 | 24 | 26,67 | |
| 750 | 90 | 14 | 15,56 | 21 | 23,33 | 17 | 18,89 | |
| 1000 | 90 | 21 | 24,44 | 47 | 52,22 | 23 | 25,56 | $F_t = 1,69$ |
| 1250 | 90 | 18 | 21,11 | 32 | 35,56 | 12 | 14,44 | $F_{0,5} = 3,49$ |
| 1500 | 90 | 17 | 18,89 | 33 | 36,67 | 17 | 18,89 | |
| 1750 | 90 | 18 | 21,11 | 34 | 37,78 | 21 | 23,33 | |
| 2000 | 90 | 28 | 32,22 | 21 | 23,33 | 30 | 33,33 | |
| 2500 | 90 | 14 | 15,56 | 31 | 34,44 | 38 | 42,22 | |
| 3000 | 90 | 19 | 22,22 | 23 | 25,56 | 35 | 38,89 | |
| Trung bình | | | 24,44 | | 31,52 | | 27,78 | |
| $F_{(chất\ KTST)}$ | | $F_t = 0,80$ | | $F_{0,5} = 2,35$ | | | | |

Qua kết quả nghiên cứu tỷ lệ ra rễ của hom đoạn thân ở các mức nồng độ khác nhau của các chất KTST khác nhau cho thấy:

– Hom giâm lấy từ đoạn thân cho tỷ lệ ra rễ cao hơn đầu ngọn (Hình 4).

– Mặc dù hiệu quả xử lý của các chất KTST và các nồng độ khác nhau của chúng sai khác không đáng kể, nhưng có thể đánh giá tổng quát là nồng độ IAA trong khoảng 2000–3000 mg/L có tác dụng tốt hơn cả so với các nồng độ khác của nó cũng như so với các chất KTST khác là IBA và NAA.



Hình 4. Hom giâm đoạn thân

3.2 Nhân giống từ hạt

Ảnh hưởng của xử lý nhiệt ẩm lên tỷ lệ nảy mầm

Đây là phương pháp được dùng phổ biến, nhưng đến nay chưa có tài liệu nào công bố sử dụng phương pháp này cho hạt giống cây bách bệnh. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hạt gieo sau 15 ngày thì bắt đầu nảy mầm. Kết quả xử lý hạt ở các nhiệt độ khác nhau trong khoảng 8–24 giờ cho thấy ở tất cả các công thức tỷ lệ nảy mầm cao nhất là sau 30 ngày gieo, sau 35 ngày tỷ lệ nảy không thay đổi (số liệu không trình bày) (Bảng 3).

Nhìn chung, tỷ lệ nảy mầm của hạt là rất thấp (< 40 %) và thấp nhất là ở công thức CT-N4 (xử lý 100 °C) với tỷ lệ nảy mầm < 5 %; công thức cho tỷ lệ nảy mầm tương đối cao là CT-N3 (xử lý 60–65 °C) đạt trung bình 30 %.

Kết quả phân tích thống kê bằng phương sai 2 nhân tố cho thấy nhiệt độ xử lý hạt có ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm ($F_{t(row)} = 13,56 > F_{0,5} = 3,86$), nhưng thời gian ngâm hạt trong khoảng 8–24 giờ thì gần như không có tác động rõ rệt ($F_{t(column)} = 1,79 < F_{0,5} = 3,86$).

Qua phân bố t , mặc dù không có sự sai khác giữa 2 công thức cho kết quả nảy mầm cao nhất và nhì ($t_{(CT-N2 \& CT-N3)} = 1,29 < t_{0,5} = 3,18$), nhưng xét ở khía cạnh dễ ứng dụng, chúng tôi nhận

định công thức xử lý hạt giống ở nhiệt độ 40–45 °C và ngâm hạt trong 8 giờ là công thức tốt nhất trong trường hợp này.

Bảng 3. Tỷ lệ nảy mầm của hạt giống được xử lý nhiệt sau 30 ngày gieo (%)

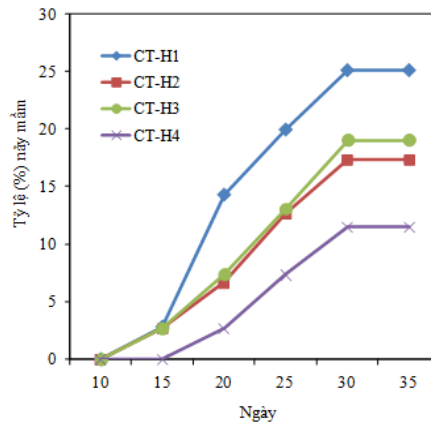
| Công thức | Thời gian xử lý nhiệt (giờ) | | | | |
|----------------|--|-------|---|-------|-------|
| | 8 | 12 | 16 | 24 | TB |
| CT-N1 | 13,33 | 18,67 | 18,00 | 21,33 | 17,83 |
| CT-N2 | 28,00 | 20,00 | 16,00 | 32,67 | 24,17 |
| CT-N3 | 35,33 | 14,00 | 32,00 | 38,67 | 30,00 |
| CT-N4 | 4,67 | 2,67 | 2,67 | 2,00 | 3,00 |
| Trung bình | 20,33 | 13,83 | 17,17 | 23,67 | |
| Xử lý thống kê | $F_{t(ross)} = 13,56 > F_{0,5} = 3,86$ | | $F_{t(column)} = 1,79 < F_{0,5} = 3,86$ | | |
| | $t_{(CT-N2\&CT-N3)} = 1,29$ | | $t_{0,5} = 3,18$ | | |

Ảnh hưởng của xử lý hóa chất lên tỷ lệ nảy mầm

Những hóa chất được sử dụng để kích hoạt sự nảy mầm của hạt là những chất có tác dụng làm mềm nhanh lớp vỏ hạt và kết hợp với kích thích phôi mầm kết thúc nhanh trạng thái ngủ nghỉ để chuyển sang trạng thái nảy mầm [8].

Hình 5 cho thấy sau khi được xử lý hóa chất và gieo vào cát ẩm, 15 ngày sau hạt bắt đầu nảy mầm. Thời gian nảy mầm của hạt kéo dài trong khoảng 15 ngày nhưng mạnh nhất là từ ngày thứ 20–30. Ở các công thức như CT-H1 (ĐC), CT-H2 (KMNO₄ 0,05 %) và CT-H3 (Ca(H₂PO₄)₂ 5 %) hạt nảy mầm từ ngày thứ 10–15, nhưng ở CT-H4 (HNO₃ 5 %) hạt nảy mầm chậm hơn, sau 15 ngày. Nhìn chung, tỷ lệ nảy mầm của hạt khi được xử lý hóa chất là rất thấp (< 20 %), thấp hơn đối chứng (> 25 %). Như vậy, ở cây bách bệnh, xử lý bằng hóa chất cho khả năng nảy mầm thấp hơn xử lý nhiệt.

Kết quả phân tích thống kê bằng phương sai 1 nhân tố cho thấy, các hóa chất dùng để xử lý hạt chưa đem lại hiệu quả như mong đợi cho dù $F_t = 36,21 > F_{0,5} = 4,07$ và $t_t = 3 < t_{0,5} = 4,30$. Kết quả sử dụng Ca(H₂PO₄)₂ 5 % cũng mang lại hiệu quả nhất định, nhưng xét về góc độ kinh tế thì sử dụng phương pháp xử lý nhiệt ẩm sẽ tốt hơn.



Hình 5. Ảnh hưởng của hóa chất lên tỷ lệ nảy mầm của hạt giống

Kết quả nghiên cứu tỷ lệ nảy mầm của hạt Bách bệnh được xử lý với các loại hóa chất khác nhau cho thấy:

– Tỷ lệ nảy mầm của hạt bách bệnh ở chế độ nhiệt ẩm từ nhiệt độ phòng đến 100 °C là tương đối thấp dưới (40 %).

– Trong 2 phương pháp xử lý nảy mầm, thì ngâm hạt ở nhiệt độ 40–45 °C (2 sôi, 3 lạnh) trong 8 giờ vẫn là phương pháp đem lại hiệu quả về khả năng thực hiện cũng như cho tỷ lệ nảy mầm cao hơn.



Hình 6. Cây con nảy mầm từ hạt

3.3 Ảnh hưởng giá thể lên sinh trưởng của cây con trong vườn ươm

Giá thể là yếu tố quan trọng đối với tất cả các loại cây trồng, từ khi bắt đầu gieo hạt (quyết định khả năng nảy mầm), đến khi cây nảy mầm (quyết định tỷ lệ sống), và sự sinh trưởng phát triển sau này của cây. Ba loại giá thể được sử dụng trong nghiên cứu này là những giá thể phổ biến để gieo ươm hiện nay đó là CT-G1: 89 % đất phù sa + 10 % phân chuồng + 1 % lân, CT-G2: 89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân, CT-G3: 89 % xơ dừa + 10 % phân chuồng + 1 % lân (Hình 7).

Các chỉ tiêu được theo dõi như sau:

Tỷ lệ sống của cây con

Sau thời gian 90 ngày được chăm sóc và theo dõi, cây con trên các giá thể khác nhau có tỷ lệ sống rất cao (> 90 %), trong đó CT-G2 và CT-G3 cho tỷ lệ sống cao nhất (100 %), còn CT-G1 thấp nhất (92,22 %) (Bảng 4).

Kết quả phân tích phương sai 1 nhân tố cho thấy: $F_t = 3,06 < F_{0,5} = 5,14$. Điều này chứng tỏ giữa các giá thể không có sự sai khác đáng kể về tỷ lệ sống của cây con. Như vậy, trong thực tế tùy điều kiện thuận lợi có thể lựa chọn loại giá thể nào ở trên để ươm cây đều đảm bảo được tỷ lệ sống cao.

Bảng 4. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống của cây con sau 90 ngày

| Công thức | Tỷ lệ sống (%) | | |
|----------------|----------------|------------------|--------|
| | CT-G1 | CT-G2 | CT-G3 |
| Trung bình | 92,22 | 100,00 | 100,00 |
| Xử lý thống kê | $F_t = 3,06$ | $F_{0,5} = 5,14$ | |

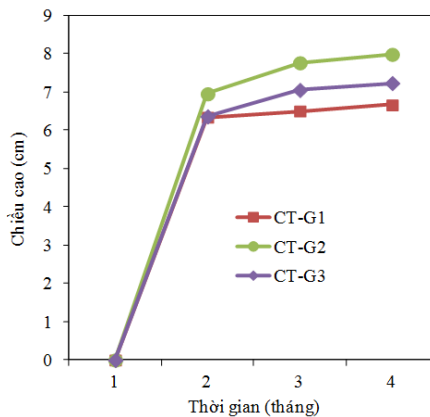


Hình 7. Thí nghiệm ươm trên các giá thể khác nhau

Chiều cao của cây con

Bên cạnh việc đánh giá tỷ lệ sống của cây con, trong quá trình theo dõi và chăm sóc, định kỳ 30 ngày, chúng tôi đã tiến hành đo đếm các chỉ tiêu sinh trưởng khác như chiều cao và đường kính gốc cây.

Cây con sinh trưởng nhanh ở tháng đầu tiên khi hạt mới nảy mầm với chiều cao trung bình trên 6 cm (Hình 8). Sự sinh trưởng này chủ yếu là nhờ vào chất dự trữ của phôi mầm. Sau đó, cây bắt đầu sinh trưởng chậm lại, bình quân mỗi tháng chỉ tăng chiều cao được 0,5–1 cm. Lúc này sự sinh trưởng phụ thuộc nhiều vào yếu tố môi trường sống bên ngoài trong đó có giá thể.



Hình 8. Chiều cao của cây con ở các giá thể khác nhau theo thời gian

Sau 90 ngày chăm sóc, cây con có chiều cao trung bình lớn nhất (7,98 cm) ở công thức CT-G2 (89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân), còn ở công thức CT-G1 (89 % phù sa + 10 % phân chuồng + 1 % lân) cây có chiều cao thấp nhất (6,66 cm) (Bảng 5). Các giá trị này cho thấy ở giai đoạn 90 ngày, giá thể có ảnh hưởng đến chiều cao cây con trong giai đoạn vườn ươm ($F_t = 12,56 > F_{0,5} = 5,14$).

Để tìm ra giá thể nào là thích hợp, chúng tôi tiến hành xét hai loại giá thể cho kết quả chiều cao trung bình cao nhất và cao nhì. Tuy nhiên, kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa hai công thức CT-G2 và CT-G3 ($t_t = 2,98 < t_{0,5} = 4,30$); nói cách khác, có thể chọn công thức (89 % xơ dừa + 10 % phân chuồng + 1 % lân) và công thức (89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân) để cây có sinh trưởng tốt nhất về chiều cao.

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến chiều cao của cây con sau 90 ngày

| Công thức | Chiều cao (cm) | | |
|----------------|-----------------------------------|--------------|------------------|
| | CT-G1 | CT-G2 | CT-G3 |
| Trung bình | 6,66 | 7,98 | 7,23 |
| Xử lý thống kê | $F_t = 12,56$ và $F_{0,5} = 5,14$ | | |
| | | $t_t = 2,98$ | $t_{0,5} = 4,30$ |

Đường kính gốc của cây con

Đường kính gốc của cây con là yếu tố để đánh giá khả năng sinh trưởng của cây con ở giai đoạn vườn ươm và cũng là chỉ tiêu quan trọng liên quan đến khả năng chống chịu của cây với môi trường.

Sau 90 ngày được cấy trên các giá thể khác nhau kể từ khi cây nảy mầm, cây con có đường kính gốc khoảng 0,2–0,3 cm (Bảng 6). Ở công thức CT-G2, cây con có đường kính trung bình lớn nhất (0,27 cm); còn ở công thức CT-G1, cây con có đường kính gốc nhỏ nhất (0,23 cm). Nhìn chung, CT-G2 là giá thể cho sinh trưởng về đường kính tốt nhất. Nhận xét này dựa trên kết quả phân tích thống kê: $F_t = 22,76 > F_{0,5} = 5,14$ và $t_t = 3,46 < t_{0,5} = 4,30$.

Bảng 6. Ảnh hưởng của giá thể đến đường kính gốc (cm) của cây con sau 90 ngày

| Công thức | Đường kính gốc (cm) | | |
|----------------|-----------------------------------|------------------|-------|
| | CT-G1 | CT-G2 | CT-G3 |
| Trung bình | 0,23 | 0,27 | 0,24 |
| Xử lý thống kê | $F_t = 22,76$ và $F_{0,5} = 5,14$ | | |
| | $t_t = 3,46$ | $t_{0,5} = 4,30$ | |

Từ các bảng số liệu và các kết quả phân tích thống kê trên cho thấy công thức CT-G2 cho hiệu quả cao nhất về tỷ lệ sống, chiều cao và đường kính gốc. Vì vậy, công thức CT-G2 được chọn lựa để gieo ươm cây con bách bệnh.

4 Kết luận

Kết quả nghiên cứu nhân giống In vivo loài Bách bệnh (*Eurycoma longifolia*) nhằm xác định khả năng tạo cây con bằng phương pháp giâm hom và phương pháp tạo cây con từ hạt giống. Kết quả cho thấy rằng, đối với phương pháp tạo cây con từ hom thì thời gian hom giâm này chồi là 4 tháng và ra rễ là 6 tháng. Hom đầu ngọn có tỷ lệ nảy chồi và ra rễ tốt nhất tương ứng là 23,45 % và 5,56 % khi được xử lý IAA ở nồng độ 1250 mg/L, hom đoạn thân cho kết quả

tốt hơn lần lượt là 51,84 % và 52,22 % khi được xử lý IAA ở nồng độ 1000 mg/L. Đối với phương pháp tạo cây con từ hạt kết quả đạt được là tỷ lệ nảy mầm tốt nhất của hạt giống bách bệnh có độ thuần khoảng 78 % sau 30 ngày là 28 % khi được xử lý nhiệt ẩm trong khoảng 40–45 °C trong 8 giờ. Xử lý hạt bằng hóa chất cho tỷ lệ nảy mầm kém hơn. Bên cạnh đó, nghiên cứu này còn tiến chọn giá thể phù hợp cho sự sinh trưởng của cây con giai đoạn vườn ươm, kết quả là đã chọn được giá thể có thành phần 89 % đất cát + 10 % phân chuồng + 1 % lân cho kết quả cao nhất về tỷ lệ sống, chiều cao và đường kính gốc lần lượt là 100 %, 7,98 cm và 0,27 cm. Bài báo đã xác định được khả năng nhân giống in vivo loài Bách bệnh, kết quả thu được chưa như mong đợi nhưng đây là kết quả phản ánh một cách khách quan về thực tế bảo tồn nguồn gen loài cây này hiện nay.

Lời cảm ơn

Công trình được hỗ trợ kinh phí của Nhiệm vụ khoa học công nghệ cấp bộ năm 2016, mã số B2016-DHH-08-Q6.

Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Minh Khởi, Nguyễn Văn Thuận, Ngô Quốc Luật (2013), Kỹ Thuật trồng cây thuốc, Nhà xuất bản Nông Nghiệp 2013.
2. Phạm Thị Như Hồng (2006), *Khảo sát thành phần hóa học của cây bá bệnh Eurycoma longifolia Jack họ Thanh thất (Simarubaceae)*, Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. HCM.
3. Trần Thu Hương, Trần Hồng Quang, Phan Văn Kiệm, Châu Văn Minh (2007), Các hợp chất quassioit từ lá cây bách bệnh Eurycoma longifolia, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 45 (1B), 102–107.
4. Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, Hà Nội.
5. Nguyễn Bá Hoạt, Nguyễn Tập, *Báo cáo kết quả đề tài Đánh giá tiềm năng dược liệu bốn huyện vùng cao tỉnh Hà Giang - Xây dựng đề án qui hoạch và phát triển (Bốn huyện vùng cao Đồng Văn, Yên Minh, Mèo Vạc, Quản Bạ)*, 1999.
6. Guidelines on Conservation of Medicinal Plants (1993), WHO, IUCN & WWF.
7. Hamilton A. C. (2003), Medicinal plants, conservation and livelihoods, *Biodiversity and Conservation* 13, 1477–1517.
8. Kartikawati S. M, Zuhud E. A. M, Hikmat A., Kartodihardjo H., Fuadi M. (2014), Habitat preferences, distribution pattern, and root weight estimation of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack.), *JMHT* 20, 43–50.
9. Keng C. L., Sai S. T. & Teo C. K. H. (2002), A Preliminary Study on the Germination of Eurycoma longifolia Jack (Tongkat Ali) Seeds, *Pertanika J. Trap. Agric. Sci*, 25 (1), 27–34. ISSN: 1511–3701, University Putra Malaysia Press.

10. Low B. S., Das P. K., Chan K.L. (2013), Standardized quassinoid-rich *Eurycoma longifolia* extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Journal of Ethnopharmacology*, 145 (3), 706–714.
11. Varghese C. P., Ambrose C., Jin S. C., Lim Y., Keisaban T. (2013), Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Eurycoma longifolia* Jack, a traditional medicinal plant in Malaysia, *International Journal of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*, 5 (4), 1875–1878.

IN VIVO PROPAGATION OF *EURYCOMA LONGIFOLIA* JACK

Tran Minh Đức¹, Van Thi Yen¹, Nguyen Hoi¹, Pham Thi Ngoc Lan^{1,2*}

¹HU – University of Agriculture and Forestry, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

²HU – University of Sciences, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

Abstract: This study aimed to estimate the growth and development of *Eurycoma longifolia* Jack through the propagation by shoot cutting and seed germination. Thirty shoot cuttings (three replicates) were treated against fungi with Benlat-C 0.1 % and the different growth stimulants before keeping in moisture sand. The results indicated that the cuttings started to give buds after 4 months and roots after 6 months. The treatment of the top stems with IAA (1,250 ml/L) gave the highest rate of buds and roots at 23.45 and 5.56 %, respectively. IAA (1,000 mg/L) was suitable for the middle stems with 51.84 and 52.22 % in terms of bud and root development, respectively. In the case of seeds, the highest germination rate was 28 % on the 30th day after sowing (seeds were treated at 40–45 °C, 8 hours). The seeding pot containing sand, muck, and phosphate (89:10:1) provided the highest surviving rate (100 %), largest height (7.8 cm), and largest collar diameter (0.27 cm).

Keywords: *E. longifolia*, propagation, seed germination, shoot cutting