

Nghiên cứu điều kiện nuôi trồng cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro* ở điều kiện nhà kính và tự nhiên tại Lâm Đồng

Phan Công Du¹, Nguyễn Lê Quốc Hùng¹, Hoàng Thanh Tùng², Đỗ Mạnh Cường²,
Lê Xuân Thám¹, Dương Tấn Nhựt^{2*}

¹Ban quản lý Khu công nghệ sinh học và nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao Đà Lạt

²Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên

Ngày nhận bài 1/7/2019; ngày chuyển phản biện 8/7/2019; ngày nhận phản biện 8/8/2019; ngày chấp nhận đăng 19/8/2019

Tóm tắt:

Hiện nay, sâm Ngọc Linh đang được khai thác quá mức nên việc chủ động nguồn giống từ hạt còn gặp nhiều khó khăn. Trong nghiên cứu này, cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* được sử dụng làm nguồn vật liệu ban đầu để khảo sát ảnh hưởng của các loại giá thể nuôi cấy khác nhau (đất sạch Pindstrup, đất mùn núi, xơ dừa, phân bò khô, bã trồng nấm và vỏ trấu hun), chế độ dinh dưỡng (tỷ lệ N:P₂O₅:K₂O) và điều kiện sinh thái của 4 điều kiện nuôi trồng (2 điều kiện nhà kính, 1 điều kiện nhà mái che kiên cố và 1 điều kiện trồng ngoài tự nhiên) đối với khả năng thích nghi, sinh trưởng, phát triển và ra hoa của cây sâm Ngọc Linh. Kết quả ghi nhận được cho thấy, cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy mô cho sự thích nghi và sinh trưởng tốt trên giá thể đất mùn:phân bò khô: xơ dừa (tỷ lệ 1:1:1) và chế độ dinh dưỡng N:P₂O₅:K₂O (3:1:1) ở giai đoạn vườn ươm (cây 1 năm tuổi, bón phân 1 tháng/lần với liều lượng 5 g/cây); trong khi đó ở giai đoạn vườn trồng (cây 2 năm tuổi trở lên, bón phân 1 tháng/lần với liều lượng 20 g/cây) là giá thể đất mùn:phân bò khô:Pindstrup (tỷ lệ 1:1:1) và chế độ dinh dưỡng N:P₂O₅:K₂O (tỷ lệ 4:1:3). Bên cạnh đó, điều kiện nhà kính cho tỷ lệ sống sót cao (79,8%) và cây sâm đã cho hoa (18 cây). Các cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* 5 năm tuổi cho khả năng tích lũy saponin G-Rg₁ 1,248% và G-Rb₁ 1,012% là tương đồng và saponin-M-R₂ 1,417% là thấp hơn so với sâm Ngọc Linh tự nhiên (Quảng Nam và Kon Tum). Đây là cơ sở cho việc có thể di thực cây sâm Ngọc Linh tới các vùng có điều kiện sinh thái tương tự nhằm mở rộng vùng trồng sâm.

Từ khóa: điều kiện nuôi trồng, giá thể, Lâm Đồng, saponin, sâm Ngọc Linh.

Chỉ số phân loại: 4.1

Đặt vấn đề

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) là một loài sâm đặc hữu của Việt Nam thuộc chi Nhân sâm (*Panax* L.), còn có các tên gọi khác là sâm Việt Nam, sâm Khu Năm (K5), sâm Trúc (sâm Đốt trúc, Trúc tiết sâm), củ Ngải rơm con, hay cây Thuốc giầu. Sâm Ngọc Linh là loài đặc biệt, có giá trị về khoa học và kinh tế, với thành phần saponin, hàm lượng các amino acid, các chất khoáng vi lượng trong củ, lá và rễ hơn nhiều loài sâm khác. Ngoài tác dụng dược lý, sâm Ngọc Linh còn giúp chống căng thẳng, trầm cảm, oxy hóa... [1]. Do vùng phân bố hạn chế và việc khai thác quá mức, sâm Ngọc Linh trở nên khan hiếm trong tự nhiên và được đưa vào Danh lục đỏ của IUCN (2003), cũng như danh sách các loài hạn chế khai thác và sử dụng vì mục đích thương mại [2]. Trước nguy cơ tuyệt chủng của giống sâm quý, Chính phủ Việt Nam đã quyết định thành lập vùng cấm quốc gia ở khu vực có sâm mọc tập trung tại 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam, đồng thời xếp sâm Ngọc Linh vào danh sách các loại cây cấm khai thác, mua bán bất hợp pháp.

Để bảo vệ cây thuốc này cùng một số cây dược liệu khác, một số địa phương đã triển khai di thực cây sâm Ngọc Linh về trồng tại địa phương. Lâm Đồng là một trong những tỉnh đầu tiên di thực cây sâm Ngọc Linh về trồng tại Đà Lạt. Tỉnh cũng đã từng bước áp dụng thành công tiến bộ khoa học và kỹ thuật vào làm chủ công nghệ nhân giống, ươm tạo và trồng sâm không bị lệ thuộc bởi thiên nhiên cũng như các yếu tố về thổ nhưỡng. Đây là tín hiệu khả quan đối với các tỉnh thành khác đang có ý định phát triển loài cây dược liệu quý này ở địa phương.

Việc tạo cây con *in vitro* có thể góp phần tăng sức sống của cây, nâng cao tỷ lệ sống sót của cây khi đưa ra vườn ươm là một trong những bước đi mới, góp phần bảo tồn và phát triển loài dược liệu quý này. Nghiên cứu điều kiện nuôi trồng cây sâm Ngọc Linh *in vitro* ở điều kiện nhà kính và tự nhiên tại tỉnh Lâm Đồng là một trong những nhiệm vụ mang tính cấp thiết nhằm đánh giá khả năng nhân rộng loài sâm quý hiếm này trên địa bàn Đà Lạt (Lâm Đồng).

*Tác giả liên hệ: Email: duongtamhuu@gmail.com

The *in vitro* cultivation of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. in the natural and greenhouse conditions in Lam Dong province

Cong Du Phan¹, Le Quoc Hung Nguyen¹,
Thanh Tung Hoang², Manh Cuong Do²,
Xuan Tham Le¹, Tan Nhut Duong^{2*}

¹Management Board of Dalat Zone for Biotechnology and Applied high - tech Agriculture

²Tay Nguyen Institute for Scientific Research

Received 1 July 2019; accepted 19 August 2019

Abstract:

Currently, Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) is being over-exploited, so it is difficult to take the initiative in seed sources. In this study, Ngoc Linh ginseng derived from *in vitro* culture was used as an initial material source to investigate the effect of different types of substrates (Pindstrup clean soil, mountain humus, coconut fiber, dry cow manure, mushrooms cultivated residues, and rice husks), minerals (N:P₂O₅:K₂O ratio), and ecological conditions of four farming models (two greenhouse models, one roof house model, and one natural model) on adaptability, growth, development, and flowering of Ngoc Linh ginseng. The results showed that the Ngoc Linh ginseng derived from tissue culture exhibited good adaptation and growth on the humus soil:dry cow manure:coconut fiber ratio of 1:1:1 and N:P₂O₅:K₂O ratio of 3:1:1 at nursery stage (1 year old, fertilised once a month with a dose of 5 g/plant); meanwhile, it grew well in the planting period (>2 years old, fertilised once a month with a dose of 20 g/plant) under the humus soil:dry cow manure:Pindstrup ratio of 1:1:1, and N:P₂O₅:K₂O ratio of 4:1:3. Besides, the greenhouse model gave a high survival rate (79.8%) and high flowering rate (18 plants). Ngoc Linh ginseng (5 years old) derived from *in vitro* culture had the ability to accumulate saponins G-Rg₁ (1.248%) and G-Rb₁ (1.012%) that were similar to the natural Ngoc Linh ginseng, and its M-R₂ (1.417%) saponins accumulation was lower than that of natural Ngoc Linh ginseng (Quang Nam and Kon Tum provinces). This is the basis for being able to migrate Ngoc Linh ginseng to areas with similar ecological conditions to expand the ginseng growing area.

Keywords: cultivation conditions, Lam Dong, Ngoc Linh ginseng, saponin, substrate.

Classification number: 4.1

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cây sâm Ngọc Linh 1, 2 và 3 năm tuổi được ươm trồng trên các giá thể đất sạch Pindstrup có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (có 1-3 lá, thân củ có hình chóp với chồi chính và các mắt ngủ xung quanh hoặc thân củ có nhiều chồi và mắt ngủ, có rễ tơ dài 1-2 cm) [3-5].

Phương pháp

Ảnh hưởng của các loại giá thể nuôi cấy khác nhau đến sự sinh trưởng của cây sâm *in vitro* ở điều kiện nhà kính: cây sâm *in vitro* (1 năm tuổi) khỏe mạnh, sinh trưởng và phát triển tốt được chuyển ra thích nghi ở điều kiện vườn ươm trên giá thể đất sạch Pindstrup khoảng 1 tháng. Sau đó, những cây này được chuyển ra các chậu gốm (đường kính miệng 20 cm, đường kính đáy 12 cm, chiều cao 20 cm) với các loại giá thể khác nhau (đất sạch Pindstrup; đất mùn núi khu vực hồ Tuyên Lâm, Đà Lạt; xơ dừa đã xử lý chất tannin; phân bò khô hoại mục; bã trồng nấm của nấm mèo và vò trâu hun) được thiết kế thí nghiệm như ở bảng 1. Các chỉ tiêu về tỷ lệ sống sót (%), chiều cao cây (cm), đường kính tán lá (cm), khả năng sinh trưởng được ghi nhận sau 6 tháng nuôi trồng.

Bảng 1. Thiết kế thí nghiệm ảnh hưởng của các loại giá thể khác nhau đến sự thích nghi và sinh trưởng của cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro* ở điều kiện vườn ươm.

Nghiệm thức	Loại giá thể	Tỷ lệ
NT1	Đất mùn núi	100%
NT2	Giá thể đất sạch Pindstrup*	100%
NT3	Giá thể xơ dừa**	100%
NT4	Đất mùn núi:giá thể Pindstrup	1:1
NT5	Đất mùn núi:xơ dừa	1:1
NT6	Đất mùn núi:giá thể Pindstrup:xơ dừa	1:1:1
NT7	Đất mùn núi:giá thể Pindstrup	1:2
NT8	Đất mùn núi:xơ dừa	1:2
NT9	Đất mùn núi:giá thể Pindstrup:xơ dừa	2:1:1
NT10	Đất mùn núi:phân bò khô:xơ dừa	1:1:1
NT11	Đất mùn núi:phân bò khô:bã nấm	1:1:1
NT12	Đất mùn núi:phân bò khô:giá thể Pindstrup	1:1:1
NT13	Đất mùn núi:phân bò khô:vò trâu hun	1:1:1

(*): giá thể đất sạch (Pindstrup): N 0,33%, P₂O₅ 0,06%, K₂O 0,12%, mùn và hữu cơ >90%, pH 6,0-6,5, EC 1,2-1,8 mS/cm, độ ẩm 50±5%, màu nâu sẫm; (**): giá thể xơ dừa: EC≤0,5 ms/cm; pH 5,8-7,0; độ ẩm <40%; tannin và lignin <10%.

Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng khác nhau đến sự sinh trưởng của cây sâm in vitro ở điều kiện nhà kính: các tỷ lệ phân bón (N:P₂O₅:K₂O) 10:4:1; 3:1:1; 4:1:3 được áp dụng cho cây sâm nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm và vườn trồng: i) Giai đoạn vườn ươm: chu kỳ bón phân được thực hiện 1 tháng/lần với liều lượng 5 g/gốc, bón phân quanh gốc vào buổi chiều (sau 15 giờ). Các loại phân bón sử dụng là urea Phú Mỹ ($\geq 46,3\%$ N, $\leq 1\%$ biuret, độ ẩm $\leq 0,4\%$, hạt màu trắng), DAP Philipin (18% N, 46% P₂O₅) và kali sulphate Phú Mỹ (50% K₂O và 18% S). Theo dõi tỷ lệ sống của cây (%), hình thái về thân, lá của cây con sau 6 tháng nuôi trồng; ii) Giai đoạn vườn trồng: chu kỳ bón phân được thực hiện 1 tháng/lần với liều lượng 20 g/gốc, bón phân quanh gốc vào buổi chiều (sau 15 giờ). Theo dõi tỷ lệ sống, hình thái và sự phát triển của thân, lá, củ, rễ sau 6 tháng nuôi trồng.

Đánh giá khả năng thích nghi và sinh trưởng của cây sâm in vitro ở các điều kiện nuôi trồng khác nhau: trong suốt quá trình thực hiện nghiên cứu, các yếu tố sinh thái của môi trường như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, thổ nhưỡng của vùng núi Ngọc Linh được khảo sát để xây dựng tiểu vùng sinh thái có yếu tố sinh thái tương đối phù hợp nhằm đánh giá khả năng ra hoa của cây sâm trong điều kiện tại Đà Lạt. Trên cơ sở tổng hợp các kết quả nghiên cứu về yếu tố sinh thái môi trường tại vùng núi Ngọc Linh, 4 vị trí có điều kiện tương đối phù hợp đã được điều tra, khảo sát và lựa chọn để xây các điều kiện tại Đà Lạt và vùng phụ cận bao gồm 2 điều kiện nhà kính (35 Trần Hưng Đạo, phường 10, Đà Lạt và xã Đạ Sar, Lạc Dương); 1 nhà mái che kiên cố tại khu vực hồ Tuyên Lâm; 1 điều kiện trồng ngoài trời tại hồ Tuyên Lâm, cụ thể như sau:

Nhà kính tại Đà Lạt: khu vực có nhiều tán cây che mát (diện tích 50 m²), thiết kế nhà kính theo hướng đông tây; nhiệt độ bình quân ngày đêm dao động từ 14 đến 26°C, cường độ ánh sáng trung bình (ban ngày) 3.200-4.000 lux; số giờ nắng trung bình tháng trong năm 186 giờ; độ ẩm trung bình 78%. Đây là nhà kính hiện đại, có hệ thống tưới được thiết kế theo công nghệ phun sương tự động, điều chỉnh tùy theo thời tiết; hệ thống màng che sáng bằng lưới đen. Xung quanh nhà kính, phần tiếp giáp mặt đất được phủ bạt nilon để hạn chế cỏ và côn trùng trong đất. Cây sâm Ngọc Linh *in vitro* được bố trí trồng trong các chậu lớn nhỏ tùy vào độ tuổi của cây.

Nhà kính tại xã Đạ Sar, huyện Lạc Dương: khu vực giáp với rừng phòng hộ, thiết kế nhà kính theo hướng đông tây (tránh nắng trực tiếp buổi chiều); nhiệt độ bình quân ngày đêm dao động từ 12 đến 26°C; số giờ nắng trung bình tháng trong năm 189 giờ; độ ẩm trung bình 67%.

Nhà mái che kiên cố tại khu vực hồ Tuyên Lâm: khu vực có rừng và gần hồ nước (diện tích 100 m²), thiết kế nhà theo hướng đông bắc - tây nam; nhiệt độ trung bình ngày đêm dao động từ 10 đến 22°C; số giờ nắng trung bình tháng trong năm 123 giờ; độ ẩm trung bình 80% (ở ngoài trời) và 80-85% (ở dưới tán rừng). Nhà mái che được thiết kế với khung gỗ, mái che bằng tranh, xung quanh bao bởi lưới đen, hệ thống tưới phun sương tự động.

Khu vực ngoài trời hồ Tuyên Lâm: khu vực rừng hồ Tuyên Lâm (diện tích 200 m²), được rào chắn lưới xung quanh tránh động vật gây hại cây. Khu vực được bố trí ở vị trí có độ che phủ rừng trên 80%, gần hồ nước để chủ động về nước tưới cho cây. Tại mô hình, đất trồng (0,5% N, 0,3% K₂O, 293,1 mg/kg P₂O₅, 12,6% chất hữu cơ, pH 6,1, đất thịt nhẹ) được lên luống bằng phẳng, hơi xuôi để có thể thoát nước tốt khi mùa mưa đến. Mặt luống rộng 40 cm, cao 20-30 cm, chiều dài luống 10 m.

Khả năng tích lũy saponin: khả năng tích lũy các saponin chính (M-R₂, Rb₁ và Rg₁) của sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* ở các độ tuổi khác nhau (2, 3, 4 và 5 năm tuổi) được phân tích tại Trung tâm Sâm và dược liệu TP Hồ Chí Minh theo phương pháp định lượng G-Rb₁, G-Rg₁ và M-R₂ trong sâm Việt Nam bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) của Bùi Thế Vinh, Trần Công Luận [6].

So sánh và đánh giá hàm lượng saponin của cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy mô trồng tại Lâm Đồng với các kết quả hiện có về sâm Ngọc Linh đã công bố trước đây.

Xử lý số liệu

Phương pháp bố trí thí nghiệm đồng ruộng theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCDB); thí nghiệm nhắc lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức, mỗi ô nghiệm thức 5 m² với 45 cây/nghiệm thức. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và ANOVA với mức ý nghĩa 5%.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của các loại giá thể nuôi trồng khác nhau đến sự sinh trưởng của cây sâm in vitro ở điều kiện nhà kính

Sau 3 tháng nuôi trồng tại điều kiện vườn ươm, kết quả ban đầu cho thấy chỉ có 5 loại giá thể nuôi trồng (NT4, NT7, NT9, NT10 và NT12) thích hợp cho sự sinh trưởng của cây sâm Ngọc Linh nuôi cấy mô sinh trưởng và phát triển tốt. Chính vì vậy, 5 loại giá thể này được sử dụng để tiếp tục theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây sâm nuôi cấy mô (1, 2 và 3 năm tuổi). Sau 6 tháng theo dõi, kết quả được ghi nhận trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các loại giá thể nuôi cấy khác nhau lên sự sinh trưởng của cây sâm *in vitro* ở điều kiện nhà kính.

Tuổi của cây	Nghiệm thức	Chiều cao thân (cm)	Đường kính tán lá (cm)
1 năm	NT4	4,58	4,58
	NT7	4,69	6,63
	NT9	5,05	4,62
	NT10	4,30	4,53
	NT12	4,52	5,72
2 năm	NT4	9,01	8,12
	NT7	9,24	7,70
	NT9	9,12	8,50
	NT10	8,67	9,12
	NT12	8,92	9,06
3 năm	NT4	10,19	8,56
	NT7	12,56	11,70
	NT9	12,30	10,57
	NT10	13,58	12,65
	NT12	13,75	11,94

Qua bảng 2 cho thấy, chiều cao và đường kính tán tăng dần theo năm tuổi. Giai đoạn cây 1 năm tuổi, sự khác biệt về các chỉ tiêu chiều cao thân và đường kính tán lá ở 5 loại giá thể là không lớn; tuy nhiên, khi cây ở giai đoạn 2 và 3 năm, chiều cao cây và đường kính tán tăng mạnh ở điều kiện nuôi trồng trong giá thể đất mùn:phân bò khô:xơ dừa và đất mùn:phân bò khô:giá thể Pindstrup. Điều này có thể cho thấy nhu cầu dinh dưỡng bắt đầu tăng mạnh ở 2-3 năm tuổi. Như vậy, qua 5 nghiệm thức theo dõi trong 6 tháng cho thấy, trong những năm đầu cây sâm Ngọc Linh không cần nhiều dinh dưỡng, các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển của cây càng tăng khi bắt đầu bước sang năm thứ 2 trở đi. Giá thể phù hợp cho việc trồng sâm Ngọc Linh *in vitro* tại Đà Lạt tương ứng với các nghiệm thức NT10 và NT12. Trong đó, NT10 phù hợp cho cây ở giai đoạn vườn ươm và NT12 phù hợp cho cây ở giai đoạn vườn trồng với cây sâm Ngọc Linh *in vitro* từ 2, 3 năm tuổi trở lên.

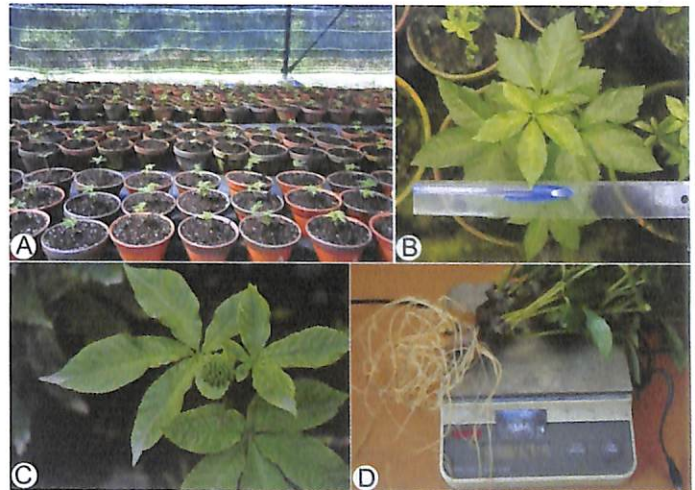
Ảnh hưởng của chế độ dinh dưỡng khác nhau lên sự sinh trưởng của cây sâm *in vitro* ở điều kiện nhà kính

Sau 6 tháng theo dõi, đối với giai đoạn vườn ươm (1 năm tuổi), cây phát triển tốt ở nghiệm thức N:P₂O₅:K₂O tỷ lệ 3:1:1 (bảng 3, hình 1A); ở giai đoạn vườn trồng, cây 2, 3 năm tuổi sinh trưởng tốt ở nghiệm thức tỷ lệ 4:1:3 (bảng 3). Đối với giai đoạn vườn trồng, nghiệm thức tỷ lệ 4:1:3 cây phát triển nhanh hơn so với ở nghiệm thức tỷ lệ 3:1:1. Ở nghiệm thức này, cây phát triển mạnh về chiều cao, thân lá, đường kính tán, số lá trên cây cũng ra nhiều và xanh, thân cây to và cứng cáp, rễ phát triển mạnh, đường kính củ phát triển (bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của phân bón đa lượng (N:P₂O₅:K₂O) đến sự phát triển của sâm Ngọc Linh *in vitro* giai đoạn vườn ươm (1 năm tuổi) và giai đoạn vườn trồng (cây 2, 3, 4 và 5 năm tuổi).

Tuổi cây	Nghiệm thức	Chiều cao thân (cm)	Số lá kép/cây	Đường kính tán lá (cm)	Khối lượng thân rễ (g)
1 tuổi	10:4:1	4,01	1,0	4,06	-
	4:1:3	4,01	1,0	4,58	-
	3:1:1	4,69	1,0	5,63	-
2 tuổi	10:4:1	9,04	1,0	8,06	5,00
	4:1:3	10,06	1,01	10,3	8,01
	3:1:1	10,08	1,06	8,54	4,63
3 tuổi	4:1:3	21,0	2,04	15,8	11,5
	3:1:1	20,2	1,86	13,45	10,9
4 tuổi	4:1:3	23,46	3,0	17,4	43,50
	3:1:1	20,96	2,71	14,13	38,12
5 tuổi	4:1:3	24,42	3,20	15,0	77,50

Giai đoạn cây 2 năm tuổi, tỷ lệ phân bón phù hợp cho cây sinh trưởng và phát triển tốt là tỷ lệ 4:1:3. Giai đoạn cây 3 năm tuổi trở lên (hình 1B) chúng tôi loại bỏ công thức 10:4:1, chỉ còn lại 2 tỷ lệ phân bón. Kết quả cho thấy, cả cây 3 và 4 năm tuổi đều thích hợp ở tỷ lệ phân bón 4:1:3. Giai đoạn cây 5 năm tuổi (hình 1C), chúng tôi chỉ còn theo dõi cây trồng ở 1 tỷ lệ phân bón duy nhất là 4:1:3. Kết quả cho thấy, khối lượng thân rễ trung bình trên mẫu thu đạt 77,5 g, đặc biệt có cây đạt 94,9 g (hình 1D).



Hình 1. Cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* sinh trưởng trong điều kiện nuôi trồng tại Đà Lạt. (A) Cây 1 năm tuổi; (B) Cây 3 năm tuổi; (C) Cây 5 năm tuổi ra hoa; (D) Cây 5 năm tuổi cho khối lượng 94,9 g.

Đánh giá khả năng thích nghi và sinh trưởng của cây sâm *in vitro* ở các điều kiện nuôi trồng khác nhau

Ảnh hưởng của các yếu tố sinh thái môi trường đến quá trình thích nghi, sinh trưởng và ra hoa của cây sâm Ngọc Linh tại các điều kiện nuôi trồng khác nhau (bảng 4) cũng được ghi nhận.

Bảng 4. Các yếu tố sinh thái tại các điều kiện nuôi trồng.

Địa điểm	Nhiệt độ ban ngày (°C)	Độ ẩm đất (%)	Độ ẩm không khí (%)	pH đất	Ánh sáng (lux)	Biên độ nhiệt ngày đêm'
Nhà kính 35 Trần Hưng Đạo	24,0	80-85	70-90	6,5	4.000-12.000	13,2-27,5
Nhà kính xã Đa Sar	26,5	80-95	70-92	6,5	4.000-12.000	13,2-27,5
Nhà mái che	25,5	80	60-70	6,5	2.800-12.000	13,2-27,5
Dưới tán rừng	25,5	80	70-75	6,0	400-8.000	13,2-27,5

' : theo số liệu của Trạm Khí tượng thủy văn Đà Lạt - trung bình cho năm 2016.

Kết quả cho thấy, khi trồng cây sâm Ngọc Linh *in vitro* ở điều kiện nuôi trồng khác nhau cho kết quả khác nhau. Tỷ lệ sống sót của cây sâm Ngọc Linh đạt cao nhất ở nhà kính tại 35 Trần Hưng Đạo (79,8%), tiếp theo là khu vực ngoài trời hồ Tuyên Lâm (70,0%), khu vực nhà mái che (61,0%) và thấp nhất tại khu vực xã Đa Sar (40%) (bảng 5).

Bảng 5. Khả năng thích nghi và sinh trưởng của cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* ở các điều kiện nuôi trồng khác nhau.

Điều kiện nuôi trồng	Tỷ lệ sống (%)	Số cây ra hoa			
		Tổng	Năm 2017	Năm 2018	Năm 2019
Nhà kính 35 Trần Hưng Đạo	79,8	18	6	8	4
Ngoài trời hồ Tuyên Lâm	70,0	7	2	3	2
Khu vực xã Đa Sar	40,0	-	-	-	-
Nhà mái che kiên cố hồ Tuyên Lâm	61,0	-	-	-	-
Tổng số cây ra hoa		25	8	11	6

Kết quả cũng cho thấy, chỉ có 2 mô hình (hình 2) có cây ra hoa là tại khu vực 35 Trần Hưng Đạo và khu vực rừng hồ Tuyên Lâm (2 điều kiện nuôi trồng đã có 25 cây ra hoa).



Hình 2. Điều kiện nuôi trồng cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* tại Đà Lạt, Lâm Đồng. (A, B) Nhà kính 35 Trần Hưng Đạo, Đà Lạt; (C) Nhà mái che hồ Tuyên Lâm, Đà Lạt; (D) Cây sâm Ngọc Linh 1, 2, 3, 4 và 5 năm tuổi (từ trái sang phải).

Hai mô hình tại khu vực xã Đa Sar và nhà mái che kiên cố khu vực hồ Tuyên Lâm không có cây cho hoa. Điều này có thể lý giải rằng: các yếu tố sinh thái tại 2 khu vực trên chưa phù hợp. Ở khu vực xã Đa Sar, để giảm nhiệt độ xuống mức thấp nhất có thể, ngoài việc che sáng bằng lưới chắn sáng, chúng tôi còn tăng lượng nước tưới phun sương, dẫn đến tăng độ ẩm đất, do đó cây sinh trưởng phát triển kém, tỷ lệ sống không cao. Khu vực nhà mái che kiên cố, mái lợp bằng phen tranh, xung quanh chắn lưới đen: mặc dù phần mái được lợp bằng tấm phen tranh, khả năng che chắn ánh sáng tốt, lượng nước tưới ổn định, nhưng độ ẩm tương đối thấp, gió nhiều (do địa hình tương đối thông thoáng). Mặc dù cây sinh trưởng tương đối tốt, nhưng chưa có cây ra hoa - đây cũng là yếu tố cần xem xét đánh giá thêm.

Khả năng tích lũy saponin

Các mẫu cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (hình 2D) được phân tích hàm lượng saponin. Kết quả được ghi nhận và so sánh với mẫu sâm tự nhiên thu nhận tại vùng trồng sâm Ngọc Linh (4 và 5 năm tuổi) ở Quảng Nam, Kon Tum trong bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân tích hàm lượng saponin trong sâm Ngọc Linh *in vitro* qua các năm tuổi.

Hợp chất	G-Rg ₁ (%)	M-R ₁ (%)	G-Rb ₁ (%)	Tổng (G-Rg ₁ + M-R ₁ + G-Rb ₁) (%)
Mẫu 2 tuổi	0,404±0,007	0,073±0,001	0,196±0,005	0,673±0,013
Mẫu 3 tuổi	0,873±0,014	0,225±0,018	0,506±0,005	1,604±0,037
Mẫu 4 tuổi	1,149±0,011	1,389±0,014	0,988±0,013	3,526±0,038
Mẫu 4 tuổi*	1,110±0,0032	2,040±0,0024	0,990±0,0087	4,140±0,0143
Mẫu 5 tuổi	1,248±0,009	1,417±0,032	1,012±0,003	3,677±0,044
Mẫu 5 tuổi*	1,550±0,0088	3,120±0,0538	1,370±0,0207	6,040±0,0833

*: bản mô tả tính chất, chất lượng, danh tiếng của sản phẩm sâm củ mang chỉ dẫn địa lý "Ngọc Linh" do Cục Sở hữu trí tuệ cấp ngày 24/5/2016.

Từ kết quả của đề tài so sánh với cây sâm Ngọc Linh được trồng tại vùng núi Ngọc Linh cho thấy, đối với sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro*, saponin trong cây 4 năm tuổi có hàm lượng G-Rg₁ và G-Rb₁ tương đương cây sâm Ngọc Linh 4 năm tuổi được trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Riêng hàm lượng M-R₂ thấp hơn (1,389 so với 2,040), đạt 68% so với sâm trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Tính tổng thể, so sánh ở cây 4 năm tuổi: hàm lượng saponin của cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đạt 85% so với cây sâm được trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Đối với sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* 5 năm tuổi, hàm lượng G-Rg₁ và G-Rb₁ thấp hơn cây sâm Ngọc Linh 5 năm tuổi được trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Riêng hàm lượng M-R₂ thấp hơn nhiều (1,417 so với 3,120), đạt 45,4% so với sâm trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Tính tổng thể, so sánh ở cây 5 năm tuổi, hàm lượng saponin của cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đạt 60,8% so với cây sâm được trồng tại vùng núi Ngọc Linh. Tuy nhiên, khối lượng trung bình (77,50 g) thu nhận được tại điều kiện

Đà Lạt, Lâm Đồng tương đương khoảng 10-15 củ/kg thì hiệu quả mang lại cũng tương đối cao.

Với tình hình sâm Ngọc Linh tự nhiên bị khai thác bừa bãi và trữ lượng không còn đáng kể như hiện nay, biện pháp nuôi trồng tạo cây sâm hoàn chỉnh giúp ta có thể chủ động trong nguồn cung cấp sâm. Khi khảo sát Trại dược liệu Trà Linh tại tỉnh Quảng Nam, Đặng Ngọc Phái và cộng sự (2002) đã đưa ra một số khó khăn của việc chăm sóc cây sâm Ngọc Linh (bón các loại phân hữu cơ, NPK...) chưa thực hiện được do đặc điểm địa hình trở ngại cho việc vận chuyển, cũng như khó khăn về kinh phí [7]. Do trồng ngoài tự nhiên nên cây sâm dễ bị các loại bệnh như rỉ sắt, thối cổ rễ (rễ nhũn dãn), bệnh vàng lá... Theo lý thuyết, số lượng hạt mỗi năm thu được sẽ tăng lên do số lượng cây có khả năng thu được hạt hàng năm tăng, nhưng trên thực tế số lượng này không tăng nhiều do các nguyên nhân như hạn chế trong kỹ thuật chăm sóc của công nhân; sự phá hoại của các loại chim, chuột, sóc; ảnh hưởng của thời tiết...

Một nhược điểm nữa của việc nuôi trồng theo phương pháp truyền thống là cần diện tích canh tác lớn, thời gian trồng lâu (khoảng 5-6 năm mới thu hoạch được). Hơn nữa, loài sâm này chỉ có thể tăng trưởng trong những điều kiện nhất định, nên những khu vực có thể trồng trọt là rất hạn chế. Mặt khác, lượng sâm thu được cũng không nhiều do củ sâm 5-6 tuổi có khối lượng tươi bé nhất khoảng 5-7 g, lớn chỉ khoảng 50-70 g. Hiện nay, giá sâm Ngọc Linh tăng lên rất cao, đạt 40-50 triệu đồng/kg sâm tươi (trên 20 củ) và 60-80 triệu đồng/kg sâm tươi (dưới 20 củ) nên việc thất thoát nguồn sâm do khai thác bừa bãi và trộm cắp là một điều rất đáng lo ngại.

Việc ứng dụng nuôi cấy mô để nhân giống cây sâm Ngọc Linh nhằm tạo ra một nguồn giống lớn cung cấp cho các khu vực trồng sâm Ngọc Linh là một hướng đi giải quyết những hạn chế còn tồn tại của phương pháp nhân giống truyền thống. Mặt khác bằng phương pháp nuôi cấy mô có thể tạo ra một nguồn giống lớn, cung cấp cho người dân, từ đó có thể xã hội hóa việc trồng sâm Ngọc Linh, mang lại lợi ích kinh tế cho đồng bào các dân tộc và phát triển thương hiệu sâm Việt Nam trên thế giới. Hiện nay, có hai tỉnh có khu vực trồng và phát triển cây sâm Ngọc Linh là Quảng Nam và Kon Tum. Tỉnh Quảng Nam có Trại dược liệu Trà Linh thuộc xã Trà Linh là xã vùng cao phía tây nam của huyện Trà My. Tỉnh Kon Tum có Lâm trường sâm Ngọc Linh với chốt sâm đóng tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, đây là khu vực trồng sâm nằm trong dự án bảo tồn cây sâm Ngọc Linh của Chính phủ do Công ty Đầu tư phát triển lâm nghiệp, công nghiệp và dịch vụ Đắk Tô quản lý. Ngoài ra, ở hai tỉnh này còn có các điểm trồng tự phát của người dân. Các khu vực trồng sâm đều nằm trên núi cao, có khí hậu mát mẻ, nhiệt độ trung bình 20-23°C, nhiệt độ cao nhất trung bình 28°C, nhiệt độ thấp nhất trung bình 5-10°C. Nhờ điều kiện khí hậu mát mẻ như trên, cây sâm mới có thể tồn tại và phát triển ở nước ta, nơi có khí hậu nhiệt đới gió

mùa [7]. Nghiên cứu cho thấy, với điều kiện nuôi trồng ở Đà Lạt và cách thức bố trí thí nghiệm tương đồng với vùng núi Ngọc Linh thì cây sâm Ngọc Linh có thể thích nghi và sinh trưởng. Kết quả ghi nhận về tỷ lệ sống sót, khả năng sinh trưởng, ra hoa của cây chưa cao so với kỳ vọng nhưng đây là nghiên cứu tiền đề cho những nghiên cứu sâu và rộng hơn trong tương lai nhằm phát triển vùng trồng sâm Ngọc Linh.

Kết luận

Kết quả ghi nhận được cho thấy, giá thể đất mùn: phân bò khô:xơ dừa (tỷ lệ 1:1:1) và chế độ dinh dưỡng N:P₂O₅:K₂O (3:1:1) ở giai đoạn vườn ươm (cây 1 năm tuổi); giá thể đất mùn:phân bò khô:Pindstrup (tỷ lệ 1:1:1) và chế độ dinh dưỡng N:P₂O₅:K₂O (tỷ lệ 4:1:3) ở giai đoạn vườn trồng (cây 2 năm tuổi trở lên) là thích hợp cho cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy mô cho sự thích nghi và sinh trưởng. Các cây sâm Ngọc Linh có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* 5 năm tuổi cho khả năng tích lũy saponin G-Rg₁ 1,248% và G-Rb₁ 1,012% là tương đồng và saponin M-R₂ 1,417% là thấp hơn so với sâm Ngọc Linh tự nhiên trồng tại Quảng Nam và Kon Tum. Kết quả của nghiên cứu đã bước đầu đánh giá được khả năng thích nghi của cây sâm Ngọc Linh ở điều kiện Đà Lạt (Lâm Đồng) - nơi có khí hậu tương đồng với vùng núi Ngọc Linh thuộc 2 tỉnh Quảng Nam và Kon Tum (vùng phân bố sâm Ngọc Linh tự nhiên).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương (2007), *Sâm Việt Nam và một số họ Nhân sâm*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] G. Bruszt, T. Ammour, J. Claussen, Z. Ofir, N.C. Saxena, S. Turner (2003), *External Review*, IUCN (International Union for Conservation of Nature).
- [3] Dương Tân Nhựt (2011), *Hệ thống nuôi cấy lớp mỏng tế bào trong nghiên cứu chương trình phát sinh hình thái và bảo tồn cây sâm Ngọc Linh*, Báo cáo tổng kết đề tài NAFOSTED.
- [4] Dương Tân Nhựt (2014), *Hệ thống chiếu sáng đơn sắc - nguồn sáng nhân tạo cho nghiên cứu tái sinh và nhân giống một số loại cây trồng nuôi cấy in vitro*, Báo cáo tổng kết đề tài NAFOSTED.
- [5] Dương Tân Nhựt (2014) *Ứng dụng hệ thống chiếu sáng đơn sắc (LED) trong nghiên cứu nhân nhanh cây sâm Ngọc Linh (Panax vietnamensis Ha et Grushv.) với số lượng lớn phục vụ nhu cầu nhân giống của tỉnh Quảng Nam*, Báo cáo tổng kết dự án sản xuất thử nghiệm cấp Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.
- [6] Bùi Thế Vinh, Trần Công Luận (2011), "Xây dựng phương pháp định lượng G-Rb₁, G-Rg₁, và M-R₂ trong sâm Việt Nam bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao", *Tạp chí Dược liệu*, 16, tr.44-50.
- [7] Đặng Ngọc Phái, Nguyễn Như Chính, Nguyễn Minh Đức, Trần Thị Vi Cẩm, Lê Thế Tùng, Nguyễn Minh Cang (2002), "Tình hình trồng trọt - phát triển cây sâm Việt Nam và một số kết quả nghiên cứu về cây sâm Việt Nam", *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, 6, tr.12-18.