

**ĐÁNH GIÁ SINH TRƯỞNG VÀ THÀNH PHẦN DƯỢC CHẤT CÂY BA KÍCH  
(*MORINDA OFFICINALIS* HOW) NUÔI CÂY *IN VITRO*  
TRỒNG TẠI CAO BẰNG VÀ PHÚ YÊN**

**Nguyễn Thị Hiền, Trần Bảo Trâm,  
Phan Xuân Bình Minh, Nguyễn Thị Thanh Mai,  
Trương Thị Chiên<sup>1</sup>, Phạm Hương Sơn<sup>1</sup>, Đặng Thị Thủy<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Viện Ứng dụng Công nghệ*

<sup>2</sup>*Trung tâm Ứng dụng và Chuyển giao công nghệ, Sở KH&CN Phú Yên*

Ba kích (*Morinda officinalis* How) là cây thân leo quán sống lâu năm, phân bố ở khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới (Yan-Bin Wu et al., 2013). Ở Việt Nam, Ba kích được tìm thấy trong tự nhiên chủ yếu ở các tỉnh thuộc vùng núi thấp và trung du phía Bắc như Cao Bằng, Lào Cai (Sa Pa), Hà Giang, Lạng Sơn, Quảng Ninh (Cẩm Phả, Yên Tử)... và một số tỉnh miền Trung như Quảng Trị (Bắc Hướng Hóa), Quảng Bình (Hóa Sơn), Quảng Nam (Tây Giang), Đà Nẵng (Bà Nà). Trong những năm gần đây, do nhu cầu sử dụng và khai thác Ba kích làm dược liệu đang ngày càng tăng dẫn đến trữ lượng Ba kích trong tự nhiên bị sụt giảm nghiêm trọng đến mức có nguy cơ bị tuyệt chủng.

Cao Bằng có khí hậu nhiệt đới gió mùa lục địa núi cao, thuộc tiểu vùng á nhiệt đới đặc trưng riêng so với các tỉnh miền núi khác thuộc vùng Đông Bắc. Khí hậu Cao Bằng được chia làm 2 mùa rõ rệt: mùa mưa và mùa khô. Mùa mưa (tháng 4 đến tháng 9) có gió mùa đông nam và chịu ảnh hưởng một phần nhỏ của gió mùa tây nam, đông bắc, lượng mưa trung bình 200 - 250 mm, nhiệt độ trung bình 20°C - 24°C và độ ẩm không khí trung bình là 80% - 90%. Mùa khô (từ tháng 10 năm trước đến tháng 3 năm sau) với gió mùa đông bắc gây khô và rét, hay có sương mù, có vùng còn xuất hiện sương muối, lượng mưa trung bình 20 - 40 mm; thấp nhất: 10 - 20 mm, nhiệt độ trung bình 8 - 15°C và độ ẩm trung bình 70% - 80%. Cao Bằng là vùng phân bố của cây ba kích và hiện nay ba kích tự nhiên vẫn được người dân khai thác bán nhưng số lượng không nhiều. Vùng trồng thử nghiệm Ba kích tại xã Cao Chương, huyện Trà Lĩnh là vùng đất ferarit đỏ vàng, độ cao trung bình 700 m so với mực nước biển và có thảm thực vật tự nhiên có độ tàn che 35 - 40%.

Phú Yên nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm, đồng thời chịu ảnh hưởng của khí hậu đại dương, chia thành 2 mùa rõ rệt: mùa khô kéo dài từ tháng 1 đến tháng 8, mùa mưa bắt đầu từ tháng 9 đến tháng 12. Nhiệt độ trung bình hàng năm từ 23 - 27°C, thời tiết ẩm nóng khá ổn định, lượng mưa trung bình khoảng 1.200 - 2.300 mm. Độ ẩm không khí trung bình 80 - 85%. Tổng số giờ nắng cao, trung bình từ 2.300 giờ đến 2.600 giờ/năm, phân bố không đều theo mùa. Sông Hinh là vùng núi cao 500 - 1.400 m xen kẽ đèo dốc, thung lũng nhỏ hẹp, từ biên giới tây nam chạy dọc theo biên giới Phú Yên - Khánh Hòa. Do núi cao đón gió mùa đông bắc nên lượng mưa trung bình đạt từ 2.400 - 2.600 mm, lớn nhất tỉnh. Lượng mưa trung bình năm 2.457 mm, với trên 130 ngày mưa. Lượng mưa mùa khô từ 700 - 800 mm, chiếm 30 - 35%. Vùng được lựa chọn trồng Ba kích là vùng có độ cao 500 - 700 m, đất ferarit đỏ vàng, có thảm thực vật tự nhiên che phủ hơn 40%.

Với điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng khá tương đồng với vùng phân bố của cây Ba kích, chúng tôi đã tiến hành trồng thử nghiệm cây giống ba kích nuôi cây *in vitro* tại 2 địa điểm là huyện Trà Lĩnh (Cao Bằng) và huyện Sông Hinh (Phú Yên) trong bốn năm, đồng thời đánh giá khả năng sinh trưởng cũng như thành phần một số hoạt chất chính (nytose, rubiadin,

tectoquinon) của rễ củ cây ba kích nhằm phát triển vùng trồng cây dược liệu phục vụ thương mại.

## I. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Địa điểm và mẫu vật

Cây Ba kích giống *in vitro* do Trung tâm Sinh học Thực nghiệm nhân giống đã được trồng 04 năm (2013-2016) tại 2 địa điểm Trà Lĩnh (Cao Bằng) và Sông Hinh (Phú Yên).

Mẫu rễ củ cây ba kích được thu vào tháng 10/2016.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

- Thu mẫu: Tại mỗi địa điểm tiến hành thu 05 hốc ba kích ở lô trồng 04 năm tuổi theo nguyên tắc đường chéo.

- Đánh giá sinh trưởng của cây ba kích: Dựa vào các chỉ tiêu chiều dài cây, số lá, tỷ lệ cây sống (%), tỷ lệ cây ra hoa (%), số lượng quả trung bình/cây, đường kính gốc trung bình (cm), năng suất củ trung bình/cây (kg).

- Định lượng rubiadin, tectoquinon (nhóm anthraquinon) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao kết nối với detector quang phổ tử ngoại (HPLC-UV) (Yan-Bin Wu et al., 2013)

Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác khoảng 2 g bột mẫu thử chuyển mẫu bình nón dung tích 100 ml. Thêm 40 ml ethanol 70% và chiết siêu âm trong 2 giờ. Để nguội mẫu ở nhiệt độ phòng, lọc, thu được dung dịch mẫu thử.

Điều kiện phân tích: mẫu phân tích trên hệ thống HPLC với cột pha đảo Ascentis C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm), hệ dung môi acetonitril: acid phosphoric 0,1%; tốc độ dòng 0,6 ml/phút; Detector UV-VIS bước sóng 277 nm, thể tích tiêm cột 20 µl.

- Định lượng nystose bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng kết hợp đo mật độ hấp thụ quang (TLC-scanner) (Katarina Reiffov, 2014)

Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột mẫu thử vào bình cầu dung tích 100 ml. Thêm 50 ml methanol 70%, cân xác định khối lượng bình. Để tĩnh 10 phút, chiết hồi lưu trong 30 phút và để nguội mẫu ở nhiệt độ phòng. Bổ sung methanol 70% đến khối lượng như đã xác định ban đầu. Lọc thu được dung dịch mẫu thử.

Điều kiện phân tích: Mẫu thử được chấm so sánh với các dung dịch đối chiếu trên cùng một điều kiện. Bản mỏng Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) (20x20 cm) được hoạt hóa ở 105°C trong 1 giờ trước khi sử dụng. Thể tích chấm mẫu 4 µl, sử dụng hệ dung môi ethyl acetat:nước:acid formic:acid acetic (6:3:2:2). Bản mỏng để khô trong không khí và phun thuốc thử α-naptol. Quét định lượng tại bước sóng 570 nm ghi nhận sắc kí đồ để xác định hàm lượng nystose.

**3. Xử lý số liệu:** Sử dụng phần mềm Excel 2007, MegaStat trong xử lý số liệu thống kê.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Đánh giá sinh trưởng của cây ba kích nuôi cấy *in vitro* trồng tại Cao Bằng và Phú Yên

Kết quả theo dõi sinh trưởng và phát triển của cây Ba kích giống *in vitro* trồng thử nghiệm tại Trà Lĩnh và Sông Hinh trong các năm 2013-2016 thu được như trong Bảng 1.

Sinh trưởng của cây giống Ba kích *in vitro* trồng tại Cao Bằng và Phú Yên

Số năm trồng	Cây giống <i>in vitro</i> xuất vườn				
		1	2	3	4
Chỉ tiêu					
<b>Trồng tại Cao Bằng</b>					
Hình thái cây	Chiều dài cây: 45,5±8,23 cm	Chiều dài cây: 157±15,45 cm	Cây bắt đầu phân nhánh, tạo bụi.	Cây phân nhiều nhánh, tạo thành bụi lớn	Tán lá phát triển ổn định
Tỉ lệ cây sống (%)	100	87± 2,11	81± 3,87	77,5±2,12	77,5±1,59
Tỉ lệ cây ra hoa (%)	0	0	7±1,56	76±5,78	100
Số lượng quả/cây	0	0	1,5±0,93	16,5±5,34	42,5±9,09
Đường kính gốc (cm)	0,27±0,04	0,57±0,12	0,87±0,35	1,52±0,56	2,15±0,76
Năng suất rễ củ tươi (kg/cây)	0	0	1,25±0,83	1,55±0,78	2,9±1,01
<b>Trồng tại Phú Yên</b>					
Hình thái cây	Chiều dài TB cây: 40±5,37 cm	Chiều dài TB cây: 162±13,81 cm	Cây bắt đầu phân nhánh, tạo bụi.	Cây phân nhiều nhánh, tạo thành bụi lớn	Tán lá phát triển ổn định
Tỉ lệ cây sống (%)	100	88,5±3,98	82±3,71	80,5±2,04	80,5±2,99
Tỉ lệ cây ra hoa (%)	0	0	0	58±8,96	100
Số lượng quả cho thu hạt /cây	0	0	0	11,0±6,71	38,5±5,93
Đường kính gốc (cm)	0,25±0,09	0,61±0,24	0,91±0,31	1,43±0,43	2,05±0,68
Năng suất rễ củ tươi (kg/cây)	0	0	1,1±0,14	1,4±0,35	2,7±0,52

Kết quả trồng thử nghiệm giống ba kích nuôi cấy *in vitro* cho thấy: sau 4 năm trồng tỷ lệ cây sống khá cao, đạt 77,5% (Cao Bằng) và 80,5% (Phú Yên). Ở cả 2 địa điểm cây đều sinh trưởng nhanh và phát triển ổn định theo thời gian: sau 1 năm chiều dài cây tăng từ 3,4-4 lần (dài 157-162 cm) và bắt đầu leo quấn giàn, đến năm thứ hai và thứ ba cây bắt đầu phân nhánh và tạo thành bụi lớn, đến năm thứ tư cây phát triển ổn định và bắt đầu cho thu hoạch. Chỉ tiêu đường kính gốc ở cả 2 vùng trồng tăng dần theo các năm, đến năm thứ 4 tăng gấp khoảng 8 lần so với cây ban đầu các chỉ số tăng trưởng này cũng tương tự như đối với cây trồng từ hạt ở Phú Thọ của tác giả Nguyễn Chiêu (2001). Tại Cao Bằng, từ năm thứ 2 bắt đầu có cây ra hoa (7%) chỉ tiêu này thấp hơn so với cây trồng từ hạt của Nguyễn Chiêu (40%) nhưng các chùm hoa khi kết

quả đa phần lép. Điều này cũng có thể do tác động của ngoại cảnh, chế độ chăm sóc bởi đến năm thứ 3 đạt 76% số cây trồng ra hoa, đến năm thứ tư tất cả số cây trồng sống đều ra hoa. Tại Phú Yên, từ năm thứ 3 cây mới bắt đầu ra hoa đồng loạt với tỷ lệ 58% số cây sống, đến năm thứ tư 100% số cây cho ra hoa như ở Cao Bằng. Kết quả có thể thấy cây giống Ba kích *in vitro* trồng thử nghiệm trong nghiên cứu này có các chỉ số sinh trưởng và phát triển tương đương với cây giống Ba kích gieo hạt.

Tại thời điểm thu mẫu rễ củ (năm thứ 4), năng suất rễ củ tươi tại Cao Bằng đạt trung bình 2,9 kg/cây, cao hơn không nhiều so với cây trồng ở Phú Yên (2,7 kg/cây). Nhưng đây mới là những kết quả bước đầu. Bởi quy trình trồng Ba kích là 5-7 năm theo Nguyễn Chiêu và Lê Thanh Sơn (2008) cho thấy năng suất rễ củ cây Ba kích trồng từ hạt tại Phú Thọ, sau 7 năm đạt 8- 13 kg/cây.

## 2. Đánh giá thành phần dược chất cây Ba kích trồng tại Cao Bằng và Phú Yên

Các công bố của Viện dược liệu (2004), Yoshikawa *et al.* (1995) đã xác định trong rễ Ba kích chứa các anthraglucosid/anthraquinon (tectoquinon, rubiadin, alizarin-1-methyl ether,...), các iridoid glucosid (asperulosid, monotropien, morindolid, morofficalosid,...), các sterol, lacton, các chất vô cơ (K, Na, Mg, Al, Fe, P,...). Ngoài ra, trong dược liệu ba kích chứa nhiều đường (nystose), nhựa, acid hữu cơ, ít tinh dầu và mẫu tươi có chứa nhiều vitamin C.

Trong nghiên cứu này chúng tôi xác định 3 hoạt chất thường được đánh giá trong dược liệu ba kích là nystose, tectoquinon và rubiadin. Trong đó nystose có tác dụng chống trầm cảm mức độ nhẹ và vừa, chống tổn thương tế bào thần kinh, cũng như có tác dụng ngăn ngừa sự tiêu xương, tectoquinon và rubiadin là 2 thành phần thuộc nhóm anthraquinon có tác dụng thanh nhiệt, ích thận, hạ hỏa, giải độc, cường gân cốt, kháng viêm.

Kết quả phân tích các thành phần dược liệu chính của mẫu rễ củ ba kích trồng tại Cao Bằng và Phú Yên thu được trong Bảng 2.

Bảng 2

**Thành phần dược chất trong mẫu rễ củ ba kích trồng tại Cao Bằng và Phú Yên**

Thành phần \ Địa điểm	Cao Bằng	Phú Yên
Nytose (%)	4,69±0,04	5,9±0,03
Tectoquinon (ppm)	10,33±0,2	KPH
Rubiadin (ppm)	KPH	42,8±0,3

**Chú thích:** KPH – Không phát hiện

Kết quả phân tích cho thấy các mẫu rễ củ Ba kích đều có hàm lượng nystose khá cao, đều đạt trên 3,0%. Trong đó, mẫu rễ củ ba kích trồng tại Phú Yên có hàm lượng nystose trung bình đạt cao nhất 5,90%, mẫu trồng tại Cao Bằng hàm lượng nystose trung bình thấp hơn ở mức 4,69%. So sánh với tiêu chuẩn trong Dược điển Trung Quốc (hàm lượng nystose không được thấp hơn 2,0%, theo phương pháp HPLC-ELSD), có thể thấy ba kích giống *in vitro* trồng tại Cao Bằng và Phú Yên đều đạt về hàm lượng nystose so với quy định trong Dược điển Trung Quốc.

Về thành phần của nhóm anthraquinon cho thấy mẫu Ba kích trồng tại Cao Bằng có hàm lượng tectoquinon đạt 10,33 ppm nhưng không thấy trong mẫu trồng tại Phú Yên. Còn thành phần rubiadin phân tích được trong mẫu trồng tại Phú Yên chiếm 42,8 ppm nhưng không phát

hiện trong mẫu ba kích trồng tại Cao Bằng. Nghiên cứu của Yan-Bi Wu et al. (2013) trong 25 mẫu ba kích thu thập tại các vùng khác nhau của Trung Quốc có hàm lượng rubiadin chiếm từ 0,78 - 21,53 ppm, kết quả này cho thấy hàm lượng rubiadin trong mẫu trồng tại Phú Yên là khá cao so với trong mẫu ba kích của Trung Quốc.

### III. KẾT LUẬN

Cây Ba kích (*Morinda officinalis* How) nuôi cấy *in vitro* trồng thử nghiệm tại Trà Lĩnh (Cao Bằng) và Sông Hinh (Phú Yên) đều sinh trưởng tốt, tỷ lệ cây sống cao (tương ứng đạt 77,5% và 80,5%). Đánh giá sinh trưởng sau 4 năm trồng ở cả 2 vùng là tương đương nhau, cây phát triển ổn định tạo thành bụi lớn, đường kính gốc khoảng 2-2,9 cm, 100% số cây sống đều ra hoa, số lượng quả trung bình đạt 38-42 quả/cây, năng suất rễ củ tươi trung bình từ 2,7-2,9 kg/cây. Đánh giá thành phần các hoạt chất trong rễ củ ba kích trồng tại 2 địa điểm nghiên cứu cho thấy các mẫu đều có hàm lượng nyctose khá cao (lần lượt đạt 4,69% và 5,90% với mẫu thu tại Cao Bằng và Phú Yên), nhưng hàm lượng tectoquinon và rubiadin đều rất thấp (10,33 ppm tectoquinon trong mẫu ba kích trồng ở Cao Bằng và 42,8 ppm rubiadin trong mẫu ba kích trồng ở Phú Yên) hoặc không phát hiện (rubiadin trong mẫu củ ba kích Cao Bằng và tectoquinon trong mẫu củ ba kích Phú Yên).

Kết quả bước đầu cho thấy giống Ba kích nuôi cấy *in vitro* hoàn toàn có thể nhân trồng ở những vùng địa lý có điều kiện tương tự với vùng phân bố của Ba kích. Tuy nhiên để xác định khả năng phát triển trồng cây giống *in vitro* Ba kích cần có thêm các đánh giá chất lượng rễ củ với thời gian trồng lâu hơn.

*Lời cảm ơn:* Để hoàn thành bài báo này, nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn tới Viện Ứng dụng Công nghệ (Bộ KH&CN) và Trung tâm ứng dụng và chuyển giao công nghệ (Sở KH&CN Phú Yên) đã hỗ trợ kinh phí và tạo điều kiện cơ sở vật chất của Phòng thí nghiệm Ứng dụng y sinh công nghệ cao để thực hiện nghiên cứu và thu thập số liệu tại thực địa.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dược điển Trung Quốc**, 2010. Chuyên luận *Morindae officinalis* Radix, trang 284-285.
2. **Katarina Reiffov**, 2014. Analysis of food bioactive oligosaccharides by Thin – Layer Chromatography. Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity.
3. **Nguyễn Chiêu**, 2001. Kết quả bước đầu nghiên cứu trồng Ba kích ở Phú Thọ, Tạp chí Dược học số 1, trang 6.
4. **Nguyễn Chiêu, Lê Thanh Sơn**, 2008. Những kết quả về nghiên cứu kỹ thuật nhân giống và trồng vườn giống ba kích (*Morinda officinalis* How) trong mô hình vườn gia đình, vườn trang trại *Morinda officinalis*. Công trình NCKH tạo nguồn nguyên liệu làm thuốc (1998-2008).
5. **Viện Dược liệu**, 2004. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1, NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 101 – 106.
6. **Yan-Bin Wu, Jian-Guo Wu, Cheng-Jian Zheng, Ting Han, Lu-Ping Qin, Jin-Zhong Wu and Qiao-Yan Zhang**, 2013. Quantitative and chemical profiles analysis of the root of *Morinda officinalis* based on reversed-phase high performance liquid chromatography combined with chemometrics methods, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 7(30): 2249-2258.

7. **Yoshikawa M., Yamaguchi S., Nishisaka H., Yamahara J., Murakami N., 1995.** Chemical constituents of Chinese nature medicine, morinda radix, the dried roots of *Morinda officinalis* How: Structures of morindolide and morofficinaloside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43(9): 1462-1465.

**EVALUATION OF GROWTH AND PHARMACEUTICAL CONSTITUENTS  
OF “*IN VITRO MORINDA OFFICINALIS* HOW” CULTIVATED  
IN CAO BANG AND PHU YEN**

**Nguyen Thi Hien, Tran Bao Tram,  
Phan Xuan Binh Minh, Nguyen Thi Thanh Mai,  
Truong Thi Chien, Pham Huong Son, Dang Thi Thuy**

**SUMMARY**

The *in vitro Morinda officinalis* How cultivated experimentally in Tra Linh (Cao Bang province) and Song Hinh (Phu Yen province) grew well with high survival rate (up to 77.5% and 80.5%, respectively). After 4 years of planting the growth of trees in both areas was similar, the plants developed stably and formed large scrubs with diameter of the stump of around 2-2,9 cm; 100% of alive plants were flowering, the number of fruits reached 38- 42 fruits/tree, average yield of fresh tuberous roots was from 2.7 to 2.9 kg/tree. Studying the pharmaceutical compounds in their tuberous roots showed that the content of nytose in the samples cultivated in Cao Bang and Phu Yen was high, up to 4.69% and 5.90%, respectively. However, the compositions of tectoquinon and rubiadin in the samples grown in the two sites were very low and different: in the samples planted in Cao Bang, tectoquinone content was 10.33 ppm and rubiadin was not detected, but the samples cultivated in Phu Yen had no tectoquinone and rubiadin with the content of 42.8 ppm.

Such initial results showed that *in vitro* seedlings of *M. officinalis* could be able to grow in the areas with conditions similar to the native places of *M. officinalis*. However, in order to adequately determine the potential of commercial development of the *in vitro M. officinalis* seedlings, it is necessary to have further researches on the quality of the tuberous roots with longer planting times.