Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn
pISSN: 2588-1191; eISSN: 2615-9708
Tập 132, Số 3B, 2023, Tr. 97–110, DOI: 10.26459/hueunijard.v132i3B.7145

ĐỊNH DANH VÀ NHÂN GIỐNG GỪNG ĐEN (*Distichochlamys citrea*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM HOM

Huỳnh Thị Diệu Hiền[1, 2], Phan Thị Thảo Nguyên[3], Hồ Nhật Quang[1], Hồ Anh Chi[1], Nguyễn Đức Tuấn[1], Lê Nguyễn Thới Trung[4], Trần Thị Thu Hà[5], Trương Thị Bích Phượng[1, *]

[1] Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam
[2] Trường THPT Trần Quốc Tuấn, 503 Quang Trung, Tp. Quảng Ngãi, Quảng Ngãi, Việt Nam
[3] Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tỉnh Lộ 10, Phú Vang, Thừa Thiên Huế, Việt Nam
[4] Bảo tàng Thiên nhiên duyên hải miền Trung, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Thừa Thiên Huế, Điềm Phùng Thị, Huế, Việt Nam
[5] Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Trương Thị Bích Phượng <ttbphuong@hueuni.edu.vn>
(Ngày nhận bài: 21-3-2023; Ngày chấp nhận đăng: 10-4-2023)

Tóm tắt. *Distichochlamys citrea* là loại dược liệu đặc hữu của Việt Nam và có tác dụng quý trong điều trị nhiều loại bệnh. Các mẫu gừng đen thu thập từ Vườn Quốc gia Bạch Mã có sự khác biệt về màu sắc và dạng thân, lá, nên việc xác định chính xác loài dựa vào hai đặc điểm này là cần thiết để thu đúng loài *D. citrea*. Chúng tôi đã xác định đặc điểm hình thái và phân tử của các mẫu gừng đen và đánh giá ảnh hưởng của các nhân tố đến nhân giống cây *D. citrea* bằng phương pháp giâm hom. Với chỉ thị ITS, chúng tôi nhận thấy các mẫu gừng này thuộc loài *Distichochlamys citrea*. Củ có khối lượng 2 g là thích hợp cho giâm hom. Việc sử dụng *Trichoderma* (0,2 kg/kg hom củ) cho xử lý hom củ và giâm trên giá thể gồm xơ dừa, cát, đất sạch, phân giun quế và trấu hun (tỷ lệ 1:1:1:1:1) có ảnh hưởng tốt nhất đến sinh trưởng của cây gừng đen. Dung dịch tưới IBA 100 ppm là phù hợp cho sinh trưởng và tạo rễ của các cây giâm hom. Sau chín tháng giâm củ, chúng tôi đạt được kết quả sau: 3,2 chồi/hom, 9,6 rễ/hom, rễ dài 21,29 cm, cây cao 25,75 cm và 3,58 lá/cây.

Từ khoá: đặc điểm hình thái, *Distichochlamys citrea*, giâm hom, ITS, *Trichoderma*

Identification of *distichochlamys citrea* and its propagation with the rhizome cutting method

Huynh Thi Dieu Hien[1, 2], Phan Thi Thao Nguyen[3], Ho Nhat Quang[1], Ho Anh Chi[1], Nguyen Duc Tuan[1], Le Nguyen Thoi Trung[4], Tran Thi Thu Ha[5], Truong Thi Bich Phuong[1]*

[1] University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam
[2] Tran Quoc Tuan High School, 503 Quang Trung St., Quang Ngai City, Quang Ngai, Vietnam
[3] Institute of Biotechnology, Hue University, Road No. 10, Phu Vang, Thua Thien Hue, Vietnam
[4] Central Coast Nature Museum, Department of Science and Technology of Thua Thien Hue Province, Diem Phung Thi St., Hue, Vietnam
[5] University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Truong Thi Bich Phuong <ttbphuong@hueuni.edu.vn>
(Submitted: March 21, 2023; Accepted: April 10, 2023)

Abstract. *Distichochlamys citrea* is a medicinal plant endemic to Vietnam and has valuable benefits for treating a variety of diseases. The black ginger samples collected from Bach Ma National Park have differences in colour and shape of stems and leaves. These two characteristics are essential for identifying the correct *D. citrea* species. We determined the morphological and molecular characteristics of the *D. citrea* samples and evaluated the effect of factors on the propagation of these species with the rhizome cutting method. Using the ITS marker, we recognised that these black ginger samples belong to *Distichochlamys citrea* species. The 2 g rhizome is suitable for cutting. *Trichoderma* (0.2 kg/kg rhizome) was utilized for treating the cutting rhizome. The substrate containing coir, sand, clean soil, earthworm manure, and rice husks (the ratio of 1:1:1:1:1) is the best for the growth of the cuttings. A 100 ppm IBA solution is the best for the growth and rooting of cutting plantlets. After nine months of growing, we reached the following results: 3.2 shoots/cutting rhizome, 9.6 roots/cutting rhizome, root length of 21.29 cm, plant height of 25.75 cm, and 3.58 leaves/plant.

Keywords: M*acromorphological features*, distichochlamys citrea, *cutting*, ITS, Trichoderma

1 Đặt vấn đề

Cây gừng đen (*Distichochlamys citrea*) là thực vật đặc hữu của Việt Nam và được Newman [1] miêu tả lần đầu tiên tại Vườn Quốc gia Bạch Mã, Thừa Thiên Huế. Đến năm 2020, *Distichochlamys* được coi là chi đặc hữu của Việt Nam, gồm tổng cộng bốn loài, được phát hiện từ năm 1995 tới năm 2012 gồm: *D. citrea* [1], *D. orlowii* [2], *D. rubrostriata* [3] và *D. benenica* [4]. Gừng đen là loài cây mới, nên chưa có nhiều nghiên cứu về loài này. Trong những năm gần đây đã có

một số công bố về thành phần hoá học cũng như các hoạt chất chính đã được phát hiện trong loài cây này. Phạm Việt Tý và cs. [5] đã công bố một số thành phần hoá học quan trọng của loài gừng đen *D. citrea*. Tinh dầu thu được dưới dạng lỏng, không màu, nhẹ hơn nước và có mùi thơm đặc trưng.

Tinh dầu lá gừng đen chứa 18 cấu tử [5]. Các hoạt chất chính trong cây gừng đen có khả năng ức chế mạnh đối với Rhinovirus IB trên mô hình thử nghiệm *in vitro* (IC_{50} = 0,44 μM) [6], có tác dụng giãn phế quản ở người, chống co giật, an thần, giảm đau, chống ung thư, bảo vệ dạ dày, kháng nấm [7], ức chế dòng tế bào ung thư máu HL–60 ở người, điều trị ho, đau cơ bắp, chấn loạn thần kinh chức năng, bệnh thấp khớp, hen suyễn, v.v. [8]. Trong dân gian, gừng đen được dùng làm thuốc trị ho, đau dạ dày, trị vết thương và làm gia vị.

Trong tự nhiên, gừng đen sinh sản chậm với hệ số nhân thấp. Với tác dụng y học như một loại dược liệu nên gừng đen đang ở trong tình trạng bị khai thác quá mức, làm trữ lượng của chúng trong tự nhiên giảm. Thêm vào đó, gừng đen là loài đặc hữu của Việt Nam, nên cần có biện pháp khai thác và phát triển hợp lý để bảo vệ nguồn gene, cũng như phục vụ công tác nghiên cứu, phòng và chữa bệnh cho người dân. Vì vậy, gừng đen cần được trồng ở quy mô lớn, hướng tới sản xuất dược phẩm và xuất khẩu.

Hiện nay chưa có công bố nào về nhân giống bằng giâm hom loài gừng đen. Kết quả nghiên cứu sẽ là tiền đề quan trọng cho quá trình nhân giống, giúp tạo ra một số lượng lớn cây gừng giống sạch bệnh, bảo tồn được nguồn gene quý hiếm và đáp ứng được nhu cầu của ngành công nghiệp dược phẩm.

Trong một nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã mô tả chi tiết đặc điểm hình thái và phân tử của cây gừng đen (*D. citrea*) [9]. Tuy nhiên, trên thực tế các mẫu gừng đen thu thập có sự khác biệt về màu sắc, dạng thân, lá, v.v., nên việc xác định chính xác loài dựa vào hai đặc điểm này là cần thiết để thu đúng loài *D. citrea* sử dụng cho nghiên cứu nhân giống.

Đây là nghiên cứu đầu tiên về nhân giống bằng giâm hom cây gừng đen. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định loài *D. citrea* dựa vào đặc điểm và phân tử, cung cấp nguyên liệu cho nghiên cứu nhân giống bằng giâm hom cây gừng đen (*Distichochlamys citrea*).

2 Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng cho nghiên cứu là củ cây gừng đen (*Distichochlamys citrea*) do Vườn Quốc gia Bạch Mã, tỉnh Thừa Thiên Huế, cung cấp. Cây mẹ có chiều cao 25–30 cm và 3–5 lá. Củ dài 5–23 cm; đường kính củ 5–7 mm (Hình 1a).

Hai mẫu lá gừng đen thu ở VQG Bạch Mã, ký hiệu là HUSC-DC-ITS01 và HUSC-DC-ITS02, được tách chiết genomic DNA phục vụ cho phân tích trình tự DNA vùng ITS.

Chế phẩm *Trichoderma* và *Pseudomonas* là dạng bột không tan với mật độ bào tử 10^8 CFU/g chế phẩm, do Bộ môn Bảo vệ thực vật, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, cung cấp.

2.2 Phương pháp

Xác định cây gừng đen (*D. citrea*) qua đặc điểm hình thái

Chụp ảnh, quan sát và xác định đặc điểm hình thái thực vật. Đánh giá các chỉ tiêu hình thái của cây bao gồm: hình thái cây, hình thái lá, cụm phát hoa và rễ. Định danh tên khoa học bằng phương pháp so sánh hình thái, dựa vào khóa phân loại lưỡng phân và tài liệu định danh Cây Cỏ Việt Nam: Họ Gừng – Zingiberaceae [10] và Thực vật chí Việt Nam: Họ Gừng – Zingiberaceae [11].

Định loại cây gừng đen (*D. citrea*) bằng chỉ thị ITS

Tách chiết genomic DNA

Genomic DNA của hai mẫu lá gừng đen thu ở Vườn Quốc gia Bạch Mã được tách chiết theo quy trình của Doyle và Doyle [12]. Nồng độ của dung dịch DNA được xác định bằng máy quang phổ Gene Quant ở bước sóng 260 và 280 nm. Dung dịch DNA sau đó được bảo quản ở –20 °C [13].

Thực hiện phản ứng PCR

DNA tổng số của lá gừng đen được dùng làm khuôn mẫu để khuếch đại PCR. Thực hiện phản ứng PCR với các cặp primer ITS. Thành phần phản ứng PCR gồm 12,5 µL nước khử ion vô trùng, 25 µL Green Master Mix 2×, 5 µL mồi xuôi (10 pmol/µL), 5 µL mồi ngược (10 pmol/µL) và 2,5 µL DNA (100 ng/µL). Tổng thể tích phản ứng là 50 µL.

Phản ứng PCR được thực hiện trong máy luân nhiệt (PCR: MJ – MiniTM Persanol Thermal Cycle, Bio – Rad) theo chu trình như sau: biến tính sợi đôi DNA ở 95 °C/5 phút, tiếp đến là 30 chu kỳ: 95 °C/1 phút, 54 °C/1 phút, 72 °C/1 phút và cuối cùng là 72 °C/10 phút.

Sản phẩm PCR được điện di trên agarose gel 1% và nhuộm bằng SafeView Classic Nucleic Acid Stains (ABM, Canada). Hình ảnh điện di được thu nhận bằng hệ thống Ultra Slim LED Illuminator và phân tích theo thang DNA chuẩn của hãng Thermo Scientific (GeneRuler 1kb DNA Ladder, #SM0313).

Phân tích trình tự gene

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch có kích thước nhỏ hơn 1000 bp (ITS) được phân tích trình tự nucleotide ở công ty 1st BASE (Apical Scientific Sdn Bhd, Malaysia).

Phân tích dữ liệu DNA

Kết quả giải trình tự DNA được xử lý bằng phần mềm Bioedit (v7.2.5), DnaSP (v6.0) và MEGA 11. Đánh giá mức độ tương đồng và độ bao phủ của các trình tự DNA bằng cách đối chiếu với các trình tự có sẵn trên cơ sở dữ liệu nr-nt của NCBI bằng công cụ BLAST (Basic local Alignment Search Tool, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) với các tham số mặc định.

Ảnh hưởng của khối lượng hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen

Để đánh giá ảnh hưởng của khối lượng hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen, chúng tôi cắt các hom củ giống với khối lượng khác nhau gồm 1, 2 và 3 g và có một mầm/hom củ giống được trồng trên giá thể là cát.

Theo dõi sinh trưởng của cây con trong bầu về tỷ lệ bật chồi (%), số chồi (chồi/hom), chiều cao vút ngọn (cm), số lá (lá/cây) ở các công thức khối lượng hom khác nhau theo định kỳ 3 tháng, 6 tháng và 9 tháng. Trình bày số liệu sau 9 tháng giâm hom.

Ảnh hưởng của xử lý hom củ bằng chế phẩm đến khả năng sinh trưởng của cây gừng đen

Để đánh giá ảnh hưởng của xử lý hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen, chúng tôi sử dụng hai loại chế phẩm sinh học gồm *Trichoderma* và *Pseudomonas* với liều lượng 0,2 kg cho 1 kg củ giống; xử lý bằng chấm củ giống ở vết cắt [14]. Công thức đối chứng (ĐC) là công thức không được xử lý bằng chế phẩm.

Củ giống với khối lượng 2 g được xử lý bằng các chế phẩm, sau đó được đem trồng trên giá thể là cát. Theo dõi các chỉ tiêu gồm tỷ lệ bật chồi (%), chiều cao vút ngọn (cm), số lá (lá/cây)

ở các công thức thí nghiệm theo định kỳ 3 tháng, 6 tháng và 9 tháng. Trình bày số liệu sau 9 tháng giâm hom.

Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến khả năng nhân giống cây gừng đen

Để đánh giá ảnh hưởng của giá thể đến khả năng nhân giống cây gừng đen, chúng tôi trồng củ giống với khối lượng 2 g trên năm loại giá thể, gồm xơ dừa, cát, đất sạch, phân giun quế và trấu hun với tỷ lệ phối trộn GT1 (1:1:1:1:1); GT2 (2:2:2:2:1); GT3 (2:2:2:1:1); GT4 (2:2:1:1:1); GT5 (2:1:1:1:1).

Theo dõi sinh trưởng của cây con trong bầu về tỷ lệ bật chồi (%), số chồi (chồi/hom), chiều cao vút ngọn (cm), số lá (lá/cây) ở các công thức thí nghiệm theo định kỳ 3 tháng, 6 tháng và 9 tháng. Trình bày số liệu sau 9 tháng giâm hom.

Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng đến nhân giống cây gừng đen

Để đánh giá ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng (KTST) đến hom giâm cây gừng đen, chúng tôi chuyển các hom gừng đen khối lượng 2 g trồng trên cát sang giá thể với thành phần bầu bao gồm xơ dừa, cát, đất sạch, phân giun quế, trấu hun với tỷ lệ 1:1:1:1:1. Hom gừng được tưới các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin (NAA và IBA) ở các nồng độ khác nhau (50, 100, 150 và 200 ppm) để đánh giá ảnh hưởng đến sự sinh trưởng; công thức ĐC không sử dụng chất KTST. Tiến hành phun định kỳ với thể tích phun 20 mL/cây/lần vào sáng sớm hoặc chiều tối mát theo định kỳ 10 ngày/lần.

Theo dõi các chỉ tiêu: số rễ (rễ/hom), chiều dài rễ (cm), số chồi (chồi/hom), chiều cao vút ngọn (cm), số lá (lá/cây) ở các công thức thí nghiệm sau 9 tháng giâm hom.

Kỹ thuật giâm và chăm sóc cây gừng đen

Củ giống được lấy từ các cây mẹ được cắt bằng hai đầu bằng dao sắc, lành lặn, không dập xước.

Giâm hom củ: Đặt giống sâu 3–5 cm, mắt mầm hướng lên trên hoặc hướng ngang lấy đất mịn phủ lên dày 4–5 cm rồi ấn nhẹ tay để đất tiếp xúc tốt với củ, sau đó phun sương để làm ẩm.

Chăm sóc sau khi giâm: Các chậu cây được trồng trong nhà lưới và che sáng với độ che 70%. Phun sương hai lần/ngày để giữ ẩm cho gừng đen phát triển.

Xử lý số liệu

Các thí nghiệm về nhân giống bằng giâm hom được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, ba lần lặp lại, mỗi lần quan sát 30 mẫu. Kết quả thí nghiệm được phân tích bằng kiểm định Duncan bằng phần mềm SPSS 22.0 với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

3 Kết quả

3.1 Định danh cây gừng đen (*D. citrea*)

Xác định đặc điểm hình thái

Kết quả định danh bằng phương pháp so sánh hình thái theo hai tài liệu Cây Cỏ Việt Nam, Họ Gừng – Zingiberaceae [10] và Thực vật chí Việt Nam, Họ Gừng – Zingiberaceae [11], cho biết mẫu gừng đen trong nghiên cứu thuộc loài *Distichochlamys citrea.*

Định loài cây gừng đen bằng chỉ thị ITS

Sau khi tiến hành khuếch đại vùng *ITS* bằng PCR, chúng tôi gửi phân tích trình tự nucleotide sản phẩm PCR của các đoạn gene với kích thước nhỏ hơn 1000 bp sau tinh sạch. Chúng tôi thu được kích thước của phân đoạn gene ITS nghiên cứu 586 bp. Các trình tự ITS đã được đăng lên GenBank với mã số tương ứng (Bảng 1).

Kết quả BLAST trên cơ sở dữ liệu nr-nt của NCBI cho thấy trình tự tương đồng và tỉ lệ bao phủ cao đối với gene ITS nghiên cứu, đạt 97,61–98,13% (Bảng 2).

Kết quả này tương đồng với kết quả của Tran Van Chen và cs. [9] về định danh loài *D. citrea* bằng chỉ thị ITS cho tỷ lệ tương đồng với trình tự tham chiếu trên GenBank (AF478744) là 96,54%.

Bảng 1. Mã số trình tự đoạn gene ITS của các mẫu gừng đen trên GenBank

STT	Tên mẫu	Mã số GenBank
1	HUSC-DC-ITS01	OQ619375
2	HUSC-DC-ITS02	OQ619376

Bảng 2. Mức độ tương đồng và tỉ lệ bao phủ của các đoạn gene ITS ở các mẫu gừng đen với trình tự tương ứng trên cơ sở dữ liệu NCBI

Tên mẫu	Vùng gene	Trình tự tham chiếu		Độ bao phủ (%)	Độ tương đồng (%)
HUSC-DC-ITS01	*ITS*	AF478744	*Distichochlamys citrea*	100	97,61
HUSC-DC-ITS02		AF478744	*Distichochlamys citrea*	100	98,13

3.2 Ảnh hưởng của khối lượng hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen

Củ gừng đen được cắt thành các hom với khối lượng 1, 2 và 3 g và có một mầm/hom củ giống và được trồng trên giá thể là cát. Kết quả đánh giá ảnh hưởng khối lượng hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3 cho thấy khối lượng củ giống 1 g cho khả năng nhân giống thấp nhất với tỷ lệ bật chồi 77,7%, 1,1 chồi/hom, chiều cao vút ngọn đạt 14,63 cm và 1,2 lá/chồi. Ở công thức khối lượng hom củ 2 g và 3 g không có sự khác biệt ở tỷ lệ nhân chồi, số chồi/hom, chiều cao vút ngọn và số lá/chồi (Hình 1b và 1c). Với tỷ lệ bật chồi là 81,1%, số chồi/hom đạt 1,3 chồi/hom; số lá cây đạt 1,49 lá/chồi ở cả hai công thức khối lượng hom củ 2 g và 3 g sau 9 tháng giâm hom. Chiều cao vút ngọn là 17,3 cm ở công thức khối lượng hom củ 2 g và 17,31 cm ở công thức khối lượng hom củ 3 g sau 9 tháng giâm hom.

Kết quả nghiên cứu của Mai Thị Thúy và Ninh Thị Phíp trên giống gừng Gié được trồng với các khối lượng củ giống khác nhau (4, 8, 16 và 32 g) cho thấy khối lượng củ giống tăng số nhánh, số lá/nhánh, kích thước lá, diện tích lá, lượng chất khô tích lũy và năng suất. Khối lượng củ giống 32 g cho năng suất cao nhất, nhưng khối lượng củ giống 16 g cho hiệu quả kinh tế cao nhất trong điều kiện sản xuất [15]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hom củ với khối lượng 2 g cho tỷ lệ nhân chồi, số chồi/hom, chiều cao vút ngọn và số lá/chồi cao. Sự khác biệt này do sự khác biệt về kích thước củ cây mẹ ngoài tự nhiên của hai loài khác nhau thuộc họ Gừng.

3.3 Ảnh hưởng của xử lý hom củ giống bằng chế phẩm sinh học đến khả năng nhân giống cây gừng đen

Xử lý hom củ giống cây gừng đen bằng chế phẩm sinh học *Trichoderma* và *Pseudomonas* (0,2 kg chế phẩm/1 kg củ giống). Kết quả đánh giá ảnh hưởng xử lý hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen sau 9 tháng được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của khối lượng hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen sau 9 tháng

Khối lượng hom củ (g)	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi (chồi/hom)	Chiều cao vút ngọn (cm)	Số lá (lá/chồi)
1	77,7	1,1[b]	14,63[b]	1,20[b]
2	81,1	1,3[a]	17,30[a]	1,49[a]
3	81,1	1,3[a]	17,31[a]	1,49[a]

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Bảng 4. Ảnh hưởng của xử lý hom củ đến khả năng nhân giống cây gừng đen sau 9 tháng

Chế phẩm	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi (chồi/hom)	Chiều cao vút ngọn (cm)	Số lá (lá/chồi)
ĐC	81,1	1,3[b]	17,30[c]	1,49[b]
Trichoderma	90,0	1,8[a]	20,57[a]	2,02[a]
Pseudomonas	83,3	1,4[b]	19,36[b]	1,73[b]

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Bảng 4 cho thấy, sau 9 tháng giâm hom, tỷ lệ bật chồi giữa các công thức có sự khác biệt rõ rệt. Cụ thể, ở công thức ĐC, tỷ lệ bật chồi đạt 81,1%, thấp hơn 8,9% so với các công thức xử lý chế phẩm *Trichoderma* (90%) và 2,2% so với xử lý bằng *Pseudomonas* (83,3%). Công thức *Trichoderma* cho số chồi/hom cao nhất, đạt 1,8 chồi/hom và cao hơn so với công thức ĐC và *Pseudomonas*. Các cây con từ công thức xử lý chế phẩm *Pseudomonas* có chiều cao đạt 19,36 cm, cao hơn so với công thức đối chứng (17,3 cm), 1,73 lá/chồi và không có sự khác biệt về thống kê so với công thức đối chứng (1,49 lá/chồi). Các cây con từ công thức xử lý *Trichoderma* là tốt nhất và có chiều cao lớn nhất, đạt 20,57 cm, 2,02 lá/chồi, cao hơn công thức đối chứng (1,49 lá/chồi) (Hình 1d).

Trần Thị Thu Hà và cs. nghiên cứu ảnh hưởng của các chế phẩm sinh học đến sinh trưởng của cây gừng và cho thấy xử lý củ gừng giống trước khi trồng bằng chế phẩm *Trichoderma* cho năng suất cao hơn và có sự khác biệt so các hai công thức còn lại [16].

3.4 Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây gừng đen

Củ giống với khối lượng 2 g được đem trồng trên năm loại giá thể gồm xơ dừa, cát, đất sạch, phân giun quế, trấu hun với tỷ lệ phối trộn khác nhau. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của giá thể đến khả năng nhân giống cây gừng đen được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây gừng đen sau 9 tháng

Công thức	Tỷ lệ bật chồi (%)	Số chồi (chồi/hom)	Số lá (lá/chồi)	Chiều cao vút ngọn (cm)
ĐC	81,1	1,3e	1,49d	17,30d
GT1	88,9	2,7^{a}	2,79^{a}	21,10^{a}
GT2	82,2	2,3^{b}	2,63^{ab}	20,05^{b}
GT3	78,9	1,9^{c}	2,54^{b}	18,72^{c}
GT4	72,2	1,8^{d}	2,30^{c}	17,86^{d}
GT5	65,6	1,7^{d}	2,25^{c}	17,74^{d}

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Bảng 5 cho thấy các loại giá thể khác nhau thì cho kết quả về tỷ lệ bật chồi, số chồi, số lá và chiều cao vút ngọn khác nhau. Hom giâm trên GT1 cho tỷ lệ bật chồi 88,9%, 2,7 chồi/hom, 2,79 lá/chồi, chiều cao vút ngọn 21,1 cm, cao nhất (Hình 1e). Hom giâm trên GT5 cho tỷ lệ bật chồi thấp nhất (65,6%) và thấp hơn so với đối chứng. Số chồi/hom ở các công thức giá thể phối trộn cao hơn so với ở công thức đối chứng (1,3 chồi/hom). Ở các công thức giá thể phối trộn, số lá/chồi của cây gừng đen cao hơn so với công thức đối chứng. Chiều cao vút ngọn cây gừng đen ở các công thức GT4, GT5 và ĐC là thấp nhất tương ứng với 17,86, 17,74 và 17,30 cm.

Mohd và cs. đã nghiên cứu trồng gừng trên các loại giá thể khác nhau và cho thấy cây gừng trồng trên giá thể 100% xơ dừa cho hiệu quả sinh trưởng và năng suất cao nhất và cho chồi cao 123 ± 23 cm [17]. Sự khác biệt này so với nghiên cứu của chúng tôi do các loài khác nhau thuộc họ gừng có phản ứng khác nhau với các loại giá thể trồng.

3.5 Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng đến hom giâm cây gừng đen

Các hom gừng đen với khối lượng 2 g trồng trên cát được tưới các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm auxin (NAA và IBA) ở các nồng độ 50, 100, 150 và 200 ppm. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chất KTST đến hom giâm cây gừng đen được trình bày ở Bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của NAA và IBA lên cây gừng đen giâm hom sau 9 tháng

	Nồng độ (ppm)	Số chồi (chồi/hom)	Số rễ (rễ/hom)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao vút ngọn (cm)	Số lá (lá/chồi)
ĐC	0	2,4^{b}	5,1^{d}	15,8^{f}	20,07^{e}	2,49^{c}
NAA	50	3,0^{a}	6,4^{c}	18,20^{e}	21,29^{d}	2,68^{c}
	100	3,1^{a}	7,1^{b}	19,66^{b}	22,10^{c}	3,05^{b}
	150	3,0^{a}	6,6^{c}	19,00^{c}	21,38^{d}	2,82^{bc}
	200	3,0^{a}	5,2^{d}	18,78^{c}	21,38^{d}	2,57^{c}
IBA	50	3,0^{a}	7,1^{b}	19,70^{b}	20,87^{d}	2,64^{c}
	100	3,2^{a}	9,6^{a}	21,29^{a}	25,75^{a}	3,58^{a}
	150	3,0^{a}	6,6^{c}	19,01^{c}	23,07^{b}	2,67^{c}
	200	3,0^{a}	5,4^{d}	18,52^{d}	22,29^{c}	2,51^{c}

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả cho thấy tưới KTST NAA và IBA giúp các hom củ tạo chồi tốt hơn so với khi không tưới dung dịch chất KTST và không có sự khác biệt đáng kể giữa các công thức có tưới chất KTST.

Cây gừng đen giâm hom được tưới IBA với nồng độ 100 ppm phát triển tốt nhất (3,2 chồi/hom, 9,6 rễ/hom, chiều dài rễ 21,29 cm, chiều cao cây 25,75 cm, 3,58 lá/chồi) sau 9 tháng giâm hom (Hình 1f). Việc tăng nồng độ chất KTST đến 200 ppm làm giảm hiệu quả kích thích tạo rễ và phát triển chiều dài rễ nhưng vẫn lớn hơn khi không tưới KTST. IBA và α-NAA là hai chất kích thích sinh trưởng được sử dụng trong thử nghiệm giâm hom và chiết cành [18].

Hình 1. Nhân giống bằng giâm hom cây gừng đen (*Distichochlamys citrea*)

a. Cây gừng đen ngoài tự nhiên
b. Cây gừng đen trồng từ củ giống 2 g
c. Cây gừng đen trồng từ củ giống 3 g
d. Cây gừng đen từ hom củ xử lý bằng *Trichoderma*
e. Cây gừng đen trồng trên GT1
f. Cây gừng đen được tưới IBA nồng độ 100 ppm

: 5 cm

4 Kết luận

Việc phân tích đặc điểm hình thái và kết quả định danh các mẫu gừng đen bằng chỉ thị ITS cho thấy mẫu gừng đen nghiên cứu thu ở Vườn Quốc gia Bạch Mã thuộc loài *Distichochlamys citrea*. Giâm hom từ mẫu củ giống có khối lượng 2 g là thích hợp nhất với tỷ lệ bật chồi đạt 81,1%, 1,3 chồi/hom, cây cao 17,3 cm, 1,49 lá/cây sau giâm 9 tháng. Chế phẩm *Trichoderma* thích hợp để xử lý củ giống giâm hom với tỷ lệ bật chồi 90%, chiều cao cây vút ngọn 20,57 cm, 2,02 lá/cây 9 tháng sau khi bật chồi. Giá thể gồm xơ dừa, cát, đất sạch, phân giun quế, trấu hun được trộn với tỷ lệ 1:1:1:1:1 là thích hợp để giâm hom gừng đen và cho tỷ lệ bật chồi 88,9%, 2,7 chồi/hom, 2,79 lá/chồi, chiều cao vút ngọn 21,10 cm sau 9 tháng. Các cây gừng đen giâm hom phát triển tốt nhất khi được tưới dung dịch IBA ở nồng độ 100 ppm và cho 3,2 chồi/hom, 9,6 rễ/hom, chiều dài rễ 21,29 cm, chiều cao cây 25,75 cm và 3,58 lá/cây sau 9 tháng trồng.

Thông tin về tài trợ

Đây là kết quả của đề tài khoa học và công nghệ do Quỹ Phát triển KHCN tỉnh Thừa Thiên Huế tài trợ, mã số QPTKHCN.2021-KC.01.

Tài liệu tham khảo

1. Newman, M. F. (1995), Distichochlamys, a new genus from Vietnam, *Edinburgh Journal of Botany*, 52(1), 65–69.
2. Larsen, K. and Newman, M. F. (2001), A new species of Distichochlamys from Vietnam and some observations on generic limits in Hedychieae (Zingiberaceae), *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 49, 77–80.
3. Kredics, L. et al. (2003), Influence of environmental parameters on Trichoderma strains with biocontrol potential, *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 37–42.
4. Nguyen, Q. B. and Leong-Škorničková, J. (2012), Distichochlamys benenica (Zingiberaceae), a new species from Vietnam, *Gardens' Bulletin Singapore*, 64, 195–200.
5. Phạm Việt Tý, Hồ Việt Đức, Lê Quyết Tháng (2015), Nghiên cứu thành phần hóa học của Tinh dầu thân rễ thân rễ gừng đen (*Distichochlamys citrea*) tại một số tỉnh miền Trung Việt Nam, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học An Giang*, 8(4), 60–65.
6. Denyer, C. V. et al. (1994), Isolation of antirhinoviral sesquiterpenes from ginger (Zingiber officinale), *Journal of natural products*, 57(5), 658–662.

7. Konovalova, O., Gergel, E. and Herhel, V. (2013), GC-MS Analysis of bioactive components of Shepherdia argentea (Pursh.) Nutt. from Ukrainian Flora, *The Pharma Innovation*, 2 (6, Part A), 7.
8. Moteki, H. et al. (2002), Specific induction of apoptosis by 1, 8-cineole in two human leukemia cell lines, but not a in human stomach cancer cell line, *Oncology reports*, 9(4), 757–760.
9. Tran Van Chen et al. (2022), Morphological and molecular characterization of Distichochlamys citrea M. F. Newman in Bach Ma National Park, Thua Thien Hue Province, Vietnam, *BIODIVERSITAS*, 23(4), 2066–2079.
10. Phạm Hoàng Hộ (2000), *Cây Cỏ Việt Nam III Họ Gừng – Zingiberaceae*, Nxb. Trẻ, TP. HCM.
11. Nguyễn Quốc Bình (2017), *Thực vật chí Việt Nam Họ Gừng - Zingiberaceae*, Nxb. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.
12. Doyle, J. J. and Doyle, J. L. (1987), A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Journal of Plant Chemistry, Plant Biochemistry and Molecular Biology*, 19, 11–15.
13. Khanuja, S. P., Shasany, A. K., Darokar, M. P. and Kumar, S. (1999), Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils, *Plant molecular biology Reporter*, 17(1), 74.
14. Trần Thị Thu Hà, Lê Văn Chánh, Nguyễn Quang Cơ và Nguyễn Thị Huệ (2016), Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm sinh học Pseudomonas putida đến sinh trưởng và tỷ lệ sống của cây hồ tiêu giâm hom tại Pleiku, Gia Lai, *Bảo vệ thực vật*, 5, 12–17.
15. Mai Thị Thúy, Ninh Thị Phíp (2013), Ảnh hưởng của giá thể và khối lượng củ giống đến sinh trưởng và năng suất của gừng trồng bao tại Gia Lâm, Hà Nội, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, Trường Đại Học Nông Lâm, Đại Học Huế, 11(4), 482–491.
16. Trần Thị Thu Hà, Võ Hoàng Thu Trinh, Trương Thị Bích Phượng (2021), *Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm Trichoderma - Streptomyces trong xử lý củ gừng giống đến sinh trưởng phát triên, năng suất và chất lượng củ*, Hội thảo Quốc gia Bệnh hại thực vật Việt Nam lần thứ 20, 337–344.
17. Mohamad, Y. S. et al. (2015), Effects of organic substrates on growth and yield of ginger cultivated using soilless culture, *Malaysian Applied Biology*, 44(3), 63–68.
18. Hoàng Minh Tấn, Nguyễn Quang Thạch (1993), *Chất điều hòa sinh trưởng đối với cây trồng*, Nxb. Nông Nghiệp, 11–17.