

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY GỪNG (*Zingiber officinale* Rosc.) Ở HUẾ

Trương Thị Bích Phượng¹, Trần Thị Bích Nga¹,
Nguyễn Đức Tuấn¹, Ngô Thị Minh Thu¹, Trần Thị Thu Hà²

TÓM TẮT

Gừng là cây gia vị quan trọng trên thế giới. Củ gừng có vị thơm, cay, được sử dụng làm gia vị và dược liệu. Bài báo này trình bày kết quả vi nhân giống cây gừng Huế. Thân củ gừng tự nhiên được khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 12 phút làm giảm tỷ lệ mẫu nhiễm và tăng tỉ lệ mẫu sống cao nhất, đạt 57,69%. Môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l KIN thích hợp nhất để tái sinh chồi từ lát cắt ngang thân củ cây gừng, đạt 3,46 chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy. Chồi *in vitro* được nhân nhanh tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l KIN với hệ số nhân chồi 14,0 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp 3,0 mg/l NAA tạo cụm gồm 7,14 chồi/mẫu, trong khi rễ tạo thành tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp với 2,0 mg/l NAA với 12,80 rễ/chồi sau 4 tuần nuôi cấy. Cây *in vitro* được xử lý bằng dung dịch nano bạc 6,0 ppm và trồng trên giá thể xơ dừa cho tỷ lệ cây sống cao, đạt 88,25% và cây có sức sống tốt sau 2 tuần đưa ra vườn ươm.

Từ khóa: Cây gia vị, gừng, nano bạc, nhân giống *in vitro*, thân củ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để khắc phục các nhược điểm của phương thức trồng gừng theo truyền thống thì việc nhân giống *in vitro* cây gừng với những ưu điểm vượt trội là hết sức cần thiết như các cây sinh trưởng đồng đều cho thu hoạch cùng lúc sẽ đạt năng suất cao và chất lượng mong muốn, không cần lưu trữ gừng giống từ vụ thu hoạch trước cho vụ sau nên bỏ qua giai đoạn bảo quản giống. Cây giống được cung cấp nhanh với số lượng lớn, sạch bệnh, trong thời gian ngắn. Hướng nghiên cứu nuôi cấy mô hứa hẹn sẽ đưa cây gừng phát triển cả về số lượng lẫn chất lượng, đáp ứng nhu cầu của thị trường và mang lại hiệu quả kinh tế cao.

Trên thế giới có một số công trình nghiên cứu nhân giống *in vitro* các chi gừng (*Zingiber*). Anish và cs (2008) đã tiến hành nghiên cứu bảo tồn giống gừng quý hiếm *Boesenbergia pulcherrima* (Wall.) Kuntze bằng phương pháp nhân giống *in vitro* từ lát cắt ngang thân rễ. Sultana và cs (2009) đã nghiên cứu tái sinh *in vitro* của *Zingiber officinale* Rosc. từ mô lá, đỉnh sinh trưởng và mô rễ. Kavyashree (2009) nghiên cứu hiệu quả của việc nhân giống *in vitro* của *Zingiber officinale* Rosc. thông qua tái sinh trực tiếp chồi sinh dưỡng. Abdelmageed và cs (2015) đã nghiên cứu tái sinh *in vitro* cây *Etilingera elatior* (Zingiberaceae) từ chồi nách.

Ở Việt Nam có một số công bố kết quả nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* cây gừng. Khuất Hữu Trung và cs (2008) đã nghiên cứu nhân nhanh giống gừng Hawaii từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. Huỳnh Trường Huệ và Nguyễn Thị Thúy Diễm (2014) đã nghiên cứu ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng (KTST) và nồng độ đường lên quá trình nhân nhanh chồi gừng *in vitro*.

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống *in vitro* gừng Huế (*Zingiber officinale* Rosc.) tạo cơ sở cung cấp cây gừng giống *in vitro* chất lượng cao cho phát triển sản xuất giống trong trồng gừng ở địa phương.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là cây gừng Huế (*Zingiber officinale* Rosc.) do Hợp tác xã Nông nghiệp phường Thủy Biểu, thành phố Huế cung cấp. Cây gừng Huế có củ nhỏ, chắc, vị cay và thơm hơn nhiều so với các giống gừng khác. Vật liệu nghiên cứu là thân củ cây gừng tự nhiên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến sự tạo nguồn vật liệu khởi đầu

Thí nghiệm gồm 4 công thức về thời gian khử trùng: 10, 12, 14, 16 phút. Hóa chất sử dụng cho khử trùng là dung dịch $HgCl_2$ 0,1%

¹ Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Gốc thân từ củ (0,5 cm) của cây gừng khỏe mạnh được rửa sạch bụi đất trong dung dịch xà phòng loãng 3 lần và rửa lại nhiều lần dưới vòi nước chảy. Mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng 5 lần trước khi đưa vào tủ cấy. Mẫu vật được lãc với dung dịch khử trùng HgCl₂ 0,1% trong khoảng thời gian 10-16 phút, sau đó lãc kỹ bằng nước cất khử trùng để loại bỏ hết HgCl₂ còn bám trên mẫu.

Hiệu quả của thời gian khử trùng được đánh giá thông qua tỷ lệ mẫu sống không nhiễm (%), tỷ lệ mẫu nhiễm (%) và tỷ lệ mẫu chết (%) sau 2 tuần theo dõi.

Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của một số chất điều tiết sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi gừng

Thí nghiệm này gồm 8 công thức của 2 chất kích thích sinh trưởng là BAP và KIN được bố trí theo thí nghiệm 1 nhân tố, bao gồm: Ảnh hưởng của BAP (6-benzyl amino purine) và KIN (kinetin) ở các mức nồng độ khác nhau: 1, 2, 3, 4 mg/l BAP và 0,3, 0,5, 1,0, 1,5 mg/l KIN.

Thân củ cây gừng ngoài tự nhiên sau khi khử trùng được cắt thành các lát mỏng 0,2 cm và được cấy lên môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có 3% sucroza, 0,8% aga và bổ sung chất KTST BAP từ 1,0 đến 4,0 mg/l; KIN từ 0,3 đến 1,5 mg/l riêng lẻ để thăm dò khả năng tái sinh chồi. Các chỉ tiêu theo dõi gồm số chồi, chiều cao chồi và số lá/chồi được thu sau 4 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng đến khả năng nhân chồi gừng

Thí nghiệm này gồm 9 công thức của 2 chất kích thích sinh trưởng là BAP và KIN được bố trí theo thí nghiệm 1 nhân tố, bao gồm: Ảnh hưởng của BAP và KIN ở các mức nồng độ khác nhau: 1, 2, 3, 4 mg/l BAP và 0,3, 0,5, 0,7, 0,9, 1,2 mg/l KIN và 8 công thức ảnh hưởng của 2 chất kích thích sinh trưởng là 3 mg/l BAP và 0,9 mg/l KIN kết hợp với 4 nồng độ NAA được bố trí theo thí nghiệm 1 nhân tố, bao gồm: 3 mg/l BAP kết hợp 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 mg/l NAA và 0,9 mg/l KIN kết hợp 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 mg/l NAA.

Các chồi gừng *in vitro* (4-7 cm) được cắt lấy đoạn gốc chồi (1-2 cm) cấy lên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS có 3% sucroza, 0,8% aga và bổ sung các chất KTST BAP (1,0-4,0 mg/l), KIN (0,3-1,2 mg/l) riêng lẻ hoặc phối hợp NAA (naphthaleneacetic axit) (0,5-3,0 mg/l) với BAP 3,0 mg/l hoặc phối hợp NAA từ 0,5 đến 3,0 mg/l với KIN 0,9 mg/l để thăm dò khả năng tạo cụm chồi *in vitro* của mẫu. Đánh giá kết quả thí

nghiệm qua chỉ tiêu hình thái (số chồi, chiều cao chồi, số lá/chồi và số rễ) và khả năng sinh trưởng của chồi sau 8 tuần nuôi cấy.

2.2.2. Các biện pháp kỹ thuật áp dụng

Điều kiện nuôi cấy

Các thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2°C, cường độ ánh sáng 2000 - 3000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

Chuyển cây ra vườn ươm

Các cây gừng *in vitro* (8-16 tuần nuôi cấy), cao 5-8 cm, có bộ rễ phát triển tốt trong quá trình nuôi cấy được huấn luyện thích nghi bằng cách chuyển bình nuôi cấy ra vườn ươm trong khoảng 5 ngày, sau đó mở nắp bình nuôi cấy khoảng 2 ngày. Cây con *in vitro* được chuyển ra khỏi bình nuôi cấy, rửa sạch aga, cắt ngắn rễ (2 cm) được tách riêng, sau đó được xử lý bằng nano bạc ở các nồng độ khác nhau rồi trồng trên giá thể xơ dừa. Đánh giá tỷ lệ sống của cây sau 2 tuần chuyển ra vườn ươm.

Chuẩn bị giá thể

Giá thể xơ dừa được hấp khử trùng để loại bỏ nấm bệnh gây hại, sau đó nhồi xơ dừa vào chậu nhựa có đường kính đáy 10 cm, đường kính miệng 15 cm, cao 17 cm.

Chuẩn bị cây in vitro

Các cây *in vitro* được tách riêng, rửa sạch môi trường dinh dưỡng bám vào rễ, sau đó xử lý cây bằng dung dịch nano bạc ở các nồng độ 2-6 ppm bằng cách phun trực tiếp lên cây (40 ml/36 mẫu), sau 3 - 5 phút đem trồng vào chậu.

Chăm sóc cây

Sau khi trồng, tưới phun sương làm ẩm giá thể. Trong quá trình trồng, tưới phun cho cây 3-5 lần/ngày tùy vào điều kiện thời tiết. Sau 7 ngày, xử lý nano bạc lần 2 để tăng sức chống chịu của cây đối với các nấm bệnh trong giai đoạn đầu thích nghi môi trường ngoài phòng nuôi cấy. Đánh giá tỷ lệ sống của cây sau 2 tuần chuyển ra vườn ươm.

2.3. Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp quan sát 30 mẫu/công thức đối với nuôi cấy *in vitro* và tính tỷ lệ phần trăm trên 36 mẫu/công thức đối với trồng cây ra vườn ươm. Kết quả thí nghiệm được phân tích Duncan's test bằng phần mềm SPSS 16.0 với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Vô trùng mẫu nuôi cấy

Mẫu gốc thân từ củ gừng (0,5 cm) sau khi khử trùng được cấy trên môi trường. Kết quả ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,15% đến khả năng vô trùng mẫu sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

3.1.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% đến khả năng vô trùng thân củ cây gừng

Đoạn gốc từ thân củ cây gừng được khử trùng sơ bộ bằng cồn 70% trong 30 giây, sau đó mẫu được khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% ở các khoảng thời gian khác nhau. Sau 2 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% đến khả năng vô trùng của đoạn gốc từ thân củ cây gừng sau 2 tuần nuôi cấy

Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)
10	38,78	2,04	59,18
12	57,69	9,62	32,69
14	47,06	23,63	29,31
16	16,04	72,09	11,87

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, sử dụng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% ở các khoảng thời gian khác nhau đã ảnh hưởng đến tỉ lệ mẫu sống, tỉ lệ mẫu chết và tỉ lệ mẫu nhiễm của thân củ cây gừng. Tăng thời gian khử trùng từ 10 đến 16 phút cho kết quả tỉ lệ mẫu nhiễm giảm mạnh từ 59,18% xuống 11,87%, tuy nhiên tỉ lệ mẫu chết tăng (2,04-72,09%) và tỉ lệ mẫu sống cũng tăng (38,78-57,69%) ở các thời gian khử trùng 10-12 phút, nhưng lại giảm mạnh khi tiếp tục tăng thời gian khử trùng lên 16 phút (chỉ còn 16,04%). Điều này cho thấy $HgCl_2$ là chất diệt khuẩn có ảnh hưởng đến sức sống của mô, tăng thời gian khử trùng sẽ tăng mức độ gây tổn thương mô, dẫn đến làm giảm sức sống của mô, tăng tỉ lệ chết. Như vậy, khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 12 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với tỉ lệ sống 57,69%.

3.1.2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh chồi từ lát cắt ngang đoạn gốc từ thân củ cây gừng

Đoạn gốc từ thân củ cây gừng sau khi khử trùng được cắt thành lát mỏng (0,2- 0,4 cm) và cấy lên môi trường MS có bổ sung BAP (1,0-4,0 mg/l). Sau 4 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của một số chất KTST đến khả năng tái sinh chồi từ lát cắt ngang thân củ cây gừng

BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	Số lá /chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ/chồi
0,0	0,82 ^{bc}	0,00	0,45 ^{bc}	0,00
1,0	1,10 ^{bc}	0,21 ^{bc}	0,48 ^{bc}	0,00
2,0	1,40 ^b	0,43 ^b	0,82 ^b	0,00
3,0	1,62 ^a	1,70 ^a	2,26 ^a	2,50
4,0	1,12 ^b	0,34 ^b	0,94 ^{bc}	0,00

Kết quả ở bảng 2 cho thấy trên môi trường MS có bổ sung chất kích thích sinh trưởng (KTST) thì sự tái sinh chồi tốt hơn môi trường đối chứng. Môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi 1,62 chồi/mẫu (hình 1.a). Kavyashree (2009) nghiên cứu hiệu quả của việc nhân giống *in vitro* của *Zingiber officinale* Rosc. thông qua tái sinh trực tiếp chồi sinh dưỡng. Chồi sau khi khử trùng được cấy lên môi trường cơ bản Linsmaier-Skoog's (LS) có bổ sung riêng lẻ BAP và kinetin hoặc kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy, trên môi trường cơ bản LS có bổ sung BAP (17,76 μ M) có 96% mẫu cảm ứng tạo chồi sau 15 ngày nuôi cấy.

3.1.3. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng tái sinh chồi từ lát cắt ngang đoạn gốc từ thân củ cây gừng

Đoạn gốc từ thân củ cây gừng sau khi khử trùng được cắt thành lát mỏng (0,2- 0,4 cm) và cấy lên môi trường MS có bổ sung KIN (0,3-1,5 mg/l). Sau 4 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng tái sinh chồi từ lát cắt ngang thân củ cây gừng

KIN (mg/l)	Số chồi/mẫu	Số lá /chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số rễ/chồi
0,0	0,80 ^{bc}	0,00	0,50 ^{bc}	0,00
0,3	1,25 ^{bc}	0,50 ^{bc}	0,82 ^{bc}	0,00
0,5	1,38 ^b	1,10 ^{ab}	1,87 ^a	0,00
1,0	3,46 ^a	0,86 ^{abc}	1,91 ^a	0,00
1,5	1,18 ^{bc}	0,53 ^{bc}	0,87 ^{bc}	0,00

Kết quả ở bảng 3 cho thấy trên môi trường MS có bổ sung 0,3 mg/l KIN có 1,25 chồi/mẫu và tốt nhất là trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l KIN, hệ số nhân chồi là 3,46 chồi/mẫu (hình 1.b). Khi tăng nồng độ KIN 1,5 mg/l, số chồi/mẫu giảm còn 1,18 chồi/mẫu.

3.1.4. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi

Các chồi *in vitro* cây gừng (cao 4-7 cm) được cắt lấy đoạn chồi 1-2 cm và cấy trên môi trường MS có bổ sung BAP ở các nồng độ khác nhau; sau 8 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi từ cụm chồi *in vitro* cây gừng

BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Số rễ/chồi
0,0	2,0 ^c	1,99 ^b	2,60 ^a	1,30 ^c
1,0	2,82 ^{bc}	3,15 ^b	2,22 ^a	5,17 ^a
2,0	3,74 ^b	2,72 ^b	1,84 ^{ab}	3,12 ^b
3,0	6,15 ^a	4,70 ^a	1,78 ^b	2,58 ^c
4,0	1,44 ^c	2,68 ^b	1,60 ^b	2,26 ^c

Kết quả ở bảng 4 cho thấy trên môi trường đối chứng hệ số nhân chồi thấp chỉ đạt 2,0 chồi/mẫu. Trên môi trường MS có bổ sung BAP thì sự nhân chồi tốt hơn và tốt nhất là trên môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/l BAP với hệ số nhân chồi 6,15 chồi/mẫu.

Từ kết quả ở bảng 4, tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy bổ sung BAP 3,0 mg/l kết hợp với NAA nồng độ khác nhau từ 0,5 đến 3,0 mg/l để khảo sát khả năng nhân chồi.

Huỳnh Trường Huệ (2009) đã nghiên cứu cải tiến quy trình nhân giống gừng (*Zingiber officinale* Rosc.) và thu được kết quả: trong môi trường MS có bổ sung 2 mg/l BA chồi gừng tăng trưởng và phát triển nhanh nhất.

Bảng 6. Ảnh hưởng của NAA kết hợp với 3,0 mg/l BAP đến khả năng nhân chồi

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Số rễ/chồi
3,0	0,5	1,50 ^b	0,54 ^b	0,00 ^b	5,20 ^c
	1,0	2,67 ^b	0,92 ^{ab}	0,25 ^{ab}	6,80 ^{bc}
	2,0	4,96 ^{ab}	2,78 ^a	1,35 ^{ab}	12,80 ^a
	3,0	7,14 ^a	2,67 ^a	1,68 ^a	7,80 ^b

Kết quả ở bảng 6 cho thấy trên các môi trường bổ sung kết hợp 3,0 mg/l BAP và NAA 0,5-3,0 mg/l, sự nhân chồi tốt nhất trên môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp với 3,0 mg/l NAA, hệ số nhân chồi là 7,14 chồi/mẫu. Cùng với quá trình nhân chồi còn có quá trình tạo rễ, rễ tạo thành tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp với 2,0 mg/l NAA với 12,80 rễ/chồi (hình 1d). Chồi tạo rễ

3.1.5. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng nhân chồi

Bảng 5. Ảnh hưởng của KIN đến khả năng nhân chồi *in vitro* cây gừng

KIN (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Số rễ/chồi
0,0	2,0 ^c	1,99 ^b	2,60 ^b	1,30 ^c
0,3	4,4 ^c	2,70 ^a	3,10 ^{ab}	2,42 ^b
0,5	5,4 ^c	2,76 ^a	2,83 ^{ab}	3,58 ^a
0,7	8,40 ^b	2,74 ^a	3,82 ^a	3,97 ^a
0,9	14,0 ^a	2,79 ^a	3,25 ^a	2,12 ^b
1,2	9,0 ^b	2,25 ^b	2,58 ^b	2,08 ^b

Các chồi *in vitro* cây gừng (cao 4-7 cm) được cắt đoạn chồi 1-2 cm và cấy lên môi trường MS có bổ sung KIN ở các nồng độ khác nhau; sau 8 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Kết quả ở bảng 5 cho thấy trên môi trường đối chứng có hệ số nhân chồi thấp chỉ đạt 2,0 chồi/mẫu. Trên môi trường MS có bổ sung KIN, số chồi/mẫu tốt hơn và đạt giá trị cao nhất trên môi trường MS có bổ sung 0,9 mg/l KIN với 14,0 chồi/mẫu (hình 1c), nếu tiếp tục tăng nồng độ KIN lên 1,2 mg/l, số chồi/mẫu giảm, đạt 9,0 chồi/mẫu.

3.1.6. Ảnh hưởng của NAA kết hợp với 3,0 mg/l BAP đến khả năng nhân chồi

Các chồi *in vitro* cây gừng (cao 4-7 cm) được cắt lấy đoạn chồi 1-2 cm và cấy lên môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau; sau 4 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của NAA kết hợp với 3,0 mg/l BAP đến khả năng nhân chồi

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Số rễ/chồi
3,0	0,5	1,50 ^b	0,54 ^b	0,00 ^b	5,20 ^c
	1,0	2,67 ^b	0,92 ^{ab}	0,25 ^{ab}	6,80 ^{bc}
	2,0	4,96 ^{ab}	2,78 ^a	1,35 ^{ab}	12,80 ^a
	3,0	7,14 ^a	2,67 ^a	1,68 ^a	7,80 ^b

mảnh, ngắn, từ các rễ mọc các rễ tơ. Các chồi có rễ phát triển tốt được tách riêng thành cây *in vitro* hoàn chỉnh và trồng ra vườn ươm.

Cũng trên môi trường MS bổ sung kết hợp BAP với NAA cho nhân chồi, Khuất Hữu Trung và cs (2008) đã nghiên cứu nhân nhanh giống gừng Hawaii từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường thích hợp nhất để nhân nhanh chồi

là môi trường 2,0 mg/l BAP và 0,1 mg/l NAA. Kết quả này có sự sai khác so với kết quả của chúng tôi có thể do sự khác nhau về giống gừng nuôi cấy.

Theo David et al. (2016), chồi từ thân củ gừng *Zingiber officinale* Rosc. ‘Tambunan’ tạo sinh chồi trên môi trường MS bổ sung 3 mg/l BAP và 1,0 mg/l NAA, đạt 6,14 chồi/mẫu, chồi dài 1,69 cm sau 7 ngày nuôi cấy.

Bảng 7. Ảnh hưởng của NAA kết hợp với 0,9 mg/l KIN đến khả năng nhân chồi từ cụm chồi in vitro cây gừng

KIN (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều chồi (cm)	Số lá/chồi	Số rễ/chồi
0,9	0,5	2,20 ^c	4,70 ^a	0,90 ^a	5,40 ^c
	1,0	6,60 ^a	2,54 ^b	1,57 ^a	11,28 ^{ab}
	2,0	4,20 ^b	2,22 ^b	0,96 ^a	9,20 ^b
	3,0	7,40 ^a	1,68 ^c	1,01 ^a	10,20 ^{ab}

Kết quả ở bảng 7, trên môi trường MS có bổ sung kết hợp 0,9 mg/l KIN và NAA 0,5-3,0 mg/l thì sự nhân chồi tốt nhất trên môi trường MS có bổ sung 0,9 mg/l KIN kết hợp với 3,0 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi 7,40 chồi/mẫu (hình 1.f). Cùng với quá trình nhân chồi còn có quá trình tạo rễ. Rễ tạo thành tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l KIN kết hợp với 1,0 mg/l NAA với 11,28 rễ/chồi. Chồi tạo rễ to, ngắn, các rễ mọc trên môi trường có rễ tơ. Các chồi có rễ phát triển tốt được tách riêng thành cây *in vitro* hoàn chỉnh và trồng ra vườn ươm.

Anish và cs (2008) đã tiến hành nghiên cứu bảo tồn giống gừng quý hiếm *Boesenbergia pulcherrima* (Wall.) Kuntze bằng phương pháp nhân giống *in vitro*. Chồi được tái sinh từ lát cắt ngang thân rễ khi cấy vào các môi trường nhân chồi, môi trường MS có bổ sung riêng lẻ hay kết hợp các nồng độ khác nhau của các chất BAP, KIN, IAA. Môi trường MS có bổ sung KIN với các nồng độ khác nhau cho hệ số nhân chồi thấp hơn so với bổ sung BAP riêng lẻ. Rễ của chồi *in vitro* cũng được hình thành trong môi trường nhân chồi.

Faridah (2011) đã nghiên cứu hiệu quả tái sinh *in vitro* cây *Zingiber zerumbet*, một loại dược liệu có giá trị từ chồi thân rễ. Kết quả cho thấy số chồi và số rễ thu được cao nhất, đạt 5,6 chồi/mẫu và 17 rễ/mẫu trên môi trường MS bổ sung 5,0 mg/l BAP kết hợp với 2,0 mg/l IAA.

3.2. Đưa cây gừng in vitro ra vườn ươm

Các cây gừng *in vitro* (6-8 cm) với bộ rễ phát triển tốt được trồng ra chậu trên giá thể xơ dừa. Kết quả đánh giá quá trình sinh trưởng và phát triển của

3.1.7. Ảnh hưởng của NAA kết hợp với 0,9 mg/l KIN đến khả năng nhân chồi

Các chồi *in vitro* cây gừng (cao 4-7 cm) được cắt lấy đoạn chồi 1-2 cm và cấy lên môi trường MS có bổ sung 0,9 mg/l KIN kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau; sau 4 tuần nuôi cấy kết quả được thể hiện ở bảng 7.

cây gừng *in vitro* sau 2 tuần đưa ra vườn ươm được trình bày ở bảng 8.

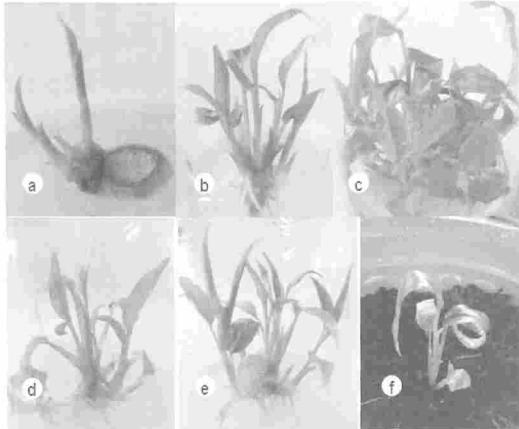
Bảng 8. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng sống sót của cây gừng in vitro khi đưa ra vườn ươm

Nano bạc (ppm)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ chết (%)	Sinh trưởng
0,0	49,12	50,88	+
2,0	69,27	30,73	++
4,0	72,00	28,00	+++
6,0	88,25	11,75	++++

Kết quả ở bảng 8 cho thấy ở công thức xử lý dung dịch nano bạc 6 ppm cho tỷ lệ cây *in vitro* sống sót cao nhất sau 2 tuần đưa ra vườn ươm, đối với cây gừng là 88,25%. Các cây được xử lý ở công thức này có sức sống tốt hơn so với các công thức còn lại, không bị héo đỉnh sinh trưởng, lá xanh hơn lá của các cây ở công thức khác. Ở công thức đối chứng và công thức xử lý 2 ppm dung dịch nano bạc, cây bị héo đỉnh sinh trưởng và các lá ngoài. Ở công thức xử lý 4 ppm dung dịch nano bạc, cây không bị héo đỉnh sinh trưởng nhưng lá ngả vàng.

Kết quả của chúng tôi tương đối phù hợp với các nghiên cứu nhân giống *in vitro* các giống gừng của các tác giả trong và ngoài nước. Theo kết quả nghiên cứu của Anish và cs (2008) cây gừng *Boesenbergia pulcherrima* (Wall.) Kuntze *in vitro* trồng ở nhà kính với tỷ lệ cây sống đạt 85%. Theo Faridah (2011) các cây gừng *Zingiber zerumbet in vitro* khỏe mạnh được chuyển ra đất có tỉ lệ sống đạt 80% sau 3 tuần theo dõi. Huỳnh Trường Huệ (2009) tạo cây gừng *in vitro* (*Zingiber officinale* Rosc.) hoàn chỉnh trong môi trường MS có bổ sung kết hợp 1 mg/l NAA với BA 0,5 – 2 mg/l, cây có hệ thống rễ và chồi phát triển tốt

nhất. Kết quả thuần hóa cây con trong điều kiện nhà lưới đạt tỷ lệ sống trên 90%. Theo David et al. cây gừng *Zingiber officinale* Rosc. ‘Tambunan’ *in vitro* hoàn chỉnh được huấn luyện thích nghi và chuyển ra trồng trên các chậu chứa cát và đất sét (1:4) cho tỷ lệ sống 64% sau 3 tuần trồng.



Hình 1. Nhân giống *in vitro* cây gừng Huế

a. Tái sinh chồi từ thân củ trên môi trường bổ sung 3,0 mg/l BAP sau 4 tuần nuôi cấy; b. Tái sinh chồi từ thân củ trên môi trường bổ sung 1,0 mg/l KIN sau 4 tuần nuôi cấy; c. Cụm chồi trên môi trường MS có bổ sung 0,9 mg/l KIN sau 4 tuần nuôi cấy; d. Cụm chồi và rễ trên môi trường MS có 3,0 mg/l BAP và 2,0 mg/l NAA sau 4 tuần nuôi cấy; e. Cụm chồi và rễ trên môi trường MS có bổ sung 0,9 mg/l KIN và 1,0 mg/l NAA sau 4 tuần nuôi cấy; f. Cây gừng *in vitro* xử lý nano bạc 6,0 ppm trồng trên giá thể xơ dừa sau 2 tuần.

4. KẾT LUẬN

Thân củ gừng tự nhiên được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 12 phút cho tỉ lệ mẫu sống cao nhất, đạt 57,69%. Môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l KIN thích hợp nhất để tái sinh chồi từ lát cắt ngang thân củ cây gừng, đạt 3,46 chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy. Chồi *in vitro* được nhân nhanh tốt nhất trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l KIN với hệ số nhân chồi 14 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BAP kết hợp 2,0 mg/l NAA tạo cụm gồm 4,96 chồi/mẫu và 12,8 rễ sau 4 tuần nuôi cấy. Ra cây trên giá thể xơ dừa và xử lý chồi *in vitro* bằng dung dịch nano bạc 6,0 ppm cho tỷ lệ cây sống cao và cây có sức sống tốt, tỷ lệ cây sống đạt 86,11% sau 2 tuần đưa ra vườn ươm.

5. ĐỀ NGHỊ

Đề nghị sử dụng kết quả nghiên cứu để hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* gừng Huế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Huỳnh Trường Huê (2009). Cải tiến quy trình nhân giống gừng (*Zingiber officinale* Rosc.) bằng phương pháp nuôi cấy mô. Trường Đại học An Giang, Khoa Nông nghiệp và Tài nguyên thiên nhiên.
2. Huỳnh Trường Huê, Nguyễn Thị Thúy Diễm (2014). Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng và nồng độ đường lên quá trình nhân nhanh chồi gừng *in vitro*. *Journal of science* – 2014. Vol. 4 (3), 68 – 73.
3. Khuất Hữu Trung, Lê Thị Tươi (2008). Nghiên cứu nhân nhanh giống gừng Hawaii từ nuôi cấy meristem và đánh giá sự ổn định di truyền của cây gừng vi nhân giống. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, (7), tr. 23 – 27.
4. Anish N. P., Dan M., Bejoy M. (2008). Conservation using *in vitro* progenies of the threatened ginger – *Boesenbergia Pulcherrima* (Wall.) Kuntze. *Intrnational journal of Botany* 4 (1): 93 – 98.
5. Abdelmageed A. H. A., Norhana F. M. A., Julia A. A., Midhzar Abdul Kadir (2011). Micropropagation of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5(18), pp. 4465-4469.
6. David D., Teoh Y. J. and Jualang A. G., 2016. *In Vitro* Propagation of *Zingiber officinale* Rosc. ‘Tambunan’. *Transactions on Science and Technology*. 3(1-2), 162 – 167.
7. Faridah Q. Z., Abdelmageed A. H. A., Julia A. A., Hafizah N. R. (2011). Efficient *in vitro* regeneration of *Zingiber zerumbet* Smith (a valuable medicinal plant) plantlets from rhizome bud explants. *African Journal of Biotechnology*, 10(46), pp. 9303-9308.
8. Kavyashree R. (2009). An efficient *in vitro* protocol for clonal multiplication of Ginger-var. Varada. *Indian Journal Biotechnology*, 8, pp. 328-331.
9. Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15, 473_97.

10. Sultana A., Hassan L., Ahmad D. S. (2009). *In vitro* regeneration of ginger using leaf, shoot tip and

***IN VITRO* PROPAGATION OF *Zingiber officinale* Rosc. FROM HUE CITY**

Truong Thi Bich Phuong¹, Tran Thi Bich Nga¹,
Nguyen Duc Tuan¹, Ngo Thi Minh Thu¹, Tran Thi Thu Ha²

¹University of Sciences, Hue University

²University of Agriculture and Forestry, Hue University

Summary

Ginger plant (*Zingiber officinale* Rosco) is one of the most important spices in the world. Rhizomes of ginger taste pungent, aromatic. They are used as a spice and herbal medicine. In this study, the obtained results of micropropagation of ginger plant "Hue". Showed sterilizing the underground stem bases with HgCl₂ 0.1% for 12 minutes was found to be effective for reducing the contamination rate and increasing the survival rate to 57.69%. On MS medium supplemented with 1.0 mg/l kinetin (KIN) was found to be the optimum for *in vitro* regeneration from stem base slices of 0.2 cm thick. The average number of shoots per explant was 3.46 after 4 weeks of culture. The multiplication coefficient was greatest on MS medium supplemented with 0.9 mg/l KIN. The average number of shoots per explant was 14.0 after 8 weeks of culture. On MS medium supplemented with combinations of BAP and NAA, the maximum number of shoots (7.14 shoots per explant) was observed on MS medium supplemented with combinations of 3.0 mg/l BAP and 3.0 mg/l NAA, whereas the maximum number of roots (12.8 roots per shoot) was observed on MS medium supplemented with combinations of 3.0 mg/l BAP and 2.0 mg/l NAA after 4 weeks of culture. The plantlets were treated by nano silver, after that they were transplanted successful in the coconut coir pots. The plantlet survival rate was 88.25% two weeks after transferring in pots.

Keywords: *Spices, ginger, nano silver, micropropagation, the underground stem bases.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Khắc Thi

Ngày nhận bài: 29/11/2017

Ngày thông qua phản biện: 29/12/2017

Ngày duyệt đăng: 5/01/2018