Vietnam J. Agri. Sci. 2025, Vol. 23, No. 1: 1-6
Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 2025, 23(1): 1-6
www.vnua.edu.vn

# XÁC ĐỊNH TÊN KHOA HỌC BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÌNH THÁI VÀ MÃ VẠCH ADN CỦA CÂY ĐỊA LIỀN CÓ NGUỒN GỐC TỪ VƯỜN QUỐC GIA KON KA KINH

**Nghiêm Tiến Chung[1], Trịnh Minh Vũ[1*], Lương Thị Hoan[1], Nguyễn Văn Hiếu[1], Phan Thị Thu[1], Trịnh Thị Nga[1], Ngô Duy Hoàng Vũ[2], Ngô Văn Thắng[2], Nguyễn Quốc Luân[2]**

*[1]Viện Dược liệu*
*[2]Vườn quốc gia Kon Ka Kinh*

*[*]Tác giả liên hệ: trinhminhvu93@gmail.com*

Ngày nhận bài: 05.11.2024 Ngày chấp nhận đăng: 17.01.2025

## TÓM TẮT

Địa liền là loại cây thân thảo, sống lâu năm, được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền có tác dụng trong điều trị đau nhức xương khớp, chống viêm, phù nề. Tại Việt Nam có khoảng 9-10 loài khác nhau thuộc chi Kaempferia. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định loài địa liền thu thập tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh bằng phương pháp hình thái quan sát mô tả thân rễ, lá, hoa và phương pháp mã vạch ADN. Kết quả nghiên cứu cho thấy một số đặc điểm chính như thân rễ phình thành nhiều củ cạnh nhau, vỏ ngoài có màu nâu vàng. Lá đơn, hình bầu dục dài 7-9cm, rộng 5-7cm. Hoa mọc từ thân rễ, bông to, không đều, lưỡng tính. Mã vạch ADN với hình ảnh điện di mẫu ADN cho hình ảnh băng gọn, nguyên vẹn, giải trình tự đoạn gen rbcL có sự tương đồng với số nucleotid 527/527 (100%) của loài *Kaempferia galanga* L. đã được công bố trên ngân hàng dữ liệu. Qua kết quả mô tả hình thái và mã vạch ADN đã xác định được tên khoa học của loài địa liền tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh là *Kaempferia galanga* L. thuộc họ Gừng (Zingiberaceae).

Từ khóa: Địa liền, mã vạch ADN, tên khoa học, Kon Ka Kinh.

# Identification of the Scientific Name of Aromatic Ginger (*Kaempferia*) from Kon Ka Kinh National Park using Morphological and DNA Barcode Methods

## ABSTRACT

Vietnam is reported as home to approximately 9-10 species of the genus Kaempferia. This study aimed to identify the species of Kaempferia collected from Kon Ka Kinh National Park using DNA barcode methods and morphological observations which focused on key plant parts of rhizomes, leaves, and flowers. Rhizomes areswollen clusters with a yellow-brown outer surface. Leaves aresimple, oval-shaped, 7-9cm long and 5-7cm wide. Flowers emerge from the rhizome, large, irregular, and bisexual. DNA electrophoresis yielded intact, clear bands. Sequencing of the rbcL gene showed 100% similarity (527/527 nucleotides) to *Kaempferia galanga* L. in genetic databases. Based on both morphological description and DNA barcode results, the scientific name of the Kaempferia species found in Kon Ka Kinh National Park was identified as *Kaempferia galanga* L., a member of the ginger family (Zingiberaceae).

Keywords: *Kaempferia galanga*, DNA barcode, scientific name, Kon Ka Kinh national park.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Địa liền có tên khoa học là *Kaempferia galanga* L., là cây thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), ngành Ngọc Lan, lớp 1 lá mầm. Ở một số địa phương nước ta, địa liền còn có các tên gọi khác là: Tam nại, Sơn nại, Củ thiền niền, Sa khương, co xá choóng (Thái) (Trần Ngọc Hải, 2011). Địa liền phân bố ở Ấn Độ, Malaysia, Indonesia, Philippines, Thái Lan, Lào, Campuchia và Trung Quốc. Ở Việt Nam, Địa liền mọc hoang ở các rừng thưa, rụng lá ở Đắk Lắk, Đồng Nai, Hà Giang, Yên Bái và Sơn La. Hiện nay, Địa liền được trồng nhiều nhất ở

Đồng bằng sông Hồng (Hưng Yên, Hải Dương, Bắc Ninh) và các tỉnh Bắc Giang, Thanh Hoá, Nghệ An (Đỗ Huy Bích, 2004). Địa liền là cây thảo, sống lâu năm, không có thân. Rễ có nhiều củ nhỏ, hình trứng mọc nối tiếp nhau, có nhiều vân ngang. Lá có 2-3 cái hình trứng gần xoè rộng sát mặt đất, đầu tù rồi thuôn nhọn, mặt trên nhẵn bóng mặt dưới hơi có lông mịn, phiến lá dài 8-10cm, rộng 6-7cm. Cụm hoa Địa liền không cuống, nằm ẩn bên trong bẹ lá, lá bắc hình mũi mác nhọn, hoa có màu trắng có đốm tím ở giữa. Mùa hoa vào tháng 5-7. Toàn cây, nhất là thân rễ có mùi thơm và vị nóng (Đỗ Huy Bích, 2004). Địa liền có tác dụng ôn trung tán hàn, trừ thấp, tịch uế, chữa ngực bụng, lạnh đau, đau răng, dùng làm thuốc hỗ trợ tiêu hoá, giúp ăn ngon, dễ tiêu và còn có thể dùng làm thuốc xông. Ngoài ra, Địa liền ngâm rượu có thể dùng để xoa bóp chữa tê phù, tê thấp, nhức đầu, đau nhức cơ thể.

Để xác định chính xác và phân biệt cụ thể loài phục vụ công tác nghiên cứu lai tạo, chọn tạo giống và xây dựng quy trình kỹ thuật nhân giống cũng như trồng trọt đảm bảo đúng loài, rõ nguồn gốc, chúng tôi tiến hành thực hiện định danh tên khoa học bằng phương pháp hình thái và chỉ thị phân tử của cây Địa liền có nguồn gốc từ Vườn quốc gia Kon Ka Kinh, tỉnh Gia Lai.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian

Vật liệu: Mẫu lá non tươi của cây Địa liền, ký hiệu mẫu DV- ĐL.050723 được thu thập tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh để chiết và phân tích ADN, giải trình tự gen.

Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội.

Thời gian nghiên cứu: 01/2023 - 12/2023.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### *2.2.1. Phương pháp mô tả hình thái*

Quan sát, phân tích và ghi chép các chỉ tiêu đặc điểm hình thái, thân rễ, lá, hoa (Nguyễn Nghĩa Thìn, 2007); Sử dụng máy ảnh chụp để lưu lại hình ảnh chi tiết các bộ phận của mẫu.

Thân rễ: Quan sát màu sắc củ, hình thái củ và đo đường kính củ bằng thước panme (cm).

Lá: Quan sát màu sắc lá, hình dạng lá và đo chiều dài, chiều rộng lá (cm).

Hoa: Quan sát, hình thái hoa.

#### *2.2.2. Tách chiết tổng số ADN và tinh sạch*

ADN toàn phần được tách từ lá tươi theo quy trình tách chiết và tinh sạch bằng phương pháp CTAB cải tiến (Doyle & Doyle, 1990).

#### *2.2.3. Khuếch đại ADN bằng phản ứng PCR*

Đoạn gen rbcL dài 600bp. Đoạn trình tự ADN được khuếch đại sử dụng cặp mồi rbcLa-F: 5'-ATGTCACCACAAA-C AGA GACTAAAGC-3' (Levin & cs., 2003) và rbcLa-R: 5'-GTAAAATCA A-GTCCACCRCG-3' (Kress & Erickson, 2007).

Thành phần của phản ứng: Phản ứng PCR được thực hiện theo quy trình của bộ kit Platinum II Taq Hot-Start ADN Polymerase (Invitrogen, USA), phản ứng thực hiện trong 50µl bao gồm 10µl của 5x platium buffer, 1µl của 10mM dNTP mix, 1µl của 10µM rbcL F primer, 1µl của 10µM RBCL R primer, 10µl của Platinum™ GC Enhancer, 2µl ADN; 0,4µl của Platinum™ II Taq Hot-Start ADN Polymerase, dung dịch nước lên đến 50µl.

Chu trình nhiệt cho một phản ứng PCR: Bắt đầu thực hiện từ 95°C trong 5 phút, sau đó 35 chu kỳ với các bước sau: 30 giây ở 95°C 30 giây ở 60°C, 30 giây ở 72°C, cuối cùng kéo dài chuỗi trong 5 phút ở 72°C và sản phẩm được trữ ở 10°C trong 20 phút.

#### *2.2.4. Điện di ADN trên gel agarose*

ADN sau khi được ly trích và tinh sạch, sẽ được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 2%. Sau khi điện di, gel được nhuộm bằng thuốc nhuộm redsafe (Biobasic, UK) và ghi nhận kết quả.

#### *2.2.5. Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự*

Sản phẩm PCR được làm sạch bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega). Sau khi được tinh sạch, sản phẩm PCR được gửi đến Công ty Phù Sa Biochem để giải mã theo phương pháp Sanger (Sanger & cs., 1977).


a b c d e

*Ghi chú: a: Cây địa liền; b: Mặt trên của lá; c: Mặt dưới của lá; d: Hoa; e: Thân rễ.*

**Hình 1. Ảnh chụp mẫu giám định Địa liền**

### *2.2.6. Phân tích số liệu và so sánh trình tự ADN*

Trọng lượng phân tử được tính toán bằng phần mềm Gel Analyzer. Kết quả giải trình tự được lưu trữ ở dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm BioEdit phiên bản cập nhật mới nhất 7.0.5 (Hall, 1999). Sau đó sử dụng phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gene NCBI dùng cho việc nhận diện loài.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả phân tích đặc điểm hình thái của cây Địa liền

Địa liền là cây thân cỏ sống nhiều năm nhờ thân rễ, rễ phình thành củ nhỏ hình trứng. Thân rễ phình thành nhiều củ cạnh nhau, mùi thơm và cay, lớp vỏ ngoài có màu nâu vàng, đường kính 2-3 cm/củ.

Địa liền là cây lá đơn, có 2 lá mọc xòe sát mặt đất. Phiến lá hình bầu dục, dài 7-9cm, rộng 5-7cm, ngọn lá nhọn, gốc thuôn; mặt trên gần như nhẵn, màu xanh lục đậm.

Cụm hoa mọc lên từ thân rễ, đi qua ống tạo bởi các bẹ lá, không cuống, mang nhiều hoa, thường mỗi lần chỉ có một hoa nở. Hoa to, không cuống, không đều, lưỡng tính.

Sau khi phân tích mẫu có ký hiệu, tham khảo các tài liệu hiện có, kết hợp đối chiếu với tiêu bản của loài *Kaempferia galanga* L. (NIMM-4840, NIMM-6928) đang lưu giữ tại Phòng Tiêu bản của Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu đã xác định được tên khoa học của mẫu cụ thể như sau:

Tên khoa học: *Kaempferia galanga* L., *Alpinia sessilis* Koenig

Tên đồng danh: *Kaempferia humilis* Salisb., *K. Plantaginifolia* Salisb.

Tên Việt Nam: Địa liền, Thiền liền, Tam nại, Sơn nại

Họ thực vật: Họ gừng - Zingiberaceae

Từ các kết quả phân tích đặc điểm hình thái, đối chiếu khóa phân loại trong các bộ thực vật chí và một số tiêu bản đang lưu giữ tại các bảo tàng (Bảo tàng Lịch sử và Tự nhiên Paris, Phòng Tiêu bản của Viện Dược liệu) đã xác định mẫu nguồn gen thu được là loài Địa liền (*Kaempferia galanga* L.) họ Gừng (Zingiberaceae) kết quả này phù hợp với đặc điểm mô tả của (Phạm Hoàng Hộ, 2000; Sirirugsa & Larsen, 1992).

### 3.2. Kết quả phân tích bằng chỉ thị phân tử

### *3.2.1. Ly trích ADN và phản ứng PCR*

ADN tổng số sau khi trích được điện di trên gel agarose 1% cho vạch ADN rõ, băng điện di sạch, không lẫn ARN (Hình 2).

Kết quả hình ảnh điện di mẫu ADN cho hình ảnh băng gọn chứng tỏ ADN sau chiết tách đều đảm bảo độ nguyên vẹn, phù hợp sử dụng trong phản ứng PCR với các đoạn mồi rbcL.

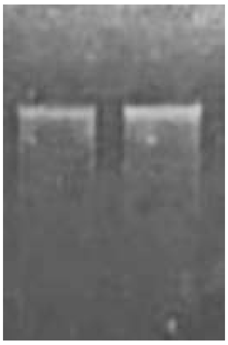
### *3.2.2. Trình tự đoạn gen rbcL*

Mẫu ADN sau khi giải trình tự thu được 529bp trong đó có 527bp hiện rõ (Hình 4), được đưa vào để so sánh với trình tự công bố, trong đó tỷ lệ G-C là 42%, tỷ lệ A-T là 58%. Công cụ Blast được sử dụng sau khi giải trình tự đoạn

ADN của gen rbcL. Đoạn gen này được nhân bằng PCR và điện di trên agarose với thang ladder chuẩn 2.000bp. Kết quả cho thấy, kích thước đoạn trình tự thu được vào khoảng 550bp (Hình 3). Vạch sản phẩm trên băng điện di đậm, rõ nét, nguyên vẹn không bị đứt gãy nên đủ điều kiện thực hiện bước tinh sạch để giải trình tự.

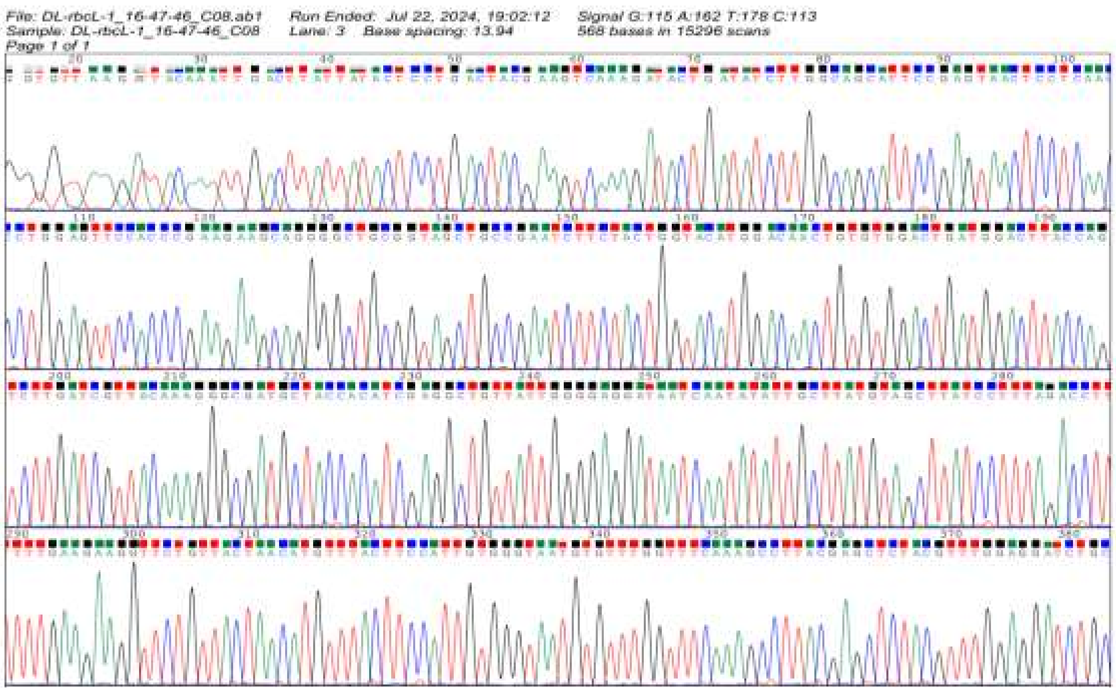
Kết quả cho thấy, trình tự gen thu được tương đồng với trình tự loài *Kaempferia galanga* L. đã công bố trên ngân hàng gen thế giới, mã hiệu ngân hàng gen: NC_040851.1, với số nucleotid tương đồng là 527/527 tương ứng tỷ lệ tương đồng 100%

Kết quả trình bày ở hình 5 thể hiện trình tự đoạn gen rbcL của mẫu nghiên cứu với trình tự loài đã công bố trên thế giới. Trong đó, Query là trình tự mẫu nghiên cứu và Sbjct là trình tự loài *Kaempferia galanga* L. đã công bố trên ngân hàng gen thế giới với mã hiệu ngân hàng gen: NC_040851.1. Kết quả giải trình tự gen và so sánh trình tự gen của cây Địa liền với trình tự gen loài là *Kaempferia galanga* L. taxonomy ID: t txid182084 là cơ sở tin cậy để khẳng định tên khoa học của cây Địa liền trồng tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh tỉnh Gia Lai là: *Kaempferia galanga* L. thuộc họ gừng (Zingiberaceae).

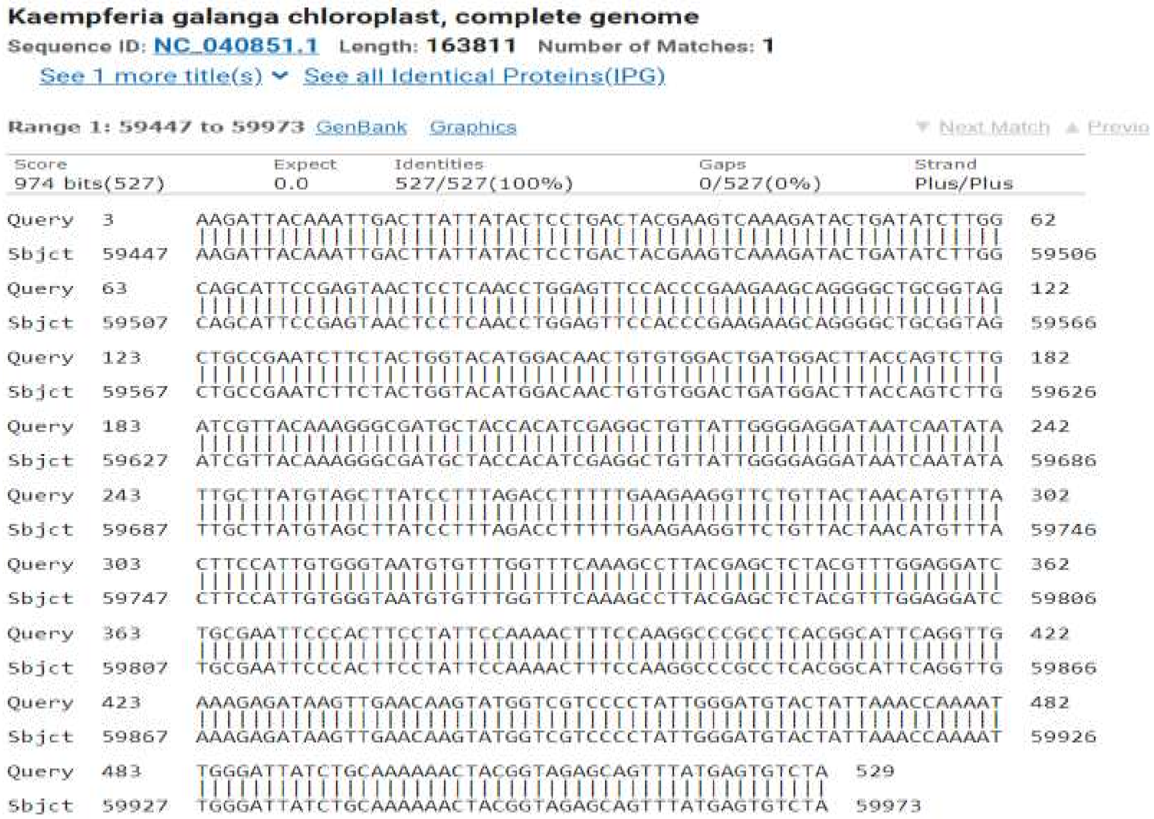


**Hình 2. Hình ảnh điện di mẫu địa liền ADN tổng số**


**Hình 3. Điện di sản phẩm PCR**




**Hình 4. Kết quả giải trình tự của đoạn gen rbcL của mẫu địa liền bằng máy ABI 3100** (Applied Biosystem, USA) **đọc bằng phần mền Bioedit**




**Hình 5. So sánh trình tự đoạn gen rbcL**
**của mẫu nghiên cứu với trình tự loài đã công bố trên thế giới**

### 3.3. Thảo luận

Để góp phần hỗ trợ xác định tên khoa học của loài Địa liền, ngoài phương pháp phân tích đặc điểm hình thái thực vật, sử dụng mã vạch ADN là một phương pháp tiên tiến đã được sử dụng thành công định danh loài trên thế giới. Ứng dụng rbcL mã vạch ADN đã thành công định danh rất nhiều loại thực vật như nghiên cứu định danh loài sâm Lai Châu (*Panax vietnamensis var. fuscidiscus* K. Komatsu, S. Zhu & S. Q. Cai); sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis Ha & Grushv.*) (Nguyễn Thị Phương Trang & cs., 2016) và đã thành công trong việc nhận diện từng loài cây trong hỗn hợp các loại cây trong cùng một mẫu. Gần đây, nhóm nghiên cứu người Đức đã dùng rbcL mã vạch ADN để phân loại họ Dipterocarpaceae ở Sumatra, Indonesia (Carneiro & cs., 2019). Tại Việt Nam, Đỗ Văn Mãi & cs. (2020) cũng dùng rbcL mã vạch ADN để phân loại loài Polyscias.

Đối với cây Địa liền, đây là lần đầu tiên, phương pháp phân tích mã vạch ADN được sử dụng để giám định tên khoa học của cây. Sau khi chiết xuất, phân tách ADN và giải trình tự gen của mẫu lá cây Địa liền, cho kết quả trình tự gen. So sánh trình tự đoạn gen rbcL này với trình tự gen đã công bố của loài *Kaempferia galanga* L. cho thấy có sự trùng khớp nhau đến 100%. Do đó, nghiên cứu xác định tên loài *Kaempferia* bằng mã vạch and là phương pháp có độ tin cậy và tính chọn lọc cao.

## 4. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp mã vạch ADN kết hợp với đặc điểm hình thái cho thấy cây Địa liền thu thập tại Vườn quốc gia Kon Ka Kinh có tên khoa học là (*Kaempferia galanga* L.) họ Gừng (Zingiberaceae). Kết quả này giúp nhận định chính xác tên khoa học của đối tượng nghiên cứu bằng phương pháp mã vạch ADN với mã hiệu ngân hàng gen: NC_040851.1, taxonomy ID: ttxid182084.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO


Carneiro D.M.C., Brambach F., Jair H.B.K., Krutovsky K.V., Kreft H., Tjitrosoedirdjo S.S. & Gailing O. (2019). Integrating DNA Barcoding and Traditional Taxonomy for the Identification of Dipterocarps in Remnant Lowland Forests of Sumatra. Plants. 8(11): 461.

Doyle J.J. & Doyle J.L. (1990). Isolation of Plant DNA from fresh tissue. Focu. 12(6): 13-15.

Đỗ Huy Bích (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc. Nhà xuất bản Khoa học và Kĩ thuật Hà Nội.

Đỗ Văn Mãi, Thiều Văn Đường, Vũ Thị Bình & Trần Công Luận (2020). Xác định tên khoa học của cây Đinh lăng trổ bằng phương pháp giải trình tự gen RBCL. Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Phát triển kinh tế, Trường Đại học Tây Đô.

Hall T.A. (1999). BioEdit: a userfriendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41: 95-98.

Kress W.J & Erickson D.L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcLa gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. PLoS One. 6: 1-10.

Levin R.A., Wagner W.L., Hoch P.C., Nepokroeff M, Pires J.C, Zimmer E.A & Sytsma K.J. (2003). Family-level relationships of Onagraceae based on chloroplast rbcLa and ndhF data. American Journal of Botany. 90: 107-115.

Nguyễn Nghĩa Thìn (2007). Các phương pháp nghiên cứu thực vật. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội. 171tr.

Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Thị Hồng Mai, Zhuravlev Yury N. & Reunova Galina D. (2016). Giải mã trình tự gen *rbc*l, *RPO*B của sâm Lai Châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus* K. Komatsu, S. Zhu & S. Q. Cai) và sâm Ngọc linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) làm cơ sở so sánh khoảng cách di truyền. Tạp chí Sinh học. 39(1): 80-85

Phạm Hoàng Hộ (2000). Cây cỏ Việt Nam (quyển III). Nhà xuất bản trẻ Thành phố Hồ Chí Minh. tr. 458.

Sirirugsa P. & Larsen K. (1992). Taxonomy of genus *Kaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand. Thai Forr Bull. 19: 1-15.

Sanger S., Nicklen S. & Coulson A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA. 74(12): 5463-5467.

Trần Ngọc Hải (2011). Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật trồng cây địa liền (*Kaempferia galanga*) tại huyện Lục Ngạn tỉnh Bắc Giang. Luận văn thạc sỹ khoa học nông nghiệp. Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.