



NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HƯƠNG THẢO (*Rosmarinus officinalis* L.)

Nguyễn Thị Ngọc Lan¹, Phạm Thùy Dung², Trần Thanh Văn², Chu Hoàng Mậu^{1*}

¹ Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên;

² Trường Đại học Tân Trào, Tuyên Quang

*Mail.: chuhoangmau@tnu.edu.vn; nguyennngoclan@dhsptn.edu.vn

Abstract: Rosemary is a plant that contains many antioxidants, disinfectants, inhibitors of cancer cells in humans. The propagation of rosemary by seeds or cuttings is less effective, so it is necessary to study on *in vitro* propagation of rosemary to get higher multiplication coefficient. The rosemary seeds that were sterilized by chlorine gas for 5 hours and then cultured on MS medium supplemented with 30 g/l saccharose and 6 g/l agar, achieved the highest percentage of germination, 66%. Multiple-bud regeneration induced from young stem segments in the MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP, 30 g/l saccharose and 6 g/l agar obtaining the highest number of shoot regeneration after 8 weeks of culture. The MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP, 0.7 mg/l IBA, 30 g/l saccharose and 6 g/l agar was the optimal medium for multi-shoot regeneration (3.14 shoots/explant) after 8 weeks of culture. The rate of rooted shoots was 82.22% with an average root number of 2.83 roots/shoot after 4 weeks of culture on MS medium supplemented with 0.3 mg/l NAA, saccharose 30 g/l and 6 g/l agar. The plantlets were transferred to the pots containing garden soil and burned rice husk in a ratio of 2:1. In which 81.11% of the plantlets were survived healthy with 8.68 cm in height.

Keywords: *in vitro* propagation, multiple-bud regeneration, stem segments, rosemary, *Rosmarinus officinalis*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) là một loài thực vật có hoa thuộc họ Hoa môi, có nguồn gốc ở vùng Địa Trung Hải, được trồng nhiều ở Nam Âu, Tây Á, Bắc Phi và hiện nay đã được nhập trồng ở Việt Nam, sử dụng làm nguyên liệu cho sản xuất dược phẩm, mỹ phẩm và làm phụ gia trong chế biến thực phẩm. Cây sinh trưởng phát triển tốt với điều kiện khí hậu nhiệt đới, thường nhân giống bằng cách gieo hạt hoặc giâm cành. Cây Hương thảo có chứa một số hoạt chất sinh học chống oxy hóa quan trọng như axit carnosic và axit rosmarinic. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu và các chất kích thích sinh trưởng đến sự tái sinh *in vitro* cây Hương thảo; ảnh hưởng của các giá thể đến sinh trưởng của cây con trong giai đoạn vườn ươm. Từ đó, xác định được môi trường phù hợp để nhân giống *in vitro* cây Hương thảo đáp ứng nhu cầu về nguồn giống cây Hương thảo trong thực tiễn.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- ❖ Sử dụng hạt giống cây Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) nhập khẩu từ Nga
- ❖ Khử trùng mẫu bằng khí clo với các mức thời gian khác nhau
- ❖ Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng đến sự tái sinh *in vitro* cây Hương thảo
- ❖ Đưa cây ra môi trường tự nhiên
- ❖ Xử lý thống kê số liệu với số mẫu = 30, $\alpha = 0.05$

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khử trùng hạt tạo mẫu sạch

Bảng 1. Kết quả khử trùng hạt Hương thảo bằng khí clo sau 20 ngày

Công thức	Thời gian khử trùng (giờ)	Số mẫu (hạt)	Ti lệ hạt nảy mầm không nhiễm (%)	Ti lệ hạt nhiễm (%)	Ti lệ hạt chết (%)	Hình thái mầm
ĐC	0	100	0	100	0	-
CT 1	1	100	27,33 ± 1,76	49,67 ± 1,20	23,00 ± 2,08	mập, xanh
CT 2	3	100	32,00 ± 1,15	43,67 ± 0,67	24,33 ± 0,67	mập, xanh
CT 3	5	100	66,00 ± 0,58	7,00 ± 1,00	27,00 ± 0,58	mập, xanh
CT 4	7	100	34,33 ± 1,67	4,67 ± 0,33	61,00 ± 1,53	gầy, vàng

Ảnh hưởng của BAP đến sự tái sinh chồi

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến sự tái sinh chồi của cây Hương thảo

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu/CT (mẫu)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
ĐC	0	30	1,26 ± 0,05	1,27 ± 0,04	+
CT 1	0,5	30	1,98 ± 0,31	1,49 ± 0,03	++
CT 2	1,0	30	2,45 ± 0,06	1,80 ± 0,06	+++
CT 3	1,5	30	2,94 ± 0,09	2,23 ± 0,12	+++
CT 4	2,0	30	2,30 ± 0,06	1,65 ± 0,03	++

(Ghi chú: chồi tốt: + + +, Chồi trung bình: + +, Chồi kém: +)

Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự tái sinh chồi

Bảng 3. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự tái sinh chồi của cây Hương thảo

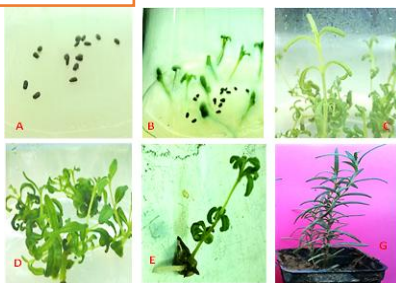
Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ IBA (mg/l)	Số mẫu/CT (mẫu)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
ĐC	1,5	0	30	2,71 ± 0,10	1,74 ± 0,09	++
CT 1	1,5	0,3	30	2,82 ± 0,13	1,95 ± 0,07	+++
CT 2	1,5	0,5	30	2,97 ± 0,12	2,08 ± 0,08	+++
CT 3	1,5	0,7	30	3,14 ± 0,13	2,28 ± 0,10	+++
CT 4	1,5	1,0	30	2,75 ± 0,07	1,97 ± 0,04	++

(Ghi chú: chồi tốt: + + +, Chồi trung bình: + +, Chồi kém: +)

Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi Hương thảo *in vitro*

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi Hương thảo sau 4 tuần

Công thức	Nồng độ NAA (mg/l)	Ti lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ trung bình (rễ/chồi)	Chất lượng rễ
ĐC	0	0	0	-
CT 1	0,1	56,67 ± 1,93	1,60 ± 0,10	+++
CT 2	0,3	82,22 ± 2,93	2,83 ± 0,17	+++
CT 3	0,5	76,67 ± 1,93	2,28 ± 1,93	++
CT 4	0,7	55,55 ± 2,22	1,48 ± 0,09	+



Hình 1. Nhân giống *in vitro* cây Hương Thảo từ đoạn thân mang mắt chồi bên

Từ kết quả thí nghiệm có thể rút ra công thức 2 có bổ sung 0,3 mg/l NAA vào môi trường nền MS + saccarose 30 g/l + agar 6 g/l là thích hợp nhất trong thí nghiệm, cho tỉ lệ chồi ra rễ đạt 82,22%, số rễ trung bình đạt 2,83 rễ/chồi, chất lượng rễ tốt và công thức 3 với BAP 1,5 mg/l + IBA 0,7 mg/l bổ sung vào môi trường nền MS + saccarose 30 g/l + agar 6,0 g/l là công thức thích hợp nhất trong thí nghiệm cho sự phát sinh và sinh trưởng của chồi.

Ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sự sinh trưởng của cây con *in vitro* ngoài vườn ươm

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây con ngoài vườn ươm

Công thức	Giá thể	Ti lệ cây sống (%)	Chiều cao cây (cm)
CT1	Đất thịt trung bình	63,33 ± 1,93	7,04 ± 0,03
CT2	Đất thịt trung bình + cát (2:1)	70,00 ± 1,93	8,10 ± 0,02
CT3	Đất thịt trung bình + trấu hun (2:1)	81,11 ± 1,11	8,68 ± 0,07
CT4	Đất thịt trung bình+cát + trấu hun (2:1:1)	73,33 ± 1,93	7,95 ± 0,02

KẾT LUẬN: Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng hạt Hương thảo trong 5 giờ bằng khí clo là tốt nhất. Môi trường thích hợp cho sự phát sinh và sinh trưởng của chồi cây Hương thảo từ đoạn thân mang mắt chồi bên là: MS cơ bản + saccarose 30 g/l + agar 6,0 g/l + BAP 1,5 mg/l + IBA 0,7 mg/l. Môi trường MS cơ bản + saccarose 30 g/l + agar 6,0 g/l + NAA 0,3 mg/l là thích hợp cho sự tạo rễ của chồi cây Hương thảo. Giá thể phù hợp cho giai đoạn luyện cây Hương thảo *in vitro* trong vườn ươm là đất thịt trung bình + trấu hun theo tỉ lệ 2:1.