

## NHÂN GIỐNG CÂY RÂU MÈO (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Trần Việt Hà<sup>1</sup>, Chu Sĩ Cường<sup>2</sup>, Ngô Thị Phần<sup>1</sup>, Đoàn Thị Thu Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Việt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Bệnh viện Y học cổ truyền, Bộ Công an

### TÓM TẮT

Cây Râu mèo (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.) là loài cây dược liệu có giá trị dược lý cao, hiện đang bị khai thác quá mức dẫn đến nguồn gen bị cạn kiệt. Quy trình nhân giống cây Râu mèo bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cành bánh tẻ chứa mắt ngủ được khử trùng bề mặt bằng ethanol 70% trong 1 phút, tiếp theo bằng dung dịch HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong 9 phút và nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung 30 g/l sucrose và 6,5 g/l agar, cho tỷ lệ mẫu sạch là 96,84%. Cầm ứng tạo đa chồi trên môi trường MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/l 6-Benzyl amino purine (6-BAP), 0,3 mg/l Kinetin, 0,1 mg/l  $\alpha$ -Naphthalen acetic acid ( $\alpha$ -NAA), 30 gr/l sucrose và 6,5 gr/l agar, cho tỷ lệ chồi hữu hiệu là 76,75% và hệ số nhân chồi đạt 17,44 lần/chu kỳ nhân giống sau 6 tuần nuôi cấy. Tỷ lệ chồi ra rễ 96,70%, số rễ trung bình đạt 3,77 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình 3,9 cm khi nuôi trên môi trường MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/l  $\alpha$ -NAA, 20 gr/l sucrose và 6,5 gr/l agar sau 6 tuần nuôi cấy. Quy trình nhân giống cây Râu mèo thành công có ý nghĩa lớn trong bảo tồn và phát triển loài cây dược liệu quý, đồng thời có thể áp dụng vào thực tiễn phục vụ sản xuất cây giống chất lượng cao, đáp ứng nhu cầu nguồn cây giống hiện nay.

**Từ khóa:** Cầm ứng tạo đa chồi, cây Râu mèo, nuôi cấy *in vitro*.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Râu mèo (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.) là một loài thực vật có hoa thuộc chi *Orthosiphon* trong họ Bạc hà (Lamiaceae). Chi *Orthosiphon* có khoảng 40 loài trên thế giới, phân bố rải rác khắp các vùng nhiệt đới châu Á, châu Phi và châu Đại Dương. Vùng nhiệt đới Đông Nam Á được coi là nơi tập trung và có tính đa dạng cao về thành phần loài của chi, trong đó Việt Nam có 8 loài (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2004).

Cây Râu mèo được biết đến như là vị thuốc làm tăng lượng nước tiểu và thúc đẩy sự bài tiết urê, các hợp chất chlorua và acid uric, có tác dụng tốt đối với các chứng rối loạn đường tiêu hóa, bệnh thấp khớp, đau lưng, đau nhức khớp xương. Ngoài ra, cây Râu mèo còn có tác dụng tốt đối với bệnh xung huyết gan và bệnh đường ruột. Lá cây Râu mèo chứa saponin, alcaloid, tinh dầu, tanin, acid hữu cơ (acid tartaric, acid citric và acid glycolic). Dịch chiết của lá cây Râu mèo có hàm lượng kali cao (0,7 - 0,8%) và một lượng glycosid đáng là orthosiphonin. Tinh dầu lá, cành và thân chứa  $\beta$ -caryophyllen,  $\beta$ -elemen, humulen,  $\beta$ -bourbonen và 1-octen-3-ol, caryophyllen oxyd (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2004). Râu mèo còn

chứa methylripariochromen A, orthosiphol A (16,75%), carotenoid ( $\alpha$ -caroten,  $\beta$ -caroten, 3-zeacaroten và cryptoxanthin). Theo Takeda Yoshio *et al* (1993), trong cây Râu mèo còn có orthosiphol A, B, D, salvigenin.

Cây Râu mèo đã và đang được con người sử dụng phổ biến trong nhiều bài thuốc Đông y với nhiều tác dụng khác nhau. Tuy nhiên, nguồn dược liệu này đang ngày càng trở nên cạn kiệt do sự khai thác quá mức của con người. Trong khi những nghiên cứu về cây Râu mèo chỉ mới tập trung vào việc điều tra, mô tả đặc tính sinh học, phân tích thành phần hóa học của cây và nhân giống *in vitro* (Jayakumar S *et al*, 2013; Reshi N. A *et al*, 2013; 2015), nhưng kết quả nghiên cứu còn hạn chế. Để có thể cung cấp nguồn dược liệu Râu mèo chất lượng tốt, bền vững đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe con người đồng thời đảm bảo được hàm lượng và hoạt tính dược liệu trong sản phẩm sau thu hoạch, cần phải có biện pháp hữu hiệu trong bảo tồn và phát triển loài dược liệu quý này (Nguyễn Ngọc Hồng và cộng sự, 2012; Phạm Thị Thúy và cộng sự, 2019). Vì vậy, nhân giống cây Râu mèo bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* sẽ giúp tạo ra số lượng lớn cây con trong thời gian ngắn, có thể đáp

ứng nguồn giống cho các vùng sản xuất dược liệu, nhằm nâng cao thu nhập cho người dân và phục vụ công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc.

Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu nhân giống cây Râu mèo bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* với hiệu suất cao, có thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất cây giống trong thời điểm hiện tại.

## **2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Vật liệu nghiên cứu**

Cành bánh tẻ của cây Râu mèo được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất thuốc Suối Hai của Bệnh viện Y học cổ truyền Bộ Công an.

Môi trường nuôi cấy MS (Murashige và Skoog, 1962), chất điều hòa 6-BAP (6-Benzyl amino purine),  $\alpha$ -NAA ( $\alpha$ -Naphthalen acetic acid), Kinetin do hãng Himedia (Ấn Độ) cung cấp, sucrose của Việt Nam sản xuất, agar của hãng Merck (Đức), các giá thể là vật liệu tại chỗ.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

*Tạo mẫu sạch và nuôi cấy khởi động:* Chồi cây Râu mèo (15 - 20 cm) được rửa sạch bề mặt bằng xà phòng loãng, sau đó tráng sạch xà phòng dưới vòi nước chảy. Tiếp tục sát khuẩn bề mặt mẫu bằng cồn 70% trong 1 phút và khử trùng mẫu bằng  $HgCl_2$  0,1% với các thời gian khác nhau (5 đến 10 phút). Sau đó, dùng nước cất khử trùng tráng mẫu để loại bỏ hoàn toàn hóa chất khử trùng trước khi cấy trên môi trường nuôi cấy khởi động (Môi trường MS cơ bản bổ sung 30 gr/l sucrose, 6,5 gr/l agar). Sau 6 tuần nuôi, đánh giá tỷ lệ mẫu sạch, mẫu tái sinh chồi.

*Nhân nhanh chồi:* Các chồi Râu mèo *in vitro* thu từ thí nghiệm trên được cắt thành các đoạn có kích thước 2 - 3 cm có chứa mắt ngủ, loại bỏ bớt lá và cấy lên môi trường nhân nhanh chồi (Môi trường MS cơ bản bổ sung (0,3 - 0,7 mg/l) 6-BAP, 0,3 mg/l Kinetin, 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA, 30 gr/l sucrose, 6,5 gr/l agar). Sau 6 tuần nuôi, thống kê số mẫu tạo cụm chồi, số chồi/cụm, chồi hữu hiệu (chồi có 3 - 4 cặp lá, chiều cao  $\geq 2,5$  cm) và tính hệ số nhân chồi, đặc điểm chồi tái sinh.

*Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh:* Các chồi hữu

hiệu (cao 2,5 - 4 cm, chứa 2 - 4 cặp lá), sinh trưởng tốt được cấy lên môi trường ra rễ tạo cây hoàn chỉnh (Môi trường MS cơ bản bổ sung (0,1 - 0,7 mg/l)  $\alpha$ -NAA, 20 g/l sucrose, 6,5 gr/l agar). Sau 6 tuần nuôi, đếm số rễ/cây, đo chiều dài rễ (chỉ đo, đếm các rễ có chiều dài  $\geq 0,5$  cm) và mô tả đặc điểm của rễ.

*Huấn luyện và ra ngôi:*

1) *Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống:* Cây Râu mèo hoàn chỉnh để nguyên trong bình nuôi và đặt dưới ánh sáng tán xạ với thời gian 5, 7 và 10 ngày để cây làm quen với điều kiện tự nhiên. Sau huấn luyện, rễ cây được rửa sạch và trồng vào bầu có giá thể là cát sạch và đặt cây trong nhà lưới, tưới phun 2 lần/ngày theo các công bố trước đây (Nguyễn Văn Việt và cộng sự, 2016; Trần Việt Hà và cộng sự, 2018; Đoàn Thị Thu Hương và cộng sự, 2019). Tỷ lệ sống và đặc điểm sinh trưởng của cây được thống kê sau 6 tuần ra ngôi.

2) *Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống:* Sau khi đã lựa chọn được thời gian huấn luyện cho hiệu quả tốt nhất ở thí nghiệm trên, tiếp tục thử nghiệm trồng cây vào bầu có thành phần giá thể khác nhau (B<sub>1</sub>: 100% đất tầng B; B<sub>2</sub>: 25% trấu hun + 75% đất tầng B; B<sub>3</sub>: 50% trấu hun + 50% đất tầng B; B<sub>4</sub>: 75% trấu hun + 25% đất tầng B; B<sub>5</sub>: 100% trấu hun) và đặt cây trong nhà lưới, tưới phun 2 lần/ngày theo các công bố trước đây (Nguyễn Văn Việt và cộng sự, 2016; Trần Việt Hà và cộng sự, 2018; Đoàn Thị Thu Hương và cộng sự, 2019). Tỷ lệ sống và đặc điểm phát triển của cây con được thống kê sau 6 tuần ra ngôi.

Các thí nghiệm nuôi cấy được bố trí trong các bình tam giác thủy tinh (5 mẫu/bình 250 ml), mỗi công thức thí nghiệm cấy 30 mẫu, lặp lại 3 lần. Các loại môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu dựa trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS (Murashige và Skoog, 1962). Cường độ chiếu sáng của phòng nuôi cấy là 2000 - 3000 lux; thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày; nhiệt độ phòng nuôi:  $25 \pm 2^{\circ}C$ . Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh về pH 5,8; khử trùng ở  $118^{\circ}C$ , trong 20 phút.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SPSS.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Tạo mẫu sạch và tái sinh chồi *in vitro*

Trong các giai đoạn của nhân giống *in vitro*, có thể nói tạo mẫu sạch là giai đoạn khởi đầu và cũng là quan trọng nhất. Bởi vì, chỉ khi có được nguồn mẫu sạch thì mới thực hiện được các giai đoạn tiếp theo của quá trình nhân giống. Tùy thuộc vào từng đối

tượng, từng loài khác nhau mà sử dụng những hóa chất khử trùng cũng như thời gian khử trùng khác nhau nhằm hướng đến mục tiêu cuối cùng là tạo ra được nhiều mẫu sạch nhất có thể. Các hóa chất thường được sử dụng phổ biến trong khử trùng tạo mẫu sạch là: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HgCl<sub>2</sub>, Javen, nước bromine... Trong thí nghiệm này, HgCl<sub>2</sub> 0,1% được sử dụng để khử trùng mẫu với các thời gian khác nhau.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống và khả năng tái sinh chồi**  
(Sau 6 tuần nuôi cấy)

CT TN	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)
	Lần 1	Lần 2		
T <sub>1</sub>	5	0	53,84	46,16
T <sub>2</sub>	7	0	65,21	56,53
T <sub>3</sub>	9	0	93,48	66,34
T <sub>4</sub>	4	5	96,84	93,68
T <sub>5</sub>	5	5	96,97	77,40
Sig			0,0014	0,0025

Mẫu cành cây Râu mèo sau khi làm sạch được khử trùng bằng dung dịch HgCl<sub>2</sub> 0,1% với thời gian khác nhau từ 5 đến 10 phút. Kết quả phân tích cho thấy, dung dịch HgCl<sub>2</sub> 0,1% có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu sạch và tỷ lệ bật chồi (Sig < 0,05). Sau 6 tuần nuôi cấy, tỷ lệ tạo mẫu sạch *in vitro* đạt trên 50%, bằng phương pháp khử trùng kép thì thời gian khử trùng càng dài thì tỷ lệ mẫu sạch càng cao (53,84 - 96,97%) (Bảng 1). Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu sạch càng cao thì tỷ lệ mẫu tái sinh càng giảm, điều này cũng tương đối phù hợp bởi HgCl<sub>2</sub> 0,1% là chất rất độc, nếu khử trùng lâu hóa chất sẽ ngấm vào mô thực vật, làm hỏng hoặc gây độc cho mẫu do đó chồi không thể tái sinh (Nguyễn Quỳnh Trang và cộng sự, 2013; Đoàn Thị Thu Hương và cộng sự, 2019).

Trong nhân giống *in vitro*, tỷ lệ tái sinh chồi cao mới có ý nghĩa nên có thể lựa chọn công thức khử trùng tạo mẫu sạch phù hợp là T<sub>4</sub>, với thời gian khử trùng là 9 phút (lần 1: 4 phút; lần 2: 5 phút), cho tỷ lệ mẫu sạch là 96,84% và tỷ lệ tái sinh chồi là 93,68% (Hình 1a).

#### 3.2. Nhân nhanh chồi cây Râu mèo

Giai đoạn nhân nhanh là giai đoạn quyết

định hiệu quả của nhân giống *in vitro*. Nhân nhanh chồi Râu mèo *in vitro* được thiết kế gồm 9 công thức thí nghiệm với loại và hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) khác nhau và 1 công thức đối chứng không bổ sung chất ĐHST. Kết quả thu được trình bày ở bảng 2.

Kết quả nghiên cứu (Bảng 2) cho thấy rằng sau thời gian nuôi cấy trên các môi trường cảm ứng tạo cụm chồi có bổ sung chất ĐHST, các mẫu cấy đều tái sinh chồi tốt nhưng với tỷ lệ khác nhau. Hệ số nhân nhanh chồi dao động từ 1,10 đến 17,44 lần/chu kỳ nhân và tỷ lệ chồi hữu hiệu dao động từ 37,69 - 76,75% (Hình 1b,c). Trong khi đó, ở công thức đối chứng chỉ cho hệ số nhân chồi rất thấp (1,1 lần/chu kỳ nhân) và tỷ lệ chồi hữu hiệu chỉ đạt 37,69%. Trong các công thức thí nghiệm, nhận thấy môi trường dinh dưỡng MS bổ sung 0,5 mg/l 6-BAP, 0,3 mg/l Kinetin và 0,1 mg/l α-NAA cho hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu cao nhất (17,44 lần/chu kỳ nhân và 76,75% chồi hữu hiệu) (Hình 1c). Kết quả kiểm tra thống kê cũng cho thấy, chất ĐHST có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân nhanh và tỷ lệ chồi hữu hiệu (Sig = 0,0001 < 0,05). Như vậy, có thể chọn

công thức thí nghiệm M<sub>2</sub> (Môi trường MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/l 6-BAP; 0,3 mg/l Kinetin; 0,1 mg/l α-NAA) là môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi Râu mèo.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất ĐHST đến nhân nhanh chồi**  
(Sau 6 tuần nuôi cấy)

CT TN	Nồng độ chất ĐHST (mg/L)			Hệ số nhân nhanh (lần)	Tỷ lệ chồi hữu hiệu (%)	Đặc điểm chồi tái sinh
	6-BAP	Kinetin	α-NAA			
M <sub>1</sub>	0,3	0,3	0,1	9,32 ± 0,01 <sup>cd</sup>	57,20	+++
M <sub>2</sub>	0,5	0,3	0,1	17,44 ± 0,05 <sup>c</sup>	76,75	+++
M <sub>3</sub>	0,7	0,3	0,1	9,79 ± 0,06 <sup>d</sup>	63,52	+++
M <sub>4</sub>	0,3	0,3	-	7,61 ± 0,03 <sup>c</sup>	56,14	++
M <sub>5</sub>	0,3	-	0,1	7,88 ± 0,03 <sup>c</sup>	57,60	++
M <sub>6</sub>	0,5	0,3	-	10,16 ± 0,04 <sup>d</sup>	60,86	+++
M <sub>7</sub>	0,5	-	0,1	8,92 ± 0,02 <sup>cd</sup>	60,96	++
M <sub>8</sub>	0,7	0,3	-	5,08 ± 0,01 <sup>bc</sup>	52,04	+
M <sub>9</sub>	0,7	-	0,1	4,61 ± 0,02 <sup>b</sup>	57,04	+
ĐC	-	-	-	1,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	37,69	+
Sig				0,0001	0,0001	

Chú thích: +: Chồi mảnh, còi, yếu; ++: Chồi mập, xanh, khỏe; +++: Chồi cao, thân mập, xanh tốt, nhiều chồi.

### 3.3. Ra rễ - tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi hữu hiệu có chiều cao ≥ 2,5 cm được cắt và cấy trên môi trường ra rễ có bổ

sung chất điều hòa sinh trưởng α-NAA với hàm lượng khác nhau. Sau 6 tuần nuôi cấy, kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ α-NAA đến khả năng ra rễ**  
(Sau 6 tuần nuôi cấy)

CT TN	α-NAA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB/cây (rễ)	Chiều dài rễ TB (cm)	Đặc điểm rễ
R <sub>0</sub>	0	19,68	0,39 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,01 <sup>a</sup>	Rễ yếu, rất ít
R <sub>1</sub>	0,1	65,56	1,54 ± 0,02 <sup>bc</sup>	2,33 ± 0,02 <sup>c</sup>	Rễ nhỏ, ngắn, ít
R <sub>2</sub>	0,3	96,70	3,77 ± 0,02 <sup>d</sup>	3,90 ± 0,02 <sup>d</sup>	Rễ mập, dài, nhiều
R <sub>3</sub>	0,5	86,81	2,51 ± 0,01 <sup>c</sup>	3,40 ± 0,03 <sup>cd</sup>	Rễ nhỏ, ít
R <sub>4</sub>	0,7	60,00	1,01 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,80 ± 0,01 <sup>b</sup>	Rễ nhỏ, yếu, ít
Sig		0,0001	0,0001	0,0001	

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3) cho thấy, tất cả các môi trường đều cho ra rễ với tỷ lệ khác nhau kể cả môi trường không bổ sung chất ĐHST (ĐC). Phân tích thống kê cho thấy α-NAA có ảnh hưởng rõ rệt đến các chỉ tiêu của quá trình ra rễ (Sig = 0,0001 < 0,05), cụ thể ở các công thức môi trường R<sub>1-4</sub> là môi trường dinh dưỡng cơ bản MS có bổ sung (0,1 – 0,7 mg/l) α-NAA đều cho tỷ lệ ra rễ tương đối cao,

dao động từ 65,56% đến 96,70%, số rễ trung bình/cây đạt 1,01 – 3,77 rễ và chiều dài rễ trung bình đạt 1,80 – 3,90 cm (Hình 1d,e). Trong đó, tỷ lệ chồi ra rễ, chiều dài rễ và số rễ trung bình/cây cao nhất là ở công thức môi trường R<sub>2</sub> bổ sung 0,3 mg/l α-NAA (Hình 1e).

### 3.4. Huấn luyện và ra ngôi

#### 3.4.1. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống của cây Râu mèo

Huấn luyện cây là một giai đoạn quan trọng giúp cây thích nghi, làm quen với các điều kiện tự nhiên trước khi đưa cây đi trồng ngoài vườn ươm hay đưa vào sản xuất. Kết quả thí nghiệm

nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến khả năng sống của cây Râu mèo *in vitro* được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống cây Râu mèo**  
(Sau 6 tuần ra ngôi)

CT TN	Số ngày huấn luyện (ngày)	Số cây huấn luyện (cây)	Tỷ lệ cây sống (%)	Đặc điểm cây giống
T <sub>0</sub>	0	89	34,05	+
T <sub>1</sub>	5	93	59,14	++
T <sub>2</sub>	7	91	89,03	+++
T <sub>3</sub>	10	91	96,70	+++
Sig			0,0001	

Chú thích: +: Cây xanh, còi, yếu; ++: Cây xanh, cứng cáp; +++: Cây thân mập, xanh tốt, khỏe mạnh

Kết quả thí nghiệm (Bảng 4) cho thấy, thời gian huấn luyện có ảnh hưởng đến khả năng sống của cây Râu mèo *in vitro*. Khi huấn luyện cây với thời gian 0, 5, 7 và 10 ngày đã cho tỷ lệ cây sống khác nhau, ở công thức T<sub>0</sub> cho tỷ lệ số cây sống thấp nhất (34,05%), khi thời gian huấn luyện cây tăng thì tỷ lệ cây sống cũng tăng lên, thời gian huấn luyện 10 ngày cho tỷ lệ sống cao nhất (96,70%), cây sinh trưởng tốt. Kết quả phân tích thống kê cho thấy thời gian huấn luyện khác nhau đã ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống (Sig = 0,0001 < 0,05).

### 3.4.2. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống của cây con

Thành phần ruột bầu phải vừa có khả năng giữ nước cho cây con, giúp cây con hút chất dinh dưỡng nhưng cũng đồng thời thoáng khí để cây con không bị thối rễ (Bùi Văn Thắng và cộng sự, 2016). Các cây Râu mèo *in vitro* được tạo ra trên môi trường cảm ứng ra rễ được huấn luyện 10 ngày và trồng vào bầu với các giá thể khác nhau. Tỷ lệ sống và đặc điểm sinh trưởng của cây được thu thập sau 6 tuần và được trình bày ở bảng 5.

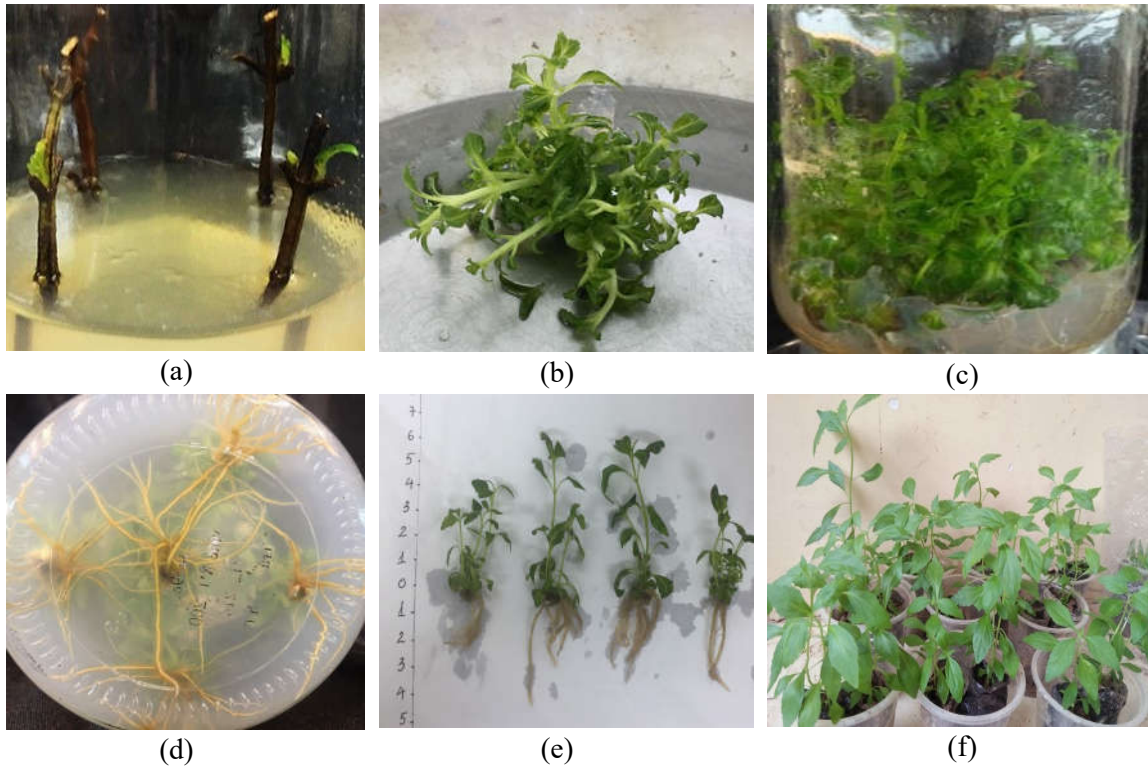
**Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và sinh trưởng cây Râu mèo**  
(Sau 6 tuần ra ngôi)

CT TN	Thành phần ruột bầu	Số cây thí nghiệm	Tỷ lệ cây sống (%)	Tăng trưởng chiều cao (cm)	Đặc điểm của cây giống
B <sub>1</sub>	100% Đất tầng B	91	58,24	1,37 ± 0,03 <sup>a</sup>	Sinh trưởng chậm, lá xanh, thân yếu
B <sub>2</sub>	25% trấu hun + 75% đất tầng B	91	76,92	3,53 ± 0,01 <sup>c</sup>	Sinh trưởng chậm, lá xanh
B <sub>3</sub>	50% trấu hun + 50% đất tầng B	92	97,85	6,60 ± 0,02 <sup>d</sup>	Sinh trưởng nhanh, lá xanh tươi, khỏe mạnh
B <sub>4</sub>	75% trấu hun + 25% đất tầng B	92	81,51	4,30 ± 0,03 <sup>d</sup>	Sinh trưởng chậm, lá xanh, khỏe mạnh
B <sub>5</sub>	100% trấu hun	92	70,65	2,40 ± 0,04 <sup>b</sup>	Sinh trưởng chậm, lá xanh, thân yếu
Sig			0,0001	0,0001	

Chú thích: các ký tự a, b, c... trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê.

Kết quả nghiên cứu (Bảng 5) cho thấy công thức B<sub>3</sub> cho tỷ lệ cây sống và chiều cao trung bình/cây lớn nhất, lần lượt là 97,85% và 6,60 cm. Ở công thức thí nghiệm B<sub>1</sub> cho tỷ lệ sống thấp nhất (58,24%) và chiều cao trung bình/cây cũng kém nhất (1,37 cm). Thành phần ruột bầu

thích hợp nhất là ở công thức B<sub>3</sub> với thành phần 50% trấu hun và 50% đất tầng B (Hình 1f). Kết quả phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ sống và khả năng sinh trưởng giữa các công thức thí nghiệm có ý nghĩa (Sig = 0,0001 < 0,05).



**Hình 1. Cây Râu mèo qua các giai đoạn trong quy trình nhân giống in vitro**

Ghi chú: a) Mẫu sạch tái sinh chồi; b) Cụm chồi trên M<sub>2</sub>; c) Nhân nhanh chồi trên M<sub>2</sub>; d) Ra rễ trên R<sub>2</sub>; e) Cây Râu mèo hoàn chỉnh từ môi trường R<sub>2</sub>; f) Cây Râu mèo trồng trong bầu sau 6 tuần

#### 4. KẾT LUẬN

Quy trình nhân giống cây Râu mèo đã được nghiên cứu thành công: Cảnh bán tế cây Râu mèo được khử trùng bằng HgCl<sub>2</sub> 0,1% với thời gian 9 phút (lần 1: 4 phút, lần 2: 5 phút) cho tỷ lệ mẫu sạch và nảy chồi lần lượt là 96,84% và 93,68%. Nhân nhanh chồi Râu mèo bằng môi trường MS cơ bản bổ sung 0,5 mg/l 6-BAP; 0,3 mg/l Kinetin; 0,1 mg/l α-NAA, hệ số nhân nhanh đạt 17,44 lần sau 6 tuần nuôi cấy, tỷ lệ chồi hữu hiệu đạt 76,75%. Kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh với môi trường MS cơ bản bổ sung 0,3 mg/l α-NAA, cho tỷ lệ ra rễ là 96,7%, số rễ trung bình/cây là 3,77 và chiều dài rễ trung bình là 3,90 cm. Thời gian huấn luyện 10 ngày và trồng trên giá thể là 50% trấu hun và 50% đất tầng B cho tỷ lệ sống đạt 97,85%,

tăng trưởng chiều cao cây đạt 6,6 cm sau 6 tuần ra ngôi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Văn Thắng, Cao Thị Việt Nga, Vùi Văn Kiên, Nguyễn Văn Việt (2016). Nhân giống cây Đàng sâm (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 4: 3 – 9.
2. Đoàn Thị Thu Hương, Nguyễn Văn Việt, Nguyễn Thị Huyền, Trần Việt Hà (2019). Hoàn thiện quy trình nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy in vitro. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 1: 25-31.
3. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. *NXB Khoa học và Kỹ thuật*.

4. Jayakumar S, Ramalingam R (2013). Influence of additives on enhanced *in vitro* shoot multiplication of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *Not Sci Biol*, 5 (3): 338-345.

5. Murashige T and Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant*, 15: 473 - 497.

6. Nguyễn Ngọc Hồng, Huỳnh Ngọc Thụy (2012). Tác dụng bảo vệ gan của cao chiết ethyl acetate từ cây Nghê lông dày (*Polygonum tomentosum* Willd.) và Râu mèo (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.) trên mô hình gan chuột bị gây độc mãn tính bằng carbon tetrachloride. *Tạp chí sinh học*, 34 (3SE): 313 - 318.

7. Nguyễn Quỳnh Trang, Vũ Thị Huệ, Khuất Thị Hải Ninh, Nguyễn Thị Thơ (2013). Nhân giống *in vitro* lan Phi điệp tím. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 3 (1): 16 - 21.

8. Nguyễn Văn Việt, Nguyễn Thị Hương, Bùi Văn Thắng (2016). Nhân giống cây Khôi tía (*Ardisia sylvestris* Pitard) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí*

*Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, 12: 35 - 39

9. Phạm Thị Thúy, Vũ Văn Thông, Vũ Phạm Thảo Vy (2019). Định lượng một số hợp chất trong dược liệu Râu mèo (*Orthosiphon stamneus* Benth) thu hái tại tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học và công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 194 (01): 189 -193.

10. Reshi N.A, Sudarshana M.S and Rajashekar N (2013). Callus induction and plantlet regeneration in *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. A Potent Medicinal Herb. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 3 (6): 52 - 55.

11. Reshi N.A and Sudarshana M.S (2015). *In vitro* micropropagation of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9 (37): 962 - 967.

12. Trần Việt Hà, Nguyễn Văn Việt, Đoàn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Huyền, Đinh Văn Hùng, Sounthone Douangmala (2018). Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* trong nhân giống gừng gió (*Zingiber zerumbet*). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 6: 10 - 16.

## **IN VITRO MICROPROPAGATION OF *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.**

**Tran Viet Ha<sup>1</sup>, Chu Si Cuong<sup>2</sup>, Ngo Thi Phan<sup>1</sup>, Doan Thi Thu Huong<sup>1</sup>, Nguyen Van Viet<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Vietnam National University of Forestry*

<sup>2</sup>*Traditional Medicine Hospital, Ministry of Public Security*

### **SUMMARY**

*Orthosiphon aristatus* is a highly medicinal medicinal plant currently overexploited, leading to a depleted genetic resource. Complete the breeding process of *Orthosiphon aristatus* by *in vitro* culture techniques has been successfully researched. The results showed that buds were surface sterilized by rinsing in ethanol 70% for 1 minutes, after that in 0.1% HgCl<sub>2</sub> solution for 9 minutes and then culturing the explants on Murashige and Skoog (MS) medium with 30 gr/l sucrose và 6 gr/l agar the survival rate was 96.84%. MS medium supplemented with 0.5 mg/l 6-Benzyl amino purine (6-BAP), 0.3 mg/l Kinetin, 0.1 mg/l  $\alpha$ -Naphthalen acetic acid ( $\alpha$ -NAA), 30 gr/l sucrose and 6 gr/l agar was favourable for initial culturing, the rate of buds forming was 76.75% and the multiplication coefficient was 17.44 times/cycle after 6 weeks cultured. The MS medium containing 0.5 mg/L  $\alpha$ -NAA, sucrose 20 gr/l and agar 6 gr/l was found to be suitable for root induction which resulted in 96.70% of shoots producing roots. The average number of roots and average root length per plantlet were 3.77 and 3.90 cm, respectively. The plantlets were successfully acclimatized after 6 weeks being planted in mixture of soils and sands. This breeding process has the scientific meaning to help preserve and develop the *Orthosiphon aristatus* plant, simultaneously can be applied practice to serve the production of high quality seedlings, meeting the needs of current.

**Keywords:** *In vitro* culture, multi-shoot renegeration, *Orthosiphon aristatus*.

**Ngày nhận bài** : 03/7/2019

**Ngày phản biện** : 04/10/2019

**Ngày quyết định đăng** : 11/10/2019