

Tìm hiểu các biến đổi về hình thái và sinh lý trong quá trình phát triển của lông tiết hình khiên trên lá cây Hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.)

Phan Xuân Anh^{1,2}, Trần Thanh Hương^{2,*}, Bùi Trang Việt²



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Ở cây Hương nhu tía, tinh dầu là sản phẩm chính và hiện diện chủ yếu trong lông tiết hình khiên. Chính vì vậy, các biến đổi hình thái và sinh lý trong quá trình phát triển của lông tiết hình khiên đặc biệt là sự tích lũy tinh dầu rất được quan tâm. Trong bài này, các biến đổi hình thái trong quá trình phát triển của lông tiết hình khiên trên lá, mối liên hệ giữa sự tăng trưởng lá và phát triển của lông tiết hình khiên, và các biến đổi sinh lý trong quá trình phát triển lá của cây Hương nhu tía trồng trong vườn được phân tích. Các lông tiết được hình thành rất sớm trên các sơ khởi lá và được tạo mới liên tục. Sự phát triển của lông tiết trải qua 4 giai đoạn chính: tượng, định dạng, tạo khoang tiết và tích lũy tinh dầu. Sự hình thành lông tiết bắt đầu vào đầu giai đoạn lá tăng trưởng nhanh trong khi sự tích lũy tinh dầu bắt đầu vào đầu giai đoạn lá tăng trưởng chậm và tăng mạnh khi lá ngừng tăng trưởng. Cường độ quang hợp và hô hấp của lá gia tăng rất mạnh trong giai đoạn lá tăng trưởng nhanh. Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật, đặc biệt là auxin và cytokinin, trong lá rất cao vào đầu giai đoạn tăng trưởng nhanh trong khi ở cuối giai đoạn tăng trưởng nhanh chỉ có hoạt tính gibberellin gia tăng. Xử lý acid gibberellic 1 mg/L giúp gia tăng chiều dài nhánh, diện tích lá và hàm lượng tinh dầu trong cây.

Từ khóa: Hương nhu tía, lông tiết, *Ocimum sanctum* L., tích lũy tinh dầu

MỞ ĐẦU

Cây Hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.) là loài thảo lâu năm, chứa tinh dầu với hơn 70% là eugenol, được sử dụng lâu đời trong ẩm thực và y học¹. Tinh dầu Hương nhu tía được sinh tổng hợp trong lông tiết, đặc biệt là lông tiết hình khiên² để chống lại các tác động bất lợi từ môi trường³. Các nghiên cứu về cây Hương nhu tía chủ yếu tập trung vào phân tích thành phần tinh dầu, tìm hiểu về tinh dầu trong trị liệu. Vài nghiên cứu gần đây cho thấy xử lý stress bằng cách sử dụng tia UV hay kim loại nặng có thể giúp gia tăng hàm lượng các chất chống oxid hóa và eugenol trong cây^{4,5}. Nghiên cứu này tập trung vào phân tích các biến đổi hình thái của lông tiết, mối liên hệ giữa sự phát triển của lông tiết và lá, đồng thời phân tích các biến đổi sinh lý của lá ở các thời điểm phát triển khác nhau nhằm làm cơ sở cho việc xử lý gia tăng hàm lượng tinh dầu trong cây.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Hột Hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.) từ cây được cung cấp bởi Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Theo dõi các biến đổi hình thái trong quá trình phát triển của lông tiết trên lá của cây Hương nhu tía

Hột Hương nhu tía được cho nảy mầm và trồng trong vườn thực nghiệm có nhiệt độ 23–37°C, cường độ ánh sáng 25.000–35.000 lux. Khi cây đạt 4 tuần tuổi, các biến đổi hình thái trong quá trình phát triển của lông tiết trên lá được theo dõi nhờ sự cắt bằng tay ngang qua gân lá thứ ba hay cắt bằng máy vi phẫu dọc qua chồi ngọn và quan sát dưới kính hiển vi quang học (CKX41, Olympus, Japan).

Sự cắt bằng máy vi phẫu được thực hiện như sau: chồi ngọn được cố định trong dung dịch FAA, loại nước nhờ các dung môi hữu cơ, vùi trong parafin, cắt dọc bằng máy vi phẫu, loại parafin^{6,7}.

Sự hiện diện của khoang chứa tinh dầu được quan sát ở mẫu cắt bằng tay, dưới kính hiển vi huỳnh quang (CKX41, Olympus, Japan), ở bước sóng 460–490 nm sau khi nhuộm lát cắt với dung dịch Nile red 0,5 mg/L, trong 30 phút, ở điều kiện tối.

Tìm hiểu mối liên hệ giữa sự tăng trưởng lá và phát triển của lông tiết

Cây Hương nhu tía được trồng từ hạt, trên giá thể gồm phân bò hoại mục và đất sạch Tribat (24,91% chất

¹Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Trần Thanh Hương, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: trthuong@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 18-6-2021
- Ngày chấp nhận: 17-9-2021
- Ngày đăng: 06-11-2021

DOI: 10.32508/stdjns.v5i4.1089



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Anh P X, Hương T T, Việt B T. **Tìm hiểu các biến đổi về hình thái và sinh lý trong quá trình phát triển của lông tiết hình khiên trên lá cây Hương nhu tía (*Ocimum sanctum* L.).** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(4):1633-1641.

hữu cơ; 14,45% chất mùn; 0,73% K_2O ; 0,30% P_2O_5 ; pH 5,8–6,5) với tỉ lệ 1:9 (theo thể tích). Khi lá thứ ba (tính từ gốc) hình thành được 1 tuần (lúc này cây đạt 4 tuần tuổi), đo diện tích lá và đếm số lượng lông tiết trên lá ở các giai đoạn phát triển khác nhau theo thời gian, trực tiếp dưới kính hiển vi soi nổi hay kính hiển vi quang học sau khi thực hiện các lát cắt ngang qua vị trí giữa lá. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 mẫu.

Phân tích các biến đổi sinh lý của lá trong các giai đoạn phát triển lông tiết khác nhau

Đo cường độ quang hợp và hô hấp

Sự thay đổi cường độ quang hợp ($\mu M O_2/cm^2$ lá/phút) và cường độ hô hấp ($\mu M O_2/g$ trọng lượng tươi/phút) của lá thứ ba của cây Hương nhu tía trồng trong vườn được xác định theo thời gian, dựa trên sự thay đổi nồng độ oxygen trong buồng đo (máy LeafLab2, Hansatech), ở nhiệt độ $28 \pm 0,2^\circ C$, trong tối khi đo hô hấp và chiếu sáng ở cường độ 19.000 lux khi đo quang hợp. Sự đo được lặp lại 3 lần, mỗi lần 3 lá, mỗi lá được đo 1 lần chiếu sáng và 1 lần không chiếu sáng.

Đo hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật

Hoạt tính auxin, cytokinin, gibberellin và acid abscisic có trong 1 g lá thứ ba ở các giai đoạn phát triển khác nhau được ly trích và cô lập bằng cách dùng các dung môi thích hợp, thay đổi pH và sắc ký bản mỏng (silicagel, F254), ở $30^\circ C$, với hỗn hợp dung môi di chuyển là chloroform: methanol: acid acetic (80:15:5 theo thể tích). Vị trí của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trên bản sắc ký được phát hiện bằng cách quan sát trực tiếp dưới tia UV⁷, Hoạt tính các chất được ước lượng nhờ phương pháp sinh trắc nghiệm: dùng diệp tiêu lúa (*Oryza sativa* L.) cho auxin và acid abscisic, từ diệp dưa leo (*Cucumis sativus* L.) cho cytokinin và thân mầm xà lách (*Lactuca sativa* L.) cho gibberellin⁸.

Áp dụng chất điều hòa tăng trưởng thực vật nhằm làm tăng sự tích lũy tinh dầu

Cây Hương nhu tía 9 tuần tuổi trồng trong vườn được bấm ngọn và xử lý bằng cách phun nước (đối chứng) hoặc dung dịch acid gibberellic (GA_3) 1 mg/L (2 lần hoặc 9 lần, mỗi lần cách nhau 4 ngày) vào phần trên mặt đất của cây (50 mL/cây), tại thời điểm 16 giờ trong ngày. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần gồm 3 cây. Sau 14 ngày kể từ lần phun thứ chín (cây đạt 16 tuần tuổi) xác định số cặp lá hình thành, diện tích của các lá trên nhánh và chiều dài nhánh.

Sau đó, tiến hành thu phần trên mặt đất của cây và xác định lượng tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước tại Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường (Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh). Hàm lượng tinh dầu (%) được tính theo khối lượng (g/100 g mẫu tươi).

Xử lý thống kê

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab (Phiên bản 16.0 cho Windows), phân hạng theo phương pháp Turkey's với sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05.

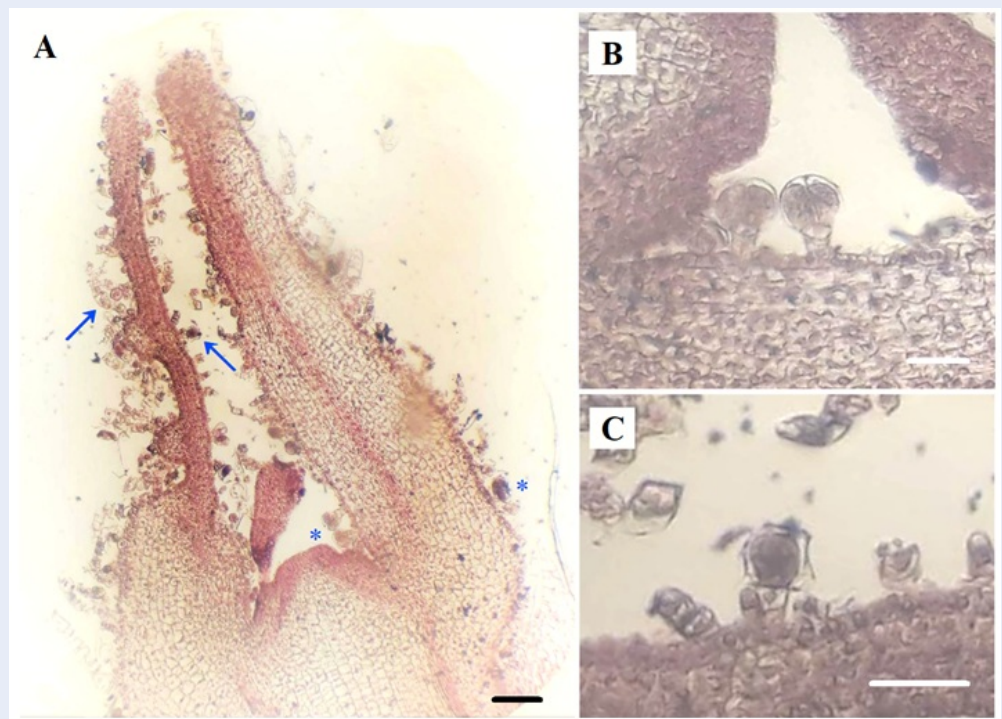
KẾT QUẢ

Sự phát triển của lông tiết trên lá

Cây Hương nhu tía có hai dạng lông tiết: lông tiết hình khiên (Hình 1, A và B) và lông tiết hình đầu (Hình 1, A và C), xuất hiện rất sớm trên các sơ khởi lá (lá chưa mở) (Hình 1A). Lông tiết hình khiên có vùng tế bào tiết to với nhiều tế bào trong khi lông tiết hình đầu thuôn dài với một tế bào tiết. Sự phát triển của lông tiết hình khiên trải qua 4 giai đoạn: (i) Tương lông tiết: các tế bào biểu bì sẽ phát triển thành lông tiết chuyển sang dạng tương đối tròn với phần đỉnh nhô lên (Hình 2A) và phân chia theo hướng song song với bề mặt tế bào biểu bì thành dạng hai tế bào (Hình 2B). Ở giai đoạn này chưa phân biệt được lông tiết hình khiên hay hình đầu (ii) Định dạng lông tiết: bắt đầu khi lông tiết có đủ ba phần (tương ứng với tế bào chân ở vị trí biểu bì, tế bào cuống vuông góc với biểu bì và tế bào tiết ở phần đầu) (Hình 2C) và kết thúc khi tế bào tiết phân chia thành 4 tế bào (để hình thành lông tiết hình khiên với 6 tế bào); (iii) Hình thành khoang tiết: tế bào tiết ngừng phân chia, khoang tiết xuất hiện (Hình 2, D và G) và lớn dần (iv) Tích lũy tinh dầu: tinh dầu được tổng hợp ở các tế bào lông tiết và vận chuyển vào khoang tiết (Hình 2E) làm khoang tiết có màu vàng dưới kính hiển vi soi nổi (Hình 2H) trên một lá, ở một thời điểm, luôn luôn có nhiều dạng lông tiết ở các giai đoạn phát triển khác nhau; khi tích lũy tinh dầu, màu vàng sáng đậm trong khoang tiết trở nên rõ rệt dưới kính hiển vi (Hình 2F) và khoang tiết khá dễ vỡ khi chịu tác động cơ học (Hình 2I).

Mối liên hệ giữa sự tăng trưởng của lá và phát triển của lông tiết hình khiên

Diện tích của lá thứ ba gia tăng liên tục theo thời gian, tăng mạnh từ tuần 1 đến tuần 3 và đạt cao nhất vào tuần 4 (Hình 3 và Hình 4). Khi lá 1 tuần tuổi, số lông tiết trên lát cắt ngang lá ít. Khi lá 2 tuần tuổi, số lông tiết tăng mạnh, đặc biệt là lông tiết ở giai đoạn định dạng (giai đoạn II). Vào tuần 3, lá bước vào giai đoạn



Hình 1: Lông tiết hiện diện trên sơ khởi lá của cây Hương nhu tía 4 tuần tuổi được trồng trong vườn. (A) Chỗ ngọn cây Hương nhu tía với lông tiết dạng hình khiên (*) và hình đầu (mũi tên), thanh ngang 100 μm ; (B) Lông tiết hình khiên, thanh ngang 25 μm ; (C) Lông tiết hình đầu, thanh ngang 25 μm

tăng trưởng chậm, số lông tiết ở giai đoạn hình thành khoang tiết (giai đoạn III) tăng mạnh, lông tiết giai đoạn tích lũy tinh dầu (giai đoạn IV) xuất hiện với số lượng nhỏ. Tại thời điểm tuần 4, khi lá ngừng tăng trưởng, số lông tiết có tích lũy tinh dầu tăng mạnh (Bảng 1).

Biến đổi quang hợp, hô hấp và hoạt tính của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật của lá trong quá trình phát triển lông tiết

Lá thứ ba tính từ gốc của cây Hương nhu tía có cường độ quang hợp và hô hấp tăng dần theo thời gian từ tuần 1 và đạt cao nhất vào tuần 4 (Bảng 2). Hoạt tính của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật, đặc biệt là auxin và cytokinin rất cao vào giai đoạn lá mới hình thành (tuần 1), sau đó giảm mạnh. Chỉ có hoạt tính gibberellin là gia tăng vào thời điểm lá có lông tiết bắt đầu tích lũy tinh dầu (tuần 3) (Bảng 3).

Ảnh hưởng của chất điều hòa tăng trưởng lên sự tích lũy tinh dầu ở cây Hương nhu tía

Sau khi bấm ngọn, 2 chồi bên gần ngọn của tất cả các mẫu đều phát triển nhanh tạo thành các nhánh mới.

Sau 14 ngày kể từ lần phun thứ chín, mỗi nhánh có 5–6 cặp lá. Xử lý với GA_3 1 mg/L (phun 2 hay 9 lần) không làm thay đổi số cặp lá trên nhánh mới nhưng giúp gia tăng chiều dài nhánh mới, diện tích của các lá và hàm lượng tinh dầu trong cây. Khi xử lý GA_3 9 lần, nhánh mới dài nhất, diện tích lá tăng mạnh, phát hoa xuất hiện sớm hơn và hàm lượng tinh dầu trong cây rất cao, nhiều hơn ba lần so với đối chứng (Bảng 4, Hình 5).

THẢO LUẬN

Lông tiết xuất hiện trên lá Hương nhu tía từ rất sớm, gồm hai loại là lông tiết hình khiên và hình đầu (Hình 1). Lông tiết có cấu trúc gồm 3 phần và đặc biệt là khoang tiết tinh dầu. Để trở thành một lông tiết hoàn chỉnh, tế bào sơ khởi lông tiết cần trải qua bốn giai đoạn phát triển: tượng, định dạng, hình thành khoang tiết và tích lũy tinh dầu (Hình 2). Ở giai đoạn tượng lông tiết, sơ khởi lông tiết được xác định là tế bào biểu bì thay đổi hình dạng và có sự nhọn lên về hướng vuông góc với biểu bì. Đối với cây Hương nhu tía, sự hình thành của cả hai loại lông tiết (hình khiên và hình đầu) đều bắt nguồn từ một tế bào biểu bì được xác định sẽ trở thành lông tiết⁹. Khi xuất hiện khoảng tiết, lông tiết hình khiên có kích thước to hơn nhiều

Bảng 1: Số lượng lông tiết hình khiên ở các giai đoạn trên lá thứ ba tính từ gốc của cây Hương nhu tía theo thời gian

Tuổi lá (tuần)		1	2	3	4	5
Tổng số lông tiết trên lá ở các giai đoạn (x10 ³)	III	8,33 ^d	13,21 ^c	24,39 ^b	28,04 ^a	23,22 ^b
	IV	-	-	4,25 ^c	17,78 ^b	23,51 ^a
	III và IV	8,33 ^d	13,21 ^c	28,64 ^b	45,82 ^a	46,73 ^a
Số lông tiết trên lát cắt ngang lá ở các giai đoạn	II	17,56 ^d	77,33 ^a	65,11 ^b	44,78 ^c	43,00 ^c
	III và IV	20,89 ^{bc}	39,33 ^a	22,44 ^b	12,44 ^d	16,89 ^{cd}
	II, III và IV	38,22 ^d	116,67 ^a	87,56 ^b	57,22 ^c	59,89 ^c
Mật độ lông tiết (số lông tiết/mm ²) ở các giai đoạn	III	42,89 ^a	36,00 ^c	41,44 ^{ab}	42,89 ^a	38,00 ^{bc}
	IV	-	-	7,22 ^c	27,22 ^b	38,56 ^a
	III và IV	42,89 ^d	36,00 ^e	48,67 ^b	70,11 ^a	76,56 ^a

Các giá trị trong cùng một hàng với các mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức p=0,05 (-) Chưa quan sát thấy lông tiết (II) Giai đoạn định dạng lông tiết; (III) Giai đoạn hình thành khoang tiết (IV) Giai đoạn khoang tiết tích lũy tinh dầu.

Bảng 2: Cường độ quang hợp và hô hấp của lá thứ ba ở các thời điểm trên nhánh cấp 1 của cây Hương nhu tía ở vườn thực nghiệm

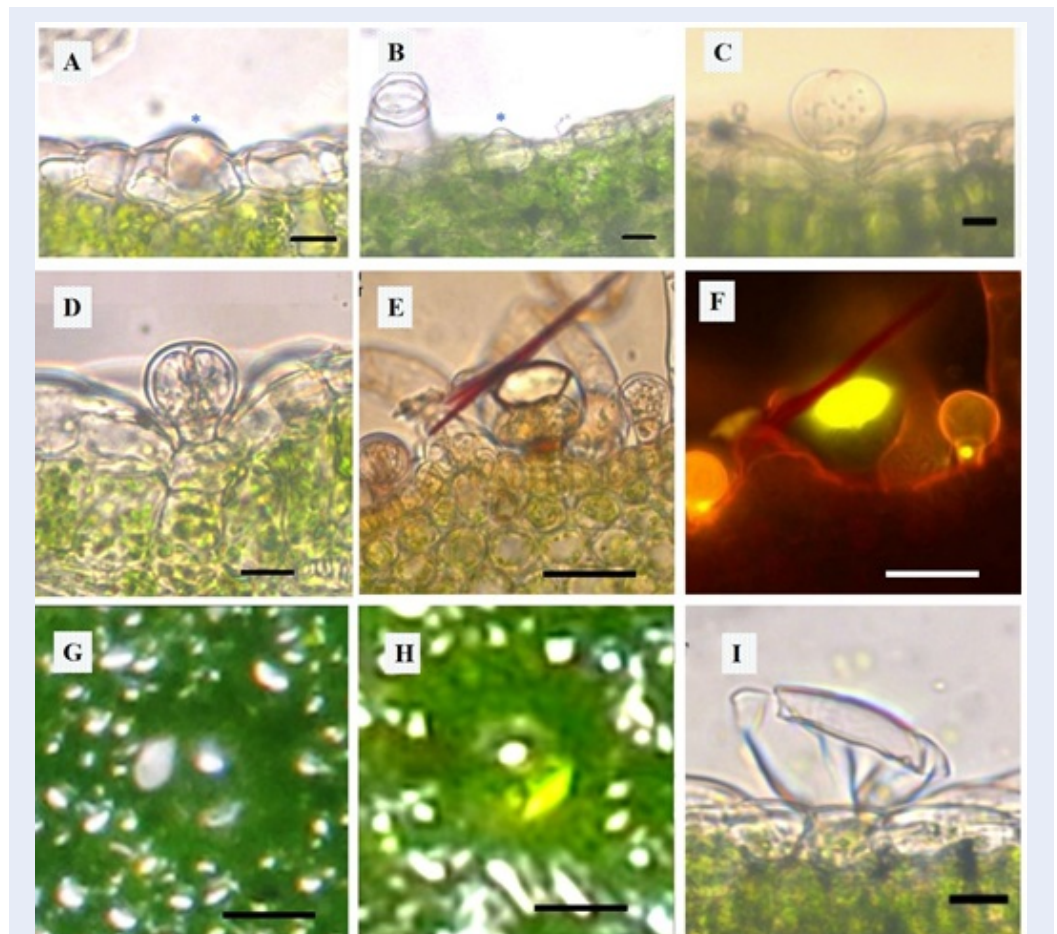
Tuổi lá (tuần)	Trạng thái lá	Trạng thái lông tiết	Cường độ quang hợp (μmol O ₂ /cm ² /phút)	Cường độ hô hấp (μmol O ₂ /g TLT/phút)
1	Tăng trưởng nhanh	Định dạng	0,27 ^d	1,34 ^d
2	Tăng trưởng nhanh	Bắt đầu hình thành khoang tiết	0,36 ^c	5,51 ^c
3	Tăng trưởng chậm	Bắt đầu tích lũy tinh dầu	0,40 ^b	7,24 ^b
4	Ngừng tăng trưởng	Tích lũy tinh dầu tăng	0,42 ^a	8,78 ^a

Các giá trị trong cùng một cột với các mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức p=0,05.

Bảng 3: Hoạt tính theo thời gian các hợp chất điều hòa tăng trưởng thực vật ở lá thứ ba của cây Hương nhu tía được trồng trong vườn

Tuổi lá (tuần)	Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)			
	Auxin	Cytokinin	Gibberellin	Acid abscisic
1	0,83 ^a	0,85 ^a	0,21 ^a	0,36 ^a
2	0,12 ^b	0,12 ^b	0,11 ^c	0,11 ^b
3	0,13 ^b	0,14 ^b	0,16 ^b	0,13 ^b
4	0,19 ^b	0,22 ^b	0,11 ^c	0,11 ^b

Các giá trị trong cùng một cột với các mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức p=0,05.

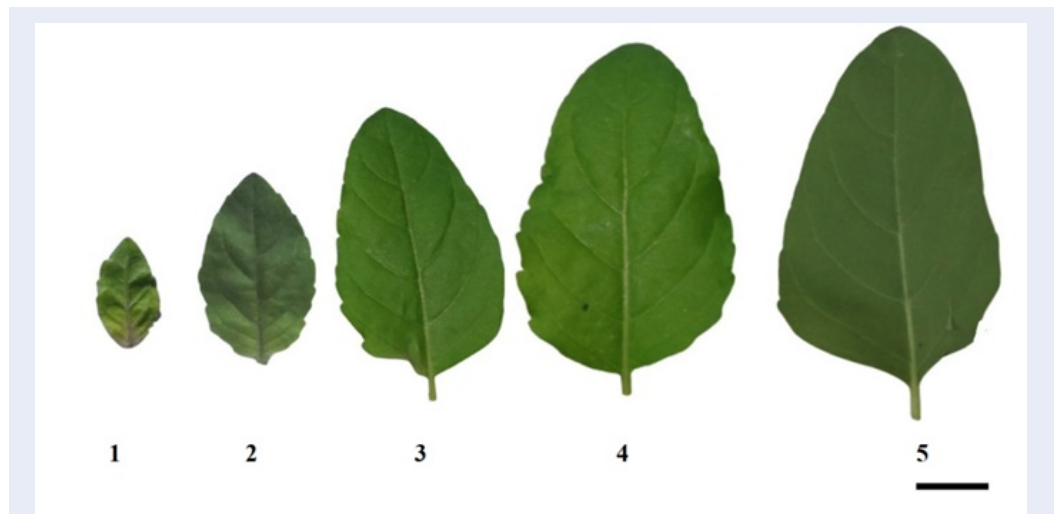


Hình 2: Sự hình thành và phát triển của lông tiết hình khiên ở lá cây Hương nhu tía 4 tuần tuổi được trồng trong vườn. (A, B) Lông tiết ở giai đoạn I với 1 (A) và 2 (B) tế bào, thanh ngang 10 μm ; (C) Lông tiết ở giai đoạn II với 3 tế bào: tế bào tiết, tế bào cuống và tế bào chân, thanh ngang 10 μm ; (D, G) Lông tiết ở giai đoạn III vừa xuất hiện khoang tiết dưới kính hiển vi quang học (D) và soi nổi (G), thanh ngang 20 μm ; (E, F, H) Lông tiết đã có khoang tiết và giọt dầu dưới kính hiển vi quang học (E), huỳnh quang (F) và soi nổi (H), thanh ngang 50 μm ; (I) Lông tiết bị vỡ chỉ còn tế bào chân, tế bào cuống và lớp cutin bị rách; (*) Tế bào sẽ phát triển thành lông tiết

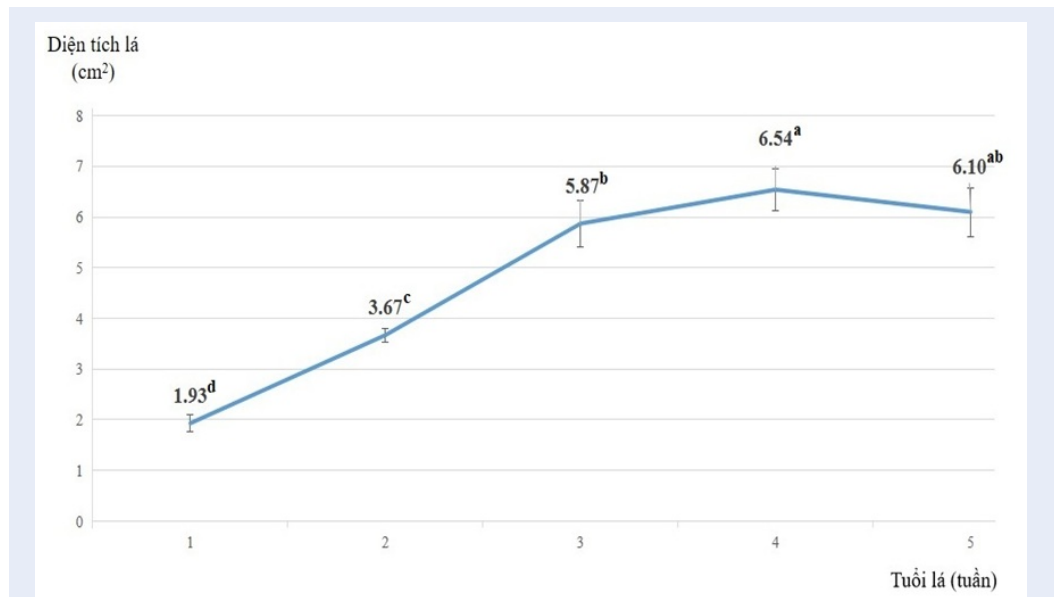
Bảng 4: Ảnh hưởng của việc xử lý GA_3 lên sự phát triển và tích lũy tinh dầu của cây Hương nhu tía

Xử lý GA_3 1 mg/L	Số cặp lá trên nhánh	Chiều dài nhánh (cm)	Diện tích lá trên nhánh (cm^2)	Hàm lượng tinh dầu (%)
Đối chứng (nước)	5,56 ^a	10,29 ^a	86,7 ^b	0,23
Phun 2 lần	5,56 ^a	11,43 ^b	88,9 ^{ab}	0,66
Phun 9 lần	5,44 ^a	16,21 ^c	95,8 ^a	0,90

Các giá trị trong cùng một cột với các mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$.



Hình 3: Biến đổi hình thái của lá thứ ba tính từ gốc của cây Hương nhu tía được trồng trong vườn theo thời gian, từ tuần 1 đến tuần 5. Thanh ngang 1 cm.



Hình 4: Sự tăng trưởng của lá thứ ba tính từ gốc của cây Hương nhu tía theo thời gian. Các giá trị trên đường cong tăng trưởng với các mẫu tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$

so với lông tiết hình đầu. Khi tích lũy tinh dầu (giai đoạn IV), màu vàng sáng đậm để thấy dưới kính hiển vi soi nổi. Lông tiết hình khiên rất thường gặp và là bộ phận tích trữ tinh dầu chủ yếu ở các loài thuộc họ Lamiaceae, đặc biệt là chi *Ocimum*², nên được quan tâm đặc biệt khi nghiên cứu tinh dầu. Sự phóng thích các chất tiết ra khỏi đầu lông tiết thường do sự vỡ của lớp cutin của khoang tiết. Đây là nét đặc trưng của các lông tiết ở các loài thuộc họ *Lamiaceae*¹⁰.

Sự hình thành và phát triển của lông tiết có liên hệ mật thiết với sự phát triển của lá. Ngay từ khi còn là các sơ khởi lá, trên lá đã có sự hiện diện của các lông tiết (Hình 1). Trong giai đoạn lá tăng trưởng nhanh, số lông tiết ở giai đoạn định dạng lông tiết tăng mạnh và đạt cao nhất ở thời điểm lá 2 tuần tuổi. Cùng với sự gia tăng kích thước tiếp tục của lá (tuần 3–4), các tế bào lông tiết tiếp tục phân chia theo hướng xác định để hình thành khoang tiết ở dạng đa bào. Khi lá đạt kích thước tối đa (tuần 4) cũng là lúc tắt cả các lông tiết



Hình 5: Ảnh hưởng của GA₃ 1 mg/L lên sự phát triển của cây Hương nhu tía sau 14 ngày kể từ lần phun thứ chín. (A) Phun nước (đối chứng); (B) Phun GA₃ 2 lần; (C) Phun GA₃ 9 lần; Thanh ngang 2 cm Mũi tên: vị trí bấm ngọn.

trên lá phát triển hoàn chỉnh với sự hiện diện của các khoang tiết, sẵn sàng cho sự tích lũy tinh dầu (Bảng 1, Hình 4). Cường độ quang hợp và hô hấp tăng dần theo sự phát triển của lá (Bảng 2) cho thấy nhu cầu năng lượng và các tiền chất mà các tế bào lá cần để tăng trưởng và thực hiện các phản ứng sinh tổng hợp trong tế bào, bao gồm sự tổng hợp các chất tạo nên tinh dầu. Hoạt tính auxin và cytokinin trong lá thứ ba của cây Hương nhu tía trồng trong vườn rất cao ở tuần 1 (Bảng 3) đã kích thích sự phân chia và tăng trưởng của các tế bào nhằm giúp lá gia tăng kích thước, đồng thời giúp lông tiết phát triển hoàn chỉnh. Vai trò của auxin và cytokinin trong việc kích thích phân chia và tăng rộng tế bào đã được chứng minh ở nhiều đối tượng thực vật^{7,11}. Ở tuần 2, cùng với sự giảm hoạt tính auxin và cytokinin là sự giảm mạnh hoạt tính ABA, hormone ức chế phân chia và tăng rộng tế bào. Do đó, ở thời điểm này, lá vẫn tiếp tục gia tăng kích thước. Khi lông tiết bắt đầu tích lũy tinh dầu (tuần 3), hoạt tính gibberellin tăng nhẹ trong khi hoạt tính auxin, cytokinin và ABA không khác biệt so với tuần 2. Như vậy, nếu như auxin và cytokinin cần thiết cho sự hình thành lông tiết thì gibberellin có thể là chất có vai trò quan trọng trong sự tích lũy tinh dầu. Tinh dầu của cây Hương nhu tía có chứa các hợp chất thứ cấp, đặc biệt là methyl eugenol và β -cariophyllene có tác dụng tạo nên mùi hương đặc trưng của cây¹². Trong cây, eugenol được sinh tổng hợp theo con đường acid shikimic, qua trung gian *p*-coumaroyl CoA với tiền

chất trực tiếp là coniferyl acetate, dưới sự xúc tác của enzyme eugenol synthase¹³. Ở cây Húng quế, xử lý chất điều hòa tăng trưởng thực vật methyl jasmonate có thể giúp rễ của cây *in vitro* chuyển từ trạng thái không có sang có eugenol¹⁴. Trong trường hợp Hương nhu tía, sự phun GA₃ 1 mg/L trên cây 9 tuần tuổi đã giúp cây kéo dài nhánh, gia tăng diện tích lá và nhanh chóng bước vào giai đoạn trưởng thành với sự hiện diện của các phát hoa (Hình 5). Đồng thời với sự trưởng thành sớm của cây là sự gia tăng hàm lượng tinh dầu trong lá và thân cây. Hàm lượng tinh dầu đặc biệt tăng rất mạnh, gấp hơn ba lần so với đối chứng, trong trường hợp phun 9 lần (Bảng 4). Có lẽ sự tích lũy tinh dầu ở cây Hương nhu tía (Bảng 4) cũng tương tự như đa số các trường hợp tích lũy hợp chất thứ cấp nói chung, thường diễn ra khi cây bước vào giai đoạn trưởng thành¹¹. Bên cạnh vai trò thúc đẩy tăng trưởng đã được chứng minh ở nhiều đối tượng thực vật, các nghiên cứu gần đây ở một số cây được liệu cho thấy GA₃ ngoại sinh cần thiết cho hoạt động của các con đường truyền tín hiệu, giúp hoạt hóa các gen kiểm soát ra hoa^{15,16}, đồng thời GA₃ cũng tham gia điều hòa hoạt động của con đường truyền tín hiệu sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp¹⁷. Do đó, trong trường hợp Hương nhu tía, sự sử dụng GA₃ đã kích thích sự tăng trưởng và phát triển của cây, thúc nhanh sự trưởng thành của cây đồng thời giúp gia tăng hàm lượng tinh dầu trong cây.

KẾT LUẬN

Các lông tiết được hình thành sớm trên lá và luôn được tiếp tục tạo mới. Sự phát triển của lông tiết trải qua bốn giai đoạn chính: tượng, định dạng, tạo khoang tiết và tích lũy tinh dầu. Quá trình hình thành lông tiết diễn ra trong giai đoạn lá tăng trưởng nhanh trong khi sự tích lũy tinh dầu bắt đầu khi lá chuẩn bị dừng tăng trưởng và tăng mạnh khi lá đã tăng trưởng đầy đủ. Cường độ quang hợp và hô hấp của lá gia tăng liên tục trong quá trình phát triển lá. Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng, đặc biệt là auxin và cytokinin trong lá rất cao vào đầu giai đoạn tăng trưởng nhanh trong khi ở đầu giai đoạn tăng trưởng chậm, chỉ có hoạt tính gibberellin gia tăng. Xử lý GA₃ 1 mg/L lên cây 9 tuần tuổi giúp cây kéo dài nhánh, tăng diện tích lá và hàm lượng tinh dầu trong cây.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Trần Thị Vân Anh, Trưởng Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã cung cấp nguồn vật liệu Hường nhu tía ban đầu cho nghiên cứu.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Tác giả xác định không có bất cứ xung đột lợi ích nào.

ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Phan Xuân Anh thực hiện các thí nghiệm, thu thập, xử lý các dữ liệu và chuẩn bị bản thảo.

Trần Thanh Hương định hướng nghiên cứu, thiết kế và lên kế hoạch thực hiện, viết và hoàn chỉnh bản thảo. Bùi Trang Việt định hướng nghiên cứu và góp ý hoàn chỉnh bản thảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đăng TTN, Yến TPH. Đánh giá tác động kháng cholinesterase bằng phương pháp hóa mô miễn dịch của cao chiết Hường nhu tía (*Ocimum sanctum* L.)", Tạp chí Dược học; 2017; 57(10), 74-78;.
2. Svidenko L, Grygorieva O, Vergun O, Hudz N, Sedláčková VH, Šimková J, Brindza J. Characteristic of leaf peltate glandular trichomes and their variability of some Lamiaceae martinov family species", *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*; 2018 (2) ;Available from: <https://doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2018.2585-8246.124-132>.
3. Meidner H. *Class Experiments in Plant Physiology*. (London, UK: George Allen and Unwin); 1984;.
4. Rastogi S, Shah S, Kumar R, Kumar A, Shasany AK. Comparative temporal metabolomics studies to investigate interspecies variation in three *Ocimum* species", *Scientific reports*; 2020; 10(1), 1-15; PMID: 32251340. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61957-5>.

5. Kundan M, Gani U, Nautiyal AK, Misra P. Molecular biology of glandular trichomes and their functions in environmental stresses. *Molecular approaches in plant biology and environmental challenges* (pp. 365-393). Springer, Singapore. 2019; Available from: https://doi.org/10.1007/978-981-15-0690-1_17.
6. Lee KS, Zapata-Arias FJ, Brunner H, Afza R. Histology of somatic embryo initiation and organogenesis from rhizome explants of *Musa* sp. *Tissue and Organ Culture*; 1997; 51, 1-8. ;Available from: <https://doi.org/10.1023/A:1005985401756>.
7. Tran TH, Bui TV, Feng TY. The role of auxin and cytokinin on somatic embryogenesis from cell suspension cultures of the banana cultivar 'Cau Man'. *Acta Hort*; 2016; 1114, 219-226 . 2016; Available from: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1114.30>.
8. Việt BT. Tim hiểu hoạt động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thiên nhiên trong hiện tượng rụng "bông" và "trái non" Tiêu (Piper nigrum L.). [Investigate the activity of natural plant growth regulators in pepper "cotton" and "young fruit" shedding (Piper nigrum L.)]. *Tạp san khoa học Đại học Tổng hợp Thành phố Hồ Chí Minh*; 1992; 1, 155-165;.
9. Huchelmann A, Boutry M, Hachez C. Plant glandular trichomes: natural cell factories of high biotechnological interest. *Plant physiology*; 2017; 175 (1), 6-22 ;Available from: <https://doi.org/10.1104/pp.17.00727>.
10. Tozin LR, Rodrigues TM. Glandular trichomes in the tree-basil (*Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae): Morphological features with emphasis on the cytoskeleton. *Flora*; 2019; 259, 151459; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151459>.
11. Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. *Plant Physiology and Development*. 6th Edition, Sinauer Associates, Inc., Sunderland. 2015;.
12. Mondello L, Zappia G, Cotroneo A, Bonaccorsi I, Chowdhury JU, Yusuf M, Dugo G. Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils: *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type", *Flavour and fragrance journal*; 2002; 17 (5), 335-340; Available from: <https://doi.org/10.1002/ffj.1108>.
13. Rastogi S, Kumar R, Chanotiya CS, Shanker K, Gupta MM, Nagegowda DA, Shasany AK. 4-Coumarate: CoA ligase partitions metabolites for eugenol biosynthesis", *Plant and Cell Physiology*; 2013; 54 (8): 1238-1252; Available from: <https://doi.org/10.1093/pcp/pct073>.
14. Reddy VA, Li C, Nadimuthu K, Tjhang JG, Jang IC, Rajani S. Sweet Basil has distinct synthases for eugenol biosynthesis in glandular trichomes and roots with different regulatory mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*; 2021; 22 (2), 681; Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms22020681>.
15. Dong B, Deng Y, Wang H, Gao R, Stephen GK, Chen S, Jiang J, Chen F. Gibberellic acid signaling is required to induce flowering of *Chrysanthemums* grown under both short and long days. *International Journal of Molecular Sciences*; 2017; 18 (6), 1259; Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms18061259>.
16. Hu J, Liu Y, Tang X, Rao H, Ren C, Chen J, Wu Q, Jiang Y, Geng F, Pei J. Transcriptome profiling of the flowering transition in saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientific Reports*; 2020; 10 (1), 9680 ; Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66675-6>.
17. Li W, Xiang F, Su Y, Luo Z, Luo W, Zhou L, Liu H, Xiao L. Gibberellin Increases the Bud yield and theanine accumulation in *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. *Molecules* (Basel, Switzerland); 2021; 26 (11), 3290; Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules26113290>.

Study on the morphological and physiological changes of the peltate glandular trichome development in Holy basil (*Ocimum sanctum* L.) leaf

Phan Xuan Anh^{1,2}, Tran Thanh Huong^{2,*}, Bui Trang Viet²



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

The essential oil is a main product of Holy basil (*Ocimum sanctum* L.). It present mainly in the peltate glandular trichomes. Therefore, the morphological and physiological changes during the development of peltate glandular trichomes are of great interest. In this paper, the morphological changes of glandular trichomes, the relationship between glandular trichomes and leaf development, and the physiological changes during leaf development of Holy basil were analyzed. The Holy basil peltate glandular trichomes were formed at the early stage of leaf development (leaf primordia) and continuously renewed during leaf development. The development of peltate glandular trichomes of Holy basil included four main stages: initiation, shaping, secretory cavity formation and essential oils accumulation. The formation of peltate glandular trichomes started at the beginning of leaf rapid growth while the accumulation of essential oils occurred at the slow mature growth and strongly increased at the stationary growth phase. The intensity of photosynthesis and respiration of leaves increased strongly during the period of rapid growth. The activities of auxins and cytokinins in leaf were very high at the beginning of the rapid growth stage while gibberellin activity was high only at the end of the rapid growth stage. Treatment with 1 mg/L gibberellic acid increased the length of branch, area of leaf, and the content of the essential oil.

Key words: essential accumulation, glandular trichomes, Holy basil, *Ocimum sanctum* L.

¹Nong Lam University - Ho Chi Minh City

²University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Correspondence

Tran Thanh Huong, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City

Email: trthuong@hcmus.edu.vn

History

- Received: 18-6-2021
- Accepted: 17-9-2021
- Published: 06-11-2021

DOI : 10.32508/stdjns.v5i4.1089



Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Anh P X, Huong T T, Viet B T. **Study on the morphological and physiological changes of the peltate glandular trichome development in Holy basil (*Ocimum sanctum* L.) leaf.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 5(4):1633-1641.