

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

PHẠM THÙY DUNG

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY HƯƠNG THẢO  
(*Rosmarinus officinalis* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP  
NUÔI CÂY MÔ THỰC VẬT

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

*Thái Nguyên, tháng 12 - 2016*

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

**PHẠM THÙY DUNG**

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY HƯƠNG THẢO  
(*Rosmarinus officinalis* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP  
NUÔI CÂY MÔ THỰC VẬT**

*Chuyên ngành: Công nghệ sinh học*

*Mã số: 60.42.02.01*

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

*Người hướng dẫn khoa học: GS.TS Chu Hoàng Mậu*

*Thái Nguyên, tháng 12 - 2016*

**LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Chu Hoàng Mậu. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố.

*Tác giả*

**Phạm Thùy Dung**

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của chị Trần Thị Hồng - Kỹ thuật viên Phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào thực vật, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Trong thời gian thực hiện luận văn thạc sĩ tại Trung tâm Thực nghiệm thực hành và chuyển giao khoa học công nghệ - Đại học Tân Trào, tôi luôn nhận được sự giúp đỡ của Ban lãnh đạo Trung tâm, các kỹ thuật viên tại phòng Nuôi cấy mô đã giúp đỡ và tạo điều kiện để tôi thực hiện các thí nghiệm của luận văn thạc sĩ.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới Ban chủ nhiệm khoa, các thầy cô giáo, cán bộ khoa Khoa học sự sống - Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên đã giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành khoa học.

*Tác giả*

**Phạm Thùy Dung**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	i
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	ii
<b>MỤC LỤC</b> .....	iii
<b>DANH MỤC CÁC TỪ VÀ CỤM TỪ VIẾT TẮT</b> .....	vi
<b>DANH MỤC CÁC BẢNG</b> .....	vii
<b>DANH MỤC CÁC HÌNH</b> .....	viii
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
1. Đặt vấn đề .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài .....	2
<b>Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	4
1.1. Cây Hương thảo .....	4
1.1.1. Đặc điểm phân loại và sinh học của cây Hương thảo .....	4
1.1.2. Thành phần hóa học có hoạt tính dược học của cây Hương thảo .....	4
1.1.3. Đặc điểm sinh thái, trồng trọt cây Hương thảo .....	7
1.1.4. Tình hình sử dụng cây Hương thảo tại Việt Nam.....	7
1.2. Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật trong nhân giống <i>in vitro</i> .....	8
1.2.1. Cơ sở khoa học của phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	8
1.2.2. Điều kiện và môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	9
1.2.3. Các công đoạn của nuôi cấy mô tế bào .....	10
1.3. Nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> cây dược liệu và cây Hương thảo.....	11
1.3.1. Tình hình nhân giống cây dược liệu bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật ở trong nước .....	12

1.3.2. Nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương thảo bằng phương pháp nuôi cấy mô thực vật .....	14
<b>Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	15
2.1. Vật liệu, hoá chất, thiết bị, địa điểm nghiên cứu .....	15
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu .....	15
2.1.2. Hoá chất, thiết bị .....	15
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu .....	16
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	16
2.2.1. Phương pháp khử trùng mẫu .....	16
2.2.2. Phương pháp nghiên cứu môi trường nuôi cấy <i>in vitro</i> .....	16
2.2.3. Đưa cây ra môi trường tự nhiên .....	19
2.2.4. Điều kiện thí nghiệm .....	20
2.2.5. Phương pháp xử lý và tính toán số liệu .....	21
<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	22
3.1. Kết quả khử trùng hạt tạo mẫu sạch.....	22
3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng riêng rẽ của các chất kích thích sinh trưởng đến hiệu quả phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi Hương thảo trong ống nghiệm .....	24
3.2.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên cây Hương thảo ....	24
3.2.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm của cây Hương thảo.....	27
3.2.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi tái sinh từ mắt chồi bên của cây Hương thảo .....	29
3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi Hương thảo <i>in vitro</i> .....	32

3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sự sinh trưởng của cây con <i>in vitro</i> ngoài vườn ươm.....	34
3.5. Quy trình nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương thảo .....	36
3.5.1. Quy trình nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương thảo từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	38
3.5.2. Quy trình nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương thảo từ nách lá mầm .....	38
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ</b> .....	40
1. Kết luận.....	40
2. Đề nghị.....	40
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	41
<b>PHỤ LỤC</b>	

**DANH MỤC CÁC TỪ VÀ CỤM TỪ VIẾT TẮT**

BA:	6-Benzyladenine
BAP:	6-Benzylaminopurine
Cs:	Cộng sự
CT:	Công thức
DNA:	Deoxyribonucleic acid
ĐC:	Đối chứng
IAA:	Indole-3-acetic acid
IBA:	Indole-3-butyric acid
Kinetin:	6-furfurylaminopurine
MS:	Murashige và Skoog, 1962
NAA:	Naphthalene acetic acid
2,4-D:	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
PLBs:	Protocorm like bodies (thể tiền củ)
SH:	Schenk và Hildebrandt, 1972



## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả khử trùng hạt Hương thảo bằng khí clo sau 20 ngày.....	22
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của BAP đến sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên của cây Hương thảo .....	25
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm của cây Hương thảo .....	28
Bảng 3.4. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi tái sinh từ mắt chồi bên của cây Hương thảo .....	30
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi Hương thảo sau 4 tuần.....	32
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây con <i>in vitro</i> ngoài vườn ươm sau 60 ngày .....	34

## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây Hương thảo ngoài tự nhiên .....	5
Hình 2.1. Hạt Hương thảo ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.) có nguồn gốc từ Nga.....	15
Hình 3.1. Kết quả khử trùng hạt Hương thảo bằng khí clo trong 5 giờ .....	23
Hình 3.2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng khí clo đến khả năng nảy mầm hạt Hương thảo.....	24
Hình 3.3: Ảnh hưởng của BAP đến sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên của cây Hương thảo sau 8 tuần.....	26
Hình 3.4. Ảnh hưởng của BAP 1,5 mg/l đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi từ nách lá mầm của cây Hương thảo .....	29
Hình 3.5. Ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp với IBA đến sự phát sinh và sinh trưởng chồi tái sinh từ mắt chồi bên của cây Hương thảo sau 8 tuần. ....	31
Hình 3.6. Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi Hương thảo. ....	33
Hình 3.7. Cây Hương thảo <i>in vitro</i> trồng trong các giá thể khác nhau sau 60 ngày	36
Hình 3.8: Sơ đồ Quy trình nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương thảo từ đoạn thân và từ nách lá mầm .....	37
Hình 3.9. Hình ảnh quy trình nhân giống <i>in vitro</i> cây Hương Thảo .....	39
từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	39