

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

JULY SENGMANIVONG

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY *IN VITRO*
CÂY NHÀU (*Morinda Citrifolia* L.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN, NĂM 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

JULY SENGMANIVONG

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY *IN VITRO*
CÂY NHÀU (*Morinda Citrifolia* L.)**

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Cán bộ hướng dẫn khoa học: TS. NGUYỄN THỊ THU NGÀ

THÁI NGUYÊN, NĂM 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn: “**Nghiên cứu môi trường nuôi cấy *in vitro* cây Nhàu (*Morinda Citrifolia* L.)**” là công trình nghiên cứu của tôi. Mọi kết quả được liệt kê trong luận văn là kết quả tôi thu được, hoàn toàn không sao chép bất kì kết quả nào của các bài luận văn đã có trước đây. Về những tài liệu tham khảo đều có trích dẫn đầy đủ trong bài luận văn.

Thái Nguyên, tháng 6 năm 2019

Tác giả luận văn

July SENGMANIVONG

LỜI CẢM ƠN

Đầu tiên tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Thu Nga người 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.

Thứ hai tôi xin được cảm ơn các thầy giáo, cô giáo thuộc khoa Sinh học, bộ phận Sau đại học của Phòng Đào tạo, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình giảng dạy và tạo mọi điều kiện cho tôi hoàn thành khóa học.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành tới cô Trần Thị Hồng, cán bộ phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi tiến hành luận văn này.

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới người thân trong gia đình, đồng nghiệp và bạn bè đã tạo điều kiện, giúp đỡ và động viên tôi trong suốt thời gian học tập.

Thái Nguyên, tháng 6 năm 2019

Tác giả luận văn

July SENGMANIVONG

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT	iv
DANH MỤC CÁC BẢNG	v
DANH MỤC CÁC HÌNH	vi
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Giới thiệu chung về cây Nhàu	3
1.1.1. Đặc điểm phân loại và đặc điểm sinh học	3
1.1.2. Giá trị dược liệu.....	6
1.1.3. Tình hình nghiên cứu cây Nhàu trên thế giới và ở Việt Nam	10
1.2. Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật và ứng dụng.....	13
1.2.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến nuôi cấy <i>in vitro</i>	13
1.2.2. Các phương pháp nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	15
1.3. Thành tựu trong bảo tồn nguồn gen thực vật <i>in vitro</i>	16
Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	20
2.1. Vật liệu và hóa chất	20
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu.....	20
2.1.2. Hoá chất, thiết bị.....	20
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	20
2.3. Phương pháp nghiên cứu	21
2.3.1. Nhóm phương pháp nuôi cấy <i>in vitro</i>	21
2.3.2. Phương pháp đưa cây ra vườn ươm	24

2.3.3. Phương pháp xử lí và tính toán số liệu.....	25
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	26
3.1. Nghiên cứu công thức khử trùng tạo mẫu sạch.....	26
3.1.1. Kết quả khử trùng hạt cây Nhàu.....	26
3.1.2. Kết quả khử trùng đoạn thân cây Nhàu.....	29
3.2. Kết quả tạo chồi in vitro cây Nhàu.....	30
3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến sự phát sinh chồi của mẫu cây.....	31
3.2.2. Ảnh hưởng của Kinetin đến sự phát sinh chồi <i>in vitro</i>	34
3.3. Nghiên cứu khả năng tạo rễ cây Nhàu.....	36
3.3.1. Ảnh hưởng của IBA đến sự phát sinh rễ cây Nhàu.....	37
3.3.2. Ảnh hưởng của IAA đến sự phát sinh rễ cây Nhàu.....	40
3.4. Nghiên cứu giá thể thích hợp đưa cây Nhàu ra ngoài tự nhiên.....	44
3.4.1. Giai đoạn bầu đất.....	44
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	47
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	48

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

2,4-D	: 2,4D-Dichlorophenoxy Acetic Acid
BAP	: 6-Benzyl Amino Purin
BTĐ	: Bệnh tiểu đường
Cs	: Cộng sự
CT	: Công thức
CTN	: Cao trái Nhàu
CY	: Cyclophosphamid
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy
ĐC	: Đối chứng
ĐTĐ	: Đái tháo đường
GA3	: Gibberellin
IAA	: Indoly Acetic Acid
IBA	: Indoly Butyric Acid
Kinetin	: 6-furturylamino purine
KT	: Khử trùng
MS	: Murashige - Skoog (1962)
NAA	: α - Napthalen Acetic Acid
NJ	: Noni Juice
TNJ	: Tahitian Noni Juice
OA	: Ovalbumin + Al(OH) ₃

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1.	Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng javen đến sự nảy mầm của hạt cây Nhàu	28
Bảng 3.2.	Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi của mẫu cây	33
Bảng 3.3.	Ảnh hưởng của Kinetin đến sự phát sinh chồi của mẫu cây	35
Bảng 3.4.	Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Nhàu	39
Bảng 3.5.	Ảnh hưởng của IAA đến khả năng tạo rễ cây Nhàu	42
Bảng 3.6.	Ảnh hưởng của giá thể đến cây trồng trong bầu	44
Bảng 3.7.	Kết quả ra cây ngoài vườn ươm	46

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1.	Cây, hoa và quả Nhàu	4
Hình 1.2.	Hạt quả Nhàu.....	6
Hình 3.1.	Hạt quả Nhàu sau khi khử trùng nảy mầm.....	28
Hình 3.2.	Đoạn thân cây Nhàu sau khử trùng trên môi trường MS cơ bản ..	30
Hình 3.3	Cây Nhàu trên môi trường chứa BAP với nồng độ thay đổi.....	34
Hình 3.4	Cây Nhàu trên môi trường chứa Kinetin	36
Hình 3.5.	Cây Nhàu trên môi trường chứa IBA 0,9mg/l	40
Hình 3.6.	Cây Nhàu trên môi trường chứa IAA 0,5mg/l	43
Hình 3.7.	Cây Nhàu <i>in vitro</i> hoàn chỉnh được trồng trong bầu đất	45
Hình 3.8.	Cây Nhàu <i>in vitro</i> trồng ở vườn ươm.....	46

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Trong những thập niên gần đây, nhờ ứng dụng khoa học kỹ thuật trong nghiên cứu, khai thác nguồn dược liệu đã có nhiều bước tiến đáng kể, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị, hiệu quả kinh tế. Tuy nhiên cùng với điều đó, nguồn tài nguyên cũng cạn kiệt dần. Vì vậy, sử dụng hợp lý và tìm nguồn dược liệu mới, dược liệu thay thế là hết sức cần thiết.

Cây Nhàu thuộc họ *Coffee Rubiaceae* là giống cây dược liệu quý được trồng khá phổ biến và cũng là cây dược liệu có nhiều ứng dụng trong y học cổ truyền của dân tộc Lào và nhiều nơi trên thế giới. Hầu hết các bộ phận của cây đều đã được sử dụng làm thức ăn, đồ uống. Trong dân gian, cây được dùng làm thuốc với các tác dụng chữa bệnh như: Mất ngủ, đau lưng, hạ huyết áp, loét dạ dày, viêm khớp, thuốc nhuận tràng, điều kinh, giảm đau xương khớp, chống oxy hóa, hỗ trợ chữa trị ung thư,... Hiện nay, việc chữa bệnh bằng thuốc có nguồn gốc từ thảo dược đã và đang là một trong những xu hướng thu hút sự quan tâm và nghiên cứu của các nhà khoa học. Chính vì những lợi ích thiết thực với cuộc sống, cây Nhàu là loại dược liệu cần nhân giống và phổ biến rộng rãi.

Trong những năm trở lại gần đây, nhu cầu sử dụng các sản phẩm từ cây Nhàu tăng đột biến, đặc biệt nhu cầu từ nước ngoài tăng mạnh, gần như các sản phẩm từ cây Nhàu luôn trong tình trạng khan hiếm hàng. Trong nước, người tiêu dùng đã biết đến nhiều hơn các công dụng từ trái Nhàu, dẫn đến nhu cầu nội địa tăng. Nhiều nơi đã có truyền thống dùng rễ Nhàu được thái mỏng phơi khô sắc uống để trị đau lưng, phong thấp. Phụ nữ một số vùng còn ăn trái Nhàu chín để làm nhuận trường, hoạt huyết hoặc điều hòa kinh nguyệt...[18]. Bên cạnh đó còn có nhiều công ty dược trong nước và trên thế giới đã sản xuất thuốc viên và thuốc nước từ cây thuốc này với mục đích chữa nhiều bệnh [11].

Việc bảo tồn các giống cây dược liệu nói chung và cây Nhàu nói riêng có thể thực hiện bằng nhiều biện pháp truyền thống như chiết cành, ghép cành và