

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC



NGUYỄN THỊ HƯƠNG GIANG

**NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY ĐU ĐỦ ĐỰC
(*CARICA PAPAYA L.*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN – 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC



NGUYỄN THỊ HƯƠNG GIANG

**NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY ĐU ĐỦ ĐỰC
(*CARICA PAPAYA L.*)**

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học

Mã số: 8 42 02 01

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Người hướng dẫn khoa học: TS. Vũ Thị Lan

Cơ quan: Trường Đại học Khoa học – Đại học Thái Nguyên

THÁI NGUYÊN - 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của cô giáo ***TS.Vũ Thị Lan***. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa từng ai công bố trong một công trình nào khác.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm về những gì đã cam đoan ở trên.

Thái Nguyên, ngày 21 tháng 5 năm 2019

Tác giả

Nguyễn Thị Hương Giang

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành Luận văn tốt nghiệp, em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới **TS. Vũ Thị Lan** - Giảng viên Khoa Công nghệ sinh học - Trường Đại học Khoa học, cô đã định hướng nghiên cứu, tận tình giúp đỡ, chỉ dẫn và tạo mọi điều kiện thuận lợi để em hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo, bộ phận Sau Đại học, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Công nghệ sinh học và các thầy cô giáo, cán bộ trong Khoa, đặc biệt là sự quan tâm, giúp đỡ của các anh chị kỹ thuật viên phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin cảm ơn gia đình và bạn bè, đồng nghiệp đã luôn bên cạnh ủng hộ, khuyến khích, động viên tạo động lực để tôi hoàn thành luận văn này.

Trong quá trình làm luận văn không tránh khỏi những thiếu sót, tôi rất mong nhận được sự đóng góp quý báu từ phía thầy cô, bạn bè và đồng nghiệp.

Em xin chân thành cảm ơn những sự giúp đỡ vô cùng quý báu đó!

Thái Nguyên, ngày 21 tháng 5 năm 2019

Học viên

Nguyễn Thị Hương Giang

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	v
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	vi
DANH MỤC CÁC TỪ, CỤM TỪ VIẾT TẮT.....	vii
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 đu đủ	3
1.1.1. Nguồn gốc	3
1.1.2. Phân loại	3
1.1.3. Đặc điểm hình thái và sinh thái của cây đu đủ	4
1.1.4. Thành phần hóa học và giá trị dược liệu của cây đu đủ đực.....	9
1.2. Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	15
1.3. Tình hình nghiên cứu cây đu đủ bằng phương pháp nuôi cấy mô trên thế giới và Việt Nam	20
1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	20
1.3.2. Tình hình nghiên cứu ở Việt Nam	22
CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. Vật liệu nghiên cứu	24
2.1.1. Vật liệu thực vật.....	24
2.1.2. Hóa chất và dụng cụ thí nghiệm	24

2.2. Địa điểm và thời gian	25
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	25
2.3.1. Phương pháp khử trùng mẫu cấy.	25
2.3.2. Phương pháp nuôi cấy tạo mô sẹo	25
2.3.3. Phương pháp nghiên cứu khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo	26
2.3.4. Phương pháp tạo cây hoàn chỉnh	27
2.4. Điều kiện thí nghiệm.....	27
2.5. Phương pháp xử lí số liệu	27
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	28
3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của các chế độ khử trùng mẫu cấy	28
3.1.1. Ảnh hưởng của chế độ khử trùng đến hiệu quả khử trùng mẫu	28
3.1.2. Ảnh hưởng của độ tuổi mẫu đến hiệu quả khử trùng	31
3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng (IAA, NAA, BAP và NAA) đến khả năng hình thành mô sẹo.....	34
3.2.1. Ảnh hưởng của loại vật liệu nuôi cấy đến khả năng tạo mô sẹo	34
3.2.2. Ảnh hưởng của của các chất kích thích sinh trưởng đến sự hình thành mô sẹo.....	35
3.3. Nghiên cứu tái sinh chồi từ mô sẹo.....	39
3.4. Nghiên cứu khả năng nhân nhanh chồi đủ đực.....	42
3.5. Nghiên cứu khả năng tạo rễ cho chồi đủ đực.....	44
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	49
TÀI LIỆU THAM KHẢO	50

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của chế độ khử trùng đến hiệu quả khử trùng đối với ngọn đu đủ.....	27
Bảng 3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ tuổi mẫu đến hiệu quả khử trùng sau 2-4 tuần nuôi cấy.....	30
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của loại vật liệu đến khả năng tạo mô sẹo.....	32
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của của các chất kích thích sinh trưởng đến sự hình thành mô sẹo (sau 4 tuần nuôi cấy).....	34
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng tái sinh chồi của callus đu đủ (Sau 4 tuần nuôi cấy).....	38
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi đu đủ (Sau 4 tuần nuôi cấy).....	40
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của nồng độ IBA, α -NAA đến khả năng tạo rễ của chồi đu đủ đực	42

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1 Các loại cây đu đủ	5
Hình 1.2 Các loại hoa đu đủ	6
Hình 1.3 Cụm hoa lưỡng tính	7
Hình 1.4 Cụm hoa đơn tính cái	7
Hình 1.5 Cụm hoa đực	7
Hình 2.1 Cây đu đủ dùng trong nghiên cứu.....	23
Hình 3.1 Mẫu trước và sau khử trùng	30
Hình 3.2 Khử trùng mẫu với các độ tuổi khác nhau.....	33
Hình 3.3 Nuôi mô sẹo	37
Hình 3.4 Chồi tái sinh từ mô sẹo	40
Hình 3.5 Nhân chồi.....	42
Hình 3.6 Tạo cây hoàn chỉnh	45
Hình 3.7 Rễ cây đu đủ đực in vitro.....	46
Hình 3.8 Quy trình nhân giống cây đu đủ đực	45

DANH MỤC CÁC TỪ, CỤM TỪ VIẾT TẮT

2,4 D	2,4 – Dichloro phenoxy acetic acid
B5	Gamborg's
Cs	Cộng sự
CT	Công thức
CD	Chế độ
ĐC	Đối chứng
IBA	Indole butyric acid
MS	Murashige & Skoog (1962)
NAA	α - Naphthalene axetic acid
NC	Nhân chồi
NC	Môi trường nhân chồi
MS	Môi trường tạo mô sẹo
TB	Trung bình
TC	Môi trường tái sinh chồi

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Đu đủ (*Carica papaya* L.) thuộc họ *Caricaceae* là loài cây ăn trái phổ biến ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới. Đu đủ phân bố ở hầu hết các nước trên thế giới thuộc Châu Á, Châu Phi, Châu Mỹ Latin và Châu Úc. Đu đủ có nhiều ưu điểm thích nghi với nhiều loại đất đai và khí hậu khác nhau, cây sớm cho trái và mang trái quanh năm, hàm lượng chất dinh dưỡng cao đặc biệt là vitamin A (cao gấp mười lần so với chuối, dứa và gần gấp đôi xoài). Cây đu đủ là loài đa tính, có đu đủ đực, đu đủ cái và cây đu đủ lưỡng tính. Ở Việt Nam cây đu đủ được trồng phổ biến, nhưng hiện nay ở nước ta cũng như trên thế giới đều chú trọng trong việc phát triển cây đu đủ theo hướng cây cho nhiều trái, trồng cây đu đủ cái và đu đủ lưỡng tính mà chưa quan tâm đến cây đu đủ đực.

Đu đủ đực có nhiều ứng dụng về mặt dược liệu trong các bài thuốc đông y cổ truyền. Các bộ phận của cây đu đủ đực có nhiều giá trị về mặt y học. Hoa đu đủ đực là thành phần không thể thiếu trong các bài thuốc đông y chữa các bệnh như ho, viêm họng, mất tiếng, viêm cuống phổi, ho gà, chữa tiểu dắt, tiểu buốt, đau niệu đạo, nước tiểu ít và đỏ. Lá của cây đu đủ đực dùng rửa vết thương, tẩy vết máu trên quần áo, vải. Rễ của cây đu đủ đực chữa rắn cắn, cá đuối cắn.... Đu đủ rất giàu enzyme tự nhiên, dễ dàng thấm sâu vào làn da giúp đẹp da, mau lành các tổn thương trên da. Đu đủ cũng có tác dụng tẩy tế bào da chết, hồi phục sự tươi trẻ cho làn da. Chính vì vậy, cây đu đủ rất có giá trị về mặt kinh tế cũng như giá trị y học, giúp cải thiện đời sống người nghèo vùng nông thôn.

Hiện nay, các giống đu đủ của Việt Nam cũng như trên thế giới đều rất dễ bị nhiễm các bệnh virus. Malaysia đã phải đối mặt với tình trạng cây đu đủ chết do bị nhiễm nhiều loại bệnh như: khảm đu đủ, bệnh phấn trắng, thối rễ do nấm..., có đến 800 ha cây đu đủ bị chết đã khiến cho nền kinh tế nước này