

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Thongkham LAPHASY

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY *IN VITRO*
CÂY BÌNH VÔI (*Stephania spp*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN, NĂM 2019

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Thongkham LAPHASY

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY *IN VITRO*
CÂY BÌNH VÔI (*Stephania spp*)**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Giảng viên hướng dẫn: TS. Phạm Thị Thanh Nhàn

THÁI NGUYÊN, NĂM 2019

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn: “Nghiên cứu môi trường nuôi cấy *in vitro* cây Bình vôi (*Stephania* spp)” là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Mọi kết quả thu được là trung thực, không sao chép từ kết quả nghiên cứu khác. Tất cả những tham khảo và kế thừa đều được trích dẫn đầy đủ.

Thái Nguyên, tháng 05 năm 2019

Tác giả luận văn

Thongkham LAPHASY

Xác nhận của BCN Khoa Sinh học

Xác nhận của cán bộ hướng dẫn

TS. Phạm Thị Thanh Nhàn

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình thực hiện luận văn, tôi đã nhận được sự quan tâm giúp đỡ tận tình của nhiều cá nhân, cơ quan đơn vị.

Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Phạm Thị Thanh Nhân, 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. Tôi xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ của Đề tài cấp Bộ mã số B2019-TNA-09.

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 điều kiện cho tôi hoàn thành khóa học.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành tới cô Trần Thị Hồng, Hứa Quỳnh Liên là 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 05 năm 2019

Tác giả luận văn

Thongkham LAPHASY

MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	vii
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	viii
MỞ ĐẦU	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Cây Bình vôi	3
1.2. Giá trị dược liệu của cây Bình vôi	7
1.2.1. Các hợp chất alkaloid ở cây Bình vôi.....	7
1.2.2. Hợp chất rotundin và tình hình nghiên cứu về dược chất ở cây Bình vôi.....	9
1.3. Một số phương pháp nhân cây giống cây Bình vôi	13
1.3.1. Nhân giống cây Bình vôi trong tự nhiên	13
1.3.2. Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô- tế bào thực vật trong nghiên cứu bảo tồn nguồn gen cây Bình vôi	14
1.3.2.1. Cơ sở khoa học của nuôi cấy mô và tế bào thực vật	14
1.3.2.2. Vai trò của các chất kích thích sinh trưởng đối với tái sinh cây <i>in vitro</i>	15
1.3.2.3. Các phương pháp nhân giống <i>in vitro</i>	16
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	20
2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị, địa điểm nghiên cứu.....	20
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu.....	20
2.1.2. Hóa chất và thiết bị	20

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu	20
2.2. Các phương pháp nghiên cứu	20
2.2.1. Pha môi trường và hấp khử trùng môi trường nuôi cấy.....	20
2.2.2. Phương pháp khử trùng mẫu cấy	21
2.2.3. Phương pháp nuôi cấy <i>in vitro</i> cây Bình vôi	21
2.2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi ...	21
2.2.3.2.. Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi..	22
2.2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi	22
2.2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi	23
2.2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất phụ da đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Bình vôi	24
2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu	24
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	25
3.1. Nghiên cứu công thức khử trùng mẫu	25
3.2. Nghiên cứu môi trường nuôi cấy <i>in vitro</i> cây Bình vôi hoa đầu	27
3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin đến sự tạo chồi cây Bình vôi hoa đầu	27
3.2.1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi hoa đầu	27
3.2.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi hoa đầu	29
3.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm auxin đến khả năng tạo rễ ở cây Bình vôi hoa đầu	31
3.2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi hoa đầu	31
3.2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi hoa đầu	32

3.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Bình vôi hoa đầu	33
3.3. Nghiên cứu môi trường nuôi cấy <i>in vitro</i> cây Bình vôi tím	35
3.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm cytokinin đến sự tạo chồi cây Bình vôi tím	35
3.3.1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi tím	35
3.3.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi tím.....	37
3.3.1.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và kinetin với nồng độ tối ưu đến sự sinh trưởng chồi cây Bình vôi tím	40
3.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm auxin đến khả năng tạo rễ ở cây Bình vôi tím	41
3.3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi tím.	41
3.3.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi tím...	42
3.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Bình vôi tím	44
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	46
TÀI LIỆU THAM KHẢO	47

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tên tiếng Anh	Nghĩa tiếng Việt
ADN	Deoxyribonucleic acid	Axit deoxyribonucleic
BAP	6 - Benzyl Amino Purin	
CT		Công thức
ĐC		Đối chứng
IBA	Indoly Butyric Acid	Axit 3 – Indolebutyric
Kinetin	6 - Fururolamino purine	
KT		Khử trùng
MS	Murashige and Skoog	Môi trường MS
NAA	α - Naphthalen Acetic Acid	
TN		Thí nghiệm

DANH MỤC CÁC HÌNH

	<i>Trang</i>
Hình 1.1. Mặt trước và sau lá cây Bình vôi tím	6
Hình 1.2. Cây Bình vôi hoa đầu	6
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của L-tetrahydropalmitin	12
Hình 3.1. Chuẩn bị mẫu	26
Hình 3.2. Mẫu cây tái sinh trong môi trường MS bổ sung nước dừa	26
Hình 3.3. Chồi cây Bình vôi hoa đầu trên môi trường NC2	29
Hình 3.4. Chồi cây Bình vôi hoa đầu ở môi trường K1	30
Hình 3.5. Ảnh hưởng của BAP đến sự tạo chồi cây Bình vôi tím sau 7 tuần	37
Hình 3.6. Ảnh hưởng của kinetin đến sự tạo chồi cây Bình vôi tím sau 7 tuần ...	39
Hình 3.7. Ảnh hưởng của của tổ hợp BAP 2,0 mg/l và kinetin 1,5 mg/l đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi tím sau 7 tuần nuôi cấy	40
Hình 3.8. Ảnh hưởng của NAA đến sự ra rễ cây Bình vôi tím sau 7 tuần	42
Hình 3.9. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ cây Bình vôi tím sau 7 tuần.	43

DANH MỤC CÁC BẢNG

	<i>Trang</i>
Bảng 1.1. Hoạt tính sinh học của một số alkaloid ở cây Bình vôi	9
Bảng 1.2. Kết quả khử trùng cây Bình vôi từ đoạn thân non sau 4 tuần nuôi cấy	25
Bảng 3.2 Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi hoa đầu	28
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi hoa đầu ..	30
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi hoa đầu	32
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của cây Bình vôi hoa đầu ...	33
Bảng 3.6 Ảnh hưởng của than hoạt tính đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Bình vôi hoa đầu	34
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi tím	36
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tạo chồi cây Bình vôi tím	38
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Bình vôi tím	41
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của cây Bình vôi tím	43
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến sự sinh trưởng của cây Bình vôi..	44