

GI



GT.0000027021

CÔNG NGHỆ TẾ BÀO THỰC VẬT VÀ ỨNG DỤNG

NGUYỄN THỊ TÂM, VŨ THỊ THU THỦY

Sách tặng

Nách lá mầm



YÊN
ĐU



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN THỊ TÂM, VŨ THỊ THU THỦY

GIÁO TRÌNH
CÔNG NGHỆ TẾ BÀO THỰC VẬT
VÀ ỨNG DỤNG

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
NĂM 2016

MÃ SỐ: 01 - 101
ĐHTN - 2016

LỜI NÓI ĐẦU

Công nghệ tế bào thực vật là một trong các lĩnh vực của Công nghệ Sinh học. Cùng với sự phát triển nhanh chóng của Công nghệ Sinh học, Công nghệ tế bào thực vật đã có những bước tiến vượt bậc và được ứng dụng vào các lĩnh vực khác nhau trong sản xuất nông nghiệp, trong y học... Vì vậy, việc đưa chuyên đề Công nghệ tế bào và ứng dụng vào giảng dạy ở các trường Đại học, Cao đẳng cho các hệ đào tạo liên quan đến lĩnh vực sinh học là hết sức cần thiết.

Với mục tiêu cung cấp các kiến thức cơ bản và những ứng dụng của công nghệ tế bào thực vật, phục vụ cho công tác giảng dạy của giáo viên và việc học tập của sinh viên, học viên cao học, nghiên cứu sinh của khoa Sinh học - trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên được thuận lợi, chúng tôi đã biên soạn giáo trình Công nghệ tế bào thực vật và ứng dụng.

Giáo trình Công nghệ tế bào thực vật và ứng dụng được biên soạn từ nhiều tài liệu, bài giảng và những công trình nghiên cứu mới của các tác giả trong và ngoài nước. Giáo trình có cấu trúc gồm 5 chương như sau:

Chương 1: Cơ sở của công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật

Chương 2: Các kỹ thuật cơ bản của công nghệ tế bào thực vật và ứng dụng

Chương 3: Hệ thống tái sinh đa chồi và ứng dụng

Chương 4: Ứng dụng công nghệ tế bào trong việc chọn dòng lúa chịu nóng

Chương 5: Ứng dụng công nghệ tế bào và đột biến thực nghiệm trong chọn lọc dòng lạc chịu hạn

Trong mỗi chương, ngoài phần nội dung chính, ở cuối các chương đều gợi ý các vấn đề cần thảo luận theo hướng tăng cường năng lực tự học của người học.

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn GS. Chu Hoàng Mậu đã đọc và góp ý cho bản thảo, xin cảm ơn những đóng góp của Hội đồng nghiệm thu sách và giáo trình của trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên. Trân trọng cảm ơn những đóng góp quý báu của đồng đảo các nhà khoa học.

Các tác giả trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí xuất bản của đề tài Quỹ gen cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2016-TNA-04-QG do TS. Vũ Thị Thu Thủy làm chủ nhiệm.

Trong quá trình biên soạn chắc chắn sẽ có những sai sót, các tác giả rất mong nhận được sự đóng góp của độc giả. Mọi đóng góp xin gửi về khoa Sinh học - trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Các tác giả

MỤC LỤC

| | |
|---|----|
| MỞ ĐẦU | 1 |
| Chương 1. Cơ sở của công nghệ nuôi cấy mô và tế bào thực vật | 11 |
| 1.1. Cơ sở tế bào học..... | 11 |
| 1.1.1. Cấu trúc và chức năng của tế bào thực vật..... | 11 |
| 1.1.2. Tế bào chứa toàn bộ các gen của cơ thể thực vật..... | 14 |
| 1.1.3. Quá trình phân chia tế bào..... | 22 |
| 1.1.4. Sự biệt hóa tế bào..... | 30 |
| 1.1.5. Tính toàn năng của tế bào..... | 34 |
| 1.1.6. Sự phân hóa và hình thành cơ quan trong mô và tế bào nuôi cấy..... | 35 |
| 1.1.7. Vấn đề tái sinh cây từ tế bào soma thực vật..... | 37 |
| 1.2. Các yếu tố đảm bảo thành công trong nuôi cấy mô tế bào thực vật..... | 38 |
| 1.2.1. Đảm bảo điều kiện vô trùng..... | 38 |
| 1.2.2. Chọn môi trường và chuẩn bị môi trường đúng cách..... | 40 |
| 1.2.3. Chọn mô cấy và xử lý mô cấy thích hợp..... | 41 |
| 1.3. Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật..... | 42 |
| 1.3.1. Phòng chuẩn bị..... | 42 |
| 1.3.2. Phòng cấy..... | 42 |
| 1.3.3. Phòng sinh trưởng..... | 44 |
| 1.4. Môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật..... | 45 |
| 1.4.1. Các loại muối khoáng..... | 46 |
| 1.4.2. Nguồn cacbon..... | 51 |
| 1.4.3. Vitamin..... | 52 |
| 1.4.4. Các chất điều khiển sinh trưởng..... | 53 |
| 1.4.5. Các hỗn hợp chất tự nhiên và một số yếu tố khác..... | 62 |
| 1.4.6. Một số loại môi trường cơ bản và vấn đề lựa chọn môi trường..... | 63 |

| | |
|---|-----------|
| 1.5. Khả năng nuôi cấy của các loại mô và tế bào thực vật | 66 |
| 1.6. Công nghệ chọn dòng tế bào soma | 67 |
| 1.6.1. Cơ sở khoa học của chọn dòng tế bào soma | 67 |
| 1.6.2. Nguyên liệu chọn dòng | 68 |
| 1.6.3. Biến dị soma và chọn lọc các biến dị soma | 69 |
| 1.6.4. Các phương thức chọn dòng tế bào | 71 |
| 1.6.5. Ứng dụng nuôi cấy mô tế bào thực vật trong chọn dòng chống chịu các stress của môi trường | 72 |
| 1.7. Công nghệ tạo thực vật biến đổi gen | 74 |
| 1.7.1. Tách chiết và tinh sạch axit nucleic | 75 |
| 1.7.2. Phân lập gen liên quan đến tính trạng quan tâm | 75 |
| 1.7.3. Chuyển gen vào mô và tế bào thực vật nuôi cấy | 75 |
| 1.7.4. Phân tích sinh vật chuyển gen | 78 |
| 1.7.5. Các nhóm gen có giá trị đang được sử dụng để tạo cây chuyển gen | 79 |
| 1.7.6. Thực trạng cây trồng chuyển gen hiện nay | 83 |
| Chương 2. Các kỹ thuật cơ bản của công nghệ tế bào thực vật | 88 |
| 2.1. Kỹ thuật tạo và nuôi cấy mô sẹo | 88 |
| 2.2. Nuôi cấy chồi bất định | 89 |
| 2.3. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng | 91 |
| 2.4. Công nghệ nuôi cấy phôi | 95 |
| 2.4.1. Nuôi cấy phôi hữu tính | 97 |
| 2.4.2. Nuôi cấy phôi soma | 98 |
| 2.4.3. Sự phát sinh phôi soma | 99 |
| 2.4.4. Những phage trong quá trình phát sinh phôi soma | 101 |
| 2.4.5. Những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phát sinh phôi soma | 102 |
| 2.4.6. Ứng dụng của công nghệ nuôi cấy phôi | 104 |
| 2.5. Nuôi cấy bao phấn, hạt phấn và tạo cây đơn bội | 106 |

| | |
|--|------------|
| 2.5.1. Những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng tạo cây đơn bội trong nuôi cấy bao phấn | 107 |
| 2.5.2. Kỹ thuật nuôi cấy bao phấn lúa | 109 |
| 2.5.3. Ứng dụng cây đơn bội từ hạt phấn | 113 |
| 2.6. Nuôi cấy tế bào trần | 114 |
| 2.6.1. Kỹ thuật tách và nuôi cấy tế bào trần thực vật | 115 |
| 2.6.2. Ứng dụng của tế bào trần thực vật | 117 |
| 2.7. Kỹ thuật nhân giống in vitro | 119 |
| 2.7.1. Cơ sở khoa học của kỹ thuật nhân giống in vitro | 119 |
| 2.7.2. Quy trình nhân giống in vitro | 119 |
| 2.7.3. Quy trình nhân giống in vitro một số loại cây trồng | 122 |
| 2.8. Phục tráng giống và tạo cây sạch bệnh | 127 |
| 2.8.1. Thiệt hại kinh tế do bệnh virus | 127 |
| 2.8.2. Nguyên lý làm sạch virus và một số kỹ thuật làm sạch virus | 128 |
| 2.8.3. Kiểm tra, xét nghiệm virus | 130 |
| 2.8.4. Duy trì tính sạch virus | 132 |
| 2.9. Bảo tồn giống in vitro | 132 |
| Chương 3. Hệ thống tái sinh đa chồi và ứng dụng | 137 |
| 3.1. Hệ thống tái sinh in vitro trong chuyển gen ở thực vật | 137 |
| 3.1.1. Phát triển hệ thống tái sinh của cây được chuyển gen trực tiếp | 138 |
| 3.1.2. Phát triển hệ thống tái sinh cây của cây được chuyển gen gián tiếp | 142 |
| 3.1.3. Quy trình tái sinh cây phục vụ chuyển gen của một số loại cây trồng | 144 |
| 3.2. Hệ thống tái sinh cây phục vụ bảo tồn và nhân giống in vitro | 153 |
| 3.2.1. Quy trình tái sinh in vitro cây hoa ban | 153 |
| 3.2.2. Quy trình tái sinh in vitro cây Vú bò | 161 |
| Chương 4. Ứng dụng công nghệ tế bào trong việc chọn dòng lúa chịu nóng | 169 |
| 4.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu | 170 |
| 4.1.1. Vật liệu | 170 |

| | |
|--|------------|
| 4.1.2. Phương pháp nuôi cấy in vitro | 172 |
| 4.1.3. Phương pháp nghiên cứu trên đồng ruộng | 174 |
| 4.1.4. Phương pháp đánh giá tính chịu nóng | 174 |
| 4.1.5. Phương pháp phân tích hoá sinh | 177 |
| 4.1.6. Phương pháp nghiên cứu sinh học phân tử | 179 |
| 4.2. Kết quả và thảo luận | 182 |
| 4.2.1. Kết quả nghiên cứu khả năng chịu nóng và chọn dòng chịu nóng ở lúa bằng kỹ thuật in vitro | 182 |
| 4.2.2. Phân tích mức độ biến động di truyền một số đặc điểm nông học quần thể R_0 và các dòng chọn lọc thể hệ R_1, R_2, R_3 | 190 |
| 4.2.3. Phân tích thành phần hóa sinh các dòng chọn lọc | 199 |
| 4.2.4. Đánh giá khả năng chịu nóng của các dòng chọn lọc | 205 |
| 4.2.5. Đánh giá sự đa hình DNA của các dòng chọn lọc bằng kỹ thuật RAPD | 222 |
| 4.2.6. Kết quả chọn lọc một số dòng lúa triển vọng | 231 |
| Chương 5. Ứng dụng công nghệ tế bào và đột biến thực nghiệm trong chọn dòng lạc chịu hạn | 235 |
| 5.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu | 236 |
| 5.2. Tạo dòng chịu hạn bằng kỹ thuật xử lý mô sẹo trong hệ thống nuôi cấy in vitro | 237 |
| 5.2.1. Sàng lọc dòng mô sẹo chịu tác động của thối khô | 238 |
| 5.2.2. Gây đột biến thực nghiệm kết hợp với thối khô đến tỷ lệ sống sót và tái sinh cây của giống lạc L18 | 245 |
| 5.2.3. Đặc điểm nông sinh học của các quần thể lạc R_0 và RM_0 | 249 |
| 5.3. Phân tích những dòng lạc chọn lọc qua các thế hệ | 252 |
| 5.3.1. Đặc điểm nông sinh học các dòng lạc chọn lọc ở thế hệ thứ Nhất và thứ Ba | 253 |
| 5.3.2. Đánh giá các dòng lạc chọn lọc ở thế hệ thứ Năm | 256 |

| | |
|--|------------|
| 5.3.3. Đặc điểm của một số dòng lạc ưu việt | 271 |
| 5.4. Phân lập và xác định trình tự gen cystatin từ cây lạc..... | 272 |
| 5.4.1. Khuếch đại gen cystatin từ DNA hệ gen của cây lạc | 274 |
| 5.4.2. Kết quả tách dòng và xác định trình tự gen cystatin | 276 |
| 5.4.3. Kết quả so sánh trình tự gen và protein cystatin | 277 |
| 5.5. Quy trình chọn dòng chịu hạn ở lạc..... | 285 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | 287 |