

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

**PHẠM THỊ HỒNG LOAN**

**NGHIÊN CỨU TÁI SINH ĐA CHỖI *IN VITRO*  
CÂY DIỆP HẠ CHÂU (*PHYLLANTHUS URINARIA* L.)**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**THÁI NGUYÊN - 2018**

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

PHẠM THỊ HỒNG LOAN

NGHIÊN CỨU TÁI SINH ĐA CHÒI *IN VITRO*  
CÂY DIỆP HẠ CHÂU (*PHYLLANTHUS URINARIA L.*)

Ngành: DI TRUYỀN HỌC

Mã số: 8.42.01.21

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. NGUYỄN THỊ TÂM

THÁI NGUYÊN - 2018

## **LỜI CAM ĐOAN**

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

*Thái Nguyên, tháng 9 năm 2018*

**Tác giả**

**Phạm Thị Hồng Loan**

## LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình thực hiện luận văn, em nhận được sự quan tâm giúp đỡ của nhiều cá nhân và cơ quan đơn vị. Nay luận văn đã hoàn thành, em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành, sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ em trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Trong quá trình nghiên cứu, em đã nhận được sự giúp đỡ của kỹ thuật viên Trần Thị Hồng (Phòng Công nghệ tế bào, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên). Em xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ quý báu đó.

Em xin chân thành cảm ơn các thầy, cô giáo Bộ môn Sinh học hiện đại và Giáo dục sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để em thực hiện quá trình nghiên cứu.

Em xin bày tỏ lòng biết ơn Ban chủ nhiệm khoa, các thầy cô giáo Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình giảng dạy, tạo mọi điều kiện giúp đỡ em trong quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Cuối cùng em xin chân thành cảm ơn những người thân trong gia đình và bạn bè đã giúp đỡ và động viên em trong suốt thời gian học tập.

*Thái Nguyên, tháng 9 năm 2018*

**Tác giả**

**Phạm Thị Hồng Loan**

# MỤC LỤC

	<b>Trang</b>
LỜI CAM ĐOAN .....	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC .....	iii
DANH MỤC NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT .....	iv
DANH MỤC BẢNG .....	v
DANH MỤC HÌNH.....	vi
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu .....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
<b>Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	<b>4</b>
1.1. Giới thiệu chung về cây Diệp hạ châu.....	4
1.1.1. Nguồn gốc, phân loại.....	4
1.1.2. Đặc điểm hình thái và phân bố sinh thái của cây Diệp hạ châu.....	4
1.1.3. Kỹ thuật trồng Diệp hạ châu.....	5
1.1.4. Tác dụng của một số thành phần hóa học trong cây Diệp hạ châu .....	7
1.1.5. Một số bài thuốc dân gian từ cây Diệp hạ châu .....	9
1.2. Quy trình nhân giống in vitro .....	9
1.3. Chất điều hòa sinh trưởng sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật .....	11
1.3.1. Auxin .....	12
1.3.2. Cytokinin .....	13
1.4. Một số nghiên cứu nuôi cấy cây dược liệu bằng kỹ thuật nuôi cấy in vitro.....	14
1.4.1. Tình hình nuôi cấy in vitro cây dược liệu trên thế giới.....	14
1.4.2. Tình hình nuôi cấy in vitro cây dược liệu ở Việt Nam.....	16
<b>Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	<b>19</b>
2.1. Vật liệu, hoá chất .....	19

2.1.1. Vật liệu thực vật.....	19
2.1.2. Hóa chất, thiết bị.....	19
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu .....	19
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	19
2.2.1. Pha môi trường nuôi cấy.....	19
2.2.2. Khử trùng hạt.....	20
2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng riêng rẽ và kết hợp của chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin và auxin đến sự phát sinh chồi, sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	20
2.2.4. Nghiên cứu môi trường tạo rễ .....	21
2.2.5. Nghiên cứu giá thể đưa cây ra tự nhiên.....	22
2.2.6. Xử lý và tính toán số liệu .....	23
2.3. Điều kiện thí nghiệm .....	23
<b>Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>24</b>
3.1. Kết quả khử trùng hạt .....	24
3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin đến sự phát sinh chồi, sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	26
3.2.1. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	26
3.2.2. Ảnh hưởng của kinetin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	28
3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và NAA, BAP và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	30
3.3.1. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và NAA đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	31

3.3.2. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ mắt chồi bên.....	33
3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA, IBA đến khả năng ra rễ của chồi Diệp hạ châu trong ống nghiệm.....	34
3.4.1. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của chồi Diệp hạ châu .....	35
3.4.2. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của chồi Diệp hạ châu .....	36
3.5. Kết quả ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sự sinh trưởng của cây con trong vườn ươm .....	38
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....</b>	<b>40</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>40</b>
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

2,4-D	:	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
BAP	:	6-Benzylaminopurine
CS	:	Cộng sự
CT	:	Công thức
ĐC	:	Đối chứng
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
IAA	:	Indole-3-acetic acid
IBA	:	Indole-3-butyric acid
Kinetin	:	6-furfurylaminopurine
MS	:	Murashige và Skoog, 1962
NAA	:	Naphthalene acetic acid



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả khử trùng hạt (sau 10 ngày).....	24
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên .....	27
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của kinetin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên .....	29
Bảng 3.4. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và NAA đến sự phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	31
Bảng 3.5. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên....	33
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ (sau 8 tuần).....	35
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ (sau 8 tuần).....	37
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sinh trưởng của Diệp hạ châu (sau 45 ngày).....	39

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cây Diệp hạ châu.....	5
Hình 3.1. Ảnh hưởng của BAP 1,0mg/l đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần).....	28
Hình 3.2. Ảnh hưởng của kinetin 1,0mg/l đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần).....	30
Hình 3.3. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và NAA 0,8mg/l đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần) .....	32
Hình 3.4. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và IBA 0,8mg/l đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi của từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần) .....	34
Hình 3.5. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ (sau 8 tuần) .....	36
Hình 3.6. Rễ Diệp hạ châu trong môi trường bổ sung IBA 0.5mg/l (sau 8 tuần) .....	38
Hình 3.7. Cây Diệp hạ châu trong chậu (45 ngày).....	39