

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

PHAN THỊ THÚY

**XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
CÂY ĐÔNG HẦU VÀNG (*TURNERA ULMIFOLIA*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN, NĂM 2018

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

PHAN THỊ THÚY

**XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
CÂY ĐÔNG HÀU VÀNG (*TURNERA ULMIFOLIA*)**

Ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8 42 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Cán bộ hướng dẫn khoa học: TS. PHẠM THỊ THANH NHÀN

THÁI NGUYÊN, NĂM 2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận văn: “*Xây dựng quy trình nhân giống in vitro cây Đông hầu vàng (Turnera ulmifolia)*” 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 11 năm 2018

Tác giả luận văn

Phan Thị Thúy

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 Nhàn, 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 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 11 năm 2018

Tác giả luận văn

Phan Thị Thúy

MỤC LỤC

	Trang
LỜI CAM ĐOAN	iii
LỜI CẢM ƠN.....	iv
MỤC LỤC	v
DANH MỤC 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 Đông hầu vàng	3
1.1.1. Đặc điểm phân loại và đặc điểm sinh học	3
1.1.2. Giá trị cây Đông hầu vàng.....	5
1.1.3. Tình hình nghiên cứu cây Đông hầu vàng trên thế giới và ở Việt Nam.....	7
1.2. Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật và ứng dụng.....	8
1.2.1. Cơ sở lý luận của phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	9
1.2.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến nuôi cấy in vitro.....	9
1.2.3. Các phương pháp nhân giống vô tính in vitro.....	12
1.3. Thành tựu của nhân giống <i>in vitro</i>	15
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	17
2.1. Vật liệu, hóa chất, thiết bị và địa điểm nghiên cứu	17
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu	17
2.1.2. Hóa chất nghiên cứu	17
2.1.3. Thiết bị nghiên cứu	17
2.1.4. Địa điểm nghiên cứu	17
2.2. Phương pháp nghiên cứu	17
2.2.1. Phương pháp pha môi trường.....	17

2.2.2. Phương pháp nuôi cấy in vitro	17
2.2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu.....	22
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	23
3.1. Nghiên cứu công thức vô trùng mẫu	23
3.2. Nghiên cứu môi trường kích thích hạt Đông hầu vàng nảy mầm	24
3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất phụ gia đến sự sinh trưởng của cây Đông hầu vàng.....	25
3.4. Nghiên cứu tạo đa chồi cây Đông hầu vàng.....	28
3.4.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng	28
3.4.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của kinetin đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng.....	30
3.4.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng.....	32
3.4.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng.....	34
3.4.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của 2,4- D đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng.....	36
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhóm auxin đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng.....	39
3.5.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng..	39
3.5.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng....	40
3.6. Nghiên cứu giá thể thích hợp đưa cây Đông hầu vàng ra ngoài tự nhiên ..	42
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	45
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	46
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	47

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tên tiếng Anh	Nghĩa tiếng Việt
MS	Murashige and Skoog	Môi trường MS
KT		Khử trùng
CT		Công thức
BAP	6- Benzylamino purine	
Kinetin	6- Fururolamino purine	
GA3	Gibberellic acid 3	
NAA	α - Naphthaleneacetic acid	
IBA	3- Indolebutyric acid	
2,4- D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	
NXB		Nhà xuất bản
cs		Cộng sự

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Công thức khử trùng hạt cây Đông hầu vàng	18
Bảng 2.2. Công thức giá thể ra cây Đông hầu vàng.....	22
Bảng 3.1. Kết quả khử trùng hạt cây Đông hầu vàng	23
Bảng 3.2. Tỷ lệ nảy mầm của hạt Đông hầu vàng ở các môi trường.....	25
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của chất phụ gia đến sự sinh trưởng của cây Đông hầu vàng	26
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng .	29
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của kinetin đến khả năng tạo đa chồi cây Đông hầu vàng....	31
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và NAA đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng	33
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và IBA đến khả năng phát sinh chồi cây Đông hầu vàng	35
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của 2,4- D đến khả năng tạo mô sẹo ở lá Đông hầu vàng....	37
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo cây Đông hầu vàng.....	38
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng.....	40
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ cây Đông hầu vàng	41
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của giá thể đến cây trồng trong bầu sau 8 tuần.....	43

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây Đông hầu vàng	3
Hình 1.2. Hoa và hạt cây Đông hầu vàng.....	4
Hình 3.1. Hạt Đông hầu vàng sau khử trùng	24
Hình 3.2. Ảnh hưởng của nước dừa 100 ml/l và than hoạt tính 1,5 g/l đến sự sinh trưởng của cây Đông hầu vàng.....	27
Hình 3.3. Hình ảnh cây Đông hầu vàng trên môi trường CT2 sau 4 tuần.....	30
Hình 3.4. Hình ảnh cây Đông hầu vàng trên môi trường CT3.....	30
Hình 3.5. Hình ảnh cây Đông hầu vàng trên môi trường CT2.....	34
Hình 3.6. Hình ảnh mô sẹo và chồi tái sinh từ mô sẹo sau 4 tuần	38
Hình 3.7. Kết quả tạo rễ cây Đông hầu vàng trên môi trường CT3	42
Hình 3.8. Cây Đông hầu vàng sau khi lấy ra khỏi bình	43
Hình 3.9. Cây Đông hầu vàng <i>in vitro</i> trong vườn ươm	43
Hình 3.10. Sơ đồ quy trình nuôi cấy <i>in vitro</i> cây Đông hầu vàng.....	44

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Dược liệu có vai trò rất quan trọng trong đời sống con người. Từ xưa, ông cha ta đã biết sử dụng, chế biến dược liệu để chăm sóc và bảo vệ sức khỏe. Ngày nay, nhu cầu sử dụng dược liệu của người dân ngày càng gia tăng bởi ít tác dụng phụ và phù hợp với quy luật sinh lý của cơ thể. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), khoảng 80% dân số hiện nay trên thế giới vẫn dựa vào thuốc có nguồn gốc tự nhiên trong chăm sóc sức khỏe cộng đồng [43]. Theo số liệu thống kê của ngành Y tế, mỗi năm ở Việt Nam tiêu thụ từ 30-50 tấn các loại dược liệu khác nhau để sử dụng trong y học cổ truyền làm nguyên liệu cho công nghiệp Dược và xuất khẩu. Trong đó, trên 2/3 khối lượng này được khai thác từ nguồn cây thuốc mọc tự nhiên và trồng trọt trong nước. Riêng từ nguồn cây thuốc tự nhiên đã cung cấp tới trên 20.000 tấn mỗi năm [1]. Do không có chính sách quản lí chặt chẽ nên nhiều loài cây dược liệu tự nhiên bị khai thác ồ ạt, không chú ý tới bảo vệ, tái sinh làm cho nguồn tài nguyên dược liệu giảm sút nghiêm trọng, nhiều loài đang đứng trước nguy cơ tuyệt chủng. Yêu cầu đặt ra là cần phải bảo tồn nguồn gen, nhân nhanh các loài cây dược liệu quý hiếm và tìm ra những loài cây dược liệu thay thế.

Hiện nay, nhu cầu làm đẹp của phái nữ ngày một gia tăng mạnh mẽ. Tuy nhiên, các mỹ phẩm tổng hợp và pha chế được bán trên thị trường thường gây hại cho da sau một thời gian sử dụng. Vì vậy, các công ty dược- mỹ phẩm phải tìm đến những hợp chất được chiết xuất từ những cây cỏ tự nhiên. Ở Việt Nam có rất nhiều cây thuốc quý được sử dụng để cải thiện sắc đẹp như: trinh nữ hoàng cung, nguru tất, hà thủ ô, cây rau sam, diệp hạ châu, cây lá bỏng, lá dâu tằm, lá trầu không,...[47]. Cây Đông hầu vàng (*Turnera ulmifolia*) là loài cây có nhiều công dụng đối với cơ thể, đặc biệt có tác dụng làm đẹp cho phụ nữ như làm trắng da, kéo dài tuổi thanh xuân. Tuy nhiên, ở nước ta hiện nay, cây