

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

PHẠM VIỆT HẢI

**PHÁT TRIỂN HỆ THỐNG TÁI SINH *IN VITRO*
NHẪM PHỤC VỤ CHUYỂN GEN Ở CÂY LẠC
(*ARACHIS HYPOGAEA* L.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN – 2013

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

PHẠM VIỆT HẢI

**PHÁT TRIỂN HỆ THỐNG TÁI SINH *IN VITRO*
NHẪM PHỤC VỤ CHUYỂN GEN Ở CÂY LẠC
(*ARACHIS HYPOGAEA* L.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Chuyên ngành: Di truyền học

Mã số: 60 42 01 21

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. Chu Hoàng Mậu

THÁI NGUYÊN – 2013

**THAI NGUYEN UNIVERSITY
THE COLLEGE OF EDUCATION**

PHAM VIET HAI

DEVELOPMENT OF REGENERATION SYSTEM *IN VITRO* TO SERVE THE GENE TRANSFER IN PEANUT CULTIVARS (*ARACHIS HYPOGAEA*)

**MASTER THESIS IN BIOLOGY
Specialty: GENETICS
Code: 60 42 01 21**

***Scientific supervisor:* Prof. CHU HOANG MAU Ph.D.**

THAI NGUYEN – 2013

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi.

Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố.

Tác giả luận văn

Phạm Việt Hải

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Sau Đại học, Ban chủ nhiệm khoa Sinh – Kỹ thuật Nông nghiệp và các thầy cô giáo, cán bộ của Khoa đã quan tâm giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS Nguyễn Thị Tâm, TS. Vũ Thị Thu Thủy, NCS Nguyễn Thị Thu Nga, chị Trần Thị Hồng, chị Đào Thu Thủy và các thầy cô Bộ môn Di truyền & Sinh học hiện đại, khoa Sinh – Kỹ thuật Nông nghiệp, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Tôi xin cảm ơn Trung tâm nghiên cứu và Phát triển đậu đỗ, Viện cây lương thực và cây thực phẩm - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam đã cung cấp các giống lạc làm vật liệu cho các thí nghiệm của đề tài.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến cha mẹ, vợ, anh chị và các em trong gia đình tôi đã giúp đỡ, động viên tôi rất nhiều trong quá trình học tập của mình.

Tác giả luận văn

Phạm Việt Hải

MỤC LỤC

Lời cam đoan	i
Lời cảm ơn	iii
Mục lục	iiii
Những chữ viết tắt	v
Danh mục các bảng.....	vi
Danh mục các hình	viii
MỞ ĐẦU	1
Chương I. Tổng quan tài liệu	3
1.1. Cây lạc	3
1.1.1. Nguồn gốc, phân bố, phân loại, đặc điểm sinh học cây lạc	3
1.1.2. Giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế của cây lạc.....	5
1.1.3. Tình hình sản xuất lạc trên thế giới và Việt Nam	7
1.2. Hệ thống tái sinh <i>in vitro</i> ở cây lạc.....	11
1.2.1. Cơ sở khoa học của kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	11
1.2.2. Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng đến quá trình nuôi cấy mô tế bào thực vật	Error! Bookmark not defined. 12
1.2.3. Tái sinh cây	13
1.2.4. Nghiên cứu hệ thống tái sinh phục vụ chuyển gen ở cây lạc	15
1.2.5. Hệ thống tái sinh và chuyển gen gián tiếp ở cây lạc	18
Chương II. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu	23
2.1. Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị	23
2.1.1. Nguyên liệu	23
2.1.2. Hóa chất và thiết bị.....	23
2.2. Phương pháp nghiên cứu	23

2.2.1. Phương pháp nuôi cấy in vitro.....	24
2.2.2. Phương pháp xử lý kết quả và tính toán số liệu.....	30
Chương III. Kết quả và thảo luận	31
3.1. Ảnh hưởng của nồng độ các chất đến kết quả khử trùng hạt	31
3.2. Kết quả tái sinh cây lạc từ nách lá mầm	32
3.2.1. Môi trường tạo sự nảy mầm cho hạt lạc	32
3.2.2. Môi trường cảm ứng chồi ở nách lá mầm.....	32
3.2.3. Môi trường kéo dài chồi của hai giống lạc	38
3.2.4. Môi trường ra rễ và tạo cây hoàn chỉnh.....	40
3.2.5. Nhận xét về môi trường tái sinh chồi từ nách lá mầm.....	41
3.3. Kết quả tái sinh từ mô sẹo phôi trực hạt lạc	42
3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ 2,4D đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi lạc..	42
3.3.2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi lạc ..	45
3.3.3. Môi trường tạo rễ của chồi tái sinh từ mô sẹo	48
3.3.4. Nhận xét về môi trường tái sinh cây lạc từ mô sẹo phôi.....	49
3.4. Kết quả tái sinh thông qua sự hình thành phôi soma.....	49
3.4.1 Môi trường cảm ứng tạo cụm phôi soma của phôi trực hạt lạc	49
3.4.2. Môi trường tái sinh cây từ phôi soma.....	53
3.4.3. Khả năng ra rễ và tạo cây hoàn chỉnh từ phôi soma	56
3.4.4. Nhận xét về môi trường tái sinh cây lạc từ phôi soma.....	57
3.5. Ra cây và chế độ chăm sóc	57
3.6. So sánh hiệu quả tái sinh từ ba hệ thống sinh khác nhau trên cùng một giống lạc.....	59
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	61
TÀI LIỆU THAM KHẢO	63

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

2,4D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
BAP	6 - Benzyl Amino Purin
cs	Cộng sự
DNA	Deoxyribonucleic acid
EM	Môi trường phát triển phôi soma
GA3	Gibberellic acid
GM	Môi trường nảy mầm hạt
IAA	β – indol axetic acid
IBA	Indole butyric acid
KN	Kinitin
MS	Murashige – Skoog (1962)
NAA	Naphthyl acetic acid
PM	Môi trường tiền cảm ứng phôi soma
RIM	Môi trường cảm ứng ra rễ của chồi
RM	Môi trường ra rễ cho phôi soma
SEM	Môi trường kéo dài chồi
SIM	Môi trường cảm ứng tạo chồi
SM	Môi trường nảy mầm phôi soma
TB	Trung bình

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
Bảng 1.1	Tình hình sản xuất lạc trên thế giới (2002 - 2007)	7
Bảng 1.2	Các quốc gia sản xuất lạc nhiều nhất trên thế giới	9
Bảng 1.3	Diễn biến sản xuất lạc ở nước ta	10
Bảng 1.4	Diện tích, năng suất, sản lượng lạc của các vùng trọng điểm ở Việt Nam năm 2009	11
Bảng 1.5	Một số báo cáo chuyển gen ở cây lạc thông qua vi khuẩn <i>A. tumefaciens</i> (trước năm 2000).	20
Bảng 1.6	Một số báo cáo chuyển gen ở cây lạc (năm 2000-2009)	22
Bảng 2.1	Thành phần các loại môi trường nuôi cấy dùng cho hệ thống tái sinh cây từ nách lá mầm	26
Bảng 2.2	Thành phần các loại môi trường nuôi cấy dùng cho hệ thống tái sinh cây từ phôi soma	29
Bảng 3.1	Ảnh hưởng của nồng độ BAP và tổ hợp BAP với NAA đến khả năng cảm ứng tạo chồi	35
Bảng 3.2	Ảnh hưởng của tác động gây thương tổn đến khả năng tạo đa chồi trên môi trường cảm ứng tạo chồi tốt nhất	37
Bảng 3.3	Ảnh hưởng của BAP và tổ hợp của BAP với NAA đến khả năng kéo dài chồi	39
Bảng 3.4	Hiệu quả kích thích ra rễ cho lạc của NAA và IBA	40
Bảng 3.5	Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng tạo mô sẹo của các giống lạc	42
Bảng 3.6	Khối lượng mô sẹo của các giống lạc ở các mức nồng	44

	độ 2,4-D	
Bảng 3.7	Ảnh hưởng của BAP và tổ hợp BAP với NAA đến tỷ lệ tái sinh chồi từ mô sẹo (%)	46
Bảng 3.8	Ảnh hưởng của BAP và tổ hợp BAP với NAA đến khả năng tạo chồi ở mô sẹo lạc sau 4 tuần tái sinh	48
Bảng 3.9	Ảnh hưởng của nồng độ khác nhau của 2,4-D đến khả năng cảm ứng phôi soma của các giống lạc (%)	50
Bảng 3.10	Ảnh hưởng của BAP và tổ hợp BAP với NAA đến khả năng tái sinh cây của phôi soma sau 8 tuần	53
Bảng 3.11	Hiệu quả tái sinh của các hệ thống tái sinh	59