

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

VŨ THỊ HẢI

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG ĐỊA LAN
TRẦN MỘNG XUÂN (*CYMBIDIUM LOWIANUM*)
BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY *IN VITRO*.**

LUẬN VĂN THẠC SỸ KHOA HỌC LÂM NGHIỆP

THÁI NGUYÊN - 2013

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu

<http://lrc.tnu.edu.vn/>

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

VŨ THỊ HẢI

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG ĐỊA LAN
TRẦN MỘNG XUÂN (*CYMBIDIUM LOWIANUM*)
BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY *IN VITRO*.**

CHUYÊN NGÀNH: LÂM HỌC
MÃ SỐ: 60.62.02.01

LUẬN VĂN THẠC SỸ KHOA HỌC LÂM NGHIỆP

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS: DƯƠNG MỘNG HÙNG

THÁI NGUYÊN - 2013

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan, số liệu và kết quả nghiên cứu trong Luận văn này là hoàn toàn trung thực, có thực tiễn; chưa được bảo vệ ở bất kỳ một hội đồng khoa học hay học vị nào.

Tôi xin cam đoan, mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện Luận văn đều đã được cảm ơn và các thông tin trích dẫn trong Luận văn này đều được chỉ rõ nguồn gốc.

Tác giả luận văn

Vũ Thị Hải

LỜI CẢM ƠN

Với mong muốn góp phần công sức cho sự phát triển giống lan Trần mộng xuân, tôi đã thực hiện đề tài “Nghiên cứu nhân giống Địa lan Trần Mộng Xuân (*Cymbidium lowianum*) bằng phương pháp nuôi cấy invitro”

Trong thời gian làm đề tài và viết bản luận văn này, ngoài sự cố gắng nỗ lực của bản thân, tôi đã nhận được rất nhiều sự quan tâm, giúp đỡ. Nhân dịp này tôi xin chân thành cảm ơn về sự giúp đỡ quý báu đó.

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới thầy giáo hướng dẫn khoa học PGS. TS Dương Mộng Hùng đã trực tiếp hướng dẫn, tận tình giúp đỡ, truyền đạt những kiến thức quý báu cho tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thiện đề tài.

Tôi xin cảm ơn các thầy, cô giáo và Ban giám hiệu Trường Đại học Nông – Lâm Thái Nguyên, Trung tâm học liệu Đại học Thái Nguyên đã tạo những điều kiện thuận lợi, cung cấp những tài liệu cần thiết cho tôi hoàn thành các nội dung và chương trình mà luận văn đặt ra.

Tôi xin cảm ơn Ban giám đốc và cán bộ công nhân viên của Vườn Quốc gia Hoàng Liên đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong nghiên cứu, thu thập số liệu và thừa kế các số liệu sẵn có để hoàn thành tốt luận văn.

Cuối cùng tôi xin cảm ơn các đồng nghiệp trong Bộ phận nuôi cấy mô tế bào thực vật, bạn bè và người thân trong gia đình đã động viên, giúp đỡ tôi trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Xin trân thành cảm ơn!

Thái Nguyên, năm 2013

Tác giả luận văn

Vũ Thị Hải

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG I TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU	4
1.1 Khái niệm về nhân giống <i>in vitro</i>	4
1.2 Giới thiệu về họ lan	4
1.3 Đặc điểm thực vật của Địa lan Trần Mộng Xuân	8
1.4 Thành tựu đạt được trong nuôi cấy mô hoa lan	9
1.4.1 Nghiên cứu trên thế giới	9
1.4.2 Nghiên cứu ở Việt Nam	10
1.5 Cơ sở khoa học của nuôi cấy mô <i>in vitro</i>	12
1.5.1 Dựa trên tính toàn năng của tế bào	12
1.5.2 Sự phân hóa và phân phân hóa tế bào	12
1.6 Quy trình nhân giống <i>in vitro</i>	13
1.6.1 Giai đoạn 1: Chọn lọc và chuẩn bị cây mẹ	13
1.6.2 Giai đoạn 2: Nuôi cấy khởi động	14
1.6.3 Giai đoạn 3: Nhân nhanh	14
1.6.4 Giai đoạn 4: Tạo cây <i>in vitro</i> hoàn chỉnh	14
1.6.5 Giai đoạn 5: Thích ứng cây <i>in vitro</i> ngoài điều kiện tự nhiên	15
1.7 Các phương thức nhân giống vô tính <i>in vitro</i>	15
1.7.1 Hoạt hóa chồi nách	15
1.7.2 Tạo chồi bất định	15
1.7.3 Tạo phôi vô tính	16
1.8 Một số trường hợp thường gặp trong quá trình nuôi cấy <i>in vitro</i>	16
1.8.1 Tính bất định về mặt di truyền	16
1.8.2 Sự nhiễm mẫu	16
1.8.3 Sự hóa nâu	17
1.8.4 Hiện tượng thủy tinh hóa	17
1.9 Các yếu tố ảnh hưởng đến nhân giống <i>in vitro</i>	18

1.9.1 mẫu cấy	18
1.9.2 Môi trường nuôi cấy	18
1.9.2.1 Môi trường vật lý.....	18
1.9.2.2 Môi trường hóa học.....	19
1.9.3 Các chất điều hòa sinh trưởng	21
1.9.3.1 Auxin.....	21
1.9.3.2 Gibberelin	22
1.9.3.3 Các Xytokinin	22
1.9.3.4 Ethylene	22
1.9.3.5 Các chất ức chế tăng trưởng.....	23
1.9.3.6 Kết luận	23
1.9.4 Điều kiện vô trùng.....	23
1.9.5 Phòng nuôi	24
CHƯƠNG II NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	25
2.1 Nội dung nghiên cứu	25
2.2 Phương pháp nghiên cứu	27
2.2.1 Phương pháp luận.....	27
2.2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm cụ thể	27
2.2.2.1 Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp khử trùng vật liệu đến khả năng tái sinh của mẫu cấy	27
2.2.2.2 Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh của mẫu cấy	28
2.2.2.3 Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến khả năng tạo protocorm	29
2.2.2.4 Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ các chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi	30
2.2.2.5 Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/ cây, chiều dài rễ	31

2.2.2.6 Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống và chiều cao cây con ở vườn ươm	32
2.2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu	33
2.2.3.1 Phương pháp thu thập số liệu	33
2.2.3.2 Phương pháp xử lý số liệu.....	34
CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	36
3.1 Nghiên cứu ảnh hưởng của biện pháp khử trùng vật liệu đến khả năng tái sinh của mẫu cấy	36
3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường và nồng độ chất điều hoà sinh trưởng BA đến khả năng tái sinh của mẫu cấy.....	40
3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến khả năng nhân protocorm.....	43
3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ các chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi	46
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/ cây, chiều dài rễ	49
3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống và chiều cao cây con ở vườn ươm	53
KẾT LUẬN, TỒN TẠI VÀ KIẾN NGHỊ	59
4.1. Kết luận.....	59
4.2. Tồn tại.....	59
4.3. Kiến nghị.....	60
TÀI LIỆU THAM KHẢO	61
PHỤ LỤC	63
Phụ lục 1: Môi trường Murashige- Skoog (MS, 1962)	63
Phụ lục 2: Môi trường MS cải tiến (MS*)	64
Phụ lục 3: Môi trường Vacin & Went (VW)	65
Phụ lục 4: Phân tích kết quả khử trùng mẫu cấy.	66

Phụ lục 5: Phân tích kết quả ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ BA đến khả năng tái sinh của mẫu cấy.	70
Phụ lục 6: Phân tích kết quả ảnh hưởng của môi trường và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BA, Ki đến khả năng nhân Protocom.	73
Phụ lục 7: Phân tích kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng BA, KI đến khả năng nhân nhanh chồi.....	74
Phụ lục 8: Phân tích ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng NAA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/ cây và chiều dài rễ	75
Phụ lục 9: Phân tích kết quả ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống và chiều cao cây con ở vườn ươm	77

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1: Công thức khử trùng cho từng loại mẫu.....	28
Bảng 2.2. Ảnh hưởng của môi trường hóa học và nồng độ chất ĐHST đến khả năng tái sinh của hạt lan.	29
Bảng 2.3 Ảnh hưởng của môi trường và nồng độ chất ĐHST Ki, BA đến khả năng tạo protocom.	30
Bảng 2.5 Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ các chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh thể chồi.....	31
Bảng 2.5 Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến sự ra rễ.....	32
Bảng 3.1a: Tổng hợp kết quả khử trùng mẫu quả lan bằng HgCl ₂	36
Bảng 3.1b: Tổng hợp kết quả khử trùng mẫu quả lan bằng cồn	37
Bảng 3.2: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của 2 loại môi trường và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BA đến khả năng tái sinh của mẫu cây	40
Bảng 3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến khả năng nhân protocom.	43
Bảng 3.4: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ các chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh chồi.	47
Bảng 3.5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/ cây, chiều dài rễ.	50
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống và chiều cao của cây con tại vườn ươm.....	54

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

TT	Tên biểu đồ	Trang
1	Biểu đồ 3.1a: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến tỷ lệ mẫu tái sinh.....	44
2	Biểu đồ 3.1b: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến hệ số nhân thể chồi.....	45
3	Biểu đồ 3.1c: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nồng độ chất ĐHST Ki và BA đến chiều cao trung bình của thể chồi....	45
4	Biểu đồ 3.2: Ảnh hưởng phối hợp của chất ĐHST BA và Ki đến HSNC.....	47
5	Biểu đồ 3.3a: Ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến tỷ lệ ra rễ	50
6	Biểu đồ 3.3b: Ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến số rễ trung bình/ cây.....	51
7	Biểu đồ 3.3c: Ảnh hưởng của chất ĐHST NAA đến chiều dài trung bình của rễ.....	51