

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

NGÔ THỊ THU HƯỜNG

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG TÁI SINH
CỦA MỘT SỐ GIỐNG NGÔ (*Zea mays* L.)
PHỤC VỤ CHUYÊN GEN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2014

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGÔ THỊ THU HƯỜNG

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG TÁI SINH
CỦA MỘT SỐ GIỐNG NGÔ (*Zea mays* L.)
PHỤC VỤ CHUYỂN GEN**

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học
Mã số: 60 42 02 01

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. NGUYỄN VŨ THANH THANH

THÁI NGUYÊN - 2014

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Nguyễn Vũ Thanh Thanh, sự giúp đỡ của các cán bộ khoa Khoa học sự sống - Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên. Các số liệu, kết quả trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm về những số liệu trong luận văn này.

Thái Nguyên, ngày 13 tháng 09 năm 2014

Tác giả luận văn

Ngô Thị Thu Hương

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Vũ Thanh Thanh, khoa Khoa học sự sống, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên là người đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, dìu dắt và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới Th.S Vũ Thanh Sắc, giảng viên khoa Khoa học sự sống, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên, là người đã tạo điều kiện, chỉ bảo và góp ý những điều quý báu cho tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Khoa học sự sống và các thầy cô giáo, cán bộ trong Khoa, đặc biệt là sự quan tâm, giúp đỡ của các anh chị kỹ thuật viên phòng thí nghiệm khoa Khoa học sự sống.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến những người thân trong gia đình, bạn bè đã luôn ở bên giúp đỡ, động viên và khích lệ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu.

Thái Nguyên, ngày 13 tháng 09 năm 2014

Tác giả luận văn

Ngô Thị Thu Hương

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT TRONG LUẬN VĂN	v
DANH MỤC CÁC BẢNG	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH	viii
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
4. Ý nghĩa khoa học	2
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Sơ lược về cây ngô	3
1.1.1. Nguồn gốc, phân loại và đặc điểm sinh học cây ngô	3
1.1.2. Giá trị kinh tế của cây ngô	6
1.1.3. Tình hình sản xuất ngô trên thế giới và Việt Nam	7
1.2. Tình hình nghiên cứu tái sinh ngô trên thế giới và ở Việt Nam	10
1.2.1. Nghiên cứu tái sinh ngô trên thế giới	10
1.2.2. Nghiên cứu tái sinh ngô ở Việt Nam	14
1.3. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng và thành phần môi trường đến khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây ở ngô	14
1.3.1. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng	14
1.3.2. Vai trò của thành phần môi trường	17
1.3.3. Kỹ thuật nuôi cấy <i>in vitro</i> ở ngô	19
Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1. Vật liệu nghiên cứu	21
2.2. Hóa chất và thiết bị	21

2.3. Phạm vi nghiên cứu.....	22
2.4. Địa điểm, thời gian tiến hành nghiên cứu	22
2.5. Phương pháp nghiên cứu.....	22
2.5.1. Tái sinh cây trực tiếp từ phôi non	23
2.5.2. Tạo mô sẹo từ phôi và thân non	24
2.5.3. Nghiên cứu khả năng tái sinh cây từ mô sẹo	26
2.5.4. Nghiên cứu điều kiện đưa cây <i>in vitro</i> ra ngoài môi trường.....	26
2.6. Xử lý số liệu	27
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	28
3.1. Tái sinh cây trực tiếp từ phôi non	28
3.1.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi phôi đến khả năng tái sinh cây trực tiếp từ phôi non	28
3.1.2. Ảnh hưởng của hàm lượng sucrose đến khả năng tái sinh cây trực tiếp từ phôi non các giống ngô.....	30
3.2. Nghiên cứu khả năng tạo mô sẹo từ phôi non.....	35
3.2.1. Ảnh hưởng của tuổi phôi đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non	36
3.2.2. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non	38
3.2.3. Ảnh hưởng của L-proline đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non	41
3.2.4. Ảnh hưởng của AgNO ₃ đến khả năng tạo mô sẹo từ phôi non.....	44
3.3. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng tạo mô sẹo từ thân non	48
3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh cây từ mô sẹo phôi non các giống ngô	51
3.5. Nghiên cứu điều kiện đưa cây <i>in vitro</i> ra ngoài môi trường.....	54
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	55
I. Kết luận.....	55
II. Đề nghị	55
TÀI LIỆU THAM KHẢO	56
PHỤ LỤC	63

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT TRONG LUẬN VĂN

STT	Chữ viết tắt	Chữ viết đầy đủ
1	BAP	6 – benzylaminopurine
2	đtg	Đồng tác giả
3	IAA	Indole-3-acetic acid
4	IBA	Indole-3-butyric acid
5	MS	Murashige & Skoog, 1962
6	NAA	1 - naphthaleneacetic acid
7	Nxb	Nhà xuất bản
8	N6	Chu et al., 1975
9	2,4-D	2,4 - Dichlorophenoxyacetic acid

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Tình hình sản xuất ngô ở một số khu vực trên thế giới giai đoạn 2009 - 2011	7
Bảng 1.2. Tình hình sản xuất ngô ở Việt Nam từ 1975 - 2012.....	9
Bảng 2.1. Đặc điểm các giống ngô nghiên cứu	21
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của tuổi phôi đến tỷ lệ tái sinh cây trực tiếp từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 sau 7 ngày nuôi cấy.....	28
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose đến tỷ lệ tái sinh cây trực tiếp cây từ phôi non giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 sau 7 ngày nuôi cấy.....	32
Bảng 3.3. Đặc điểm cây tái sinh trực tiếp từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 trên môi trường có nồng độ sucrose khác nhau sau 7 ngày nuôi cấy	34
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của tuổi phôi lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non giống LVN 25, LVL 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 10 và 15 ngày...	36
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của 2,4-D đến tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 10 và 15 ngày nuôi cấy	39
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của L-proline lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 10 và 15 ngày nuôi cấy	43
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của AgNO ₃ lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 10 và 15 ngày nuôi cấy	45

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của 2,4-D lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ thân non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 30 ngày nuôi cấy	48
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của BAP lên tỷ lệ tái sinh cây từ mô sẹo phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 30 ngày	51
Bảng 3.10. Giá thể ảnh hưởng đến tỷ lệ sống và chất lượng cây con của ngô nuôi cấy <i>in vitro</i> sau 15 ngày	54

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây ngô thí nghiệm trồng ngoài đồng ruộng	5
Hình 3.1. Ảnh hưởng của tuổi phôi đến tỷ lệ tái sinh cây trực tiếp từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 sau 7 ngày nuôi cấy	29
Hình 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose đến tỷ lệ tái sinh cây trực tiếp từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 sau 7 ngày nuôi cấy	32
Hình 3.3. Cây tái sinh trực tiếp từ phôi non 20 ngày tuổi giống LVN 885 sau 7 ngày nuôi cấy trên các môi trường MS khác nhau về nồng độ sucrose	35
Hình 3.4. Ảnh hưởng của tuổi phôi lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99 và LVN 885 sau 15 ngày nuôi cấy	37
Hình 3.5. Ảnh hưởng của 2,4-D đến tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 15 ngày nuôi cấy	40
Hình 3.6. Mô sẹo tạo thành từ phôi non 20 ngày tuổi giống LVN 885 trên môi trường bổ sung 2,4-D 1 mg/l sau 15 ngày nuôi cấy	41
Hình 3.7. Ảnh hưởng của L-proline lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 15 ngày nuôi cấy	44
Hình 3.8. Ảnh hưởng của AgNO ₃ lên tỷ lệ tạo mô sẹo từ phôi non các giống LVN 25, LVN 61, LVN 66, LVN 99, LVN 885 sau 15 ngày nuôi cấy	46