

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THU HƯỜNG

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
LAN HOÀNG THẢO PHI ĐIỆP TÍM
(*DENDROBIUM ASOMUM* LINDL.)

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN - 2016

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THU HƯỜNG

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
LAN HOÀNG THẢO PHI ĐIỆP TÍM
(*DENDROBIUM ASOMUM* LINDL.)

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học
Mã số: 60.42.02.01

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Hải Yến

THÁI NGUYÊN - 2016

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Thị Hải Yến. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa từng có ai công bố trong một công trình nào khác.

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2016

Tác giả luận văn

Nguyễn Thu Hường

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Hải Yến, Giảng viên Khoa Khoa học Sự sống, Trường Đại học Khoa học Thái Nguyên, người đã trực tiếp hướng dẫn tận tình chu đáo và tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp tôi hoàn thành luận văn này.

Đồng thời, tôi xin được cảm ơn các thầy, cô giáo và các cán bộ kỹ thuật viên Phòng thí nghiệm Sinh học của Khoa Khoa học Sự sống đã tạo điều kiện về thời gian cũng như cơ sở vật chất cho tôi trong suốt quá trình học tập và làm luận văn thạc sĩ.

Cuối cùng tôi xin cảm ơn gia đình, bạn bè cùng tất cả các thầy cô luôn luôn động viên, khuyến khích và giúp đỡ tôi trong tiến trình tôi học tập và làm luận văn này.

Trong quá trình làm luận văn không tránh khỏi những sai sót, tôi mong nhận được sự đóng góp quý báu từ phía thầy cô và bạn bè để tôi có thể có được kết quả tốt hơn.

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2016

Tác giả luận văn

Nguyễn Thu Hương

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT VÀ KÝ HIỆU	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	vii
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 phong lan	3
1.1.1. Chi lan Hoàng thảo (<i>Dendrobium</i>).....	4
1.1.2. Lan Hoàng thảo phi điệp tím (<i>Dendrobium anosmum</i> Lindl.)	7
1.1.3. Các phương pháp nhân giống trên cây lan.....	9
1.2. Sơ lược về nuôi cấy mô tế bào thực vật	10
1.2.1. Các hướng nghiên cứu ứng dụng và ưu thế của kỹ thuật nuôi cấy mô - tế bào.....	10
1.2.2. Các phương thức nuôi cấy mô tế bào trong nhân giống vô tính.....	11
1.2.3. Các giai đoạn của nhân giống <i>in vitro</i>	12
1.2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi cấy mô	13
1.3. Một số nghiên cứu nhân giống <i>in vitro</i> lan <i>Dendrobium</i>	14
1.3.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	15
1.3.2. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam	16
Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	18
2.1. Vật liệu	18
2.1.1. Vật liệu thực vật	18
2.1.2. Dụng cụ và hóa chất.....	18

2.1.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu.....	19
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	19
2.2.1. Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	19
2.2.2. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy.....	20
2.2.3. Chuẩn bị một số thành phần bổ sung vào môi trường nuôi cấy	21
2.2.4. Chuẩn bị giá thể và ra cây	21
2.2.5. Điều kiện nuôi cấy <i>in vitro</i>	21
2.2.6. Bố trí thí nghiệm	21
2.2.7. Các chỉ tiêu theo dõi.....	24
2.2.8. Xử lý số liệu	24
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	25
3.1. Kết quả khử trùng mẫu đưa vào nuôi cấy	25
3.1.1. Kết quả khử trùng mẫu hạt phong lan.....	25
3.2. Kết quả tái sinh chồi.....	26
3.2.1. Kết quả tái sinh chồi từ hạt lan Hoàng thảo phi điệp tím	26
3.2.2. Kết quả nhân chồi từ protocorm lan Hoàng thảo phi điệp tím	28
3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số kích thích sinh trưởng nhóm Cytokinin đến sự nhân nhanh cụm chồi lan Hoàng thảo phi điệp tím.....	29
3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng khoai tây và chuối xanh đến sự nhân nhanh lan Hoàng thảo phi điệp tím (<i>Dendrobium Anosmum</i> Lindl.)	33
3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng α - NAA đến khả năng ra rễ Hoàng thảo phi điệp tím.....	35
3.6. Ảnh hưởng chế phẩm dinh dưỡng đến sinh trưởng và phát triển của cây lan sau khi ra chai trồng trong bầu	37
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	40
1. Kết luận	40
2. Kiến nghị.....	40
TÀI LIỆU THAM KHẢO	41

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Chữ viết đủ
ABA	Absciscic acid
ADN	Acid deoxyribonucleic
APG III	Angiosperm Phylogeny Group III
B1	Thiamine
B2	Riboflavin
BAP	6 - Benzyl adenin purine
ĐC	Đôi chứng
EAC	Ehrlich ascites cells
GA3	Gibberellic acid
IAA	Indol - 3 - acetic acid
IBA	Indol - 3 - butyric acid
Kinetin	6 - furfuryl - aminopurin
KTST	Kích thích sinh trưởng
MS	Murashige and Skoog
PM	Phytamax
RE	Robert Ernst
THT	Than hoạt tính
VW	Vacin Went
USA	United States of America
2,4 - D	2,4 - Dichlorophenoxy acetic acid
α - NAA	α - Naphthalene acetic acid
CT	Công thức
TG	Thời gian
KT	Khử trùng

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả khử trùng hạt lan Hoàng thảo phi điệp tím bằng HgCl ₂ 0,1%	25
Bảng 3.2. Kết quả protocorm phát sinh từ hạt Hoàng thảo phi điệp tím	27
Bảng 3.3. Kết quả nhân chồi từ protocorm loài lan Hoàng thảo phi điệp tím sau 50 ngày cấy chuyển	29
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của nhóm Cytokinin đến sự nhân nhanh chồi lan Hoàng thảo phi điệp tím.....	30
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của hàm lượng chuối xanh và khoai tây nghiền đến sự nhân nhanh cụm chồi lan Hoàng thảo phi điệp tím sau 30 ngày	34
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của α - NAA đến khả năng tạo rễ của lan Hoàng thảo phi điệp tím	36
Bảng 3.7. Ảnh hưởng chế phẩm dinh dưỡng đến sự sinh trưởng phát triển của cây	38

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hoa và cây phong lan Hoàng thảo phi điệp tím.....	9
Hình 2.1. Quả loài lan Hoàng thảo phi điệp tím	20
Hình 3.1. Hạt Hoàng thảo phi điệp tím nảy mầm trên môi trường MS chứa 2,0 mg/l BAP sau 30 ngày nuôi cấy.....	26
Hình 3.2. Protocorm của lan Hoàng thảo phi điệp tím được tạo thành từ hạt trên môi trường MS chứa 2,0 mg/l BAP.....	27
Hình 3.3. Chồi phát sinh từ protocorm trên môi trường MS chứa 1,5 mg/l BAP	29
Hình 3.4. Ảnh hưởng của BAP và kinetin tới sự nhân nhanh cụm chồi lan Hoàng thảo phi điệp tím sau 60 ngày	33
Hình 3.5. Ảnh hưởng của chuối xanh và khoai tây lên sự nhân nhanh cụm chồi lan Hoàng thảo phi điệp tím sau 60 ngày.....	35
Hình 3.6. Ảnh hưởng của α - NAA đến khả năng tạo rễ của lan sau 30 ngày....	37
Hình 3.7. So sánh sự ảnh hưởng từ chế độ tưới $\frac{1}{2}$ MS tới sinh trưởng và phát triển của cây lan con so với đối chứng sau 60 ngày	38

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, hoa cảnh không những đóng vai trò quan trọng trong đời sống tinh thần mà còn ảnh hưởng sâu sắc đến tâm hồn con người và làm đẹp cho cảnh quan môi trường. Do đó, quan tâm phát triển hoa cảnh là vấn đề cần thiết. Hoa lan là một trong những loại hoa được ưa chuộng nhất vì hình dáng, màu sắc, kích thước phong phú, đa dạng nên chúng được trồng, sản xuất khá phổ biến và đã trở thành một mặt hàng có giá trị trong kinh doanh, xuất khẩu trên thế giới. Các nước có ngành nuôi trồng hoa lan phát triển, hàng năm kim ngạch xuất khẩu lên đến hàng trăm triệu USD [15].

Việt Nam là một quốc gia thuộc vùng khí hậu nhiệt đới thích hợp cho sự phát triển của các loài phong lan. Theo cuốn Phong lan Việt Nam của Trần Hợp thì nước ta có 137 - 140 chi với trên 1000 loài phong lan, mỗi loài lan đều có vẻ đẹp riêng. Lan rừng tuy không rực rỡ về màu sắc như những giống lan ngoại nhập nhưng lại có vẻ đẹp tự nhiên thanh thoát và phần lớn có hương thơm vì vậy luôn được người chơi lan ưa chuộng. Thế giới lan rừng rất phong phú với nhiều chủng loại, một trong những chi phổ biến nhất là chi Hoàng thảo (*Dendrobium*). Hiện nay, *Dendrobium* được trồng nhiều và có giá trị kinh tế cao bởi bên cạnh giá trị thẩm mỹ mà *Dendrobium* đem lại thì *Dendrobium* còn được tách chiết để phục vụ cho một số ngành công nghiệp mỹ phẩm, y học. Với giá trị như vậy hoa lan *Dendrobium* hứa hẹn sẽ mang lại nguồn doanh thu to lớn cho ngành sản xuất, kinh doanh mặt hàng này.

Trên thị trường hiện nay, phong lan chủ yếu được cung cấp dưới dạng cây giống khai thác từ rừng, còn hạt lan rất khó nảy mầm ở điều kiện tự nhiên vì vậy số lượng cây con mọc ra không nhiều. Ngày nay, với công nghệ nhân giống *in vitro*, người ta có thể tạo ra từ vài nghìn đến hàng triệu cây con ổn định về mặt di truyền từ một quả lan, từ đó góp phần bảo tồn và phát triển nguồn gen của các loài lan Việt Nam. Nhờ ứng dụng nhân giống *in vitro* vào chi *Dendrobium* đã làm cho nó trở thành một loài hoa cắt cành hiệu quả.