

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI & TÀI NGUYÊN SINH VẬT



PHAN QUYỀN

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI
CÂY MÔ CHO HAI DÒNG BẠCH ĐÀN LAI UP54 VÀ UP99:
GIỐNG LAI GIỮA BẠCH ĐÀN URO(*Eucalyptus urophylla*) VÀ
BẠCH ĐÀN PELLITA (*Eucalyptus pellita*)

LUẬN VĂN THẠC SỸ SINH HỌC

Hà Nội, 2014

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI & TÀI NGUYÊN SINH VẬT

PHAN QUYỀN

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI
CẤY MÔ CHO HAI DÒNG BẠCH ĐÀN LAI UP54 VÀ UP99:
GIỐNG LAI GIỮA BẠCH ĐÀN URO(*Eucalyptus urophylla*) VÀ
BẠCH ĐÀN PELLITA (*Eucalyptus pellita*)

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60420114

LUẬN VĂN THẠC SỸ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. Nghiêm Quỳnh Chi

Hà Nội, 2014

LỜI CẢM ƠN

Sau một thời gian thực hiện đề tài, đến nay tôi đã hoàn thành đề tài của mình. Nhân dịp này cho phép tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Nghiêm Quỳnh Chi là người đã trực tiếp giúp đỡ và hướng dẫn tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn này.

Nhân đây tôi cũng xin chân thành cảm ơn tới lãnh đạo, tập thể cán bộ, nhân viên, đặc biệt các anh, chị, em Bộ môn CNTT thực vật của Viện nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học lâm nghiệp đã quan tâm, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn tới gia đình, bạn bè và người thân đã luôn động viên và ủng hộ tôi trong suốt thời gian tôi học tập và làm nghiên cứu tại Viện nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học lâm nghiệp

Do tôi là cộng tác viên của đề tài “Nghiên cứu nhân nhanh một số giống keo và Bạch đàn mới bằng công nghệ tế bào thực vật” và được sự đồng ý của chủ nhiệm đề tài nên các số liệu trong luận văn có sử dụng một phần kết quả nghiên cứu của đề tài

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

Hà Nội, ngày tháng năm 2014

Tác giả

Phan Quyền

MỤC LỤC

	Trang
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1: TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU	5
1.1. Phân bố tự nhiên và khả năng sinh trưởng của đối tượng nghiên cứu.	5
1.1.1. Bạch đàn uro (<i>Eucalyptus urophylla</i> S.T.Blake).....	5
1.1.2. Bạch đàn pellita (<i>Eucalyptus pellita</i> F. Muell)	6
1.2. Khả năng lai giống và tiềm năng sử dụng giống lai giữa Bạch đàn uro và Bạch đàn pellita.....	8
1.3. Khái niệm và cơ sở khoa học của phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	10
1.3.1. Khái niệm.....	10
1.3.2. Cơ sở khoa học	11
1.3.2.1. <i>Tính toàn năng của tế bào</i>	11
1.3.2.2. <i>Sự phân hoá và phản phân hoá của tế bào</i>	11
1.3.2.3. <i>Môi trường dinh dưỡng</i>	12
1.4. Nhân giống bằng nuôi cấy mô tế bào thực vật	12
1.4.1. Ưu nhược điểm của nhân giống bằng nuôi cấy mô tế bào thực vật	12
1.4.2. Các giai đoạn trong quy trình nuôi cấy mô	13
1.4.3. Các nhân tố ảnh hưởng tới quá trình nuôi cấy mô.....	15
1.4.4. Những vấn đề thường gặp trong nhân giống in vitro và giải pháp khắc phục	21
1.5. Thành tựu của công nghệ nuôi cấy mô trong công tác nhân giống cây lâm nghiệp.....	22
1.5.1. Ngoài nước.....	22
1.5.2. Trong nước.....	25

Chương 2: MỤC TIÊU, ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	28
2.1. Mục tiêu nghiên cứu	28
2.1.1 Mục tiêu chung	28
2.1.2 Mục tiêu cụ thể	28
2.2 Đối tượng nghiên cứu	28
2.3 Nội dung nghiên cứu	28
2.4 Phương pháp nghiên cứu	29
2.4.1 Vật liệu nuôi cấy	29
2.4.2 Địa điểm và điều kiện bố trí thí nghiệm	29
2.4.3 Phương pháp tiến hành	29
2.5 Các bước nhân giống <i>in vitro</i> cho Bạch đàn lai UP54 và UP99	31
2.5.1 Các công thức thí nghiệm	31
2.5.2 Thu thập và xử lý số liệu	34
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	38
3.1 Xác định phương pháp khử trùng thích hợp	38
3.1.1 Ảnh hưởng của hóa chất, nồng độ và thời gian tới kết quả khử trùng	38
3.1.2 Ảnh hưởng của thời điểm lấy mẫu trong năm tới kết quả khử trùng	41
3.2 Xác định môi trường nuôi cấy cơ bản.....	43
3.3 Ảnh hưởng của chế độ nuôi sáng – tối tới kết quả nhân chồi.....	44
3.4 .Xác định môi trường nhân nhanh số lượng chồi	47
3.4.1. Ảnh hưởng của BAP đến hệ số nhân chồi (HSNC) và tỷ lệ chồi hữu hiệu (TLCHH).....	48
3.4.2. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kinetin (Kn) đến hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu.....	50

3.5. Xác định môi trường nâng cao chất lượng chồi.....	53
3.5.1. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn + NAA đến HSNC và TLCHH	53
3.5.2. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn + IAA đến HSNC và TLCHH.	55
3.6 Xác định môi trường ra rễ	57
3.6.1 Ảnh hưởng của IBA đến quá trình ra rễ của Bạch đàn lai UP54 và UP99.....	57
3.6.2. Ảnh hưởng phối hợp của IBA và ABT1 đến hiệu quả ra rễ của Bạch đàn lai UP54 và UP99.....	59
3.6.3. Ảnh hưởng phối hợp của IBA + NAA đến hiệu quả ra rễ bạch đàn lai UP54 và UP99.....	61
3.6.4. Ảnh hưởng phối hợp của IBA và IAA đến hiệu quả ra rễ bạch đàn lai UP54 và UP99.....	63
3.7. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ cây sống và chiều cao của cây con ở vườn ươm	65
3.8. Thảo luận chung.....	68
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	70
TÀI LIỆU THAM KHẢO	72

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Nghĩa đầy đủ
BAP	6- Benzyl Amino Purine
HSNC	Hệ số nhân chồi
B5	Môi trường Gamborg
BT	Bình thường
Ca(OCl) ₂	Hypoclorit canxi
GA3	Gibberellic Acid
H ₂ O ₂	Ôxi già
HgCl ₂	Clorua thủy ngân
IAA	Indol 3- Acetic Acid
IBA	Indol Butiric Acid
Kn	Kinetin
MS*	Môi trường MS cải tiến
NAA	Naphthy acetic Acid
NaClO	Hypoclorit natri
PVP	Polyvinyl Pyrrolidone
Sd	Sai tiêu chuẩn mẫu
Tb	Trung bình
UP	<i>E. urophylla</i> x <i>E. pellita</i>
TLBCHH	Tỷ lệ bật chồi hữu hiệu
TLCHH	Tỷ lệ chồi hữu hiệu
WPM	Môi trường cho cây thân gỗ

DANH MỤC CÁC BẢNG

TT	Tên bảng	Trang
3.1	Kết quả thí nghiệm khử trùng mẫu cho bạch đàn lai: UP54 và UP99 (sau 25 ngày khử trùng)	39
3.2	Ảnh hưởng của mùa vụ đến khả năng tái sinh chồi bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 25 ngày khử trùng)	42
3.3	Ảnh hưởng của loại môi trường đến khả năng nhân chồi bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy chuyển)	43
3.4	Ảnh hưởng của chế độ nuôi sáng – tối tới kết quả nhân chồi Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	45
3.5	Ảnh hưởng của BAP đến hệ số nhân chồi và tỷ lệ chồi hữu hiệu Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày nuôi cấy)	49
3.6	Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn đến HSNC và TLCHH Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày nuôi cấy)	51
3.7	Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn + NAA đến HSNC và TLCHH Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	54
3.8	Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn + IAA đến HSNC và TLCHH Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	55
3.9	Ảnh hưởng của IBA đến quá trình ra rễ của Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	58
3.10	Ảnh hưởng phối hợp của IBA và ABT đến hiệu quả ra rễ Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày)	60
3.11	Ảnh hưởng phối hợp của IBA + NAA đến hiệu quả ra rễ Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	62
3.12	Ảnh hưởng phối hợp của IBA và IAA đến hiệu quả ra rễ Bạch đàn lai UP54 và UP99 (sau 15 ngày cấy)	63
3.13	Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ cây sống và chiều cao của cây con ở vườn ươm (sau 1 tháng cấy vào giá thể)	66

DANH MỤC CÁC HÌNH

TT	Tên hình	Trang
1.1	Phân bố tự nhiên của bạch đàn urô	6
1.2	Phân bố tự nhiên của bạch đàn pellita	7
3.1	Cây vật liệu dùng để vào mẫu, sau khi đã được tuyển chọn dẫn giống về trồng ở vườn ươm	41
3.2	Các chồi bất định Bạch đàn lai UP54 và UP99 sau 25 ngày khử trùng	41
3.3	Ảnh hưởng của chế độ nuôi sáng- tối tới hiệu quả nhân chồi dòng UP99	47
3.4	Ảnh hưởng của BAP và Kn tới khả năng nhân chồi cho bạch đàn lai UP99(sau 15 ngày nuôi cấy)	52
3.5	Chồi Bạch đàn lai UP54(trái) và UP99(phải) trong các môi trường nâng cao chất lượng chồi	56
3.6	Ảnh hưởng của IBA đến hiệu quả ra rễ của bạch đàn lai UP99	59
3.7	Bình ra rễ của Bạch đàn lai UP54 và UP99	64
3.8	Ảnh hưởng của ABT, IAA và NAA đến hiệu quả ra rễ của bạch đàn lai UP54	65
3.9	Bạch đàn ra rễ được huấn luyện trước khi cấy vào giá thể	67
3.10	Cây con UP54 và UP99 ngoài vườn ươm	67

ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống là một trong những khâu quan trọng nhất của sản xuất nông lâm nghiệp, đặc biệt cây rừng có đời sống dài ngày, lâu thu hoạch sản phẩm, diện tích canh tác lớn và khó có điều kiện áp dụng các biện pháp kỹ thuật thâm canh như các cây nông nghiệp, nên việc sử dụng giống có chất lượng di truyền được cải thiện, phù hợp với mục tiêu kinh tế được đặt ra và phù hợp với từng vùng sinh thái là vô cùng quan trọng.

Các hoạt động cho một chương trình cải thiện giống cây rừng tuần tự như sau: Chọn lọc và khảo nghiệm loài → xuất xứ → chọn lọc cây trội → xây dựng rừng giống và vườn giống → lai giống → nhân giống → rừng trồng mới. Như vậy có thể thấy *nhân giống* là khâu cuối cùng trong công tác giống, song rất quan trọng bởi nó giúp cung cấp giống với số lượng lớn và chất lượng di truyền ổn định, từ đó nâng cao năng suất và chất lượng rừng trồng.

Có hai phương pháp nhân giống chủ yếu, đó là (i) nhân giống hữu tính (*bằng hạt*), được thực hiện ở các cấp khác nhau (*rừng giống hay vườn giống*); (ii) nhân giống sinh dưỡng bằng hom và bằng mô tế bào. Tùy từng đối tượng cụ thể mà áp dụng phương pháp nhân giống thích hợp nhằm đưa lại hiệu quả cao nhất. Tuy nhiên, nhân giống sinh dưỡng hiện được dùng phổ biến để cung cấp cây giống với số lượng lớn và chất lượng ổn định cho trồng rừng thương mại, bởi nhân giống sinh dưỡng là phương thức nhân giống dựa trên cơ sở của phân bào nguyên nhiễm, lõi phân bào không có sự tái tổ hợp của thể nhiễm sắc trong quá trình phân chia, do đó cây hom hoặc cây mô sẽ giữ được các đặc tính di truyền của cây giống, đặc biệt là để nhân các dòng cây lai đời F_1 .

Hiện nay, nhân giống sinh dưỡng bằng phương pháp nuôi cấy mô (*tissue culture*) được xem là giải pháp công nghệ hàng đầu bởi từ một mẫu nuôi cấy, chủ yếu là các bộ phận tách rời của thực vật (*các mô phân sinh như mô đỉnh chồi và cành có kích thước 0,1mm – 1,0 cm*) có thể tạo ra hàng triệu

Số hóa bởi trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>