

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

TRẦN THỊ ANH

NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG TÁI SINH  
CÂY DỪA CẠN (*CATHARANTHUS ROSEUS* (L.) G DON)  
PHỤC VỤ CHUYÊN GEN

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2015

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

**TRẦN THỊ ANH**

**NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG TÁI SINH**  
**CÂY DỪA CẠN (*CATHARANTHUS ROSEUS* (L.) G DON)**  
**PHỤC VỤ CHUYÊN GEN**

**Chuyên ngành: DI TRUYỀN HỌC**  
**Mã số: 62.42.01.21**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. NGUYỄN THỊ TÂM**

**THÁI NGUYÊN - 2015**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố.

*Thái Nguyên, tháng 5 năm 2015*

**Tác giả**

**Trần Thị Anh**

**Xác nhận của khoa chuyên môn**

**Người hướng dẫn khoa học**

**PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm**

## LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình thực hiện luận văn, tôi nhận được sự quan tâm giúp đỡ của nhiều cá nhân và cơ quan đơn vị. Nay luận văn đã hoàn thành, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành, sâu sắc tới:

PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm, GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Trong quá trình nghiên cứu, tôi đã nhận được sự giúp đỡ của kỹ thuật viên Trần Thị Hồng (Phòng Công nghệ tế bào, Khoa Sinh - KTNN, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên). Tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ quý báu đó.

Tôi xin chân thành cảm ơn thầy cô Bộ môn Di truyền và Sinh học hiện đại, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi thực hiện quá trình nghiên cứu.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn Ban chủ nhiệm khoa, các thầy cô giáo, cán bộ khoa, các thầy cô giáo thuộc khoa Sinh - KTNN, Trường Đại học sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình giảng dạy, tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Cuối cùng tôi xin chân thành cảm ơn những người thân trong gia đình và bạn bè đã giúp đỡ và động viên tôi trong suốt thời gian học tập.

*Thái Nguyên, tháng 5 năm 2015*

**Tác giả**

**Trần Thị Anh**

# MỤC LỤC

	<b>Trang</b>
LỜI CAM ĐOAN .....	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC .....	iii
DANH MỤC NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT .....	iv
DANH MỤC BẢNG .....	v
DANH MỤC HÌNH.....	vi
<b>MỞ ĐẦU.....</b>	<b>1</b>
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
<b>Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....</b>	<b>3</b>
1.1. Giới thiệu chung về cây dưa cạn .....	3
1.1.1. Nguồn gốc, phân loại.....	3
1.1.2. Đặc điểm hình thái của cây dưa cạn.....	3
1.1.3. Phân bố sinh thái.....	5
1.1.4. Kỹ thuật trồng dưa cạn .....	5
1.1.5. Ứng dụng của cây dưa cạn trong y học .....	7
1.2. Nhân giống in vitro bằng công nghệ tế bào thực vật .....	9
1.2.1. Ưu thế và các phương thức nhân giống in vitro .....	9
1.2.2. Quy trình nhân giống in vitro .....	13
1.3. Chất điều hòa sinh trưởng sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật .....	14
1.3.1. Auxin .....	14
1.3.2. Cytokinin .....	16
1.4. Một số nghiên cứu nuôi cấy dưa cạn bằng kỹ thuật nuôi cấy in vitro .....	17
1.4.1. Tình hình nuôi cấy in vitro dưa cạn trên thế giới.....	17

1.4.2. Tình hình nuôi cấy in vitro cây dừa cạn ở Việt Nam .....	20
<b>Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>22</b>
2.1. Vật liệu, hoá chất.....	22
2.1.1. Vật liệu thực vật.....	22
2.1.2. Hóa chất, thiết bị.....	22
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu .....	22
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	22
2.2.1. Pha môi trường .....	22
2.2.2. Khử trùng hạt.....	23
2.2.3. Nghiên cứu môi trường phát sinh chồi và sinh trưởng.....	23
2.2.4. Phương pháp gây tổn thương tạo chồi.....	24
2.2.5. Nghiên cứu môi trường tạo rễ .....	24
2.2.6. Nghiên cứu giá thể đưa cây ra tự nhiên.....	25
2.2.7. Xử lí và tính toán số liệu .....	26
2.3. Điều kiện thí nghiệm .....	26
<b>Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>27</b>
3.1. Kết quả khử trùng hạt.....	27
3.2. Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên, nách lá mầm .....	29
3.2.1. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	30
3.2.2. Ảnh hưởng của kinetin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	32
3.2.3. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ nách lá mầm.....	34

3.3. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và NAA, BAP và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên, nách lá mầm dừa cạn.....	36
3.3.1. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và NAA đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	37
3.3.2. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	39
3.3.3. Ảnh hưởng kết hợp giữa BAP và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi dừa từ nách lá mầm.....	41
3.4. Kết quả tạo đa chồi bằng phương pháp gây tổn thương.....	44
3.5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA, IBA đến khả năng ra rễ của chồi dừa cạn trong ống nghiệm .....	46
3.5.1. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của chồi dừa cạn trên môi trường MS.....	46
3.5.2. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của chồi dừa cạn trên môi trường MS.....	47
3.5.3. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của chồi dừa cạn trên môi trường ½ MS.....	50
3.6. Kết quả ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sự sinh trưởng của cây con trong vườn ươm .....	51
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....</b>	<b>53</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>54</b>
<b>PHỤ LỤC .....</b>	

## DANH MỤC NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

2,4-D	:	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
BAP	:	6-Benzylaminopurine
CS	:	Cộng sự
CT	:	Công thức
ĐC	:	Đối chứng
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
HPLC	:	Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng
IAA	:	Indole-3-acetic acid
IBA	:	Indole-3-butyric acid
KIN	:	Kinetin
MS	:	Murashige và Skoog, 1962
NAA	:	Naphthalene acetic acid
WHO	:	Tổ chức y tế thế giới.

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả khử trùng hạt (sau 10 ngày).....	27
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của BAP đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên .....	30
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của kinetin đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	33
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của BAP đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ nách lá mầm .....	35
Bảng 3.5. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và NAA đến sự phát sinh chồi và sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên.....	38
Bảng 3.6. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và IBA đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên .....	40
Bảng 3.7. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 0,5mg/l và IBA đến sự phát sinh chồi sự sinh trưởng của chồi từ nách lá mầm.....	42
Bảng 3.8. Kết quả tạo đa chồi sau khi gây tổn thương.....	44
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ.....	47
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ.....	48
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của dứa cạn (sau 8 tuần) .....	50
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống và sinh trưởng của dứa cạn (sau 45 ngày) .....	51

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cây dưa cạn .....	4
Hình 1.2. Hoa của ba giống <i>Catharanthus roseus</i> .....	5
Hình 3.1. Ảnh hưởng thời gian khử trùng đến sự nảy mầm của hạt dưa cạn....	28
Hình 3.2. Ảnh hưởng của BAP 1,0mg/l đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần).....	31
Hình 3.3. Ảnh hưởng của kinetin 1,0mg/l đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần).....	34
Hình 3.4. Ảnh hưởng của BAP 0,5 mg/l đến phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ nách lá mầm.....	36
Hình 3.5. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và NAA 0,4mg/l đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên (sau 8 tuần) .....	39
Hình 3.6. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 1,0mg/l và IBA 0,6mg/l đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ đoạn thân mang mắt chồi bên .....	40
Hình 3.7. Ảnh hưởng kết hợp của BAP 0,5mg/l và IBA 0,4mg/l đến sự phát sinh chồi và sự sinh trưởng chồi từ nách lá mầm .....	43
Hình 3.8. Kết quả tạo đa chồi sau khi gây tổn thương .....	45
Hình 3.9. Rễ dưa cạn trong môi trường bổ sung NAA 0,2mg/l (sau 8 tuần) ....	47
Hình 3.10. Rễ dưa cạn trong môi trường bổ sung IBA 0,2mg/l trên môi trường MS (sau 8 tuần) .....	49
Hình 3.11. Rễ dưa cạn trong môi trường bổ sung IBA 0,2mg/l trên môi trường ½ MS (sau 8 tuần) .....	51
Hình 3.12. Ảnh hưởng của giá thể đất hỗn hợp đất thịt + phù sa + cát đến sự sinh trưởng của dưa cạn .....	52