

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

-----o0o-----

VŨ ANH TUẤN

**NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHÂN NHANH
MỘT SỐ GIỐNG MÍA MỚI BẰNG CÔNG NGHỆ
NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO**

LUẬN VĂN THẠC SỸ SINH HỌC

Hà Nội, tháng 12 năm 2016

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

-----o0o-----

VŨ ANH TUẤN

**NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH NHANH
MỘT SỐ GIỐNG MÍA MỚI BẰNG CÔNG NGHỆ
NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60.42.01.14

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

GS. TS. Đỗ Năng Vịnh

Hà Nội, tháng 12 năm 2016

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan rằng số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là hoàn toàn trung thực và chưa hề sử dụng cho bảo vệ một học vị nào. Mọi sự giúp đỡ cho việc hoàn thành luận văn đều đã được cảm ơn. Các thông tin, tài liệu trình bày trong luận văn này đã được ghi rõ nguồn gốc và được phép công bố.

Hà Nội, tháng 12 năm 2016

Học viên thực hiện

Vũ Anh Tuấn

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành tốt luận án này trước hết tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc GS.TS. Đỗ Năng Vịnh đã tạo mọi điều kiện và tận tình giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài nghiên cứu.

Đồng thời tôi gửi lời cảm ơn sâu sắc tới. ThS Trần Thị Hạnh đã trực tiếp hướng dẫn tôi thực hiện các thí nghiệm, Cùng toàn thể các Anh chị em cán bộ phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào thực vật - Viện Di Truyền Nông Nghiệp đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo đã dạy bảo và giúp đỡ tận tình trong thời gian học tập tại trường.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn sự ủng hộ, động viên to lớn của gia đình và các bạn thành viên trong lớp cao học

Hà Nội, tháng 12 năm 2016

Học viên cao học

Vũ Anh Tuấn

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

TỪ	NGHĨA TIẾNG ANH
ASEAN	Association of Southeast Asian Nations
BAP	6-Benzylaminopurine
CCS	Commercial Cane Sugar
CT	Công thức
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation
Gdna	Genomic Deoxyribonucleic acid
NAA	A-Naphthalene acetic acid
HgCl ₂	Thủy ngân clorua
H ₂ O ₂	Oxi già
MS	Môi trường Murashige and Skoog, 1962
PCR	Polymerase Chain Reaction
Rdna	Ribosome DNA
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
%	Phần trăm

DANH MỤC BẢNG

TT	Bảng	Nội dung	Trang
1	Bảng 1.1	Mười quốc gia sản xuất mía hàng đầu thế giới (FAO, 2015)	9
2	Bảng 3.1	Tỷ lệ mô phân sinh mía bật chồi trên môi trường khởi tạo	44
3	Bảng 3.2	Ảnh hưởng của BAP lên hệ số nhân chồi của các giống mía sau 4 tuần	46
4	Bảng 3.3	Ảnh hưởng của kinetin đến hệ số nhân chồi của các giống mía sau 4 tuần	48
5	Bảng 3.4	Ảnh hưởng của trạng thái môi trường đến quá trình nhân nhanh chồi của giống mía LS2 sau 4 tuần nuôi cấy	50
6	Bảng 3.5	Ảnh hưởng của trạng thái môi trường đến quá trình nhân nhanh chồi của giống mía LS1 sau 4 tuần nuôi cấy	50
7	Bảng 3.6	Ảnh hưởng của trạng thái môi trường đến quá trình nhân nhanh chồi của giống mía MY5514 sau 4 tuần nuôi cấy	51
8	Bảng 3.7	Ảnh hưởng của trạng thái môi trường đến quá trình nhân nhanh chồi của giống mía QĐ93159 sau 4 tuần nuôi cấy	51
9	Bảng 3.8	Ảnh hưởng của số chồi trong cụm chồi đến hệ số nhân chồi mía	53
10	Bảng 3.9	Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến quá trình kéo dài chồi của các giống mía sau 2 tuần nuôi cấy	55
11	Bảng 3.10	Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến quá trình kéo dài chồi của các giống mía sau 2 tuần nuôi cấy	56
12	Bảng 3.11	Ảnh hưởng của NAA và hàm lượng đường khác nhau đối với sự hình thành rễ sau 2 tuần nuôi cấy LS1, LS2	58
13	Bảng 3.12	Ảnh hưởng của NAA và hàm lượng đường khác nhau đối với sự hình thành rễ sau 2 tuần nuôi cấy của hai giống MY5514, QĐ93159	58

14	Bảng 3.13	Ảnh hưởng của mật độ nuôi cấy đến sự ra rễ của chồi mía trên môi trường lỏng sau 2 tuần nuôi cấy	61
15	Bảng 3.14	Ảnh hưởng của nền giâm đến khả năng phát triển của cây con trên vườn ươm của giống LS1	62
16	Bảng 3.15	Ảnh hưởng của nền giâm đến khả năng phát triển của cây con trên vườn ươm của giống LS1	63
23	Bảng 3.16	Ảnh hưởng của nền giâm đến khả năng phát triển của cây con trên vườn ươm của giống MY5514	63
24	Bảng 3.17	Ảnh hưởng của nền giâm đến khả năng phát triển của cây con trên vườn ươm của giống QĐ93159	64

DANH MỤC HÌNH VẼ

TT	Hình	Nội dung	Trang
1	Hình 3.1	Biểu hiện bệnh trắng lá và chồi cỏ ở các mẫu thu thập	32
2	Hình 3.2	Thu thập mẫu nghi nhiễm bệnh chồi cỏ ở Tam Hợp, Quỳnh Hợp, Nghệ An	33
3	Hình 3.3	Kết quả phân tích sản phẩm PCR lồng của các mẫu mía thu thập ở Tam Hợp	34
4	Hình 3.4	So sánh trình tự 16s rDNA của chủng SCGSVN-TH với các chủng SCGSVN4 (A); SCWLBDVN (B) và SCGS Thailand, isolate SAK1-2 (C)	36
5	Hình 3.5	Cây phân loại các chủng phytoplasma gây bệnh chồi cỏ	37
6	Hình 3.6	Kết quả phân tích nested-PCR các mẫu mía thu thập ở Tân Châu sử dụng cặp mồi cặp mồi SGSVN-Fwd1/Rev	39
7	Hình 3.7	So sánh trình tự 16s rDNA của chủng SCWLVDN-TN với các chủng SCWLBDVN (A) và SCWLCN-Yuetang-86-386 (B)	41
8	Hình 3.8	Cây phân loại các chủng phytoplasma gây bệnh trắng lá	41
9	Hình 3.9	Các phản ứng khác nhau của mẫu tái sinh từ nuôi cấy chồi nách và chồi đỉnh	45
10	Hình 3.10	Một số hình ảnh tái sinh cụm chồi từ nuôi cấy chồi đỉnh và chồi nách	45
11	Hình 3.11	Biểu đồ ảnh hưởng của BAP lên hệ số nhân chồi của các giống mía sau 4 tuần	46
12	Hình 3.12	Ảnh hưởng của BAP lên nhân chồi của các giống QĐ93159, LS1, My5514 và LS2 (từ trái sang phải)	47
13	Hình 3.13	Biểu đồ ảnh hưởng của kinetin đến hệ số nhân chồi của các giống mía sau 4 tuần	48
14	Hình 3.14	Giống LS1 trên môi trường nhân chồi có Kinetin	49
15	Hình 3.15	Biểu đồ ảnh hưởng của trạng thái môi trường lên quá trình hình thành chồi của 04 giống LS1, LS2, MY5514, QĐ93159	52
16	Hình 3.16	Biểu đồ Ảnh hưởng của số chồi trong cụm chồi đến hệ số nhân chồi mía	53
17	Hình 3.17	Ảnh nhân chồi của các giống với mật độ 5 chồi/ cụm	54

18	Hình 3.18	Ảnh hưởng của BAP đến quá trình kéo dài chồi của các giống mía	56
19	Hình 3.19	Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến quá trình hình thành rễ sau 2 tuần nuôi cấy	59
20	Hình 3.20	Biểu đồ ảnh hưởng của NAA và hàm lượng đường khác nhau đến sự hình thành rễ của các giống mía	59
29	Hình 3.21	Bình nuôi cấy ra rễ mật độ 30 cây/bình	62
30	Hình 3.22	Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất đến sinh trưởng và phát triển của cây sau cấy mô ở ngoài vườn ươm	64

MỤC LỤC

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT	i
DANH MỤC BẢNG	ii
DANH MỤC HÌNH VẼ	iv
MỤC LỤC	vi
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề	1
2. Mục tiêu	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài nghiên cứu	2
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Đặc điểm sinh học, phân loại và di truyền học của cây mía <i>Saccharum officinarum</i> liên quan đến quá trình nhân giống	4
1.1.1. Nguồn gốc	4
1.1.2. Phân loại	4
1.1.3. Đặc điểm di truyền nhiễm sắc thể ở mía và quá trình nhân giống	5
1.1.4. Vấn đề sâu bệnh ở mía	6
1.2. Vai trò của giống mía và cơ cấu giống đối với sản xuất	7
1.3. Tình hình sản xuất mía đường trên thế giới và nước ta	8
1.3.1. Tình hình sản xuất mía đường trên thế giới	8
1.3.2. Tình hình sản xuất mía đường trong nước	10
1.3.3. Những nguyên nhân, tồn tại của ngành mía đường hiện nay	12
1.3.4. Tình hình hình sâu bệnh hại chính	12
1.4. Những vấn đề đại cương về công nghệ cây mô mía	14
1.4.1. Các phương pháp tạo giống sạch bệnh cơ bản dựa trên kỹ thuật cây mô	14
1.4.2. Công nghệ tế bào hiệu quả cao trong phục tráng giống, tạo giống sạch bệnh và nhân giống nhanh	14
1.4.2.1. Phương pháp nuôi cấy chồi đỉnh	14
1.4.2.2. Phương pháp nuôi cấy mô lá non ở chồi đỉnh	15
1.4.2.3. Phương pháp nhân giống mía thông qua nuôi cấy mô sẹo	16
1.4.3. Các hướng nghiên cứu cải thiện công nghệ vi nhân giống thực vật	17
1.4.4. Thành tựu nhân nhanh giống bằng cây mô qui mô công nghiệp	17
1.4.4.1. Nhân giống nhanh bằng cây mô rút ngắn thời gian chọn giống và nhanh chóng đưa các giống mới chọn tạo vào sản xuất lớn, đại trà	17