

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THỊ TRANG

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
CÂY THỔ NHÂN SÂM (*Talinum crassifolium* Willd)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2016

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN THỊ TRANG

**NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO*
CÂY THỔ NHÂN SÂM (*Talinum crassifolium* Willd)**

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 THỊ TÂM

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 PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm. 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 ai công bố trong một công trình nào khác.

Tác giả luận văn

Nguyễn Thị Trang

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS Nguyễn Thị Tâm, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư Phạm Thái Nguyên đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin cảm ơn thầy cô giáo và các anh chị kỹ thuật viên tại phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào thực vật, Khoa Sinh học trường đại học Sư Phạm Thái Nguyên đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình làm luận văn thạc sĩ.

Trong thời gian thực hiện luận văn thạc sĩ tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu và Phát triển Lâm Nghiệp - Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, tôi luôn nhận được sự giúp đỡ của Ban lãnh đạo Viện, các kỹ thuật viên tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học đã tận tình giúp đỡ hướng dẫn tôi làm các thí nghiệm của luận văn thạc sĩ.

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 cảm ơn gia đình và bạn bè luôn bên cạnh ủng hộ, khuyến khích, động viên tạo động lực để tôi hoàn thành 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 làm tốt hơn.

Tác giả luận văn

Nguyễn Thị Trang

MỤC LỤC

Lời cam đoan.....	i
Lời cảm ơn	ii
Mục lục.....	iii
Danh mục các từ và chữ viết tắt.....	v
Danh mục bảng.....	vi
Danh mục hình	vii
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 và thực tiễn của đề tài	3
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Giới thiệu về cây Thổ nhân sâm	4
1.1.1. Đặc điểm phân loại và hình thái cây Thổ nhân sâm.....	4
1.1.2. Đặc điểm phân bố cây Thổ nhân sâm.....	5
1.1.3. Đặc điểm sinh thái, trồng trọt cây Thổ nhân sâm.....	5
1.1.4. Thành phần hóa học và giá trị dược liệu của cây Thổ nhân sâm	6
1.2. Khái quát về nuôi cấy mô tế bào thực vật	8
1.2.1. Cơ sở khoa học của nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	9
1.2.2. Vai trò của một số chất kích thích sinh trưởng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật	11
1.3. Các giai đoạn trong quy trình nhân giống vô tính in vitro.....	15
1.3.1. Giai đoạn I - Cấy gây.....	15
1.3.2. Giai đoạn II - Nhân nhanh	15
1.3.3. Giai đoạn III - Chuẩn bị và đưa ra ngoài đất.....	16
1.4. Một số thành tựu nhân giống cây dược liệu bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	16

Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1. Vật liệu, hoá chất, thiết bị, địa điểm nghiên cứu	21
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu.....	21
2.1.2. Hoá chất, thiết bị.....	21
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	21
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	21
2.2.1. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy	21
2.2.2. Phương pháp nuôi cấy <i>in vitro</i>	22
2.2.3. Đưa cây ra môi trường tự nhiên.....	24
2.3. Điều kiện thí nghiệm.....	26
2.4. Phương pháp xử lý số liệu.....	26
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	27
3.1. Kết quả nghiên cứu khử trùng hạt.....	27
3.1.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng HgCl ₂ 0,1% đến hiệu quả khử trùng.....	27
3.1.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng dung dịch javel 60% đến hiệu quả khử trùng	28
3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh và sự sinh trưởng của chồi Thổ nhân sâm trong ống nghiệm.....	31
3.2.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng BAP đến khả năng nhân chồi Thổ nhân sâm	31
3.2.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp kinetin đến khả năng nhân chồi Thổ nhân sâm	34
3.2.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết hợp giữa BAP và IBA tới khả năng nhân chồi Thổ nhân sâm	36
3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ chồi cây Thổ nhân sâm.....	38
3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây con <i>in vitro</i> ngoài vườn ươm.....	39
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	42
TÀI LIỆU THAM KHẢO	43

PHỤ LỤC..... 47

DANH MỤC CÁC TỪ VÀ CHỮ VIẾT TẮT

DNA	:	Deoxyribonucleic acid
BAP	:	6 - benzyl amino purine
CT	:	Công thức
CS	:	Cộng sự
ĐC	:	Đối chứng
IAA	:	3 - indol acetic acid
IBA	:	3 - indol butyric acid
Kinetin	:	6 - furfuryl- aminopurine
MS	:	Murashighe và Skoog, 1962
NAA	:	α - naphthalene acetic acid
2,4 - D	:	2,4 - dichlorophenoxy acetic acid

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Kết quả khử trùng hạt Thổ nhân sâm bằng HgCl_2 0,1%	28
Bảng 3.2.	Kết quả khử trùng hạt Thổ nhân sâm bằng javen 60%	29
Bảng 3.3.	Ảnh hưởng của hàm lượng BAP đến khả năng nhân chồi Thổ nhân sâm	32
Bảng 3.4.	Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp kinetin đến khả năng nhân chồi Thổ nhân sâm	34
Bảng 3.5.	Ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp với IBA đến khả năng nhân nhanh chồi Thổ nhân sâm	36
Bảng 3.6.	Ảnh hưởng của của IBA đến khả năng ra rễ chồi Thổ nhân sâm	38
Bảng 3.7.	Kết quả ảnh hưởng của giá thể đến tỉ lệ sống, sinh trưởng và phát triển của cây con <i>in vitro</i> ngoài vườn ươm	40

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1:	Cây Thổ nhân sâm ngoài tự nhiên	4
Hình 3.1:	Kết quả khử trùng hạt bằng HgCl_2 0,1% và dung dịch javel 60%	30
Hình 3.2:	Ảnh hưởng của hàm lượng BAP đến khả năng nhân nhanh chồi Thổ nhân sâm	33
Hình 3.3:	Ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi Thổ nhân sâm.....	36
Hình 3.4:	Ảnh hưởng của hàm lượng BAP kết hợp với IBA đến khả năng nhân chồi cây Thổ nhân sâm.....	37
Hình 3.5:	Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của chồi Thổ nhân sâm ...	39
Hình 3.6:	Cây con trồng trong các giá thể khác nhau sau 30 ngày	41

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Theo lịch sử y học cổ truyền của Trung Quốc từ 3000 năm trước Công nguyên, nhân sâm đã được nói đến như là một thần dược trong “Thần nông bản thảo” của vua Thần Nông.

Sâm là tên gọi khái quát chỉ một số loại cây thân thảo mà củ và rễ được sử dụng làm thuốc từ rất lâu đời tại nhiều nước châu Á, thuộc nhiều chi họ khác nhau nhưng chủ yếu là các loại thuộc chi Sâm [2].

Cây nhân sâm có tên khoa học là *Panax Gingseng* C.A Mey. Củ sâm có rất nhiều hình dạng, tư thế giống con người, do đó được gọi là nhân sâm. Nhân sâm thuộc họ *Araliaceae* là một loại dược phẩm quý hiếm có ở nhiều nơi như: Nhật Bản, Trung Quốc, Hoa Kỳ và đặc biệt ở Hàn Quốc. Dân Hàn Quốc coi nhân sâm là tặng phẩm của trời đất. Đông y coi nhân sâm là vị thuốc đứng đầu các vị thuốc theo thứ tự: Sâm, Nhung, Quế, Phụ. Có rất nhiều loại sâm, để phân biệt thường người ta gọi thêm tên địa phương hoặc màu sắc vào tên gọi [2].

Ở Việt Nam có các giống sâm như: Sâm Ngọc Linh, Sâm Bồ Chính, Đảng Sâm, Tây Dương Sâm [2].

Thổ nhân sâm (*Talinum crassifolium* Willd) còn được gọi là Thổ cao ly sâm hay Đông dương sâm, sâm thảo, thuộc họ rau sam - *Portulacaceae* [2]. Thổ nhân sâm gồm nhiều thành phần hóa học khác nhau, trong đó có saponin tetracyclic nhóm Damavan gọi chung là ginsenosid. Ngoài ra, còn có saponin với aglicon là acid oleanolic, các vitamin B1, vitamin B2, phytosterol, tinh dầu, đường, tinh bột. Thổ nhân sâm có tác dụng bổ dưỡng toàn thân, suy nhược thần kinh, cơ thể hao tổn, tăng sức lực cho người già, Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>