

UBND TỈNH LÂM ĐỒNG
TRƯỜNG CAO ĐẲNG NGHỀ ĐÀ LẠT

GIÁO TRÌNH
MÔN HỌC/MÔ ĐUN: SẢN XUẤT GIỐNG
BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT

NGÀNH/NGHỀ: BẢO VỆ THỰC VẬT
TRÌNH ĐỘ: TRUNG CẤP

Ban hành kèm theo Quyết định số: /QĐ-... ngàytháng.... năm.....
..... của

Lâm Đồng, năm 2017

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

Tailieu.vn

LỜI GIỚI THIỆU

Giáo trình Sản xuất giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật được biên soạn cho trình độ cao đẳng và trung cấp nghề BVTV hiện đang được đào tạo tại Khoa Nông nghiệp và sinh học ứng dụng Trường Cao đẳng Nghề Đà Lạt

Giáo trình được biên soạn căn cứ trên chương trình khung mô đun sản xuất giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật trong nghề BVTV

Nguồn tài liệu tham khảo dựa trên nhiều tác giả và các biên soạn giáo trình của đồng nghiệp tại Khoa

Lâm Đồng ngày.....tháng.....năm.....

Tham gia biên soạn

Chủ biên

Nguyễn Thị Huế

Nguyễn Sanh Mân

MỤC LỤC

BÀI 1: MỞ ĐẦU	12
1. Tế bào thực vật.....	12
1.1. Khái niệm.....	12
1.2. Cấu tạo chung.....	14
1.2.1. Thành tế bào.....	14
1.2.2. Các bào quan:.....	15
2. Nuôi cấy mô tế bào thực vật.....	18
2.1. Khái niệm.....	18
2.2. Vai trò của nuôi cấy mô tế bào thực vật	18
3. Lịch sử phát triển.....	19
3.1. Giai đoạn khởi xướng	19
3.2. Giai đoạn nghiên cứu sinh lý	19
3.3. Giai đoạn nghiên cứu phát sinh hình thái	20
3.4. Giai đoạn nghiên cứu di truyền và ứng dụng.....	20
4. Các cơ quan của thực vật được sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào	22
4.1. Nuôi cấy phôi.	22
4.2. Nuôi cấy mô và cơ quan tách rời	23
4.3. Nuôi cấy mô phân sinh.....	23
4.4. Nuôi cấy bao phấn.....	23
4.5. Nuôi cấy tế bào đơn	24
4.6. Nuôi cấy protoplast	24
BÀI 2: ĐIỀU KIỆN CỦA KỸ THUẬT NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO	27
1. Điều kiện vật lý – hóa học.....	27
1.1. Nhu cầu về ánh sáng	27
1.1.1. Cường độ ánh sáng:	27

1.1.2. Thời gian chiếu sáng:.....	27
1.1.3. Chất lượng ánh sáng:	27
1.1.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ.....	28
1.2. Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào.....	28
1.2.1. Phòng rửa dụng cụ.	28
1.2.2. Phòng chuẩn bị môi trường.....	28
1.2.3. Phòng cấy vô trùng.	29
1.2.4. Phòng nuôi mẫu cấy.....	29
1.3. Các thiết bị, dụng cụ cơ bản cần thiết cho phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào	30
1.3.1. Máy móc.	30
1.3.2. Dụng cụ khác.	30
2. Các thao tác cơ bản trong phòng thí nghiệm.....	32
2.1. Cân.	32
2.2. Đóng chất lỏng.....	32
2.3. Xác định độ pH.	33
2.4. Rửa dụng cụ thủy tinh và bình nuôi cấy	33
2.5. Khử trùng.....	34
2.5.1. Khử trùng phòng cấy và tủ cấy.....	34
2.5.2. Khử trùng bình cấy và dụng cụ khác.....	34
2.5.3. Khử trùng môi trường nuôi cấy.....	35
2.5.4. Khử trùng mẫu cấy thực vật.....	36
BÀI 3: MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ PHƯƠNG PHÁP PHA CHẾ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY.....	40
1. Thành phần môi trường nuôi cấy.....	40
1.1. Các muối khoáng đa lượng.....	41
1.1.1. Nguồn Nitơ:	41
1.1.2. Nguồn phospho:	41
1.2.3. Nguồn Kali.....	41

1.2.4. Nguồn Can xi	41
1.2.5. Nguồn Magiê	42
1.2.6. Nguồn Sắt.....	42
1.2. Các muối khoáng vi lượng.....	42
1.3. Các vitamine.....	42
1.4. Đường làm nguồn carbon.....	43
1.5. Các chất điều hoà sinh trưởng thực vật.....	44
1.6. Các chất hữu cơ khác:	44
1.6.1. Nước dừa:.....	44
1.6.2. Nước chiết nấm men:	44
1.6.3. Than hoạt tính:	44
1.6.4. Yếu tố làm đặc môi trường nuôi cấy.	44
2. Một số môi trường nuôi cấy cơ bản và cách chọn lựa môi trường nuôi cấy.	45
2.1. Một số môi trường nuôi cấy cơ bản.	45
2.2. Cách chọn lựa môi trường nuôi cấy.....	47
3. Phương pháp pha chế môi trường.	47
3.1. Thành phần và phương pháp bảo quản các dung dịch mẹ.....	47
3.1.1.Mục đích và yêu cầu của việc pha chế dung dịch mẹ.....	48
3.1.2.Thành phần và phương pháp bảo quản các dung dịch mẹ.....	48
3.1.2.1. Các khoáng đa lượng.	48
3.1.2.1. Các khoáng vi lượng.....	49
3.1.2.4. Các chất điều hoà sinh trưởng.	50
3. 2. Phương pháp pha chế dung dịch làm việc	51
BÀI 4. CÁC GIAI ĐOẠN CHÍNH CỦA KỸ THUẬT	55
NHÂN GIỐNG INVITRO.....	55
1. Chuẩn bị vật liệu nuôi cấy ban đầu (cây mẹ).....	55
2. Khử trùng mẫu cấy.....	55
3. Tăng sinh khối mô nuôi cấy.....	57
3.1. Tạo phôi soma.....	57

3.2. Tăng cường phát triển chồi bên.	57
3.3. Sự phát triển chồi bất định.	57
3. Sự ra rễ <i>in vitro</i> và các điều kiện ra rễ.	57
3.1. Sự ra rễ <i>In Vitro</i>	57
3.2. Những điều kiện của sự ra rễ <i>in vitro</i> :	58
3.2.1. Chất điều hòa sinh trưởng.....	58
3.2.2. Các khoáng đa lượng và vi lượng.	58
3.2.3. Đường.	58
4. Giai đoạn sau <i>in vitro</i> (<i>ex vitro</i>)	59
BÀI 5. CÁC PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO THỰC VẬT.....	63
1. Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy đỉnh sinh trưởng	63
1.1. Đỉnh sinh trưởng	63
1.2. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng.....	65
1.2.1. Các giai đoạn nuôi cấy.....	65
1.2.2. Môi trường nuôi cấy.	66
1.2.3. Các vấn đề về kỹ thuật.....	66
1.3. Tạo cây sạch bệnh bằng phương pháp nuôi cấy đỉnh sinh trưởng.....	67
1.3.1. Xử lý nhiệt:	67
1.3.2. Kiểm tra virus.	67
1.3.3. Quy trình nuôi cấy đỉnh sinh trưởng để làm sạch bệnh virus.	67
2. Phương pháp nhân giống bằng cách tạo mô sẹo (<i>callus</i>).	69
2.1. Giới thiệu.....	69
2.2. Khái niệm về quá trình tái sinh.....	70
2.2.1. Giai đoạn I: Giai đoạn phân biệt hóa:	70
2.2.1. Giai đoạn II: Giai đoạn tái biệt hóa:	70
2.3. Giai đoạn cảm ứng tạo <i>Callus</i>	71
2.4. Biến động di truyền trong nuôi cấy <i>callus</i>	71
2.5. Một số ví dụ nhân giống thông qua phương pháp nuôi cấy <i>callus</i>	72
2.5.1. Phương pháp nuôi cấy tạo <i>callus</i> từ củ cây Cà rốt.....	72

2.5.2. Phương pháp nuôi cấy callus từ Mía.	72
3. Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy lát mỏng.	73
4. Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy đốt đơn thân.....	74
5. Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy chồi bên	76
6. Thực hành: Kỹ thuật cơ bản và pha chế môi trường nuôi cấy	77
6.1. Kỹ thuật vô trùng	77
6.2. Pha chế môi trường.	79
6.2.1. Pha chế Thành phần môi trường dinh dưỡng	79
6.2.2. Pha chế Thành phần muối khoáng cơ bản của môi trường MS.....	79
6.2.3. Pha chế Thành phần vitamin của Morel (Morel's Vitamin).....	80
6.2.4. Cách pha các dung dịch mẹ (stock)	80
7. Nuôi cấy phôi cam chanh.....	84
7.1. Chuẩn bị	84
7. 1.1 Dụng cụ:.....	84
7.1.2. Thiết bị	85
7.1.3. Hoá chất	85
7.2.1.Chuẩn bị môi trường (thành phần cho 1 l môi trường).....	85
7.2.2. Chuẩn bị nguyên vật liệu thực vật:	86
7.2.3. Các bước thực hiện	86
8. Nuôi cấy mô hoa hồng	86
8.1. Chuẩn bị	86
8.2.1 Dụng cụ.....	86
8.2.2. Hóa chất và môi trường	87
8.2. Các bước thực hiện	87
8.3. Báo cáo thực hành.....	87
9. Bài tập: Khảo sát tạp nhiễm	88
9.1. Ghi nhận các kết quả thí nghiệm.....	88
9.2. Phương pháp xử lý và hạn chế tạp nhiễm.....	88
9. 3. Báo cáo thực hành.....	88

Tailieu.vn

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN

Tên mô đun: Sản xuất giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật

Mã số của môn học: MĐ 28

Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của môn học/mô đun:

- Vị trí: Môn học nuôi cấy mô tế bào thực vật là môn học kỹ thuật cơ sở được bố trí học sau các môn học chuyên ngành và học cùng môn học kỹ thuật tự chọn khác như: Công nghệ sản xuất rau bằng thủy canh, công nghệ sau thu hoạch ...
- Tính chất: Là môn học kỹ thuật tự chọn đối với sinh viên học nghề bảo vệ thực vật, kỹ năng của mô đun này có thể đáp ứng được một phần nhu cầu tìm việc của sinh viên sau khi ra trường.
- Vai trò môn học: Học xong mô đun này, sinh viên có thể xin làm việc tại các cơ sở sản xuất nuôi cấy mô.

Mục tiêu của môn học/mô đun:

1. Về kiến thức:

- Trình bày được cấu tạo, chức năng, sự sinh sản và phản phân hoá của tế bào.
- Phân tích được cơ sở khoa học của nuôi cấy mô tế bào thực vật.
- Trình bày được các bước thực hiện công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật chung.
- Xác định được thành phần của môi trường nuôi cấy.
- So sánh ưu nhược điểm của phương pháp nhân giống truyền thống và nhân giống bằng in vitro.
- Trình bày được một số kỹ thuật hiện đại của công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật.
- Hiểu được vai trò của các yếu tố trong môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật.

2. Về kỹ năng

- Vận hành được các thiết bị máy móc, trang thiết bị phòng thí nghiệm.
- Pha chế được môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật cơ bản.
- Thực hiện được quy trình: Lựa chọn mẫu, vào mẫu, nhân giống và ra cây ngoài vườn ươm.
- Thực hiện được thành thạo thao tác chuẩn bị hoá chất, môi trường, nhân nhanh cây in vitro.

- Tham khảo tài liệu liên quan tới môn học bằng tiếng anh.

3. Về năng lực tự chủ và trách nhiệm:

- Thực hiện được các kỹ năng làm việc theo nhóm, ra được quyết định khi làm việc với nhóm, tham mưu với người quản lý và tự chịu trách nhiệm về các quyết định của mình.
- Có khả năng tự nghiên cứu, tham khảo tài liệu có liên quan đến mô đun.
- Có khả năng tìm hiểu tài liệu để làm bài thuyết trình theo yêu cầu của giáo viên.
- Có khả năng vận dụng các kiến thức liên quan vào các môn học tiếp theo.
- Có ý thức, động cơ học tập chủ động, đúng đắn, tự rèn luyện tác phong làm việc công nghiệp, khoa học và tuân thủ các quy định hiện hành.

Nội dung của mô đun:

BÀI 1: MỞ ĐẦU

MÃ BÀI : MD 23 - 01

Giới thiệu:

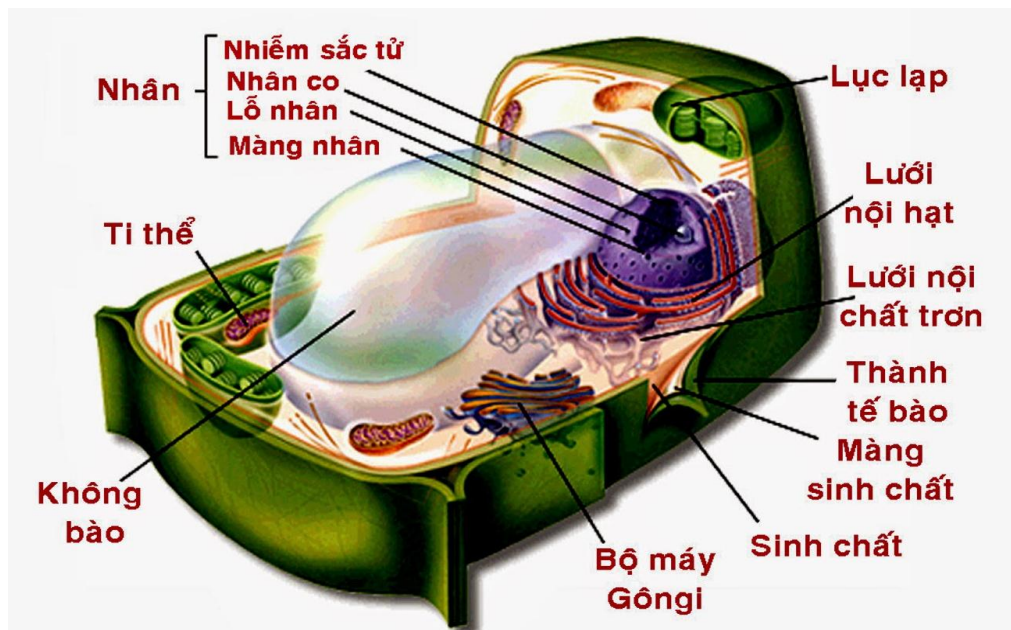
Bài mở đầu có nhiệm vụ giới thiệu về định nghĩa tế bào và nhiệm vụ của môn đun, lịch sử phát triển...

Mục tiêu

- Trình bày được khái niệm về tế bào thực vật, cấu tạo chung của tế bào thực vật.
- Trình bày được khái niệm về nuôi cấy mô tế bào thực vật.
- Xác định được các cơ quan được sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật.
- Trình bày được lịch sử ra đời và phát triển của công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật.
- Rèn luyện ý thức học tập, nghiên cứu, tham khảo tài liệu liên quan tới môn học.

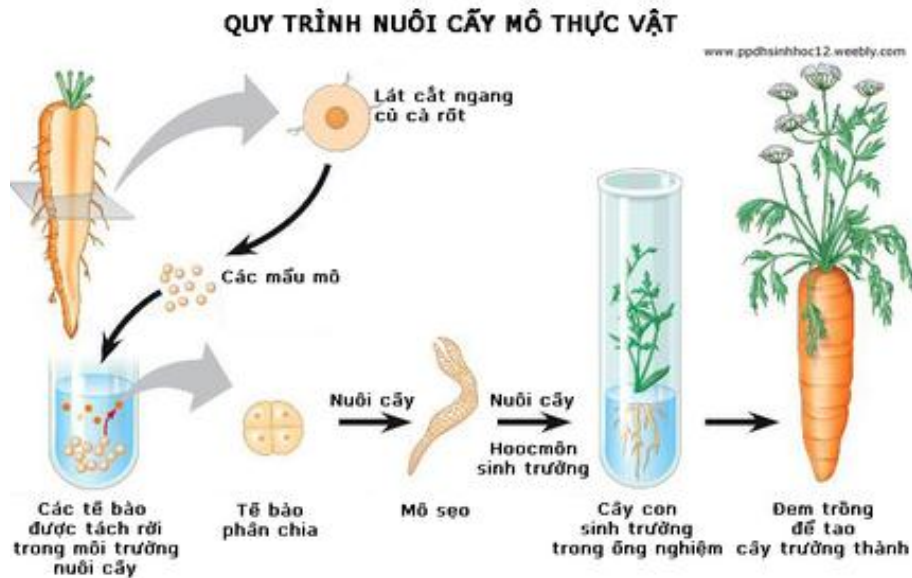
Nội dung

1. Tế bào thực vật



Hình 1.1. Cấu trúc tế bào thực vật

1.1. Khái niệm



Hình 1.2. Sơ đồ Nuôi cấy mô tế bào thực vật

Cơ thể sống cấu tạo từ một tế bào đơn độc hoặc một phức hợp các tế bào. Tế bào rất đa dạng, khác nhau về hình thái, kích thước, cấu trúc và chức năng. Tế bào động vật và tế bào thực vật là những biến đổi của cùng một kiểu cơ sở của đơn vị cấu trúc. Trên cơ sở đó học thuyết tế bào đã được hình thành do Mathias Schleiden và Theodor Schawn vào nửa đầu thế kỉ XIX. Thuật ngữ tế bào lần đầu tiên được Robert Hooke đặt ra vào năm 1665 dựa trên những quan sát các khoang nhỏ có vách bao quanh của nút bần và về sau ông còn quan sát thấy trên mô của nhiều cây khác. Nội chất của tế bào về sau mới được phát hiện và được gọi là chất nguyên sinh, còn thuật ngữ “thể nguyên sinh” là do Hanstein đề xướng năm 1880 để chỉ chất nguyên sinh có trong 1 tế bào đơn độc. Nhân được Robert Brown phát hiện năm 1831.

Mỗi tế bào là một hệ thống mở, tự duy trì và tự sản xuất: tế bào có thể thu nhận chất dinh dưỡng, chuyển hóa các chất này thành năng lượng, tiến hành các chức năng chuyên biệt và sản sinh thế hệ tế bào mới nếu cần thiết. Mỗi tế bào chứa một bản mật mã riêng hướng dẫn các hoạt động trên.

Mọi tế bào đều có một số khả năng sau:

- Sinh sản thông qua phân bào
- Trao đổi chất tế bào bao gồm thu nhận các vật liệu thô, chế biến thành các thành phần cần thiết cho tế bào, sản xuất các phân tử sinh năng lượng và các sản phẩm phụ. Để thực hiện được các chức năng của mình, tế bào cần phải hấp thu và

sử dụng được nguồn năng lượng hóa học dự trữ trong các phân tử hữu cơ. Năng lượng này được giải phóng trong các con đường trao đổi chất

- Tổng hợp các protein, đây là những phân tử đảm nhiệm những chức năng cơ bản của tế bào, ví dụ như enzyme. Một tế bào động vật thông thường chứa khoảng 10,000 loại protein khác nhau.

- Đáp ứng với các kích thích, hoặc thay đổi của môi trường bên trong và bên ngoài như những thay đổi về nhiệt độ, pH hoặc nguồn dinh dưỡng.

- Di chuyển các túi tiết.

1.2. Cấu tạo chung

Các tế bào thực vật ở các cơ thể khác nhau, hoặc ở các mô, các cơ quan khác nhau của cùng một cơ thể sẽ không giống nhau về hình dạng, kích thước và cấu trúc nhưng về bản chất cơ bản các tế bào đều có một số đặc điểm chung.

Tế bào thực vật chia làm 2 phần chính: Thành tế bào và phần nguyên sinh chất, đây là phần quyết định những đặc tính sống chủ yếu của tế bào thực vật

Mọi tế bào đều có màng tế bào, dùng để bao bọc tế bào, cách biệt thành phần nội bào với môi trường xung quanh, điều khiển nghiêm ngặt sự vận chuyển vào và ra của các chất, duy trì điện thế màng và nồng độ các chất bên trong và bên ngoài màng. Bên trong màng là một khối tế bào chất đặc (dạng vật chất chiếm toàn bộ thể tích tế bào). Mọi tế bào đều có các phân tử DNA, vật liệu di truyền quan trọng và các phân tử RNA tham gia trực tiếp quá trình tổng hợp nên các loại protein khác nhau, trong đó có các enzyme. Bên trong tế bào, vào mỗi thời điểm nhất định tế bào tổng hợp nhiều loại phân tử sinh học khác nhau.

1.2.1. Thành tế bào

Thành tế bào là cấu trúc thiết yếu đối với nhiều quá trình sinh lí và phát triển của thực vật. Là lớp vỏ bao bọc, thành tế bào có vai trò như bộ khung xương qui định hình dạng tế bào. Thành tế bào có mối quan hệ mật thiết đến thể tích và áp suất của tế bào do đó rất cần thiết cho quá trình trao đổi nước bình thường ở thực vật. Thành tế bào thực vật tham gia xác định độ dài cơ học của cấu trúc thực vật, cho phép chúng sinh trưởng đến một độ cao khá lớn.

Sự đa dạng về chức năng của thành tế bào bắt nguồn từ sự đa dạng và phức tạp trong cấu trúc của chúng. Nhìn chung các thành tế bào được chia thành hai nhóm chính: thành sơ cấp và thành thứ cấp. Thành sơ cấp hình thành bởi các tế bào đang tăng trưởng và thường được coi là tương đối chưa biệt hóa. Thành thứ cấp

được hình thành sau khi tế bào đã ngừng tăng trưởng, có mức độ chuyên hóa cao cả về thành phần và cấu trúc. Trong thành tế bào sơ cấp các vi sợi xeluloza được gắn chặt trong một mạng lưới hydrat hóa cao. Mạng lưới này bao gồm số các nhóm polisaccarit thường là hemixenluloza và pectin cùng 1 lượng nhỏ protein cấu trúc.

Bộ khung tế bào là một thành phần quan trọng, phức tạp và linh động của tế bào. Nó cấu thành và duy trì hình dáng tế bào; là các điểm bám cho các bào quan; hỗ trợ quá trình thực bào (tế bào thu nhận các chất bên ngoài); và cử động các phần tế bào trong quá trình sinh trưởng và vận động. các protein tham gia cấu thành bộ khung tế bào gồm nhiều loại và có chức năng đa dạng như định hướng, neo bám, phát sinh các tấm màng.

2.1.2. Các bào quan:

Không bào

Không bào là một khoang lớn nằm trong trung tâm chất nguyên sinh của tế bào. Những tế bào thực vật trưởng thành thường có một không bào lớn chứa đầy nước và chiếm từ 80-90% thể tích tế bào. Không bào được bọc trong một lớp màng gọi là màng không bào (tonoplast). Trong không bào chứa nước, các muối vô cơ, đường, các enzym và nhiều chất trao đổi thứ cấp.

Màng sinh chất

Ranh giới giữa thành tế bào với chất nguyên sinh cũng như giữa chất nguyên sinh với không bào được hình thành bởi các màng. Màng sinh chất ngăn cách chất nguyên sinh với môi trường xung quanh nhưng cũng cho phép chất nguyên sinh có thể hấp thụ hay đào thải các chất khác ra khỏi tế bào.

Màng tế bào - Tấm áo ngoài

Vỏ bọc bên ngoài của một tế bào eukaryote gọi là màng sinh chất (plasma membrane). Màng này cũng có ở các tế bào prokaryote nhưng được gọi là màng tế bào (cell membrane). Màng có chức năng bao bọc và phân tách tế bào với môi trường xung quanh. Màng được cấu thành bởi một lớp lipid kép và các protein. Các phân tử protein hoạt động như các kênh vận chuyển và bơm được nhúng vào lớp lipid một cách linh động (có thể di chuyển tương đối). Vỏ bọc bên ngoài của một tế bào eukaryote gọi là màng sinh chất (plasma membrane).

Mạng lưới nội chất

Mạng nội chất là một hệ thống màng phức tạp, thể hiện trên bản cắt ngang là hệ thống các túi dẹp hoặc các ống nhỏ gồm hai lớp màng và ở giữa là một khoảng hẹp

Tế bào chất

Bên trong các tế bào là một không gian chứa đầy dịch thể gọi là tế bào chất (cytoplasm). Nó bao hàm cả hỗn hợp các ion, chất dịch bên trong tế bào và cả các bào quan. Các bào quan bên trong tế bào chất đều có hệ thống màng sinh học để phân tách với khối dung dịch này. Chất nguyên sinh (cytosol) là để chỉ riêng phần dịch thể, chứ không có các bào quan. Đối với các sinh vật prokaryote, tế bào chất là một thành phần tương đối tự do. Tuy nhiên, tế bào chất trong tế bào eukaryote thường chứa rất nhiều bào quan và bộ khung tế bào. Chất nguyên sinh thường chứa các chất dinh dưỡng hòa tan, phân cắt các sản phẩm phế liệu, và dịch chuyển vật chất trong tế bào tạo nên hiện tượng dòng chất nguyên sinh. Nhân tế bào thường nằm bên trong tế bào chất và có hình dạng thay đổi khi tế bào di chuyển. Tế bào chất cũng chứa nhiều loại muối khác nhau, đây là dạng chất dẫn điện tuyệt vời để tạo môi trường thích hợp cho các hoạt động của tế bào.

Môi trường tế bào chất và các bào quan trong nó là yếu tố sống còn của một tế bào.

Nhân tế bào - trung tâm tế bào: Nhân tế bào là bào quan tối quan trọng trong tế bào eukaryote. Nó chứa các nhiễm sắc thể của tế bào, là nơi diễn ra quá trình nhân đôi

DNA và tổng hợp RNA. Nhân tế bào có dạng hình cầu và được bao bọc bởi một lớp màng kép gọi là màng nhân. Màng nhân dùng để bao ngoài và bảo vệ DNA của tế bào trước những phân tử có thể gây tổn thương đến cấu trúc hoặc ảnh hưởng đến hoạt động của DNA. Trong quá trình hoạt động, phân tử DNA được phiên mã để tổng hợp các phân tử RNA chuyên biệt, gọi là RNA thông tin (mRNA). Các mRNA được vận chuyển ra ngoài nhân, để trực tiếp tham gia quá trình tổng hợp các protein đặc thù. Ở các loài prokaryote, các hoạt động của DNA tiến hành ngay tại tế bào chất (chính xác hơn là tại vùng nhân).

Ribosome - bộ máy sản xuất protein: Ribosome có cả trong tế bào eukaryote và prokaryote. Ribosome được cấu tạo từ các phân tử protein và RNA ribosome (rRNA). Đây là nơi thực hiện quá trình sinh tổng hợp protein từ các phân tử mRNA. Quá trình này còn được gọi là dịch mã vì thông tin di truyền mã hóa trong trình tự phân tử DNA truyền qua trình tự RNA để quyết định trình tự amino

acid của phân tử protein. Quá trình này cực kỳ quan trọng đối với tất cả mọi tế bào, do đó một tế bào thường chứa rất nhiều phân tử ribosome—thường hàng trăm thậm chí hàng nghìn phân tử.

Ty thể và lục lạp - các trung tâm năng lượng: Ty thể là bào quan trong tế bào eukaryote có hình dạng, kích thước và số lượng đa dạng và có khả năng tự nhân đôi. Ty thể có genome riêng, độc lập với genome trong nhân tế bào. Ty thể có vai trò cung cấp năng lượng cho mọi quá trình trao đổi chất của tế bào. Lục lạp cũng tương tự như ty thể nhưng kích thước lớn hơn, chúng tham gia chuyển hóa năng lượng mặt trời thành các chất hữu cơ (trong quá trình quang hợp). Lục lạp chỉ có ở các tế bào thực vật.

Mạng lưới nội chất và bộ máy Golgi - nhà phân phối và xử lý các đại phân tử: Mạng lưới nội chất (ER) là hệ thống mạng vận chuyển các phân tử nhất định đến các địa chỉ cần thiết để cải biến hoặc thực hiện chức năng, trong khi các phân tử khác thì trôi nổi tự do trong tế bào chất. ER được chia làm 2 loại: ER hạt (rám) và ER trơn (nhẵn). ER hạt là do các ribosome bám lên bề mặt ngoài của nó, trong khi ER trơn thì không có ribosome. Quá trình dịch mã trên các ribosome của ER hạt thường để tổng hợp các protein tiết (*protein xuất khẩu*). Các protein tiết thường được vận chuyển đến phức hệ Golgi để thực hiện một số cải biến, đóng gói và vận chuyển đến các vị trí khác nhau trong tế bào. ER trơn là nơi tổng hợp lipid, giải độc và bề chứa calcium.

Lysosome và peroxisome - hệ tiêu hóa của tế bào: Lysosome và peroxisome thường được ví như *hệ thống xử lý rác thải* của tế bào. Hai bào quan này đều dạng cầu, màng đơn và chứa nhiều enzyme tiêu hóa. Ví dụ, lysosome có thể chứa vài chục enzyme phân huỷ protein, nucleic acid và polysaccharide mà không gây hại cho các quá trình khác của tế bào khi được bao bọc bởi lớp màng tế bào.

Vật liệu di truyền - Yếu tố duy trì thông tin giữa các thế hệ: Vật liệu di truyền là các phân tử nucleic acid (DNA và RNA). Hầu hết các sinh vật sử dụng DNA để lưu trữ dài hạn thông tin di truyền trong khi chỉ một vài virus dùng RNA cho mục đích này. Thông tin di truyền của sinh vật chính là mã di truyền quy định tất cả protein cần thiết cho mọi tế bào của cơ thể. Tuy nhiên, một nghiên cứu mới đây cho thấy có thể một số RNA cũng được sử dụng như là một bản lưu đối với một số gene để phòng sai hỏng.

Các sinh vật prokaryote, vật liệu di truyền là một phân tử DNA dạng vòng đơn giản. Phân tử này nằm ở một vùng tế bào chất chuyên biệt gọi là vùng nhân. Tuy nhiên, đối với các sinh vật eukaryote, phân tử DNA được bao bọc bởi các phân tử protein tạo thành cấu trúc nhiễm sắc thể, được lưu giữ trong nhân tế bào (với màng nhân bao bên ngoài). Mỗi tế bào thường chứa nhiều nhiễm sắc thể (số lượng nhiễm sắc thể trong mỗi tế bào là đặc trưng cho loài). Ngoài ra, các bào quan như ty thể và lục lạp đều có vật liệu di truyền riêng của mình (xem thêm thuyết nội cộng sinh).

Ví dụ, một tế bào người gồm hai genome riêng biệt là genome nhân và genome ty thể. Genome nhân (là thể lưỡng bội) bao gồm 46 phân tử DNA mạch thẳng tạo thành các nhiễm sắc thể riêng biệt. Genome ty thể là phân tử DNA mạch vòng, khá nhỏ và chỉ mã hóa cho một vài protein quan trọng.

2. Nuôi cấy mô tế bào thực vật

2.1. Khái niệm

Nuôi cấy mô tế bào thực vật là kỹ thuật cho phép nuôi cấy dễ dàng những tế bào thực vật hay mô phân sinh sạch bệnh trong môi trường nhân tạo thích hợp để tạo ra những khối tế bào hay những cây hoàn chỉnh trong ống nghiệm.

2.2. Vai trò của nuôi cấy mô tế bào thực vật

Nuôi cấy mô tế bào thực vật được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu thực vật, lâm nghiệp, và đồng ruộng. Các vai trò bao gồm:

Thương mại hóa sản xuất các loài thực vật sử dụng như là cây cảnh, trang trí phong cảnh và các lĩnh vực liên quan đến hoa, là thứ mà sử dụng nuôi cấy mô phân sinh và chồi để tạo ra số lượng lớn các cá thể giống hệt nhau.

Bảo tồn các giống cây hiếm hoặc đang bị đe dọa.

Các nhà nhân giống có thể ưu tiên sử dụng nuôi cấy mô để sàng lọc các tế bào hơn là sàng lọc cây trồng để tìm các tính trạng tốt, ví dụ kháng/chống chịu thuốc diệt cỏ.

Sinh trưởng quy mô lớn các tế bào thực vật trong môi trường lỏng trong các bioreactors để tạo ra các hợp chất có giá trị, giống như sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp có nguồn gốc thực vật và protein tái tổ hợp, được sử dụng như là dược phẩm sinh học.

Lai xa các loài thực vật bằng cách bởi dung hợp protoplast và tái sinh các phép lai mới.

Nghiên cứu nhanh cơ sở phân tử của các cơ chế sinh lý, sinh hóa và sinh sản ở thực vật, ví dụ như chọn lọc in vitro các cây chống chịu với các điều kiện bất lợi và các nghiên cứu quá trình ra hoa in vitro.

Lai - thụ phấn các loài xa nhau và sau đó nuôi cấy tế bào hợp tử được tạo thành (thường dễ bị chết nếu diễn ra trong tự nhiên) (cứu phôi).

Các thể đột biến nhân đôi nhiễm sắc thể và sự hình thành của các thể đa bội, ví dụ nhân đôi đơn bội, tứ bội và các dạng khác của thể đa bội có được tạo ra bằng cách áp dụng các chất chống phân bào (antimitotic) như là colchicine hoặc oryzalin.

Các mô tế bào nuôi cấy sau khi biến nạp có thể sử dụng để thử nghiệm ngăn hạn các cấu trúc di truyền (genetic constructs) hoặc tái sinh tạo các cây chuyển gen.

Các kỹ thuật nhất định như là nuôi cấy đỉnh phân sinh có thể được sử dụng để tạo nguồn nguyên liệu thực vật sạch từ nguồn bị lây nhiễm virus như là khoai tây và rất nhiều các loài có quả mềm.

Có thể tạo ra các loài lai vô trùng giống hệt nhau.

3. Lịch sử phát triển

3.1. Giai đoạn khởi xướng

Năm 1665, Robert Hooke quan sát thấy tế bào sống dưới kính hiển vi và đưa ra khái niệm "tế bào - Cell". Anton Van Leeuwen Hoek (1632-1723) thiết kế kính hiển vi khuyếch đại được 270 lần, lần đầu tiên quan sát thấy vi khuẩn, tế bào tinh trùng trong tinh dịch người và động vật. Năm 1838, Matthias Schleiden và Theodore Schwann đề xướng học thuyết cơ bản của sinh học gọi là Học thuyết tế bào:

Mọi cơ thể sống được cấu tạo bởi một hoặc nhiều tế bào.

Tế bào là đơn vị cấu trúc và chức năng cơ bản của cơ thể sống, là hình thức nhỏ nhất của sự sống.

Tế bào chỉ được tạo ra từ tế bào tồn tại trước đó.

3.2. Giai đoạn nghiên cứu sinh lý

Năm 1875, Oscar Hertwig chứng minh bằng quan sát trên kính hiển vi rằng sự thụ thai là do sự hợp nhất của nhân tinh trùng và nhân trứng. Sau đó, Hermann P., Schneider F.A và Butschli O. đã mô tả chính xác quá trình phân chia tế bào. Năm 1883, Wilhelm Roux lần đầu tiên lý giải về phân bào giảm nhiễm ở cơ quan

sinh dục. Từ một tế bào thực vật nuôi cấy in vitro có thể tái sinh thành một cơ thể sống hoàn chỉnh. Khả năng này của tế bào thực vật được gọi là tính toàn năng.

Năm 1902, Haberlandt lần đầu tiên thí nghiệm nuôi cấy mô cây một lá mầm nhưng không thành công.

3.3. Giai đoạn nghiên cứu phát sinh hình thái

Năm 1934, Kogl lần đầu tiên xác định được vai trò của IAA, 1 hoocmon thực vật đầu tiên thuộc nhóm auxin có khả năng kích thích sự tăng trưởng và phân chia tế bào. Năm 1939, ba nhà khoa học Gautheret, Nobecourt và White đã đồng thời nuôi cấy mô sẹo thành công trong thời gian dài từ mô thượng tầng (cambium) ở cà rốt và thuốc lá, mô sẹo có khả năng sinh trưởng liên tục.

Năm 1941, Overbeek và cs đã sử dụng nước dừa trong nuôi cấy phôi non ở cây cà rốt *Datura*.

Năm 1955, Miller và cs đã phát minh cấu trúc và sinh tổng hợp của kinetin - một cytokinin đóng vai trò quan trọng trong phân bào và phân hoá chồi ở mô nuôi cấy.

Đến năm 1957, Skoog và Miller đã khám phá vai trò của tỷ lệ nồng độ các chất auxin: cytokinin trong môi trường đối với sự phát sinh cơ quan (rễ hoặc chồi). Khi tỷ lệ auxin/ cytokinin (ví dụ: nồng độ IAA/ nồng độ kinetin) nhỏ hơn 1 và càng nhỏ, mô có xu hướng tạo chồi. Ngược lại khi nồng độ IAA/ nồng độ kinetin lớn hơn 1 và càng lớn, mô có xu hướng tạo rễ. Tỷ lệ nồng độ auxin và cytokinin thích hợp sẽ kích thích phân hoá cả chồi và rễ, tạo cây hoàn chỉnh.

Năm 1949, Limmasets và Cornuet đã phát hiện rằng virus phân bố không đồng nhất trên cây và thường không thấy có virus ở vùng đỉnh sinh trưởng.

3.4. Giai đoạn nghiên cứu di truyền và ứng dụng

Năm 1952, Morel và Martin đã tạo ra cây sạch bệnh virus của 6 giống khoai tây từ nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. Ngày nay, kỹ thuật này với một số cải tiến đã trở thành phương pháp loại trừ bệnh virus được dùng rộng rãi đối với nhiều loài cây trồng khác nhau. Năm 1952, Morel và Martin lần đầu tiên thực hiện vi ghép in vitro thành công. Kỹ thuật vi ghép sau đó đã được ứng dụng rộng rãi trong tạo nguồn giống sạch bệnh virus và tương tự virus ở nhiều cây trồng nhân giống bằng phương pháp vô tính khác nhau, đặc biệt là tạo giống cây ăn quả sạch bệnh.