

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

VŨ THỊ ANH ĐÀO

**NGHIÊN CỨU SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT
SỐ GIỐNG ĐẬU TƯỜNG (*GLYCINE MAX* (L.)
MERRILL) ĐỊA PHƯƠNG**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2009

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

VŨ THỊ ANH ĐÀO

**NGHIÊN CỨU SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT
SỐ GIỐNG ĐẬU TƯƠNG (*GLYCINE MAX* (L.)
MERRILL) ĐỊA PHƯƠNG**

**Chuyên ngành: DI TRUYỀN HỌC
Mã số: 60.42.70**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học : PGS.TS. Chu Hoàng Mậu

THÁI NGUYÊN - 2009

Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa có ai công bố trong một công trình nào khác.

Tác giả

Vũ Thị Anh Đào

Lời cảm ơn

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.

Tôi xin cảm ơn CN Nguyễn Ích Chiến (Phòng thí nghiệm Di truyền học và Công nghệ gen - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên) đã giúp đỡ tôi trong quá trình hoàn thành luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn các Thầy Cô giáo, Cán bộ Khoa Sinh - KTNN đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi xin cảm ơn sự động viên, khích lệ của gia đình, bạn bè và đồng nghiệp trong suốt thời gian làm luận văn.

Tác giả

Vũ Thị Anh Đào

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

ABA	Absciscic Acid
DNA	Axit deoxyribonucleic
AFLP	Fragment Length Polymorphism (Sự đa hình chiều dài các phân đoạn ADN được khuếch đại)
ASTT	Áp suất thẩm thấu
CS	Cộng sự
EDTA	Ethylene Diamin Tetraaxetic Acid
Kb	Kilobase
LEA	Late Embryogeneis Abundant protein (Protein tổng hợp với số lượng lớn ở giai đoạn cuối của quá trình phát triển phôi)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi polymerase)
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (Phân tích ADN đa hình được nhân bản ngẫu nhiên)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Sự đa hình chiều dài các phân đoạn ADN cắt hạn chế)
SDS	Sodium Dodecyl Sulphat
SDS-PAGE	Phương pháp điện di trên gel polyacrylamid có chứa SDS
SSR	Simple Sequence Repeats
TBE	Tris - Boric acid - EDTA
TAE	Tris - Acetate - EDTA
TE	Tris - EDTA
Tris	Trioxymetylaminometan
NAA	Naphthyl acetic acid (Axit naphthyl acetic)

MỤC LỤC

	Trang
Lời cam đoan.....	i
Lời cảm ơn.....	ii
Những chữ viết tắt.....	iii
Mục lục.....	iv
Danh mục các bảng.....	vii
Danh mục các hình.....	ix
MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Đặc điểm thực vật học và hóa sinh học hạt đậu tương.....	3
1.2. Nghiên cứu khả năng phản ứng của cây đậu tương đối với hạn.....	4
1.2.1. Sự phản ứng của cây đậu tương đối với hạn ở giai đoạn hạt nảy mầm.....	4
1.2.2. Sự phản ứng của cây đậu tương đối với hạn ở giai đoạn cây non.....	7
1.3. Sử dụng kỹ thuật RAPD trong nghiên cứu sự đa dạng di truyền ở mức phân tử.....	8
1.3.1. RAPD.....	8
1.3.2. Nghiên cứu sự đa dạng di truyền bằng RAPD.....	10
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	12
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	12
2.1.1. Vật liệu thực vật.....	12
2.1.2. Các hoá chất và thiết bị.....	12
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	13
2.2.1. Phương pháp xác định sự sinh trưởng của rễ mầm và thân mầm.....	13
2.2.2. Phương pháp hóa sinh.....	14
2.2.2.1. Phân tích hoá sinh giai đoạn hạt tiềm sinh.....	14
2.2.2.2. Đánh giá khả năng chịu hạn thông qua phân tích một số chỉ tiêu hoá sinh ở giai đoạn hạt nảy mầm.....	15

2.2.3. Phương pháp sinh lý.....	17
2.2.3.1. Đánh giá khả năng chịu hạn ở giai đoạn cây non bằng phương pháp gây hạn nhân tạo.....	17
2.2.3.2. Xác định hàm lượng proline.....	18
2.2.4. Phương pháp sinh học phân tử.....	19
2.2.4.1. Phương pháp tách ADN tổng số từ mầm đậu tương.....	19
2.2.4.2. Phản ứng RAPD.....	19
2.2.4.3. Phân tích số liệu RAPD.....	19
2.2.5. Phương pháp xử lý kết quả và tính toán số liệu.....	20
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	21
3.1. Kết quả phân tích tính đa dạng kiểu hình của các giống đậu tương nghiên cứu.....	21
3.1.1. Đặc điểm hình thái, kích thước khối lượng và hóa sinh hạt của 16 giống đậu tương.....	21
3.1.1.1. Hình thái, kích thước và khối lượng hạt.....	21
3.1.1.2. Hàm lượng protein, lipit.....	23
3.1.2. Khả năng phản ứng của 16 giống đậu tương ở giai đoạn hạt nảy mầm.....	26
3.1.2.1. Kích thước rễ mầm và thân mầm.....	26
3.1.2.2. Hoạt độ enzym α - amilase và hàm lượng đường trong hạt nảy mầm của các giống đậu tương dưới tác động của sorbitol 7 %.....	28
3.1.2.3. Hoạt độ enzym protease và hàm lượng protein trong hạt nảy mầm của các giống đậu tương dưới tác động của sorbitol 7 %.....	33
3.1.2.4. Nhận xét.....	38
3.1.3. Khả năng phản ứng đối với hạn của 16 giống đậu tương ở giai đoạn cây non 3 lá.....	39
3.1.3.1 Tỷ lệ thiệt hại.....	39
3.1.3.2. Chỉ số chịu hạn tương đối.....	41
3.1.3.3. Hàm lượng protein và prolin.....	42
3.1.3.4. Nhận xét.....	46
3.1.4. Sự phân bố của các giống đậu tương nghiên cứu.....	46

3.2. Kết quả phân tích tính đa dạng di truyền ở mức phân tử ADN của các giống đậu tương nghiên cứu.....	48
3.2.1. Kết quả tách chiết ADN tổng số	48
3.2.2. Phân tích sự đa hình ADN bằng kỹ thuật RAPD	49
3.2.3. Nhận xét về kết quả phân tích đa hình ADN trong hệ gen của 16 giống đậu tương địa phương.....	60
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	61
CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN.....	63
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	64

DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
Bảng 2.1. Nguồn gốc của các giống đậu tương nghiên cứu.....	13
Bảng 2.2. Trình tự nucleotit của 10 môi RAPD sử dụng trong nghiên cứu.....	20
Bảng 3.1. Hình dạng, màu sắc, kích thước, khối lượng 1000 hạt của 16 giống đậu tương địa phương.....	22
Bảng 3.2. Hàm lượng lipid và protein của 16 giống đậu tương (% KL khô).....	24
Bảng 3.3. Chiều dài rễ mầm của các giống đậu tương nghiên cứu.....	26
Bảng 3.4. Chiều dài thân mầm của các giống đậu tương.....	27
Bảng 3.5. Hoạt độ enzyme α – amylase trong các giai đoạn hạt nảy mầm khi xử lý sorbitol 7% của 16 giống đậu tương.....	29
Bảng 3.6. Hàm lượng đường tan ở giai đoạn hạt nảy mầm khi xử lý sorbitol 7% của 16 giống đậu tương.....	31
Bảng 3.7. Tương quan giữa hoạt độ enzyme α -amylase và hàm lượng đường tan.....	33
Bảng 3.8. Hoạt độ protease trong các giai đoạn hạt nảy mầm khi xử lý sorbitol 7%.....	34
Bảng 3.9. Hàm lượng protein ở giai đoạn hạt nảy mầm khi xử lý sorbitol 7%.....	36
Bảng 3.10. Tương quan giữa hoạt độ enzyme protease và hàm lượng protein.....	37
Bảng 3.11. Tỷ lệ thiệt hại của 16 giống đậu tương ở giai đoạn cây non 3 lá.....	40
Bảng 3.12. Chỉ số chịu hạn tương đối của các giống đậu tương.....	42
Bảng 3.13. Hàm lượng prolin của các giống đậu tương trong điều kiện hạn nhân tạo.....	44
Bảng 3.14. Hàm lượng protein của các giống đậu tương trong điều kiện hạn nhân tạo.....	45
Bảng 3.15. Hệ số khác nhau giữa các giống đậu tương.....	46
Bảng 3.16. Hàm lượng và độ tinh sạch ADN của 16 giống đậu tương nghiên cứu.....	48
Bảng 3.17. Tổng số phân đoạn ADN được nhân bản của 16 giống đậu tương khi phân tích với 10 môi ngẫu nhiên.....	50

Bảng 3.18. Tính đa hình về phân đoạn ADN được nhân bản của 10 môi ngẫu nhiên.....	51
Bảng 3.19. Thông tin tính đa hình (PIC) của 16 giống đậu tương.....	52
Bảng 3.20. Giá trị tương quan kiểu hình (r).....	58
Bảng 3.21. Hệ số tương đồng giữa các giống đậu tương nghiên cứu.....	59