

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

-----000-----

LÊ TIẾN

**NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH TRÌNH TỰ VÙNG ĐIỀU KHIỂN (D-LOOP)
HỆ GEN TY THỂ CỦA GÀ RI, GÀ ĐÔNG TẢO VÀ GÀ TRE**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2009

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

-----000-----

LÊ TIẾN

**NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH TRÌNH TỰ VÙNG ĐIỀU KHIỂN (D-LOOP)
HỆ GEN TY THỂ CỦA GÀ RI, GÀ ĐÔNG TẢO VÀ GÀ TRE**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60.42.30

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: **PGS. TS. Nông Văn Hải**

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 được công bố trong bất kỳ một công trình nào.

Tác giả luận văn

Lê Tiến

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS. TS. Nông Văn Hải đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn TS. Nguyễn Đăng Tôn, KS. Vũ Hải Chi, CN. Địch Thị Kim Hương và tập thể cán bộ Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Gen, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận văn.

Đề tài được hỗ trợ kinh phí từ đề tài nhánh thuộc đề tài "*Xác định sự sai khác di truyền của các giống gà nội*" do PGS. TS. Lê Thị Thuý, Viện Chăn nuôi, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn làm chủ nhiệm.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban lãnh đạo trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Sinh - KTNN và các thầy cô 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 gia đình và bạn bè đã tạo điều kiện giúp đỡ, động viên và khích lệ tôi trong suốt thời gian học tập và thực hiện luận văn.

Tác giả luận văn

Lê Tiến

MỤC LỤC

	Trang
MỞ ĐẦU	01
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	04
1.1. SƠ LƯỢC VỀ NGUỒN GỐC VÀ VỊ TRÍ PHÂN LOẠI GÀ NHÀ....	04
1.2. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC GIỐNG GÀ NGHIÊN CỨU.....	06
1.2.1. Gà Ri.....	06
1.2.2. Gà Đông Tảo (Đông Cảo).....	07
1.2.3. Gà Tre.....	08
1.3. ĐẶC ĐIỂM HỆ GEN TY THỂ VÀ VAI TRÒ CỦA D-LOOP TRONG ĐỊNH LOẠI GÀ.....	08
1.3.1. Ty thể và đặc điểm cấu trúc, cơ chế di truyền hệ gen ty thể gà.....	08
1.3.1.1. Đặc điểm cấu trúc ty thể.....	08
1.3.1.2. Cấu trúc hệ gen ty thể gà.....	09
1.3.1.3. Cơ chế di truyền của mtDNA.....	13
1.3.2. Cấu trúc và vai trò của vùng D-loop trong đánh giá đa dạng di truyền.....	14
1.4. MỘT SỐ THÀNH TỰU VỀ ĐỊNH LOẠI PHÂN TỬ DỰA TRÊN GIẢI TRÌNH TỰ VÙNG D-LOOP TY THỂ TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM.....	16
1.4.1. Các nghiên cứu trên thế giới.....	16
1.4.2. Các nghiên cứu ở Việt Nam.....	20
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	22
2.1. VẬT LIỆU VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU.....	22
2.1.1. Nguyên liệu.....	22
2.1.2. Thiết bị.....	22

2.1.3. Hoá chất.....	23
2.1.4. Địa điểm nghiên cứu.....	23
2.2. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	24
2.2.1. Điện di trên gel agarose.....	24
2.2.2. Khuếch đại vùng D-loop bằng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction).....	26
2.2.3. Tinh sạch sản phẩm PCR.....	28
2.2.4. Giải trình tự vùng D-loop.....	29
2.2.5. Phân tích dữ liệu bằng phần mềm chuyên dụng.....	30
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	31
3.1. Nhân vùng D-loop bằng kỹ thuật PCR.....	31
3.2. Xác định và so sánh trình tự nucleotide của các mẫu nghiên cứu với trình tự chuẩn trên GenBank.....	36
3.3. Sự đồng nhất về trình tự nucleotide của 3 giống gà.....	56
3.4. Phân tích mối quan hệ di truyền giữa các giống gà nghiên cứu.....	56
3.5. So sánh mức độ đa dạng di truyền của 3 giống gà nghiên cứu với một số quần thể gà châu Á.....	58
3.6. Xây dựng cây phát sinh chủng loại.....	60
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	62
CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....	64
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	65

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

ATP	Adenosine triphosphate
bp	Base pair (cặp bazơ)
CJF	Gà rừng Ceylon
ddNTP	Dideoxynucleoside triphosphate
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	Deoxynucleoside triphosphate
DNase	Deoxyribonuclease
đtg	Đồng tác giả
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid
EtBr	Ethidium bromide
ETOH	Ethanol
GJF	Gà rừng màu xám
GrJF	Gà rừng màu xanh
mtDNA	Hệ gen ty thể
Nxb	Nhà xuất bản
PCR	Polymerase Chain Reaction
RJF	Gà rừng đỏ
RNA	Ribonucleic acid
RNase	Ribonuclease
rpm	Vòng/ phút
TAE	Tris – acetate – EDTA
Tm	Nhiệt độ biến tính

DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
Bảng 3.1. Thành phần phản ứng khuếch đại DNA.....	34
Bảng 3.2. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR.....	35
Bảng 3.3. Các điểm đa hình trong vùng D-loop của 3 giống gà nghiên cứu.....	51
Bảng 3.4. Sự phân bố của 71 mẫu gà nghiên cứu theo các kiểu đơn bội.....	55
Bảng 3.5. Mối quan hệ di truyền giữa các giống gà nghiên cứu.....	58
Bảng 3.6. So sánh mức độ đa dạng di truyền của gà Việt Nam với một số quần thể gà châu Á.....	59

DANH MỤC CÁC HÌNH

	Trang
Hình 1.1. Sơ đồ cấu trúc của ty thể.....	09
Hình 1.2. Sơ đồ mtDNA gà.....	12
Hình 3.1. Ảnh điện di sản phẩm PCR của một số mẫu gà nghiên cứu.....	35
Hình 3.2. So sánh trình tự vùng D-loop của 71 mẫu gà nghiên cứu với trình tự mang mã số GenBank AP003580.....	50
Hình 3.3. Hai đa hình phổ biến nhất của các mẫu nghiên cứu <i>C197T</i> và <i>T426C</i>	52
Hình 3.4. Tỷ lệ % các kiểu thay thế nucleotide của 71 mẫu nghiên cứu.....	53
Hình 3.5. Tần số phân bố của các kiểu đơn bội vùng D-loop hệ gen ty thể 3 giống gà nghiên cứu.....	56
Hình 3.6. Cây phát sinh chủng loại của 3 giống gà nghiên cứu.....	60

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Gà nhà (*Gallus gallus domesticus*) là giống vật nuôi phổ biến nhất trên thế giới. Theo Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Thế giới (FAO), số lượng gà trên toàn cầu năm 2007 ước tính đạt khoảng 17 tỉ con, hơn một nửa trong số đó là ở châu Á. Đây là một trong những nguồn thực phẩm thiết yếu của con người, đặc biệt là ở những nước đang phát triển, cung cấp gần như toàn bộ nhu cầu về thịt và trứng cho những vùng nông thôn hẻo lánh và khoảng 20% nhu cầu cho khu vực đô thị [31]. Ngoài mục đích làm thực phẩm, gà nhà còn được nuôi làm cảnh, chọi gà hay làm thuốc. Không những thế, gà còn là đối tượng được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu y sinh [29], [59].

Trong ngành nông nghiệp nước ta, chăn nuôi gà chiếm tới 72 - 73% tổng đàn gia cầm hàng năm. Năm 2006, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã xây dựng chiến lược phát triển chăn nuôi gia cầm Việt Nam giai đoạn 2006 - 2015. Theo đó, ngành chăn nuôi phải phấn đấu đến năm 2015 tăng tỷ trọng thịt gia cầm lên 32% tổng sản lượng thịt các loại, trong đó sản lượng thịt gà chiếm 88% tổng đàn gia cầm, đạt 350 triệu con, khối lượng thịt 1.992.000 tấn, sản lượng trứng 9,236 tỷ quả [3].

Để đạt được mục tiêu trên thì cần thiết phải cải thiện nguồn con giống, đồng thời phải bảo tồn và phát triển những giống gia cầm quý của địa phương. Ở nước ta có 27 giống gà, trong đó có tới 16 giống gà nội. Các giống gà nội như gà Ri, gà Đông Tảo, gà H'Mông, gà Tre... là các giống có phẩm chất thịt trứng thơm ngon, khả năng chịu đựng kham khổ, khả năng chống chịu bệnh tật cao, là nguồn gen quý và cần được đầu tư chọn tạo để nâng cao năng suất và dùng lai tạo với các giống khác để cải tiến năng suất, tạo con lai năng suất cao cung cấp con giống cho sản xuất [2], [3], [11].

Tuy nhiên, do truyền thống chăn nuôi nhỏ lẻ theo hộ gia đình, các giống gà này thường được chăn thả tự do cùng với các giống gà nội khác ở các địa