

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

BÙI NGỌC BÍCH

**SO SÁNH SỰ PHÁT TRIỂN BỘ RỄ VÀ PHÂN LẬP
GEN *GmEXP1* LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG KÉO
DÀI RỄ CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG**

[*Glycine max* (L.) Merrill]

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 - 2012

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. Mọi trích dẫn đều ghi rõ nguồn gốc.

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS. TS Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn TS Nguyễn Vũ Thanh Thanh, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên đã đóng góp những ý kiến quý báu và tận tình chỉ bảo, hết lòng giúp đỡ tôi trong quá trình hoàn thành luận văn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn các cán bộ phòng Phòng thí nghiệm sinh học, khoa Khoa học sự sống, Trường Đại học Khoa học- Đại học Thái Nguyên, các cán bộ trung tâm Kiểm nghiệm Dược phẩm- Hoá mỹ phẩm Lạng Sơn

Tôi cũng xin cảm ơn Ban Giám hiệu trường THPT Lộc Bình Lạng Sơn đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong học tập và hoàn thành khoá học.

Tôi cũng xin bày tỏ lời cảm ơn đến gia đình, bè bạn đã động viên khuyến khích giúp đỡ tôi trong quá trình làm luận văn.

Tác giả luận văn

Bùi Ngọc Bích

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
1.1. Lý do chọn đề tài.....	1
1.2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
1.3. Nội dung nghiên cứu	2
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. CÂY ĐẬU TƯƠNG	3
1.1.1. Nguồn gốc, phân loại và vị trí cây đậu tương	3
1.1.2. Đặc điểm sinh học của cây đậu tương	5
1.2. ĐẶC TÍNH CHỊU HẠN VÀ SỰ PHÁT TRIỂN BỘ RỄ CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG.....	6
1.2.1. Đặc tính chịu hạn của cây đậu tương	6
1.2.2. Mối liên quan giữa tính chịu hạn và sự phát triển bộ rễ của cây đậu tương.....	10
1.3. GEN VÀ ĐẶC TÍNH CHỊU HẠN CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG	11
1.3.1. Các gen liên quan đến tính chịu hạn của cây đậu tương.....	11
1.3.2. Gen liên quan đến sự phát triển bộ rễ của cây đậu tương.....	14
1.3.3. Biện pháp công nghệ sinh học trong cải thiện khả năng chịu hạn của cây đậu tương	15
1.3.4. Expansin và gen expansin ở cây đậu tương	17
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	25
2.1. VẬT LIỆU, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ	25
2.1.1. Vật liệu	26
2.1.2. Hóa chất và thiết bị	26
2.1.3. Địa điểm nghiên cứu	26
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27

2.2.1. Đánh giá khả năng chịu hạn của cây đậu tương non trong điều kiện hạn nhân tạo	27
2.2.2. Phương pháp đánh giá sự phát triển của bộ rễ trong điều kiện hạn nhân tạo thông qua chiều dài rễ	28
2.2.3. Phương pháp đánh giá sự phát triển của bộ rễ trong điều kiện hạn nhân tạo thông qua số lượng rễ con	28
2.2.4. Xác định chỉ số chịu hạn tương đối thông qua sự phát triển bộ rễ	28
2.2.5 . Phương pháp sinh học phân tử.....	29
2.2.6. Xử lý kết quả và tính toán số liệu	35
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	36
3.1. SỰ PHÁT TRIỂN CỦA BỘ RỄ VÀ KHẢ NĂNG CHỊU HẠN CỦA CÁC GIỐNG ĐẬU TƯƠNG NGHIÊN CỨU.....	36
3.1.1. Sự phát triển của bộ rễ của cây đậu tương non trong điều kiện không xử lý và xử lý bởi hạn.....	36
3.1.2. Khả năng chịu hạn của ba giống đậu tương nghiên cứu.....	39
3.2. ĐẶC ĐIỂM CỦA CẤU TRÚC GEN <i>GmEXPI</i> PHÂN LẬP TỪ HAI GIỐNG ĐẬU TƯƠNG LỞ BẮC GIANG VÀ XUÂN LẠNG SƠN.....	41
3.2.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số từ lá non đậu tương.....	41
3.2.2. Kết quả nhân bản gen <i>GmEXPI</i> từ DNA hệ gen của hai giống đậu tương XLS và LBG	43
3.2.3. Kết quả biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến <i>E.coli</i> DH5α ..	45
3.2.4. Kết quả tách plasmid từ các khuẩn lạc của 2 mẫu nghiên cứu	45
3.2.5 Kết quả xác định và so sánh trình tự nucleotide của gen <i>GmEXPI</i>	46
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO	53

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

DNA	Deoxyribonucleic Acid
RNA	Ribonucleic Acid
ASTT	Áp suất thẩm thấu
Bp	Cặp bazơ
cDNA	Sợi ADN bổ sung được tổng hợp từ mRNA nhờ Enzym phiên mã ngược
dNTP	Deoxynucleotide
đtg	Đồng tác giả
DHA	Docosa Hexaenoic acid
HSP	Heat Shock protein - Protein sốc nhiệt
HSG	Heat Shock Granules - Hạt sốc nhiệt
HSPL	Hệ số pha loãng
Kb	Kilo Bazo = 1000 bp
LEA	Late embryogenesis abundant (Protein được hình thành với số lượng lớn trong quá trình hình thành phôi).
LBG	Đậu tương lơ Bắc Giang
MGPT	Môi giới phân tử - Molecular chaperone
MW	Molecular weight - Khối lượng phân tử
PCR	Polymerase chain reaction - Phản ứng chuỗi polymerase
XLS	Đậu tương Xuân Lạng Sơn

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
2.1	Nguồn gốc các giống đậu tương nghiên cứu	25
2.2	Trình tự cặp mồi nhân gen <i>GmEXPI</i>	30
2.3	Thành phần phản ứng PCR	31
2.4	Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR	31
2.5	Thành phần phản ứng gắn gen vào vector tách dòng pBT	33
3.1	Số lượng rễ con và kích thước rễ của ba giống đậu tương trong điều kiện không xử lý và xử lý bởi hạn	37
3.2	Chỉ số chịu hạn tương đối của ba giống đậu tương nghiên cứu	40
3.3	Giá trị mật độ quang của phổ hấp thụ DNA ở bước sóng 260nm và 280nm của giống đậu tương XLS và LBG	42

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1	Trình tự của vùng mã hóa của gen <i>GmEXP1</i> ở đậu tương	22
1.2	Sơ đồ về gen và protein EXP1 ở cây đậu tương	22
1.3	Trình tự amino acid vùng bảo thủ DPBB của protein EXP1	23
1.4	Trình tự amino acid vùng bảo thủ DPBB của protein EXP1	23
1.5	Trình tự amino acid của vùng Pollen allerg của protein EXP1	24
1.6	Mô hình cấu trúc không gian vùng Pollen allerg của protein EXP1	24
2.1	Hạt của các giống đậu tương nghiên cứu	26
2.2	Sơ đồ vector pBT	33
3.1	Hình ảnh các giống đậu tương giai đoạn 3 lá trước hạn	38
3.2	Hình ảnh rễ của ba giống đậu tương nghiên cứu sau 7 hạn	38
3.3	Đồ thị hình rada biểu diễn khả năng chịu hạn của ba giống đậu tương nghiên cứu	43
3.4	Hình ảnh điện di DNA tổng số tách từ lá non đậu tương	43
3.5	Hình ảnh điện di kết quả nhân gen <i>Gm EXP1</i>	44
3.6	Đĩa nuôi cấy dòng tế bào khả biến E.coli chủng DH5 α chứa vector tái tổ hợp mang gen <i>GmEXP1</i>	45
3.7	Plasmid mang gen <i>GmEXP1</i>	46
3.8	Trình tự gen <i>GmEXP1</i> phân lập từ giống đậu tương XLS	48
3.9	So sánh trình tự nucleotide vùng mã hóa của gen <i>GmEXP1</i> phân lập từ giống đậu tương Xuân Lạng Sơn với trình tự nucleotide mã số AF516879 công bố trên NCBI	49

3.10	So sánh trình tự amino acid của protein EXP1 do gen <i>GmEXP1</i> mã hoá phân lập từ giống đậu tương Xuân Lạng Sơn với trình tự amino acid của protein EXP1 do gen có mã số AF516879 công bố trên NCBI	50
------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

MỞ ĐẦU

1.1. Lý do chọn đề tài

Cây đậu tương hay đỗ tương (*Glycine max* (L.) Merrill) là một loại cây trồng cạn ngắn ngày có giá trị kinh tế và hàm lượng dinh dưỡng cao. Hạt đậu tương giàu hàm lượng protein (từ 32% - 52%) và chứa nhiều amino acid không thay thế (lysin, triptophan, metionin, cystein, leucin...), 12% -25% lipit và các vitamin (B1, B2, C, D, E, K ...) cần thiết cho cơ thể người và động vật. một đặc tính quan trọng nữa của đậu tương là có nốt sần ở rễ tạo khả năng cố định nitơ trong không khí vì vậy trồng đậu tương còn góp phần cải tạo đất và bảo vệ môi trường [5].

Cây đậu tương là loại cây trồng có tầm quan trọng thứ ba trong nhóm cây lấy hạt ở Việt Nam sau lúa và ngô. Sản lượng đậu tương trên thế giới đạt hàng trăm triệu tấn /năm. Trong khi đó ở Việt Nam chỉ đạt vài trăm nghìn tấn /năm, điều này cho thấy tình hình sản xuất đậu tương ở nước ta so với khu vực vẫn còn ở mức thấp. Một trong những nguyên nhân là do hạn hán đã ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây đậu tương. Đậu tương là cây tương đối mẫn cảm với điều kiện ngoại cảnh và thuộc nhóm cây chịu hạn kém. Biến đổi khí hậu, hạn hán xảy ra liên tục và kéo dài, cho nên công tác tuyển chọn giống đậu tương có kiểu gen chịu hạn ngày càng được quan tâm nghiên cứu [6], [13], [14].

Hai cơ chế chính liên quan đến khả năng chịu hạn của cây đậu tương, đó là sự điều chỉnh áp suất thẩm thấu và sự phát triển bộ rễ. Khả năng thu nhận nước của cây phụ thuộc chủ yếu vào bộ rễ. Để tránh mất nước những cây chịu hạn thường có bộ rễ khỏe, dài, mập có sức xuyên sâu sẽ hút được nước ở những nơi sâu trong đất hoặc rễ lan rộng với số lượng lớn. Thực vật nói chung