

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC



ĐỖ NGỌC TUYỀN

**SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG NHỜ CHỈ THỊ
PHÂN TỬ (MAS) CHỌN LỌC CÁC DÒNG LÚA TRIỂN VỌNG
CHO NĂNG SUẤT CAO MANG QTL/GEN QUY ĐỊNH
TÍNH TRẠNG TĂNG SỐ HẠT TRÊN BÔNG**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2014

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC



ĐỖ NGỌC TUYỀN

**SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG NHỜ CHỈ THỊ
PHÂN TỬ (MAS) CHỌN LỌC CÁC DÒNG LÚA TRIỂN VỌNG
CHO NĂNG SUẤT CAO MANG QTL/GEN QUY ĐỊNH
TÍNH TRẠNG TĂNG SỐ HẠT TRÊN BÔNG**

CHUYÊN NGÀNH : CÔNG NGHỆ SINH HỌC

MÃ SỐ : 60.42.02.01

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. TRẦN ĐĂNG KHÁNH

THÁI NGUYÊN - 2014

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đã trực tiếp thực hiện hầu hết các nghiên cứu trong luận văn này. Mọi kết quả thu được nguyên bản, không chỉnh sửa hoặc sao chép từ các nghiên cứu khác. Các số liệu, sơ đồ kết quả của luận văn này chưa từng được công bố.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm với những lời cam đoan trên!

Tác giả luận văn

Đỗ Ngọc Tuyên

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn thạc sỹ công nghệ sinh học này, tôi xin bày tỏ sự biết ơn vô cùng sâu sắc tới TS. **Trần Đăng Khánh** – Phòng sinh học phân tử - Viện di truyền Nông Nghiệp về những hướng dẫn tận tình, chu đáo bên cạnh những kiến thức sinh học bổ ích khác.

Bên cạnh đó, tôi cũng xin chân thành cảm ơn sự hướng dẫn, giúp đỡ quý báu, nhiệt tình của tập thể cán bộ thuộc:

1. Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử - Viện Di truyền Nông nghiệp
2. Khoa Khoa học sự sống, Đại học Khoa học Thái Nguyên

là những nơi tôi đã tiến hành luận văn thạc sỹ công nghệ sinh học của mình.

Luận văn này được thực hiện với nguồn kinh phí từ Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia.

Tác giả luận văn

Đỗ Ngọc Tuyên

MỤC LỤC

	Trang
Lời cam đoan.....	i
Lời cảm ơn	ii
Mục lục.....	iii
Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt.....	iv
Danh mục bảng.....	v
Danh mục hình	vi
MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Nguồn gốc, phân loại, ý nghĩa của cây lúa	4
1.2. Chỉ thị phân tử trong công tác chọn tạo giống.....	6
1.2.1. Chỉ thị phân tử	6
1.2.2. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong công tác chọn tạo giống (Phương pháp Marker assisted selection- MAS).....	11
1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu	15
1.3.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu quốc tế	15
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước	21
Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. Vật liệu nghiên cứu	24
2.1.1. Giống lúa nghiên cứu.....	24
2.1.2. Các chỉ thị phân tử và hóa chất thí nghiệm	24
2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	25
2.2. Phương pháp nghiên cứu	25
2.2.1. Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng	25
2.2.2. Các phương pháp thí nghiệm trong phòng	25
2.2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu.....	30

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN	THẢO LUẬN	31
3.1. Kết quả xác định chỉ thị phân tử đa hình tại vị trí QTL/gen <i>Yd7</i> giữa giống Khang Dân 18 và giống KC25.....		31
3.1.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số		31
3.1.2. Kết quả xác định các chỉ thị phân tử đa hình tại vị trí QTL/gen <i>Yd7</i>		31
3.2. Kết quả lai tạo thế hệ F1 của tổ hợp Khang Dân 18 và KC25		32
3.3. Kết quả xác định cá thể mang QTL/gen <i>Yd7</i> trong quần thể F1 của tổ hợp lai Khang Dân 18 và KC25.....		33
3.4. Kết quả xác định cá thể mang QTL/gen <i>Yd7</i> trong quần thể F2 của tổ hợp lai Khang Dân 18 và KC25.....		34
3.5. Kết quả xác định các cá thể trong quần thể F3 của tổ hợp Khang Dân 18 và KC25 mang QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt/bông		37
3.6. Kết quả xác định dòng lúa triển vọng mang QTL/gen <i>Yd7</i> cho năng suất cao.....		40
Chương 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ		42
4.1. Kết luận.....		42
4.2. Kiến nghị.....		42
TÀI LIỆU THAM KHẢO		43
PHỤ LỤC		

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DNA	:	Deoxyribonucleic Acid
AFLP	:	Amplified Fragment Length Polymorphism - Đa hình chiều dài các đoạn được nhân bản chọn lọc
Bp	:	Base pair – Cặp bazơ nitơ
Cs	:	Cộng sự
dNTP	:	Deoxynucleotide triphosphate
MAS	:	Marker Assisted Selection – Chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử
PCR	:	Polymerase Chain Reaction - Phản ứng chuỗi trùng hợp
QTL/QTLs	:	Quantitative Trait Loci(s) - Locus kiểm soát tính trạng số lượng
RAPD	:	Random Amplification of Polymorphic DNA - Đa hình ADN được nhân bản ngẫu nhiên
RFLP	:	Restriction Fragment Length Polymorphism – Đa hình chiều dài mảnh phân cắt giới hạn
SSR	:	Simple Sequence Repeat - Sự lặp lại của trình tự đơn giản
TBE	:	Tris-Boric Acid-EDTA

DANH MỤC BẢNG

	Trang
Bảng 2.1: Thông tin những cặp môi được sử dụng trong nghiên cứu	24
Bảng 2.2: Thành phần phản ứng PCR.....	27
Bảng 2.3: Chu trình nhiệt của phản ứng PCR.....	27
Bảng 3.1: Bảng thống kê kết quả thí nghiệm.....	40

DANH MỤC HÌNH

	Trang
Hình 2.1: Minh họa QTL/gen Yd7.....	26
Hình 3.1: Kết quả tách DNA tổng số trên gel agarose 0,8%.....	31
Hình 3.2: Sản phẩm điện di với các chỉ thị trên gel agarose 2,5%.....	32
Hình 3.3: Kết quả lai tổ hợp Khang dân 18 và KC25.....	33
Hình 3.4: Kết quả điện di trên gel agarose 2,5% với chỉ thị RM500	33
Hình 3.5: Kết quả điện di trên gel agarose 2,5% với chỉ thị RM21615	34
Hình 3.6 : Kết quả điện di kiểm tra quần thể F2 với chỉ thị RM21615	35
Hình 3.7: Kết quả điện di kiểm tra quần thể F2 với chỉ thị RM500	36
Hình 3.8: Kết quả điện di kiểm tra quần thể F3 với chỉ thị RM500	38
Hình 3.9: Kết quả điện di kiểm tra quần thể F3 với chỉ thị RM445	39

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa*) là cây lương thực quan trọng, với diện tích trồng khoảng 148,4 triệu hecta trên toàn thế giới (trong đó châu Á chiếm 135 triệu hecta). Lúa gạo là một trong những cây trồng cung cấp nguồn lương thực quan trọng nhất, lúa có ảnh hưởng đến đời sống của ít nhất 65% dân số thế giới. Châu Á chiếm 90% diện tích đất trồng lúa của thế giới với sản lượng 651 triệu tấn chiếm 92% tổng sản lượng lúa gạo thế giới (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2010), trong đó khoảng 75% diện tích lúa được trồng trong điều kiện ruộng ngập nước, 19% diện tích lúa trồng trong điều kiện ruộng thấp nhờ nước trời và khoảng 4% diện tích lúa trồng trong điều kiện ruộng cạn, không chủ động nước.

Việt Nam có 4,36 triệu hecta trồng lúa, sản lượng đạt 34,4 triệu tấn, năng suất bình quân 4,67tấn/hecta, xuất khẩu 44 triệu tấn gạo. Ở Việt Nam lúa gạo là một trong những sản phẩm xuất khẩu chủ lực của nền nông nghiệp và cũng là nguồn lương thực chính của hơn 86 triệu dân trong nước. Do quá trình đô thị hóa, công nghiệp hóa diễn ra nhanh chóng, diện tích đất dành cho việc trồng lúa ngày càng bị thu hẹp, và chịu những ảnh hưởng tiêu cực từ biến đổi khí hậu làm năng suất lúa bị sụt giảm rõ rệt, cùng với áp lực dân số ngày càng tăng đòi hỏi nguồn cung lương thực ngày càng lớn. Vì vậy, đáp ứng sản lượng lương thực là rất cần thiết. Việc phát triển nguồn giống đã được cải tiến cho năng suất cao, chất lượng tốt là yếu tố quan trọng cho việc đảm bảo hệ thống sản lượng lúa. Chọn tạo giống lúa có khả năng năng suất cao là hết sức cần thiết, cấp bách và có ý nghĩa cho an toàn lương thực và tăng thu nhập của nông dân. Trong công tác chọn giống cây trồng, các tính trạng được khảo nghiệm là những tính trạng liên quan đến năng suất, phẩm chất của sản phẩm