

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, chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác và chưa hề sử dụng cho bảo vệ học vị nào.

Tác giả

Nguyễn Thị Bình

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn 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 chân thành cảm ơn ThS Nguyễn Thị Ngọc Lan, cảm ơn các cán bộ phòng thí nghiệm, các Thầy Cô giáo và Ban chủ nhiệm khoa khoa sinh - KTNN đã giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi xin cảm ơn Lãnh đạo Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên, Ban giám hiệu trường Phổ thông trung học Sông Công - Sở Giáo Dục - Đào tạo Thái Nguyên đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập.

Tác giả

Nguyễn Thị Bình

MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
Lời cam đoan.....	1
Lời cảm ơn.....	2
Mục lục.....	3
Những chữ viết tắt.....	6
Danh mục các bảng.....	8
Danh mục các hình	9
MỞ ĐẦU.....	9
Chương 1 . TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	11
1.1. Cây lúa cạn.....	11
1.1.1. Nguồn gốc và phân loại	11
1.1.2. Đặc điểm sinh học của cây lúa cạn	13
1.1.3. Tình hình sản xuất lúa cạn trên thế giới và Việt Nam	14
1.2. Phân tích đặc điểm hóa sinh hạt gạo.....	15
1.2.1. Thành phần hoá sinh hạt gạo.....	15
1.2.2. Thành phần điện di protein.....	17
1.3. Nghiên cứu tính chịu hạn của cây lúa cạn.....	17
1.4. Kỹ thuật RAPD trong nghiên cứu sự đa dạng di truyền của thực vật.....	23
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	26
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	26
2.1.2. Vật liệu.....	26
2.1.2. Hóa chất và thiết bị.....	26

2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	28
2.2.1 Phương pháp phân loại các giống lúa cạn.....	28
2.2.2. Các phương pháp phân tích hóa sinh.....	29
2.2.2.1. Định lượng lipit tổng số.....	29
2.2.2.2. Định lượng protein.....	29
2.2.2.3. Định lượng đường khử.....	29
2.2.2.4. Phương pháp xác định thành phần axit amin.....	29
2.2.2.5. Phương pháp phân tích thành phần điện di protein.....	30
2.2.2.6. Xác định hàm lượng prolin trong thân, lá và rễ.....	31
2.2.3. Phương pháp sinh học phân tử.....	31
2.2.3.1. Phương pháp tách chiết ADN tổng số.....	31
2.2.3.2. Phương pháp điện di trên gel agarose.....	32
2.2.3.3. Phản ứng PCR RAPD	32
2.2.3.4. Phân tích số liệu RAPD.....	33
2.2.4. Phương pháp đánh giá khả năng chịu hạn của cây lúa trong điều kiện hạn nhân tạo.....	33
2.2.5. Phương pháp xử lý kết quả và tính toán số liệu.....	35
2.3. Địa điểm nghiên cứu.....	35
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	36
3.1. Đặc điểm phân loại, hình thái hoá sinh hạt của các giống lúa cạn	36
3.1.1. Kết quả phân loại các giống lúa cạn.....	36
3.1.2. Đặc điểm hình thái và khối lượng hạt.....	37
3.1.3. Kết quả phân tích hàm lượng lipit, protein, đường	38
3.1.4. Kết quả thành phần axit amin trong hạt của các giống lúa cạn	40

3.1.5. Phổ điện di protein trong hạt của các giống lúa cạn nghiên cứu....	42
3.2. Đặc điểm phản ứng của kiểu gen các giống lúa cạn đối với hạn ở giai đoạn cây mạ.....	43
3.2.1. Tỷ lệ thiệt hại và chỉ số chịu hạn tương đối của các giống lúa cạn..	45
3.2.2. Đánh giá khả năng chịu hạn thông qua hàm lượng prolin.....	46
3.3. Kết quả phân tích sự đa dạng di truyền của các giống lúa cạn ở mức phân tử.....	48
3.3.1. Phân tích sự đa hình ADN bằng kỹ thuật RAPD.....	48
3.3.2. Mối quan hệ di truyền giữa 7 giống lúa cạn dựa trên phân tích RAPD.....	55
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	58
Kết luận	58
Kêñ nghị	59
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	60
Tài liệu tiếng Việt	60
Tài liệu tiếng Anh.....	62

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

ABA	Absciscic Acid
ADN	Axit deoxybonucleic
cDNA	Complementary DNA (<i>ADN bổ sung được tổng hợp enzym phiên mã ngược từ ARN thông tin</i>)
AFLP	Amplified fragment Length Polymorphism (<i>Tính đa hình chiều dài các phân đoạn được nhân bản</i>)
ASTT	Áp suất thẩm thấu
cs	Cộng sự
EDTA	Etylene Diamin Tetraaxetic Acid
IRRI	International Rice Research Institute (<i>Viện nghiên cứu lúa quốc tế</i>)
Kb	Kilo base
KDa	Kilo dalton
LEA	Late Embryogeneis Abundant protein (<i>Protein tổng hợp với số lượng lớn ở giai đoạn cuối của quá trình phát triển phôi</i>)
PCR	Polymerase Chain Reaction (<i>Phản ứng chuỗi polymerase</i>)
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA (<i>Phân tích sự đa hình các phân đoạn ADN được nhân bản ngẫu nhiên</i>)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (<i>Phân tích chiều dài các phân đoạn ADN cắt hạn chế</i>)
RN ase	Ribonuclease
SDS	Sodium Dodecyl Sulphat
SDS-PAGE	Phương pháp điện di trên gel polyacrylamid có chứa SDS
SSR	Simple Sequence Repeats
TAE	Tris -Acetate - EDTA
TE	Tris – EDTA
Tris	Trioxymetylaminometan

DANH MỤC CÁC BẢNG

<i>TT</i>	<i>Tên bảng</i>	<i>Trang</i>
1	Bảng 2.1. Tên địa phương và nguồn gốc của các giống lúa cạn	26
2	Bảng 2.2. Thành phần gel polyacrylamid	31
3	Bảng 3.1. Kết quả phân loại 7 giống lúa cạn nghiên cứu	36
4	Bảng 3.2. Đặc điểm hình thái, độ thom và khối lượng 1000 hạt của 7 giống lúa	37
5	Bảng 3.3. Hàm lượng lipit, protein và đường trong hạt gạo của các giống lúa cạn	39
6	Bảng 3.4. Hàm lượng amino acid trong protein hạt của 7 giống lúa cạn	41
7	Bảng 3.5. Tỷ lệ thiệt hại ở giai đoạn cây non của các giống lúa cạn sau 3, 5, 7 ngày hạn	45
8	Bảng 3.6. Chỉ số chịu hạn tương đối của các giống lúa cạn nghiên cứu	46
9	Bảng 3.7. Hàm lượng prolin ($\mu M/g$) thân, lá và rễ của 7 giống lúa cạn ở giai đoạn cây mạ trước và sau xử lý bởi hạn .	47
10	Bảng 3.9. Thống kê các phân đoạn ADN được nhân bản và phân đoạn đa hình của 5 môi ngẫu nhiên trong phản ứng RAPD	49
11	Bảng 3.10. Tổng số phân đoạn ADN xuất hiện khi điện di sản phẩm RAPD với 5 môi ngẫu nhiên của 7 giống lúa cạn	54
12	Bảng 3.11. Hệ số tương đồng di truyền của 7 giống lúa cạn nghiên cứu	55

DANH MỤC CÁC HÌNH

<i>TT</i>	<i>Tên hình</i>	<i>Trang</i>
1	Hình 1.1. Sơ đồ mô tả quá trình hình thành cây lúa	12
2	Hình 2.1. Hình ảnh hạt thóc và hạt gạo của các giống lúa nghiên	27
3	Hình 2.2. Mô hình khái quát quá trình nghiên cứu đề tài	28
4	Hình 3.1. Ph ỏ điện di protein trong hạt của 7 giống lúa	43
5	Hình 3.2. Các giống lúa cận sau khi xử lý bởi hạn	44
6	Hình 3.3. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của 7 giống lúa cận với môi M3	50
7	Hình 3.4. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của 7 giống lúa cận với môi M4	50
8	Hình 3.5. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của 7 giống lúa cận với môi M7	51
9	Hình 3.6. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của 7 giống lúa cận với môi M13	52
10	Hình 3.7. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của 7 giống lúa cận với môi M14	53
11	Hình 3.8. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các giống lúa cận	56

MỞ ĐẦU

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là cây lương thực quan trọng trong đời sống con người, lúa gạo cung cấp lương thực cho gần một nửa dân số thế giới. Năm 2003 có khoảng 2,7 tỷ người sử dụng lúa gạo làm lương thực chính của họ, lúa được trồng khắp nơi, đặc biệt ở các nước châu Á. Lúa gạo có 90% glucit, 1-3% lipit, 7-10% protein [7].

Cây lúa được trồng ở khắp nơi trên đất nước ta: Từ đồng bằng cho đến trung du và miền núi. Sản xuất lúa gạo gắn liền với sự phát triển nông nghiệp và trở thành truyền thống gắn bó với người Việt Nam. So với các nước trên thế giới, nhu cầu tiêu thụ lúa gạo của Việt Nam được xếp vào hàng thứ 5 (sau Trung Quốc, Indonexia, Ấn Độ, Bangladet). Nhờ áp dụng các tiến bộ khoa học kỹ thuật, nghề trồng lúa ở Việt Nam không ngừng được phát triển. Từ một nước thiếu lương thực nước ta đã vươn lên cung cấp đủ gạo cho người dân và trở thành nước xuất khẩu gạo đứng thứ hai trên thế giới sau Thái Lan. Diện tích lúa hầu như không tăng nhưng sản lượng lúa không ngừng tăng. Cụ thể, năm 1995 đạt 25 triệu tấn đến năm 2002 đã đạt tới 33,6 triệu tấn. Từ năm 1989 Việt Nam bắt đầu xuất khẩu gạo với số lượng 1,42 triệu tấn. Năm 1999 là năm xuất khẩu nhiều nhất với 4,56 triệu tấn, năm 2002 xuất khẩu được 3,6 triệu tấn. Ngày nay, xuất khẩu gạo đã trở thành mặt hàng quan trọng góp phần tăng ngoại tệ cho đất nước [7].

Cùng với cây lúa nước, lúa cạn chiếm vị trí không nhỏ trong đời sống hàng ngày của người dân miền núi, nó góp phần cung cấp lương thực tại chỗ cho những vùng có điều kiện giao thông hết sức khó khăn. Diện tích trồng lúa cạn chiếm 7,5% diện tích trồng lúa trong cả nước. Phân bố ở các tỉnh miền núi phía bắc (Tây Bắc, Đông Bắc), vùng Duyên Hải Trung Bộ, Tây Nguyên...

Lúa cạn có nhiều đặc tính quý như khả năng chịu hạn tốt, cứng cây, không lép đổ, kháng sâu bệnh cao, có thể gieo trồng ở những nơi thiếu nước. Chất lượng gạo tốt, hàm lượng protein cao, cơm dẻo, thơm phù hợp với thị hiếu

người tiêu dùng [9]. Chính vì vậy, nghiên cứu chọn lọc và bảo tồn nguồn gen quý cây lúa cạn có ý nghĩa cao trong thực tiễn.

Hiện nay, tập đoàn các giống lúa cạn có nguy cơ thoái hóa và mất dần do sự phát triển của nền nông nghiệp miền núi và biến đổi của điều kiện môi trường. Trong khi đó nhu cầu của xã hội và xuất khẩu đang rất cần nhiều giống lúa có chất lượng, khả năng chống chịu tốt, năng suất cao và ổn định.

Trong một số năm gần đây đã có một số công trình đề cập đến chất lượng hạt của các giống lúa cạn trên phương diện hóa sinh, sự đa dạng sinh học của các giống lúa cạn trên cơ sở phân tích các đặc điểm hình thái và thành phần protein dự trữ trong hạt của cây lúa, làm cơ sở cho việc tuyển chọn giống lúa có chất lượng và khả năng chống chịu (Đỗ Thị Dương, 2001 [5]; Nguyễn Thị Hải Yến, 2002 [24]; Nguyễn Thị Thu Hà và cs, 2003 [9] ; Chu Hoàng Mậu, 2004 [17]).

Xuất phát từ những lí do trên chúng tôi đã tiến hành đề tài: **Nghiên cứu đặc điểm hình thái, hoá sinh và sự đa dạng di truyền của một số giống lúa cạn địa phương”**.

2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

- 2.1. So sánh chất lượng hạt của một số giống lúa cạn trên phương diện cảm quan và hoá sinh.
- 2.2. Đánh giá khả năng chịu hạn và xác định sự đa dạng di truyền của các giống lúa cạn nghiên cứu.

3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

- 3.1. Phân loại và nghiên cứu một số đặc điểm hình thái của một số giống lúa cạn.
- 3.2. Phân tích một số chỉ tiêu hoá sinh trong hạt của các giống lúa cạn (hàm lượng protein, lipit, đường, thành phần axit amin)
- 3.3. Phân tích phổ điện di protein dự trữ trong hạt của các giống lúa cạn nghiên cứu.
- 3.4. Phân tích tác động của hạn đến chỉ tiêu sinh lý hóa sinh của các giống lúa nghiên cứu ở giai đoạn mạ.
- 3.5. Sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử RAPD với các môi ngẫu nhiên để nhân bản các phân đoạn ADN từ hệ gen cây lúa cạn. Thiết lập mối quan hệ di truyền giữa các giống lúa cạn nghiên cứu.