

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Nguyễn Thị Thu Hiền

**Nghiên cứu hoạt động của gen điều khiển quá trình ra hoa ở cây hoa
cúc chiếu sang phá đêm bằng đèn led**

Chuyên ngành: sinh học thực nghiệm

Hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Chu Quang Hà

MỤC LỤC

DANH MỤC BẢNG	iv
DANH MỤC HÌNH	v
LỜI CẢM ƠN	vii
LỜI CAM ĐOAN.....	vii
DANH MỤC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	ix
MỞ ĐẦU	1
TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CÂY HOA CÚC	3
1.1.1. Giới thiệu về cây hoa cúc.....	3
1.1.2. Nhu cầu ánh sáng cho quá trình sinh trưởng, phát triển của cây hoa cúc .	5
1.2. TỔNG QUAN VỀ SỰ RA HOA Ở THỰC VẬT	9
1.2.1. Con đường ra hoa tự nhiên.....	10
1.2.2. Con đường phụ thuộc gibberellin đòi hỏi mức hoocmon gia tăng	11
1.2.3. Con đường ra hoa phụ thuộc nhiệt độ (sự xuân hóa)	11
1.2.4. Quang chu kì	13
1.3. TỔNG QUAN VỀ ĐÈN LED	21
1.3.1. Giới thiệu về đèn LED.....	21
1.3.2. Ảnh hưởng của ánh sáng LED đến sự phát triển của thực vật.....	22
1.3.3. Ưu, nhược điểm của đèn LED	23
1.4. CÁC NGHIÊN CỨU CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ DÀI THỜI GIAN CHIẾU SÁNG ĐẾN QUANG CHU KỲ CỦA THỰC VẬT	24
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	38
3.1. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CÂY HOA CÚC DƯỚI ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG BẰNG ĐÈN LED	38
3.1.1. Đánh giá sinh trưởng và phát triển của cây Hoa cúc 40 ngày tuổi	39
3.1.2. Đánh giá sinh trưởng và phát triển cây Hoa cúc 50 ngày tuổi.....	40
3.1.3. Đánh giá sinh trưởng và phát triển của cây Hoa cúc 70 ngày tuổi	42
3.1.4. Đánh giá sinh trưởng và phát triển của cây Hoa cúc 110 ngày tuổi	45
3.1.5. Hiệu quả tiết kiệm điện năng của đèn LED	49

3.2. KẾT QUẢ PHÂN LẬP GEN CO ĐIỀU KHIỂN QUÁ TRÌNH RA HOA Ở CÂY HOA CÚC	51
3.2.1. Tách chiết RNA tổng số.....	51
3.2.2. Kết quả phân lập gen CO	54
3.2.3. Kết quả đánh giá sự biểu hiện của gen CO và FT cảm ứng ra hoa ở cây Hoa cúc	61
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	67
TÀI LIỆU THAM KHẢO	68

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.2: Các gen điều khiển quá trình ra hoa ở cây <i>Arabidopsis</i>	17
Bảng 2.1: Trình tự nucleotide các cặp môi sử dụng	28
Bảng 2.2: Sơ đồ bố trí đèn trong các ô thí nghiệm	29
Bảng 2.3: Kí hiệu mẫu thí nghiệm.....	31
Bảng 2.4: Thành phần phản ứng PCR	33
Bảng 2.5: Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR	33
Bảng 2.6: Thành phần phản ứng gắn gen vào vector pBT.....	35
Bảng 3.1: Sinh trưởng và phát triển cây hoa cúc sau 50 ngày tuổi	40
Bảng 3.2: Sinh trưởng và phát triển của hoa cúc 70 ngày tuổi	43
Bảng 3.3: Sinh trưởng và phát triển của hoa cúc sau 110 ngày tuổi	45
Bảng 3.4: Hiệu quả tiết kiệm năng lượng	50
Bảng 3.5: Kết quả định lượng RNA tổng số bằng Nano Drop	53
Bảng 3.6: Mã số trong Ngân hàng dữ liệu gen và vùng phân lập của các thể phân lập thuộc chi cúc <i>Chrysanthemum</i> sử dụng trong phân tích, so sánh trình tự gen CO	58

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.2: Cây hoa cúc vàng pha lê	5
Hình 1.3: Sự ra hoa ở cây ngày ngắn và cây ngày dài	13
Hình 1.4: Con đường quang chu kỳ điều khiển sự ra hoa ở cây <i>Arabidopsis</i>	19
Hình 1.5: Ảnh hưởng của ánh sáng đỏ và đỏ xa đến sự ra hoa của cây ngày ngắn và cây ngày dài	20
Hình 1.6: Hình ảnh đèn Led và đèn Led sử dụng trong nuôi cấy mô	22
Hình 3.1: Cây hoa cúc 40 ngày tuổi.....	39
Hình 3.2: Hình ảnh cây hoa cúc 50 ngày tuổi	41
Hình 3.3: Ảnh hưởng của đèn Led đến thời gian ra hoa của cây hoa cúc 50 ngày tuổi	42
Hình 3.4: Ảnh hưởng của đèn Led đến thời gian ra nụ của cây 70 ngày tuổi	44
Hình 3.5: Hình ảnh Hoa cúc sinh trưởng ở 70 ngày tuổi.....	44
Hình 3.6: Hình ảnh hoa cúc ở 110 ngày tuổi.....	47
Hình 3.7: Ảnh hưởng của đèn Led đến đường kính hoa.....	48
Hình 3.8: Tổng năng lượng sử dụng trong một vụ	51
Hình 3.9: Kết quả điện di tách chiết RNA tổng số trên gel agarose 1%	52
Hình 3.10: Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR với cặp mồi MTP	55
Hình 3.11: Hình ảnh điện di kiểm tra sản phẩm PCR dùng cặp mồi đặc hiệu (CS_CO F/R) sử dụng khuôn là cDNA tổng hợp từ RNA tổng số của các mẫu hoa cúc.....	55
Hình 3.12: Kết quả điện di sản phẩm colony PCR với cặp mồi pUC18F/R.....	57
Hình 3.13 : Hình ảnh so sánh trình tự nucleotide gen CO của thể phân lập COL-clone36 với bốn thể phân lập khác thuộc chi <i>Chrysanthemum</i> trên Ngân hàng dữ liệu gen.	59
Hình 3.14: Hình ảnh so sánh trình tự axit amin gen CO của thể phân lập COL-clone36 với bốn thể phân lập khác thuộc chi <i>Chrysanthemum</i> trên Ngân hàng dữ liệu gen. ...	60
Hình 3.15: Cây phát sinh chủng loại dựa vào trình tự nucleotide của gen CO chi <i>Chrysanthemum</i> . Thể phân lập COL-clone36 nghiên cứu được so sánh với bốn thể phân lập khác được công bố trên Ngân hàng dữ liệu gen.	60

Hình 3.16: Kết quả phân tích mức độ biểu hiện ở cấp độ phiên mã của gen CO ở lá của cây hoa cúc ở 42, 49, 56 và 63 ngày tuổi.....	62
Hình 3.17: Biểu hiện của gen FT ở các giai đoạn phát triển khác nhau ở mẫu lá bánh tẻ , lá non và đỉnh chồi của cây hoa cúc.....	64
Hình 3.18: Kết quả phân tích mức độ biểu hiện ở cấp độ phiên mã của gen CO ở lá của cây hoa cúc ở 42, 49, 56 và 63 ngày tuổi.....	65

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan:

Đây là công trình nghiên cứu của tôi, các số liệu và kết quả trình bày trong luận án là trung thực, chưa được công bố trong bất kể công trình nghiên cứu nào khác.

Hà Nội, ngày tháng năm 2016

Tác giả

Nguyễn Thị Thu Hiền

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới thầy PGS.TS. Chu Hoàng Hà, đã tận tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện thuận lợi, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, làm việc và hoàn thành luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến TS. Phạm Bích Ngọc đã dành thời gian chỉ bảo tận tình cho tôi trong suốt quá trình làm việc. Đã có những lúc khó khăn nhưng Cô luôn bên cạnh động viên và hướng dẫn giúp tôi có thể hoàn thành được luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ths Phạm Thị Vân, Ths Hoàng Đăng Hiếu, CN. Nguyễn Văn Đoài cùng tập thể cán bộ phòng Công nghệ tế bào thực vật, những người anh, người chị, những người đồng nghiệp đã luôn chia sẻ, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình làm việc.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè, những người thân luôn bên tôi, ủng hộ và giúp đỡ tôi để tôi có thể hoàn thành tốt công việc cũng như luận văn này.

Hà Nội, tháng 1 năm 2016
Học viên

Nguyễn Thị Thu Hiền

DANH MỤC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Led	: <u>Light-emitting diode</u>
cDNA	: Complementary DNA
DNA	: Deoxyribonucleotide acid
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
Bp	: base pair
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonucleotide acid
CO	: CONSTANS
FT	: FLOWERING LOCUS T
C/N	: Carbonhydrat/ nitrogen
GA	: Gibberellin
TSF	: TWIN SISTER OF FT
CFL	: Compact fluorescent lamp
RT-PCR	: Reverse transcriptpolymerase chain reaction
FREL	: Far red light

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây nền kinh tế thị trường phát triển, một hướng chuyên đổi cơ cấu cây trồng nông nghiệp sang phát triển hoa cây cảnh đang được xã hội quan tâm vì nó không chỉ mang lại giá trị về tinh thần mà còn mang lại lợi ích kinh tế cao cho người sản xuất.

Trong các loài hoa, cây hoa cúc được trồng phổ biến, phát triển nhanh vì nó là loại hoa đẹp, được dùng nhiều trong các dịp lễ tết. Cây hoa cúc vừa có giá trị trang trí lại có thể sử dụng làm dược liệu chính vì vậy nó được trồng rộng rãi ở nhiều địa phương bởi khả năng thích nghi cao, dễ sản xuất và dễ dàng trong việc vận chuyển.

Nhiều giống hoa cúc có phản ứng rất chặt với ánh sáng ngày ngắn (cúc vàng pha lê, chi trắng...) chính vì vậy ngay khi mới trồng mà gặp điều kiện ánh sáng ngày ngắn cây đã ra hoa, không đủ thời gian để cây sinh trưởng điều này làm giảm đáng kể chất lượng của cành hoa. Để khắc phục hiện tượng này, người ta thường sử dụng đèn compact, hay đèn sợi đốt để chiếu sáng bổ sung cho cây hoa cúc nhằm tăng thời gian sinh trưởng đến khi cây đạt chiều cao cần thiết mới ra hoa. Tuy nhiên, khi sử dụng đèn compact hay đèn sợi đốt lượng điện năng tiêu thụ lớn, tuổi thọ không cao, mất nhiều chi phí. Chính vì vậy trong những năm gần đây đèn Led được đưa vào nghiên cứu và sử dụng nhằm loại bỏ những hạn chế trên của đèn compact và đèn sợi đốt. Nhưng câu hỏi đặt ra đó là chất lượng ánh sáng của đèn Led ảnh hưởng như thế nào đến quá trình ra hoa của cây, không chỉ ở mức độ hình thái, sinh trưởng mà ở cả mức độ phân tử. Xuất phát từ những băn khoăn này, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu hoạt động của gen điều khiển quá trình ra hoa ở cây hoa cúc chiếu sáng phá đêm bằng đèn Led”** với mục tiêu, nội dung và phạm vi nghiên cứu như sau: