

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC  
----------

**TRẦN CHUNG DŨNG**

**NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC DIỆT  
SÂU TỖ TỪ VI KHUẨN *BACILLUS THURINGIENSIS*  
PHÂN LẬP TẠI THÁI NGUYÊN**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

**THÁI NGUYÊN - 2019**

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC



**TRẦN CHUNG DŨNG**

**NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC DIỆT  
SÂU TỜ TỪ VI KHUẨN *BACILLUS THURINGIENSIS*  
PHÂN LẬP TẠI THÁI NGUYÊN**

**Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học  
Mã số: 8 42 02 01**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG**

**Người hướng dẫn khoa học: TS. Trương Phúc Hưng  
Cơ quan: Trường Đại học Khoa học – Đại học Thái Nguyên**

**THÁI NGUYÊN - 2019**

## LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, cho phép tôi được bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới **TS. Trương Phúc Hưng** giáo viên hướng dẫn khoa học, người đã tạo điều kiện và động viên tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn tập thể cán bộ phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học đã tạo điều kiện cho tôi thực hiện các thí nghiệm trong phạm vi luận văn.

Tôi xin trân trọng cảm ơn tập thể cán bộ Phòng Di truyền vi sinh vật viện Công nghệ sinh học đã giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các thầy giáo, cô giáo, các đồng nghiệp, bạn bè đã luôn quan tâm, động viên và chỉ dẫn cho tôi để tôi hoàn thành luận văn.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới gia đình đã luôn là chỗ dựa vững chắc cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận văn.

**Học viên**

**Trần Chung Dũng**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đã thực hiện toàn bộ công trình này dưới sự hướng dẫn của *TS. Trương Phúc Hưng*. Các số liệu và kết quả nêu trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố trong một luận văn nào khác.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm về những gì đã cam đoan ở trên.

*Thái Nguyên, ngày 20 tháng 04 năm 2019*

**Tác giả**

**Trần Chung Dũng**

## **DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT**

STT	Viết tắt	Viết đầy đủ
1	Bp	Base pair
2	DNA	Deoxyribonucleotide a xid
3	<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
4	kDa	Kilo Dalton

## MỤC LỤC

Lời cảm ơn.....	i
Lời cam đoan.....	ii
Mục lục.....	iii
Danh mục các bảng .....	vii
Danh mục các hình.....	viii
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
1. Đặt vấn đề .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
2.1. Tuyển chọn được một số chủng <i>Bacillus thuringiensis</i> có hoạt tính diệt sâu tơ cao tại Thái Nguyên.....	2
2.2. Nghiên cứu các điều kiện thích hợp cho quá trình lên men chủng vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	2
2.3. Nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học diệt sâu tơ từ vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> phân lập. ....	2
3. Nội dung nghiên cứu. ....	2
3.1. Phân lập và xác định đặc điểm hình thái của một số chủng vi khuẩn <i>B. thuringiensis</i> từ các mẫu đất thu tại Thái Nguyên có khả năng diệt sâu. ....	2
3.2. Sàng lọc các chủng <i>Bacillus thuringiensis</i> có hoạt tính diệt sâu tơ cao. ....	2
3.3. Tối ưu điều kiện nuôi cấy và tạo chế phẩm sinh học từ loài vi khuẩn <i>B. thuringiensis</i> có hoạt tính diệt sâu tơ cao.....	2
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	3
I. Tổng quan về vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt).....	3
1.1. Lược sử nghiên cứu và ứng dụng Bt .....	3
1.1.1. Lịch sử nghiên cứu và ứng dụng của Bt trên thế giới .....	3
1.1.2. Lịch sử nghiên cứu và ứng dụng của Bt tại Việt Nam.....	5
1.2. Đại cương về vi khuẩn Bt .....	6
1.2.1. Sự phân bố của Bt .....	6
1.2.2. Đặc điểm hình thái .....	7

1.2.3. Phân biệt <i>B.thuringiensis</i> với các loài khác trong chi <i>Bacillus</i> .....	8
1.2.4. Đặc điểm sinh hóa.....	9
1.2.5. Phân loại Bt.....	10
1.2.6. Đặc điểm loài phụ <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> .....	11
1.2.7. Tính chất nuôi cấy.....	12
1.3.1. Độc tố của Bt.....	13
1.3.2. Cơ chế tác động của protein tinh thể lên côn trùng.....	15
II. Tổng quan về sâu tơ (côn trùng thử nghiệm).....	17
III. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu sinh học <i>B. thuringiensis</i> .....	19
3.1. Phương pháp lên men bề mặt.....	20
3.2. Lên men chìm.....	20
<b>CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP</b> .....	<b>23</b>
2.1. Vật liệu.....	23
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	23
2.1.2. Hóa chất và thiết bị.....	23
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	24
2.2.1. Phương pháp phân lập <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	24
2.2.2. Phân loại <i>Bacillus thuringiensis</i> bằng phương pháp huyết thanh miễn dịch.....	25
2.2.3. Phương pháp thử hoạt tính sinh học.....	25
2.2.4. Phương pháp lên men vi sinh vật.....	26
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	<b>28</b>
3.1. Phân lập, tuyển chọn và phân loại các chủng <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	28
3.1.1. Phân lập các chủng <i>B. thuringiensis</i> .....	28
3.1.2. Sự đa dạng hình thái tinh thể các chủng <i>B. thuringiensis</i> phân lập.....	29
3.1.3. Phân loại Bt bằng phương pháp huyết thanh.....	30
3.2. Thử nghiệm hoạt tính diệt sâu tơ ( <i>Plutella xylostella</i> ) của các chủng <i>Bacillus thuringiensis</i> phân lập.....	31

3.3. Sản xuất thử nghiệm chế phẩm Bt trong phòng thí nghiệm.....	32
3.3.1. Ảnh hưởng của điều kiện lên men đến sinh trưởng của chủng TC2.5 .....	32
3.3.2. Lên men TC 2.5 tạo chế phẩm .....	34
3.3.3. Thử nghiệm hoạt tính diệt sâu tơ của chế phẩm Bt – TC2.5 .....	35
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>37</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>38</b>



**DANH MỤC BẢNG**

Bảng 1.1. Một số đặc điểm phân biệt các loài trong nhóm 1 chi <i>Bacillus</i> .....	8
Bảng 1.2. Phân loại độc tố Cry1 ở <i>Bt</i> var. <i>kurstaki</i> và côn trùng đích.....	11
Bảng 3.1. Sự phân bố hình dạng tinh thể của các chủng <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	25
Bảng 3.2. Kết quả thử hoạt tính diệt sâu tơ sau 3 ngày thử nghiệm.....	27
Bảng 3.3 Ảnh hưởng của pH ban đầu đến sinh trưởng của chủng TC 2.5 .....	28
Bảng 3.4 Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của chủng TC 2.5.....	29

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1A. Chủng <i>Bt</i> mang bào tử và tinh thể. ....	7
Hình 1.1B. Hình dạng tế bào và tinh thể một số dưới loài <i>Bt</i> . ....	7
Hình 1.2. Phản ứng ngưng kết của vi khuẩn <i>Bt</i> với kháng nguyên lông roi H.....	10
Hình 1.3. Cấu trúc không gian 3 chiều của protein Cry 2Aa.....	13
Hình 1.4. Cơ chế tác động của độc tố.....	15
Hình 1.5. Chu kỳ sống của sâu tơ <i>Plutella xylostella</i> .....	16
Hình 3.1. Hình thái khuẩn lạc của vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	24
Hình 3.2. Hình ảnh tế bào sinh dưỡng, bào tử và tinh thể của vi khuẩn <i>Bt</i> quan sát dưới kính hiển vi quang học .....	26
Hình 3.3. Hình ảnh ngưng kết của chủng TC 2.5 (2) và chủng đối chứng 4D4(1)...	27
Hình 3.4. Chế phẩm <i>Bt</i> dạng bột sau khi lên men. ....	30
Hình 3.5. Thử hoạt tính diệt sâu tơ với chế phẩm <i>Bt</i> -TC2.5.....	31