

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

VŨ THỊ BƯỞI

**NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA DẠNG CỦA VIRUS Y
TRÊN KHOAI TÂY TRỒNG TẠI THÁI NGUYÊN**

**Chuyên ngành: Di truyền học
Mã số: 60.42.70**

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Thái Nguyên-2009

**Công trình được hoàn thành tại:
Khoa Sinh -Trường Đại học Sư phạm-Đại học Thái Nguyên**

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Chu Hoàng Mậu

Phản biện 1:.....

Phản biện 2:.....

**Luận văn sẽ được bảo vệ trước hội đồng chấm luận văn
hợp tại: Trường Đại học Sư phạm-Đại học Thái Nguyên
Ngày.....tháng.....năm 2009**

Có thể tìm hiểu luận văn tại thư viện Đại học Thái Nguyên

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

VŨ THỊ BƯỞI

**NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA DẠNG CỦA VIRUS Y
TRÊN KHOAI TÂY TRỒNG TẠI THÁI NGUYÊN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Thái Nguyên-2009

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS. Chu Hoàng Mậu, Phó Giám đốc Đại học Thái Nguyên, đã rất tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn của mình.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới TS. Nguyễn Vũ Thanh Thanh (trường Đại học Khoa học), các thầy cô giáo, cán bộ khoa sau đại học và khoa Sinh (trường Đại học Sư phạm-Đại học Thái Nguyên) đã hướng dẫn, tạo mọi điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới TS. Chu Hoàng Hà, chị Phạm Thị Vân, Phòng Công nghệ Tế bào Thực vật-Viện Công nghệ Sinh học và các cán bộ phòng thí nghiệm Di truyền học, khoa Sinh-Trường Đại học Sư phạm; phòng thí nghiệm thuộc khoa Sinh-Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên đã nhiệt tình hướng dẫn, giúp đỡ để tôi có thể hoàn thành luận văn này.

Cuối cùng, tôi xin dành cho những người thân yêu trong gia đình và bạn bè những lời biết ơn sâu sắc.

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.

Thái Nguyên, tháng 9, năm 2009

Tác giả

Vũ Thị Bưởi

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

aa	Acid amine
DNA	Deoxyribonucleic Acid
RNA	Ribonucleic Acid
bp	Basepair
cDNA	Complementary DNA
CP	Coat protein
cs	Cộng sự
DEPC	Diethyl pyrocarbonate
NXB	Nhà xuất bản
IPTG	Isopropylthio- β -D-galactosidase
Kb	Kilobase
LB	Luria and Bertani
RT-PCR	Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction
PVY	Potato virus Y
PVY ^N	Potato virus Y strain N
PVY ^C	Potato virus Y strain C
PVY ^O	Potato virus Y strain O
PVY ^{NTN}	Potato virus Y strain (variant) NTN
RNase	Ribonuclease
X-gal	5-brom-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase

DANH MỤC CÁC HÌNH

Tên hình	Trang
Hình 1.1. Các gen kháng (màu xanh) với 4 virus chủ yếu (PVY, PLRV, PVX, PVA).....	13
Hình 1.2. Những đốm (mottle) điển hình trên cây thuốc lá <i>N. tabacum</i> cv Xanthi gây ra bởi PVY khoai tây sau 15 ngày tiêm.....	16
Hình 1.3. Hình dạng của PVY	16
Hình 1.4. Sơ đồ mô tả hệ gen của các chủng PVY ^O , PVY ^N và các biến thể PVY ^{NTN} , PVY ^{NW}	17
Hình 1.5. Loài rệp có cánh truyền PVY (<i>Aphis nasturtii</i>).....	19
Hình 1.6. Dấu hiệu so sánh PVY trên <i>Nicotiana tabacum</i> cv Xanthi (sau 15 ngày tiêm)	21
Hình 1.7. Triệu chứng nhiễm lần 2 với PVY trên cánh đồng khoai tây	22
Hình 1.8. Triệu chứng của bệnh đốm chết hoại củ khoai tây (PTNRD)....	23
Hình 1.9. Vị trí các gen kháng PVY trên genome khoai tây.....	24
Hình 2.1. Sơ đồ thí nghiệm tổng quát.....	29
Hình 3.1. Một số hình ảnh về khoai tây ở các vùng nghiên cứu	39
Hình 3.2. Kết quả RT-PCR từ RNA của các mẫu lá khoai tây nghi nhiễm bệnh	41
Hình 3.3. Kết quả điện di DNA thu được từ kỹ thuật thổi gel trên agarose 1%	43
Hình 3.4. Kết quả colony-PCR một số dòng khuẩn lạc với mẫu Phổ Yên.....	45
Hình 3.5. Kết quả colony-PCR một số dòng khuẩn lạc với mẫu Phú Bình	46
Hình 3.6. Kết quả điện di tách plasmid mang gen CP	46
Hình 3.7. So sánh trình tự nucleotide của gen CP-PVY trên 2 mẫu nghiên cứu	49
Hình 3.8. So sánh trình tự acid amine của gen CP-PVY trên 2 mẫu nghiên cứu	50
Hình 3.9. Biểu đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền của CP-PVY phân lập được từ Phổ Yên và Phú Bình với 19 trình tự trong ngân hàng gen.....	52

DANH MỤC CÁC BẢNG

Tên bảng	Trang
Bảng 1.1. Một số virus khoai tây thuộc nhóm 1	8
Bảng 1.2. Một số virus khoai tây thuộc nhóm 2	8
Bảng 1.3. Một số virus khoai tây thuộc nhóm 3	9
Bảng 1.4. Ảnh hưởng của bệnh virus đến củ khoai tây.....	10
Bảng 2.1. Danh sách các mẫu thu tại các điểm nghiên cứu	28
Bảng 2.2. Thành phần phản ứng PCR	32
Bảng 2.3. Chu kì nhiệt cho phản ứng PCR	32
Bảng 2.4. Thành phần phản ứng gắn gen vào vector tách dòng.....	33
Bảng 2.5. Thành phần phản ứng PCR đọc trình tự	35
Bảng 2.6. Chu kì nhiệt cho phản ứng PCR đọc trình tự.....	36
Bảng 3.1. Tỷ lệ có triệu chứng bị bệnh ở các cánh đồng khoai tây nghiên cứu	39
Bảng 3.2. Trình tự mỗi đặc hiệu nhân gen CP	40
Bảng 3.3. Trình tự mỗi để thực hiện colony-PCR	45
Bảng 3.4. 19 trình tự trong ngân hàng gen được sử dụng để đưa ra so sánh	51
Bảng 3.5. Hệ số giống nhau và khác nhau về trình tự nucleotide vùng mã hoá của gen CP ở mẫu nghiên cứu với các mẫu trên ngân hàng gen NCBI	54

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Cây khoai tây.....	3
1.1.1. Nguồn gốc, phân loại và giá trị của khoai tây.....	3
1.1.2. Một số đặc điểm sinh học của cây khoai tây.....	5
1.1.3. Tình hình sản xuất khoai tây trên thế giới và ở Việt Nam.....	5
1.2. Virus gây bệnh trên khoai tây.....	6
1.2.1. Các loại virus khoai tây.....	7
1.2.2. Đặc điểm chính của bệnh virus trên khoai tây.....	9
1.3. Virus Y ở khoai tây.....	14
1.3.1. Phân loại.....	14
1.3.2. Cây chủ.....	14
1.3.3. Hình dạng và cấu trúc phân tử.....	16
1.3.4. Quan hệ họ hàng với các potyvirus khác.....	17
1.3.5. Lan truyền của PVY.....	18
1.3.6. Một số đặc điểm của PVY trên khoai tây.....	20
1.4. Tình hình nghiên cứu PVY trên thế giới và ở Việt Nam.....	24
1.4.1. Tình hình nghiên cứu PVY trên thế giới.....	24
1.4.2. Tình hình nghiên cứu PVY ở Việt Nam.....	27
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	28
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	28
2.2. Hóa chất, thiết bị, địa điểm nghiên cứu.....	28
2.2.1. Hóa chất.....	28
2.2.2. Thiết bị.....	28
2.2.3. Địa điểm nghiên cứu.....	29
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	29
2.3.1. Phương pháp thống kê.....	29
2.3.2. Phương pháp tách chiết RNA tổng số.....	30

2.3.3. Phương pháp RT-PCR	31
2.3.4. Phương pháp tinh sạch sản phẩm PCR	33
2.3.5. Phương pháp gắn gen vào vector tách dòng	33
2.3.6. Biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến E.coli DH5 α	34
2.3.7. Phương pháp PCR trực tiếp từ khuẩn lạc (colony-PCR).....	34
2.3.8. Tách chiết plasmid	34
2.3.9. Phương pháp xác định trình tự nucleotide	35
2.3.10. Phương pháp xử lý trình tự gen thu được	36
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	38
3.1. Kết quả khảo sát tỉ lệ nhiễm PVY	38
3.2. Kết quả nhân gen, tách dòng cDNA	40
3.2.1. Kết quả nhân gen bằng kỹ thuật RT-PCR.....	40
3.2.2. Kết quả tinh sạch sản phẩm PCR.....	42
3.2.3. Kết quả biến nạp vector tái tổ hợp vào tế bào khả biến E.coli DH5 α	43
3.2.4. Kết quả chọn lọc plasmid tái tổ hợp bằng colony-PCR.....	44
3.2.5. Kết quả tách plasmid từ các khuẩn lạc của 2 mẫu nghiên cứu	46
3.3. Kết quả so sánh trình tự gen CP-PVY phân lập từ 2 mẫu nghiên cứu với một số trình tự trong ngân hàng gen.....	47
3.3.1. So sánh trình tự nucleotide và acid amine của gen CP-PVY trên 2 mẫu nghiên cứu	47
3.3.2. So sánh trình tự nucleotide gen CP-PVY trên 2 mẫu nghiên cứu với các trình tự gen CP-PVY trên khoai tây đã được công bố trong ngân hàng gen	50
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	55
CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ.....	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	57