

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

**HOÀNG THỊ HẢI YẾN**

**ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐOẠN GEN MÃ HÓA PROTEIN VỎ  
PHÂN LẬP TỪ SOYBEAN MOSAIC VIRUS**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Thái Nguyên - 2014**

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

**HOÀNG THỊ HẢI YẾN**

**ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐOẠN GEN MÃ HÓA PROTEIN VỎ  
PHÂN LẬP TỪ SOYBEAN MOSAIC VIRUS**

**Chuyên ngành: Di truyền học**

**Mã số: 60.42.01.21**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. Chu Hoàng Mậu**

**Thái Nguyên - 2014**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi và một số kết quả cùng cộng tác với các đồng nghiệp trong nhóm nghiên cứu. Các số liệu và kết quả trình bày trong luận văn là trung thực, mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc.

**Tác giả luận văn**

**Hoàng Thị Hải Yến**

**XÁC NHẬN CỦA  
KHOA CHUYÊN MÔN**

**XÁC NHẬN CỦA CÁN BỘ HƯỚNG  
DẪN KHOA HỌC**

**GS.TS. Chu Hoàng Mậu**

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn NCS. Lò Thị Mai Thu, giảng viên Trường Đại học Tây Bắc. Xin cảm ơn tập thể cán bộ Phòng Công nghệ DNA ứng dụng, Phòng thí nghiệm Trọng điểm Quốc gia về Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn Lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện các thí nghiệm của đề tài.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn các thầy cô Bộ môn Di truyền & Sinh học hiện đại, Ban chủ nhiệm Khoa Sinh - KTNN, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã tạo điều kiện thuận lợi, tận tình chỉ bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Cuối cùng, tôi bày tỏ lời cảm ơn đến các đồng nghiệp, bạn bè cùng toàn thể gia đình đã giúp đỡ, động viên tôi trong suốt thời gian học tập.

Thái Nguyên, ngày 03 tháng 06 năm 2014

Tác giả

**Hoàng Thị Hải Yến**

# MỤC LỤC

Trang

Trang phụ bìa	
Lời cam đoan .....	i
Lời cảm ơn .....	ii
Mục lục .....	iii
Danh mục các chữ viết tắt .....	iv
Danh mục các bảng .....	v
Danh mục các hình .....	vi
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Lý do chọn đề tài .....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu .....	2
3. Nội dung nghiên cứu .....	2
<b>Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	<b>3</b>
1.1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ GIÁ TRỊ KINH TẾ CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG .....	3
1.1.1. Đặc điểm sinh học của cây đậu tương .....	3
1.1.2. Giá trị kinh tế của cây đậu tương .....	4
1.1.3. Tình hình sản xuất đậu tương trên thế giới và ở Việt Nam .....	5
1.2. BỆNH KHẢM TRÊN CÂY ĐẬU TƯƠNG VÀ SOYBEAN MOSAIC VIRUS (SMV) .....	8
1.2.1. Bệnh virus hại đậu tương .....	8
1.2.2. Bệnh khảm trên cây đậu tương, kí chủ và cơ chế truyền bệnh .....	11
1.2.3. Triệu chứng của bệnh khảm do SMV .....	13
1.2.4. Biện pháp phòng trừ .....	14
1.3. HỆ GEN CỦA SMV .....	15
1.3.1. Đặc điểm hệ gen của SMV .....	15
1.3.2. Protein vỏ (CP) và gen mã hóa protein vỏ của SMV .....	17

<b>Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	19
2.1. VẬT LIỆU, HÓA CHẤT, THIẾT BỊ, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU .....	19
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu.....	19
2.1.2. Hoá chất và thiết bị.....	19
2.1.3. Địa điểm nghiên cứu.....	19
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	20
2.2.1. Phương pháp thu mẫu.....	20
2.2.2. Các phương pháp sinh học phân tử .....	20
<b>Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	29
3.1. KẾT QUẢ THU THẬP MẪU.....	29
3.2. ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐOẠN GEN <i>CP</i> PHÂN LẬP TỪ SMV .....	30
3.2.1. Khuếch đại đoạn gen <i>CP</i> từ SMV .....	30
3.2.2. Kết quả tách dòng và xác định trình tự đoạn gen <i>CP</i> .....	32
3.3. PHÂN TÍCH SỰ ĐA DẠNG CỦA CÁC DÒNG SMV .....	40
3.3.1. Sự đa dạng của các dòng SMV dựa trên trình tự nucleotide của đoạn gen <i>CP</i> ....	40
3.3.2. Sự đa dạng của các dòng SMV dựa trên trình tự amino acid suy diễn từ đoạn gen <i>CP</i> .....	42
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ</b> .....	45
1. Kết luận.....	45
2. Đề nghị.....	45
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	46

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, TỪ VIẾT TẮT

DNA	: Deoxyribonucleic Acid
RNA	: Ribonucleic Acid
bp	: Cặp bazơ
cDNA	: Sợi bổ sung DNA (Complementary DNA) tổng hợp từ mRNA nhờ Enzym phiên mã ngược
CP	: Coat protein
cs	: cộng sự
DEPC	: Diethyl pyrocarbonate
dNTP	: Deoxynucleotide
Kb	: Kilo bazơ
LB	: Luria Bertani
PCR	: Polymerase chain reaction - Phản ứng chuỗi polymerase
RT-PCR	: Reverse transcriptase - Polymerase chain reaction (PCR ngược)
Rase	: Ribonuclease
SMV	: Soybean mosaic virus
X-gal	: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranoside
IPTG	: isopropylthio- $\beta$ -galactoside
RNAi	: RNA interference
TN	: Thái Nguyên
SL3	: Dòng SMV thu mẫu tại tỉnh Sơn La

## DANH MỤC CÁC BẢNG

**Trang**

Bảng 1.1. Tình hình sản xuất đậu tương ở Việt Nam giai đoạn 2008 - 2012 .....	7
Bảng 1.2. Một số virus gây bệnh trên đậu tương .....	11
Bảng 2.1. Thành phần phản ứng phiên mã ngược tạo cDNA .....	22
Bảng 2.2. Trình tự cặp môi sử dụng trong nghiên cứu .....	23
Bảng 2.3. Thành phần của phản ứng PCR .....	23
Bảng 2.4. Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR .....	23
Bảng 2.5. Thành phần gắn gen <i>CP</i> vào vector tách dòng pBT .....	25
Bảng 2.6. Thành phần phản ứng colony – PCR .....	27
Bảng 2.7. Chu trình nhiệt của phản ứng colony - PCR .....	27
Bảng 3.1. Các vị trí sai khác giữa trình tự đoạn gen <i>CP</i> của SMV dòng SL3 so với trình tự có mã số X63771 .....	36
Bảng 3.2. Các vị trí sai khác giữa trình tự amino acid suy diễn từ gen <i>CP</i> phân lập từ SMV dòng SL3 và trình tự amino acid của protein có mã số CAA45307 .....	38
Bảng 3.3. Các trình tự đoạn gen <i>CP</i> của dòng SMV của Việt Nam và các trình tự có mã số trên GenBank được sử dụng trong phân tích so sánh .....	41
Bảng 3.4. Hệ số tương đồng và hệ số sai khác về trình tự nucleotide của đoạn gen <i>CP</i> của 10 dòng SM .....	41
Bảng 3.5. Hệ số tương đồng và hệ số sai khác về trình tự amino acid của 10 protein suy diễn từ đoạn gen <i>CP</i> của 10 dòng SMV .....	43

## DANH MỤC CÁC HÌNH

Trang

Hình 1.1. Sơ đồ các gen trong hệ gen của SMV.....	16
Hình 1.2. Hình ảnh 3D protein vỏ của SMV .....	17
Hình 2.1. Sơ đồ vector pBT .....	25
Hình 3.1. Hình ảnh lá đậu tương nghi nhiễm SMV thu tại tỉnh Sơn La và tỉnh Thái Nguyên.....	29
Hình 3.2. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose .....	31
Hình 3.3. Hình ảnh điện di sản phẩm colony-PCR từ khuẩn lạc .....	33
Hình 3.4. So sánh trình tự đoạn gen <i>CP</i> (cDNA) của SMV dòng SL3 thu tại tỉnh Sơn La và trình tự gen <i>CP</i> của dòng virus SMV được đăng ký GenBank có mã số X63771 .....	35
Hình 3.5. So sánh trình tự amino acid suy diễn từ gen <i>CP</i> phân lập từ SMV dòng SL3 và trình tự amino acid của protein có mã số CAA45307 trên GenBank .....	36
Hình 3.6. So sánh trình tự amino acid suy diễn của vùng poty-coat của SMV dòng SL3 và trình tự amino acid của vùng poty-coat của protein có mã số CAA45307 trên GenBank .....	37
Hình 3.7. Kết quả so sánh bằng Nucleotide blast của đoạn gen <i>CP</i> của SMV dòng SL3 trên NCBI.....	39
Hình 3.8. Kết quả so sánh bằng Protein blast của trình tự amino acid suy diễn từ gen <i>CP</i> của SMV dòng SL3 trên NCBI.....	40
Hình 3.9. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ của 10 dòng SMV dựa trên trình tự nucleotide của đoạn gen <i>CP</i> .....	42
Hình 3.10. Sơ đồ hình cây thiết lập dựa trên trình tự amino acid suy diễn từ gen <i>CP</i> của 10 dòng SMV .....	43

# MỞ ĐẦU

## 1. Lý do chọn đề tài

Đậu tương (*Glycine max* (L.) Merrill) là cây công nghiệp ngắn ngày, có giá trị kinh tế và hàm lượng dinh dưỡng cao. Tỷ lệ khối lượng các chất khô trong hạt đậu tương có đến 30 - 45% protein với đầy đủ và cân đối các loại axit amin cần thiết, 19 - 25% lipit, 20% glucit, 4 - 5% chất khoáng và các vitamin (B1, B2, C, D, E, K...). Hạt đậu tương cung cấp nguồn dinh dưỡng phong phú cho con người và động vật. Rễ đậu tương có nốt sần chứa vi khuẩn có khả năng cố định nitơ không khí, vì vậy trồng đậu tương góp phần cải tạo đất và bảo vệ môi trường. Với những giá trị to lớn đó, cây đậu tương được đánh giá là cây trồng quan trọng trong sản xuất nông nghiệp và đời sống xã hội nhiều nước trên thế giới. Hiện nay ở Việt Nam, cây đậu tương chiếm một vị trí rất quan trọng trong cơ cấu cây trồng nông nghiệp, được gieo trồng ở cả 7 vùng nông nghiệp trên cả nước với mục đích giải quyết vấn đề thiếu protein cho người và gia súc, xuất khẩu và cải tạo đất.

Những năm gần đây, năng suất đậu tương bình quân của thế giới và của nước ta bị giảm sút đáng kể do nhiều nguyên nhân như tác động xấu của môi trường, sâu bệnh, chất lượng hạt giống, kỹ thuật canh tác... Trong những nguyên nhân trên, các bệnh do nhiễm virus đã gây tổn thất lớn về năng suất, chất lượng đậu tương và hiện nay vẫn chưa có biện pháp hiệu quả để phòng trừ. Đậu tương là cây trồng dễ bị nhiễm nhiều loại virus, như bệnh khảm (Soybean mosaic virus - SMV), bệnh khảm vàng (Bean yellow mosaic virus - BYMV), bệnh xoắn lá và một số bệnh virus khác.

Soybean mosaic virus (SMV) là một trong những loại virus gây bệnh nghiêm trọng nhất ở cây đậu tương. Sau khi nhiễm SMV, đậu tương sẽ suy giảm khả năng sinh trưởng, phát triển, giảm năng suất và chất lượng hạt. Nghiên cứu hệ gen của SMV sẽ cung cấp những gợi ý để xác định các yếu tố quyết định đến