

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

DƯƠNG THỊ LỊCH

**PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN ĐIỆN DI PROTEIN LÁ
CỦA GIỐNG ĐẬU TƯƠNG DT12 NHIỄM BỆNH
GỈ SẮT KHI XỬ LÝ PHỨC ĐẤT HIỀM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN - 2015

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

DƯƠNG THỊ LỊCH

**PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN ĐIỆN DI PROTEIN LÁ
CỦA GIỐNG ĐẬU TƯƠNG DT12 NHIỄM BỆNH
GỈ SẮT KHI XỬ LÝ PHỨC ĐẤT HIẾM**

Chuyên ngành: Di Truyền Học

Mã số: 62 46 01 21

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Vũ Thanh Trà

THÁI NGUYÊN - 2015

LỜI CẢM ƠN

Trước hết tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Vũ Thanh Trà đã tận tình hướng dẫn và truyền thụ cho tôi kiến thức cũng như lòng say mê khoa học trong suốt quá trình học tập và thực hiện khoá luận.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới GS. Chu Hoàng Mậu vì những góp ý quý báu cho quá trình làm luận văn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn các cán bộ trong Viện Bảo Vệ Thực Vật đã nhiệt tình dạy bảo, giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành khoá luận.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn gia đình, bạn bè và người thân - những người đã luôn động viên, khích lệ và là chỗ dựa vững chắc cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Thái Nguyên, ngày 15 tháng 04 năm 2015

Học viên

Dương Thị Lịch

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi cùng giáo viên hướng dẫn. Các nội dung nêu trong luận văn là kết quả làm việc của chúng tôi và chưa được công bố trong bất cứ một công trình nào khác.

Thái Nguyên, ngày 15 tháng 04 năm 2015

Học viên

Dương Thị Lịch

MỤC LỤC

| | |
|---|-----|
| LỜI CẢM ƠN | i |
| LỜI CAM ĐOAN | ii |
| MỤC LỤC | iii |
| DANH MỤC NHỮNG TỪ VIẾT TẮT | iv |
| DANH MỤC BẢNG | v |
| DANH MỤC HÌNH | vi |
| MỞ ĐẦU | 1 |
| 1. Lí do chọn đề tài | 1 |
| 2. Mục tiêu nghiên cứu | 3 |
| 3. Nội dung nghiên cứu | 3 |
| Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU | 4 |
| 1.1. Cây đậu tương và tình hình sản xuất đậu tương | 4 |
| 1.1.1. Cây đậu tương..... | 4 |
| 1.1.2. Tình hình sản xuất đậu tương trên thế giới và Việt Nam | 4 |
| 1.2. Bệnh gỉ sắt đậu tương | 6 |
| 1.2.1. Lịch sử phát triển bệnh | 6 |
| 1.2.2. Triệu chứng..... | 7 |
| 1.2.3. Tác hại | 8 |
| 1.2.4. Tác nhân gây bệnh..... | 8 |
| 1.3. Tính kháng của cây và kích thích tính kháng của cây trồng | 10 |
| 1.3.1. Khái niệm về tính kháng và cơ chế kháng ở cây..... | 10 |
| 1.3.1.1. Khái niệm tính kháng | 10 |
| 1.3.1.2. Cơ chế kháng ở thực vật..... | 10 |
| 1.3.2. Kích thích tính kháng ở cây trồng | 12 |
| 1.4. Tính kháng bệnh gỉ sắt hại đậu tương | 15 |
| 1.5. Một số nghiên cứu ứng dụng kích thích tính kháng bệnh trên cây trồng. 16 | |
| 1.5.1. Những nghiên trên thế giới..... | 16 |
| 1.5.2. Nghiên cứu ứng dụng kích thích tính kháng bệnh trên cây trồng ở Việt Nam | 17 |

| | |
|--|-----------|
| 1.6. Đất hiếm và khả năng kích kháng đối với cây trồng..... | 19 |
| 1.6.1. Các nguyên tố đất hiếm..... | 19 |
| 1.6.2. Tác động của đất hiếm đối với cây trồng..... | 20 |
| 1.6.3. Nghiên cứu ứng dụng đất hiếm đối với cây trồng ở Việt Nam..... | 24 |
| 1.7. Protein ở lá cây đậu tương..... | 26 |
| 1.7.1. Thành phần protein ở lá cây đậu tương..... | 26 |
| 1.7.2. Những nghiên cứu protenin ở lá đậu tương..... | 26 |
| Chương 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU..... | 28 |
| 2.1. Vật liệu..... | 28 |
| 2.1.1. Vật liệu và phương pháp thu thập lá bệnh..... | 28 |
| 2.1.2. Hóa chất..... | 28 |
| 2.1.3. Máy móc và thiết bị..... | 29 |
| 2.2. Phương pháp nghiên cứu..... | 29 |
| 2.2.1. Phương pháp nhiễm bệnh nhân tạo và thu mẫu lá..... | 29 |
| 2.2.2. Tách chiết protein từ lá đậu tương..... | 31 |
| 2.2.3. Xác định hàm lượng protein..... | 32 |
| 2.2.4 Điện di SDS-PAGE..... | 32 |
| 2.2.5. Điện di hai chiều 2DE..... | 33 |
| 2.2.6. Nhuộm protein và phân tích hình ảnh gel..... | 34 |
| 2.2.7. Nhận diện protein trên bản điện di 2DE..... | 34 |
| Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN..... | 36 |
| 3.1. Kết quả gây nhiễm bệnh và kiểm tra tính kháng bệnh..... | 36 |
| 3.2. Kết quả tách chiết protein..... | 38 |
| 3.3. Kết quả điện di SDS-PAGE..... | 39 |
| 3.4. Kết quả điện di 2 chiều 2DE..... | 41 |
| 3.5. Nhận diện các protein lá mẫu DT12 thí nghiệm..... | 43 |
| 3.6. So sánh mức độ biểu hiện của protein lá sau khi xử lý phức đất hiếm.... | 45 |
| KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ..... | 49 |
| 1. Kết luận..... | 49 |
| 2. Đề nghị..... | 49 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO..... | 50 |

DANH MỤC NHỮNG TỪ VIẾT TẮT

| Từ viết tắt | Nghĩa của từ viết tắt |
|-------------|---|
| 2DE | Two dimentional electrophoresis - điện di hai chiều |
| μl | Microliter |
| APS | Ammonium persulfate |
| CHAPS | 3-[(3- Cholamidopropyl)dimethylammonio] |
| DTT | Dithiothreitol |
| EDTA | Ethylendiamine tetra acetic acid |
| ESI-Q TRAP | Electrospray ionization Q Trap - Phương pháp khối phổ sử dụng tính năng bẫy ion kết hợp nguồn ion hóa bằng cách phun chùm điện tử |
| IAA | Indole-3-acetamide |
| IEF | Isoelectric Focusing - Phương pháp điện di theo điểm đẳng điện |
| IPG | Immobilized pH gradient - Dải gradient pH cố định |
| kDa | Kilo Dalton |
| mA | MiliAmpe |
| ml | Mililiter |
| MS/MS | Mass spectrometry/ Mass spectrometry - khối phổ liên tục |
| OD | Optical Density - Mật độ quang học |
| pI | Isoelectric point - Điểm đẳng điện |
| PMSF | Phenylmethanesulphonylfluoride |
| SDS | Sodium dodecyl sulfate |
| SDS-PAGE | SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis -Điện di biến tính trên gel polyacrylamide có SDS |
| TCA | Trichloroacetic acid |
| TEMED | N,N,N',N' Tetramethylethylenediamine |
| V | Volt - Vôn |
| w/v | Weight/volume - Khối lượng/thể tích |

DANH MỤC BẢNG

| | |
|--|----|
| Bảng 1.1. Phương pháp và nồng độ đất hiếm đối với một số cây trồng [32]..... | 21 |
| Bảng 1.2. Ứng dụng phân bón vi lượng đất hiếm | 22 |
| Bảng 2.1. Nguồn gốc, đặc điểm của giống thí nghiệm | 29 |
| Bảng 2.2. Thành phần và các dung dịch đệm SDS-PAGE | 32 |
| Bảng 3.1. Nồng độ protein lá của các giống đậu tương | 38 |
| Bảng 3.2. Kết quả nhận diện của 8 điểm protein trên gel DT12 thí nghiệm .. | 46 |

DANH MỤC HÌNH

| | |
|---|----|
| Hình 1.1. Diện tích trồng và sản lượng cây đậu tương tại Việt Nam (2007 - 2013) | 5 |
| Hình 1.2. So sánh các kiểu hình khác nhau của lá đậu tương khi nhiễm bệnh (A) khi kháng bệnh (B) và khi miễn nhiễm với bệnh (C) ... | 8 |
| Hình 1.3. Hình ảnh lá nhiễm bệnh với 2 vòng bệnh gỉ sắt (A)..... | 9 |
| Hình 1.4. Bảng phân bố các nguyên tố | 20 |
| Hình 2.1. Các giống đậu tương được trồng trên đồng ruộng tại Viện bảo vệ thực vật | 30 |
| Hình 3.1. Đánh giá khả năng nhiễm bệnh và kháng bệnh của giống DT12 36 | |
| Hình 3.2. Kết quả điện di SDS - PAGE protein lá của 3 mẫu..... | 40 |
| Hình 3.3. Kết quả điện di protein lá mẫu DT12 thí nghiệm sau khi xử lý phức đất hiếm | 42 |
| Hình 3.4. So sánh mức độ biểu hiện protein lá đậu tương ở mẫu DT12 đối chứng (A) và mẫu DT12 thí nghiệm (B) | 45 |

MỞ ĐẦU

1. Lí do chọn đề tài

Trong chương trình khung về nghiên cứu khoa học, công nghệ nông nghiệp giai đoạn 2013-2020, đậu tương đã được xác định là một trong những cây công nghiệp chủ lực. Chọn tạo giống đậu tương năng suất cao, chất lượng tốt, kháng sâu bệnh hoặc tăng cường khả năng chống chịu sâu bệnh là một nội dung của chương trình.

Cây đậu tương là một trong những loại cây trồng được biết đến từ rất sớm. Ở trung du Việt Nam đậu tương được trồng từ lâu đời, sớm nhất là các tỉnh thuộc khu vực trung du, miền núi phía Bắc và miền đông Nam Bộ. Đậu tương (*Glycine max* (L.) Merrill) vừa là cây công nghiệp ngắn ngày vừa là cây thực phẩm, thuộc họ đậu, có phổ thích nghi rộng. Hạt đậu tương có giá trị dinh dưỡng cao. Các thực phẩm làm từ đậu tương được xem là một loại "thịt không xương" vì chứa tỷ lệ đạm thực vật dồi dào, có thể thay thế cho nguồn đạm từ thịt động vật. Tại các quốc gia như Nhật Bản, Trung Quốc, 60% lượng đạm tiêu thụ hằng ngày là do đậu tương cung cấp. Hàm lượng chất đạm chứa trong đậu tương cao hơn nhiều so với lượng chất đạm chứa trong các loại đậu khác. Các sản phẩm từ đậu tương được ứng dụng rộng rãi cho nhiều mục đích khác nhau để làm thức ăn, dầu ăn, thực phẩm chức năng, mỹ phẩm, nguyên liệu cho y học và công nghiệp.....

Cây đậu tương có khả năng thích nghi với nhiều vùng sinh thái khác nhau. Với chu kì sinh trưởng phát triển ngắn, đậu tương trồng được nhiều vụ/năm, là cây trồng đóng vai trò quan trọng trong chuyển đổi cơ cấu cây trồng nông nghiệp và tái cơ cấu ngành nông nghiệp theo hướng nâng cao giá trị gia tăng, góp phần khai thác triệt để diện tích gieo trồng và nâng cao hiệu quả kinh tế cho người sản xuất. Mặc dù diện tích gieo trồng đậu tương hàng năm có tăng, tuy nhiên, sản lượng vẫn chưa đáp ứng được nhu cầu tiêu dùng.