

**Tóm tắt khóa luận tốt nghiệp**

**SỬ DỤNG KỸ THUẬT RFLP XÁC ĐỊNH SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA HAI  
DÒNG NẤM *Metarrhizium anisopliae* VÀ *Beauveria bassiana*  
KÝ SINH TRÊN CÔN TRÙNG GÂY HẠI**

**Sinh viên: Trần Như Ngọc**

**Khóa: 2002 – 2006**

Đối tượng nghiên cứu là nấm *Metarrhizium anisopliae* và nấm *Beauveria bassiana* ký sinh trên côn trùng gây hại. Nấm này có tác dụng tiết ra độc tố làm ngừng hoạt động của ruột, phá vỡ các hoạt động bình thường của côn trùng dẫn đến côn trùng bị chết khô

Mục đích đề tài nhằm xác định đoạn gen gây độc *Pr1* của những dòng nấm *Metarrhizium anisopliae* và vùng ITS1 – 5.8S – ITS2 của nấm *Beauveria bassiana* giúp chọn lọc đúng những dòng nấm *Metarrhizium anisopliae* và *Beauveria bassiana* có tính độc đảm bảo hoạt tính diệt côn trùng lâu dài và hiệu quả nhằm phục vụ cho sản xuất nông nghiệp .

**Các nội dung nghiên cứu bao gồm:**

1. Phục hồi các chủng nấm *Metarrhizium anisopliae* và *Beauveria bassiana* trên một số côn trùng gây hại .
2. Dùng kỹ thuật PCR phát hiện gen *protease* (*Pr1*) và vùng ITS1 – 5.8S – ITS2 liên quan đến tính độc của hai dòng nấm *Metarrhizium anisopliae* và *Beauveria bassiana*..
3. Sau khi thực hiện phản ứng PCR ta sử dụng kỹ thuật RFLP thực hiện phản ứng enzyme cắt giới hạn để phát hiện sự đa hình trong phạm vi vùng ITST1-5.8S-ITST2 của nấm *Beauveria bassiana* và vùng *Pr1* của nấm *Metarrhizium anisopliae*.
4. Giải trình tự đoạn gen *Pr1* và vùng ITS1 – 5.8S – ITS2 so sánh trình tự này với các mẫu trên ngân hàng gen thế giới (genbank).

Kết quả thu được như sau:

1. Phục hồi các dòng nấm *Metarrhizium* và *Beauveria* trên môi PGA:  
Sau quá trình phục hồi các nguồn nấm trên môi trường PGA(Potato-Glucose-Agar),kết quả chúng tôi đã thu được một số dòng nấm sau khoảng 7-10 ngày nuôi cấy : RNBT1.7 ,DONG 3.1, BXĐT6, RMTĐ3 ,PULQ2, NNPT7, SR, BRVT6 ,BHBD6 ,SCLLLA1, BDTN4 ,BDQ96 .

2. Nhân sinh khối các dòng nấm *Metarrhizium* và *Beauveria* trong môi trường lỏng Czapek – Dox trong khoảng thời gian từ 3-5 ngày , thu được sinh khối nấm ,rửa lại với nước cất rồi phơi khô , nghiền trong ni tơ lỏng ,cuối cùng chúng tôi được nấm ở dạng khô và chúng tôi bảo quản nấm -80<sup>0</sup>C cho đến khi sử dụng .
3. Tiến hành ly trích nấm đã bảo quản ở trên bằng dịch ly trích ,kết quả trích được DNA của 12 dòng nấm *Metarrhizium* và *Beauveria* ,sau đó là tinh sạch DNA của các dòng nấm *Metarrhizium* và *Beauveria* nhằm tạo sản phẩm sạch ,ít tạp trong sản phẩm PCR.Sau tinh sạch vẫn giữ được DNA của 12 mẫu nấm.
4. Thực hiện phản ứng PCR trên các dòng nấm *Metarrhizium* và *Beauveria* , kết quả thu được sản phẩm PCR của 6 dòng nấm *Beauveria*
5. Phân tích RFLP , thực hiện phản ứng cắt bằng enzyme cắt giới hạn trên 6 dòng nấm *Beauveria* ,enzyme cắt *Alu I*, *Hae III* trên các sản phẩm PCR .kếtquả chưa nhận thấy rõ sự đa dạng di truyền của các dòng nấm do mức độ tương đồng giữa các dòng nấm khá cao .Tuy nhiên thu được kích thước các band trên gel so với Ladder là hoàn toàn trùng khớp với kích thước band DNA chuẩn của các dòng nấm *Beauveria* .