

**ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH ĐỒNG THÁP
TRƯỜNG CAO ĐẲNG CỘNG ĐỒNG ĐỒNG THÁP**



GIÁO TRÌNH

**MÔN HỌC: CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG
BẢO VỆ THỰC VẬT
NGÀNH, NGHỀ: BẢO VỆ THỰC VẬT
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG**

*(Ban hành kèm theo Quyết định Số: /QĐ-CĐCD-ĐT ngày... tháng... năm
2017 của Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Cộng đồng Đồng Tháp)*

Đồng Tháp, năm 2017

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

TaiLieu.vn

LỜI GIỚI THIỆU

Giáo trình Công nghệ sinh học trong Bảo vệ thực vật là môn học nói về những ứng dụng của lĩnh vực công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật. Do đó qua môn học sẽ giúp cho sinh viên nắm các nguyên lý cơ bản về kỹ thuật sử dụng phổ biến trong CNSH thực vật, các bước nhân dòng gen, thiết kế hệ thống vector biểu hiện, cải tiến định hướng gen và chuyển gen vào vật chủ, một số kỹ thuật công nghệ sinh học hiện đại.

Môn học cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản về các loại dịch hại trên cây trồng và những tiến bộ hiện nay trong bảo vệ cây trồng nhờ ứng dụng các biện pháp sinh học phân tử. Sau khi kết thúc môn học, sinh viên có khả năng suy luận đánh giá kết quả của các mối tương tác đa chiều trong tự nhiên dựa theo quan hệ ký sinh – ký chủ - môi trường – con người và chọn lựa phương pháp tiếp cận nghiên cứu các khía cạnh liên quan đến bảo vệ cây trồng.

Nội dung giáo trình được biên soạn với thời gian đào tạo hai tín chỉ gồm: bốn chương

Chương 1: Giới thiệu về công nghệ sinh học

Chương 2: Các kỹ thuật của CNSH hiện đại

Chương 3: Thành tựu của CNSH trong BVTV

Chương 4: Công nghệ chuyển gen

Chân thành cảm ơn! Tất cả thành viên trong hội đồng thẩm định phản biện, đã đóng góp và điều chỉnh nội dung giáo trình được hoàn chỉnh.

Mặc dù đã cố gắng biên soạn để đáp ứng được mục tiêu đào tạo nhưng không tránh được những khiếm khuyết. Rất mong nhận được đóng góp ý kiến của các thầy, cô giáo, bạn đọc để giáo trình hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn.

Đồng Tháp, ngày.....tháng ... năm 2017

Chủ biên

Phan Thị Thanh Tuyền

MỤC LỤC

	Trang
LỜI GIỚI THIỆU	ii
Chương 1. GIỚI THIỆU VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC.....	1
1.1. Khái niệm và định nghĩa về CNSH.....	1
1.2. Sơ lược lịch sử phát triển	1
1.2.1. Giai đoạn thứ nhất	2
1.2.2. Giai đoạn thứ hai	2
1.2.3. Giai đoạn thứ ba	2
1.2.4. Giai đoạn thứ tư	2
1.3. Phân loại CNSH	3
1.4. Thành tựu và xu thế phát triển	5
1.4.1. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp	5
1.4.2. Công nghệ sinh học trong y dược	5
1.4.3. Công nghệ sinh học trong chế biến thực phẩm.....	6
1.4.4. Công nghệ sinh học bảo vệ môi trường	7
Chương 2. CÁC KỸ THUẬT CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC HIỆN Đ.....	9
2.1. Kỹ thuật chuẩn đoán tác nhân gây hại cây trồng	9
2.1.1. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).....	9
2.1.2. Kỹ thuật PCR	10
2.2 Các kỹ thuật công nghệ sinh học sử dụng nghiên cứu trong lĩnh vực bảo vệ thực vật	17
2.2.1 DNA tái tổ hợp	17
2.2.2 Kỹ thuật lai phân tử: RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms)	23
2.2.3 Kỹ thuật RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA).	26
2.2.4 Kỹ thuật SSR: Simple Sequence Repeats.....	27
2.2.5 Kỹ thuật AFLP	29
Chương 3. THÀNH TỰU CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT	33
3.1. Cây trồng kháng thuốc diệt cỏ	33

3.2. Kháng côn trùng gây hại	38
3.3. Kháng virus gây bệnh	41
3.4. Kháng vi khuẩn và nấm	43
Chương 4. CÔNG NGHỆ CHUYỂN GEN	46
4.1. Chuyển gen là gì	46
4.2. Nguyên lý của kỹ thuật chuyển gen	47
4.2.1. Nguyên lý	47
4.2.2. Cơ chế hợp nhất của DNA ngoại lai vào genome	47
4.3. Các phương pháp chuyển nạp gen kháng sâu bệnh	50
4.3.1. Chuyển gene bằng vi khuẩn <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	50
4.3.2. Chuyển gene bằng phương pháp vật lý (súng bắn gen)	52
4.3.3 Chuyển gene bằng phương pháp xung điện	56
PHẦN II: THỰC HÀNH	
Bài 1. Nhân sinh khối nấm đối kháng	63
Bài 2. Một số kỹ thuật công nghệ sinh học hiện đại	64
Bài 3. Tách đỉnh sinh trưởng và vi ghép cây sạch bệnh	65

GIÁO TRÌNH MÔN HỌC

Tên môn học: CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BVTV

Mã môn học: NN445

Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của môn học:

- Vị trí: Là môn học bắt buộc được bố trí trong khung các môn học cơ sở.
- Tính chất: Đây là một trong những môn học kỹ năng quan trọng giúp cho sinh viên có kiến thức cơ bản về CNSH trong lĩnh vực BVTV. Yêu cầu sinh viên cần phải đảm bảo đủ số giờ lý thuyết và thực hành.
- Ý nghĩa và vai trò của môn học: Môn học cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản nhất về công nghệ sinh học và ứng dụng của nó trong ngành BVTV

Mục tiêu của môn học:

- Về kiến thức:
 - + Hiểu được những kiến thức cơ bản nhất về công nghệ sinh học hiện đại và ứng dụng của CNSH trong BVTV
- Về kỹ năng:
 - + Thành thạo thực hiện một số thao tác của CNSH trong BVTV
- Về năng lực tự chủ và trách nhiệm:

Học tập tích cực, chủ động trong quá trình học và có ý thức vận dụng kiến thức vào thực tiễn.

Nội dung của môn học:

Số TT	Tên các chương trong môn học	Thời gian (giờ)			
		Tổng số	Lý thuyết	Thực hành, thí nghiệm, thảo luận, bài tập	Kiểm tra (định kỳ)/Ôn thi, Thi kết thúc môn học
1	Chương 1: Giới thiệu về CNSH 1. Khái niệm và định nghĩa về CNSH	4	4	0	0

	2. Sơ lược lịch sử phát triển 3. Phân loại CNSH 4. Thành tựu và xu thế phát triển				
2	Chương 2: Các kỹ thuật của CNSH hiện đại 1. Kỹ thuật chuẩn đoán tác nhân gây hại cây trồng 2. Các kỹ thuật công nghệ sinh học sử dụng nghiên cứu trong lĩnh vực bảo vệ thực vật Thực hành	12	8	4	
	Kiểm tra	1			1LT
3	Chương 3: Thành tựu của CNSH trong BVTV 1. Cây trồng kháng thuốc diệt cỏ 2. Kháng côn trùng gây hại 3. Kháng virus gây bệnh 4. Kháng vi khuẩn và nấm 5. Thực hành	16	4	12	
4	Chương 4: Công nghệ chuyển gen 1. Chuyển gen là gì 2. Nguyên lý của kỹ thuật chuyển gen 3. Các phương pháp chuyển nạp gen kháng sâu bệnh Thực hành Kiểm tra	7	3	3	1TH
	Ôn thi				
	Thi kết thúc môn học				

	Cộng	40	19	19	2
--	-------------	----	----	----	---

TaiLieu.vn

Chương 1

GIỚI THIỆU VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

NN405-1

Mục đích: giúp cho sinh viên biết các khái niệm và định nghĩa về CNSH, phân loại CNSH, những thành tựu trên thế giới và xu thế phát triển

1.1. Khái niệm và định nghĩa về CNSH

Có nhiều định nghĩa về công nghệ sinh học (Biotechnology), tùy theo từng tác giả khác nhau, nhưng tất cả đều thống nhất về khái niệm cơ bản sau đây:

Công nghệ sinh học là sự sản xuất các sản phẩm trên quy mô công nghiệp, trong đó nhân tố tham gia trực tiếp và quyết định là các tế bào sống (vi sinh vật, thực vật, động vật). Mỗi tế bào sống của cơ thể sinh vật hoạt động trong lĩnh vực sản xuất này được xem như một lò phản ứng nhỏ.

Vào những năm 1980, công nghệ sinh học đã chuyển sang một giai đoạn mới là giai đoạn công nghệ sinh học hiện đại với việc sử dụng các thành tựu của kỹ thuật gen, là lĩnh vực công nghiệp sử dụng hoạt động sinh học của các tế bào đã được biến đổi di truyền. Cơ sở sinh học được áp dụng ở đây bao gồm sinh học phân tử, sinh học tế bào, hóa sinh học, di truyền học, vi sinh vật học, miễn dịch học, cùng các nguyên lý kỹ thuật máy tính...

Có hai cách định nghĩa công nghệ sinh học một cách tổng quát nhất:

- Do UNESCO (1985) định nghĩa: Công nghệ sinh học là công nghệ sử dụng một bộ phận hay tế bào riêng rẽ của cơ thể sinh vật vào việc khai thác sản phẩm của chúng.

- Do Trường Luật Stanford (1995) định nghĩa: Công nghệ sinh học là công nghệ chuyển một hay nhiều gen vào sinh vật chủ nhằm mục đích khai thác sản phẩm và chức năng của gen đó.

Sự khác biệt rõ rệt nhất của hai định nghĩa trên thuộc về đối tượng tác động của công nghệ sinh học: UNESCO xem cơ quan, bộ phận, tế bào và chức năng riêng rẽ của sinh vật là đối tượng, trong khi đó Trường Luật Stanford lại coi gen là đối tượng tác động của công nghệ.

1.2. Sơ lược lịch sử phát triển

Lịch sử hình thành và phát triển công nghệ sinh học trải qua các giai đoạn sau:

1.2.1. Giai đoạn thứ nhất

Đã hình thành từ rất lâu trong việc sử dụng các phương pháp lên men vi sinh vật để chế biến và bảo quản thực phẩm, ví dụ: sản xuất pho mát, dấm ăn, làm bánh mì, nước chấm, sản xuất rượu bia... Trong đó, nghề nấu bia có vai trò rất đáng kể. Ngay từ cuối thế kỷ 19, Pasteur đã chỉ ra rằng vi sinh vật đóng vai trò quyết định trong quá trình lên men. Kết quả nghiên cứu của Pasteur là cơ sở cho sự phát triển của ngành công nghiệp lên men sản xuất dung môi hữu cơ như aceton, ethanol, butanol, isopropanol... vào cuối thế kỷ 19, đầu thế kỷ 20.

1.2.2. Giai đoạn thứ hai

Nổi bật nhất của quá trình phát triển công nghệ sinh học trong giai đoạn này là sự hình thành nền công nghiệp sản xuất thuốc kháng sinh penicillin, khởi đầu gắn liền

với tên tuổi của Fleming, Florey và Chain (1940). Trong thời kỳ này đã xuất hiện một số cải tiến về mặt kỹ thuật và thiết bị lên men vô trùng cho phép tăng đáng kể hiệu suất lên men. Các thí nghiệm xử lý chất thải bằng bùn hoạt tính và công nghệ lên men yếm khí tạo biogas chứa chủ yếu khí methane, CO₂ và tạo nguồn phân bón hữu cơ có giá trị cũng đã được tiến hành và hoàn thiện.

1.2.3. Giai đoạn thứ ba

Bắt đầu từ những năm 50 của thế kỷ 20, song song với việc hoàn thiện các quy trình công nghệ sinh học truyền thống đã có từ trước, một số hướng nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học đã hình thành và phát triển mạnh mẽ nhờ một loạt những phát minh quan trọng trong ngành sinh học nói chung và sinh học phân tử nói riêng. Đó là việc lần đầu tiên xác định được cấu trúc của protein (insulin), xây dựng mô hình cấu trúc xoắn kép của phân tử DNA (1953). Tiếp theo là việc tổng hợp thành công protein (1963-1965) và đặc biệt là việc tổng hợp thành công gen và buộc nó thể hiện trong tế bào vi sinh vật (1980). Chính những phát minh này đã tạo tiền đề cho sự phát triển nhanh chóng của các nghiên cứu cơ bản và ứng dụng thực tế sau đó trong lĩnh vực công nghệ sinh học hiện đại.

1.2.4. Giai đoạn thứ tư

Kể từ 1973, khi những thí nghiệm khởi đầu dẫn đến sự ra đời của kỹ thuật DNA tái tổ hợp được thực hiện và sự xuất hiện insulin-sản phẩm đầu tiên của nó vào năm 1982, và thí nghiệm chuyển gen vào cây trồng năm 1982 thành công thì đến nay công nghệ sinh học hiện đại đã có những bước tiến khổng lồ trong các lĩnh vực nông nghiệp (cải thiện giống cây trồng...), y dược (liệu pháp gen, liệu pháp protein, chẩn đoán bệnh...), công nghiệp thực phẩm (cải thiện các chủng vi sinh vật...)...

Công nghệ sinh học phát triển cho đến ngày nay chủ yếu dựa trên ba công nghệ chính là:

- Công nghệ vi sinh.
- Công nghệ tế bào (nuôi cấy mô và tế bào...).
- Công nghệ sinh học hiện đại, tức công nghệ gen.

Cũng có tác giả gắn quá trình phát triển công nghệ sinh học với ba cuộc cách mạng sinh học.

- Cách mạng sinh học lần thứ nhất (đầu thế kỷ 20): sử dụng quá trình lên men để sản xuất các sản phẩm như acetone, glycerine, citric acid, riboflavin...

- Cách mạng sinh học lần thứ hai (sau thế chiến thứ 2): sản xuất kháng sinh, các sản phẩm lên men công nghiệp như glutamic acid, các polysaccharide, trong đó có thành tựu về đột biến, tạo các chủng vi sinh vật cho năng suất và hiệu quả cao, phát triển các quá trình lên men liên tục và phát hiện phương pháp mới về bất động enzyme để sử dụng nhiều lần...

- Cách mạng sinh học lần thứ ba (bắt đầu từ giữa thập niên 1970): với các phát hiện quan trọng về enzyme hạn chế, enzyme gắn, sử dụng plasmid làm vector tạo dòng, đặt nền móng cho một nền công nghệ sinh học hoàn toàn mới đó là công nghệ DNA tái tổ hợp.

Hai giai đoạn đầu, công nghệ vi sinh và công nghệ tế bào, sử dụng hoạt động sinh học của các tế bào tách biệt, nhưng chưa biến đổi được cấu trúc di truyền của chúng,