

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Họ tên NCS: Phùng Thị Bích Hòa

Tên luận án: “Nghiên cứu khả năng kháng bệnh héo rũ gốc mốc trắng của cây lạc (*Arachis hypogaea* L.) được chuyển gen *chi42*”

Ngành: Sinh lý học thực vật

Mã số: 9420112

Khóa đào tạo: 2019 – 2022

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Nguyễn Hoàng Lộc

2. TS. Nguyễn Xuân Huy

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

NỘI DUNG NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI

- Đã hoàn thiện quy trình tái sinh *in vitro* cho giống lạc L14: khử trùng hạt lạc bằng NaOCl 65% trong 10 phút, tái sinh các loại mẫu cấy khác nhau của cây lạc và tạo cụm chồi trên môi trường MS có bổ sung 4 mg/L BAP và 0,1 mg/L NAA, tạo rễ trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA.

- Đã tối ưu hóa trình tự nucleotide gen *Chi42* hoang dại mã hóa chitinase 42 kDa của *T. asperellum* SH16 cho biểu hiện thực vật. Hai trình tự có bộ ba tối ưu cho biểu hiện ở thực vật đã được đăng ký trên GenBank với các mã số MT083802.1 (*syncodChi42-1*) và MT083803.1 (*syncodChi42-2*). Đã thiết kế thành công các vector biểu hiện thực vật mang lần lượt 3 gen chitinase (*Chi42*, *syncodChi42-1* và *syncodChi42-2*) dưới sự điều khiển biểu hiện của một trong hai loại promoter đặc hiệu rễ pAsy hoặc promoter thường trực dp35S.

- Đã biểu hiện và tinh sạch thành công chitinase 42 kDa ở *E. coli*. Đồng thời đã sử dụng enzyme này để sản xuất thành công kháng thể đa dòng kháng chitinase 42 kDa ở chuột phục vụ cho phân tích Western blot.

- Đã tiếp hợp thành công các vector biểu hiện thực vật mang các gen chitinase 42 kDa vào *A. tumefaciens* LBA4404 và đã biểu hiện tạm thời các gen này ở dạng hoạt động mạnh trong cây *N. benthamiana* bằng kỹ thuật thẩm nhập.

- Đã biến nạp và tuyển chọn được 16 dòng lạc L14 mang các gen *Chi42*, *syncodChi42-1* và *syncodChi42-2* có mức độ biểu hiện chitinase cao. Sự hiện diện của các gen chitinase đã làm tăng hoạt tính kháng nấm *S. rolfisii* của các dòng lạc chuyển gen trong cả điều kiện *in vitro* và *in vivo*.

Thừa Thiên Huế, ngày 14 tháng 03 năm 2023

Người hướng dẫn khoa học		Nghiên cứu sinh
GS.TS. Nguyễn Hoàng Lộc	TS. Nguyễn Xuân Huy	Phùng Thị Bích Hòa

SOCIALIST REPUBLIC OF VIETNAM
Independence - Freedom – Happiness

NEW CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

Ph.D student: **Phung Thi Bich Hoa**

Ph.D. thesis title: **Study on resistance to white mold disease in *chi42* transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.)**

Major: **Plant Physiology**

Code: 9420112

Supervisors:

1. Prof. Dr. Nguyen Hoang Loc

2. Dr. Nguyen Xuan Huy

Training facilities: University of Sciences, Hue University

CONTENTS OF NEW CONTRIBUTIONS

- Established an *in vitro* regeneration protocol for peanut cultivar L14, which involved surface sterilization with 65% NaOCl for 10 minutes, shoot regeneration from various types of explants, shoot multiplication on MS medium containing 4 mg/L BAP and 0.1 mg/L NAA, and rooting of individual shoots on MS medium containing 0.5 mg/L NAA.

- Optimized the nucleotide sequence of the wild-type gene *Chi42* encoding 42 kDa chitinase from *T. asperellum* SH16 for the plant expression. Two sequences have been optimized for the codon usage in plant expression and were registered on GenBank with codes MT083802.1 (*syncodChi42-1*) and MT083803.1 (*syncodChi42-2*). The chitinase genes (*Chi42*, *syncodChi42-1*, and *syncodChi42-2*) with root-specific Asy promoter or constitutive promoter dp35S were successfully cloned in plant expression vectors.

- Successfully expressed and purified 42 kDa chitinase in *E. coli*. Simultaneously, this enzyme was used to successfully produce polyclonal antibody against 42 kDa chitinase in mice and can be used for analyzing Western blot.

- The plant expression vectors containing 42 kDa chitinase genes was transferred into *A. tumefaciens* LBA4404 and the genes were expressed at high levels in *N. benthamiana* via agroinfiltration.

- Sixteen L14 peanut lines carrying *Chi42*, *syncodChi42-1*, and *syncodChi42-2* genes with high chitinase expression were successfully transformed and selected. The presence of chitinase genes in these transgenic peanut lines resulted in increased activity against the pathogenic fungus *S. rolfisii* under both *in vitro* and *in vivo* conditions.

Thua Thien Hue, March 14th 2023

Science Supervisor	Ph.D student
---------------------------	---------------------

Prof. Dr. Nguyen Hoang Loc

Dr. Nguyen Xuan Huy

Phung Thi Bich Hoa