

IV-O-5.3

HỖ TRỢ ĐỊNH DANH CHI NẤM KÝ SINH CÔN TRÙNG ISARIA BẰNG CÂY PHẢ HỆ PHÂN TỬ VỚI TRÌNH TỰ ITS1-5.8S-ITS2

Lê Huyền Ái Thúy, Trần Huỳnh Minh Nhật, Đinh Minh Hiệp, Trương Bình Nguyên

Khoa Công nghệ sinh học - Đại học Mở Tp. Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Nhóm nấm kí sinh côn trùng có rất nhiều ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau điển hình nhất là ứng dụng trong công nghiệp dược, nông nghiệp.... Để nghiên cứu và khai thác có hiệu quả, công tác định danh nấm chính xác rất cần được quan tâm thực hiện. Tuy nhiên, các đặc điểm hình thái như màu sắc, kích thước, hình dáng quả thể của các loài thuộc chi nấm ký sinh côn trùng có khả năng biến đổi rất cao theo điều kiện môi trường. Ngoài ra đặc điểm lưỡng danh của chúng cũng rất khó phân biệt. Điều này khiến việc phân loại nấm ký sinh côn trùng bằng phương pháp giải phẫu hình thái gặp nhiều khó khăn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện các kỹ thuật PCR và giải trình tự vùng ITS1-5.8S-ITS2 rDNA của bộ mẫu đã được định danh sơ bộ bằng hình thái cho phép kết luận chúng thuộc chi *Isaria*, một trong những chi nấm ký sinh côn trùng đã bắt đầu được chú ý ở khả năng ứng dụng và tính đa dạng về mẫu thu thập được. Các trình tự sau giải được hiệu chỉnh (proofreading) cẩn thận bằng cách sử dụng các phần mềm Tin-Sinh học phù hợp (Chromas Pro, Seaview...); đồng thời tại các vùng trình tự “mơ hồ”, bước hiệu chỉnh được thực hiện bằng mắt qua quan sát từng đỉnh huỳnh quang một. Bộ dữ liệu gen bao gồm trình tự ITS của các loài thuộc chi *Isaria* được tạo thành cùng với các trình tự được lựa chọn có chọn lọc trên GenBank sau đó được đồng nhất hóa để loại bỏ các vùng không tương đồng và các khoảng trống bất định trước khi chúng tôi xây dựng các cây phả hệ phân tử với ba phương pháp: maximum parsimony, maximum likelihood, và neighbor-joining. Các cố gắng này đã góp phần khẳng định tính đúng đắn của việc định danh 12 mẫu nấm đều thuộc chi nấm *Isaria* dựa trên hình thái, thêm vào đó 3/12 mẫu được suy đoán định danh đến mức loài.

SUPPORTING CLASSIFICATION OF ISARIA GENUS : A PHYLOGENETIC TREE CONSTRUCTION BY COMPARING ITS REGION

Abstract

The entomopathogenic fungi has many applications, especially in medical manufacture, agriculture... Accurate classification plays an important role in research and exploitation. However, some morphological characters, such as color, size and type of fruit body of species belong to entomopathogenic fungi genus, have a high ability of transformation follow their habitation. Further more, the dual naming character also makes identification difficult. Classification by morphologic surgical method runs into serious problems, consequently. In this study, PCR and sequencing techniques are carried out on ITS1-5.8S-ITS2 rDNA region of samples, which are classified by morphological method belongs to *Isaria* genus, one of entomopathogenic fungi genus has been considered because of their application and collected samples' diversity, recently. Bioinformatics softwares (Chromas Pro, SeaView....) are utilized to proofreading sequences; simultaneously, at unclear regions, eye - monitoring fluorescent peaks one by one is applied for this purpose. Before constructing phylogenetic trees by three methods : maximum parsimony, maximum likelihood and neighbor-joining, proofreaded ITS sequences of *Isaria* genus are aligned with selected sequences on GenBank to cut off non-homologous regions and gaps. This process helps assert that our 12 samples belong to the *Isaria* genus, and 3 of 12 samples are species-level classification.

Email liên hệ: lhathuy@yahoo.com