

CHỌN TẠO ĐÒNG ĐẬU NÀNH CÓ HÀM LƯỢNG PROTEIN CAO, NGẮN NGÀY VÀ NĂNG SUẤT CAO

Võ Công Thành và Nguyễn Hoàng Tú¹

ABSTRACT

The purpose of this research was to breed soybean having high yield, high protein content and short maturity, Seven crosses were carried out among short maturity variety DH4 (75 days) with local varieties. By using molecular methods such as SDS-PAGE we selected six new breeding lines having high protein, ranged from 40.4% to 43.14%, and short maturity, ranged from 86 to 87 days.

Keywords: *SDS-PAGE, soybean breeding, protein, elite pure line*

Title: *Soybean Breeding with high protein content, short maturity and high yield*

TÓM TẮT

Nhằm mục tiêu chọn được các dòng đậu nành mới có hàm lượng protein cao, ngắn ngày và có triển vọng về năng suất. 7 tổ hợp lai đơn giữa giống đậu nành DH4 (TGST 75 ngày) và các giống đậu nành địa phương được thực hiện. Bằng việc kết hợp với các phân tích sinh hóa về phẩm chất hạt và chọn lọc cá thể theo hướng có hàm lượng protein cao bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE, kết quả đã chọn được 6 dòng đậu nành mới, thuần, có hàm lượng protein cao (từ 40,4% đến 43,14%) và thời gian sinh trưởng ngắn (86-87 ngày).

Từ khóa: *SDS-PAGE, đậu nành chọn giống, protein, dòng thuần ưu tú*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long là một vùng trọng điểm lương thực của cả nước. Trong nhiều năm qua, quá trình phát triển độc canh cây lúa đã tạo điều kiện cho mầm bệnh và côn trùng có điều kiện phát triển liên tục. Do đó, việc đưa cây đậu nành luân canh trên đất lúa là một giải pháp tốt giúp nông dân phát huy hiệu quả kinh tế tối đa trên diện tích đất trồng, ngăn chặn sự bộc phát sâu hại, dịch bệnh và có tác dụng cải tạo đất tốt (Mai Quang Vinh, 1996).

Xét về giá trị dinh dưỡng, protein đậu nành chứa một số amino acid thiết yếu có lưu huỳnh mà cơ thể con người không có khả năng tự tổng hợp như methionine và cystein (Murphy, 1985). Do đó, bên cạnh chọn lọc ra các giống đậu nành mới có năng suất cao, các nhà chọn giống ngày càng chú trọng hơn đến việc nâng cao hàm lượng protein có trong hạt đậu nành và các giống này cũng phải có thời gian sinh trưởng thích hợp để có thể áp dụng vào luân canh có hiệu quả.

Bằng việc kết hợp giữa phương pháp lai đơn truyền thống với phân tích các chỉ tiêu sinh hóa về phẩm chất hạt và chọn lọc cá thể ưu tú bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE. Đề tài: “Lai tạo và tuyển chọn dòng đậu nành có hàm lượng protein cao, ngắn ngày và năng suất cao” được thực hiện nhằm mục tiêu: Chọn được 1-3 đến ba giống/dòng đậu nành mới có hàm lượng protein cao (>40%), thời gian sinh trưởng ngắn (<90 ngày) và có tiềm năng năng suất cao.

¹ Bộ môn di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa NN & SHƯĐ, Trường Đại học Cần Thơ

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện

2.1.1 Vật liệu thí nghiệm

- Giống đậu nành cha: TGX342-56D, HẬU GIANG 1, BOONE, TGX 239-17E, TGX814-26D, V74, ĐEN BẮC HÀ.
- Giống đậu nành mẹ: ĐH4.

Bảng 1: Thời gian sinh trưởng và hàm lượng protein ban đầu của các giống cha mẹ

| STT | Tên giống | TGST (Ngày) | Hàm lượng protein (%) | Chi chú |
|-----|-------------|-------------|-----------------------|---------|
| 1 | TGX342-56D | 95-100 | 43,91 | |
| 2 | HẬU GIANG 1 | 91-107 | 42,18 | |
| 3 | BOONE | 90-111 | 47,09 | |
| 4 | TGX 239-17E | 93- 106 | 41,60 | Cây cha |
| 5 | TGX814-26D | 96-100 | 46,68 | |
| 6 | V74 | 91-110 | 42,84 | |
| 7 | ĐEN BẮC HÀ | 91-100 | 43,18 | |
| 8 | ĐH4 | 73-78 | 34,2 | Cây mẹ |

* TGST: Thời gian sinh trưởng

2.1.2 Thiết bị hóa chất

- Hoá chất thí nghiệm bao gồm: Hóa chất điện di protein và phân tích các chỉ tiêu sinh hóa.
- Dụng cụ thí nghiệm: Dụng cụ cho điện di protein và phân tích các chỉ tiêu sinh hóa.
- Bộ dụng cụ lai (kéo, kẹp,...), chậu trồng, khay ương, ...
- Phân bón, thuốc hoá học và một số thiết bị khác.

2.1.3 Thời gian và địa điểm thí nghiệm

- Lai tạo, trồng và phân tích các chỉ tiêu phẩm chất: từ tháng 5/2007 đến tháng 6/2009.
- Địa điểm: Nhà lưới, Phòng Thí Nghiệm Chọn Giống và Ứng Dụng CNSH, Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp & Sinh Học Ứng Dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Nội dung nghiên cứu

Thực hiện các tổ hợp lai đơn (giống ĐH4 làm mẹ và các giống có hàm lượng protein cao làm cha).

Trồng các hạt F1 và thu hạt F2.

Điện di các hạt F2. Tuyển chọn các hạt có hàm lượng protein cao dựa trên kết quả phân tích điện di protein và sau đó trồng các hạt đã được tuyển chọn.

Ở các thế hệ F3, F4, F5, khảo sát các đặc tính nông học để đánh giá và tuyển chọn các cá thể có kiểu hình trội về năng suất. Điện di các cá thể trên, chọn ra các cá thể ưu tú về năng suất và hàm lượng protein để trồng cho các vụ kế tiếp.

Ở thế hệ F6, tiếp tục điện di nhiều cá thể để xác định tính đồng nhất (tính thuần) và định lượng hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl để chọn tạo được các dòng/giống đậu nành mới.

2.2.2 Phương pháp nghiên cứu cụ thể

Điện di protein tổng số theo phương pháp SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis), (Kitamura, 1995).

Phân tích hàm lượng protein hạt lúa theo phương pháp Lowry (1951).

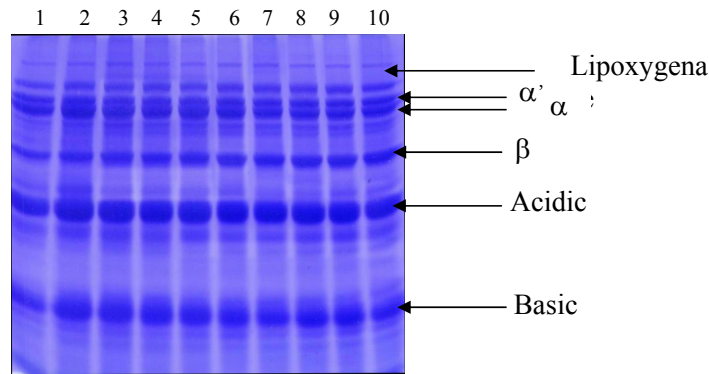
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thế hệ F1

3.1.1 Kết quả phân tích các hạt F1

Các hạt F1 thu được từ các tổ hợp lai (THL) được tiến hành điện di protein nhằm xác định hạt lai và hạt tự thụ.

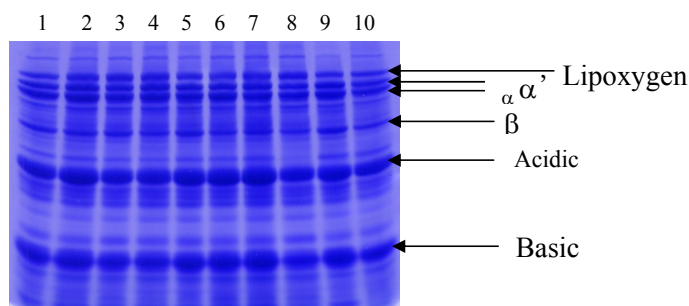
Những cá thể lai được xác định nhờ vào sự biểu hiện các băng protein trong phổ điện di khác với cha mẹ (mức độ đậm nhạt của băng). Trong số những hạt lai, ưu tiên chọn những cá thể có mức độ ăn màu đậm của các băng Acidic, Basic và các băng Lipoxygenase, α' , α , β ăn màu nhạt, vì các băng Acidic, Basic có chứa thành phần amino acid thiết yếu cho con người (Larkins, 1983). Qua phổ điện di tổ hợp lai THL01 (ĐH4 \times TGX342-56D) các cá thể được chọn là giống từ số 3-10, tổ hợp lai THL05 (ĐH4 \times TGX814-26D) cá thể được chọn là giống số 5,6,7,9.



Hình 1: Phổ điện di protein tổng hạt F1 tổ hợp lai THL01

Giếng 1: DH4; Giếng 2: TGX342-56D

Giếng 3-10: hạt F1 tổ hợp lai THL01



Hình 2: Phổ điện di protein tổng hạt F1 tổ hợp lai THL05

Giếng 1: ĐH4; Giếng 2: TGX814-26D

Giếng 3-10: hạt F1 tổ hợp lai THL05

Bảng 2: Ký hiệu tổ hợp lai và số lượng hạt F1 thu được

| STT | Ký hiệu tổ hợp lai | Tổ hợp lai | Số hạt lai F1 thu được |
|-----|--------------------|-------------------|------------------------|
| 1 | THL01 | ĐH4 × TGX342-56D | 10 |
| 2 | THL02 | ĐH4 × HẬU GIANG 1 | 7 |
| 3 | THL03 | ĐH4 × BOONE | 6 |
| 4 | THL04 | ĐH4 × TGX 239-17E | 12 |
| 5 | THL05 | ĐH4 × TGX814-26D | 11 |
| 6 | THL06 | ĐH4 × V74 | 9 |
| 7 | THL07 | ĐH4 × ĐEN BẮC HÀ | 6 |

3.1.2 Kết quả theo dõi các chỉ tiêu nông học cây F1

Những cá thể ưu tú trong cùng một tổ hợp lai được tuyển chọn theo hướng ngắn ngày (< 90 ngày), trội về các thành phần năng suất như tổng số trái/cây, trọng lượng 100 hạt cao, được thể hiện cụ thể qua tổ hợp lai THL01:

Thời gian sinh trưởng ở các dòng đều ngắn ngày (< 90 ngày) nên tuyển chọn cá thể chỉ dựa vào các chỉ tiêu thành phần năng suất như chiều cao cây, tổng trái/cây, trọng lượng 100 hạt. Ba cá thể ưu tú nhất được tuyển chọn là THL 01-03, THL01-04, THL01-09. Tương tự đối với các tổ hợp lai còn lại, những cá thể ưu tú cũng sẽ được tuyển chọn theo hướng năng suất, ngắn ngày.

Nhìn chung, thời gian sinh trưởng của tất cả các dòng đều thể hiện trung gian giữa bố và mẹ, các dòng ngắn ngày nhất thuộc tổ hợp lai THL03 và THL07 (79 ngày). Mức độ biến thiên thời gian sinh trưởng giữa các dòng của 7 tổ hợp lai là 79-86 ngày. Tóm lại, những cây lai đã có sự thừa hưởng đặc tính ngắn ngày của cây mẹ.

Một số chỉ tiêu nông học khác:

- Tổ hợp lai có trị số trung bình chiều cao cây được cải thiện đáng kể là THL01 (73,8 cm) so với ĐH4 (35,5 cm), trong đó dòng THL01-03 (80,5 cm) có chiều cao được cải thiện lớn nhất so với những dòng còn lại.
- Khi chiều cao cây được cải thiện thì tổng số trái/cây cũng được nâng lên ở tất cả các dòng, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Thành Tâm (1983). Dòng có tổng số trái/cây gia tăng đáng kể là THL06-01(110 trái/cây) so với cây mẹ ĐH4 (61 trái/cây) và cây cha V74 (55 trái/cây). Nhìn chung, tính trạng tổng số trái/cây có khuynh hướng lệch về phía cây cha và trọng lượng 100 hạt ở tất

cả các dòng có khuynh hướng tiến về giá trị trung bình của bố mẹ, điều này phù hợp với chứng minh của Nguyễn Hữu Tuấn (1981).

- Ở các thế hệ tiếp theo (F2, F3, F4), tiến hành tuyển chọn theo mục tiêu chọn cá thể theo hướng protein cao (bảng Acidic, Basic đậm và các bảng Lipoxygenase, α' , α , β nhạt), thời gian sinh trưởng dưới 90 ngày và có các chỉ tiêu nông học biểu hiện thành phần năng suất cao.

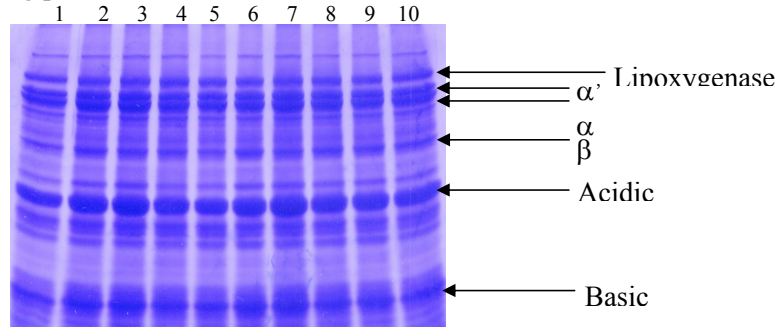
Bảng 3: Một số chỉ tiêu nông học cây F1 được chọn ở 7 tổ hợp lai

| STT | Cha mẹ | Giống/dòng | Chỉ tiêu nông học | | | |
|-----|--------|-------------|-------------------|--------------|-----------------|---------------|
| | | | TGST (ngày) | Cao cây (cm) | Trái/cây (trái) | TL100 hạt (g) |
| 1 | Cha | TGX342-56D | 97 | 85,2 | 132 | 11,7 |
| 2 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 3 | | THL01-04 | 85 | 70,4 | 130 | 20,5 |
| 4 | | THL01-03 | 85 | 80,5 | 110 | 20,6 |
| 5 | | THL01-09 | 85 | 70,5 | 97 | 23,1 |
| | | TB các dòng | 85 | 73,8 | 112,3 | 21,4 |
| 6 | Cha | HẬU GIANG 1 | 91 | 80,5 | 106 | 10,8 |
| 7 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 8 | | THL02-06 | 80 | 31,2 | 118 | 23,1 |
| 9 | | THL02-01 | 80 | 32,5 | 100 | 17,3 |
| 10 | | THL02-02 | 80 | 32,3 | 97 | 16,0 |
| | | TB các dòng | 80 | 32 | 105 | 18,8 |
| 11 | Cha | BOONE | 111 | 50,4 | 62 | 15,9 |
| 12 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 13 | | THL03-02 | 79 | 45,3 | 94 | 16,0 |
| 14 | | THL03-04 | 79 | 35,3 | 87 | 11,0 |
| 15 | | THL03-05 | 79 | 30,3 | 77 | 10,2 |
| | | TB các dòng | 79 | 36,9 | 86 | 12,4 |
| 16 | Cha | TGX 239-17E | 106 | 70,5 | 143 | 12,7 |
| 17 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 18 | | THL04-06 | 86 | 48,3 | 128 | 24,8 |
| 19 | | THL04-08 | 86 | 45,1 | 112 | 22,0 |
| 20 | | THL04-10 | 86 | 35,5 | 98 | 18,1 |
| | | TB các dòng | 86 | 42,9 | 112,6 | 21,6 |
| 21 | Cha | TGX814-26D | 96 | 70,5 | 101 | 13,7 |
| 22 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 23 | | THL05-01 | 85 | 35,2 | 113 | 26,0 |
| 24 | | THL05-07 | 85 | 33,5 | 110 | 24,1 |
| 25 | | THL05-04 | 85 | 32,4 | 93 | 22,2 |
| | | TB các dòng | 85 | 33,7 | 105,3 | 24,1 |
| 26 | Cha | V74 | 91 | 60,1 | 55 | 18,9 |
| 27 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 28 | | THL06-01 | 80 | 38,3 | 110 | 24,3 |
| 29 | | THL06-03 | 80 | 38,5 | 98 | 19,5 |
| 30 | | THL06-06 | 80 | 30,5 | 77 | 14,7 |
| | | TB các dòng | 80 | 35,7 | 95 | 19,5 |
| 31 | Cha | ĐEN BẮC HÀ | 91 | 50,4 | 93 | 11,5 |
| 32 | Mẹ | ĐH4 | 75 | 35,5 | 61 | 20,7 |
| 33 | | THL07-03 | 79 | 38,5 | 84 | 16,8 |
| 34 | | THL07-02 | 79 | 35,2 | 77 | 14,9 |
| 35 | | THL07-01 | 79 | 32,5 | 75 | 15,0 |
| | | TB các dòng | 79 | 35,4 | 78,6 | 15,5 |

* Thời gian sinh trưởng

3.2 Thê hệ F2

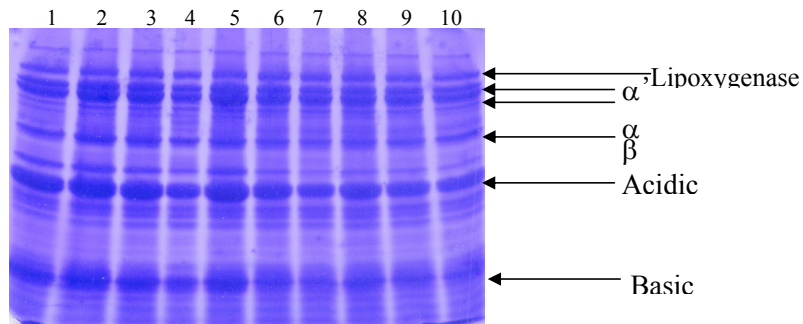
Những cá thể hạt sau khi được tuyển chọn thông qua các chỉ tiêu nông học sẽ được điện di protein tổng (20 hạt/cây). Thông qua phổ điện di tiến hành chọn những cá thể hàm lượng protein cao.



Hình 3: Phổ điện di protein tổng hạt F3 dòng THL01-04-02

Giếng 1: DH4; Giếng 2: TGX342-56D

Giếng 3-10: hạt F3 dòng THL01-04-02



Hình 4: Phổ điện di protein tổng hạt F3 dòng THL05-01-04

Giếng 1: DH4; Giếng 2: TGX814-26D

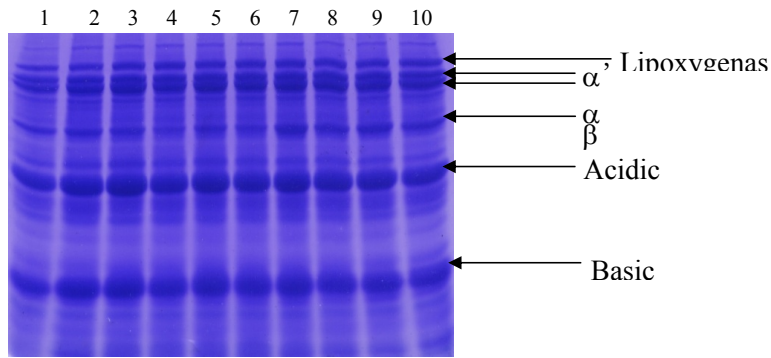
Giếng 3-10: hạt F3 dòng THL05-01-04

3.3 Thê hệ F3

Nhận xét mức độ thuần giữa hai dòng, kết quả điện di protein tổng hạt F3 cho thấy đã có sự cải thiện về độ thuần ở dòng THL01-04-02 được thể hiện qua mức độ đồng đều các băng trên gel. Các cá thể được chọn thuộc giếng số 3,4,6,7,8,9,10.

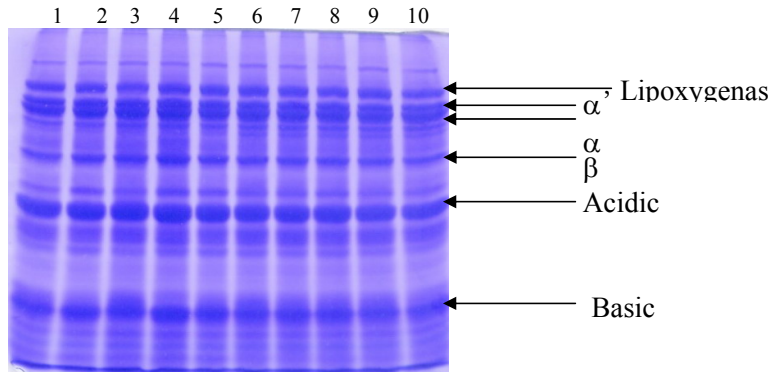
Nhưng với dòng THL05-01-04 được đánh giá là còn phân ly mạnh. Cá thể được chọn thuộc giếng số 3.

Mỗi dòng trong 12 dòng ưu tú chọn ra một cây tốt nhất/dòng và chọn ra 10 hạt ngẫu nhiên trên cây này tiến hành điện di protein tổng. Nhận định tính thuần dựa trên sự đồng nhất về mức độ ăn màu của các băng protein, có ba mức độ đánh giá: thuần, tương đối thuần và không thuần.



Hình 5: Phổ điện di protein tổng hạt F5 dòng THL01-04-02-03

Giếng 1-10: hạt F5 dòng THL01-04-02-03



Hình 6: Phổ điện di protein tổng hạt F5 dòng THL05-01-04-03

Giếng 1-10: hạt F5 dòng THL05-01-04-03

3.4 Thế hệ F4

Qua thế hệ F4 tất cả các dòng có sự cải thiện rất rõ về tính đồng nhất giữa các băng trên gel. Trường hợp hai phổ điện di dòng THL01-04-02-03 và THL05-01-04-03 được xếp vào mức độ tương đối thuần.

Trong mười hai dòng ưu tú, kết quả điện di ghi nhận 5 dòng thuần và 7 dòng tương đối thuần. Do đó, mười hai dòng trên tiếp tục trồng sang thế hệ F5. Đối với những dòng đã thuần thì không cần điện di, chỉ tiến hành điện di kiểm tra độ thuần những dòng còn lại trong tổng số 12 dòng tuyển chọn thế hệ F4.

Những dòng được tuyển chọn thế hệ F4 được nhân lên, mỗi dòng chọn 4 hạt điện di tuyển chọn dòng thuần. Những dòng thuần tuyển chọn được định lượng đạm tổng số theo phương pháp Kejl Dahl, nhằm chọn ra dòng thuần nhất có hàm lượng protein cao (>40%) và tiến hành thí nghiệm so sánh giống.

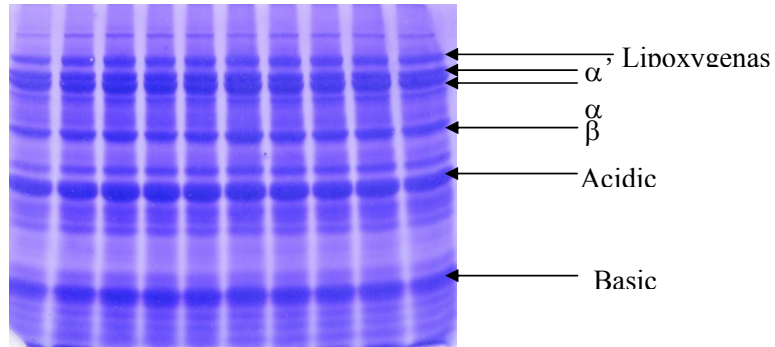
3.5 Thế hệ F5

Phổ điện di protein tổng đánh giá độ thuần thế hệ F5.

Qua mức độ đồng đều giữa các băng trên phổ điện di dòng THL01-04-02-03 và THL01-03-05-08 cho kết quả hai dòng này đã thuần. Ngược lại đối với phổ điện di

dòng THL04-06-01-05 và THL04-08-06-02 cho thấy các băng ăn màu đậm nhạt khác nhau, điều này khẳng định hai dòng này vẫn chưa thuần.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



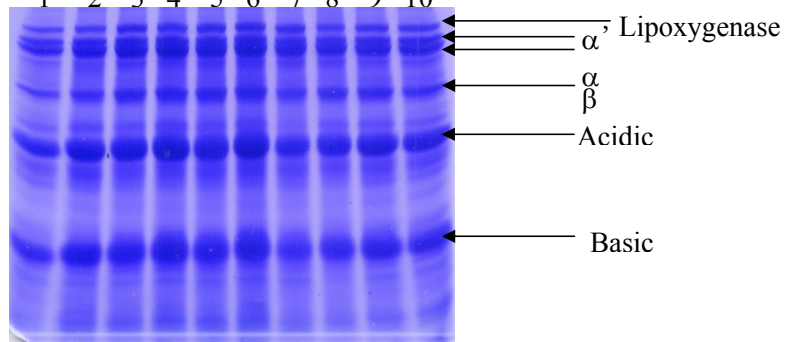
Hình 7: Phổ điện di protein tổng dòng THL01-04-02-03 và THL01-03-05-08

Giếng 1: DH4, Giếng 2: TGX342-56D

Giếng 3-6: hạt F6 dòng THL01-04-02-03

Giếng 7-10: hạt F6 dòng THL01-03-05-08

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



Hình 8: Phổ điện di protein dòng THL04-06-01-05 và THL04-08-06-02

Giếng 1: DH4, Giếng 2: TGX239-17E

Giếng 3-6: hạt F6 dòng THL04-06-01-05

Giếng 7-10: hạt F6 dòng THL04-08-06-02

Qua kết quả đánh điện di ở thế hệ F5 đã xác định được 7 dòng thuần.

Kết quả định lượng đạm tổng số của 7 dòng thuần ở thế hệ F5 như sau”

Bảng 4: Hàm lượng đạm tổng số bảy dòng tuyển chọn thế hệ F5

| STT | Dòng | Đạm tổng số (%) |
|-----|----------------|-----------------|
| 1 | THL01-04-02-03 | 41,5 |
| 2 | THL01-03-05-08 | 42,2 |
| 3 | THL01-09-03-10 | 38,9 |
| 4 | THL04-10-08-02 | 43,1 |
| 5 | THL05-01-04-03 | 40,4 |
| 6 | THL05-07-10-05 | 42,8 |
| 7 | THL06-03-05-06 | 41,5 |
| | TB các dòng | 41,5 |

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 KẾT LUẬN

Kết thúc thế hệ F5 đã chọn được 6 dòng đậu nành ưu tú mới có thời gian sinh trưởng ngắn (<90 ngày) và hàm lượng protein cao (>40%).

- THL01-04-02-03 (TGST: 86 ngày, protein: 41,5%).
- THL01-03-05-08 (TGST: 87 ngày, protein: 42,2%).
- THL04-10-08-02 (TGST: 86 ngày, protein: 43,1%).
- THL05-01-04-03 (TGST: 86 ngày, protein: 40,4%).
- THL05-07-10-05 (TGST: 87 ngày, protein: 42,8%).
- THL06-03-05-06 (TGST: 86 ngày, protein: 41,5%).

4.2 ĐỀ NGHỊ

Tiến hành bố trí thí nghiệm so sánh giống trên 6 dòng đậu nành ưu tú đã được tuyển chọn để đánh giá thành phần năng suất thực tế và so sánh với các giống đang trồng phổ biến ở vùng đồng bằng sông Cửu Long.

Tiếp tục trồng và khảo sát các tổ hợp lai chưa thuần để chọn ra thêm các dòng đậu nành thuần và đạt phẩm chất tốt cung ứng cho quá trình sản xuất trong vùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hartwig, 1973. The Soybean Plant: Botany, Nomenclature, Taxonomy, Domestication, and Dissemination.
- Huỳnh Chí Phương. 2005. Luận Văn Tốt Nghiệp Ngành Công Nghệ Sinh Học. Đa dạng di truyền và chọn giống đậu nành, đậu xanh, đậu trắng tại tỉnh An Giang theo hướng năng suất cao hàm lượng và chất lượng protein bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE.
- Huỳnh Kỳ. 2002. Luận Văn Tốt Nghiệp Ngành Trồng Trọt. Khảo sát đặc điểm protein globulin dự trữ của tập đoàn giống/ dòng đậu nành nhập nội và ưu tú bằng phương pháp điện di SDS-PAGE.
- Tăng Đức Hùng. 2003. Khảo sát quy luật phân ly di truyền tiểu đơn vị β trên hai tổ hợp lai đậu nành MTĐ176 x M60 và MTĐ65 x CM60 bằng kỹ thuật điện di Alkaline- urea- SDS- PAGE. Luận văn tốt nghiệp ngành Trồng Trọt.
- Tôn Hữu Phan. 1996. Studies on inheritance of the β - Conglycinin and glycinin mutant traits in soybean (*Glycine max* L). The Course of the Science of Bioresources-The United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University. Page 1-48; 72-84.
- Võ Công Thành. 2004. Giáo Trình Kỹ Thuật Điện di, Khoa Nông Nghiệp, ĐHTC.