

# TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT HƯNG YÊN: ỨNG DỤNG KỸ THUẬT ĐIỆN DI PROTEIN (SDS-PAGE) TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA

TRẦN TRUNG, HOÀNG THỊ LOAN, NGUYỄN THỊ ĐÔNG, NGUYỄN THỊ THÚY ANH

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên

Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên (tiền thân là Trường Cao đẳng Sư phạm Kỹ thuật I) là trường đại học đa ngành, đa lĩnh vực theo định hướng đào tạo, thực hành nghề, nghiên cứu khoa học, triển khai áp dụng tiến bộ khoa học và công nghệ phục vụ phát triển kinh tế - xã hội. Những năm qua, bên cạnh hoạt động đào tạo, Nhà trường đã quan tâm đẩy mạnh các hoạt động nghiên cứu khoa học, ứng dụng công nghệ (đặc biệt là công nghệ sinh học) phục vụ phát triển kinh tế - xã hội trên địa bàn tỉnh Hưng Yên nói riêng, vùng Đồng bằng sông Hồng nói chung. Thông qua việc thực hiện đề tài độc lập cấp nhà nước (ĐTĐL2012-G36), các nhà khoa học của Trường đã làm chủ được kỹ thuật điện di protein (SDS-PAGE), mở ra triển vọng chọn tạo các giống lúa mới cho năng suất, chất lượng cao trong tương lai.

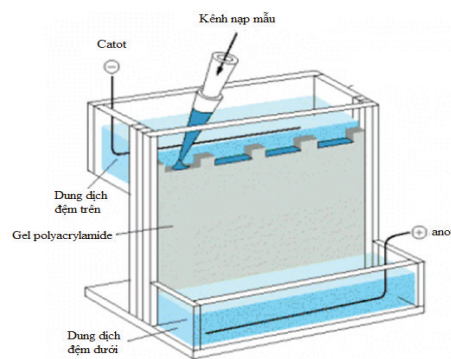
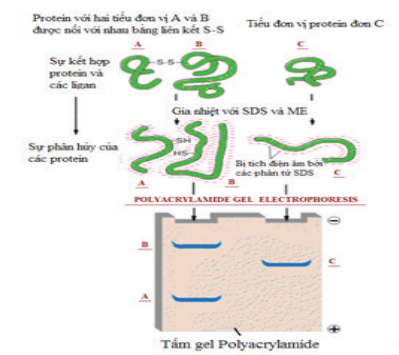
Kỹ thuật điện di là một công cụ phân tích cho phép đánh giá gián tiếp việc dò tìm bộ gen thông qua kỹ thuật phân tích tính biến dị cấu trúc của các enzym và protein. Kết quả so sánh với phương pháp phân tích điện di bằng kỹ thuật điện di isoenzyme cho thấy, kỹ thuật điện di protein phát hiện được mức độ đa dạng của protein cao hơn gấp nhiều lần. Dấu phân tử phát hiện bằng kỹ thuật điện di là độc lập với hình thái và sinh lý của giống nên có nhiều tiện lợi hơn các phương pháp xác định bằng hình thái của giống/loài. Hơn nữa, kỹ thuật điện di protein xác định nhanh, tương đối rẻ tiền, không cần phải trồng cây chờ đến thời điểm thu hoạch và không bị ảnh hưởng do môi trường.

## Cơ sở khoa học và ứng dụng công nghệ điện di protein

SDS là một tác nhân làm biến tính protein và tích điện âm cho các phân tử protein. Anion của SDS kết hợp với phân tử protein bằng dây

hữu cơ kỵ nước phá vỡ cấu trúc ba chiều protein làm chúng duỗi ra, đồng thời làm cho các phần

đuôi polypeptide bậc 1 và nhờ sự có mặt của SDS, tất cả các protein đều được tích điện âm.



Hình 1: nguyên lý chia tách các protein trong môi trường gradient polyacrylamide gel

tử protein tích điện âm bằng vô số điện tích âm của SDS. Trong kỹ thuật SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate - polyacrylamide gel electrophoresis), chất khử 2-mercaptoethanol hoặc DTT (dithiothreitol) thì các tác nhân này sẽ cắt đứt cầu nối disulfit (S-S) nội phân tử và liên phân tử của protein. Vì vậy, tất cả các protein từ cấu trúc bậc 2, 3, 4 được biến đổi thành

## Ứng dụng điện di protein trên thế giới

Theo Paul Gelp (nhà chọn giống người Mỹ), trong thế kỷ XXI, tương lai công nghệ sinh học thuộc về các kỹ thuật proteomics: điện di một chiều SDS-PAGE và kỹ thuật điện di hai chiều. Paul Gelp đã căn cứ vào tổng số các bài báo quốc tế đăng tải cho biết, số lượng nghiên cứu bằng kỹ thuật protein tăng theo

số mũ (e), trong khi các kỹ thuật ADN ngày càng giảm. Nhiều công trình nghiên cứu cho thấy, kỹ thuật điện di SDS-PAGE đã được sử dụng từ rất sớm để nghiên cứu gen waxy điều khiển trên nhiễm sắc thể số 6 nhằm xác định hàm lượng amylose trong hạt lúa. Từ năm 1985, kỹ thuật SDS-PAGE đã được kết hợp với phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) để nghiên cứu sự phân huỷ của amylose trong gạo. Theo một hướng khác, I.A. Khan và cộng sự đã sử dụng kỹ thuật SDS-PAGE để xác lập bản đồ các protein trong lúa ở Pakistan. Trong kết hợp với kỹ thuật GPC(R), kỹ thuật SDS-PAGE đã cho phép Li-Jia Dzu và cộng sự nghiên cứu đặc tính hoá - lý của các mẫu lúa có hàm lượng amylose từ 1,7-55,4%. Các nghiên cứu còn cho thấy, mối quan hệ giữa cấu trúc hạt lúa với hàm lượng amylose chứa trong nó. Nghiên cứu của Hyun-J Chung và cộng sự đã chỉ ra rằng, lúa hạt dài có hàm lượng amylose cao nhất (27,2%), trái lại lúa nếp có hàm lượng amylose thấp nhất (4%).

**Ứng dụng điện di protein ở Việt Nam và tại Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên**

Ở Việt Nam, nhờ kỹ thuật điện di SDS-PAGE đã cho phép nhận dạng các protein có trong hạt lúa, Võ Công Thành, Yutaka Hirata đã nhận dạng được mối quan hệ di truyền giữa lúa hoang, lúa cỏ và phát hiện một loài lúa hoang mới. Có thể nói, trên cơ sở đó, kỹ thuật này đã có những đóng góp quan trọng vào công nghệ lai tạo, tuyển chọn giống lúa dựa trên sự kết hợp các kỹ thuật sinh học như gây đột biến, lựa chọn theo phả hệ, lai tạo theo phương pháp truyền thống, kết hợp với kỹ thuật phân tử mới... góp phần tạo nên một bước tiến mạnh mẽ trong công nghệ chọn

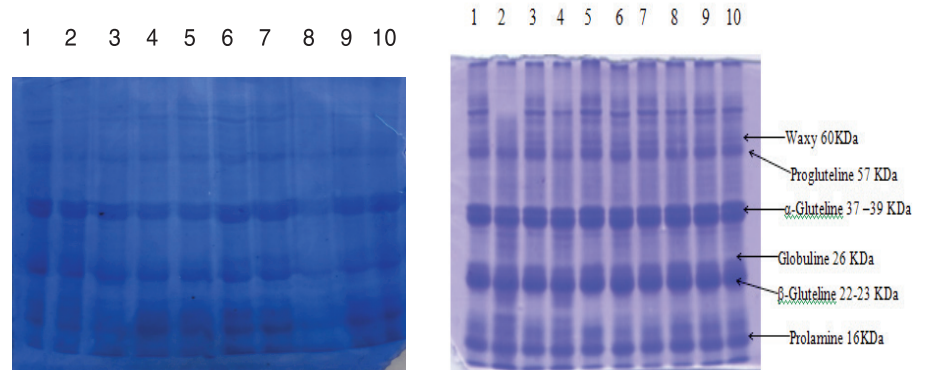
tạo giống lúa mới cho năng suất, chất lượng cao.

Kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE là một kỹ thuật đơn giản, chi phí thấp hơn rất nhiều so với kỹ thuật MAS, đã được sử dụng có hiệu quả trong tuyển chọn giống lúa theo chương trình hợp tác giữa Trường Đại học Cần Thơ và Trường Đại học Nông nghiệp và Kỹ thuật Tokyo (Nhật Bản) tại Bộ môn Di truyền - Giống nông nghiệp (Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng). Nhiều đề tài nghiên cứu cấp trường, cấp bộ đã thành công và được chuyển giao vào thực tiễn canh tác lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long cho hiệu quả cao như: chọn giống nếp bè cho tỉnh Tiền Giang 2003-2005 trên 5.000 ha; tuyển chọn giống lúa nếp cho huyện Phú Tân (An Giang) theo hướng xuất khẩu 2008-2010, trên 5.000 ha; tuyển chọn giống lúa chịu mặn cho tỉnh Bạc Liêu năm 2011, trồng trên 25.000 ha.

Tuy nhiên, các nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam chỉ tập trung

nhu cầu thực tiễn và được sự hỗ trợ của đề tài ĐTDL 2012-G36, từ năm 2012, nhóm các nhà khoa học thuộc Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên đã nghiên cứu triển khai ứng dụng kỹ thuật SDS-PAGE nhằm nâng cao hiệu quả tuyển chọn các giống lúa sau khi xử lý bằng các tác nhân đột biến và lai tạo, đồng thời rút ngắn thời gian tuyển chọn và thời gian chạy điện di từ 7h xuống còn 2h.

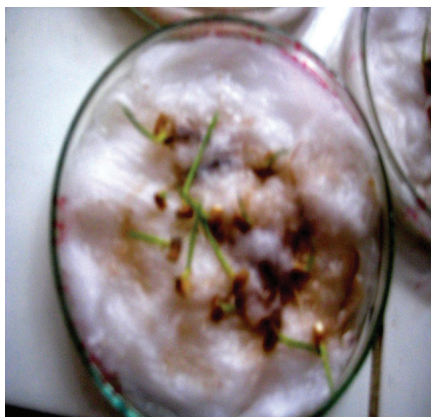
Việc phối hợp kỹ thuật điện di với kỹ thuật sốc nhiệt và các kỹ thuật vật lý, hóa học khác đã tạo ra những ưu thế mới cho phép phân loại chất lượng hạt giống, giúp cho việc tuyển chọn tạo giống có chất lượng cao hơn hẳn các quy trình hiện hành (quy trình mới này sẽ được trình bày rõ ở bài báo khác). Hiện nay, kỹ thuật này đã được thực hiện thành công tại Trường Đại học Sư phạm kỹ thuật Hưng Yên và tại các địa phương Yên Bái, Phú Thọ, Nghệ An, Nam Định đang trồng thử nghiệm.



Hình 2: phổ điện di của giống SKH2.1 ở chế độ 2h và chế độ thường 7h

vào việc ứng dụng của SDS-PAGE, sử dụng kỹ thuật điện di protein là công cụ để phân tích định tính, bán định lượng, lập bản đồ các protein trong lúa... hay căn cứ vào phổ điện di để xác định tính thuần, phân tích phẩm chất lúa... Xuất phát từ

Dựa vào kết quả chạy điện di có thể thấy hạt nào có hàm lượng protein và hàm lượng amylose cao; rồi đem nửa hạt đó gieo trồng và chọn theo mục đích của mình. Hình 3 là hình ảnh cây lúa trồng trên nửa hạt lúa sau khi chạy điện di.



Hình 3: lúa trồng trên nửa hạt

Việc kết hợp kỹ thuật điện di và kỹ thuật sốc nhiệt bước đầu cũng cho một số kết quả đáng khích lệ, ví dụ như: giống J01 cấy vụ xuân năm 2014 cho thời gian sinh trưởng (ST) là 135-140 ngày, khi sử dụng sốc nhiệt cho thời gian ST giảm còn 125 ngày (J01 tử) và năng suất (NS) thực tế đạt 49 tạ/ha, cao hơn nhiều so với đối chứng (xem bảng 1).

Bảng 1: một số chỉ tiêu theo dõi giống J01 ở vụ xuân 2014 tại Khoái Châu (Hưng Yên)

| Chỉ tiêu ST   | Chiều cao cây (cm) | Số nhánh/khóm | Số nhánh hữu hiệu/khóm | Chiều dài bông (cm) |
|---------------|--------------------|---------------|------------------------|---------------------|
| J01 (tử)      | 91                 | 6             | 4,5                    | 23                  |
| J01 (bếp)     | 75                 | 7             | 4,5                    | 19                  |
| J01 đối chứng | 97,2               | 6,8           | 4                      | 22,6                |

| Chỉ tiêu NS   | Số bông/m <sup>2</sup> | Số hạt chắc/bông | P <sub>1.000 hạt</sub> (g) | Năng suất lý thuyết (tạ/ha) | Năng suất thực tế (tạ/ha) |
|---------------|------------------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| J01 (tử)      | 202                    | 130              | 25                         | 65,6                        | 49,0                      |
| J01 (bếp)     | 202                    | 147              | 22                         | 65,3                        | 48                        |
| J01 đối chứng | 180                    | 87               | 25                         | 39,1                        | 27,6                      |

| Thời gian     | Từ gieo - cấy (ngày) | Từ cấy - trổ (ngày) | Từ trổ - thu hoạch (ngày) | Thời gian sinh trưởng (ngày) |
|---------------|----------------------|---------------------|---------------------------|------------------------------|
| J01 (tử)      | 30                   | 65                  | 30                        | 125                          |
| J01 (bếp)     | 30                   | 74                  | 31                        | 135                          |
| J01 đối chứng | 30                   | 79                  | 31                        | 140                          |

| Sâu, bệnh     | Sâu đục thân | Sâu cuốn lá | Rầy | Bệnh đạo ôn | Bệnh bạc lá | Bệnh khô vằn | Bệnh lem lép |
|---------------|--------------|-------------|-----|-------------|-------------|--------------|--------------|
| J01 (tử)      | +            | +           | -   | +           | +++         | +            | +            |
| J01 (bếp)     | +            | +           | -   | +           | +++         | +            | +            |
| J01 đối chứng | +            | +           | +   | +           | +++         | +            | -            |

Từ kết quả trên cho thấy, về khả năng nhiễm các loại sâu bệnh, các công thức thí nghiệm hầu hết đều bị nhiễm sâu đục thân, sâu cuốn lá, đạo ôn, khô vằn nhẹ và đều bị nhiễm bệnh bạc lá nặng. Ở hai công thức đột biến tử và bếp không bị nhiễm rầy nhưng ở công thức đối chứng bị nhiễm rầy nhẹ.

Ngoài ra, việc thử nghiệm giống lúa CTUS2 (giống lúa chịu mặn) đang trồng tại Nam Định và giống lúa SKH2.1 cũng đang được trồng tại một số địa phương khác như Hòa Bình, Phú Thọ cho kết quả khả quan (bảng 2).

Bảng 2: một số chỉ tiêu theo dõi giống SKH2.1 ở vụ xuân năm 2014 trồng tại một số địa phương

| Chỉ tiêu Tỉnh | Giống  | Thời gian sinh trưởng (cm) | Chiều cao cây (cm) | Dài bông (cm) | Sâu bệnh    | Năng suất thực tế (kg/sào) |
|---------------|--------|----------------------------|--------------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Hòa Bình      | SKH2.1 | 128                        | 85-95              | 20,8          | ít phổ biến | 270-278                    |
| Phú Thọ       | SKH2.1 | 125                        | 82-85              | 20,5          | ít phổ biến | 280-288                    |
| Hưng Yên      | SKH2.1 | 133-140                    | 90-91              | 20            | ít phổ biến | 190-230                    |

Đặc biệt, giống lúa SKH2.1 là một giống lúa của Nhận Bản được nhóm nghiên cứu phân tích, tuyển chọn theo phương pháp điện di protein kết hợp với sốc nhiệt đã được tiến hành trồng thử nghiệm tại một số địa phương trên như: Phú Thọ (1,5 ha), Hòa Bình (0,5 ha) và Hưng Yên (1,5 ha)... Kết quả khảo nghiệm cho thấy, giống SKH2.1 có khả năng chịu lạnh, chống chịu sâu bệnh tốt, cứng cây và năng suất trung bình đạt từ 190-288 kg/sào/vụ. Giống SKH2.1 trồng tại Phú Thọ đạt kết quả tốt nhất với thời gian sinh trưởng ngắn là 125 ngày (ngắn hơn từ 3-15 ngày so với trồng tại Hòa Bình và Hưng Yên) và năng suất cũng cao hơn (đạt 280-288 kg/sào). Hiện tại, các nhà khoa học của Trường đang tiếp tục cho trồng thử nghiệm tại một số địa phương

khác trong cả nước để đánh giá khả năng thích nghi với các vùng sinh thái khác nhau.

### Kết luận

Trong chọn tạo giống lúa, kỹ thuật điện di SDS-PAGE giúp phát hiện nhanh những tính chất nổi bật của hạt như mùi thơm, hàm lượng protein, hàm lượng amylose... giúp các nhà khoa học thực hiện công tác chọn lọc, tạo giống lúa thuần, giống lúa mới một cách nhanh nhất, rẻ tiền và hiệu quả cao. Việc các nhà khoa học của Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên ứng dụng kỹ thuật này kết hợp với quá trình sốc nhiệt đã mở ra triển vọng cho việc tuyển chọn và lai tạo các giống lúa mới cho năng suất, chất lượng cao, thích hợp với điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng của Việt Nam, góp phần phát triển nền nông nghiệp hiệu quả và bền vững.

### Tài liệu tham khảo

1. J.E Backer (1987), *Isect Bioche*, **Vol.17, No.1**, pp.34-44.
2. I.A Khan, H Ahmad, S Gun, I Muhammad, M Ilias (2010), *Asian J. of Agricultural Science*, **Vol.2, No.4**, pp.120-123.
3. Li-Jia Dzu, Qiao Quan-Liu, Jeff D Wilson, Ming Hong Gu, Yong-Cheng Shi (2011), *Carbohydrate Polymer*, **Vol.86, No.4**, pp.1751-1759.
4. Hyun-J Chung, Qiang Liu, Laurence Lee, Dongzhi Wei (2011), *Food Hydrocolloids*, **Vol.25, No.5**, pp.968-975.
5. Võ Công Thành, Yutaka Hirata (2002), *Biosphere conservation*, **Vol.4, No.2**.
6. Phạm Văn Phụng và cộng sự, *Ứng dụng công nghệ sinh học phục tráng giống lúa nếp bèo đặc sản*, đề tài cấp Trường Đại học Cần Thơ, 2003-2005.
7. Võ Công Thành, *Phục tráng giống lúa nếp Phú Tân có chất lượng tốt*, đề tài cấp tỉnh, 2008-2010.
8. Tuyển chọn giống lúa chịu mặn cho tỉnh Bạc Liêu năm 2011.