View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Vietnam Academy of Science and Technology: Journals Online

Tạp chí Công nghệ Sinh học **14**(1): 115-120, 2016

PHÂN TÍCH BIỂU HIỆN GEN *GmNAC085* DƯỚI ẢNH HƯỞNG CỦA XỬ LÝ MẤT NƯỚC VÀ MUỐI Ở GIỐNG ĐẬU TƯƠNG CHỊU HẠN TỐT DT51 VÀ CHỊU HẠN KÉM MTD720

Đoàn Ngọc Hiếu, Nguyễn Bình Anh Thư, Hoàng Thị Lan Xuân, Nguyễn Phạm Kim Uyên, Nguyễn Phương Thảo

Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 06.5.2015
Ngày nhận đăng: 20.02.2016

TÓM TẮT

Các yếu tố phiên mã NAC là tác nhân điều hòa quan trọng trong phản ứng của thực vật để đáp ứng với hạn hán và mặn, hai yếu tố stress thẩm thấu ảnh hưởng nhiều nhất tới năng suất cây đậu tương. Trong nghiên cứu trước của chúng tôi, *GmNAC085* đã được xác định là gen điều hòa tiềm năng liên quan đến tính chịu hạn ở cả mô rễ và chồi của đậu tương. Trong nghiên cứu này, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* được tiếp tục đánh giá ở giống đậu tương chịu hạn tốt DT51 và chịu hạn kém MTD720 dưới các điều kiện xử lý stress thẩm thấu khác biệt. Cây 12 ngày tuổi được xử lý mất nước và mặn ở 0 giờ, 2 giờ và 10 giờ. Kết quả cho thấy, khi mất nước, sự biểu hiện của gen tăng rất nhiều lần ở cả chồi và rễ, đặc biệt là ở chồi. Cụ thể, đối với giống DT51, gen có biểu hiện tăng 30 lần ở chồi và 5 lần ở rễ tại 2 giờ; tương tự tăng 260 lần ở chồi và 8 lần ở rễ khi xử lý 10 giờ; ở giống MTD720 là 15 lần và 28 lần ở rễ, 499 lần và 494 lần ở chồi lần lượt tại 2 giờ và 10 giờ. Tương tự, khi xử lý mặn lần lượt tại 2 giờ và 10 giờ, *GmNAC085* biểu hiện tăng cường ở cả mô chồi và rễ. Gen biểu hiện tăng 35 lần và 656 lần ở chồi, 2 lần và 14 lần ở rễ của DT51 sau xử lý 2 giờ và 10 giờ. Trong khi đó, ở MTD720 là 10 lần và 377 lần ở chồi, 5 lần và 26 lần ở rễ. Kết quả này cho thấy *GmNAC085* không chỉ liên quan đến đáp ứng hạn ở cây đậu tương mà còn liên quan đến một số phản ứng đáp ứng tác nhân vô sinh khác. Vì vậy, *GmNAC085* là gen tiềm năng cho phương pháp chuyển gen nhằm tăng tính chống chịu ở đậu tương nói riêng và cây nông nghiệp nói chung.

Từ khóa: *Đậu tương, GmNAC085, hạn hán, mặn, qRT-PCR*

MỞ ĐẦU

Đậu tương (*Glycine max*) là cây công nghiệp quan trọng ở nhiều nước trên thế giới trong đó có Việt Nam (Tran, Nguyen, 2010). Tuy nhiên, ngày nay các yếu tố ngoại cảnh bất lợi đang ngày càng ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất, sản lượng của đậu tương trên toàn thế giới (Thao, Tran, 2012). Đối với đậu tương, stress thẩm thấu bao gồm hạn hán và mặn là những stress vô sinh gây thiệt hại rất lớn. Trong đó, hạn hán ảnh hưởng nghiêm trọng nhất so với các nhân tố vô sinh khác, nó ảnh hưởng xấu đến sinh lý, phát triển của cây và có thể dẫn tới giảm sản lượng hạt đến 40% (Thao, Tran, 2012). Cùng với đó, stress mặn ,cũng là nhân tố chính tác động đến cây trồng bao gồm cả đậu tương, ước tính ảnh hưởng đến khoảng 7% diện tích đất trồng trọt trên toàn thế giới. Mức độ nhiễm mặn trong đất hiện nay là mối lo ngại cho sản xuất nông nghiệp toàn cầu (Nishiyama *et al.*, 2012). Để đáp ứng lại với điều kiện bất lợi, thực vật sẽ hoạt hóa một số cơ chế tự vệ nhằm gia tăng tính chống chịu trước điều kiện bất lợi, trải qua hàng loạt những phản ứng truyền tín hiệu phức tạp, dẫn đến sự kích hoạt của những gen và quá trình đáp ứng cần thiết (Hoang *et al.*, 2014). Quá trình này được điều khiển bởi những yếu tố phiên mã (transcription factors-TFs). Nhiều nghiên cứu đã xác định thành công khoảng 4300 yếu tố phiên mã ở đậu tương, chiếm 7% trên tổng số gen (Mochida *et al.*, 2009). Họ yếu tố phiên mã NAC (NAC TFs), một trong những họ lớn nhất, đặc trưng cho một số loài thực vật trong đó có đậu tương, biểu hiện khả năng điều khiển những phản ứng thích nghi quan trọng của cây đối với yếu tố vô sinh bất lợi (Yamaguchi-Shinozaki, Shinozaki, 2006; Quach *et al.*, 2014). Đậu tương có hơn 150 NAC TFs, trong số đó có ít nhất 38 gen *GmNAC* liên quan đến tính chống chịu hạn (Mochida *et al.*, 2009; Tran & Mochida, 2010). Trong nghiên cứu trước của chúng tôi, giống đậu tương DT51 đã được nghiên cứu đặc điểm sinh lý với khả năng chịu hạn tốt (Thu *et al.*, 2014b). Gen *GmNAC085* được nghiên cứu là gen chịu hạn tiềm năng; trong nghiên cứu của (Le *et al.*, 2011) trên cây đậu tương Williams 82, khi xử lý mất nước thì sự

biểu hiện của gen *GmNAC085* tăng rất mạnh ở cả mô chồi và mô rễ. Trong nghiên cứu trước của chúng tôi trên cây DT51, khi xử lý hạn 15 ngày thì *GmNAC085* cũng biểu hiện vượt trội ở cả rễ (Thao *et al.*, 2013) và chồi (Thu *et al.*, 2014a). Trong nghiên cứu này, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* sẽ được phân tích ở chồi và rễ của giống đậu tương DT51 và MTD720 dưới ảnh hưởng của mất nước và muối trong thời gian xử lý 0, 2 và 10 giờ. Nghiên cứu này sẽ cho thấy vai trò điều hòa của gen *GmNAC085* dưới tác động của yếu tố vô sinh mất nước và stress thẩm thấu khác, cụ thể là stress mặn.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Hạt của giống đậu tương chịu hạn tốt DT51 và chịu hạn kém MTD720 được lấy từ Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Đậu Đỗ.

Chuẩn bị cây, xử lý và thu mẫu

Hạt đậu tương được nẩy mầm và trồng trong chậu nhựa (cao 22 cm, đường kính 30 cm) trong nhà lưới với giá thể là đất mùn, cám dừa và phân bò với tỷ lệ theo khối lượng là 6:2:2. Điều kiện thí nghiệm: nhiệt độ ngày/đêm 30/28°C, chu kỳ chiếu sáng 12/12 h, và độ ẩm tương đối 60 % – 70 %. Cây 12 ngày tuổi được đưa ra khỏi chậu, rửa sạch đất tránh tổn hại đến hệ rễ. Kế tiếp, cây (phần rễ) được ngâm trong nước 2 giờ nhằm hạn chế tình trạng bị sốc khi tiến hành xử lý thí nghiệm. Nhóm cây đối chứng sẽ tiếp tục được ngâm trong nước; đối với nhóm cây xử lý thì sau khi thấm nước bằng giấy lọc, cây sẽ được để mất nước đối với xử lý mất nước hoặc ngâm cây (phần rễ) vào dung dịch muối NaCl 250 mM đối với xử lý mặn trong thời gian 0, 2 và 10 giờ. Quá trình xử lý được thực hiện trong tủ vi khí hậu với các điều kiện như sau: độ ẩm tương đối 60 %, nhiệt độ ngày/đêm 28/20°C,và ánh sáng 200 µmol $m^{-2}s^{-1}$ (Tran *et al.*, 2009). Thí nghiệm được lặp lại ba lần. Sau thời gian xử lý, chồi và rễ của cây được thu nhận ngay trong nitơ lỏng và lưu trữ ở -80^{o}C đến khi tách chiết.

Tách chiết RNA và tổng hợp cDNA

RNA được tách chiết bằng kít GenJET™ Plant RNA Purification Mini (Thermo Scientific) và loại DNA bằng kít RapidOut DNA removal (Thermo Scientific). Hàm lượng RNA được định lượng bằng thiết bị Synergy HTX Multi-Mode Microplate Reader (Biotek). cDNA được tổng hợp bằng kít Maxima First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific); với 1 µg của RNA trong phản ứng có thể tích 20 µl. cDNA được sử dụng cho phản ứng định lượng real-time PCR (RT-qPCR).

Phân tích định lượng RT-qPCR

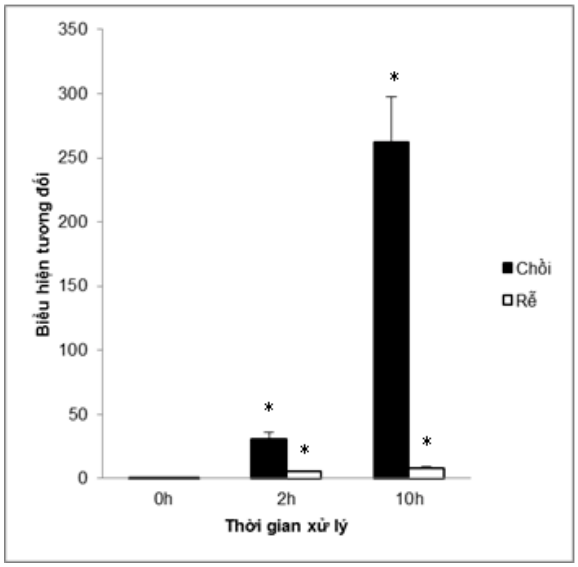
Sử dụng thiết bị Mastercycler® ep realplex (Eppendorf, Hamburg, Germany) cho phản ứng RT-qPCR. Trình tự mồi đặc trưng cho gen *GmNAC085* được sử dụng theo nghiên cứu của Le và đồng tác giả (2011). Nồng độ mồi là 0,4 µM/ mồi và 1 µl cDNA trong thể tích phản ứng là 12 µl. Gen *Fbox* được sử dụng làm gen tham khảo để định lượng tương đối biểu hiện gen đích (Le *et al.*, 2012). Phản ứng RT-qPCR được thực hiện 10 phút ở 95°C, 40 chu kỳ của 95°C (15 giây) và 60°C (1 phút). Để kiểm tra số lượng sản phẩm được khuếch đại, thực hiện phân tích đường cong nóng chảy bằng cách giữ 15 giây ở 95°C trước khi gia tăng từ 60°C lên 95°C. Phương pháp ΔC_t được sử dụng để so sánh tương đối mức độ biểu hiện gen các mô, và giữa các điều kiện xử lý (Thao *et al.*, 2013). Phân tích thống kê có giá trị khi sự biểu hiện của gen *GmNAC085* tăng hoặc giảm tối thiểu 2 lần dưới các thời điểm xử lý. Dữ liệu được chuẩn hóa bằng mẫu đối chứng; phân tích Student's *t*-test (one tail, unpaired, equal variance) với $P<0.05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

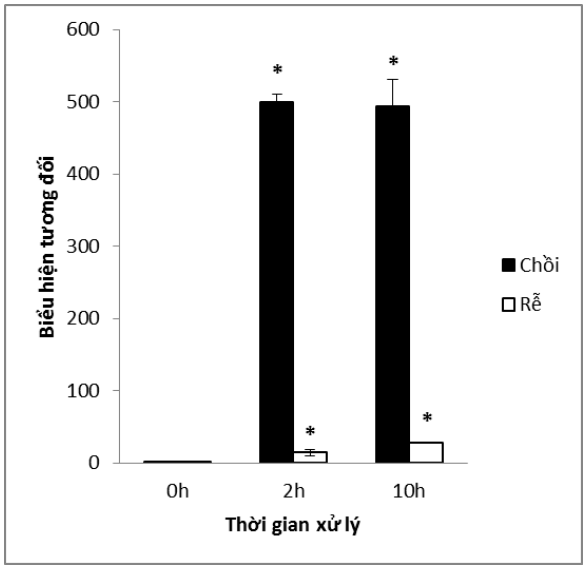
Sự biểu hiện của gen *GmNAC085* trong điều kiện mất nước

Hạn và mất nước là hai kiểu stress khác biệt do đó dẫn đến những ảnh hưởng khác nhau trên cơ chế phản ứng ở cây (Ntuli, 2012). Hơn nữa, việc sử dụng hai giống có kiểu hình đáp ứng stress đối lập là chiến lược để chọn lọc các gen liên quan đến tính đáp ứng stress khác biệt giữa các kiểu hình (Stolf-Moreira *et al.*, 2011). Các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng gen *GmNAC085* là một gen chịu hạn tiềm năng; kết quả này được đưa ra khi nghiên cứu trên cây đậu tương Williams 82 và một số giống khác bao gồm cả DT51. Khi nghiên cứu trên cây đậu tương Williams 82, cây đã được xây dựng bản đồ gen (Schmutz *et al.*, 2010), đây là giống được sử dụng làm cây so sánh và có tính chống chịu hạn trung bình (Thu *et al.*, 2014b). Trong điều kiện xử lý tương đương với thí nghiệm của chúng tôi, theo nghiên cứu của Le và đồng tác giả (2011) trên cây đậu tương Williams 82, sau 10 giờ xử lý mất nước thì sự biểu hiện của gen

GmNAC085 tăng 390 lần ở chồi và 20 lần ở rễ. Kết quả của chúng tôi ở cây DT51 cho thấy rằng dưới ảnh hưởng của xử lý mất nước, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* tăng rất nhiều lần ở cả chồi và rễ, đặc biệt là ở chồi (Hình 1). Cụ thể, sự biểu hiện của *GmNAC085* tăng 30 lần ở chồi và 5 lần ở rễ tại 2 giờ; tại 10 giờ, tăng 261 lần ở chồi và 8 lần ở rễ. Hơn nữa, khi so sánh sự biểu hiện giữa rễ và chồi, ở điều kiện thường, không có sự khác biệt rõ rệt (số lần khác biệt < 2 và P<0.05). Tuy nhiên, tại 2 giờ và cả 10 giờ thì sự biểu hiện ở chồi cao hơn rõ rệt so với rễ (Bảng 1); cụ thể, sự biểu hiện cao ở chồi so với rễ tại 2 giờ và 10 giờ lần lượt là 5,7 lần (P<0.05) và 32,3 lần (P<0.001). So sánh với nghiên cứu ảnh hưởng mất nước của Le và đồng tác giả (2011) trên cây đậu tương Williams 82, xu hướng biểu hiện của gen *GmNAC085* giống với nghiên cứu này của chúng tôi. Xu hướng biểu hiện của gen *GmNAC085* ở cây nhạy cảm MTD720 là tương tự như ở cây chịu hạn DT51; tuy nhiên, so với thời điểm 0 giờ, sự biểu hiện tăng đột biến lên 499 lần và 493 lần sau lần lượt 2 giờ và 10 giờ thí nghiệm (Hình 2). Ở cây nhạy cảm MTD720, thời điểm 0 giờ, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* ở mô chồi cao hơn ở mô rễ 3,4 lần; tiếp tục cao hơn 116 lần và 50 lần ở lần lượt 2 giờ và 10 giờ (Bảng 1). Tuy nhiên, ở điều kiện thường, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* ở cây DT51 cao hơn ở cây MTD720 2,3 lần ở mô chồi và 7,8 lần ở mô rễ (Bảng 2); kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Thu và đồng tác giả (2014b) và Thao và đồng tác giả (2013). Ở chồi, sự biểu hiện cao rõ rệt ở giống MTD720 so với DT51 (7 lần, sau 2 giờ) và không khác biệt đáng kể sau 10 giờ (Bảng 2) cho thấy gen nghiên cứu phản ứng nhanh trong cây nhạy cảm và giảm dần nếu kéo dài thời gian xử lý (Hình 2); điều này có thể giải thích theo nghiên cứu của Stolf-Moreira và đồng tác giả (2011), gen tiềm năng được điều hòa mạnh và tức thời ở cây nhạy cảm khi xử lý ở thời gian ngắn; tuy nhiên khi kéo dài thời gian xử lý thì quá trình đáp ứng mà gen tiềm năng tham gia sẽ biểu hiện vượt trội ở giống có sự chống chịu tốt với stress. Kết quả của nghiên cứu trên là phù hợp với kết quả ở mô chồi. Sự biểu hiện vượt trội của DT51 so với MTD720 ở mô rễ có thể được giải thích bằng sự đáp ứng khác nhau giữa rễ và chồi; biểu hiện của gen nghiên cứu phụ thuộc vào kiểu gen và mô. Sự đáp ứng này có thể rõ ràng hơn khi kéo dài thời gian xử lý.



Hình 2. Biểu hiện tương đối của gen *GmNAC085* ở chồi và rễ của cây đậu tương DT51 trong điều kiện mất nước. Quá trình xử lý mất nước khi cây được 12 ngày tuổi. * Sự biểu hiện gen *GmNAC085* giữa các thời điểm xử lý so với điều kiện thường đáng kể về mặt thống kê với P<0.05; giá trị biểu diễn GEOMEAN ± SE.



Hình 2. Biểu hiện tương đối của gen *GmNAC085* ở chồi và rễ của cây đậu tương MTD720 trong điều kiện mất nước. Quá trình xử lý mất nước khi cây được 12 ngày tuổi. * Sự biểu hiện gen *GmNAC085* giữa các thời điểm xử lý so với điều kiện thường đáng kể về mặt thống kê với P<0.05; giá trị biểu diễn GEOMEAN ± SE.

Có thể nói trong điều kiện xử lý mất nước ngắn (2 giờ) và dài (10 giờ), quá trình điều tiết của gen *GmNAC085* là rõ rệt. Trong khi nghiên cứu ảnh hưởng của hạn (15 ngày) lên cây đậu chịu hạn DT51 thì so với điều kiện thường (không xử lý hạn) kết quả cũng cho thấy gen *GmNAC085* có vai trò điều hòa dương tính trong điều kiện xử lý hạn với sự biểu hiện 5.5 lần ở rễ (Thao *et al.*, 2013) và 4.5 lần ở chồi (Thu *et al.*, 2014a). Như vậy vai trò của gen *GmNAC085* trong đáp ứng với điều kiện mất nước và hạn là rõ rệt.

Sự biểu hiện của gen *GmNAC085* dưới ảnh hưởng của xử lý mặn

Tương tự như kết quả xử lý mất nước, dưới ảnh hưởng của muối, so với 0 giờ, sự biểu hiện của gen *GmNAC085* tại 2 và 10 giờ tăng rõ rệt (Hình 3, 4). Cụ thể, ở giống DT51, sau 2 giờ xử lý, sự biểu hiện của *GmNAC085* tăng 34 lần ở chồi và 2 lần ở rễ; trong khi đó tại 10 giờ, gen biểu hiện tăng cường 656 lần ở chồi và 14 lần ở rễ (Hình 3). Sự biểu hiện của *GmNAC085* ở điều kiện thường (0 giờ), không có sự khác biệt rõ rệt giữa chồi và rễ (P>0.05); tuy nhiên sau thời gian xử lý mặn 2 giờ thì sự biểu hiện *GmNAC085* ở chồi cao hơn rễ (P<0.05) 3 lần; tại 10 giờ, sự biểu hiện ở chồi cao hơn 10 lần so với ở rễ (P<0.05) (Bảng 1). Ở giống MTD720, sau 2 giờ xử lý, sự biểu hiện của *GmNAC085* tăng 9 lần ở chồi và 4 lần ở rễ; tại 10 giờ, gen biểu hiện tăng 377 lần ở chồi và 26 lần ở rễ (Hình 4). Khi so sánh giữa hai mô, sau 10 giờ xử lý, sự biểu hiện ở chồi cao hơn ở rễ 7 lần (Bảng 1). Khi so sánh giữa hai giống, sau 10 giờ xử lý thì sự biểu hiện gen *GmNAC085* ở DT51 cao hơn ở MTD720 2 lần ở cả chồi và rễ (Bảng 2). Một điểm thú vị là sau 2 giờ xử lý, sự biểu hiện gen *GmNAC085* ở giống MTD720 cao hơn ở giống DT51 3 lần; tuy nhiên khi xử lý mặn lâu hơn, cụ thể là 10 giờ thì sự đáp ứng của gen nghiên cứu lại tăng mạnh và cao hơn trong giống DT51. Như vậy có thể nói sự điều hòa đáp ứng của gen *GmNAC085* trong stress mặn và mất nước phụ thuộc vào kiểu mô đáp ứng, kiểu gen và thời gian xử lý.

Đây là nghiên cứu đầu tiên phân tích biểu hiện của gen *GmNAC085* ở cây đậu tương chịu hạn DT51 và MTD720 dưới ảnh hưởng của xử lý mặn. Từ kết quả trên, có thể thấy vai trò quan trọng của gen *GmNAC085* trong đáp ứng với điều kiện mặn kéo dài (hơn 10 giờ).

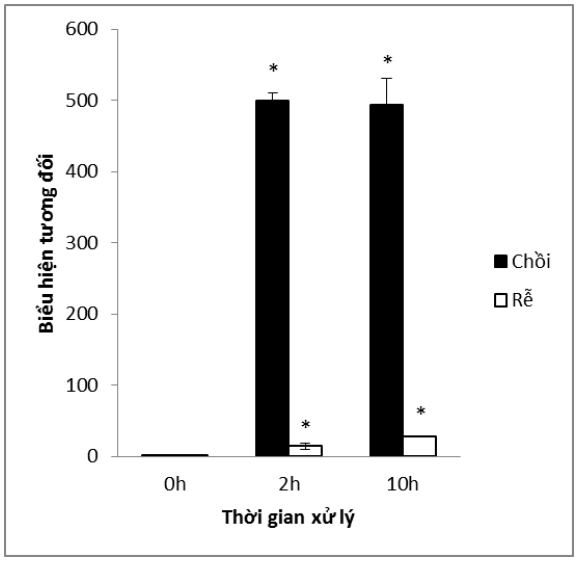
Stress mặn và stress nước (hạn, mất nước, úng) có mối liên hệ chặt chẽ với nhau (Ntuli, 2012). Qua nghiên cứu này, có thể thấy được mối tương quan về sự biểu hiện của *GmNAC085* dưới ảnh hưởng của xử lý mất nước và xử lý mặn; hai stress liên quan đến quá trình thẩm thấu này đều ảnh hưởng lên sự biểu hiện của gen *GmNAC085* với xu hướng tương đương ở cả chồi và rễ, đặc biệt là ở chồi.

Bảng 1. Sự thay đổi về biểu hiện của gen *GmNAC085* ở chồi so với rễ khi xử lý mất nước và mặn ở 0, 2 và 10 giờ. Xử lý được thực hiện trên cây 12 ngày tuổi. Số liệu in đậm cho thấy khác biệt đáng kể về mặt thống kê với P<0.05; * P<0.001.

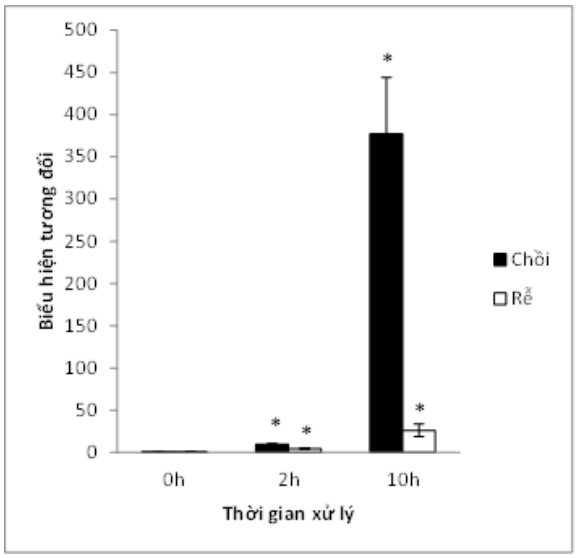
Thời gian xử lý	**0 giờ**		**2 giờ**		**10 giờ**	
Giống	DT51	MTD720	DT51	MTD720	DT51	MTD720
Xử lý mất nước	1,0	**3,4**	**5,7**	**116,7***	**32,3***	**50.0***
Xử lý mặn	1,3	1,3	**3,4**	0,5	**10,4**	**7,0**

Bảng 2. Sự so sánh về biểu hiện của gen *GmNAC085* ở giống DT51 so với MTD720 khi xử lý mất nước và mặn ở 0, 2 và 10 giờ. Xử lý được thực hiện trên cây 12 ngày tuổi. Số liệu in đậm cho thấy khác biệt đáng kể về mặt thống kê với P<0.05; * P<0.001.

Thời gian xử lý	**0 giờ**		**2 giờ**		**10 giờ**	
Mô xử lý	Chồi	Rễ	Chồi	Rễ	Chồi	Rễ
Xử lý mất nước	**2,3**	**7,8**	**-7,0**	**2,9**	1,2	**2,0**
Xử lý mặn	1,5	1,4	1,9	**-3,4**	**2,9**	**2,0***



Hình 3. Biểu hiện tương đối của gen *GmNAC085* ở chồi và rễ của cây đậu tương DT51 trong điều kiện xử lý mặn. Nồng độ NaCl là 250 mM. Xử lý mặn trên cây 12 ngày tuổi. * Sự biểu hiện gen *GmNAC085* giữa các thời điểm xử lý so với điều kiện thường đáng kể về mặt thống kê với $P<0.05$; giá trị biểu diễn GEOMEAN ± SE.



Hình 4. Biểu hiện tương đối của gen *GmNAC085* ở chồi và rễ của cây đậu tương MTD720 trong điều kiện xử lý mặn. Nồng độ NaCl là 250 mM. Xử lý mặn trên cây 12 ngày tuổi. *Sự biểu hiện gen *GmNAC085* giữa các thời điểm xử lý so với điều kiện thường đáng kể về mặt thống kê với $P<0.05$; giá trị biểu diễn GEOMEAN ± SE.

KẾT LUẬN

Sự biểu hiện của gen *GmNAC085* dưới ảnh hưởng của tress mất nước và mặn là rõ rệt, đặc biệt là ở chồi. Do đó, cùng với các nghiên cứu trước, tiềm năng trong chống chịu hạn của gen *GmNAC085* là rõ rệt. Đồng thời, vai trò của nó trong stress vô sinh khác, trong nghiên cứu này là stress mặn, cho thấy đây có thể là một gen tiềm năng giúp cây chống chịu không chỉ riêng hạn hán.

Lời cảm ơn: *Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Quốc tế, ĐHQG - HCM trong đề tài mã số T2014-08-BT, SV2014-BT-05 và SV2014-BT-09.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hoang XLT, Nguyen ATB, Thao NP, Tran LSP (2014) Transcription factors in abiotic stress responses - Their potentials in crop improvement. In: Ahmad, P. (Ed.), *Improvement of crops in the era of climatic changes. Springer, New York*.

Le DT, Aldrich DL, Valliyodan B, Watanabe Y, Van Ha C, Nishiyama R, Guttikonda SK, Quach TN, Gutierrez-Gonzalez JJ, Tran LSP (2012) Evaluation of candidate reference genes for normalization of quantitative RT-PCR in soybean tissues under various abiotic stress conditions. *PloS One* 7: 1-10.

Le DT, Nishiyam R, Watanabe Y, Mochida K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LSP (2011) Genome-Wide survey and expression analysis of the plant-specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress. *DNA Res* 18: 263–276.

Mochida K, Yoshida T, Sakurai T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LSP (2009) *In silico* analysis of transcription factor repertoire and prediction of stress responsive transcription factors in soybean. *DNA Res* 16: 353–369.

Nishiyama R, Le DT, Watanabe Y, Matsui A, Tanaka M, Seki M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LSP (2012) Transcriptome analyses of a salt-tolerant cytokinin-deficient mutant reveal differential regulation of salt stress response by cytokinin deficiency. *PloS One* 7: e32124.

Ntuli TM (2012) Drought and desiccation-tolerance and sensitivity in plants, botany. In Tech, Rijeka, Croatia.

Quach TN, Tran LSP, Valliyodan B, Nguyen HTM, Kumar R, Neelakandan AK, Guttikonda KS, Sharp RE, Nguyen HT (2014) Functional analysis of water stress-responsive soybean *GmNAC003* and *GmNAC004* transcription factors in lateral root development in *Arabidopsis*. *PLoS ONE* 9: e84886.

Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma J, Mitros T (2010) Genome sequence of the palaeopoly ploid soybean. *Nature* 463: 178–183.

Stolf-Moreira R, Lemos EM, Carareto-Alves L, Marcondes J, Pereira S, Rolla AP, Pereira R, Neumaier N, Binneck E, Abdelnoor R, de Oliveira MN, Marcelino F, Farias JB, Nepomuceno A (2011) Transcriptional profiles of roots of different soybean genotypes subjected to drought stress. *Plant Mol Biol Rep* 29: 19-34.

Thao NP, Thu NBA, Hoang XLT, Ha CV, Tran LSP (2013) Differential expression analysis of a subset of drought-responsive *GmNAC* ,s in two soybean cultivars differing in drought tolerance. *Int J Mol Sci* 14: 23828-23841.

Thao NP, Tran LSP (2012) Potentials toward genetic engineering of drought-tolerant soybean. *Crit Rev Biotechnol* 32: 349-362.

Thu NBA, Hoang XLT, Doan H, Nguyen TH, Bui D, Thao NP, Tran LSP (2014a) Differential expression analysis of a subset of *GmNAC* genes in shoots of two contrasting drought-responsive soybean cultivars DT51 and MTD720 under normal and drought conditions. *Mol Biol Rep* 41: 5563–5569.

Thu NBA, Quang NT, Xuan HTL, Thao NP, Tran LSP (2014b) Evaluation of drought tolerance of the Vietnamese soybean cultivars provides potential resources for soybean production and genetic engineering. *Biomed Res Int* 2014.

Tran LSP, Mochida K (2010) Identification and prediction of abiotic stress responsive transcription factors involved in abiotic stress signaling in soybean. *Plant Signal Behav* 5: 255–257.

Tran LSP, Nguyen HT (2010) Future biotechnology of legumes. Nitrogen fixation in crop production: 265–307.

Tran LSP, Quach TN, Guttikonda SK, Aldrich DL, Kumar R, Neelakandan A, Valliyodan B, Nguyen HT (2009) Molecular characterization of stress-inducible GmNAC genes in soybean. *Mol Genet Genomics* 281: 647-664.

Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2006) Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance todehydration and cold stresses. *Annu Rev Plant Biol* 57: 81-03.

EXPRESSION ANALYSIS OF *GmNAC085* GENE UNDER DEHYDRATION AND SALT TREATMENT IN DROUGHT-TOLERANT DT51 AND DROUGHT-SENSITIVE MTD720 SOYBEAN CULTIVARS

Doan Ngoc Hieu, Nguyen Binh Anh Thu, Hoang Thi Lan Xuan, Nguyen Pham Kim Uyen, Nguyen Phuong Thao✉

International University, Vietnam National University, Ho Chi Minh City

SUMMARY

NAC transcription factors (NAC TFs) are important regulatory factors in plant response to drought and salt which are the two osmotic stresses seriously affecting plant production. In our previous studies, *GmNAC085* was confirmed as a drought-responsive gene in shoots and roots of soybeans. In this study, expression of *GmNAC085* under osmotic stresses was examined in drought-tolerant soybean DT51. 12-day-old plants were dehydrated or treated with salt for 0 h, 2 h and 10 h. Our results shown that under dehydration, the expression of *GmNAC085* significantly increased in both shoots and roots, especially in shoots. More specifically, its expression was elevated 30-fold in shoots and 5-fold in roots at 2 h; at 10 h, its expression was elevated 260-fold in shoot and 8-fold in root of DT51; in MTD720, expression was elevated 15-fold and 28-fold in root, 499-fold and 494-fold in shoot tissues at 2h and 10h, respectively. Similarly, under salt treatment at 2h and 10h, the expression of *GmNAC085* was up-regulated in both shoots and roots. The expression of *GmNAC085* was elevated 35-fold and 656-fold in shoots, 2-fold and 14-fold in root of DT51, respectively; meanwhile, in MTD720, expression was elevated 10-fold and 377-fold in shoots, 5-fold and 26-fold in roots. Therefore, *GmNAC085* was considered to be not only drought-responsive but also abiotic stress-responsive. *GmNAC085* is a potential gene for genetic engineering to improve stress tolerance in soybean and other crops.

Keywords: *Drought, GmNAC085, RT-qPCR, salt, soybean*

✉ *Author for correspondence:* Tel: *+84-974695555*; E-mail: *npthao@hcmiu.edu.vn*