

# TÌM DẤU CHỈ THỊ PROTEIN TƯƠNG QUAN VỚI HÀM LƯỢNG PROTEIN TRÊN HẠT ĐẬU NÀNH BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI SDS-PAGE

Võ Công Thành, Nguyễn Hoàng Tú và Quan Thị Ái Liên<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*In order to increase protein content of CanTho University soybean germplasm, 166 accessions were analyzed by Kjeldahl and SDS-PAGE methods. Results showed that introduced accession had protein content ranged from 34,83% to 47,09% while domestic ones ranged 31,29% to 43,36%. SDS-PAGE method could prove that accessions analyzed were pure line or not. The coefficient correlation among protein content,  $\beta$  basic subunits and acidic subunits was positive. The accessions: BA VI and BOONE proved that they were pure lines and high protein content. They should be used to be parents in future crosses.*

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

**Title:** Detected out protein marker in relation to soybean protein content by SDS-PAGE method

## TÓM TẮT

*Nhằm tuyển chọn giống đậu nành theo hướng nâng cao hàm lượng protein, đánh giá hàm lượng protein của 166 giống đậu nành bằng phương pháp Kjeldahl và phương pháp điện di protein SDS-PAGE. Kết quả ghi nhận được giống đậu nành ngoại nhập có khoảng biến thiên hàm lượng protein (34,83 – 47,09%) cao hơn giống nội địa (31,29– 43,36%). Phương pháp điện di SDS-PAGE cho phép đánh giá được độ thuần các giống đậu nành đã được khảo sát và mối tương quan giữa hàm lượng protein với tiểu đơn vị  $\beta$ , acidic và basic là tương quan thuận, chọn được giống đậu nành: BA VI và BOONE ngoài mức độ thuần còn có hàm lượng protein rất cao.*

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

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu nành là một trong những cây cung cấp nguồn bột protein dẫn đầu thế giới. Protein trong hạt đậu nành không những nhiều về hàm lượng mà còn có đầy đủ và cân đối các loại acid amin cần thiết; đặc biệt là giàu lysine và tryptophane, hai loại acid amin này có vai trò quyết định đối với sự tăng trưởng của cơ thể trẻ em và gia súc. (Nguyễn Thị Hiền, 2004).

Vì vậy, ngoài yếu tố năng suất thì vấn đề cải thiện phẩm chất hàm lượng protein trong hạt đậu nành gây được sự quan tâm cho các nhà tuyển chọn giống. Tuy nhiên, hầu hết các giống đậu nành có hàm lượng protein cao thường cho năng suất thấp hơn các giống thương mại. Để có được giống đậu nành có hàm lượng protein cao và ổn định. Các nhà chọn giống cần phải dựa vào những mối tương quan giữa hàm lượng protein với các tiểu đơn vị protein.

<sup>1</sup> Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, khoa NN & SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

Với mục đích tìm được giống đậu nành như mong muốn đề tài “Tìm Dấu Chỉ Thị Protein Tương Quan Với Hàm Lượng Protein Trên Hạt Đậu Nành Bằng Phương Pháp Điện Di SDS-PAGE” nhằm phục vụ cho công tác chọn giống đậu nành theo hướng nâng cao hàm lượng protein.

## **2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### **2.1 Phương Tiện**

Thời gian thí nghiệm: Tháng 10/2006 - tháng 6/2007.

Địa điểm thí nghiệm: Phòng Dinh Dưỡng Gia súc, Phòng Sinh Học Ứng Dụng Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ.

Vật liệu phân tích: 166 giống đậu nành (giống nội địa và giống ngoại nhập). (phụ lục 1).

Dụng cụ: dụng cụ phân tích hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl, dụng cụ chạy điện di.

Hóa chất: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc, NaOH, acid boric, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Ure tinh khiết, Hydroxy aminomethan (Tris), sodium dodecyl sulfate (SDS), 2-mercaptoethanol (ME),...

### **2.2 Phương Pháp**

#### *2.2.1 Nội dung nghiên cứu*

Phân tích hàm lượng protein của 166 giống đậu nành bằng phương pháp Kjeldahl. Từ kết quả chọn ra:

- Ngoại nhập: Chọn 10 giống (5 giống có hàm lượng protein cao nhất, 5 giống có hàm lượng protein thấp nhất).
- Nội địa: Chọn 10 giống (5 giống có hàm lượng protein cao nhất, 5 giống có hàm lượng protein thấp nhất).

Sau đó đem điện di:

Đánh giá độ thuần bằng cách lấy 5 hạt cùng một giống, chạy điện di 5 giếng khác nhau. Sau đó chọn ra một hạt, tương tự 19 giống còn lại. Cuối cùng chạy chung 2 gel:

- Gel (1) 10 giống ngoại nhập đã chọn.
- Gel (2) 10 giống nội địa đã chọn.

Tìm mối tương quan giữa hàm lượng protein với các tiêu đơn vị

#### *2.2.2 Phương pháp nghiên cứu cụ thể*

Phân tích hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl: là phương pháp tiêu chuẩn dùng để xác định hàm lượng Nitrogen được phát triển từ thế kỷ 18.

Phương pháp điện di protein SDS – PAGE (Bộ nông nghiệp Nhật, 1989).

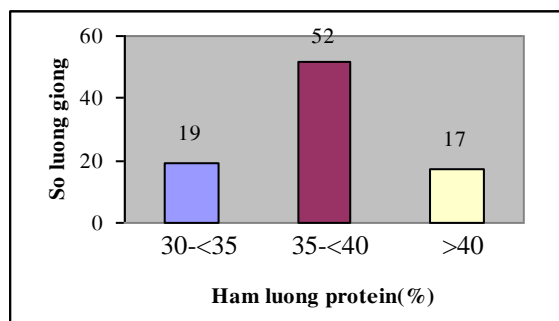
### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Hàm lượng protein đậu nành

Qua phương pháp Kjeldahl, kết quả hàm lượng protein tổng số như sau:

##### 3.1.1 Các giống nội địa

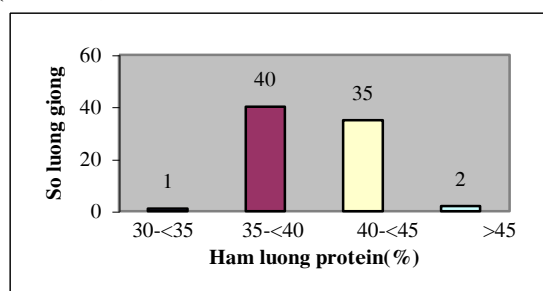
Trong 88 giống nội địa phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng protein trong khoảng từ 31,29% - 43,36%, số lượng giống tập trung nhiều nhất trong khoảng từ 35 - <40% có 52 giống. Mức thấp nhất 30 - <35% có 19 giống, 17 giống có mức hàm lượng >40% (Hình 1).



Hình 1: Sự phân bố 88 giống đậu nành nội địa theo nhóm hàm lượng protein

##### 3.1.2 Các giống ngoại nhập

Trong 78 giống ngoại nhập phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng protein tập trung nhiều nhất trong khoảng 35 - <40% có 40 giống. Trong khoảng từ 40 - <45% có 35 giống, số lượng giống có hàm lượng protein >45% chỉ có 2 giống và nhỏ hơn 35% có 1 giống (Hình 2).



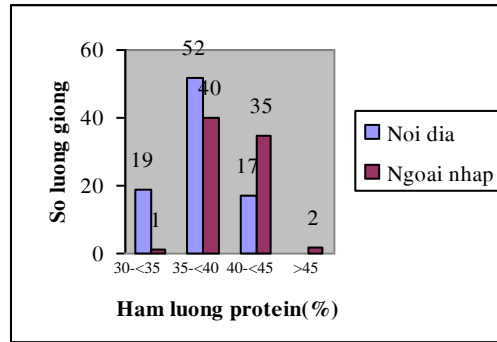
Hình 2: Sự phân bố 78 giống đậu nành ngoại nhập theo nhóm hàm lượng protein

##### 3.1.3 So sánh hàm lượng protein các giống nội địa và ngoại nhập

Hàm lượng protein của hạt đậu nành các giống nội địa biến thiên (31,29 – 43,36%), các giống ngoại nhập biến thiên (34,83 – 47,09%). Khoảng biến thiên này là như nhau khoảng 13 đơn vị.

Các giống ngoại nhập có giống BOONE có hàm lượng protein trong khoảng 30 - <35% , trong khoảng này các giống nội địa có 19 giống.

Hàm lượng protein trong khoảng 35 - <40% có số lượng các giống tập trung nhiều nhất. Trong khoảng này giống nội địa có 52 giống, đối với giống ngoại nhập là 40 giống (Hình 3).



**Hình 3: So sánh hàm lượng protein của hạt đậu nành giống nội địa và ngoại nhập theo nhóm hàm lượng protein**

### 3.2 Kết quả chạy điện di

Dựa trên kết quả phân tích hàm lượng Protein bằng phương pháp Kjeldahl, giống nội địa và ngoại nhập mỗi thứ chọn ra 10 giống (5 giống có hàm lượng thấp nhất và 5 giống có hàm lượng cao nhất).

- Nội địa: HL 204(33,02%), MTĐ 517-8(33,18%), MTĐ 664(31,47%), TÂN UYÊN 1(32,36%) và A-1(31,29%).
- Ngoại nhập: HOA LAN(35,25%), ADEPTA(35,97%), ORBA(35,73%), GC 81118 -8-4(34,83%) và KEDELTA(35,91%).

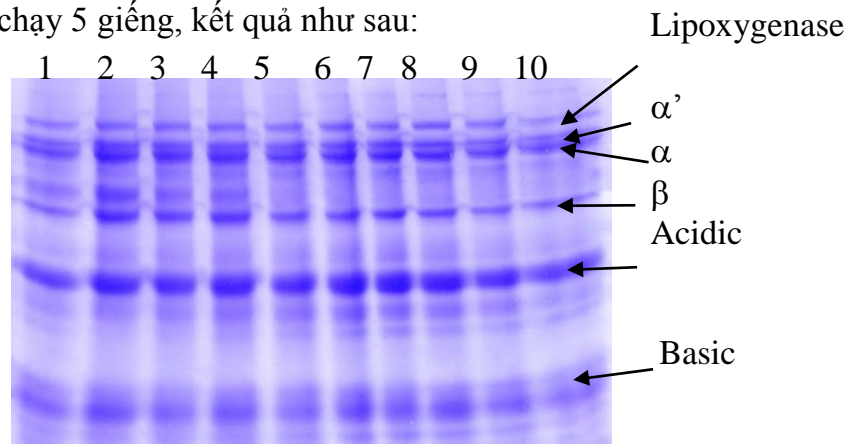
#### 3.2.1 Kiểm tra mức độ thuần

Giống có hàm lượng protein thấp và giống có hàm lượng protein cao mỗi giống chọn 5 hạt ngẫu nhiên. Nếu mức độ ăn màu của chuỗi polypeptide của 5 giềng là như nhau thì giống thuần và ngược lại nếu mức độ ăn màu của chuỗi polypeptide không giống nhau thì giống không thuần.

Hàm lượng protein thấp. 10 giống đậu nành có hàm lượng protein thấp trong đó 5 giống đậu nành nội địa và 5 giống đậu nành ngoại nhập.

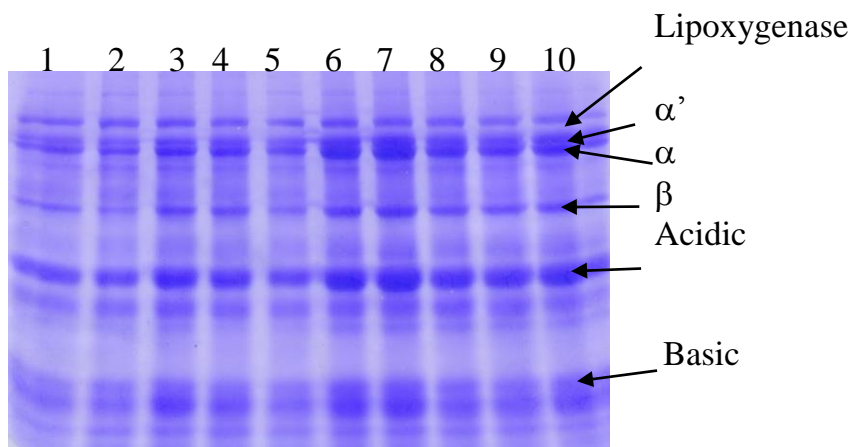
- Nội địa: HL 204(33,02%), MTĐ 517-8(33,18%), MTĐ 664(31,47%), TÂN UYÊN 1(32,36%) và A-1(31,29%).
- Ngoại nhập: HOA LAN(35,25%), ADEPTA(35,97%), ORBA(35,73%), GC 81118 -8-4(34,83%) và KEDELTA(35,91%).

Mỗi giống chạy 5 giềng, kết quả như sau:



**Hình 4: Phổ điện di giống HD 204 và MTĐ 517-8**

Giềng 1-5: HD 204, giềng 6-10: MTĐ 517-8



**Hình 5: Phổ điện di 2 giống A-1(31,29%) và HOA LAN(35,25%)**

Giếng 1-5: A-1

Giếng 6-10: HOA LAN

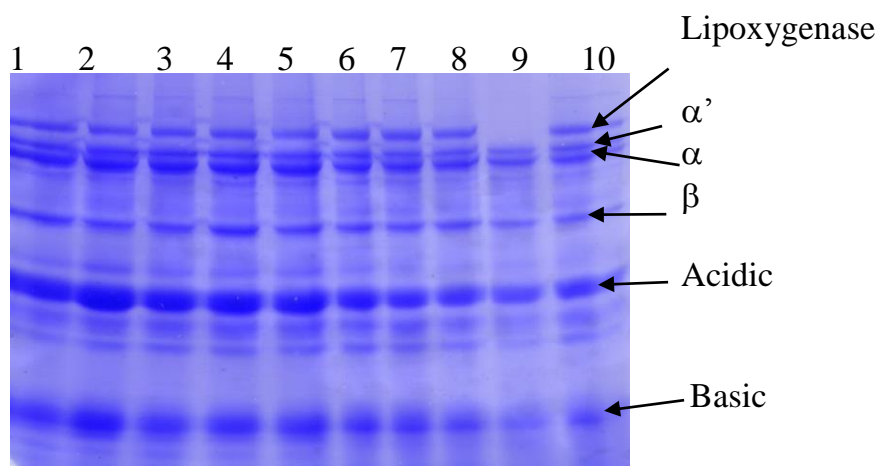
Kết quả phổ điện di cho thấy:

- Bốn giống đậu nành thuần: MTĐ 517-8, HOA LAN, GC 81118 -8-4 và KEDELT.
- Các giống đậu nành không thuần: HL204, MTĐ 664, TÂN UYÊN 1, A-1, ADEPTA, ORBA.

Hàm lượng protein cao. 10 giống đậu nành có hàm lượng protein cao trong đó 5 giống đậu nành nội địa và 5 giống đậu nành ngoại nhập.

- Nội địa: HẬU GIANG 1(42,18%), V 74(42,84%), BA VÌ(43,36%), ĐEN BẮC HÀ(43,18%) và HI LONG 3(41,73%).
- Ngoại nhập: TGX 239-17E(44,16%), BOONE(47,09%), TGX 342-56D(43,91%), NHẬT BẢN 17(43,58%) và TGX 814-26D(46,68%).

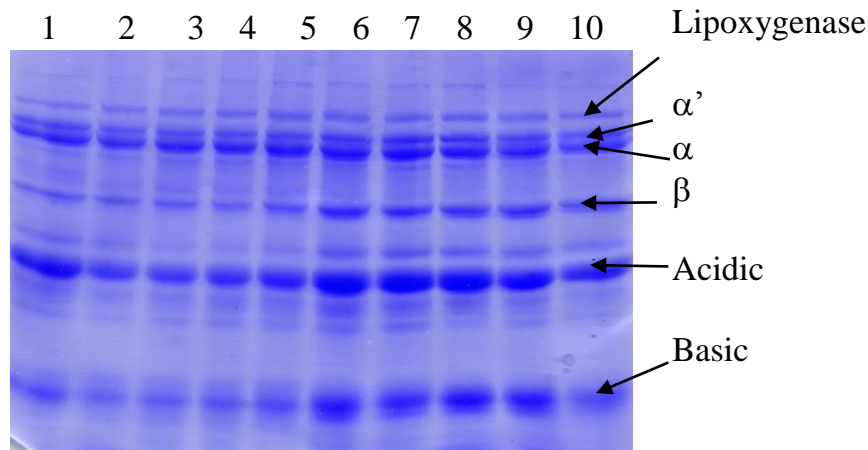
Mỗi giống chạy 5 giếng, kết quả như sau:



**Hình 6: Phổ điện di 2 giống BA VÌ (43,36%) và ĐEN BẮC HÀ(43,18%)**

Giếng 1-5: BA VÌ

Giếng 6-10: ĐEN BẮC HÀ



**Hình 7: Phổ điện di 2 giống NHẬT BẢN 17(43,58%) và BOONE(47,09%)**

*Giếng 1-5: NHẬT BẢN 17 Giếng 6-10: BOONE*

Kết quả phổ điện di cho thấy:

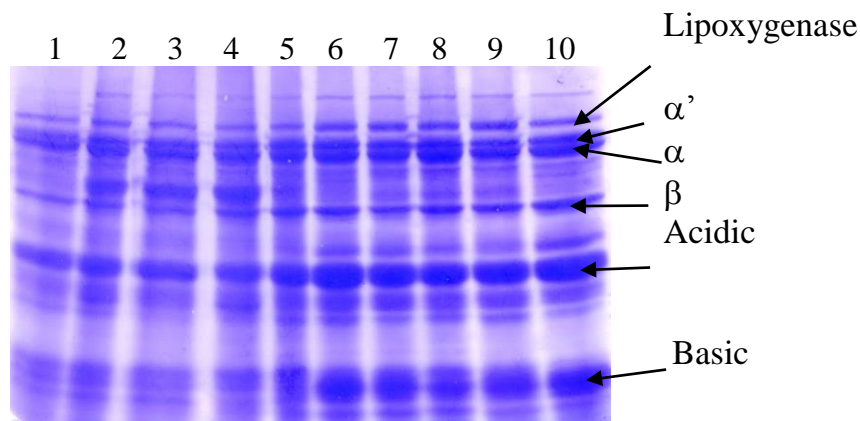
- Các giống thuần: HẬU GIANG 1, V74, BA VÌ, HI LONG 3, TGX-17E, TGX 342-56D, BOONE.
- Các giống không thuần: ĐEN BẮC HÀ, TGX 814-26D, NHẬT BẢN 17.

Qua kết quả kiểm tra được độ thuần của giống ta chọn được giống đậu nành nội địa là BA VÌ và giống đậu nành ngoại nhập BOONE, cả hai giống này đều rất thuần và chứa hàm lượng protein rất cao. Bên cạnh đó ta chọn được hạt mất band lipoxygenase của giống ĐEN BẮC HÀ là điều vô cùng có ý nghĩa trong công tác chọn giống.

### **3.3 Dấu chỉ thị protein tương quan với hàm lượng protein bằng phương pháp điện di SDS-PAGE**

10 giống đậu nành nội địa chạy một gel (5 giống đậu nành có hàm lượng protein thấp nhất và 5 giống đậu nành có hàm lượng protein cao nhất), 10 giống đậu nành ngoại nhập đậu nành chạy một gel (5 giống đậu nành có hàm lượng protein thấp nhất và 5 giống đậu nành có hàm lượng protein cao nhất).

- Nội địa

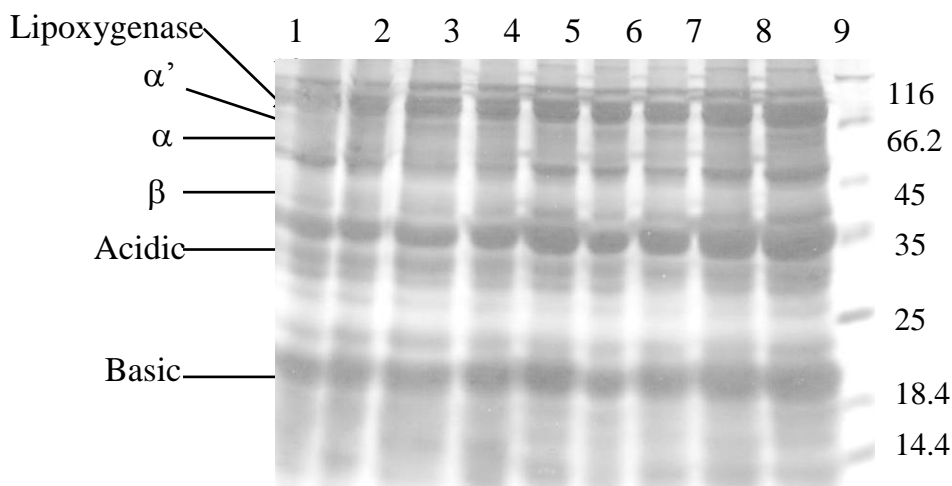


**Hình 8: Phổ điện di 10 giống nội địa, 5 thấp và 5 cao**

1: A-1 (31,29%)	6: HẬU GIANG 1 (42,18%)
2: TÂN UYÊN 1 (32,36%)	7: HI LONG 3 (41,73%)
3: MT Đ 664 (31,47%)	8: ĐEN BẮC HẢ (43,18%)
4: MT Đ 517-8 (33,18%)	9: V74 (42,84%)
5: HL 204 (33,02%)	10: BA VÌ (43,36%)

5 giống đậu nành có hàm lượng protein cao các band có mức độ ăn màu đậm, hiện rõ hơn 5 giống đậu nành có hàm lượng protein thấp. Trong đó band  $\beta$ , Acidic và Basic là ba band dễ dàng nhận ra nhất, giống nào có hàm lượng protein càng cao thì mức độ ăn màu của ba band này càng rõ và band càng lớn.

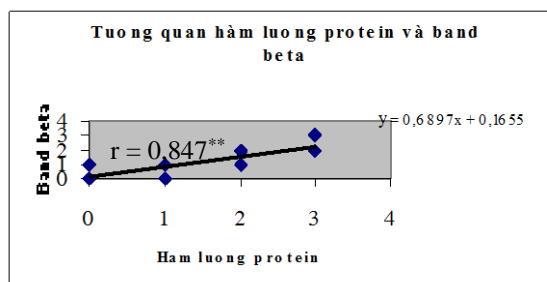
- Ngoại nhập



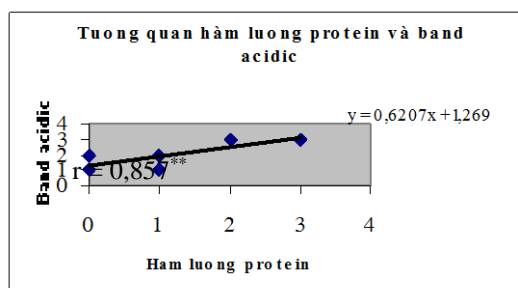
**Hình 9: Phổ điện di 10 giống ngoại nhập, 5 thấp và 5 cao**

1: HOA LAN (35,25%)	6: NHẬT BẢN 17 (43,58%)
2: ADEPTA (35,97%)	7: TGX 342-56D (43,91%)
3: ORBA (35,73%)	8: TGX 814-26D (46,68%)
4: GC 81118 -8-4 (34,83%)	9: BOONE (47,09%)
5: TGX 239-17E (44,16%)	10: M (maker)

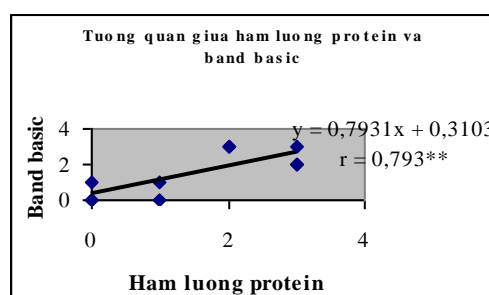
Sau khi chạy điện di, tiến hành phân tích tương quan giữa hàm lượng protein và band ( $\beta$ , acidic và basic).



Hình 10: Biểu đồ tương quan giữa hàm lượng protein và band  $\beta$



Hình 11: Biểu đồ tương quan giữa hàm lượng protein và band acidic



Hình 12: Biểu đồ tương quan giữa hàm lượng protein và band basic

Từ 3 biểu đồ phân tích tương quan, cho thấy hàm lượng protein có quan hệ rất chặt với band  $\beta$ , acidic và basic vì hệ số tương quan gần bằng 1. Mức độ tương quan có ý nghĩa cụ thể đối với band  $\beta$  ( $r = 0,847^{**}$ ), band acidic ( $r = 0,857^{**}$ ), band basic ( $r = 0,793^{**}$ ). Đây là mối tương quan thuận vì biểu đồ cho thấy hàm lượng protein tăng dần thì mức độ ăn màu các band  $\beta$ , acidic và basic cũng đậm dần.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Bằng phương pháp Kjeldahl đánh giá được hàm lượng protein tổng số của 166 giống đậu nành (88 giống đậu nành ngoại nhập và 78 giống đậu nành nội địa). Các giống ngoại nhập có hàm lượng protein cao hơn các giống nội địa.

Phương pháp điện di SDS-PAGE cho phép đánh giá được độ thuần các giống đậu nành đã được khảo sát và mối tương quan giữa hàm lượng protein với tiêu đơn vị  $\beta$ , acidic và basic là tương quan thuận.



Chọn được giống đậu nành: BA VÌ và BOONE ngoài mức độ thuần còn có hàm lượng protein rất cao.

#### 4.2 Đề Nghị

Sử dụng hai giống đậu nành BA VÌ và BOONE làm cha mẹ trong công tác lai tạo để có hàm lượng protein cao nhất.

Tiếp tục nghiên cứu hạt đậu nành của giống ĐEN BẮC HÀ có hiện tượng mất band lipooxygenase.

Sử dụng tiểu đơn vị  $\beta$ , acidic và basic làm dấu chỉ thị nhằm chọn giống đậu nành có hàm lượng protein cao nhất phù hợp với những mục đích khác nhau.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Burton J.W. 1984. Breeding Soybean for improved protein quantity & quantity. World Soybean research conference iii: 361- 367.
- FAO. 2004. Selected indicators of food and agriculture development in asia-pacific region 1993-2003.
- 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.
- Ngạc Văn Giậu. 1983. Chế biến đậu nành và lạc thành thức ăn giàu protein. NXB Nông Nghiệp.
- Ngô Thế Dân. 1999. Cây Đậu Tương. Nhà Xuất Bản Nông Nghiệp Hà Nội.
- Nguyễn Hồng Tường Vân. 2006. Luận Văn Tốt Nghiệp Ngành Công Nghệ Sinh Học. So sánh hàm lượng protein của 36 giống/dòng đậu nành và so sánh năng suất và hàm lượng protein của 6 giống đậu nành triển vọng.
- Nguyễn Văn Mùi. 2001. Thực hành hóa Sinh Học, Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia Hà Nội.
- Tăng Đức Hùng. 2003. Khảo sát quy luật phân ly di truyền tiểu đơn vị  $\beta$  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  $\beta$  - 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.