

TUYỂN CHỌN GIỐNG KHOAI LANG HỒNG ĐÀO VÀ TÍM NHẬT THEO HƯỚNG NĂNG SUẤT CAO VÀ CHẤT LƯỢNG NGON BẰNG KỸ THUẬT ĐIỆN DI PROTEIN SDS-PAGE

Châu Thị Anh Thy¹, Tăng Đức Hùng và Võ Công Thành²

ABSTRACT

Fifty tubers of each variety (Hong Dao and Tim Nhat), totally 100 tubers, were analysed by protein SDS-PAGE and Lowry methods in order to screen and strengthen, these two varieties approaching to increasing higher protein content. The result showed that Hong Dao variety were more diverse in protein phenotype ($H_o=0.91$), genotype ($HEP=0.59$) and sum of the effective number of alleles than those of Tim Nhat variety ($H_o=0.18$; $HEP=0.34$; $SENA=0.51$). Two lines No.7 and No. 8 of Tim Nhat variety had high yields (1,05-1,15kg/plant) with higher protein contents than the others (6.15-9.41%) were suggested to test and release into production. In addition, three elite lines of Hong Dao variety having high yield (0.85-1.2kg/plant) were kept on analyzing protein content for choosing the best one.

Keywords: sweet potato, SDS-PAGE

Title: Selection on two sweet potato varieties (HỒNG ĐÀO and TÍM NHẬT) with high yield and good quality by protein SDS-PAGE method

TÓM TẮT

Hai giống khoai lang Hồng Đào và Tím Nhật (mỗi giống 50 củ) đã được phân tích protein dựa trên kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE và Lowry để thanh lọc và phục tráng theo hướng nâng cao hàm lượng protein. Kết quả cho thấy giống khoai lang Hồng Đào khá đa dạng kiểu hình $H_o=0.91$; đa dạng di truyền khá $HEP=0.59$; và tổng số alen có hiệu quả là $SENA=1.42$ trong khi giống khoai lang Tím Nhật ít đa dạng hơn ($H_o=0.18$; $HEP=0.34$; $SENA=0.51$) nên hiệu quả chọn lọc trên giống khoai lang Hồng Đào cao hơn. Hai dòng số 7 và 8 của giống khoai lang Tím Nhật có năng suất cao (1,05-1,15kg/dây), có hàm lượng protein (6,15-9,41%) cao hơn so với đối chứng (5%). Ba dòng số 1, 2, và 4 có năng suất cao (0,85-1,2kg/dây) của giống khoai lang Hồng Đào được tiếp tục phân tích hàm lượng protein để tuyển ra dòng ưu tú nhất

Từ khoá: khoai lang, SDS-PAGE

1 MỞ ĐẦU

Khoai lang (*Impomoea batatas* L.) là loại cây lương thực dễ trồng, mau thu hoạch, có thể sử dụng cả thân và rễ củ để làm thực phẩm cho người và gia súc.

Khi thí nghiệm trên gia cầm, người ta thấy lá và đọt khoai chứa nhiều vitamin B chống được bệnh phù thũng (Dương Minh, 1999). Những nghiên cứu gần đây

¹ Sinh viên lớp Trồng Trọt K28, khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng, Đại Học Cần Thơ

² Phòng Di Truyền-Chọn Giống và Ứng Dụng Công Nghệ Sinh Học, khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng, Đại Học Cần Thơ

kháng định trong khoai lang có chứa β -caroten là một chất chống oxi hoá ngăn ngừa bệnh ung thư (Burton & Ingold, 1984).

Ở Đồng Bằng Sông Cửu Long hiện nay, diện tích trồng còn thấp, chỉ rải rác ở một số tỉnh như Vĩnh Long, Cần Thơ, Sóc Trăng, Trà Vinh... với diện tích trên dưới 1000ha và dù có hộ nông dân ở Đồng Bằng Sông Cửu Long có thể đạt năng suất 30-40 tấn/ha, nhưng bình quân cả nước chỉ đạt 6 tấn/ha (Dương Minh, 1999).

Hiện nay, do tình trạng nhân giống bằng ngọn nên giống ngày càng bị lẫn tạp dẫn đến năng suất thấp, chất lượng củ cũng không ổn định và kém đồng đều. Do đó việc thanh lọc và phục tráng các giống khoai lang cho năng suất cao và chất lượng ngon đang là yêu cầu bức thiết nhằm thỏa mãn nhu cầu ngày càng tăng của người tiêu dùng và trong khâu phân thức ăn chăn nuôi.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện

2.1.1 *Vật liệu* thu thập các giống khoai từ các nguồn khác nhau:

- Tím Nhật (huyện Lai Vung- tỉnh Đồng Tháp, huyện Bình Minh-tỉnh Vĩnh Long): 50 củ
- Hồng Đào (Quận Phong Điền- TP.Cần Thơ): 50 củ

2.1.2 *Hoá chất thí nghiệm* Tris, Acrylamide, Bis-acrylamide, Amonium persulfat, Mercaptoethanol (ME), Bromophenol, TEMED, Coomassie Brilliant Blue R250...

2.1.3 *Thời gian thí nghiệm*

- Chạy điện di tuyển chọn các cá thể ưu tú: 18/10/2004-10/12/2004.
- Trồng nhân giống: 11/12/2004-28/2/2005.
- Kiểm tra sau khi trồng: 4/3/2005-6/4/2005.

2.2 Phương pháp

Chạy điện di phân tích thành phần protein, sau đó chọn lọc những cá thể có thành phần protein tổng số cao đem trồng trong điều kiện nhà lưới. Sau khi thu hoạch chạy điện di để kháng định lần nữa kết hợp với việc phân tích các chỉ tiêu khác như: hàm lượng protein tổng (phương pháp Lowry).

2.2.1 *Qui trình chạy điện di protein*

- Cân 0.2g mẫu tươi đã nghiền, ly trích trong 200 μ l dung dịch kit ly trích protein.
- Đem vortex, để qua đêm.
- Ly tâm 14000 vòng/phút trong 10 phút.
- Mỗi giếng bơm 20 μ l mẫu ly trích đã ly tâm.
- Gel chạy điện di:
 - (i) Gel tập trung hay gel cô (stacking gel) có 5% acrylamide
 - (ii) Gel phân tách (separating gel) có 12% acrylamide
- Dung dịch chạy điện di được sử dụng theo qui trình của Sambrook et al. (1989)

- Nhuộm gel bằng thuốc nhuộm 0.2M Coomassie Brilliant Blue R250 trong ethanol, acid acetic và nước cất theo tỉ lệ 44:6:50; trong thời gian 30 phút.
- Rửa gel nhuộm bằng dung dịch methanol, acid acetic và nước cất theo tỉ lệ 5:28:67 trong 1-2 ngày.

2.2.2 Phương pháp xử lý số liệu

Các công thức tính được sử dụng để mô tả sự đa dạng di truyền, như sau: tất cả các băng đều có thể nhìn thấy bằng mắt thường và được đánh giá ở mức độ hiện diện (1) hoặc không có (0). Mức độ đa dạng được xác định bằng sự đa dạng kiểu hình:

$$H_o = -\sum f_i \ln f_i$$

Trong đó f_i là tần số của kiểu hình i . Đa dạng kiểu gen được tính là tổng bình phương của tần số kiểu hình với công thức:

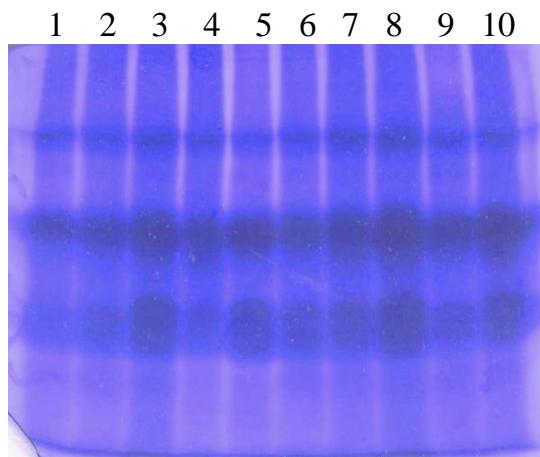
$$H_{EP} = 1 - \sum f_i^2 / n$$

Tổng số alen có hiệu quả (SENA) được tính toán bằng cách xác định số alen có hiệu quả đối với mỗi locus:

$$SENA = 1 / \sum f_i^2 - 1$$

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dựa vào kết quả gel chạy điện di, ta có thể so sánh mức độ đậm nhạt của các băng, các cá thể có hàm lượng protein cao sẽ ăn màu CBBR-250 đậm nhất.

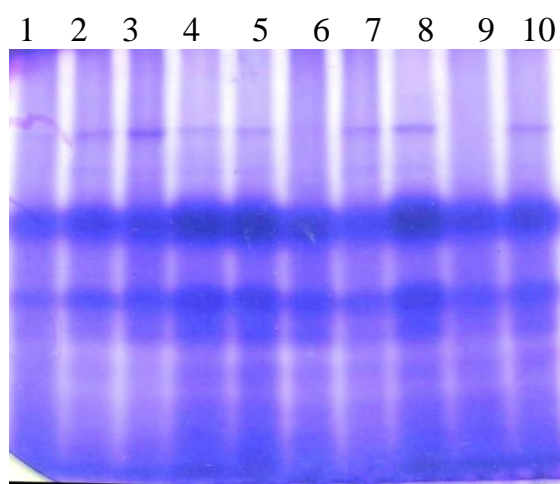


Hình 1: Phổ điện di của giống khoai lang Tím Nhật (huyện Lai Vung- Đồng Tháp), cá thể 2,3,5,8,10 được chọn để nhân giống

Bảng 1: Phương pháp đánh giá các băng protein theo mức độ ăn màu trên giống Tím Nhật

Cá thể	Băng 1					
	2	3	4	5	6	
1	2	1	2	2	3	1
2	2	1	2	2	3	1
3	2	1	3	4	4	1
4	2	1	2	2	3	0
5	2	1	2	3	4	0
6	2	1	2	2	3	1
7	2	1	3	3	3	1
8	2	1	3	4	4	1
9	2	1	2	3	3	1
10	2	1	3	4	4	1

Các mức độ ăn màu: 0: không có; 1: nhạt; 2: đậm; 3: rất đậm; 4: rất rất đậm



Hình 2: Phổ điện di của giống khoai lang Hồng Đào (Huyện Phong Điền-TP.Cần Thơ), cá thể 2,4,5,6,8 được chọn để nhân giống

Bảng 2: Phương pháp đánh giá các băng protein theo mức độ ăn màu trên giống Hồng Đào

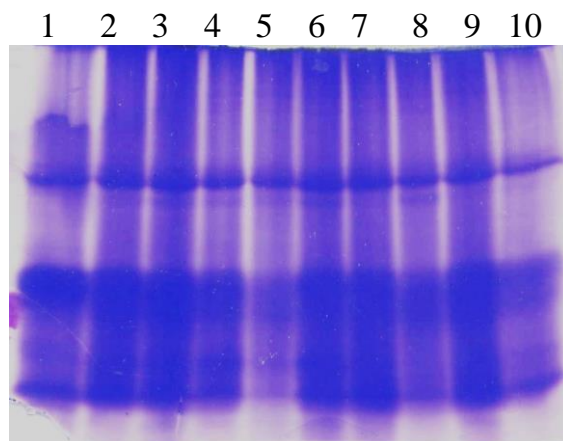
Cá thể	Băng 1						
	2	3	4	5	6	7	
1	1	3	2	1	1	1	1
2	2	3	2	1	1	2	1
3	3	3	2	2	1	1	1
4	2	4	3	3	1	3	1
5	2	4	3	3	1	3	1
6	0	3	3	3	1	2	1
7	2	2	2	1	1	2	1
8	3	4	4	4	1	3	1
9	0	2	2	1	1	2	1
10	2	3	3	2	1	2	1

Các mức độ ăn màu: 0: không có; 1: nhạt; 2: đậm; 3: rất đậm; 4: rất rất đậm

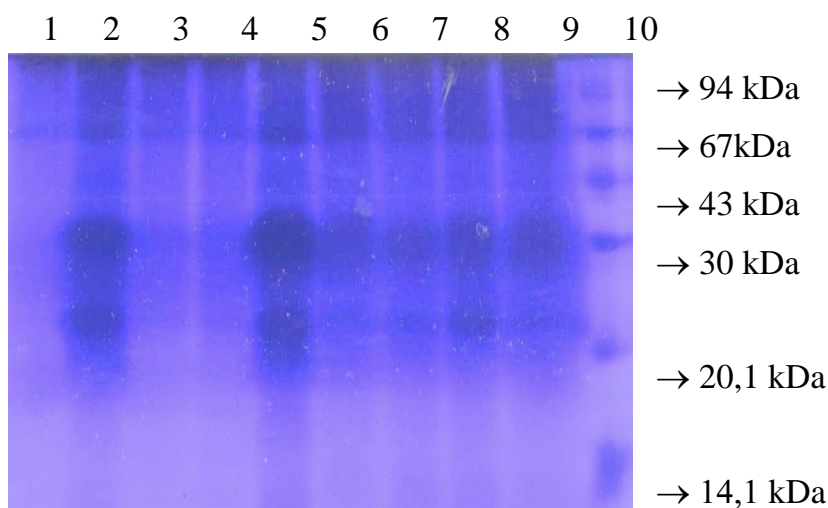
Các cá thể 2,3,5,8,10 (giống Tím Nhật) và cá thể 2,4,5,6,8 (giống Hồng Đào) có mức độ ăn màu CBBR-250 đậm chứng tỏ các cá thể này có hàm lượng protein cao,

do đó được tuyển chọn để nhân giống. Sự khác biệt giữa mức độ ăn màu và sự xuất hiện các băng của các cá thể khác nhau cũng có thể xác định được các biến dị xuất hiện trong quần thể được khảo sát.

Sau khi thu hoạch ta tiến hành chạy điện di lần nữa để đánh giá lại hàm lượng protein của các giống.



Hình 3: Phổ điện di của giống khoai lang Hồng Đào và Tím Nhật sau khi thu hoạch



Hình 4: Phổ điện di protein của hai giống khoai lang

Giếng 1, 2, 3, 4, 5 : giống khoai lang Hồng Đào

Giếng 6, 7, 8, 9 : giống khoai lang Tím Nhật

Giếng 10 : marker-protein chuẩn



Hình 5: Biến động năng suất trong quần thể giống khoai lang Hồng Đào được khảo sát



Hình 6: Biến động năng suất trong quần thể giống khoai lang Tím Nhật được khảo sát

Các giống này đã được tiến hành thanh lọc bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE. Kết quả phân tích cho thấy hai giống khoai lang có độ đa dạng di truyền về đa dạng kiểu hình (Ho), đa dạng kiểu gen (H_{EP}), và tổng số các alen có hiệu quả (SENA) được trình bày như bảng dưới đây:

Thông số đa dạng	Giống Hồng Đào	Giống Tím Nhật
Ho	0.91	0.18
HEP	0.59	0.34
SENA	1.42	0.51

Các giá trị này chỉ ra rằng cả 2 giống đều có biến dị di truyền trong quần thể được khảo sát, trong đó giống Hồng Đào đạt giá trị H_{EP} và SENA cao hơn, chứng tỏ giống Hồng Đào có nhiều cá thể biến dị hơn so với giống Tím Nhật nên hiệu quả chọn lọc trong quần thể giống Hồng Đào sẽ cao hơn.

Các thông số trên cũng chứng tỏ rằng các giống hiện nay đang bị thoái hóa, không còn đồng nhất mặc dù giống khoai lang được nông dân nhân giống chủ yếu bằng con đường sinh sản vô tính. Ngoài ra, qua kết quả thanh lọc bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE, 2 trong 10 dòng ưu tú (dòng 7 và 8 của giống Tím Nhật) cho năng suất cao và chất lượng ngon (0.3 kg/dây, hàm lượng protein >7%) hơn so với giống gốc ban đầu (0.1 -5%), các dòng ưu tú này nên tiếp tục thử nghiệm trong sản xuất trong thời gian tới.

Bảng 3: Năng suất củ và hàm lượng protein của 10 dòng ưu tú có hàm lượng protein cao

Dòng	Năng suất củ/dây (kg)		Hàm lượng prôtein (%)	Thời gian sinh trường
	Hồng Đào	Tím Nhật	Tím Nhật	
1	0.85	0.40	7.49	94 ngày
2	1.20	0.15	8.03	94 ngày
3	0.20	0.14	4.23	94 ngày
4	0.85	0.21	6.07	94 ngày
5	0.40	0.25	7.82	94 ngày
6	0.50	0.35	8.16	94 ngày
7	0.50	1.05	9.41	78 ngày
8	0.50	1.15	6.81	78 ngày
9	0.15	0.10	7.79	78 ngày
10	0.30	0.40	8.18	94 ngày

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

- Kết hợp giữa kỹ thuật phân tích protein theo truyền thống (Lowry) và kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE có khả năng thanh lọc và phục tráng nhanh chất lượng và năng suất củ khoai lang.
- Tuyển chọn giống Hồng Đào có hiệu quả cao hơn giống Tím Nhật do có biến dị nhiều hơn.

4.2 Đề nghị

- Chọn 2 dòng 7 và 8 của giống khoai lang Tím Nhật trồng so sánh với giống đối chứng tại địa phương.
- Dựa vào năng suất và mức độ ăn màu với CBBR-250 lựa chọn được 3 dòng ưu tú số 1, 2, và 4 của giống khoai lang Hồng Đào để tiếp tục đánh giá năng suất và phân tích hàm lượng protein.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Dương Minh, 1999. Giáo trình môn học Hoa Màu. Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học Cần Thơ, 92 trang.
- Mai Thạch Hoàng và Nguyễn Công Vinh, 2003. Giống và Kỹ Thuật Thâm Canh Cây Có Củ. NXB Nông Nghiệp, trang 71-97.
- Võ Công Thành, 2003. Bài Giảng Thực Tập Kỹ Thuật Điện Di. Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học Cần Thơ, 20 trang.
- Vo Cong Thanh, Tran Ngoc Nguyen, Yutaka Hirata, and Nguyen Van Thuong, 2003. Antenna protein diversity of prawns (*Macrobrachium*) in the Mekong Delta. *Biosphere Conservation* 5(1): 11-17.
- Yasuhiro Takahata, Takahiro Noda, and Tadahiho Nagata, 1993. HPLC Determination of β -carotene content of sweet potato cultivars and its relationship with color values. *Japan. J. Breed* 43: 421- 427.