



VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM  
VIỆN DI TRUYỀN NÔNG NGHIỆP

## HỘI NGHỊ KHOA HỌC

**Chọn tạo giống đậu tương chuyển gen có khả năng chống chịu các điều kiện bất lợi: kết quả và định hướng giai đoạn 2016 - 2020**

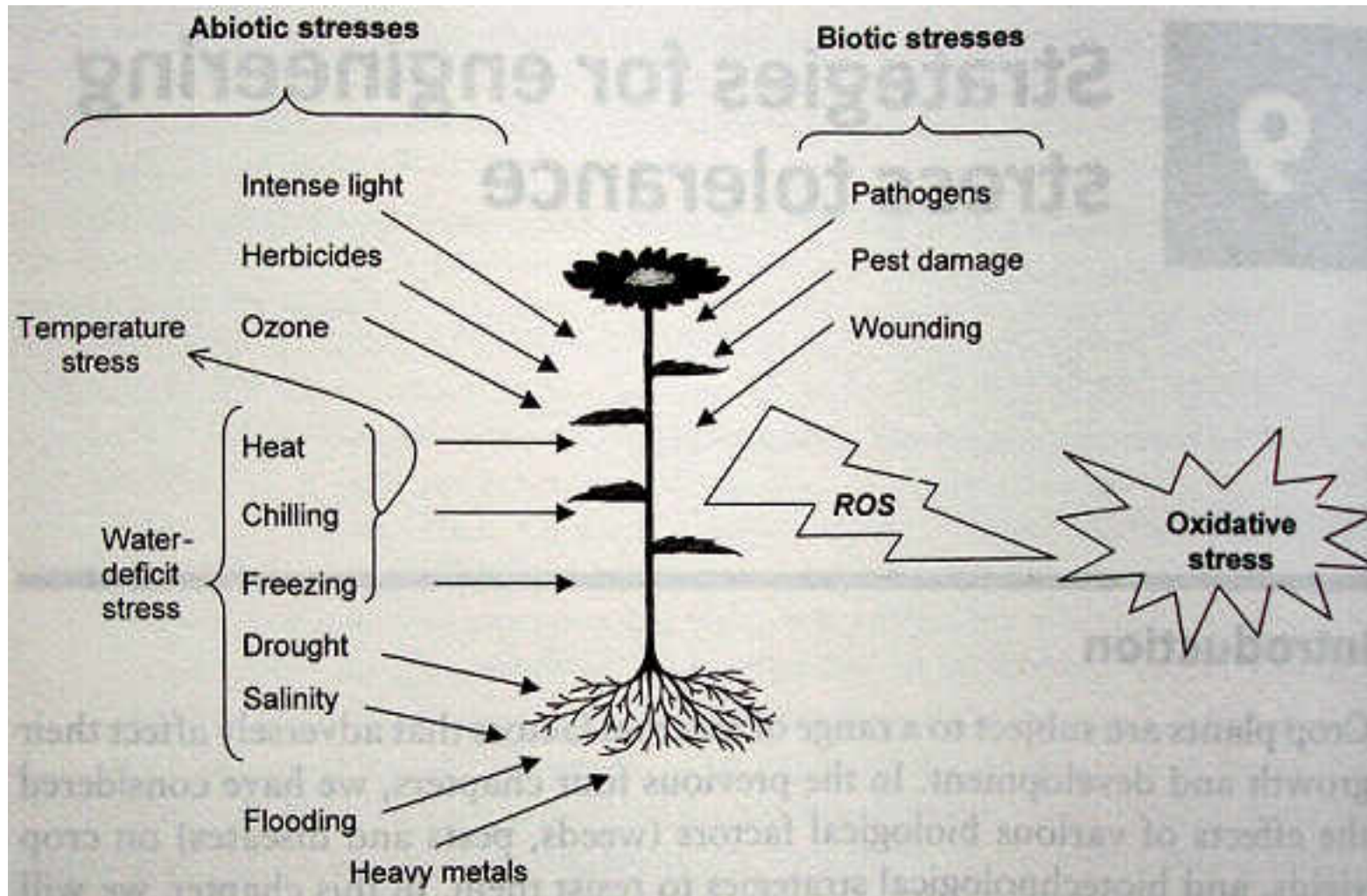


Hà Nội, 3/2017

# NỘI DUNG BÁO CÁO

- **TỔNG QUAN CHUNG**
- **NỘI DUNG NGHIÊN CỨU**
- **KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC**
- **DỰ KIẾN KẾ HOẠCH TIẾP THEO**

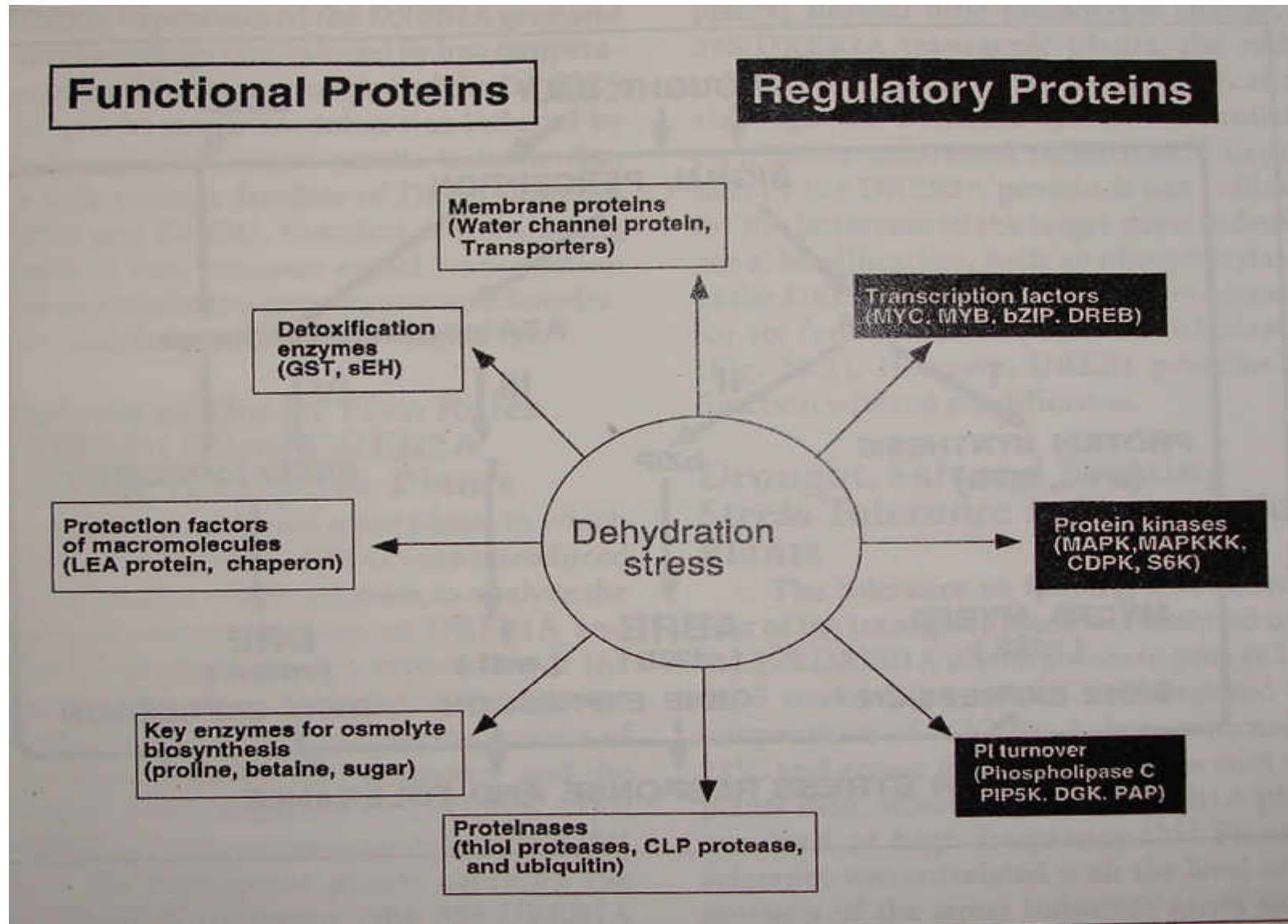
# TỔNG QUAN CHUNG VỀ VẤN ĐỀ CHỊU HẠN



4

→ Plants respond and adapt to environmental stresses through not only physiological and biochemical processes but also molecular and cellular processes.

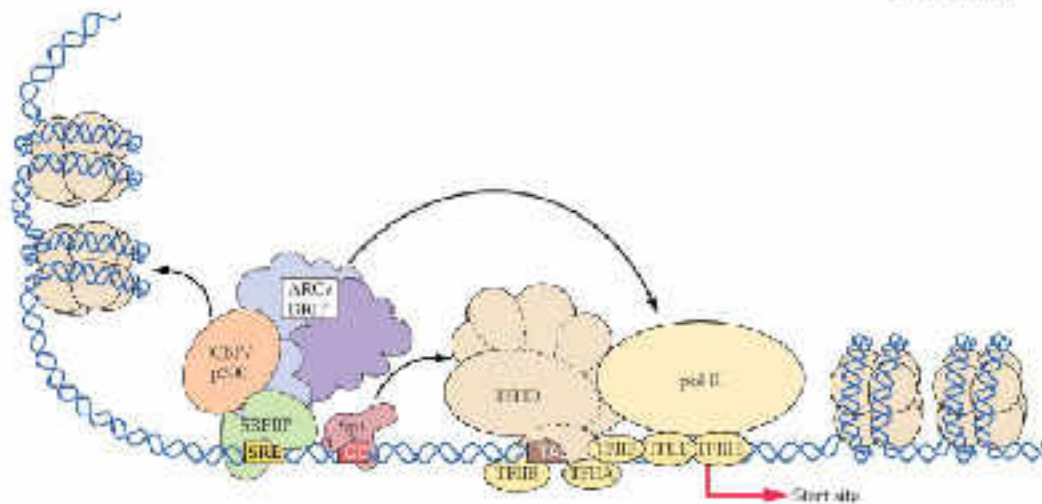
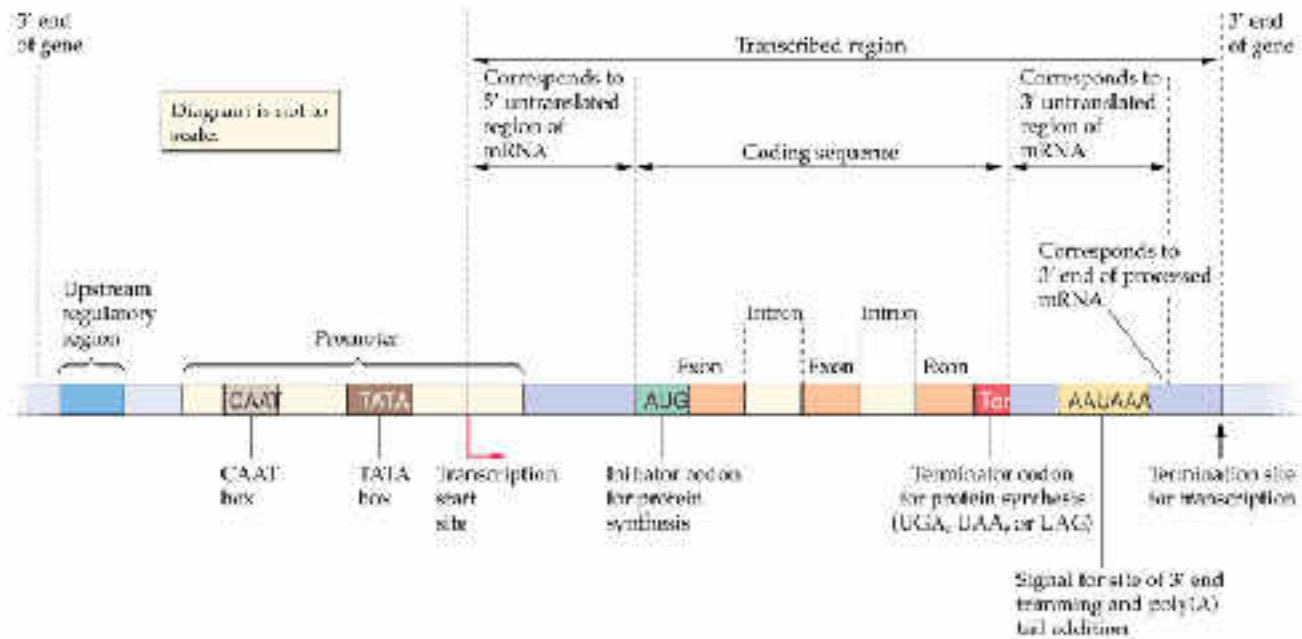
→ The expression of numerous plant genes is regulated by abiotic environmental stresses such as drought, high salinity and cold



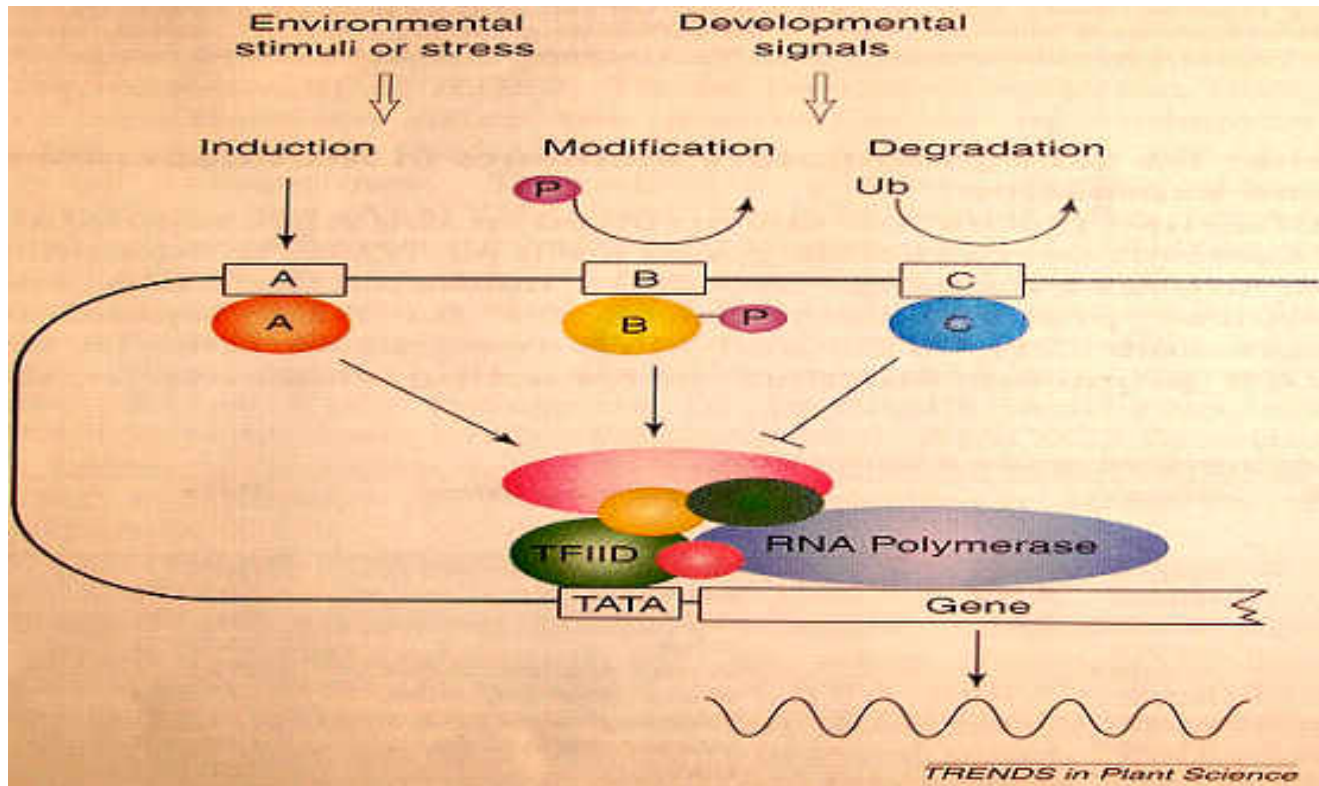
- The gene encoding functional protein is called functional gene.
- The gene encoding regulatory protein is called regulation gene.



## Structure and organization of an eukaryotic gene (Source: *Buchanan et al 2000*)



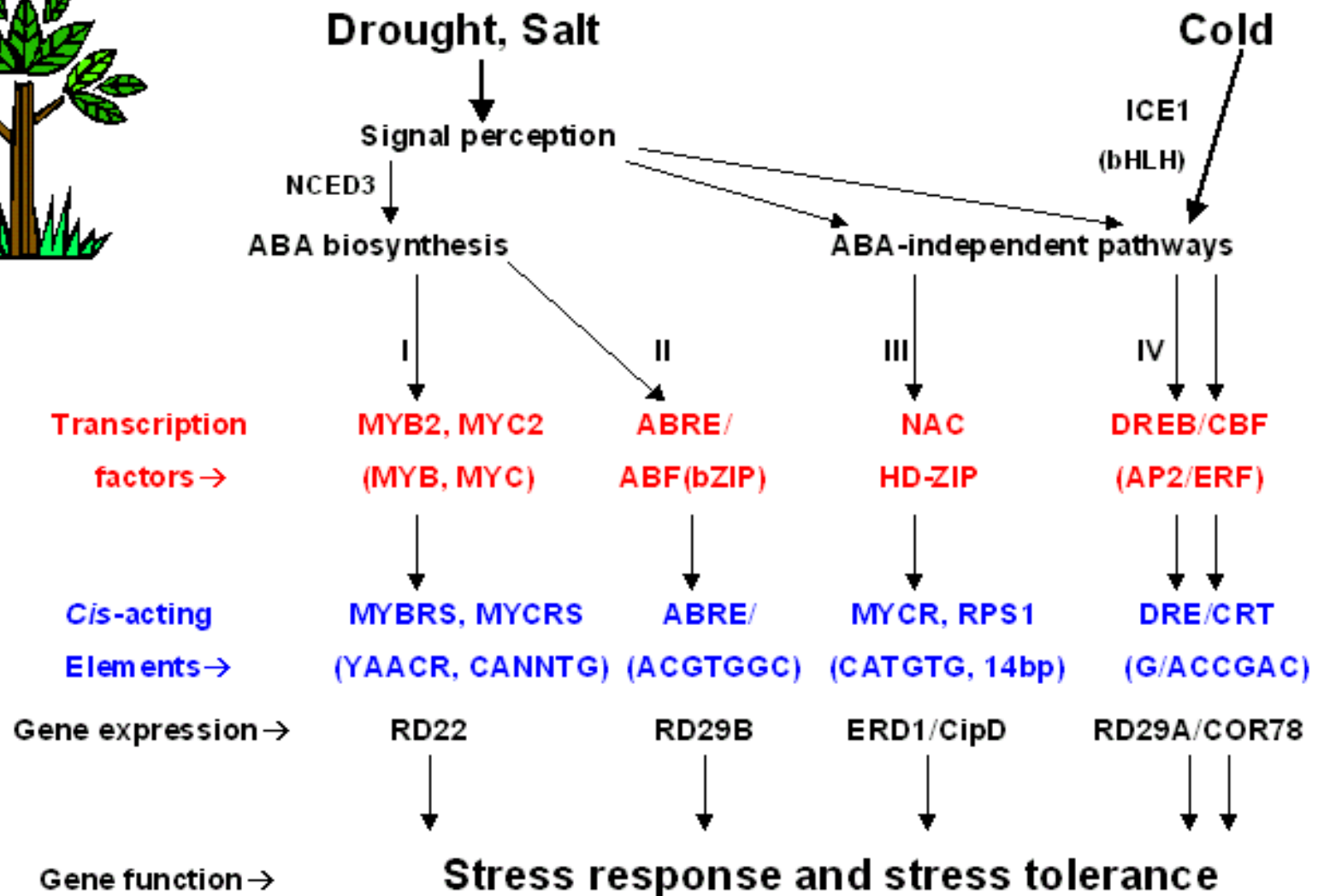
## Schemes of transcriptional regulatory networks



→ Transcription factors (TFs) are master-control proteins in all living cells. They often exhibit sequence-specific DNA binding and are capable of activating or repressing transcription of multiple target genes. In this way, they control or influence many biological processes, including cell cycle progression, metabolism, growth and development, and responses to the environment. The gene encoding a transcription factor is called a TF gene or regulation gene.

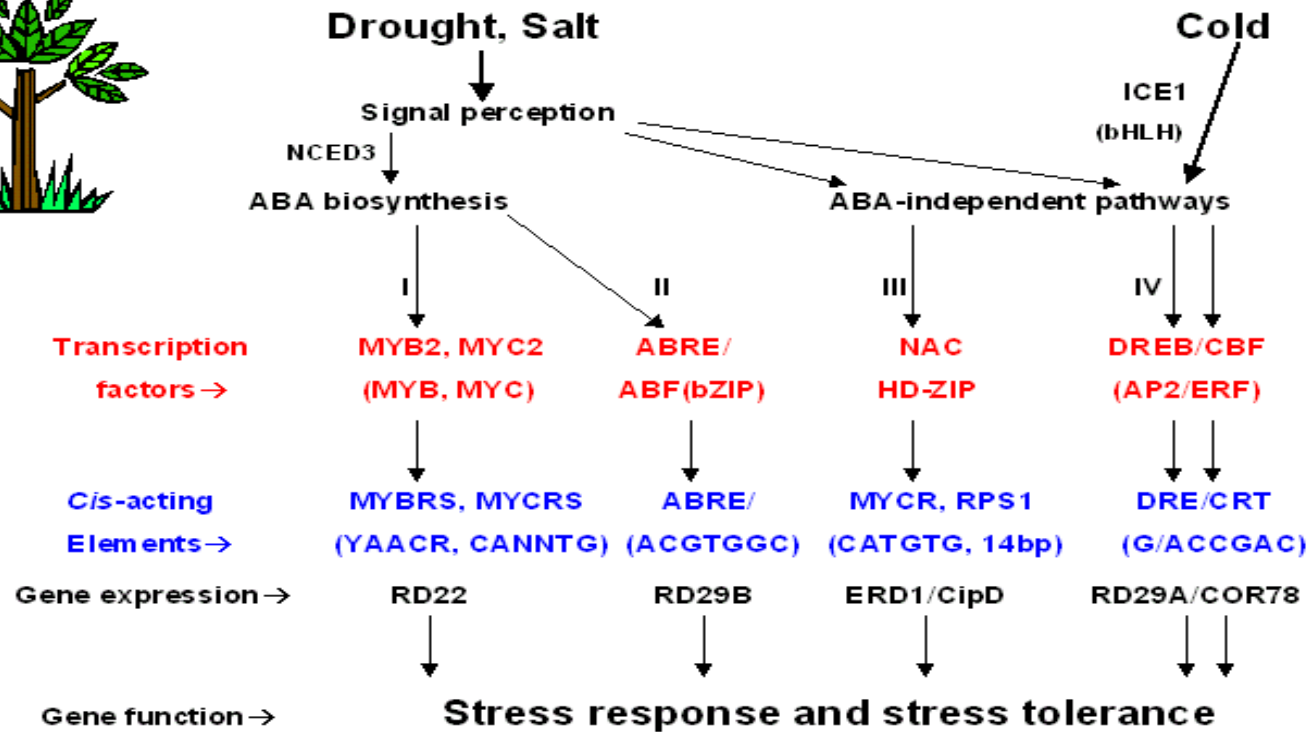
→ Precise analysis of *cis*-acting elements and their transcription factors can give us accurate understanding of regulatory systems in stress-responsive gene expression.

# Signal transduction pathways from the perception of drought and cold stress signal to gene expression





## Signal transduction pathways from the perception of drought and cold stress signal to gene expression



6

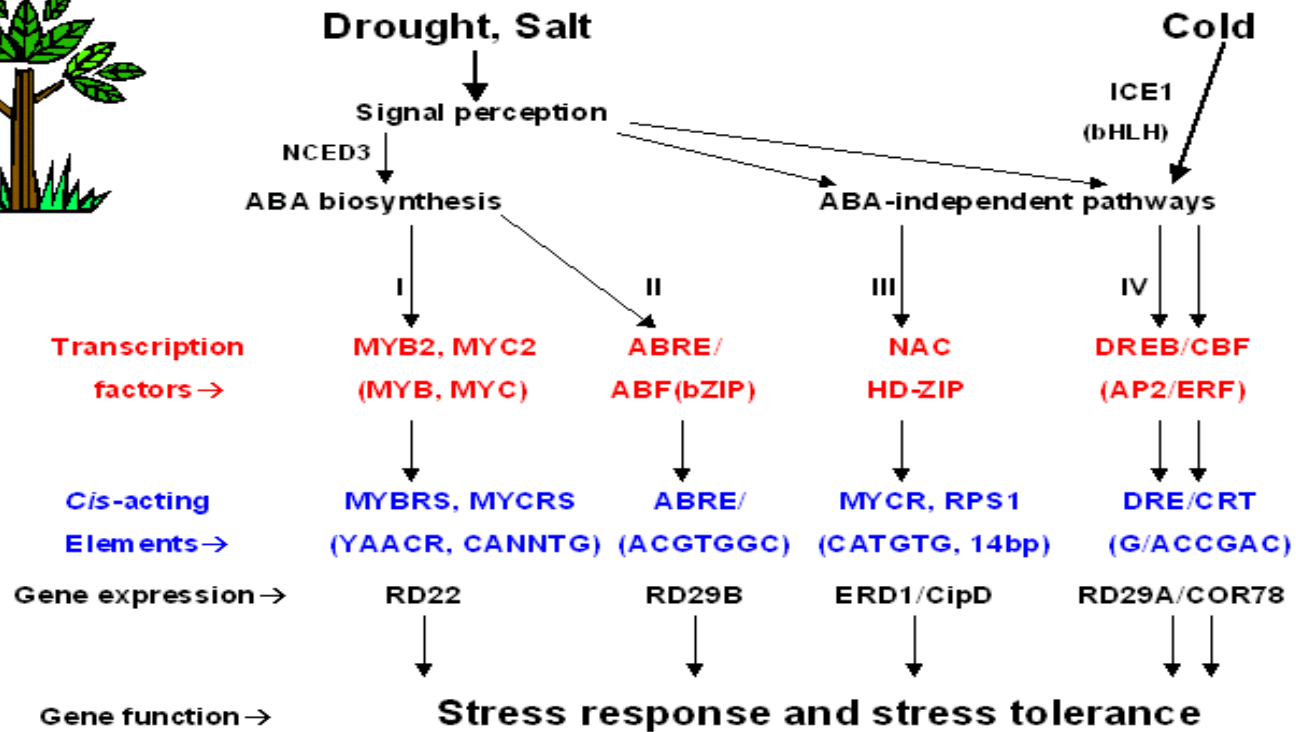


Wild type

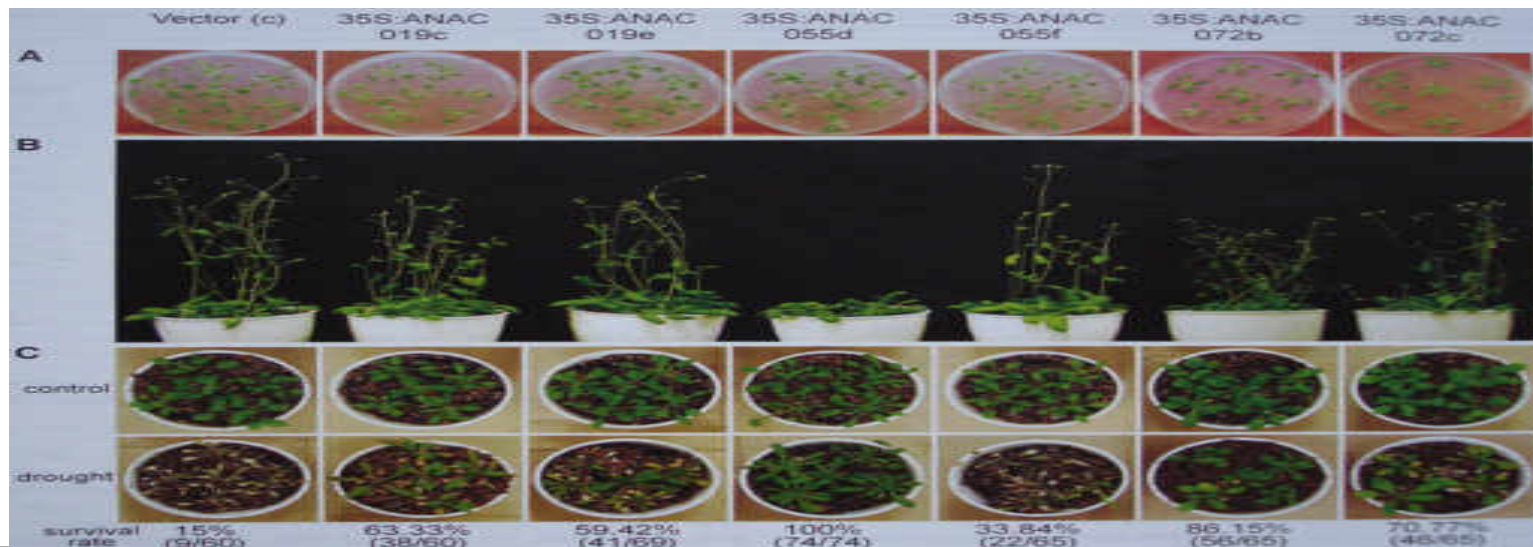
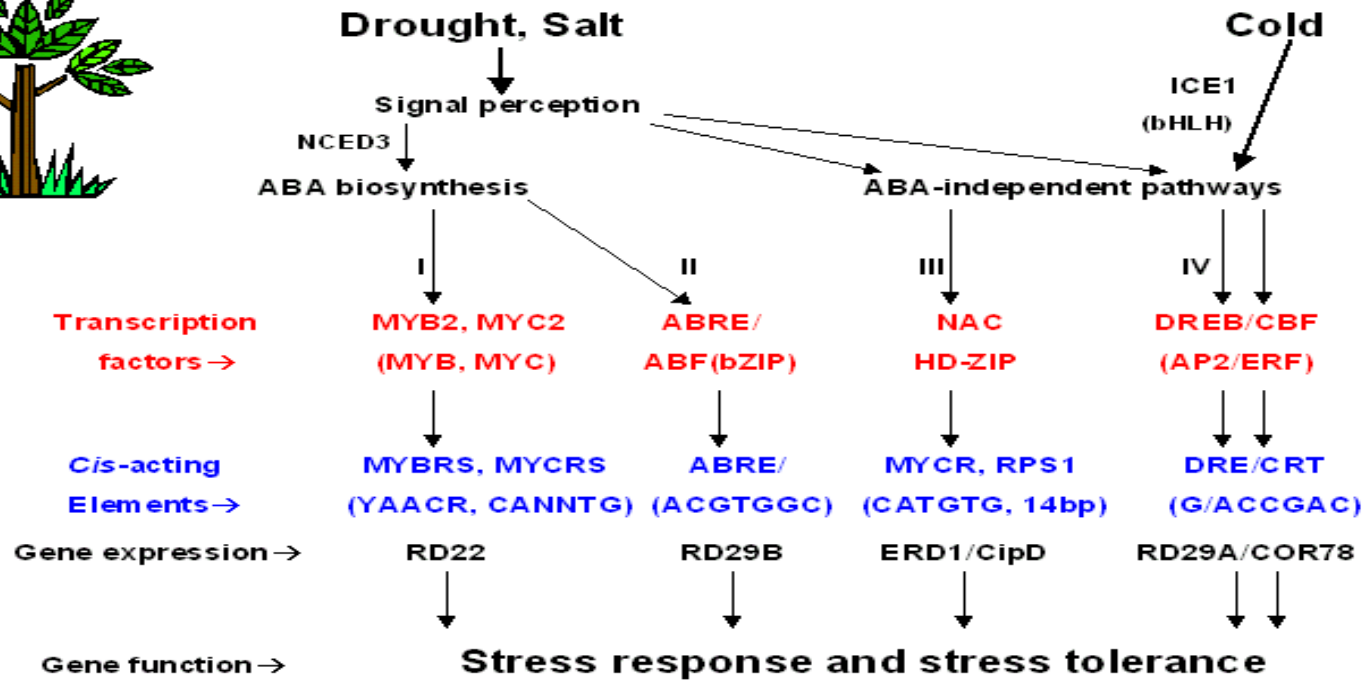
#34

#35

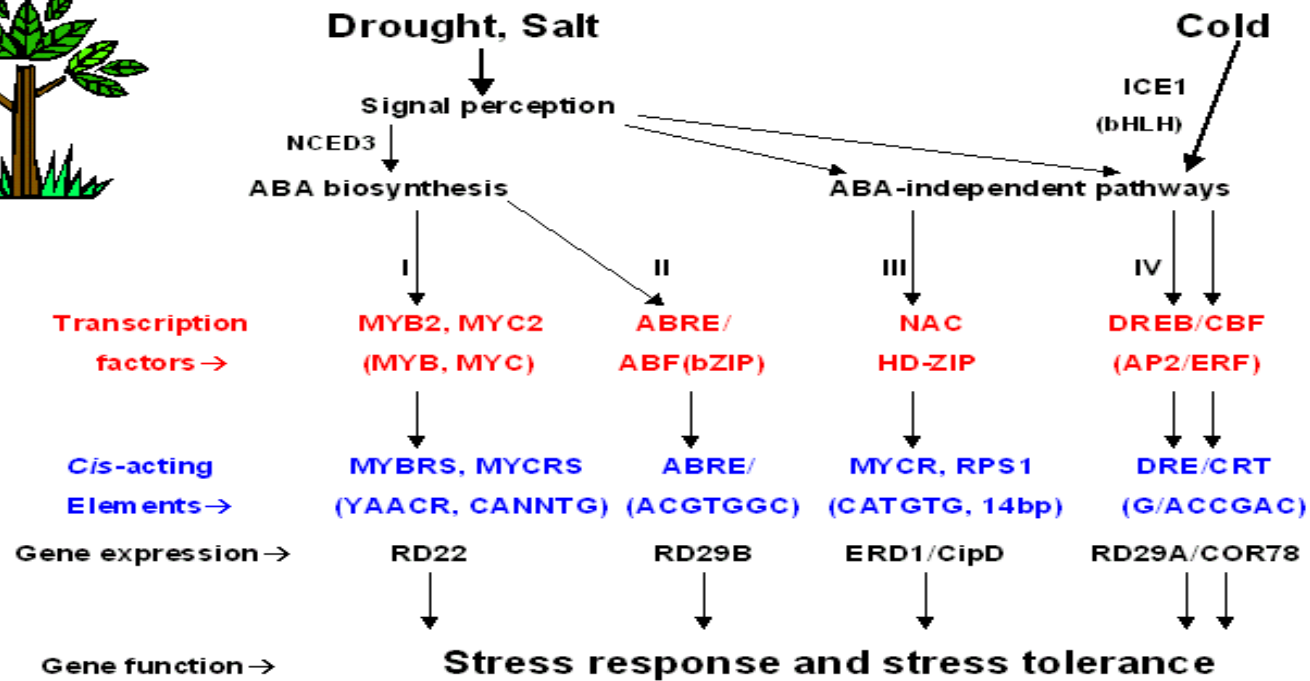
## Signal transduction pathways from the perception of drought and cold stress signal to gene expression



# Signal transduction pathways from the perception of drought and cold stress signal to gene expression



## Signal transduction pathways from the perception of drought and cold stress signal to gene expression



12



**TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ PHÁT TRIỂN  
CÂY ĐẬU TƯƠNG BIẾN ĐỔI GEN**



# TỔNG QUAN CHUNG

## Tình hình triển khai và áp dụng cây đậu tương biến đổi gen

- Năm 2015, diện tích cây trồng biến đổi gen trên thế giới đạt 179,7 triệu ha. Trong đó, đậu tương biến đổi gen được áp dụng rộng rãi nhất, chiếm 83% tổng diện tích trồng đậu tương trên TG (Clive Jamé, 2015).

Quốc gia	Diện tích (ha)	Tỉ lệ trồng đậu tương biến đổi gen	Tính trạng biến đổi gen
Argentina	19.418.825	85%	Kháng thuốc diệt cỏ
Brazin	27.864.915	66%	Kháng thuốc diệt cỏ; Kháng sâu
Hoa Kỳ	30.703.000	95%	Kháng thuốc diệt cỏ
Việt Nam	117.791	0%	

- Hiện nay, trong 36 sự kiện chuyển gen vào đậu tương được công bố (chủ yếu là tính trạng kháng sâu và kháng thuốc diệt cỏ) chỉ có 1 sự kiện chuyển gen chịu hạn duy nhất: **IND-ØØ41Ø-5 mang gen Hahb-4** (có nguồn gốc từ cây hoa hướng dương - *Helianthus annuus*) đã được phê duyệt áp dụng tại Argentina năm 2015 (ISAAA, 2017).

# TỔNG QUAN CHUNG

## Sự kiện chuyển gen chịu hạn vào đậu tương: 1/36 sự kiện

Event Name and Code	Trade Name	Event Name and Code	Trade Name
Name: <u>260-05 (G94-1, G94-19, G168)</u> Code: <u>DD-026005-3</u>	not available	Name: <u>MON87701</u> Code: <u>MON-87701-2</u>	not available
Name: <u>A2704-12</u> Code: <u>ACS-GM005-3</u>	Liberty Link™ soybean	Name: <u>MON87701 x MON89788</u> Code: <u>MON-87701-2 x MON-89788-1</u>	Intacta™ Roundup Ready™ 2 Pro
Name: <u>A2704-21</u> Code: <u>ACS-GM004-2</u>	Liberty Link™ soybean	Name: <u>MON87705</u> Code: <u>MON-87705-6</u>	Vistive Gold™
Name: <u>A5547-127</u> Code: <u>ACS-GM006-4</u>	Liberty Link™ soybean	Name: <u>MON87705 x MON87708</u> Code: <u>MON-87705-6 x MON-87708-9</u>	not available
Name: <u>A5547-35</u> Code: <u>ACS-GM008-6</u>	Liberty Link™ soybean	Name: <u>MON87705 x MON87708 x MON89788</u> Code: <u>MON-87705-6 x MON-87708-9 x MON-89788-1</u>	n/a
Name: <u>CV127</u> Code: <u>BPS-CV127-9</u>	Cultivance	Name: <u>MON87705 x MON89788</u> Code: <u>MON-87705-6 x MON-89788-1</u>	not available
Name: <u>DAS44406-6</u> Code: <u>DAS-44406-6</u>	not available	Name: <u>MON87708</u> Code: <u>MON-87708-9</u>	Genuity® Roundup Ready™ 2 Xtend™
Name: <u>DAS68416-4</u> Code: <u>DAS-68416-4</u>	Enlist™ Soybean	Name: <u>MON87708 x MON89788</u> Code: <u>MON-87708-9 x MON-89788-1</u>	not available
Name: <u>DAS68416-4 x MON89788</u> Code: <u>DAS-68416-4 x MON-89788-1</u>	not available	Name: <u>MON87712</u> Code: <u>MON-87712-4</u>	Not available
Name: <u>DAS81419</u> Code: <u>DAS-81419-2</u>	not available	Name: <u>MON87751</u> Code: <u>MON-87751-7</u>	not available
Name: <u>DAS81419 x DAS44406-6</u> Code: <u>DAS-81419-2 x DAS-44406-6</u>	not available	Name: <u>MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788</u> Code: <u>MON-87751-7 x MON-87701-2 x MON87708 x MON89788</u>	not available
Name: <u>DP305423</u> Code: <u>DP-305423-1</u>	Treus™, Plenish™	Name: <u>MON87769</u> Code: <u>MON87769-7</u>	not available
Name: <u>DP305423 x GTS 40-3-2</u> Code: <u>DP-305423-1 x MON-04032-6</u>	not available	Name: <u>MON87769 x MON89788</u> Code: <u>MON-87769-7 x MON-89788-1</u>	not available
Name: <u>DP356043</u> Code: <u>DP-356043-5</u>	Optimum GAT™	Name: <u>MON89788</u> Code: <u>MON-89788-1</u>	Genuity® Roundup Ready 2 Yield™
Name: <u>FG72 (FG072-2, FG072-3)</u> Code: <u>MST-FG072-3</u>	not available	Name: <u>SYHT0H2</u> Code: <u>SYN-000H2-5</u>	Herbicide-tolerant Soybean line
Name: <u>FG72 x A5547-127</u> Code: <u>MST-FG072-3 x ACS-GM006-4</u>	n/a	Name: <u>W 62</u> Code: <u>ACS-GM002-9</u>	Liberty Link™ soybean
Name: <u>GTS 40-3-2 (40-3-2)</u> Code: <u>MON-04032-6</u>	Roundup Ready™ soybean	Name: <u>W 98</u> Code: <u>ACS-GM001-8</u>	Liberty Link™ soybean
Name: <u>GU262</u> Code: <u>ACS-GM003-1</u>	Liberty Link™ soybean		
Name: <u>IND-00410-5</u> Code: <u>IND-00410-5</u>	Verdeca HB4 Soybean		

Hahb-4

(Tổng hợp từ nguồn ISAAA , 2017)

# TỔNG QUAN CHUNG

---

## Sự kiện chuyển gen chịu hạn vào đậu tương

--> 1 sự kiện chuyển gen chịu hạn duy nhất: **IND-00410-5 mang gen Hahb-4** (có nguồn gốc từ cây hoa hướng dương - *Helianthus annuus*) đã được phê duyệt áp dụng tại Argentina năm 2015 (ISAAA, 2017).

--> Homeodomain-leucine zipper proteins constitute a family of transcription factors found only in plants. Hahb-4 is a member of *Helianthus annuus* (sunflower) subfamily I. It is regulated at the transcriptional level by water availability and abscisic acid. In order to establish if this gene plays a functional role in drought responses

--> **First stress-tolerant soybean gets go-ahead in Argentina**

*Nature Biotechnology 33, 682 (2015) doi:10.1038/nbt0715-682 Published online 08 July 2015.*

--> The HB4 stress tolerance trait has undergone extensive field-testing in soybeans, including six seasons of multi-location field trials in **Argentina** and the United States, and two years of regulatory field trials. The results of these trials have shown *that* the HB4 trait provides **up to 14 percent greater yield** under multiple stress conditions, including **drought**.

--> **In April of this year**, Argentinian authorities granted regulatory approval to the HB4 stress tolerance trait in soybeans. It was the first approval for HB4 and **the world's first regulatory approval of an abiotic stress tolerance trait in soybeans**.

# TỔNG QUAN CHUNG

## Nghiên cứu chuyển gen chịu hạn vào đậu tương

- Ngoài sự kiện chuyển gen chịu hạn **Hahb-4** được công bố. Hiện nay, các nhà khoa học trên thế giới vẫn tiếp tục nghiên cứu các gen khác liên quan đến tính trạng chịu hạn, đặc biệt là nhóm gen **NAC**.
- Năm 2014, Henry T.Nguyen và CS đã nghiên cứu chuyển gen **GmNAC003** và **GmNAC004** sử dụng promoter 35S vào cây *Arabidopsis*. Kết quả cho thấy cây chuyển gen **GmNAC004** so với cây đối chứng có sự gia tăng số lượng và chiều dài rễ trong điều kiện thường và tăng cao trong điều kiện hạn.
- Theo nghiên cứu mới nhất của Reem M. Hussain và CS - Đại học Nông Nghiệp Huazhong (2017), đã xác định được 139 gen **GmNAC**, nghiên cứu cụ thể 28 gen **GmNAC** chọn lọc kết quả cho thấy biểu hiện gen **GmNAC** phụ thuộc vào kiểu gen; 8 trong số 28 gen chọn lọc (**GmNAC004, GmNAC021, GmNAC065, GmNAC066, GmNAC073, GmNAC082, GmNAC083 và GmNAC087**) đã được phát hiện có mức độ biểu hiện cao ở các giống đậu tương chịu hạn. Nghiên cứu này xác định gen **GmNAC** có thể được xem là trọng tâm trong các nghiên cứu trong tương lai trong việc phát triển đậu tương chịu hạn cao.
- Tại Việt Nam, mỗi năm phải nhập khẩu 2,5 triệu tấn đậu tương, sản lượng đậu tương hàng năm thu được chỉ đáp ứng 18% nhu cầu trong nước do năng suất thấp mà chủ yếu là kết quả của stress phi sinh học trong đó hạn hán là hạn chế lớn. Do vậy, việc nghiên cứu, phát triển các giống đậu tương ưu tú có thể đối phó với tình trạng khan hiếm nước được xem là một mục tiêu quan trọng của các nhà khoa học trong nước. **Viện Lúa ĐBSCL đã nghiên cứu tạo chọn dòng đậu tương chịu hạn (vector pPTN-rd29A-dreblA), kết quả phân tích PCR của 8 dòng T0 kháng thuốc diệt cỏ có 5 dòng có sự hiện diện của gen chịu hạn dreblA. Cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào liên quan đến nhóm gen NAC trong chuyển gen vào đậu tương được công bố.** Vì vậy, trên cơ sở những thành tựu về chuyển gen chịu hạn trên thế giới, nhóm nghiên cứu đã tiến hành chuyển gen **GmNAC002, GmNAC004, GmNAC085** sử dụng promoter 35S/ RD29A vào giống đậu tương chọn lọc của Việt Nam và thu được kết quả bước đầu.

# HƯỚNG NGHIÊN CỨU TỔNG THỂ

## Pha 1

Thu thập, phân tích và đánh giá khả năng chống chịu điều kiện hạn của môi trường ở các giống đậu tương đang được sử dụng phổ biến hiện nay tại Việt Nam

2013

Khảo sát và đánh giá khả năng tiếp nhận gen ngoại lai của một số giống đậu tương thu thập được

Tách chiết, phân lập các gen *GmNAC* (002, 004, 085) ở đậu tương

2014

Thiết kế các véc tơ biểu hiện gen *GmNAC* (002, 004, 085)

Biến nạp gen *GmNAC* (002, 004, 085) vào đậu tương

2015 - 2017

Phân tích cây đậu tương nhận được sau quá trình biến nạp

Đánh giá, chọn lọc dòng chuyển gen đồng hợp

2018 →



# KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

## Thu thập, đánh giá khả năng chống chịu điều kiện hạn ở các giống đậu tương đang được sử dụng phổ biến hiện nay tại Việt Nam

Nhóm nghiên cứu đã thu được 22 giống đậu tương chọn lọc. Trong đó, giống **DT2008 của Viện DTNN** và giống **218 Bắc Cạn** có khả năng chống chịu với điều kiện hạn tốt nhất.



Đánh giá khả năng chịu hạn giai đoạn nảy mầm

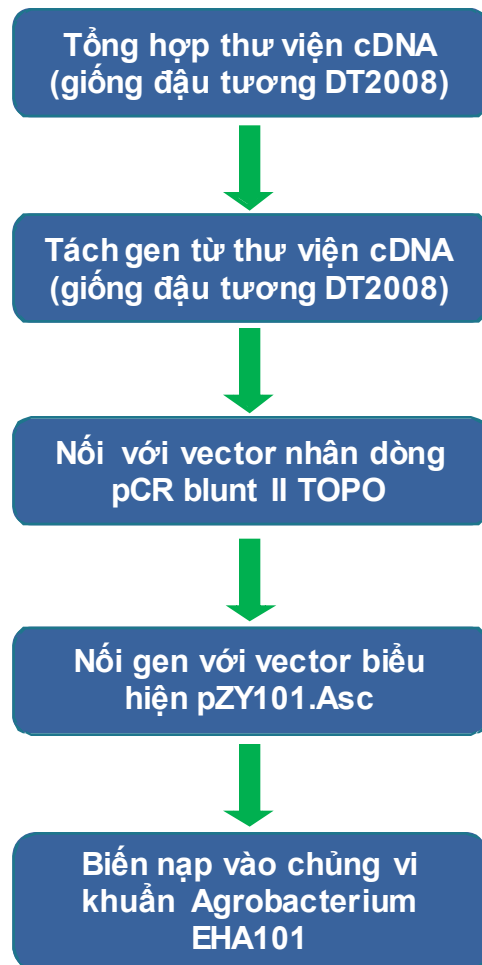


Đánh giá khả năng chịu hạn giai đoạn cây con



Đánh giá khả năng chịu hạn giai đoạn ra hoa kết quả

## Tách chiết, phân lập và thiết kế véc tơ mang gen *GmNAC* (002, 004, 085)



## Đánh giá khả năng tiếp nhận gen ngoại lai của một số giống đậu tương thu thập được

Chuyển gen vào một số giống đậu tương sử dụng chủng vi khuẩn EHA101 mang vector pZY101, chọn lọc bằng kháng sinh glufosinate, kết quả cho thấy:

- Chủng EHA101 mang vector pZY101 thích hợp chuyển nạp gen vào đậu tương.
- Giống đậu tương **ĐT22** và **ĐT26** có khả năng tái sinh và sống sót sau chọn lọc cao.



**ĐT22**



**ĐVN9**

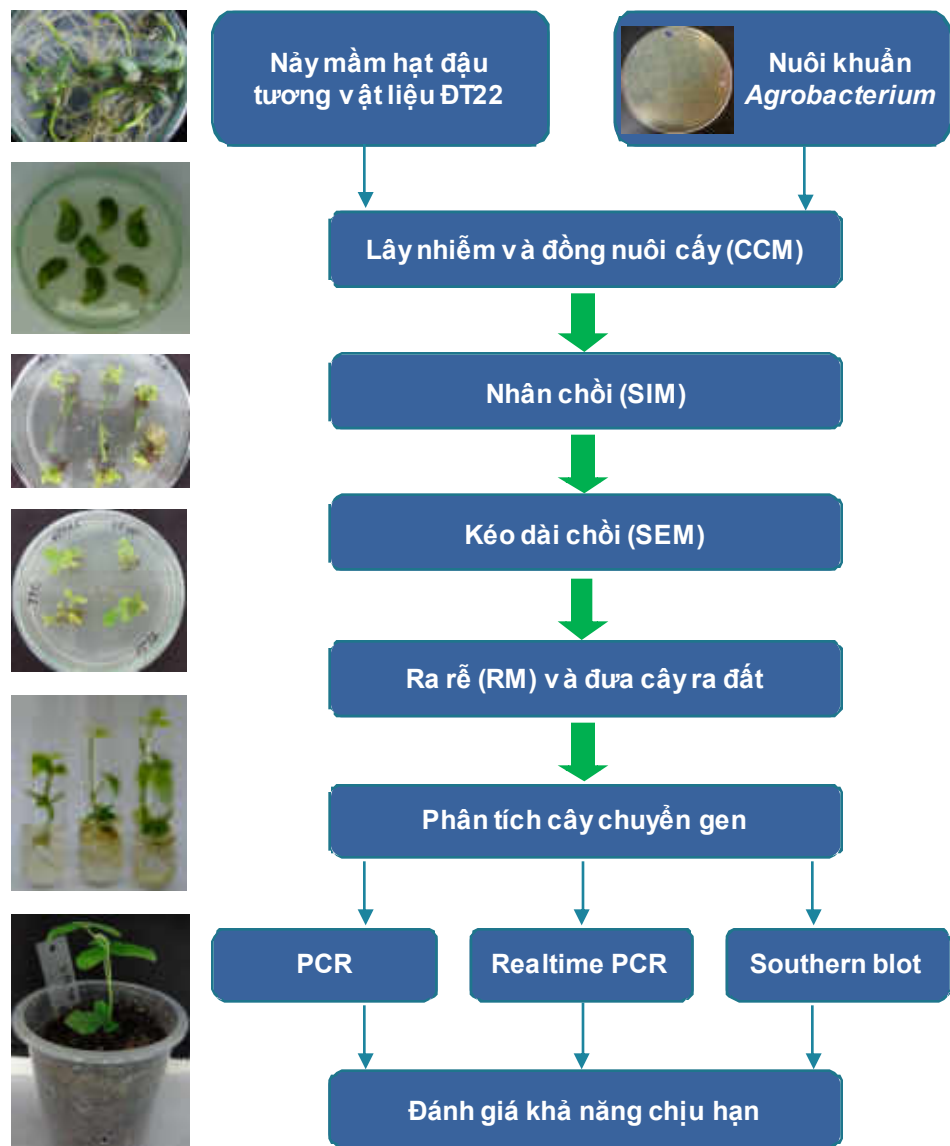


**DT84**



**ĐT26**

## Biến nạp gen *GmNAC* (002, 004, 085) vào đậu tương



TT	Vector biến nạp	Số lượng mẫu	Cây chuyển gen T0 sống sót sau phun basta	Kết quả PCR dương tính		Hiệu suất biến nạp
				Gen bar	Gen <i>GmNAC</i>	
1	<i>pZY101::35S::GmNAC002</i>	3528	0	0	0	0
2	<i>pZY101::RD29A::GmNAC002</i>	3625	18	18	4	0,1
3	<i>pZY101::35S::GmNAC004</i>	3029	2	2	2	0,1
4	<i>pZY101::RD29A::GmNAC004</i>	2870	44	44	8	0,3
5	<i>pZY101::35S::GmNAC085</i>	3466	0	0	0	0
6	<i>pZY101::RD29A::GmNAC085</i>	5187	15	15	2	0,04
<b>Tổng</b>		<b>21705</b>	<b>79</b>	<b>79</b>	<b>16</b>	<b>0,1</b>

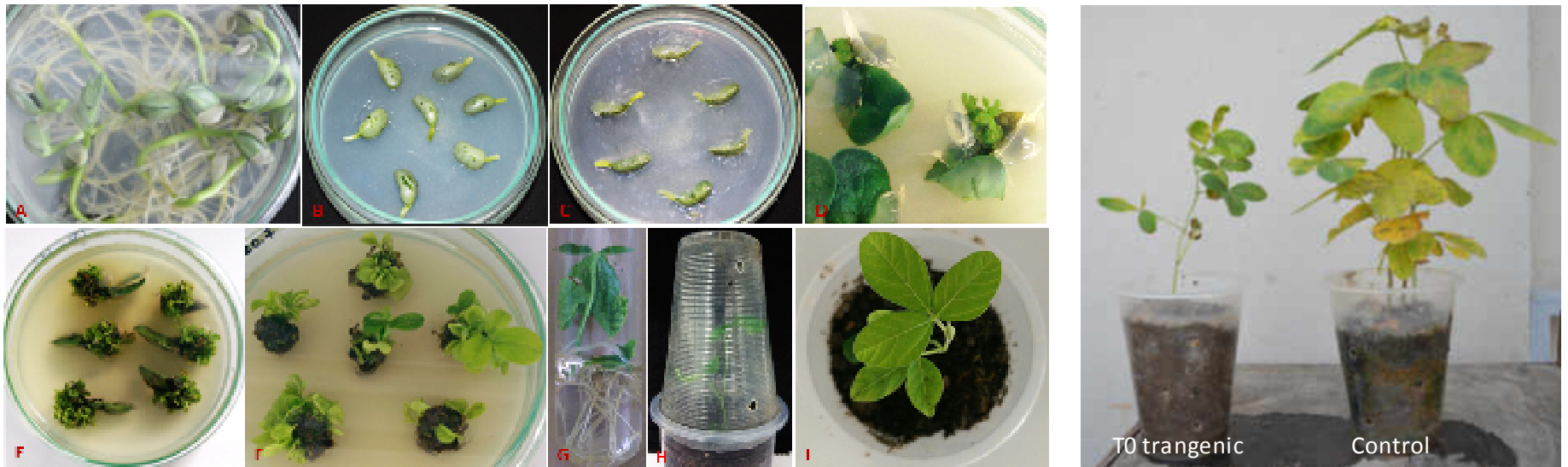


## Biến nạp cấu trúc **35S::GmNAC002** vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 10 thí nghiệm với hơn 3000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 68,85%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt ~ 1%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 21 cây, sau khi phun basta toàn bộ 21 cây này không có biểu hiện kháng.

Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
10	3528	2429	1888	25	68,85	0,99	21	0	0



## Biến nạp cấu trúc **RD29A::GmNAC002** vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 12 thí nghiệm với hơn 3000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 80,44%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt ~ 2,6%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 54 cây, sau khi phun basta thu được 18 cây có biểu hiện kháng. Hiệu quả biến nạp với cấu trúc **RD29A::GmNAC002** tính trên số cây chuyển gen dương tính với phun basta đạt tương ứng 0,5%.

Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
12	3625	2916	2451	75	80,44	2,57	54	18	0,50



## Biến nạp cấu trúc **35S::GmNAC004** vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 11 thí nghiệm với hơn 3000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 69,56%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt 3,84%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 57 cây, sau khi phun basta thu được 2 cây có biểu hiện kháng. Hiệu quả biến nạp với cấu trúc **35S::GmNAC004** tính trên số cây chuyển gen dương tính với phun basta đạt tương ứng 0,07%.

Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
11	3029	2107	1616	81	69,56	3,84	57	2	0,07

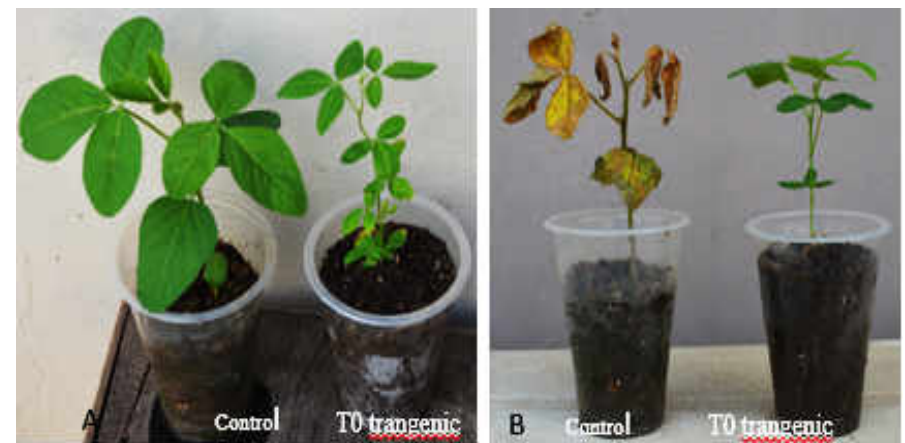
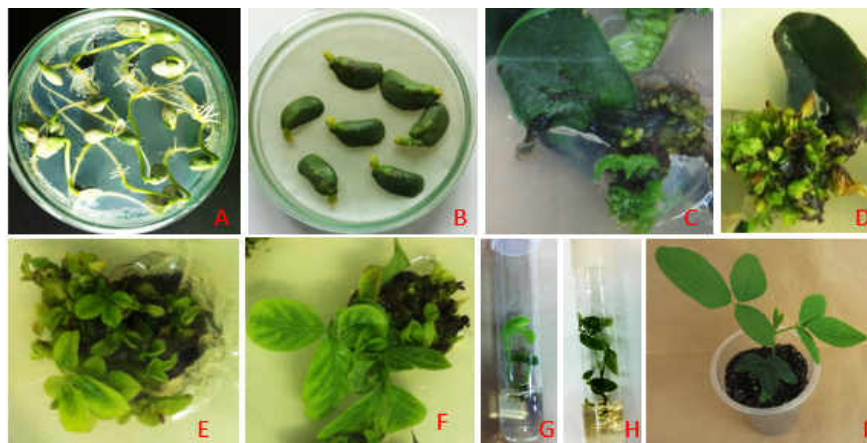


## Biến nạp cấu trúc *RD29A::GmNAC004* vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 10 thí nghiệm với hơn 2000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 64,04%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt ~ 4,7%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 63 cây, sau khi phun basta thu được 44 cây có biểu hiện kháng. Hiệu quả biến nạp với cấu trúc *RD29A::GmNAC004* tính trên số cây chuyển gen dương tính với phun basta đạt tương ứng 1,53%.

Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
10	2870	1838	1253	86	64,04	4,68	63	44	1,53



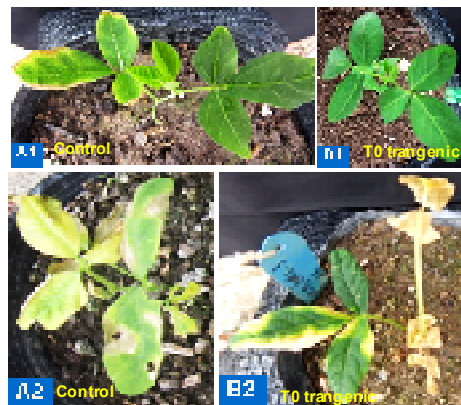


# Biến nạp cấu trúc **35S::GmNAC085** vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 10 thí nghiệm với hơn 3000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 76,43%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt ~ 2,2%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 30 cây, sau khi phun basta 30 cây này không có biểu hiện kháng.

Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
10	3466	2649	2301	58	76,43	2,19	30	0	0



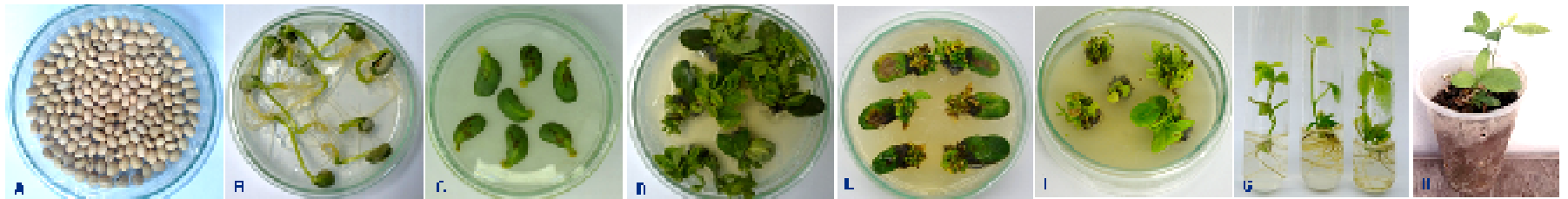


## Biến nạp cấu trúc **RD29A::GmNAC085** vào giống đậu tương ĐT22

Nghiên cứu được tiến hành với tổng số 10 thí nghiệm với hơn 5000 mẫu biến nạp:

- Kết quả các mẫu tạo đa chồi đạt tỷ lệ 60,03%, mẫu sống sót sau giai đoạn chọn lọc đạt 1,93%.
- Số cây chuyển gen ra đất sống sót thu được là 51 cây, sau khi phun basta thu được 15 cây có biểu hiện kháng. Hiệu quả biến nạp với cấu trúc **RD29A::GmNAC085** tính trên số cây chuyển gen dương tính với phun basta đạt tương ứng 0,29%.

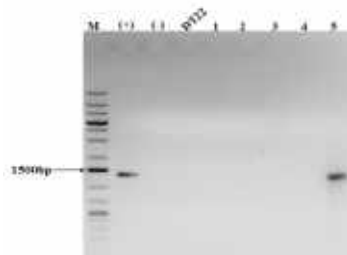
Số thí nghiệm biến nạp	Số lượng mẫu				Tỷ lệ mẫu tạo đa chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sống sót sau chọn lọc (%)	Cây chuyển gen ra đất sống sót	Cây chuyển gen sống sót sau khi phun basta	Hiệu quả biến nạp (%)
	CCM	SIM	SEM	RM					
10	5187	3114	2092	60	60,03	1,93	51	15	0,29



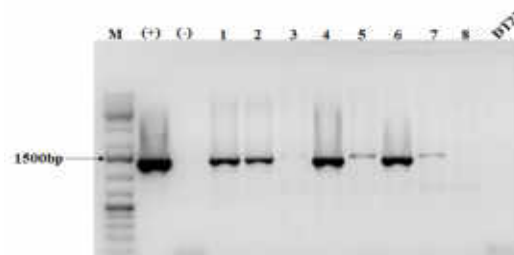
## Phân tích cây đậu tương nhận được sau quá trình biến nạp bằng phương pháp PCR và Southern blot

Từ kết quả biến nạp, nhóm nghiên cứu đã tiến hành phân tích sự có mặt của gen chịu hạn *GmNACs* trong các cây chuyển gen T0 thu được bằng phương pháp PCR và Southern blot, kết quả xác định được:

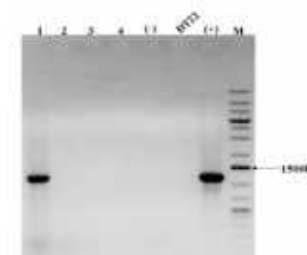
- 16 cây chuyển gen dương tính với phân tích PCR (4 cây chuyển gen *RD29A::GmNAC002*, 8 cây chuyển gen *RD29A::GmNAC004*, 2 cây chuyển gen *35S::GmNAC004*, 2 cây mang cấu trúc *RD29A::GmNAC085*). Trong đó, có 3 cây chuyển gen *RD29A::GmNAC004* dương tính với phân tích Southern blot.



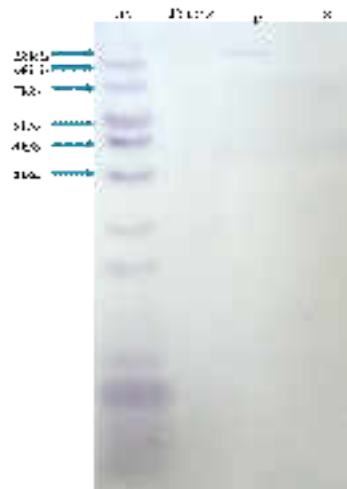
*GmNAC002*



*GmNAC004*



*GmNAC085*



*GmNAC002*



*GmNAC004*



*GmNAC085*

## Đánh giá khả năng chịu hạn của các cây đậu tương chuyển gen giai đoạn cây con



Cây chuyển gen *GmNAC004* 10 ngày tuổi

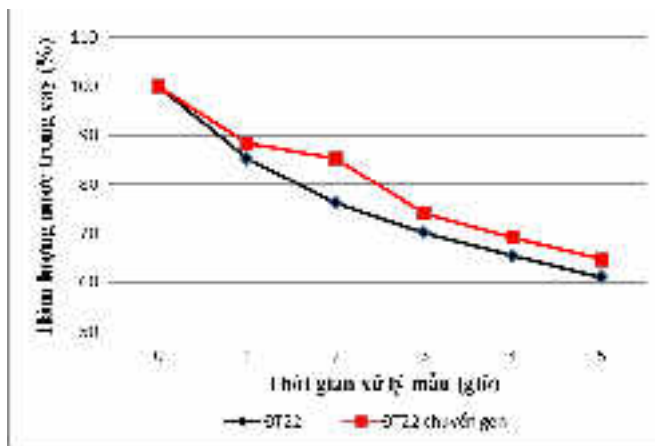


Cây DT22 10 ngày tuổi

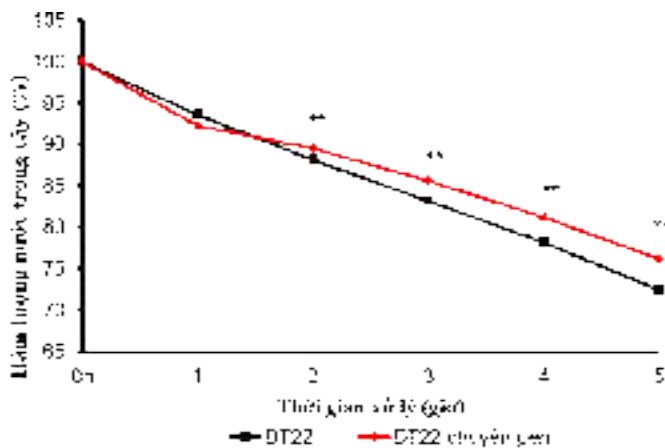


Cây *GmNAC004* và Cây DT22 sau khi ngâm phục hồi

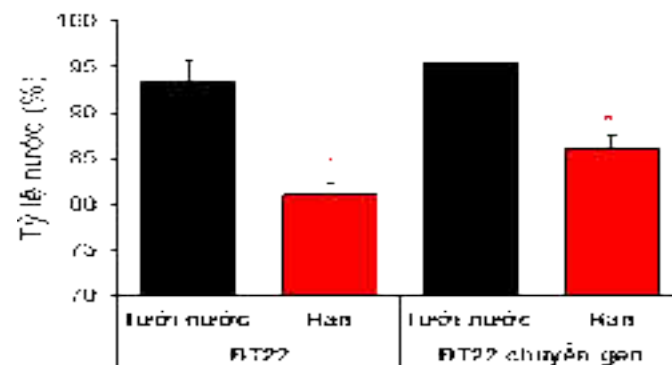
# Đánh giá khả năng chịu hạn của các cây đậu tương chuyển gen giai đoạn cây con



Hình 1: Diễn biến hàm lượng nước trong cây 10 ngày tuổi qua 5 giờ sau thu mẫu (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001)



Hình 2: Diễn biến hàm lượng nước trong cây 25 ngày tuổi qua 5 giờ sau thu mẫu (\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001)



Hình 3: Sự tương nước của cây khi ngâm phục hồi cây trong nước cất qua đêm (\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001)

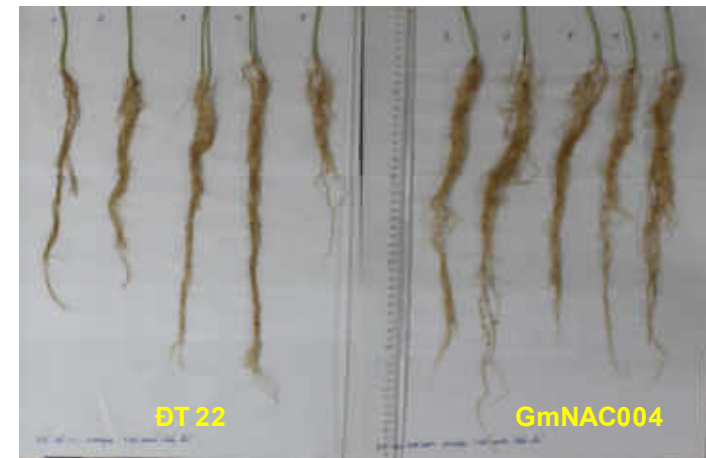
Giai đoạn cây con, bước đầu khẳng định được sự ảnh hưởng của gen chuyển (*GmNAC004*) đến khả năng chịu hạn của cây đậu tương cả trong điều kiện bình thường (tưới nước đầy đủ) và trong điều kiện gây hạn. Sự khác biệt thể hiện rõ ở khả năng giữ nước của cây trong điều kiện ngừng cung cấp nước.

- Thí nghiệm 10 ngày tuổi sau 5 giờ thu mẫu lượng nước trong cây chuyển gen giảm xuống còn 64,26% trong khi cây đối chứng giảm xuống còn 60,36%; thí nghiệm 25 ngày tuổi cũng cho kết quả tương tự cây chuyển gen giảm xuống còn 76,12% trong khi cây đối chứng chỉ còn 72,37%.
- Thí nghiệm đánh giá khả năng chịu hạn thông qua hàm lượng nước tương đối cũng cho thấy sự khác biệt rõ rệt trong điều kiện gây hạn. Hàm lượng nước tương đối trong cây chuyển gen đạt 86% trong khi cây đối chứng chỉ đạt 81,1%.

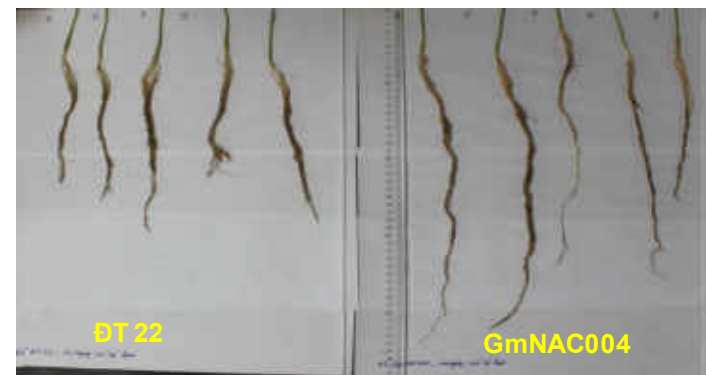
## Đánh giá khả năng chịu hạn của các cây đậu tương chuyển gen giai đoạn ra hoa



Cây chuyển gen và cây đối chứng sau khi xử lý hạn

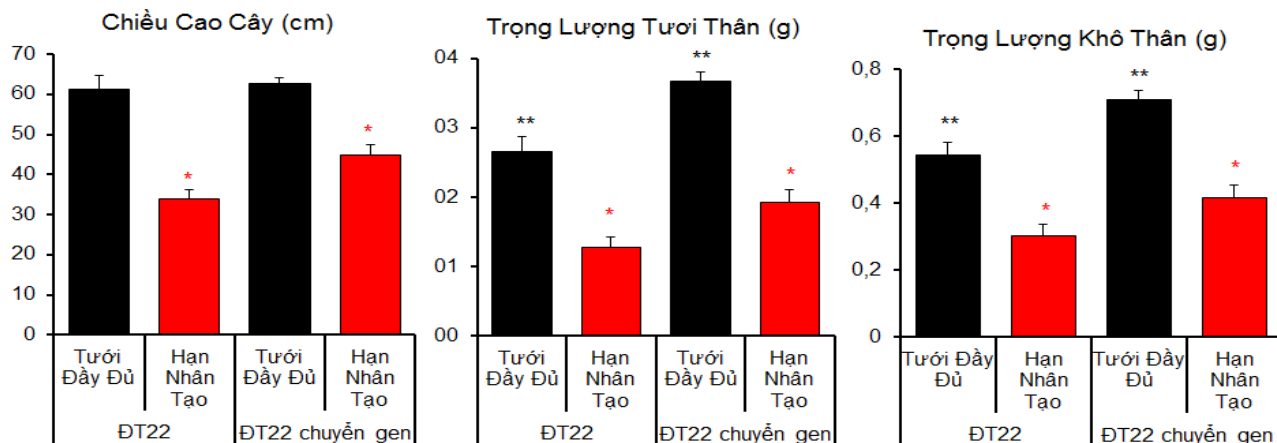


Rễ cây chuyển gen và cây đối chứng trong điều kiện tưới nước đầy đủ

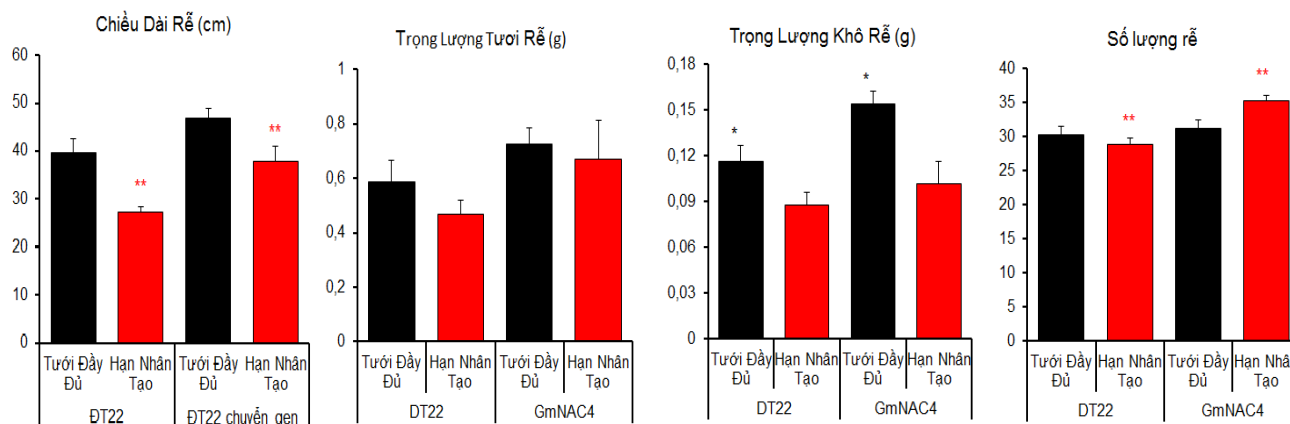


Rễ cây chuyển gen và cây đối chứng trong điều kiện xử lý hạn

## Đánh giá khả năng chịu hạn của các cây đậu tương chuyển gen giai đoạn ra hoa



Hình 1: Sự khác nhau về chiều cao thân, trọng lượng tươi và trọng lượng khô thân ở giai đoạn ra hoa (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ )



Hình 2: Đồ thị Sự phát triển rễ của giống chuyển gene và giống đối chứng trong điều kiện tưới nước đầy đủ và gây hạn ở giai đoạn ra hoa (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ )

- Giai đoạn ra hoa, kết quả đánh giá khả năng chịu hạn thông qua sự phát triển của thân và rễ của cây chuyển gen *GmNAC004* và cây đối chứng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

- Cây chuyển gen cho kết quả tích cực đối với các chỉ tiêu của thí nghiệm trong cả điều kiện bình thường (tươi nước đầy đủ) và điều kiện gây hạn, góp phần tăng số lượng rễ thứ cấp cũng như sinh khối của rễ.



# KẾT LUẬN

---

- Đã thu thập và đánh giá khả năng chống chịu với điều kiện hạn của 22 dòng/giống đậu tương đang trồng phổ biến ở Việt Nam, bao gồm: DT99, DT26, DT96, ĐVN9, DT2010, William82, DT2012, DT2008, 27 Thái Nguyên, 214 Lai Châu, 220 Lạng Sơn, 197 Cao Bằng, 25 Hà Giang, 216 Sơn La, 198 Lào Cai, 218 Bắc Cạn, DT2001, MTĐ176, DT84, DT2, DT2003, 271 Yên Bái, 272 Yên Bái. Trong đó, 2 giống DT2008 và 218 Bắc Cạn có khả năng chịu hạn tốt nhất.
- Đã thu nhận số liệu đánh giá khả năng tiếp nhận gen ngoại lai của các giống đậu tương sử dụng một trong hai chủng vi khuẩn EHA101/GV3101 mang một trong các vector pBI/pGreen/pZY101. Kết quả cho thấy giống đậu tương ĐT22, ĐT26 được biến nạp sử dụng chủng vi khuẩn EHA101 mang vector pZY101 cho hiệu quả biến nạp gen cao.
- Đã tách chiết thành công 3 gen *GmNAC002*, *GmNAC004*, *GmNAC085* từ cDNA giống DT2008 xử lý chịu hạn thông qua khuếch đại bằng phản ứng RT-PCR, đưa vào vector nhân dòng pCR và nhân dòng trong E.coli TOP 10. Sản phẩm được kiểm tra bằng PCR khuôn lạp và giải trình tự so sánh trình tự trên ngân hàng gen với độ tương đồng 96%-100%.
- Đã thiết kế thành công 6 vector biểu hiện mang 1 trong 2 promoter 35S hoặc RD29A điều khiển biểu hiện một trong các gen *GmNAC002*, *GmNAC004*, *GmNAC085* và tạo chủng *Agrobacterium* EHA101 chứa 1 trong 6 vector có khả năng sử dụng để biến nạp gen *GmNAC* vào đậu tương.
- Kết quả chuyển gen *GmNAC* (002, 004, 085) vào giống đậu tương chọn lọc ĐT22 đã thu được 16 cây dương tính (4 cây dương tính với cấu trúc *RD29A::GmNAC002*, 8 cây dương tính với cấu trúc *RD29A::GmNAC004*, 2 cây dương tính với cấu trúc *35S::GmNAC004*, 2 cây dương tính với cấu trúc *RD29A::GmNAC085*), trong đó xác định được 3 cây đậu tương chuyển gen *RD29A::GmNAC004* dương tính với phân tích Southern blot.
- Kết quả đánh giá khả năng chịu hạn ở giai đoạn cây con và giai đoạn ra hoa của một số dòng chuyển gen *RD29::GmNAC004* đã cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với dòng đối chứng.

Đây là kết quả khởi đầu, nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục thực hiện các thí nghiệm phân tích sinh học phân tử cũng như đánh giá khả năng chịu hạn tiếp theo nhằm thu được dòng chuyển gen đồng hợp.



## ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU (2017– 2020)

---

- Chọn lọc các dòng đậu tương chuyển gen *GmNAC* đồng hợp tử.
- Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng đậu tương chuyển gen *GmNAC* đồng hợp trong điều kiện nhà lưới.

Chọn lọc các dòng đậu tương được chuyển gen *GmNAC* đồng hợp tử  
(Trước khi phun basta)

---





Chọn lọc các dòng đậu tương được chuyển gen *GmNAC* đồng hợp tử  
(Sau khi phun basta)



Cây đối chứng ĐT22



Dòng chuyển gen *GmNAC004* T1 phân ly



Dòng chuyển gen *GmNAC004* T3 phân ly



Dòng chuyển gen *GmNAC004* T3 có khả năng đồng hợp



A pair of hands is shown from the bottom center, cupped together and holding a large quantity of yellow soybeans. The background is a vast field of green soybean plants, with rows of plants stretching into the distance under bright, natural light. The overall scene conveys a sense of agricultural abundance and care.

**XIN TRÂN TRỌNG  
CẢM ƠN!**