

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ DÒNG ĐẬU TƯƠNG CHUYỂN GEN KHÁNG THUỐC DIỆT CỎ VÀ KHÁNG SÂU HẠI CÓ TRIỂN VỌNG

ASSESSMENT OF POSSIBILITY HERBICIDE TOLERANCE AND INSECT TOLERANCE OF TRANSGENIC SOYBEAN LINES

Lã Văn Hiền, Dương Thị Thắm, Nguyễn Tiến Dũng

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên (TUAF); hiencnsh87@gmail.com

Tóm tắt - Đánh giá hiệu quả chuyển gen kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu được tiến hành trên đồng ruộng và lấy nhiễm nhân tạo trong phòng thí nghiệm. Kết quả đánh giá 07 cây T0 thu được 05 cây kháng PPT ở bốn mức độ 0,3; 0,5; 0,7 và 1,0 mg/ml. Thế hệ T1, T2 và T3 được phun thuốc basta 0,3% sau 3-5 ngày có tỷ lệ cây kháng thuốc diệt cỏ lần lượt 95,7%, 86,9% và 78,9%. Khả năng kháng sâu có sự biến động ở các dòng đậu tương chuyển gen và đối chứng qua các vụ trồng khác nhau. Thế hệ T1 có sâu cuốn lá và sâu đục quả xuất hiện, lần lượt chiếm tỷ lệ 4,1% và 1,7%. Thế hệ T2 và T3 có tỷ lệ cây bị sâu cuốn lá trung bình 6,5% và 6,9%, tỷ lệ cây bị sâu đục quả trung bình là 5,2% và 4,9%. Kết quả kiểm tra PCR cho thấy gen kháng thuốc diệt cỏ *bar* có kích thước 408 bp và gen *cry1Ac* kích thước 504 bp có mặt ở T0, T1, T2 và T3 ở các cây kiểm tra.

Từ khóa - *Bar*, *cry1Ac*, chuyển gen, đậu tương, kháng sâu.

1. Đặt vấn đề

Những năm gần đây, cây trồng công nghệ sinh học được sản xuất ở nhiều nước với quy mô lớn góp phần đảm bảo an ninh lương thực, thích ứng với biến đổi khí hậu và mang lại hiệu quả kinh tế. Năm 2013, diện tích cây trồng công nghệ sinh học đạt 181,5 triệu ha và được trồng ở 28 quốc gia trên thế giới (ISAAA, 2014). Đậu tương chuyển gen được ưu tiên hàng đầu trong các cây công nghệ sinh học với diện tích 84,5 triệu ha, sản lượng chiếm 79% sản lượng đậu tương toàn cầu (ISAAA, 2014). Năm 2010 nước ta nhập 2,6 triệu tấn đậu tương từ các nước khác để phục vụ nhu cầu sản xuất trong nước (Tổng cục thống kê, 2011). Đậu tương thuộc nhóm cây mẫn cảm với sâu bệnh hại và cạnh tranh của cỏ dại dẫn đến ảnh hưởng đến năng suất và sản lượng. Do vậy, việc nghiên cứu chọn tạo và sản xuất các giống đậu tương chuyển gen trong điều kiện sản xuất ở Việt Nam là cần thiết.

Đến nay, tính trạng kháng thuốc diệt cỏ glufosinate đã được chuyển thành công vào một số giống đậu tương Bert, Lambert, Maverik, Jack, và Williams 82 (Paz et al., 2005). Ở Việt Nam, các giống đậu tương MTĐ176, HL202 đã được chuyển gen *bar* và *soycry1Ac* (Trần Thị Cúc Hòa, 2008), chuyển gen *bar* và gen kháng hạn *GmMYB* vào giống ĐT22 (Nguyễn Văn Đông et al., 2013). Ở nghiên cứu trước, chúng tôi đã tiến hành thăm dò khả năng tái sinh và tiếp nhận gen của hơn 20 giống đậu tương của Việt Nam bao gồm: ĐVN9, VX93, DT84... và nhiều giống địa phương khác (Nguyễn Tiến Dũng et al., 2011). Một trong những giải pháp tăng cường khả năng kháng sâu, kháng thuốc diệt cỏ là sử dụng kỹ thuật chuyển gen trên cây đậu tương rất được quan tâm (Paz et al., 2005; Trần Thị Cúc Hòa, 2008; Nguyễn Tiến Dũng et al., 2011; Nguyễn Văn Đông et

Abstract - Evaluation of transgenic efficiency of herbicide tolerance and insect tolerance is made in the field and artificial infection is made in the laboratory. The results of seven plants of T0 show that there have been five plants tolerated with PPT chemical with concentration of 0.3; 0.5; 0.7 and 1.0 mg per ml. Generation T1, T2 and T3 which are sprayed 0.3 percent of basta after 3-5 days have rate of herbicide resistant plants gradually as 95.7, 86.9 and 78.9 percent. Insect resistance fluctuates in the transgenic soybean lines and is compared with control through different season cultivar. In T1 generation appear leafroller and bollworm accounting for 4.1 and 1.7 percent respectively. In T2 and T3 generation, rate of leafroller plants averages 6.5 and 6.9 percent; the rate of bollworm plants averages 5.2 and 4.9 percent, respectively. The results show that PCR of herbicide resistance gene (*bar* gene) with size 408 bp and size 504 bp of *cry1Ac* gene appear in T0, T1, T2 and T3 generation of tested plants

Key words - *Bar*, *cry1Ac*, transgenic, soybean, insect resistance

al., 2013). Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu chuyển đồng thời hai gen *bar* và *cry1Ac* vào một số giống đậu tương của Việt Nam và đánh giá sự biểu hiện của hai gen trên đồng ruộng.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật gồm giống đậu VX93 do trung tâm Quỹ gen Quốc gia cung cấp.

Chủng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 mang vector pB2WG7 có gen *cry1Ac* đột biến M#2, M#11, M#16 và gen *bar* do Đại học Đông A, Hàn Quốc cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo cây đậu tương chuyển gen

Cây đậu tương chuyển gen được tạo ra bằng phương pháp "hafl seed" của Paz et al (2005) thông qua *Agrobacterium tumefaciens* EHA105.

Đánh giá khả năng kháng thuốc diệt cỏ

Cây đậu tương chuyển gen ở giai đoạn 4 - 5 lá thật và giai đoạn quả chắc xanh được kiểm tra bằng PPT (Sigma) nồng độ 0,3, 0,5, 0,7 và 1,0 mg/ml và thuốc diệt cỏ basta (Bayer) 0,3% theo Paz et al (2005). Lá ở vị trí thứ 3 (từ dưới gốc lên) được quét một vạch ngang lá bằng bông thấm PPT (hình 2b). Tương tự, tiến hành phun 16 lít thuốc diệt cỏ basta 0,3% cho 720 m². Sau 3-5 ngày quan sát biểu hiện của lá, ghi nhận những cây kháng thuốc diệt cỏ không có biểu hiện vàng lá. Tỷ lệ cây kháng thuốc diệt cỏ (%) = $(\sum \text{cây sống} / \sum \text{cây ban đầu}) \times 100$.

Đánh giá khả năng kháng sâu bằng lấy nhiễm sâu nhân tạo

Đánh giá khả năng kháng sâu dựa trên phương pháp của

Walker et al (2000). Cây T1, T2, T3 được trồng trên ruộng thí nghiệm, ở giai đoạn 4-5 lá được theo dõi sâu cuốn lá, cây không có biểu hiện sâu hại được thu mẫu lá để lấy nhiễm nhân tạo ở phòng thí nghiệm. Đối với sâu cuốn lá được thu thập từ đồng ruộng. Sâu non được thu thập từ ruộng thí nghiệm tiếp tục được nuôi ở hộp nhựa kín có nguồn thức ăn bổ sung.

Sau 1 tuần, lựa chọn sâu đồng đều về kích thước để thả vào đĩa petri đã có lá của cây đậu tương chuyển gen được thu mẫu ngoài đồng ruộng. Để tối, 27°C ở phòng thí nghiệm, sau 24 giờ đem ra quan sát, ghi nhận kết quả. Đối với sâu đục quả được theo dõi trên đồng ruộng.

Phân tích kết quả chuyển gen bằng PCR

Thu mẫu lá và tiến hành tách chiết DNA theo phương pháp CTAB của Saghai-Marooof et al (1984) và phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu gen *cryIAC* (*Cosmo*) với mồi xuôi: 5'-ACGTTATTGTGGAGCGGCGT-3' và mồi ngược: 5'-CCTCAGCGTGCTTCGAGACGT-3'; gene *bar* (*Cosmo*) với mồi xuôi: 5'-TCCGTACCGAGCCGCAGGAA-3' và mồi ngược: 5'-CCGGCAGGCTGAAGTCCAGC-3'. Phản ứng PCR diễn ra ở máy luân nhiệt TE thermoCycler- 320 với chu trình nhiệt khởi đầu ở 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ tiếp theo, mỗi chu kỳ gồm 3 giai đoạn (biến tính 95°C trong 30 giây; gắn mồi 55°C trong 45 giây với gen *cryIAC* (30 giây với gen *bar*); kéo dài 72°C

trong 60 giây (30 giây với gen *bar*) và kết thúc kéo dài 72°C trong 2 phút. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1%. Hiện thị kết quả trên máy UV-Wise L50.

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Excell 2010.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tạo dòng và đánh giá thế hệ T0 chuyển gen

Kết quả chuyển gen kháng sâu (*cryIAC*) và gen kháng thuốc diệt cỏ (*bar*) dựa trên đoạn T-DNA được thiết kế mang gen kháng sâu hại *cryIAC* bao gồm ba gen kháng sâu đột biến *cryIAC*-M#2, *cryIAC*(c)-M#11 và *cryIAC*(c)-M#16 và gen *bar*. Gen *bar* có vai trò là gen chỉ thị chọn lọc ở thực vật có chức năng làm bất hoạt (vô hiệu) hoạt chất PPT có trong một số loại thuốc trừ cỏ giúp cây sinh trưởng bình thường.

Kết quả cho thấy trung bình tỷ lệ cây tái sinh sau chọn lọc đạt 5,45% và số cây đưa ra trồng là 13 cây (Bảng 1). Đánh giá 8 cây T0 mang gen *cryIAC*(c)-M#2, *bar* bằng PPT nồng độ 0,3-1,0 mg/l thu được 5 cây kháng PPT sau 3 ngày kiểm tra (Bảng 2). Cây đối chứng không có khả năng sống khi kiểm tra PPT 0,3 mg/ml.

Bảng 1. Kết quả chuyển gen kháng sâu *cryIAC*(c) ở giống đậu tương VX93

Gen chuyển	Tổng số mẫu chuyển (mẫu)	Tỷ lệ tái sinh (%)	Tỷ lệ chọn lọc PPT 10 mg/l (%)	Số cây đưa ra trồng (cây)
<i>cryIAC</i> (c)-M#2, <i>bar</i>	1871	79,0	3,11	8
<i>cryIAC</i> (c)-M#11, <i>bar</i>	1126	95,2	7,65	2
<i>cryIAC</i> (c)-M#16, <i>bar</i>	1743	87,9	5,61	3
<i>Tổng cộng</i>	4740	87,4	5,45	13

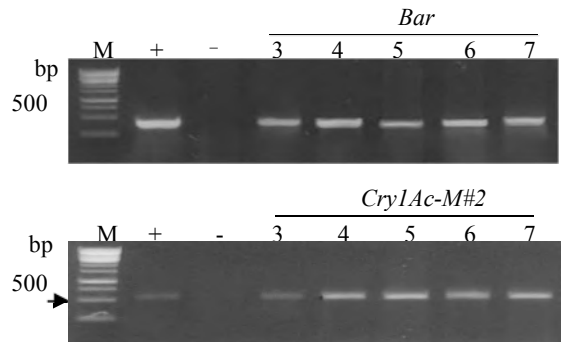
Bảng 2. Khả năng kháng PPT của cây chuyển gen T0 (vụ hè 2011)

Gen chuyển	Dòng	Số cây đưa ra trồng	Số cây đánh giá	Số cây kháng PPT ở nồng độ sau 3 ngày thử (mg/ml)			
				0,3	0,5	0,7	1,0
<i>cryIAC</i> (c)-M#2, <i>bar</i>	VX93	8	7	5	5	5	5
Đối chứng	VX93	9	9	0	0	0	0



Hình 1. Tạo dòng đậu tương chuyển gen T0 (VX93). A – Cây T0; B – Kiểm tra PPT 0,7 mg/ml. C, D – Dòng T0 trong nhà lưới; E - Hạt dòng T0.

Kết quả phân tích PCR cho thấy dòng T0 đều mang hai gen *bar* và *cryIac-M#2*, kích thước lần lượt là 408 bp và 504 bp khi so sánh với plasmid mang hai gen trên. Cây đối chứng không có băng xuất hiện, chứng tỏ không có gen *bar* hoặc *cryIac* (Hình 2).



Hình 2. Phân tích PCR gen *bar* (408 bp) và gen *cryIac-M#2* (504 bp) ở dòng VX93-T0. Từ trái sang phải: M - Marker 1kb, (-) Đối chứng, (+) plasmid mang vector pB2WG7, số 3 – 7 lần lượt là các dòng D35, D98, D57, D73, D132.

3.2. Khả năng kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu thể hệ T1 đến T3 trên đồng ruộng

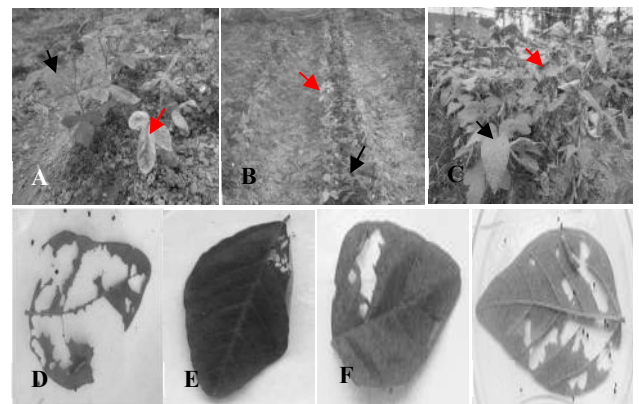
Bảng 3. Khả năng kháng thuốc diệt cỏ basta 0,3% và kháng sâu của đậu tương chuyển gen thể hệ T1 đến T3

Dòng	Số cây đánh giá	0,3% Basta ⁽⁺⁾ (%)			Tỷ lệ cây bị sâu cuốn lá (%)			Tỷ lệ cây bị sâu đục quả (%)		
		T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
D35	50	93,3	89,4	81,5	4,5	5,4	5,8	1,3	6,7	6,3
D98	50	100,0	89,6	84,5	2,7	6,4	6,0	1,7	3,3	4,2
D57	50	92,3	81,4	77,7	4,1	6,2	6,2	2,0	6,7	4,0
D73	50	92,9	84,4	67,0	3,6	6,8	7,1	1,6	4,0	5,0
D132	50	100,0	89,8	83,5	5,6	8,0	9,2	1,9	5,3	5,1
TBCG		95,7	86,9	78,9	4,1	6,5	6,9	1,7	5,2	4,9
CV%		8,1	11,0	8,8	6,8	12,2	9,5	10,1	11,4	10,8

TBCG: Trung bình dòng chuyển gen; D35 đến D132: Dòng chuyển gen; (+): Lá giữ được màu xanh; T1, T2 và T3 lần lượt được đánh giá ở vụ đông 2011, vụ hè 2012 và vụ xuân 2013. Tỷ lệ cây kháng basta 0,3% (%) = (Số cây sống/Σ cây đánh giá) x 100%; Tỷ lệ cây bị sâu cuốn lá (%) = (Số cây có lá cuốn/Σ cây đánh giá) x 100%; Tỷ lệ cây bị sâu đục quả (%) = (Số cây có quả bị đục/Σ cây đánh giá) x 100%.

Sự khác biệt về khả năng kháng thuốc diệt cỏ được thể hiện thông qua biểu hiện của bộ lá, với cây không có khả năng kháng thuốc diệt cỏ lá chuyển sang màu vàng rõ rệt sau 3-5 ngày kiểm tra PPT 0,3 mg/ml hoặc phun thuốc basta 0,3% và cây kháng được vẫn giữ được màu xanh, sinh trưởng bình thường (Hình 3A, B, C). Nhìn chung khả năng kháng thuốc diệt cỏ của dòng T1 vẫn duy trì ở mức cao dao động từ 92,3% đến 100%. Trong đó hai dòng D98 và D132 duy trì được 100%, D35 (93,3%), D73 (92,9%) và D57 (92,3%) cây kháng thuốc diệt cỏ basta 0,3%. Đến dòng T2 và T3 cho thấy tỷ lệ kháng thuốc diệt cỏ có xu hướng giảm dần, đặc biệt hai dòng D98 và D132 có tỷ lệ kháng cao hơn so với các dòng còn lại (Bảng 3). Do vậy, khả năng kháng thuốc diệt cỏ của các giống đánh giá có sự khác nhau rõ rệt về số cây kháng, khả năng duy trì kháng thuốc diệt cỏ trên đồng ruộng. Đối chứng không có khả năng kháng thuốc

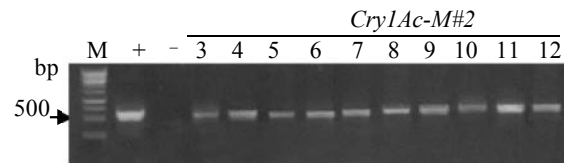
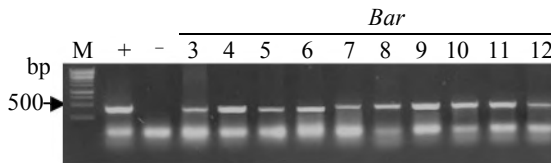
diệt cỏ, tỷ lệ cây chết 100%, lá có biểu hiện vàng sau 5 ngày theo dõi trên đồng ruộng (Bảng 3, Hình 3).



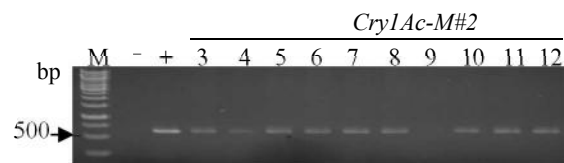
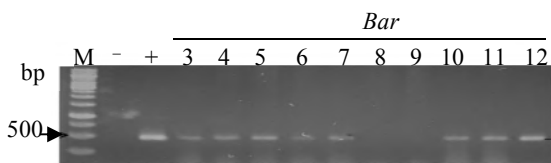
Hình 3. Đánh giá khả năng kháng thuốc diệt cỏ trên đồng ruộng và kháng sâu trong điều kiện lây nhiễm nhân tạo. A, B, C – Kiểm tra khả năng kháng thuốc diệt cỏ Basta 0,3% của dòng VX93 (A, B – T1, T2 giai đoạn 5 lá; C – Thể hệ T3 giai đoạn quả chắc xanh). Mũi tên đỏ thể hiện cây đối chứng có biểu hiện không kháng thuốc diệt cỏ và mũi tên đen thể hiện cho dòng VX93 kháng diệt cỏ Basta 0,3% sau 5 ngày. E, F, G, H – Kết quả lây nhiễm sâu nhân tạo sau 24 giờ để kiểm tra khả năng kháng sâu cuốn lá của dòng VX93 (E – Đối chứng; F – Lá cây T1; G – Lá cây T2; H – Lá cây T3).

Bên cạnh đánh giá hiệu quả kháng thuốc diệt cỏ, yếu tố kháng sâu cũng được đánh giá đồng thời. Kết quả theo dõi và đánh giá sơ bộ khả năng xuất hiện hại loại sâu hại chính trên dòng đậu tương T0 (sâu cuốn lá và sâu đục quả) cho thấy các dòng đậu tương bao gồm các dòng chuyển gen và đối chứng không thấy xuất hiện sâu cuốn lá. Các cây T0 được trồng và chăm sóc trong nhà lưới, nên các loại sâu gây hại được kiểm soát chặt chẽ. Kết quả theo dõi và đánh giá sơ bộ khả năng kháng sâu hại chính (sâu cuốn lá và sâu đục quả) cho thấy các dòng chuyển gen có tỷ lệ cây bị hại thấp hơn so với đối chứng. Nhìn chung, thể hệ T1 (vụ đông 2012) thu được tỷ lệ sâu cuốn lá và sâu đục quả thấp hơn so với T2 (vụ xuân 2013) và T3 (vụ hè 2014).

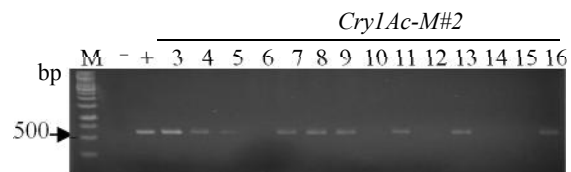
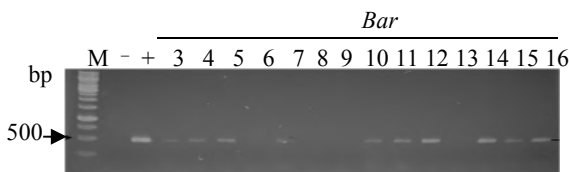
3.3. Phân tích sự biểu hiện gen *bar* và *cryIac-M#2*



Hình 4. Phân tích PCR gen *bar* và gen *cryIac-M#2* ở dòng VX93-T1. Từ trái sang phải: M - Marker 1kb, (-) Đối chứng, (+) plasmid mang vectơ pB2WG7, số 3 – 12 lần lượt là các dòng D35.12, D35.16, D98.14, D98.24, D57.3, D57.13, D73.8, D73.28, D132.2, D132.25.



Hình 5. Phân tích PCR gen *bar* và gen *cryIac-M#2* ở dòng VX93-T2. Từ trái sang phải: M - Marker 1kb, (-) Đối chứng, (+) plasmid mang vectơ pB2WG7, số 3 – 12 lần lượt là các dòng D35.12.2, D35.12.5, D98.14.1, D98.14.3, D57.3.1, D57.3.4, D73.8.2, D73.8.5, D132.2.2, D132.2.3.



Hình 6. Phân tích PCR gen *bar* và gen *cryIac-M#2* ở dòng VX93-T3. Từ trái sang phải: M - Marker 1kb, (-) Đối chứng, (+) plasmid mang vectơ pB2WG7, số 3 – 16 lần lượt là các dòng D35.12.2.1, D35.12.5.2, D35.12.5.3, D98.14.1.2, D98.14.3.4, D98.14.3.5, D57.3.1.1, D57.3.4.3, D57.3.4.4, D73.8.2.1, D73.8.5.2, D73.8.2.1, D132.2.2.1, D132.2.3.2.

Khả năng kháng thuốc diệt cỏ từ T1 đến T3 được thể hiện thông qua bộ lá, cây không có khả năng kháng thuốc diệt cỏ lá chuyển sang màu vàng rõ rệt sau 3 đến 5 ngày kiểm tra PPT 0,3 mg/ml hoặc phun thuốc basta 0,3% và cây kháng được vẫn giữ được màu xanh, sinh trưởng bình thường (Hình 2A, B, C). Đánh giá trên đồng ruộng cho thấy khả năng kháng thuốc diệt cỏ của dòng D98 và D132 cho kết quả duy trì khả năng kháng cao hơn so với các dòng còn lại (Bảng 3). Hoạt động của gen *bar* chuyển vào cây đã kháng hoạt chất PPT hoặc chất glufosinate có trong thuốc diệt cỏ basta giúp cây sinh trưởng bình thường. Tương tự, khả năng kháng sâu cuốn lá và sâu đục thân của các dòng chuyển gen đều thấp hơn so với đối chứng, kết quả PCR cho thấy rõ sự hiện diện của gen *cryIac-M#2* trong cây chuyển gen (Hình 4, 5, 6). Bên cạnh đánh giá ngoài đồng ruộng, nhiều thử nghiệm đánh giá qua lây nhiễm sâu nhân tạo

Để khẳng định được sự có mặt của gen kháng thuốc diệt cỏ *bar* và kháng sâu *cryIac* ở các dòng chuyển gen thông qua kiểm tra PCR. Dòng T1 cho thấy vẫn duy trì biểu hiện của gen *bar* và *cryIac-M#2* so với dòng T0 (Hình 4). Tuy nhiên đến T2 gen *bar* không biểu hiện ở dòng D57.3.1 (số 8) và D73.8.2 (số 9) không có cả gen *bar* và *cryIac-M#2* biểu hiện khi so sánh với plasmid mang hai gen trên (Hình 5). Tương tự, phân tích PCR dòng T3 cho thấy kết quả dòng D98.14.1.2 (số 6), D98.14.3.5, D57.3.4.4 (số 8, 9), D73.8.5.2 (số 13) không có gen *bar* và dòng D98.14.1.2 (số 6), D57.3.4.3 (vị trí số 10), D73.8.2.1 (số 12), D73.8.2.1, D132.2.2.1 (số 14, 15) không có gen *cryIac-M#2* khi so sánh với plasmid (Hình 6). Các dòng còn lại vẫn duy trì được sự biểu hiện của cả hai gen *bar* và *cryIac-M#2*.

trong phòng thí nghiệm được tiến hành (Hình 3D, E, F, G). Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng sự biểu hiện của gen *bar*, *cryIac* ở cây đậu tương chuyển gen đã tăng cường khả năng kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu (Clement et al., 2000; Olhott et al., 2003; Paz et al., 2005; Trần Thị Cúc Hòa, 2008). Tuy nhiên, sự hiện diện của gen *bar* và *cryIac* ở T2 và T3 không duy trì được sự ổn định, điều này cho thấy kết quả thể hiện rõ sự phân ly ở thể hệ T3 đối với cả hai gen *bar* và gen *cryIac* (Hình 5, 6), điều đó chứng tỏ xảy ra phân ly tính trạng ở thể hệ sau. Có thể giải thích rằng gen chuyển vào sẽ chèn vào hệ gen của cây ở các vị trí khác nhau trên nhiễm sắc thể (Gelvin, 2003). Quá trình phân ly tính trạng ở thể hệ sau có thể do gen chuyển vào ở trạng thái dị hợp tử, cây con ở trạng thái đồng hợp lặn sẽ không biểu hiện tính trạng. Mặt khác, nếu gen chuyển bị bất hoạt cũng sẽ không biểu hiện được tính trạng (Gelvin, 2003).

Theo Trần Thị Cúc Hòa, 2010 báo cáo rằng 164 dòng T1 có sự phân ly đối hai gen biến nạp *bar* và *soycry1Ac*, 68 dòng mang cả hai gen, 38 dòng mang gen *bar* và 12 dòng mang gen *soycry1Ac*. Tỷ lệ phân ly gen biến nạp ở thế hệ T1 là 7,3%. Trong nghiên cứu này cho thấy sự biểu hiện của gen *cry1Ac#2* và gen *bar* đến thế hệ T2, T3 có sự biến động qua các thế hệ theo dõi. Tuy nhiên, khả năng kháng thuốc diệt cỏ vẫn được duy trì 100% ở thế hệ T1 đối với gen *bar* và gen *cry1Ac* (Hình 4). Ngoài ra, nghiên cứu đã bước đầu đánh giá khả năng gây hại của sâu cuốn lá trong điều kiện phòng thí nghiệm, với dòng T1 có mức độ bị gây hại ít hơn và giảm dần ở thế hệ T2, T3 (Hình 3D, E, F, G). Hơn nữa, khả năng kháng thuốc diệt cỏ duy trì 100% ở thế hệ T1 đối với gen *bar* và gen *cry1Ac* (Hình 4). Một số dòng D35, D98, D132 vẫn duy trì được sự hiện diện của gen *bar* và gen *cry1Ac#2* ở thế hệ T2 và T3 ổn định (Hình 5, 6).

4. Kết luận

Tóm lại, qua đánh giá hiệu quả kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu cho thấy các dòng đậu tương chuyển gen T1 duy trì 100% sự biểu hiện gen *bar* và *cry1Ac-M#2* từ thế hệ T0 đến T1. Kết quả đánh giá thế hệ T3 cho thấy khả năng biểu hiện ổn định của gen *bar* và *cry1Ac-M#2* ở một số dòng D35, D98, D132. Do vậy, dòng đậu tương chuyển gen VX93 có khả năng kháng thuốc diệt cỏ và kháng sâu là cơ sở chọn tạo và phát triển thành giống chuyển gen sau này.

Lời cảm ơn: Để đạt được những kết quả trong bài báo này, chúng tôi xin chân thành cảm ơn sự hợp tác và giúp đỡ từ Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam và trường Đại học Đông A, Hàn Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Clemente TE, Vallee BJL, Howe AR, Ward DC, Rozman RJ, Hunter PE, Broyles DL, Kasten DS, Hinchee MA. Progeny analysis of glyphosate selected transgenic soybeans derived from *Agrobacterium* – mediated transformation. *Crop Sci*, 2000, 40: 797 – 803.
- [2] Gelvin SB. *Agrobacterium*-Mediated Plant Transformation: the Biology behind the “Gene-Jockeying” Tool, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2003, 67: 16 – 37.
- [3] ISAAA Brief No. 49. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications, Ithaca, NY, USA, 2014.
- [4] Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thị Tinh, Bùi Trí Thức, Ngô Xuân Bình. Nghiên cứu khả năng tiếp nhận gen của một số giống đậu tương (*Glycine max* (L.) Meril) của Việt Nam thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. *Kỷ yếu Hội thảo Khoa học Công nghệ tuổi trẻ các trường Đại học và Cao đẳng khối Nông – Lâm – Ngư – Thủy toàn quốc lần thứ V*, 2011, 338 – 343.
- [5] Nguyễn Văn Đồng, Nguyễn Anh Vũ, Nguyễn Hữu Kiên, Dương Tuấn Bảo. Nghiên cứu biến nạp gen liên quan đến khả năng kháng hạn và kháng thuốc trừ cỏ vào giống đậu tương ĐT22. *Tạp chí NN&PTNT*, 2013, 6:3 – 9.
- [6] Olhoft PM, Flagel LE, Donovan CM, Somers DA. Efficient soybean transformation using hygromycin B selection in the cotyledonary – node method. *Original Article*, 2003, 216: 723 – 735.
- [7] Paz MM, Martinez JC, Kalvig AB, Fonger TM, Wang K. Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient *Agrobacterium*-mediated soybean transformation. *Plant Cell Rep*, 2005, 206 – 213.
- [8] Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, and Allard RW. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81: 8014 – 8018.
- [9] Trần Thị Cúc Hòa. Hiệu quả tạo dòng đậu tương biến đổi gen từ giống MTĐ176, HL202, Maverik, Williams82 bằng phương pháp nốt lá mầm qua trung gian *Agrobacterium tumefaciens*. *Tạp chí NN&PTNT*, 2008, 1: 14 – 19.
- [10] Tổng cục thống kê 2010. Niên giám thống kê 2009.
- [11] Walker DR, All JN, Phenson RM, Boerma HR and Parrot WA. Field evaluation of soybean engineered with a synthetic *cry1Ac* transgene for resistance to corn earworm, soybean looper and velvetbean caterpillar (*Lepidoptera*: Noctuidae) and lesser cornstalk borer (*Lepidoptera*: Pyralidae). *J Econ Entomol*, 2000, 93: 613 – 622.

(BBT nhận bài: 19/10/2016, hoàn tất thủ tục phản biện: 11/12/2016)