

Nghiên cứu sự đa dạng sinh học của một số giống đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) phục vụ công tác chọn giống và bảo tồn nguồn gen cây đậu xanh

Nguyễn Vũ Thanh Thanh - Nguyễn Văn Tuân (Khoa KH Tự nhiên & Xã hội - ĐH Thái Nguyên)

I. Mở đầu

Đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) là cây trồng có vị trí quan trọng trong nền nông nghiệp của nhiều nước, trong đó có Việt Nam. Đậu xanh không những là nguồn thực phẩm giàu đạm, đáp ứng nhu cầu về dinh dưỡng của con người, vật nuôi mà còn có tác dụng cải tạo và bồi dưỡng đất do rễ cây đậu xanh có các nốt sần chứa vi sinh vật cố định đạm sống cộng sinh [3].

Các giống đậu xanh ở nước ta hiện rất phong phú và đa dạng, có nguồn gốc từ nhiều địa phương trong cả nước và nhập về từ các trung tâm đậu đỗ trên thế giới. Trên cơ sở nguồn gen đa dạng của cây đậu xanh ở nước ta mà việc nghiên cứu chọn giống đậu xanh chủ yếu dựa vào kết quả đánh giá năng suất và sản lượng trên đồng ruộng, đánh giá chất lượng hạt trên phương diện hoá sinh [5], [7] để tuyển chọn những giống đậu xanh thích hợp theo mục đích mà ít đi sâu phân tích tính đa dạng của loại cây trồng này. Tính đa dạng của các giống đậu xanh không chỉ thể hiện ở các tính trạng hình thái, nông học và năng suất, mà còn thể hiện trong cấu trúc của các đại phân tử protein và ADN; biểu hiện ở đặc tính sinh lý, hóa sinh và sự phản ứng của kiểu gen trước điều kiện ngoại cảnh. Từ những biểu hiện đa dạng về kiểu gen và kiểu hình có thể xác định được mối quan hệ họ hàng trên cơ sở xác định hệ số giống và khác nhau giữa các nguồn gen nghiên cứu [4]. Chính vì vậy nghiên cứu sự đa dạng sinh học của các giống đậu xanh sẽ góp phần tuyển chọn giống đậu xanh ưu việt giới thiệu cho sản xuất hoặc làm nguyên liệu cho lai giống.

II. Vật liệu và phương pháp

1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là hạt của 11 giống đậu xanh khác nhau. Trong đó, 8 giống sưu tập tại một số địa phương và 3 giống do Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm đậu đỗ - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam cung cấp (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm của 11 giống đậu xanh

| TT | Tên giống | Nguồn gốc | Khối lượng 1000 hạt (g) | Màu vỏ hạt |
|----|------------|------------------------|-------------------------|------------|
| 1 | HB2 | Hoà Bình - Việt Nam | 57,40 ± 0,25 | Xanh mốc |
| 2 | LC2 | Lai Châu - Việt Nam | 51,36 ± 0,28 | Xanh mốc |
| 3 | Vĩnh Phúc | Vĩnh Phúc - Việt Nam | 41,40 ± 0,44 | Xanh mốc |
| 4 | VC6144 | VKHNNVN | 59,30 ± 0,64 | Nâu bóng |
| 5 | Ninh Thuận | VKHNNVN | 60,50 ± 0,84 | Xanh bóng |
| 6 | LC3 | Lai Châu - Việt Nam | 49,46 ± 0,18 | Xanh bóng |
| 7 | LC 1 | Lai Châu - Việt Nam | 45,15 ± 0,24 | Xanh mốc |
| 8 | HB1 | Hoà Bình - Việt Nam | 61,00 ± 0,60 | Xanh bóng |
| 9 | Sông Công | Thái Nguyên - Việt Nam | 53,25 ± 0,55 | Xanh mốc |
| 10 | 263 | VKHNNVN | 41,20 ± 0,55 | Xanh bóng |
| 11 | Cao Bằng | Cao Bằng - Việt Nam | 55,32 ± 0,33 | Xanh mốc |

2. Phương pháp nghiên cứu

- Chiết và định lượng lipid tổng số dựa vào khả năng hoà tan của lipid trong dung môi hữu cơ. Chiết lipid từ bột đỗ xanh bằng petroleum ether ở 4⁰C, li tâm 12000 vòng/phút. Hàm

lượng lipid được tính bằng hiệu số giữa khối lượng mẫu trước khi chiết và khối lượng mẫu sau khi chiết theo phần trăm khối lượng khô.

- Định lượng protein tan tổng số theo phương pháp của Lowry được mô tả theo tài liệu của Phạm Thị Trân Châu và cộng sự [1]. Xác định hoạt tính protease theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch được mô tả theo tài liệu của Nguyễn Lâm Dũng và cộng sự [2]. Xác định hoạt độ α - amylase theo phương pháp Heinkel được mô tả theo tài liệu của Nguyễn Văn Mùi [6], Phạm Thị Chân Châu và cộng sự [1].

- Xác định hệ số tương đồng, hệ số khác nhau và sơ đồ hình cây mô tả sự đa dạng của các giống đậu xanh được thực hiện theo chương trình NTSYSpc-2.02i. Hệ số đa dạng được tính theo công thức: $H_{bio} = 1 - \sum Pi^2$. Trong đó: H_{bio} là hệ số đa dạng; Pi là tần suất lặp alen thứ i [6].

III. Kết quả và thảo luận

1. Hàm lượng lipid và protein trong hạt của một số giống đậu xanh

Phân tích hàm lượng protein và lipid là cơ sở để đánh giá chất lượng hạt của các giống trên phương diện hoá sinh. Kết quả phân tích hàm lượng lipid và protein của 11 giống đậu xanh nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng lipid và protein tan trong hạt của 11 giống đậu xanh (% khối lượng khô)

| TT | Tên giống | Hàm lượng lipid (%) | Hàm lượng protein (%) |
|----|------------|---------------------|-----------------------|
| 1 | HB2 | 5,37 ± 0,17 | 26,75 ± 0,21 |
| 2 | LC2 | 6,02 ± 0,20 | 24,84 ± 0,14 |
| 3 | Vĩnh Phúc | 6,11 ± 0,17 | 22,17 ± 0,09 |
| 4 | VC6144 | 5,80 ± 0,13 | 24,54 ± 0,27 |
| 5 | Ninh Thuận | 7,07 ± 0,12 | 20,99 ± 0,22 |
| 6 | LC3 | 6,20 ± 0,13 | 21,49 ± 0,22 |
| 7 | LC 1 | 6,13 ± 0,03 | 21,13 ± 0,10 |
| 8 | HB1 | 4,87 ± 0,15 | 26,99 ± 0,15 |
| 9 | Sông Công | 5,73 ± 0,31 | 24,49 ± 0,12 |
| 10 | 263 | 5,84 ± 0,10 | 23,42 ± 0,15 |
| 11 | Cao Bằng | 5,43 ± 0,05 | 26,20 ± 0,32 |

Bảng 2 cho thấy, hàm lượng lipid và hàm lượng protein tan trong hạt của 11 giống đậu xanh có sự sai khác nhau. Hàm lượng lipid của các giống dao động trong khoảng 4,87% - 7,07%. Trong đó, giống HB1 có hàm lượng lipid thấp nhất (4,87%), giống có hàm lượng lipid cao nhất là giống Ninh Thuận (7,07%). Hàm lượng protein tan trong hạt của các giống đậu xanh nghiên cứu dao động trong khoảng 20,99% - 26,99%, cao nhất là giống HB1 (26,99%), thấp nhất là giống Ninh Thuận (20,99%). Các giống HB1, HB2 có hàm lượng lipid thấp thì hàm lượng protein lại cao. Giống HB1 có hàm lượng lipid thấp nhất (4,87%) thì hàm lượng protein lại cao nhất (26,99%). Ngược lại, giống Ninh Thuận có hàm lượng lipid cao nhất (7,07%) thì hàm lượng protein lại thấp (20,99%). Như vậy, hàm lượng protein và lipid có thể có mối tương quan nghịch. Để khẳng định điều này, chúng tôi tiến hành xác định hệ số tương quan giữa hai đặc điểm này và kết quả đã cho thấy, hàm lượng protein và lipid có mối tương quan nghịch chặt chẽ, với hệ số tương quan $r = 0,87$, phương trình hồi quy là: $Y = - 0,642X + 27,76$.

2. Hoạt độ α - amylase và protease của 11 giống đậu xanh ở giai đoạn hạt nảy mầm

Protein trong hạt của đậu xanh chủ yếu là protein dự trữ. Ngoài ra còn có các protein có bản chất là enzyme như α - amylase, protease,... α - amylase là enzyme tham gia thủy phân tinh bột tạo thành đường. Đường có vai trò làm tăng áp suất thẩm thấu của tế bào, từ đó làm tăng tính chống chịu của thực vật với các yếu tố cực đoan từ môi trường, giúp cây non phát triển bình thường. Protease cũng là một enzyme đóng vai trò rất quan trọng trong quá trình nảy mầm của hạt, sự phát triển của cây non và có liên quan đến khả năng chịu mất nước của tế bào. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu hoạt tính của α - amylase và protease của 11 giống đậu xanh ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi, kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Hoạt động của α - amylase và protease của 11 giống đậu xanh ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi

| TT | Tên giống | Hoạt độ của α - amylase (ĐVHĐ/mg) | Hoạt độ của protease (ĐVHĐ/mg) | | |
|----|------------|--|--------------------------------|-------------|-------------|
| | | | d (cm) | D (cm) | D - d (cm) |
| 1 | HB2 | 0,941 ± 0,045 | 0,9 | 3,02 ± 0,27 | 2,12 ± 0,27 |
| 2 | LC2 | 0,702 ± 0,022 | 0,9 | 2,57 ± 0,05 | 1,67 ± 0,05 |
| 3 | Vĩnh Phúc | 0,734 ± 0,008 | 0,9 | 2,60 ± 0,03 | 1,70 ± 0,03 |
| 4 | VC6144 | 0,773 ± 0,009 | 0,9 | 2,72 ± 0,06 | 1,82 ± 0,06 |
| 5 | Ninh Thuận | 0,535 ± 0,017 | 0,9 | 2,52 ± 0,04 | 1,62 ± 0,04 |
| 6 | LC3 | 0,716 ± 0,032 | 0,9 | 2,83 ± 0,17 | 1,93 ± 0,17 |
| 7 | LC 1 | 0,573 ± 0,020 | 0,9 | 2,49 ± 0,05 | 1,59 ± 0,05 |
| 8 | HB1 | 0,842 ± 0,012 | 0,9 | 2,93 ± 0,11 | 2,03 ± 0,11 |
| 9 | Sông Công | 0,650 ± 0,010 | 0,9 | 2,61 ± 0,03 | 1,71 ± 0,03 |
| 10 | 263 | 0,661 ± 0,022 | 0,9 | 2,67 ± 0,04 | 1,77 ± 0,04 |
| 11 | Cao Bằng | 0,752 ± 0,014 | 0,9 | 2,64 ± 0,10 | 1,74 ± 0,10 |

Bảng 3 cho thấy, hoạt độ của α - amylase của các giống đậu xanh nghiên cứu ở giai đoạn 5 ngày tuổi là khá cao và có sự khác nhau đáng kể. Hoạt độ α - amylase ở giai đoạn 5 ngày tuổi dao động trong khoảng 0,535 - 0,941 (ĐVHĐ/mg), trong đó giống HB2 có hoạt độ cao nhất (0,941 ĐVHĐ/mg), giống có hoạt độ thấp nhất là giống Ninh Thuận (0,535 ĐVHĐ/mg). Hoạt tính protease ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi của 11 giống đậu xanh nghiên cứu là rất khác nhau. Giống HB2 có đường kính vòng phân giải lớn nhất (2,12 cm), giống LC1 có đường kính vòng phân giải nhỏ nhất (1,59 cm) (Hình 1).



Hình 1. Hoạt tính protease của 11 giống đậu xanh ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi

1. HB2; 2. LC2; 3. Vĩnh Phúc; 4. VC6144; 5. Ninh Thuận; 6. LC3; 7. LC1; 8. HB1; 9. Sông Công; 10. 263; 11. Cao Bằng.

Có thể nhận xét rằng, các giống HB2, HB1 có hàm lượng protein trong hạt cao thì có hoạt tính của protease ở giai đoạn hạt nảy mầm cũng cao, cao nhất là giống HB2; ngược lại, các giống Ninh Thuận, LC1 có hàm lượng protein trong hạt thấp thì có hoạt tính của protease ở giai đoạn nảy mầm cũng thấp. Kết quả phân tích mối tương quan giữa hàm lượng protein trong hạt và hoạt tính của protease ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi cho thấy, hệ số tương quan $r = 0,61$, phương trình tương quan hồi quy là: $Y = 0,416X + 21,416$.

3. Sự đa dạng sinh học của các giống đậu xanh nghiên cứu

Từ sự phản ứng của kiểu gen các giống đậu xanh biểu hiện ở một số đặc điểm hóa sinh chúng tôi đã xác định hệ số đa dạng sinh học theo công thức: $H_{bio} = 1 - \sum P_i^2$, kết quả tính toán hệ số đa dạng sinh học của các giống đậu xanh nghiên cứu là $H_{bio} = 79,83\%$. Để có cơ sở cho việc tuyển chọn giống đậu xanh ưu việt chúng tôi đã xác định khoảng cách di truyền và mối quan hệ giữa các giống đậu xanh bằng chương trình NTSYSp-2.02i trên cơ sở của sự biểu hiện các tính trạng hình thái, hóa sinh của các giống đậu xanh này (Bảng 4).

Bảng 4. Hệ số khác nhau về sự biểu hiện kiểu hình của 11 giống đậu xanh

1- HB2; 2-LC2; 3-Vĩnh Phúc; 4- VC6144; 5- Ninh Thuận; 6- LC3; 7- LC1;
8- HB1; 9-Sông Công; 10- 263; 11- Cao Bằng

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | 0,00 | | | | | | | | | | |
| 2 | 3,25 | 0,00 | | | | | | | | | |
| 3 | 2,53 | 1,16 | 0,00 | | | | | | | | |
| 4 | 9,81 | 1,78 | 5,68 | 0,00 | | | | | | | |
| 5 | 5,55 | 6,75 | 1,26 | 1,89 | 0,00 | | | | | | |
| 6 | 7,89 | 8,78 | 3,41 | 4,75 | 2,92 | 0,00 | | | | | |
| 7 | 7,21 | 2,34 | 1,47 | 1,54 | 5,42 | 4,22 | 0,00 | | | | |
| 8 | 2,65 | 1,09 | 4,41 | 4,42 | 4,09 | 8,99 | 1,45 | 0,00 | | | |
| 9 | 1,12 | 2,17 | 2,35 | 7,69 | 4,76 | 3,89 | 3,35 | 4,08 | 0,00 | | |
| 10 | 3,56 | 2,36 | 3,38 | 8,25 | 1,68 | 5,68 | 3,10 | 6,25 | 3,99 | 0,00 | |
| 11 | 4,26 | 1,72 | 2,07 | 1,24 | 6,06 | 8,84 | 5,90 | 4,53 | 1,04 | 3,37 | 0,00 |

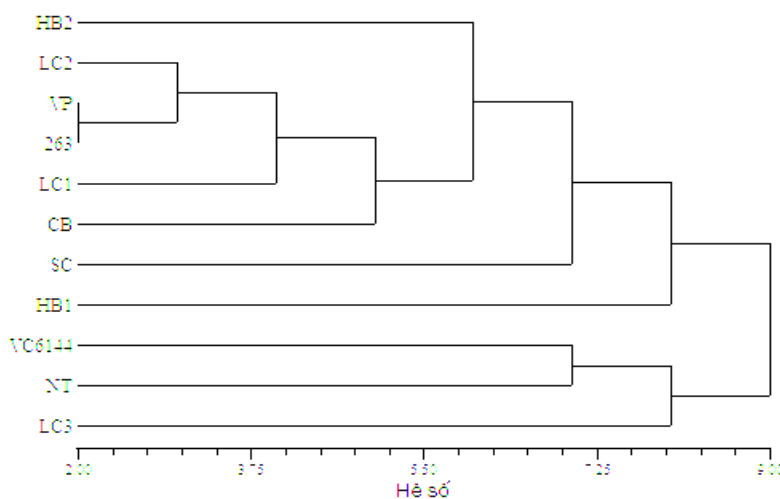
Bảng 4 cho biết kết quả về khoảng cách của mỗi cặp giống đậu xanh nghiên cứu và hệ số khác nhau của mỗi cặp giống dao động từ 1,04 đến 9,81. Hai giống đậu xanh HB2 và VC6144 có khoảng cách di truyền lớn nhất (9,81), hai giống Sông Công và Cao Bằng có khoảng cách là thấp nhất (1,04). Tổng hợp các dữ kiện của cả 11 giống đậu xanh sơ đồ hình cây ở hình 2 đã mô tả mối quan hệ họ hàng của các giống đậu xanh nghiên cứu. Kết quả ở hình 2 cho thấy 11 giống đậu xanh chia làm 2 nhóm lớn, nhóm I gồm 3 giống LC3, NT, VC6144 và nhóm II gồm 8 giống: HB2, LC2, VP, 263, LC1, CB, SC, HB1. Hai nhóm có hệ số khác nhau lớn hơn 9,00. Ba giống đậu xanh (LC3, NT, VC6144) của nhóm I có hệ số khác nhau từ 5,85 - 7,95. Nhóm II chia làm 4 nhóm phụ, trong đó có 3 nhóm phụ mà mỗi nhóm chỉ có một giống (HB1, HB2 và SC), nhóm phụ còn lại gồm 5 giống: CB, LC1, LC2, VP, 263 và hai giống VP và 263 có hệ số khác nhau nhỏ nhất (2,00).

IV. Kết luận

- Hàm lượng lipid và hàm lượng protein tan trong hạt có mối tương quan nghịch chặt chẽ. Các giống có hàm lượng lipid cao là giống Ninh Thuận (7,07%), giống LC3 (6,20%). Các giống có hàm lượng protein cao là giống HB1 (26,99%), HB2 (26,75%).

- Nghiên cứu khả năng hoạt động của α - amylase và protease ở giai đoạn hạt nảy mầm 5 ngày tuổi đã cho thấy sự khác nhau về hoạt tính của hai enzyme này ở các giống đậu xanh nghiên cứu. Các giống có hoạt độ α - amylase cao là giống HB2 (0,941 ĐVHĐ/mg) và HB1 (0,842 ĐVHĐ/mg). Đây cũng là các giống có hoạt tính protease cao nhất. Ngược lại, các giống có hoạt độ α - amylase thấp là giống Ninh Thuận (0,535 ĐVHĐ/mg) và giống LC1 (0,573 ĐVHĐ/mg). Đây cũng là các giống có hoạt tính protease thấp nhất.

- Các giống đậu xanh nghiên cứu có hệ số đa dạng sinh học $H_{bio} = 79,83\%$ và được phân bố trong hai nhóm với khoảng cách di truyền dao động từ 1,04 - 9,81. Có thể sử dụng các giống thuộc các nhóm có hệ số khác nhau lớn để giới thiệu cho sản xuất và làm vật liệu chọn giống.



Hình 2. Sơ đồ hình cây mô tả mối quan hệ của 11 giống đậu xanh

Summary

The study on biodiversity of some mungbean cultivars (*Vigna radiata* (L.) Wilzeck) to serve the selection and the conservation of mungbean genome

Nguyen Vu Thanh Thanh, Nguyen Van Tuan

The seeds of 11 mungbean cultivars were used for analyses of protein and lipid content in the seed and enzyme activity. The total lipid content in the seeds was from 4.87% to 7.07% of dry weight and this value was highest in Ninh Thuan cultivar. The protein content in the seeds was 20.99% - 26.99% of dry weight. The protein content was inversely proportional to the lipid content.

The alpha amylase activity in the third was 0.535 – 0.941 (U/mg) and this value was highest in HB2 cultivar. The protease activity in the third was highest in HB2 and HB1 cultivars.

The dissimilar coefficients of response of 11 mungbean genotype are determined by NTSYSpc-2.02i program. The dendrogram is established for two groups, LC3, NT, VC6144 in one, and HB2, LC2, VP, 263, LC1, CB, SC, HB1 in other. And the biodiversity coefficient of the mungbean cultivars, H_{bio} , is 79,83 %.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thị Hiền, Phùng Gia Tường (1998), *Thực hành hoá sinh học*, Nxb Giáo dục, Hà Nội.
- [2]. Nguyễn Lâm Dũng và cộng sự (1978), *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật*, Tập 3: 107 – 159, Nxb Khoa học & kỹ thuật, Hà Nội.
- [3]. Trần Đình Long, Lê Khả Tường (1998), *Cây đậu xanh*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4]. Chu Hoàng Mậu, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Vũ Thanh Thanh, Nguyễn Thị Vân Anh (2007), “Sự đa dạng về kiểu gen và kiểu hình chịu hạn của một số giống lúa cạn địa phương miền núi”, *Tuyển tập Báo cáo khoa học tại Hội nghị toàn quốc Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống*.
- [5]. Chu Hoàng Mậu, Nguyễn Vũ Thanh Thanh, Ninh Thị Thanh Vân (2006), “Đặc điểm hình thái, hoá sinh và thành phần axit amin trong protein hạt của một số giống đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - ĐHTN*, 4(40): 91 - 97.
- [6]. Nguyễn Văn Mùi (2002), *Xác định hoạt độ enzyme*, Nxb Khoa học & kỹ thuật, Hà Nội.
- [7]. Nguyễn Vũ Thanh Thanh, Chu Hoàng Mậu (2003), “Đánh giá chất lượng hạt của một số giống đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)”, Nxb Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.