

TẠO DÒNG ĐỘT BIẾN KÉP *ahl/beh3* BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỤ PHẦN CHÉO TRONG NGHIÊN CỨU KHÁNG STRESS PHI SINH HỌC Ở CÂY *Arabidopsis*

Nguyễn Văn Tịnh¹

Ngày nhận bài: 26/8/2021; Ngày phản biện thông qua: 27/9/2021; Ngày duyệt đăng: 30/9/2021

TÓM TẮT

Đột biến đơn dòng *ahl* và *beh3* được tạo ra bởi sự gắn chèn T-DNA ở các gen *AHL*, mã hóa cho enzyme tham gia quá trình sulfate hóa, và gen *BEH3*, mã hóa cho yếu tố tham gia điều hòa đáp ứng tín hiệu hormone Brassinosteroid, ở *Arabidopsis*. Các dòng đột biến đơn gen này đã được chứng minh có khả năng chống chịu khác nhau đối với các stress phi sinh học như thâm thấu, hạn hán hay độ mặn phụ thuộc vào vai trò điều hòa của Proline, Cystein và hormone Brassinosteroid nội sinh. Sự kết hợp của cả hai đột biến này là phương pháp nghiên cứu mối liên quan trực tiếp của các yếu tố nội sinh nói trên trong đáp ứng stress ở *Arabidopsis*, tuy nhiên phương pháp tạo đột biến T-DNA rất phức tạp và đòi hỏi kỹ thuật cao. Ở nghiên cứu này, tác giả đã sử dụng phương pháp thụ phần chéo để lai giữa hai dòng đột biến đơn *ahl* và *beh3* nhằm tạo ra dòng đột biến kép *ahl/beh3*. Sử dụng phương pháp PCR khảo sát trên genomic DNA của các cây thụ phần chéo thành công, dòng đột biến kép *ahl/beh3* được xác định tại cả hai vị trí *AHL* và *BEH3*. Kết quả đã thu được 18 cây mang đột biến kép *ahl/beh3*. Sàng lọc phân tử cho thấy, các gen chỉ thị liên quan đến sự đáp ứng stress thâm thấu biểu hiện ở dòng đột biến kép *ahl/beh3* tương tự so với các dòng đột biến *beh3*. Điều này cho thấy *BEH3* có thể là upstream của *AHL* trong con đường đáp ứng stress ở *Arabidopsis*.

Từ khóa: *ahl*, *beh3*, Brassinosteroid, Cysteine, Proline, Stress phi sinh học, Thụ phần chéo.

1. MỞ ĐẦU

Thực vật thường xuyên phải tiếp xúc với các loại điều kiện stress khác nhau của môi trường sống. Các stress thâm thấu chẳng hạn như độ mặn, hạn hán và nhiệt độ thấp là những yếu tố chính hạn chế sự phát triển và năng suất cây trồng (Osakabe *et al.*, 2013). Để chống chịu với các điều kiện môi trường gây ra stress thâm thấu, nhiều thực vật bậc cao tích lũy các hợp chất bảo vệ (osmolyte) khác nhau. Một trong những osmolyte tương thích được nghiên cứu nhiều nhất là proline. Proline là axit amin đã được chứng minh tham gia vào việc bảo vệ tính toàn vẹn của màng sinh chất và hoạt động như một chất thu dọn các gốc oxy hóa tự do (ROS). Ngoài ra, proline có thể là một nguồn giảm năng lượng và dùng như một chất dự trữ tạm thời của carbon, nitơ và cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp protein. Cân bằng nội môi của proline được điều chỉnh chặt chẽ bởi quá trình tổng hợp, phân hủy và vận chuyển của nó (Szabados and Savouré, 2010).

Stress mặn là sự tích tụ của hàm lượng muối quá mức trong đất, cuối cùng dẫn đến việc ức chế sự phát triển của cây trồng và dẫn đến cây trồng bị chết (Hu *et al.*, 2006). Ảnh hưởng của độ mặn trên tế bào thực vật bao gồm cân bằng nội môi ion khoáng, tích lũy các osmolyte, cân bằng nước, chuyển hóa chất chống oxy hóa, cố định nitơ và quang hợp (Iqbal *et al.*, 2018). Sự dư thừa muối kích hoạt sản xuất quá mức ROS và ảnh hưởng đến sự cân bằng oxy hóa

khử của tế bào thực vật, dẫn đến sự đe dọa đối với protein, lipid, axit nucleic và tính toàn vẹn màng tế bào (Mittler, 2002; Ahmad *et al.*, 2008). Sự tích lũy quá mức ROS gây ra stress oxy hóa, dẫn đến tổn thương tế bào và cuối cùng làm chết tế bào.

Arabidopsis Like HAL2 (AHL), mã hóa gen *At1G54390* (Shin *et al.*, 2019), được xác định là 3'-phosphoadenosine 5'-phosphate (PAP) phosphatase thuộc nhánh thứ cấp của quá trình chuyển hóa sunfate. Dòng đột biến gen *ahl*, tạo ra bằng phương pháp T-DNA, ở *Arabidopsis* đã được chứng minh làm giảm khả năng kháng mặn bằng sự điều hòa quá trình giảm tích lũy hàm lượng proline và cystein nội sinh (Nguyen *et al.*, 2021). Bên cạnh đó, hàm lượng enzyme cũng như các gen liên quan tham gia điều hòa ROS ở *ahl* được xác định biến đổi theo hướng làm giảm kháng mặn hơn so với ở cây hoang dại (Wild type - WT).

BEH3 (BES1/BZR1 Homolog 3) được biết là một yếu tố tham gia điều hòa đáp ứng tín hiệu hormone Brassinosteroids (BRs) (Wang *et al.*, 2002). Dòng đột biến *beh3* được tạo ra do sự gắn chèn T-DNA vào gen *At4g18890* của *Arabidopsis Thaliana Columbia-0 WT* (wild type, hoang dại). BR là hormone steroid thiết yếu điều chỉnh sự tăng trưởng, phát triển của thực vật và phản ứng với môi trường stress. Nghiên cứu trên dòng đột biến *beh3* cho thấy, *beh3* có tính kháng stress thâm thấu cao hơn dòng WT nhờ vào sự tăng cường hàm lượng BR và proline nội sinh

¹Bộ môn Khoa học cơ bản, trường Đại học Buôn Ma Thuột;

Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Tịnh; ĐT: 0869340391; Email: nvtinh@bmtvietnam.com.