

TẠO ĐỒNG LÚA KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN VÀ CÓ CHẤT LƯỢNG GẠO TỐT BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY BAO PHẦN VÀ KỸ THUẬT PCR

PHAN THỊ BẢY, ĐÀO THỊ HẠNH, QUÁCH THỊ LIÊN,
LÊ THỊ MUỘI, NGUYỄN ĐỨC THÀNH

Viện Công nghệ sinh học

Ngoài các chỉ tiêu về năng suất và chất lượng, các giống lúa được phát triển và cải tạo cần phải có khả năng chống chịu với sâu bệnh, chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường và thích nghi với những điều kiện ngoại cảnh hết sức đa dạng thì mới có thể phát triển được ở các vùng địa lý khác nhau để cho năng suất cao và chất lượng tốt.

Trong bài này, chúng tôi giới thiệu một số kết quả bước đầu trong quy trình chọn đồng lúa kháng bệnh đạo ôn bằng phương pháp nuôi cấy bao phần kết hợp sự trợ giúp của các dấu phân tử.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

- Một số dòng/giống lúa kháng bệnh đạo ôn

Moroberekan-nhận từ Viện nghiên cứu lúa quốc tế. C71 và Tè tép nhận từ Viện Bảo vệ thực vật. BR12 là dòng lúa kháng bệnh đạo ôn mới chọn tạo tại phòng Di truyền tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học

- Hai giống lúa có chất lượng tốt

KDML105, WAB56-125 nhận từ Viện nghiên cứu lúa quốc tế

- Khang dân là giống lúa có năng suất cao và chất lượng khá nhận từ Viện Bảo vệ thực vật

- Cây F1 của các cặp lai:

Moroberekan/KDML 105

Moroberekan/WAB 56-125

BR12/WAB56-125

C71/ KDML105

Khang dân/Moroberekan

WAB56-125/Tè tép

- Các môi STS:

RG64 là môi liên kết với gien kháng bệnh đạo ôn Pi-2(t)

RG28 là môi liên kết với tính thơm của gạo

RG171 và G243 là các môi liên kết với độ bền gel

Wxa và Wxb là các môi liên kết với hàm lượng amyloza

RZ323 là môi liên kết với độ dài của hạt.

2. Phương pháp

Lai giống bằng phương pháp lai cổ điển.

Nuôi cấy bao phần: Các đồng lúa được lấy ở giai đoạn có tai lá đồng cách tai lá thứ nhất chừng 2-5 cm, tùy thuộc các dòng/giống lúa khác nhau. Đồng được lấy vào buổi sáng từ 9-10h. Đồng được xử lý lạnh trước khi đem cấy ở điều kiện 6-8°C trong thời gian 2-5 ngày.

Khử trùng đồng bằng cách dùng bông tẩm cồn 96° lau kỹ toàn bộ bề mặt đồng, sau đó tách bỏ các lớp lá và bẹ bao bọc bên ngoài cùng lớp vỏ mỏng bên trong. Chọn các hoa có hạt phấn ở giai đoạn đơn nhân, cắt lấy các bao phấn cấy lên môi trường tạo mô sẹo. Tạo mô sẹo từ bao phấn lúa trên môi trường MT4 (N6 + 2 mg/l 2,4D + 10 mg/l AgNO₃ + 0,5 mg/l kinetin + 8 g/l thạch + 60 g/l đường), trong điều kiện không chiếu sáng và nhiệt độ phòng 26-28°C.

Tái sinh cây từ mô sẹo nuôi cấy bao phần trên môi trường MSC1 (MS + 1 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA + 100 ml/l nước dừa + 30 g/l đường + 8 g/l thạch), tạo rễ trên môi trường MS không có chất kích thích sinh trưởng, trong điều kiện ánh sáng đèn nê-ông và nhiệt độ phòng 28°C.

Trồng cây ra ruộng thí nghiệm, đánh giá các chỉ tiêu nông sinh học theo phương pháp thông dụng của Trung tâm Khảo nghiệm giống cây trồng thuộc Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Phản ứng PCR được tiến hành như sau

Hỗn hợp phản ứng PCR với các môi STS (25 µl) chứa trong ống Eppendorf (0,5 ml) bao gồm: nước vô trùng 17,4 µl; dung dịch đệm 10 X PCR 2,5 µl; dNTP (5 mM) 0,6 µl; MgCl₂ (50 mM) 0,5 µl; môi (primer) 1 µl ; Taq polymeraza 0,5 µl; ADN mẫu tách từ lá lúa 2,5 µl (0,02 µg/µl).

Chương trình chạy PCR cho các môi STS: 1) 94°C 4 phút; 2) 40 chu kỳ (94°C 1 phút, 58°C 1 phút 30 giây, 72°C 2 phút); 3) 72°C 5 phút.

Điện di và đọc kết quả PCR: Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarosa 1%. Mẫu ADN (sản phẩm PCR) được trộn đều với đệm nạp mẫu 3X trước khi nạp mẫu vào giếng. Thời gian điện di khoảng 2 giờ ở điện thế 70V. Nhuộm ADN bằng EtBr, trong thời gian 30 phút. Rửa gel bằng nước cất trong 30 phút. Sau đó bản gel được quan sát và chụp ảnh dưới đèn tử ngoại.

Phân tích các chỉ tiêu sinh hóa theo phương pháp thông dụng của Trung tâm kiểm tra và tiêu

chuẩn hóa chất lượng nông sản, Viện Công nghệ sau thu hoạch, tháng 12 năm 2002.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả tạo mô sẹo và tái sinh cây từ nuôi cấy bao phấn

Trong nuôi cấy bao phấn, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phát triển mô sẹo và tái sinh cây, nhưng yếu tố quan trọng nhất là kiểu gien đưa vào nuôi cấy.

Các bao phấn đã khử trùng được cấy lên môi trường MT4; sau 4-6 tuần, một số bao phấn bắt đầu phát triển thành các khối mô sẹo màu trắng. Khi các khối mô sẹo đã lớn, đạt đường kính khoảng chừng 1-2 mm, chúng được cấy chuyển sang các bình chứa môi trường tái sinh cây MSC1. Các bình mô tái sinh cây được nuôi trong điều kiện ánh sáng đèn nê-ông, nhiệt độ phòng 26-28°C. Sau 3-4 tuần nuôi cấy, một số mô sẹo bắt đầu tạo chồi, kết quả tạo chồi được ghi nhận ở bảng 1. Các chồi tái sinh được chuyển sang môi trường MS không có chất kích thích sinh trưởng để phát triển thành cây hoàn chỉnh (lá, thân, rễ). Sau đó, cây hoàn chỉnh được trồng ra nhà kính, tiếp tục theo dõi, đánh giá và chọn dòng nhị bội có các đặc điểm như mong muốn.

Bảng 1

Kết quả tạo mô sẹo và tái sinh cây từ nuôi cấy bao phấn

Cặp lai	Số bao phấn nuôi cấy	Số mô sẹo hình thành và cấy chuyển		Tái sinh cây					
				Số mô tái sinh cây		Số mô tạo cây xanh		Số mô tạo cây bạch tạng	
		Số mô	%	Số mô	%	Số mô	%	Số mô	%
1	750	38	5,1	12	31,5	2	16,6	10	83,4
2	720	130	18	94	72,3	32	34	62	66
3	870	285	32,7	44	15,4	15	34	29	66
4	1050	140	13,3	16	14,4	2	12,5	14	87,5
5	1870	131	7	59	45	3	5	56	95
6	2160	248	11	111	44	29	20	82	74

Chú thích: thứ tự các cặp lai xem ở trang 1.

Kết quả nhận được (bảng 1) cho thấy khả năng tạo mô sẹo của các dòng cây lai khác nhau

trên môi trường nuôi cấy chọn lọc là rất khác nhau và thay đổi từ 5,1-32,7%. Tỷ lệ tạo mô sẹo

cao nhất ở cây F1 của cặp lai số 3 (BR12/WAB56-125), thấp nhất ở cây F1 của cặp lai số 1 (Moroberekan/KDML105).

Số liệu ở bảng 1 cũng cho thấy khả năng tái sinh cây từ mô sẹo của các dòng cây lai nói trên thay đổi từ 14,4-72,3%, cao nhất ở cây F1 của cặp lai số 2 (Moroberekan/WAB56-125), thấp nhất ở cây F1 của cặp lai số 4 (C71/KDML105). Khả năng phát triển cây xanh trong

quần thể cây tái sinh cũng rất khác nhau. Sự phát triển của cây xanh ở mô sẹo của cây F1 của cặp lai số 2 là cao nhất, đạt tỷ lệ 34% và chồi rất khỏe (hình 1), các chồi này có thân lá màu xanh đậm, trong khi đó mô sẹo từ cây F1 của cặp lai số 1 và số 5 ở phần lớn các bình nuôi cấy toàn cho cây bạch tạng (hình 2), tỷ lệ cây xanh thấp nhất ở cặp lai số 5 (Kháng dân/Moroberekan), đạt 5%.



Hình 1



Hình 2

Kết quả nhận được trên đây cho thấy kiểu gen có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây xanh trong nuôi cấy bao phần. Các kết quả mà chúng tôi nhận được phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây của Nghiêm Như Vân và cs. (1996), Phạm Ngọc Lương và cs. (1999), Nguyễn Đức Thành và cs. (1999).

Trong thí nghiệm này, chúng tôi tập trung nghiên cứu quần thể cây tái sinh từ nuôi cấy bao phần của cặp lai số 2; đây là cặp lai nhận được số dòng cây xanh nhiều nhất trong số các cặp lai kể trên.

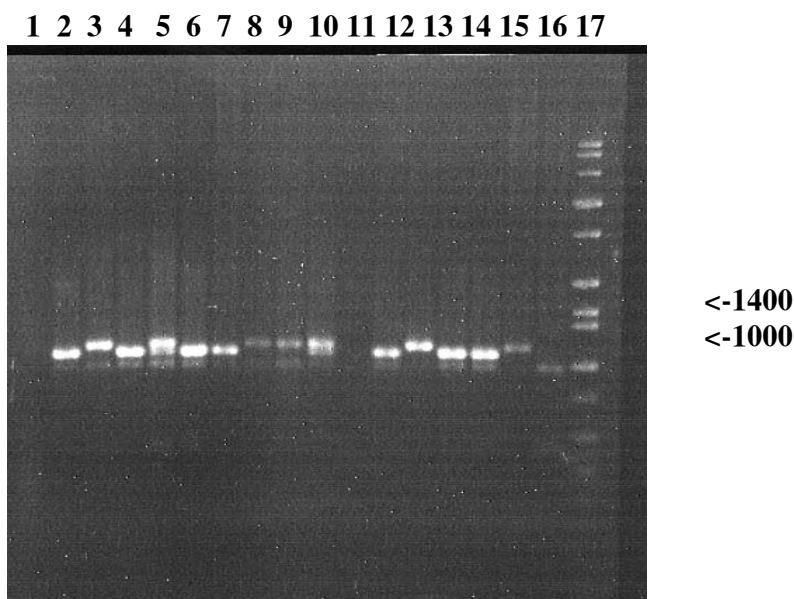
2. Khảo sát tính kháng bệnh đạo ôn và chất lượng của gạo ở mức phân tử của một số dòng cây nuôi cấy bao phần

Trong 480 cây tái sinh từ 32 dòng mô sẹo nuôi cấy bao phần của cặp lai số 2 trông ra nhà

lưới có 195 cây từ 15 dòng mô sẹo (47%) là cây đơn bội và 285 cây từ 17 dòng mô sẹo (53%) là cây nhị bội. Trong số 17 dòng cho cây nhị bội, có 12 dòng có số lượng cây lớn và cây sinh trưởng phát triển tốt, 5 dòng khác chỉ có 1-2 cây. Các cây tái sinh từ một khối mô sẹo được tính một dòng trong quá trình thí nghiệm.

12 dòng cây từ bao phần có khả năng sinh trưởng tốt trong nhà kính cùng các cây bố mẹ, cây F1 của cặp lai số 2 được lấy mẫu lá để tách ADN. Sự đa dạng của phân tử ADN giữa các dòng/giống lúa được phân tích bằng kỹ thuật PCR với một số cặp mồi STS (RG64, RG28, RG171, Wx1, Wxa, Wxb, G243, RZ323). Điện di sản phẩm PCR nhận được: có mồi RG64 cho sự khác nhau giữa cây bố, cây mẹ, cây F1 và các dòng cây nuôi cấy bao phần (hình 3), còn sản phẩm PCR của ADN của các giống lúa Moroberekan, WAB56-125, KDML105, Tẻ tếp,

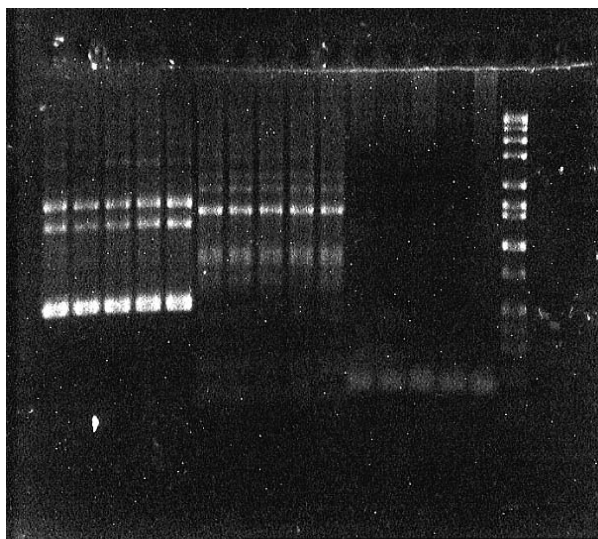
BR12 với các môi liên quan đến chất lượng của hạt, chỉ cho các băng ADN giống hệt nhau, chưa có sự đa hình giữa các dòng/giống lúa (hình 4).



Hình 3. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN của các dòng lúa từ nuôi cấy bao phấn của cặp lai số 2 với cặp môi RG64

Chú thích: Giếng số 1 là cây WAB56-125; 2-cây Moroberekan; 3-cây KDML105; 4-cây F1 của cặp lai Moroberekan và WAB56-125; 5-dòng HPMD2; 6-HPMD3; 7-HPMD4, 8-HPMD6, 9-HPMD9; 10-HPMD10; 11-HPMD12; 12-HPMD13; 13-HPMD16; 14-HPMD18; 15-HPMD20, 16-HPMD21; 17 là marker.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16



Hình 4. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN của 5 giống lúa: Moroberekan, WAB56-125, KDML105, Tẻ tếp, BR12 với 3 cặp môi Wxa (1,2,3,4,5), Wxb (6,7,8,9,10), G243A (11,12,13,14,15) liên quan đến chất lượng của hạt và số 16 là marker

Hình 3 cho chúng ta thấy có cây lúa 1200bp băng liên kết với gen kháng bệnh đạo Moroberekan mang băng ADN dài khoảng 1200bp liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn Pi-2(t), cây KDML105 và cây WAB56-125

mang băng dài khoảng 1100 bp, cây F1 của cặp lai số 2 (Moroberekan/WAB56-125) mang 2 băng 1200 và 1100, các dòng cây từ nuôi cấy bao phấn có 6 dòng mang băng 1.100bp, 5 dòng mang băng 1200bp và một dòng không xuất hiện. Kết quả này giúp chúng tôi xác định được cây F1 và 5 dòng cây từ bao phấn (HPMD4, HPMD6, HPMD9, HPMD13, HPMD20) có đặc điểm phân tử giống cây mẹ-cây mang gen kháng bệnh đạo ôn.

5 dòng cây mang băng ADN dài 1200bp, băng liên kết với gen kháng đạo ôn, giống cây mẹ Moroberekan được chọn để tiếp tục nghiên cứu các đặc điểm nông học và chất lượng hạt của chúng.

Hình 4 chưa nhận được đa hình giữa các dòng/giống lúa thí nghiệm. Chúng tôi sẽ tiếp tục cắt bằng enzym hạn chế để phân biệt sự khác nhau về chất lượng hạt của các dòng /giống lúa.

3. Đặc điểm nông học của một số dòng lúa từ nuôi cấy bao phấn

5 dòng lúa có đặc điểm di truyền phân tử giống cây mẹ mang gen kháng bệnh đạo ôn,

được tiếp tục theo dõi và đánh giá một số đặc điểm nông học của chúng. Kết quả cho thấy có sự khác nhau về chiều cao của cây, chiều dài của bông, số hạt chắc trên bông và kích thước của hạt giữa các dòng lúa tái sinh từ mô sẹo nuôi cấy bao phấn. Chiều cao của cây: có dòng cao trung bình 115 cm (HPMD9), có dòng chỉ đạt 90,5 cm (HPMD13), một số dòng khác có chiều cao trung gian giữa 2 dòng trên và giao động trong khoảng 95,8- 104,2 cm (HPMD4, HPMD6). Chiều dài của bông: có dòng đạt trung bình 28,7 cm (HPMD4), có dòng chỉ đạt 20,1 cm (HPMD13). Số hạt chắc trên bông cũng giao động lớn, có dòng có số hạt chắc trên bông đạt trung bình 273,3 hạt (HPMD9), có dòng chỉ đạt 144,4 hạt (HPMD13). Sự khác nhau về kiểu hình nhân của hạt giữa các dòng cây tái sinh từ nuôi cấy bao phấn cũng được thể hiện rõ: có dòng có hạt dài 7,58 mm (HPMD4), có những dòng có hạt ngắn hơn và giao động trong khoảng 6,7-6,92 mm (HPMD6, HPMD9), có dòng có hạt giống cây bố cả về màu sắc và hình dạng của hạt (HPMD13), có dòng có hạt giống như cây mẹ (HPMD20). Số liệu đo đếm các đặc điểm hình thái được ghi nhận ở bảng 2.

Bảng 2

Mức độ biến động của một số chỉ tiêu về hình thái ở các dòng lúa nuôi cấy bao phấn

Chỉ tiêu Tên dòng	Chiều cao của cây		Chiều dài của bông		Số hạt chắc/bông		Chiều dài của hạt		Chiều rộng của hạt		Màu của vỏ hạt
	X	Cv %	X	Cv %	X	Cv %	X	Cv %	X	Cv %	
HPMD4	95,8 ±1,9	3,2	28,7 ±1,7	6,0	164,5 ±26,6	14	7,58 ±0,31	2,5	2,7 ±0,07	2,0	Sáng
HPMD6	102,2 ±2,2	4,0	22,7 ±2,2	7,0	185,7 ±27,4	14	6,7 ±0,10	2,5	2,38 ±0,08	2,5	Sáng
HPMD9	100,3 ±2,8	3,5	27,3± 2,1	7,2	273,3 ±24,6	17	6,92 ±0,18	1,5	2,5 ±0,07	2,0	Sáng
HPMD13	90,5 ±3,3	4,0	20,1 ±1,9	7,0	144,4 ±22,6	15	7,2 ±0,13	1,5	2,54 ±0,08	2,0	Sáng
HPMD20	96,7 ±3,5	3,8	22,5 ±1,8	6,8	145,4 ± 21,2	13	6,8±0,2	2,0	2,8±	2,0	Nâu
Moroberekan	97,3 ±3,0	3,2	23,9 ±1,6	6,5	151,5 ±22,2	14	6,86 ±0,21	2,0	2,84 ±0,05	2,0	Nâu
WAB56-125	98,3 ±4,5	3,5	20,4 ±2,0	8,5	142,9 ±16,3	11	7,25 ±0,23	2,0	2,82 ±0,08	2,0	Sáng

Chú thích: X là giá trị trung bình mẫu; Cv là hệ số biến đổi di truyền.

Các số liệu ở bảng 2 cho thấy: nhìn chung các chỉ tiêu nông học ở 5 dòng lúa nhận được từ nuôi cấy bao phấn có hệ số biến đổi di truyền không đáng kể so với cây bố mẹ. Đặc biệt, chiều cao của cây, kích thước và hình dạng của hạt của các cây trong cùng một dòng là tương đối đồng đều và có hệ số biến động thấp (Cv chiều cao của cây từ 3,2-4,0; Cv chiều dài của hạt từ 1,5-2,5 và Cv chiều rộng của hạt từ 2-2,5). Đặc điểm này cho thấy nguồn gốc của các cây là từ nuôi cấy hạt phấn ở giai đoạn đơn bội, nên chúng là những cây đồng hợp tử có độ thuần cao. Kết quả nghiên cứu của một số tác giả [5,10] cũng cho thấy các dòng cây tái sinh từ một cụm mô sẹo thường giống hệt nhau về mọi đặc điểm.

Sự đa dạng các đặc điểm hình thái giữa các dòng cây tái sinh từ mô sẹo nuôi cấy bao phấn có thể do các gen điều khiển các đặc điểm này ở các cây bố và cây mẹ khác nhau đã di truyền sang thế hệ F1, cũng có thể do những biến dị di truyền xuất hiện trong quá trình nuôi cấy bao phấn. Một số kết quả nghiên cứu khác [2, 3, 9] cho rằng trong quá trình nuôi cấy mô tế bào thực vật, các cây tái sinh từ nuôi cấy bao phấn có sự xuất hiện các biến dị di truyền về đặc điểm hình thái như chiều cao của cây và thời gian sinh trưởng.

Theo thông báo của Nghiêm Như Vân [5, 6] thì các đặc điểm hình thái, đặc biệt là kích thước và hình dạng của hạt của mỗi dòng cây từ nuôi cấy bao phấn thường ổn định từ thế hệ này sang thế hệ khác.

Để tìm hiểu các vấn đề này sâu hơn, chúng tôi sẽ phân tích một số đặc điểm di truyền ở các dòng lúa nhận được trong các thế hệ tiếp theo.

Bốn dòng lúa HPMD4, HPMD6, HPMD9, HPMD13 mang băng ADN liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn giống cây mẹ, đồng thời có những đặc điểm nông sinh học thích hợp và có vỏ hạt màu sáng đang được thị trường ưa chuộng, được chọn để tiếp tục nghiên cứu và đánh giá các đặc điểm liên quan đến chất lượng gạo của chúng.

4. Kết quả phân tích sinh hóa một số dòng lúa từ nuôi cấy bao phấn

Bốn dòng lúa từ nuôi cấy bao phấn có triển vọng đã được lấy mẫu hạt để phân tích các chỉ tiêu sinh hóa liên quan đến chất lượng nấu nướng và ăn uống của gạo như: hàm lượng protein, hàm lượng amyloza, nhiệt độ hóa hồ và độ bền của thể gel, Kết quả được ghi nhận ở bảng 3.

Bảng 3

Kết quả phân tích sinh hóa của một số dòng/giống lúa thí nghiệm

Tên dòng/giống lúa	Protein		Amyloza		Nhiệt độ hóa hồ		Chiều dài Gel C(mm)		
	% CK	% CK	Phân loại	Nhiệt độ hóa hồ (0°C)	Phân loại	Sau 30'	Sau 60'	Phân loại	
WAB56-125	11,93	15,25	Thấp	70-74	TB	69	71	Mềm	
Moroberekan	10,18	20,52	TB	<70	Thấp	54	58	TB	
HPMD4	11,98	18,54	Thấp	70-74	TB	40	42	TB cao	
HPMD6	8,69	20,07	TB	70-74	TB	42	45	TB cao	
HPMD9	9,33	21,65	TB	70-74	TB	75	78	Mềm	
HPMD13	10,12	20,60	TB	74-75	TB cao	39	43	TB cao	

Các số liệu ở bảng 3 cho thấy hàm lượng protein ở cây bố WAB56-125 là 11, 93, ở cây mẹ Moroberekan là 10,18, các dòng cây từ nuôi cấy bao phấn của cặp lai số 2 (Moroberekan và WAB56-125) giao động trong khoảng 8,69-

11,98. Hàm lượng amyloza ở cây mẹ là 20,52, ở cây bố là 15,25, ở các cây từ nuôi cấy bao phấn giao động trong khoảng 18,54-21,65. Nhiệt độ hóa hồ ở cây mẹ là trung bình, ở cây bố là thấp. Chiều dài gel ở cây bố là 71 mm, ở cây mẹ là 58

mm, ở các dòng nuôi cấy bao phấn giao động trong khoảng 42-78 mm. Theo chỉ tiêu phân loại gạo dựa vào chiều dài gel thì cây bố thuộc loại gạo mềm, cây mẹ là gạo trung bình, các dòng nuôi cấy bao phấn thay đổi từ trung bình đến mềm.

Trong các chỉ tiêu trên đây, hàm lượng amyloza là yếu tố quan trọng nhất để đánh giá trước chất lượng nấu nướng và ăn của gạo. Theo tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 5716-1993), gạo có hàm lượng amyloza thấp (<19%) sẽ cho cơm mềm và dính, ngược lại, gạo có hàm lượng amyloza cao (26-34%) sẽ cho cơm cứng và rời. Người tiêu dùng thường ưa thích gạo có hàm lượng amyloza trung bình (20-25%) cho cơm mềm dẻo, bóng, để nguội không bị cứng lại.

Bên cạnh hàm lượng amyloza, các nhà khoa học còn chú ý đến chỉ tiêu nhiệt độ hóa hồ. Nhiệt độ hóa hồ cũng có ảnh hưởng đến chất lượng nấu nướng của gạo. Gạo có nhiệt độ hóa hồ cao > 74°C cần nhiều nước và thời gian nấu lâu hơn gạo có nhiệt độ hóa hồ thấp (55-69°C) hay trung bình (70-74°C). Thường những giống lúa có nhiệt độ hóa hồ cao > 75°C ít được chấp nhận trên thị trường thế giới.

Cùng với các chỉ tiêu trên, chỉ tiêu độ dài gel của gạo nghiền cũng liên quan đến độ mềm của cơm gạo. Những giống có hàm lượng amyloza trung bình và có độ dài của gel mềm sẽ cho cơm mềm và ngược lại, gạo có hàm lượng amyloza trung bình nhưng độ dài của gel cứng thì sẽ cho cơm cứng.

Như vậy, các dòng lúa chọn lọc trên đây từ nuôi cấy bao phấn của cây lai F1 của tổ hợp lai số 2 (Morobekán/WAB 56-125) là những dòng lúa có chất lượng gạo khá. Đặc biệt có dòng lúa HPMD9 (số 5 bảng 3) có hàm lượng amyloza 21,5, nhiệt độ hóa hồ TB và độ dài gel mềm nên cơm gạo từ dòng này sẽ rất mềm dẻo, không bị cứng khi để nguội và dòng HPMD4 tuy có độ dài gel loại trung bình cao nhưng hàm lượng amyloza thấp và nhiệt độ hóa hồ trung bình nên cũng cho cơm mềm dẻo.

Kết quả của quá trình thí nghiệm trên đây đã chọn được 2 dòng lúa (HPMD4 và HPMD9) mang đoạn ADN liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn và có chất lượng gạo khá, từ 1 cặp lai giữa cây mẹ kháng bệnh đạo ôn (Morobekán) và cây bố có chất lượng hạt khá (WAB 56-125).

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả nhận được trên đây, cho phép chúng tôi có một số nhận xét như sau:

1. Các dòng cây F1 từ các cặp lai khác nhau ở lúa cho khả năng tạo mô sẹo và tái sinh cây khác nhau: tỷ lệ tạo mô sẹo giao động từ 5,1-32,7%, tỷ lệ tái sinh cây (xanh + bạch tạng) 14,4-72,3% và tỷ lệ cây xanh trong quần thể cây tái sinh từ 5-34%.

2. Các cây xanh tái sinh từ mô sẹo nuôi cấy bao phấn của cây lai F1 trông ra ruộng thí nghiệm có 47% cây đơn bội và 53% cây nhị bội.

3. Kết quả phân tích phân tử các dòng lúa nuôi cấy bao phấn đã chọn được 5 dòng (HPMD4, HPMD6, HPMD9, HPMD13, HPMD20) mang đoạn ADN dài 1200bp - đoạn ADN liên kết với gen kháng đạo ôn Pi-2(t), giống cây mẹ Morobekán.

4. Các dòng lúa từ nuôi cấy bao phấn có sự biến đổi các chỉ tiêu sinh hóa trong phạm vi giữa cây bố và cây mẹ, có 2 dòng (HPMD4 và HPMD9) cho chất lượng gạo khá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Đình Long và cs.**, 1997: Chọn giống cây trồng Nxb Nông nghiệp, 338 trang.
2. **Chen Ying**, 1986: Anther and pollen culture of rice in "Haploids of higher plants in vitro" Springer 211e:118-136.
3. **Nghiêm Như Vân và cs.**, 1996: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học 1996: 67-75.
4. **Nguyễn Đức Thành và cs.**, 1999: Báo cáo Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc: 1413-1419.
5. **Nghiêm Như Vân và cs.**, 1993: Tạp chí Di truyền học và ứng dụng, 3: 17-20.
6. **Nghiêm Như Vân và cs.**, 1998: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học, 1998: 400-411.
7. **Nguyễn Thị Kim Liên và cs.**, 1999: Tạp chí Di truyền học và ứng dụng, 3: 30-38.
8. **Phạm Ngọc Lương và cs.**, 1999: Báo cáo Hội nghị sinh học toàn quốc, 1999: 874-881.
9. **B. M. Balachandran et al.**, 1994: Anther and somatic cell culture studies in rice,

National rice biotechnology network third annual meeting, 1994: 7-8 (abstract).

10. **Nghiêm Như Vân và cs.**, 2001: Kỹ yếu Viện Công nghệ sinh học, 2001: 196-205.

PRODUCTION OF BLAST RESISTANCE AND GOOD GRAIN QUALITY RICE LINES BY ANTHHER CULTURE AND MOLECULAR MARKERS

PHAN THI BAY, DAO THỊ HANH, QUACH THI LIEN, LE THI MUOI, NGUYEN DUC THANH

SUMMARY

In recent years, the use of the biotechnology for rice breeding has gained considerable progress. The anther culture and markers-aiding the selection for rice breeding are the most promising techniques. In this paper, the preliminary results on the production of blast resistance and good grain quality rice lines by these techniques are presented.

480 green plants from 32 calluses were obtained by the anther culture technique. Among them, 195 plants from 15 calluses (47%) were haploid and 285 plants from 17 calluses (53%) were double haploid plants.

Twelve selected lines were analyzed by using molecular markers linked to blast resistance gene and grain quality. Four blast resistance and good grain quality rice lines (HPMD4, HPMD6, HPMD9, HPMD13) were selected for further genetically analyses and selection.

Ngày nhận bài: 24-4-2003