

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TẠO CALLUS VÀ TÁI SINH CÂY TỪ MỘT SỐ GIỐNG LÚA NƯƠNG VIỆT NAM VÀ NHẬP NỘI PHỤC VỤ CHO CÔNG TÁC CHUYỂN GIEN

CAO LỆ QUYÊN, PHẠM THỊ VÂN, PHẠM XUÂN HỘI

Viện Di truyền Nông nghiệp

An ninh lương thực đã từng được giải quyết nhờ sự tiến bộ trong công tác chọn tạo các giống cây trồng có ưu thế về năng suất, chất lượng cũng như kỹ thuật canh tác hiện đại. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của hiện tượng biến đổi khí hậu (quá trình ấm lên toàn cầu) và các hiện tượng thời tiết bất lợi khác như hạn hán, lũ lụt, băng giá xuất hiện thường xuyên hơn, không có quy luật hơn [5]. Vì vậy an ninh lương thực lại trở thành vấn đề thời sự của nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có nước ta với cây lương thực chính là cây lúa và các vùng trồng lúa đang bị áp lực nặng nề của hiện tượng biến đổi khí hậu đặc biệt là hạn hán. Để ứng phó với hiện trạng trên việc nghiên cứu chọn và tạo các giống cây lương thực có khả năng chống chịu điều kiện thời tiết bất lợi bằng kỹ thuật sinh học hiện đại, đặc biệt là công nghệ chuyển gen thực vật đang thu hút được sự quan tâm của nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới [4].

Tại các địa phương miền núi phía Bắc Việt Nam, các giống lúa được gieo trồng trên các thửa ruộng bậc thang với chế độ nước tưới hạn chế phần lớn là các giống lúa nương địa phương. Các giống lúa nương này phần lớn là các giống lúa có tiềm năng chịu hạn cao, nhưng thường có năng suất thấp. Để có thể sử dụng nguồn gen quý này vào công tác chọn giống lúa chịu hạn thì một việc cần làm là chuyển các gen quý có khả năng tăng năng suất vào các giống lúa nương địa phương hoặc phân lập, chuyển các gen quy định tính chịu hạn sang các giống có tiềm năng năng suất hay phẩm chất tốt. Vì vậy, việc hoàn thiện các quy trình nuôi cấy *in vitro* của các giống lúa Việt Nam có khả năng tái sinh cao sẽ rất có ý nghĩa giúp chúng ta chuyển trực tiếp các gen quý vào các đối tượng giống cây trồng mà không cần các phép lai sau quá trình chuyển gen và từ đó tăng cường hiệu quả trong

định hướng chuyển gen thực vật. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát tiềm năng tái sinh của tập đoàn 46 giống của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc, kết hợp với các nghiên cứu trước đó trên tập đoàn giống lúa sản xuất để tiến tới hoàn thiện các quy trình nuôi cấy *in vitro* trên các giống lúa có khả năng tái sinh cao phục vụ công tác chuyển gen thực vật [1].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là tập đoàn 46 giống lúa nương đang được trồng chủ yếu ở các tỉnh miền núi phía Bắc. Các giống lúa này được cung cấp bởi Viện Khoa học kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Miền núi phía Bắc, danh sách giống cụ thể được trình bày ở bảng 1.

Môi trường tạo callus: Sử dụng môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog, 1962) [3] với nồng độ 2,4-D dao động từ 1,5 - 2,5 mg/l, tỉ lệ muối MS dao động từ 0,5 - 1,5. Cụ thể như sau: MS1: MS + 1,5 mg/l 2,4-D + 0,8% aga + 3% saccharose; MS2: MS + 2 mg/l 2,4-D + 0,8% aga + 3% saccharose; MS3: MS + 2,5 mg/l 2,4-D + 0,8% aga + 3% saccharose.

Môi trường tái sinh cây: Sử dụng môi trường MS bổ sung BAP, kinetin (0,5; 2 mg/l), casein (0,1 mg/l), cụ thể như sau: MS4: MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin + 0,7% aga + 3% saccharose; MS5: MS + 2 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin + 0,7% aga + 3% saccharose + 0,1 mg/l casein; MS6: MS + 0,5 mg/l BAP + 2 mg/l kinetin + 0,7% aga + 3% saccharose; MS7: MS + 0,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin + 0,7% aga + 3% saccharose.

Danh sách tập đoàn các giống lúa của Việt Nam được khảo sát trong nghiên cứu

STT	Tên Giống	STT	Tên Giống	STT	Tên Giống
1	DR4	17	IR554321	32	YUNLU100A
2	DR5	18	LB1-2	33	YUNLU100B
3	IR74371-3-1-1	19	LB-2M	34	YUNLU103-1B
4	IR74371-54-1	20	LP-5M	35	YUNLU106
5	IR78878-5-1-3-3	21	LCV-8M	36	YUNLU103-2B
6	IR55419-04-AO	22	GTNM	37	YUNLU103-2
7	YUNLU50	23	IR81430-B-B-94	38	YUNLU105-B
8	LUYIN46	24	IR84179-B-403	39	YUNLU104A
9	LC93-1	25	IR81413-B-B-75-2	40	YUNLU105
10	IR78878-5-1-3-1	26	IR80416-B-152-4	41	YU07H-34789
11	IR78878-176-B-2-B	27	IR81040-B-87-U2-1	42	IR82870-48
12	IR79889-B-179-2-2	28	LHY-4	43	YUNLU104-B
13	IR79913-B-326B	29	IR79906-B-5-3-3	44	Nếp khâu để dòn
14	IR78875-131-B-1-4	30	YUNLU69	45	Nữp khâu pí pọt
15	IR79913-B-176-4	31	YUNLU65	46	LC93-4
16	CIRAD141				

2. Phương pháp

Hạt lúa bóc vỏ được xử lý bằng cách rửa nước cất 2 lần, ngâm và lắc nhẹ trong cồn 70% thời gian 1 phút, trong H₂O₂ 15% thời gian 20 phút, sau đó rửa bằng nước cất khử trùng 4-5 lần. Hạt khử trùng được đưa nuôi trên môi trường tạo callus trong tối ở 28°C. Sau 2 tuần nuôi cấy, các callus được chuyển sang môi

trường tái sinh và nuôi trong điều kiện nhiệt độ 25°C, độ ẩm 50-70%, thời gian chiếu sáng 16h/ngày ở cường độ 3000 lux.

Việc đánh giá khả năng hình thành callus của tập đoàn giống lúa khảo sát được tiến hành sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường tạo callus. Từng giống lúa được đánh giá định lượng theo các chỉ tiêu sau:

$$\text{Tỷ lệ tạo callus (\%)} = \frac{\sum \text{callus tạo thành}}{\sum \text{mẫu đưa vào}} \times 100\%$$

Việc đánh giá khả năng tái sinh của tập đoàn giống khảo sát được tiến hành sau 3-4 tuần nuôi

cấy trên môi trường tái sinh. Từng giống lúa được đánh giá định lượng theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ hình thành chồi (\%)} = \frac{\sum \text{hình thành chồi}}{\sum \text{callus đưa vào}} \times 100\%$$

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình Microsoft excel [2].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng hình thành callus của tập đoàn 46 giống lúa nương miền Bắc Việt Nam

Kết quả thí nghiệm đánh giá khả năng tạo callus của tập đoàn giống lúa nương miền Bắc Việt Nam trên các môi trường MS được trình bày cụ thể ở bảng 2.

Kết quả phân tích Anova (bảng 3) cho thấy, khả năng hình thành callus bị ảnh hưởng bởi môi trường (nồng độ 2,4D) và giống (bản chất di truyền). Thật vậy, kết quả phân tích biến sai của yếu tố môi trường $F = 873,4214$ lớn hơn rất nhiều lần $F_{crit} = 1,7148$ chứng tỏ sự sai khác về tỷ lệ tạo callus bị ảnh hưởng mạnh của yếu tố môi trường, khả năng tạo callus của các giống lúa trong các công thức thí nghiệm khác nhau có ý nghĩa thống kê (kết quả tạo callus trung bình trên môi trường MS1 có bổ sung 1,5 mg 2,4D là

42,67%, MS2 có bổ sung 2 mg 2,4D là 47,22% và MS3 có bổ sung 2,5 mg 2,4D là 44,46%). Giá trị F của yếu tố giống là 257,6157 cũng lớn hơn nhiều lần giá trị $F_{crit} = 5,4013$, chứng tỏ bản chất di truyền có ảnh hưởng đến việc tạo callus của từng giống lúa, có giống lúa có khả năng tạo callus cao (trên 65% - 4 giống) trái lại có giống lúa có khả năng tạo callus kém (thấp hơn 10% - 2 giống) và sự khác nhau này là bản chất và có ý nghĩa thống kê. Kết quả phân tích biến sai giữa

môi trường và giống cũng cho thấy có sự tương tác đồng thời của yếu tố môi trường và bản chất di truyền lên khả năng hình thành callus của từng yếu tố ($F_{mt-g} = 31,4738 > F_{crit} = 1,5272$). Chứng tỏ với từng giống lúa nồng độ 2,4-D có tác động khác nhau lên sự hình thành callus của giống lúa đó nhất là với các giống lúa có khả năng hình thành callus cao trên 50% sự khác biệt giữa các công thức thí nghiệm rất rõ rệt.

Bảng 2

Khả năng hình thành callus của tập đoàn 46 giống lúa nương miền Bắc Việt Nam

MT Giống	MS1	MS2	MS3	MT Giống	MS1	MS2	MS3
1	47,50 ± 1,25	56,66 ± 0,83	51,88 ± 2,12	24	47,39 ± 1,01	46,10 ± 3,04	58,93 ± 0,87
2	14,14 ± 1,37	15,19 ± 1,44	13,53 ± 1,04	25	53,03 ± 0,94	50,05 ± 1,16	62,70 ± 1,55
3	27,98 ± 0,54	26,46 ± 0,4	26,44 ± 0,68	26	84,94 ± 1,09	74,96 ± 0,85	71,02 ± 1,19
4	43,98 ± 1,48	56,46 ± 2,71	51,95 ± 1,65	27	57,13 ± 0,97	63,05 ± 1,09	48,48 ± 1,23
5	45,15 ± 1,12	57,02 ± 0,79	54,17 ± 1,90	28	53,48 ± 0,77	68,76 ± 0,58	58,91 ± 0,68
6	47,65 ± 0,32	51,26 ± 1,07	67,08 ± 1,06	29	24,68 ± 0,68	31,93 ± 0,80	25,27 ± 1,12
7	30,31 ± 1,80	31,87 ± 2,10	28,33 ± 1,76	30	28,53 ± 1,41	35,11 ± 0,52	23,12 ± 0,97
8	44,46 ± 1,83	71,73 ± 2,06	57,62 ± 1,85	31	7,19 ± 0,42	8,73 ± 1,08	6,32 ± 1,26
9	45,71 ± 1,23	56,21 ± 1,71	60,45 ± 1,08	32	6,90 ± 0,94	8,36 ± 1,35	6,42 ± 1,11
10	57,73 ± 0,8	52,85 ± 2,17	51,37 ± 1,99	33	50,99 ± 1,22	53,08 ± 3,29	58,68 ± 1,00
11	62,46 ± 2,13	65,55 ± 0,34	63,57 ± 1,41	34	64,43 ± 0,5	76,53 ± 2,82	68,40 ± 0,74
12	29,99 ± 0,3	32,29 ± 1,00	37,11 ± 1,49	35	51,24 ± 1,18	64,20 ± 1,82	54,85 ± 2,20
13	36,28 ± 1,17	37,60 ± 0,56	35,51 ± 0,53	36	49,17 ± 0,81	39,46 ± 1,14	43,36 ± 1,07
14	56,60 ± 0,84	54,65 ± 2,08	53,59 ± 1,31	37	35,40 ± 1,31	44,14 ± 1,01	46,82 ± 1,89
15	54,12 ± 0,96	51,67 ± 1,41	43,04 ± 2,31	38	24,09 ± 1,35	29,96 ± 0,56	33,28 ± 1,23
16	43,50 ± 1,83	41,99 ± 0,63	46,87 ± 1,25	39	22,12 ± 1,77	27,16 ± 1,35	31,90 ± 2,09
17	43,86 ± 2,33	57,89 ± 1,17	41,53 ± 1,33	40	31,06 ± 1,91	35,01 ± 0,65	29,83 ± 1,35
18	28,22 ± 1,00	41,26 ± 7,05	28,77 ± 2,29	41	38,28 ± 1,62	56,38 ± 0,85	44,99 ± 1,59
19	51,14 ± 0,87	56,64 ± 2,92	52,39 ± 1,04	42	47,53 ± 2,27	47,66 ± 2,09	51,11 ± 0,36
20	78,49 ± 1,06	76,02 ± 0,68	66,87 ± 2,26	43	34,20 ± 1,81	37,10 ± 1,45	45,43 ± 0,82
21	18,51 ± 1,06	21,77 ± 2,61	14,83 ± 2,96	44	71,42 ± 1,12	79,61 ± 0,55	57,99 ± 1,55
22	26,20 ± 2,26	32,21 ± 1,74	20,42 ± 0,96	45	33,42 ± 1,13	37,45 ± 1,56	45,01 ± 1,33
23	57,31 ± 0,32	53,88 ± 2,43	48,85 ± 0,74	46	54,88 ± 1,11	58,20 ± 1,10	56,16 ± 1,00

Bảng 3

Kết quả phân tích Anova hai nhân tố 3 lần lặp lại với mức ý nghĩa ($\alpha = 0,005$) theo chương trình Microsoft Excel 2007 khả năng tạo callus của 46 giống lúa

Nguồn biến sai	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Môi trường	110660,7389	45	2459,1275	873,4214	4,8 (10-272)	1,7148
Giống	1450,639857	2	725,31993	257,6157	7,58 (10-64)	5,4013
Môi trường vụ giống	7975,480877	90	88,616454	31,47438	4,6 (10-105)	1,5272
Trong năm	777,081	276	2,8155109			
Tổng	120863,9406	413				

Kết quả chi tiết cho thấy, tập đoàn 46 giống lúa nương trồng chủ yếu ở miền Bắc Việt Nam đều có khả năng hình thành callus trên các môi trường MS có bổ sung 2,4D. Trong đó có 22 giống có khả năng hình thành callus trên 50%, trong đó 15 giống lúa có khả năng tạo callus trên 50% trên cả 3 môi trường. Đặc biệt có 4 giống có tỉ lệ hình thành callus cao trên 65% là Nếp khâu để đôn (69,67%), YUNLU103-1B (69,79%), giống LP-5M (73,79%) và IR80416-B-152-4 (76,97%), tuy nhiên tỷ lệ tạo callus của từng giống với từng công thức thí nghiệm lại có sự sai khác rất lớn (phương sai dao động từ 30-40%). Đây là bằng chứng cho kết luận có sự tác động qua lại giữa yếu tố môi trường và bản chất

di truyền lên sự hình thành callus của các giống lúa khác nhau ở trên, điều này có nghĩa là với mỗi giống lúa cần có môi trường tối ưu cho sự hình thành callus của chúng. Từ kết quả phân tích anova cho phép nhận định rằng các giống 20, 26, 34 và 44 là những giống lúa có tiềm năng tạo callus cao nhất. Cụ thể là với 2 giống 20 và 26 môi trường có bổ sung 1,5 mg 2,4D (môi trường MS1) cho tỷ lệ tạo callus cao nhất (78,49% và 84,94%) còn môi trường có bổ sung 2 mg 2,4D (môi trường MS2) là thích hợp nhất cho sự hình thành callus của giống lúa 34 và 44 (76,53% và 79,61%).

2. Khả năng tái sinh từ callus của tập đoàn lúa nương miền Bắc Việt Nam

Bảng 4

Kết quả khảo sát khả năng tái sinh của 25 giống lúa có khả năng tạo callus tốt

MT Giống	MS4	MS5	MS6	MS7	TB
1	47,29 ± 1,08	55,37 ± 4,74	44,61 ± 2,42	52,09 ± 2,48	49,84 ± 5,04
4	35,25 ± 1,93	45,74 ± 1,08	41,31 ± 1,13	51,73 ± 1,57	43,51 ± 6,42
5	24,66 ± 1,06	37,04 ± 1,00	22,41 ± 2,39	31,74 ± 0,96	28,96 ± 6,18
6	47,25 ± 1,91	53,97 ± 2,37	31,52 ± 2,10	45,12 ± 1,74	44,47 ± 8,69
8	44,91 ± 1,11	70,87 ± 0,87	55,83 ± 1,88	67,41 ± 1,59	59,75 ± 10,74
9	35,70 ± 1,83	45,97 ± 1,89	34,47 ± 1,57	49,51 ± 1,39	41,41 ± 2,53
10	49,05 ± 1,03	58,42 ± 0,68	47,72 ± 1,52	64,25 ± 0,66	54,86 ± 7,17
14	25,86 ± 2,06	54,18 ± 1,88	38,08 ± 4,86	56,01 ± 2,92	43,53 ± 13,18
15	62,73 ± 2,66	48,36 ± 2,96	36,20 ± 3,24	65,30 ± 1,50	53,15 ± 12,45
17	30,65 ± 0,59	60,03 ± 2,10	42,66 ± 1,65	66,83 ± 2,08	50,05 ± 14,95
19	42,06 ± 2,88	57,60 ± 1,22	43,42 ± 1,08	53,75 ± 2,18	49,21 ± 7,12
20	46,05 ± 2,78	67,59 ± 2,13	47,14 ± 1,90	62,80 ± 2,08	55,90 ± 10,07
23	17,27 ± 3,05	33,03 ± 0,97	25,91 ± 4,48	46,49 ± 1,83	30,68 ± 11,45
24	48,50 ± 0,96	60,01 ± 1,03	38,48 ± 1,38	51,69 ± 1,98	49,67 ± 8,14
25	33,59 ± 2,10	47,11 ± 0,97	42,66 ± 2,80	43,39 ± 2,07	41,69 ± 5,49
26	34,36 ± 2,12	70,36 ± 1,50	58,24 ± 1,24	67,83 ± 1,70	57,70 ± 14,91
27	56,37 ± 0,66	63,11 ± 1,95	45,81 ± 3,40	40,12 ± 1,59	51,35 ± 9,52
28	54,62 ± 0,99	70,28 ± 1,32	57,33 ± 1,99	48,20 ± 2,56	57,61 ± 8,48
33	33,10 ± 1,73	46,73 ± 1,5	31,03 ± 2,53	36,10 ± 1,92	36,74 ± 6,53
34	62,50 ± 1,76	74,07 ± 2,33	53,52 ± 2,64	70,87 ± 0,69	65,24 ± 8,50
35	49,44 ± 1,65	65,21 ± 1,94	53,57 ± 2,24	34,57 ± 1,44	50,70 ± 11,55
41	36,83 ± 1,60	57,52 ± 1,33	43,43 ± 1,43	53,29 ± 1,96	47,76 ± 8,59
42	50,17 ± 2,73	54,07 ± 2,61	44,66 ± 2,57	65,76 ± 1,30	53,66 ± 8,34
44	56,52 ± 1,53	66,52 ± 2,07	47,06 ± 1,69	57,60 ± 1,48	56,93 ± 7,35
46	53,03 ± 2,55	67,59 ± 1,56	48,02 ± 2,58	39,18 ± 1,77	51,96 ± 10,90

Kết quả phân tích Anova hai nhân tố 3 lần lặp lại với mức ý nghĩa $\alpha = 0,005$ theo chương trình Microsoft Excel 2007 khả năng tái sinh của 25 giống lúa

Nguồn biến sai	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Môi trường	21757,01	24	906,5421	119,3535	$6,7 \times 10^{-105}$	2,0116
Giống	11496,94	3	3832,313	504,5546	$5,47 \times 10^{-93}$	4,4084
Môi trường và giống	12722,17	72	176,6968	23,2635	$3,57 \times 10^{-67}$	1,6146
Trong nhóm	1519,087	200	7,595437			
Tổng	47495,2	299				

Kết quả phân tích Anova với mức ý nghĩa $\alpha = 0,005$ cho thấy khả năng tái sinh của 25 giống lúa trong thí nghiệm này đều bị ảnh hưởng bởi môi trường và giống. Cụ thể với yếu tố môi trường giá trị F trong nhóm là 119,3535 lớn hơn rất nhiều so với giá trị $F_{crit} = 2,0116$, tuy nhiên khi so sánh với khả năng ảnh hưởng của môi trường lên khả năng tạo callus thì trị số giữa F/F_{crit} của thí nghiệm này thấp hơn xấp xỉ 8 lần. Về ảnh hưởng của yếu tố giống lên khả năng tạo callus của các giống lúa cũng thấy một sự khác biệt rất lớn giữa giá trị F và F_{crit} xấp xỉ 110 lần (lần lượt là 504,5546 và 4,4084). Tuy nhiên, khi so sánh với thí nghiệm trước đó thì trị số F/F_{crit} của thí nghiệm này lớn hơn gần 3 lần so với trị số F/F_{crit} của thí nghiệm ảnh hưởng của bản chất giống lên sự hình thành callus. Khi phân tích ảnh hưởng đồng thời của yếu tố môi trường và yếu tố bản chất di truyền lên khả năng tái sinh của từng giống ta cũng nhận thấy giá trị F lớn hơn giá trị F_{crit} (lần lượt là 23,2635 và 1,6146) chứng tỏ khả năng tái sinh của các giống lúa bị ảnh hưởng đồng thời bởi yếu tố môi trường và bản chất di truyền của chúng. Qua phân tích Anova cho phép nhận xét khả năng tái sinh của mỗi giống lúa bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường và bản chất di truyền của giống cũng như sự tác động đồng thời của 2 yếu tố này. Tuy nhiên, khác với trường hợp khả năng tạo callus, khả năng tái sinh của các giống lúa bị tác động mạnh mẽ hơn bởi bản chất di truyền hay nói một cách khác là khả năng tái sinh của từng giống lúa do chính bản chất di truyền của giống quyết định và ta sẽ tìm được môi trường thích hợp để có tỷ lệ tái sinh cao nhất trên từng giống lúa.

Khi phân tích chi tiết chúng ta có thể nhận thấy môi trường MS4 có bổ sung 2 mg BAP, 0,5 mg kinetin cho tỷ lệ tái sinh trung bình trên 25 giống là 35,25% (thấp nhất trong số 4 môi

trường khảo sát) còn môi trường MS7 có bổ sung 0,5 mg BAP, 0,5mg kinetin cho tỷ lệ tái sinh trung bình cao nhất (đạt 51,73%). Tuy nhiên, môi trường MS5 có bổ sung 2 mg BAP, 0,5 mg kinetin và 0,1 mg casein là môi trường cho tỷ lệ tái sinh ổn định hơn với tỷ lệ trung bình là 45,74% và phương sai là 1,17 trong khi môi trường MS7 có tỷ lệ tái sinh cao hơn nhưng phương sai tương đối lớn đạt 2,45. Khi quan sát chi tiết hơn chúng ta có thể thấy với môi trường MS5 có 11 giống có khả năng tái sinh trên 60% còn môi trường MS7 chỉ có 8 giống có khả năng tạo callus trên 60%. Về khả năng tái sinh của từng giống có thể thấy nếu tính trên 4 môi trường thì có 6 giống (giống số 8, 10, 20, 26, 28, 34 và 42) có tỷ lệ tái sinh trung bình trên 55%. Trong số đó, giống số 34 (YUNLU103-1B) có tỷ lệ tái sinh trên 4 môi trường đạt 65,24% và riêng trên môi trường MS5 tỷ lệ tái sinh của giống lúa này đạt đến 74,07% với phương sai là 8,5 (tuy khá cao nhưng vẫn thấp hơn so với các giống lúa có tỷ lệ tái sinh cao khác trong thí nghiệm này). Giống lúa số 8 (giống LUYIN46) cũng là giống có tỷ lệ tái sinh khá cao 59,75%, tuy nhiên khả năng tái sinh của giống lúa này bị ảnh hưởng mạnh bởi yếu tố môi trường (phương sai là 10,74%); giống lúa này cho tỷ lệ tái sinh cao trên môi trường MS5 và MS7 (lần lượt là 70,87% và 67,41%) trong khi tỷ lệ tái sinh trên 2 môi trường MS4 và MS6 lại thấp hơn rõ rệt (44,91% và 55,83%). Các giống lúa còn lại (giống số 10, 20, 26, 28 và 44) cũng đều cho khả năng tái sinh trên môi trường có bổ sung 2 mg BAP, 0,5 mg kinetin và 0,1 mg casein cao hơn rõ rệt với môi trường có bổ sung 0,5 mg BAP và 0,5 mg kinetin.

III. KẾT LUẬN

Từ kết quả của nghiên cứu này, cho phép

nhận định hầu hết các giống lúa trong thí nghiệm này (25/46 giống) có khả năng tạo callus tốt. Khả năng tạo callus của các giống lúa này bị ảnh hưởng bởi cả yếu tố môi trường và yếu tố di truyền, hai yếu tố này tác động đồng thời lên khả năng tạo callus của từng giống lúa tuy nhiên yếu tố môi trường (nồng độ 2,4D) có tác động rõ nét hơn. Qua khảo sát chúng tôi nhận thấy có 4 giống có tiềm năng tạo callus tốt nhất là Nếp khâu để đòn (69,67%), YUNLU103-1B (69,79%), giống LP-5M (73,79%) và IR80416-B-152-4 (76,97%) và môi trường thích hợp cho sự hình thành callus của các giống LP-5M và IR80416-B-152-4 là môi trường có bổ sung 1,5 mg 2,4D còn với 2 giống còn lại là môi trường có bổ sung 2 mg 2,4D. Về khả năng tái sinh của 25 giống lúa, chúng tôi nhận thấy khả năng này cũng bị ảnh hưởng riêng rẽ và đồng thời bởi 2 yếu tố môi trường và bản chất di truyền, tuy nhiên yếu tố di truyền của giống lại có ý nghĩa quyết định đến khả năng tái sinh của từng giống lúa. Qua thí nghiệm chúng tôi nhận thấy giống lúa YUNLU103-1B có khả năng tái sinh tốt trên cả 4 loại môi trường đã khảo sát (trên 50%) là giống có triển vọng để nghiên cứu tiếp khả năng tiếp nhận gen lạ bên cạnh một số giống lúa

khác như giống LUYIN46, LP-5M và IR80416-B-152-4 là các giống có khả năng tái sinh và hình thành callus tốt tuy nhiên các giống này đều bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường khá mạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cao Lê Quyên, Lê Kim Hoàn, Phạm Xuân Hội, Lê Huy Hàm**, 2008: Nghiên cứu khả năng tái sinh cây lúa từ phôi của tập đoàn giống lúa Việt Nam nhằm phục vụ công tác chuyển gen. Tạp chí Sinh học, 30(3): 141-147.
2. **Chu Văn Mẫn**, 2003: Ứng dụng tin học trong sinh học. Nxb. Đại học Quốc gia Hà Nội.
3. **Murashige T. and Skoog F.**, 1962: A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
4. **James C.**, 2005: Global status of commercialized biotech/MG crops. ISAAA Briefs 34. ISAAA: Ithaca, NY.
5. **Http://www.nea.gov.vn/ThongTinMT/NoiDung/tiasang_3-6-08.html**.

STUDY ON PLANT REGENERATION FROM EMBRYO OF A GROUP VARIETIES OF VIETNAMESE UPLAND RICE FOR TRANSFORMATION APPROACH

CAO LE QUYEN, PHAM THI VAN, PHAM XUAN HOI

SUMMARY

Almost high land rice varieties have drought tolerant potential however they usually do not meet the demand of yield for rapid growing in the population. To utilize these potential genetics resources, it requires transferring the high yield genes into this group or introducing the potential drought tolerance genes into high yield and quality varieties. It is necessary for optimizing in-vitro culture and establishing a transgenic protocol in this group therefore we have studied on the callus forming potency and plant regeneration capacity of 46 Vietnamese high land rice varieties. Almost of them (44/46 rice varieties) have callus forming potency and there are 22 rice varieties which have callus formation rate more than 50%, especially four varieties have callus formation rate approximately from 70% to 80%. The MS medium supplement with a range of 1.5-2 mg/l 2,4D seems to be optimal for callus forming. All 25 callus forming rice varieties showed plant regeneration capacity and out of which, six rice varieties have regeneration score above 55%. The MS medium supplement with 2 mg/l BAP, 0.5 mg/l kinetin, and 0.1 mg/l casein seem to be optimal for plant regeneration. The ANOVAs analyses show that the callus forming potency and plant regeneration capacity of this group are influenced by mediums and genetic resources. However, the medium factors effect in the callus forming potency stronger than genetic resources while plant regeneration capacity depends on their genetics more than media.

Ngày nhận bài: 19-11-2010