

CHỌN DÒNG LÚA (*ORYZA SATIVA L.*) CHỐNG CHỊU HẠN THÔNG QUA NUÔI CẤY CALLUS

TRƯƠNG THỊ BÍCH PHƯƠNG*, TÔN NỮ GIA ÁI*,
NGUYỄN HOÀNG LỘC*, NGUYỄN HỮU ĐỒNG**

acid 0,7 mg/l, benzylamion purine 6,0 mg/l, và agar 8 g/l, pH môi trường 5,8.

e) Kiểm tra độ ổn định của tính hạn: Các dòng callus chống chịu

CÁC stress thổ nhưỡng như hạn, mặn, phèn là những yếu tố ngoại cảnh bất lợi ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng của thực vật cũng như sự phân bố của chúng. Tuy nhiên, theo Tewary và cs. (2000), cải tạo đất là một công việc khó khăn, do đó hướng nghiên cứu để phát triển các kiểu gen thích nghi được với các stress sinh lý là rất quan trọng. Điều cần thiết là phải sàng lọc được các kiểu gen mong muốn chống chịu với các stress thổ nhưỡng khác nhau trước khi đưa chúng vào canh tác trên những vùng đất này. Vì thế, việc nghiên cứu cải thiện các giống cây trồng nói chung và cây lúa nói riêng có tính chống chịu cao với các loại stress là một trong những hướng rất quan tâm của sản xuất nông nghiệp.

Trong bài báo này chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu chọn dòng lúa có khả năng chống chịu stress hạn bằng kỹ thuật nuôi cấy callus.

I. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

a) Nguyên liệu thực vật: Sử dụng hạt của giống (*Oryza sativa L.*) 271 và 212 để chọn lọc các dòng chống chịu hạn.

b) Nuôi cấy callus: Hạt lúa được bóc vỏ và khử trùng sơ bộ bằng cồn 70% trong 1 phút và HgCl₂ 0,1% trong 5 phút, sau đó rửa sạch 5 lần bằng nước cất vô trùng. Hạt đã khử trùng được cấy lên môi trường cơ bản MS (Murashige-Skoog 1962), bổ sung saccharose 30 g/l, pH môi trường 5,8 để tạo callus. Các thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* được tiến hành ở nhiệt độ 25 ± 2°C, cường độ chiếu sáng 2000-3000 lux, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày.

c) Chọn dòng callus chống chịu hạn: Sau khi cấy chuyển, chọn được dòng callus thích nghi ở những môi trường hạn nhất định (mannitol 3%, 6%, 9%, 12%). Các callus sinh trưởng tốt trong mỗi lần cấy chuyển sẽ chọn lọc để nuôi cấy trở lại trên môi trường có mức độ stress cao hơn. Các callus sống sót cuối cùng ở 12% mannitol và duy trì trong 3 tháng để sàng lọc các dòng tế bào chống chịu hạn.

d) Tái sinh cây từ callus: Các dòng callus thích nghi với điều kiện stress hạn (15% mannitol) được chuyển lên môi trường tái sinh cây có mannitol ở nồng độ tương ứng, thành phần bao gồm muối khoáng và vitamin của MS bổ sung saccharose 30 g/l, maltose 30 g/l, indolybutyric

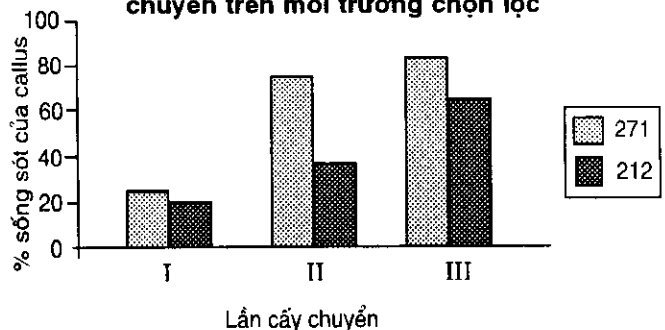
hạn và cây *in vitro* tái sinh từ các callus này được duy trì trên các môi trường nuôi thích hợp không có mannitol trong 6 tháng với chu kỳ cấy chuyển 1 tháng/lần, sau đó được chuyển trở lại các môi trường tương ứng có 15% mannitol để kiểm tra ổn định của khả năng chống chịu.

II. Kết quả và thảo luận

a) Khả năng thích nghi stress hạn của callus lúa: Trước khi tiến hành chọn dòng tế bào chống chịu hạn (mannitol) chúng tôi đã khảo sát khả năng thích nghi với stress của callus lúa và ngưỡng cây chết của mannitol. Kết quả nghiên cứu cho thấy. Trên môi trường có 3% mannitol, callus của hạt giống lúa sinh trưởng bình thường (tỷ lệ sống 100%) như đối chứng ở 0% mannitol. Khả năng thích ứng với điều kiện stress hạn của callus 271 cao hơn callus 212, trên môi trường có 6% mannitol callus 271 vẫn sống 100% trong khi callus 212 chỉ đạt 88%. Khi tăng nồng độ mannitol trong môi trường lên 9-12%, tỷ lệ sống sót của callus 271 và lần lượt là 35% và 32%. Ở môi trường có 15% mannitol, tất cả callus của hai giống lúa đều chết chỉ sau 1 ngày nuôi cấy.

b) Chọn dòng chịu hạn: Chúng tôi đã sử dụng phương pháp thích nghi bậc thang để xử lý tuần tự stress cho callus. (Các bước thực hiện đã nêu ở phần phương pháp). Kết quả cho thấy: Sau khi chuyển lên môi trường có 15% mannitol, tỷ lệ sống sót của callus tăng dần từ lần cấy chuyển thứ nhất đến lần cấy chuyển thứ ba (Hình 1). Trên khối callus, bên cạnh những tế bào bị chết những tế bào sống sót dần sinh trưởng trở lại, tạo ra những khối mô có màu vàng nhạt. Điều đó, chứng tỏ những tế bào có khả năng chịu hạn cao đã xuất hiện, thích nghi dần dần và tiếp tục duy trì sinh trưởng của chúng. Mỗi khối callus sống sót sau lần cấy chuyển thứ ba được xem là một dòng mô. Kết quả chúng tôi đã thu được 7 dòng mô callus chống chịu 15% mannitol ở giống 271 và 5 dòng ở giống 212.

HÌNH 1. Tỷ lệ sống sót của callus sau các lần cấy chuyển trên môi trường chọn lọc



(*) Trường Đại học khoa học, Đại học Huế. (**). PGS. TS. Trung tâm Công nghệ sinh học thực vật (Viện DTNN).

c) Khả năng tái sinh từ các dòng callus chịu hạn: Các dòng callus chống chịu 15% mannitol của hai giống 271 và 212 một mặt được tiếp tục duy trì ở mức độ mô, mặt khác cũng được chuyển lên môi trường tái sinh để thu thập *in vitro*. Tuy nhiên, không phải tất cả các dòng callus chống chịu hạn đều có thể tái sinh cây, chúng tôi chỉ thu cây tái sinh từ 4 trong số 7 dòng của giống 271, và từ 3 trong số 5 dòng của giống 212. Nhìn chung, khả năng tái sinh cây của các dòng chịu hạn tương đối thấp: ở giống 271 có 8,23% số mô tái sinh chồi với tỷ lệ trung bình 7,7 chồi/mô, trong khi đó ở giống 212 chỉ có mô tái sinh với 6,7 chồi/mô.

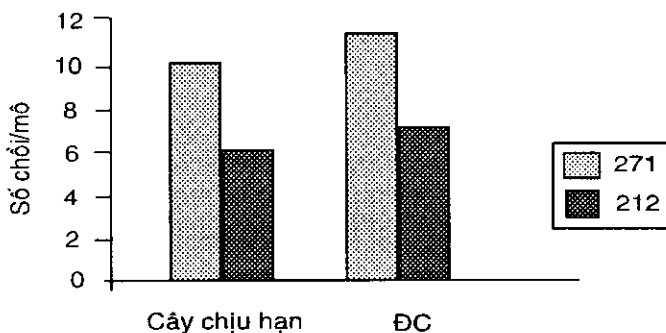
d) Kiểm tra độ ổn định tính chống hạn: Sau 6 tháng duy trì trên môi trường không có mannitol với chu kỳ cấy chuyển 1 tháng/1 lần, các callus chống chịu hạn của 271 và 212 được chuyển trở lại môi trường có 15% mannitol. Kết quả sau 1 tháng nuôi cấy trên môi trường này các callus vẫn duy trì khả năng sinh trưởng tốt tương đương với đối chứng là mô callus bình thường nuôi cấy trên môi trường không có mannitol, tỷ lệ mô sống sót là 98% ở giống 271 và 82% ở giống 212. Các chồi tái sinh (cao khoảng 2-3 cm) thu được từ các dòng callus chống chịu 15% mannitol được tách ra để phát triển thành cây hoàn chỉnh. Các cây lúa *in vitro* của 7 dòng (thuộc hai giống 271 và 212) cũng được duy trì trên môi trường không có mannitol trong 6 tháng với 6 lần cấy chuyển sau đó đưa trở lại môi trường có nồng độ mannitol tương ứng. Trên môi trường stress hạn này một dòng cây của giống 212 đã chết, tuy nhiên các dòng cây *in vitro* còn lại đều phát sinh chồi con và sinh trưởng tốt (Hình 2). Kết quả của bước kiểm tra này chúng tôi đã loại 1 dòng không ổn định của callus giống 212. 4 dòng cây từ 4 dòng callus chống chịu 15% mannitol của giống 271 và 2 dòng cây còn lại của 3 dòng callus giống 212 đã ổn định khả năng thích nghi mới của mình.

III. Kết luận

(+) Sử dụng phương pháp thích nghi bậc thang, chúng tôi đã thu được 7 dòng callus chống chịu 15% mannitol ở giống 271 và 5 dòng ở giống 212. Các callus chống chịu stress hạn giống 271 có tỷ lệ sống sót rất cao 94% và của giống 212 là 65% sau 3 tháng duy trì trên môi

HÌNH 2. Khả năng tái sinh chồi của cây *in vitro* chịu hạn trên môi trường có 15% mannitol.

ĐC: cây *invitro* bình thường tái sinh chồi trên môi trường không có mannitol



trường có 15% mannitol. (+) Trong các dòng callus chống chịu 15% mannitol chọn lọc được chỉ có 4/7 dòng ở các giống 271 và 3/5 dòng ở các giống 212 là có khả năng tái sinh cây. (+) Các dòng callus chịu hạn của giống 271 và 212 đều ổn định khả năng chống chịu ở mức độ mô. Ở mức độ cây *in vitro*, 4 dòng cây từ 4 dòng callus chống chịu 15% mannitol của giống 271 và 2 dòng cây của 3 dòng callus giống 212 đã ổn định khả năng thích nghi mới của mình.

(Công trình được hoàn thành trong khuôn khổ chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản).

Selection of drought-tolerant lines of rice (*Oryza sativa* L.)

(Summary)

Using the procedure of stepwise adaptation, we obtained the drought (mannitol)-tolerant callus lines of both rice cultivars, 271 and 212. Stability in callus cultures that have been selected for drought tolerance was demonstrated by survival of the selected calli on return to selective medium after 6 months in the mannitol-free medium. Similarly, four regenerated plant lines from selected calli 271 and two lines from calli 212 still expressed stability of drought tolerance after 6 months in the medium without mannitol.♥

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU...

(Tiếp theo trang 578)

linh chi trồng trên bã mía có đầy đủ thành phần hoá sinh và 17 loại axit amin với hàm lượng tương đối cao.

b) Đề nghị: Đề nghị Hội đồng Khoa học công nghệ - Bộ Nông nghiệp và PTNT công nhận quy trình nuôi trồng nấm linh chi trên bã mía là tiến bộ kỹ thuật cấp Nhà nước và cho phép triển khai công nghệ này trên phạm vi rộng, góp phần giải quyết công ăn việc làm, tăng thu nhập đối với bà con nông dân.

(Công trình được hoàn thành trong khuôn khổ chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản).

Results of study on the technology of cultivating *Ganoderma* in sugarcane bagasse

(Summary)

(1) Sugarcane bagasse is rich of cellulose and has some minerals. Many edible and medicinal mushrooms can be easily cultivated in bagasse. (2) All persons can apply this cultivation technology. (3) *Ganoderma* cultivated in bagasse has high productivity. *Ganoderma* in bagasse is more productive than in sawdust. (4) Content of acid amin and total protein of *ganoderma* cultivated in bagasse is higher than *ganoderma* in sawdust.♥