

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

ĐỀ TÀI NCKH CẤP NHÀ NƯỚC
NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ TẾ BÀO VÀ KỸ THUẬT CHỈ THỊ PHÂN TỬ
PHỤC VỤ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG
(thuộc Chương trình KC 04, mã số KC 04.08)

ĐỀ TÀI NHÁNH
**NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP CÔNG NGHỆ SINH HỌC THỰC
VẬT NHẪM GIẢM CHIỀU CAO CÂY VÀ TĂNG KHẢ NĂNG
CHỐNG ĐỔ CỦA CÁC GIỐNG LÚA CHẤT LƯỢNG CAO**

CNĐT: THS NGUYỄN VĂN THẮNG

Hà Nội - 2005

**NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP CÔNG NGHỆ SINH HỌC
THỰC VẬT NHẪM GIẢM CHIỀU CAO CÂY VÀ TĂNG KHẢ
NĂNG CHỐNG ĐỔ CỦA CÁC GIỐNG LÚA CHẤT LƯỢNG CAO**

1. MỞ ĐẦU

Công nghệ sinh học thực vật đang có nhiều đóng góp có giá trị cho sản xuất nông nghiệp, đặc biệt trên lĩnh vực tạo giống cây trồng mới. Sự ra đời và phát triển của các kỹ thuật sinh học hiện đại như nuôi cấy mô tế bào thực vật, chọn dòng đột biến, công nghệ gen... đang là công cụ có hiệu quả cao trong việc nghiên cứu và cải tiến các giống cây trồng có giá trị kinh tế và đã thu được nhiều kết quả trên nhiều đối tượng cây trồng [1].

Ở Việt Nam công nghệ sinh học thực vật đang được nghiên cứu ứng dụng triển khai trong công tác giống cây trồng và đã thu được những kết quả đáng kể như nhân giống cây sạch bệnh bằng nuôi cấy mô, nuôi cấy đơn bội, nuôi cấy và dung hợp tế bào trần, chọn dòng tế bào đột biến... trên các đối tượng cây trồng như lúa, khoai lang, thuốc lá, dưa sồi...[9]. Đặc biệt Viện Công nghệ sinh học đã chọn tạo được hai giống lúa DR1 và DR2 bằng kỹ thuật chọn dòng tế bào mang biến dị soma cho năng suất cao và ổn định, có khả năng chịu hạn, chịu lạnh hơn hẳn so với giống gốc [10].

Lúa là cây lương thực quan trọng nhất trên thế giới, 90% diện tích lúa trồng và tiêu thụ chủ yếu ở châu á. Hiện nay lúa được trồng trong những điều kiện sinh thái và khí hậu rất khác nhau ở cả vùng nhiệt đới, á nhiệt đới và ôn đới ở các châu lục [3, 8].

Việt Nam là nước đứng thứ hai trên thế giới về xuất khẩu gạo, nhưng giá trị kinh tế không cao, vì chất lượng nhiều giống lúa không đáp ứng được nhu cầu của thị trường. Trong khi đó chúng ta có những giống lúa chất lượng cao đặc sản rất quý, hạt dài, cơm dẻo và rất thơm ngon như Tám thơm, Dự thơm, Tẻ di hương... nhưng năng suất thấp vì cây cao thân mềm, chống đổ kém, lá dài, mỏng và rủ, hạt thưa, thời gian sinh trưởng dài, phản ứng chậm chễ với ánh sáng ngày ngắn [2, 7, 8].

Kết hợp giữa công nghệ tế bào thực vật, đột biến thực nghiệm và công nghệ gen cho phép cải biến các giống lúa nói trên theo các hướng như gây đột biến tế bào bằng tia gamma và chọn dòng tế bào để chọn các đột biến thấp cây, chống đổ hoặc sử dụng công nghệ gen để chuyển gen hạ thấp chiều cao cây.

Xuất phát từ cơ sở trên, chúng tôi xây dựng đề tài: **“Nghiên cứu biện pháp công nghệ sinh học thực vật nhằm giảm chiều cao cây và tăng khả năng chống đổ của các giống lúa chất lượng cao”**. Với mục đích hạ thấp chiều cao cây, tăng cường tính chống đổ để cải thiện năng suất, rút ngắn thời gian sinh trưởng của giống lúa Tám thơm, Dự thơm và Tẻ di hương.

2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. Các giống lúa chất lượng cao ở miền Bắc Việt Nam

ở nước ta cây lúa luôn giữ vị trí trọng yếu trong hệ thống các cây trồng nông nghiệp. Ngày nay khi mà lúa gạo đã có đủ cho nhu cầu trong nước và có dư để xuất khẩu thì vị trí của các giống lúa chất lượng cao đặc sản ngày càng quan trọng.

Nhu cầu sử dụng các giống lúa chất lượng cao đặc sản ngày một gia tăng, trong khi đó hầu hết các giống lúa này đang trong tình trạng bị thoái hoá, chất lượng gieo trồng thấp, kỹ thuật canh tác chưa phù hợp nên sản phẩm chưa đạt yêu cầu chất lượng như mong muốn. Các giống lúa chất lượng cao như Tám xoan, Tẻ di hương, Dự thơm, Nàng hương.... là giống lúa đặc sản vùng đồng bằng Bắc bộ có phẩm chất gạo rất tốt và có mùi thơm ngon, nhưng năng suất thấp do có nhiều đặc điểm yếu như cao cây, thân yếu chống đổ kém, kém chịu phân, lá dài rủ, hạt thưa, cổ bông dài, trong đó tính trạng cần khắc phục nhất là cao cây [7, 8].

Các giống lúa chất lượng thuộc nhóm lúa mùa chính vụ có thời gian sinh trưởng dài 150-160 ngày, phản ứng chặt chẽ với ánh sáng ngày ngắn, biên độ thời vụ khá rộng. Hiện nay có khoảng 12 giống lúa Tám được trồng ở miền Bắc nước ta, trong đó các giống chất lượng cao nổi tiếng nhất như: Tám xoan Hải Hậu, Tám áp bẹ Xuân Đài, Tám cổ ngỗng Nam định. Các giống này thường được trồng ở vùng Thái Bình, Nam định, Hải Dương, Hải Phòng... Các giống lúa Dự thơm, Tẻ di hương cũng là những giống lúa đặc sản nổi tiếng được trồng nhiều ở các tỉnh ven biển đồng bằng Bắc bộ, hiện nay được chú ý khôi phục trở lại do tính chất chịu mặn, chịu chua phèn, gạo dự hương được coi là loại gạo đặc sản dùng trong ngày lễ, ngày tết...[8].

Hầu hết các giống lúa chất lượng cao đang trồng ở miền Bắc nước ta đều cao cây, chống đổ kém và được trồng vào vụ mùa, đây là mùa mưa nhiều. Nên vào giai đoạn gần thu hoạch các giống này do cao cây chống đổ kém nên dễ bị khi gặp gió và mưa, vì vậy hạt lúa dễ bị mọc mầm, ảnh hưởng đến chất lượng và năng suất. Tính trạng qui định chiều cao cây là do đa gen qui định và chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường. Việc nghiên cứu các biện pháp để giảm chiều cao cây có ý nghĩa rất lớn không chỉ đối với các giống lúa chất lượng cao mà còn có ý nghĩa đối với các giống cây trồng khác như lúa nếp, lúa tẻ, các giống ngô.

2.2. Công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật

2.2.1. Cơ sở chọn dòng biến dị soma trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật.

Mỗi một tế bào bất kỳ lấy từ cơ thể sinh vật đa bào đều có khả năng tiềm tàng để phát triển thành một cơ thể hoàn chỉnh. Đó là tính toàn năng của tế bào [1].

Soma là tên gọi các tế bào sinh dưỡng, nó khác với tế bào sinh dục. Biến dị soma dùng để chỉ tất cả các biến dị xảy ra trong quá trình nuôi cấy mô, tế bào. Từ các tế bào soma có thể tạo nên bất kỳ bộ phận nào của cây hay cây hoàn chỉnh thông qua kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật. Nguyên lý chung của việc chọn dòng mang biến dị soma là các tế bào nuôi cấy in vitro có tỷ lệ biến dị di truyền lớn (10^{-5} - 10^{-8}), nếu kết hợp xử lý đột biến hoặc xử lý stress thì tần số có thể tăng lên gấp 10 lần, vì thế có thể chọn được các cá thể đột biến nhanh hơn và có hiệu quả hơn so với các phương pháp chọn giống thông thường khác áp dụng cho cây nguyên vẹn. ở mức độ tế bào, nhất là tế bào đơn bội hầu như những đặc điểm đột biến được thể hiện ra ngay. Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào còn cho phép giảm bớt đáng kể thời gian cần thiết để chọn được những tính trạng theo ý muốn [1].

Theo Lê Trần Bình và CS. (1997), bản chất và cơ chế của biến dị soma liên quan mật thiết đến những thay đổi trong genome của tế bào nuôi cấy. Do nhiều nguyên nhân như tác động của hormone sinh trưởng trong thời gian dài và các yếu tố khác làm cho nhiễm sắc thể trong tế bào nuôi cấy có thể tăng lên tạo ra các dạng đa bội lệch và mức bội thể cao. Nhiều trường hợp các, các đoạn của nhiễm sắc thể được chuyển đổi hoặc đảo ngược. Cấu trúc của phân tử DNA cũng có thể bị thay đổi dẫn đến đột biến kiểu hình thực sự.

Tương tự như vậy, nhiều công trình công bố cũng cho rằng biến dị soma thường xuất hiện ở các cây tái sinh được sau khi nuôi cấy tế bào qua giai đoạn mô sẹo [14], có nhiều kiểu đột biến như: đột biến nhân, đột biến tế bào chất, đa bội thể và các bất thường khác trong nhiễm sắc thể [25].

Những ứng dụng lớn nhất trong việc chọn dòng mang biến dị soma của công tác giống chính là chọn ra các kiểu hình với các kiểu gene tương ứng, thích hợp với yêu cầu của các giống mới là có năng suất cao, chống chịu với các điều kiện ngoại cảnh bất lợi, chất lượng tốt và ổn định. Nhiều công trình công bố đã thành công trong việc chọn dòng mang biến dị soma trên các đối tượng giống cây trồng, ở thuốc lá, nuôi cấy hạt phấn và tế bào trần đã thu được những cây đột biến có năng suất cao, thời gian sinh trưởng ngắn, hàm lượng đường và alkaloid thấp [1].

2.2.2. Nuôi cấy mô sẹo và sự biến dị di truyền

Mô sẹo (*callus*) là khối mô thực vật gồm những tế bào không phân hoá, có khả năng phân bào liên tục. Trong tự nhiên, mô sẹo thường phát sinh trên vết thương ở cây vì vậy có tên gọi theo nghĩa đen là mô sẹo.

Bởi vì mô sẹo là một khối các tế bào mô mềm có mức độ cấu trúc thấp, chưa phân hoá nhưng phân chia một cách hỗn loạn và thường có tính biến động di truyền cao. Trong nuôi cấy in vitro mô sẹo được tạo ra bằng cách nuôi cấy các cơ quan của thực vật (thân, rễ, lá, hoa, quả...) ở các môi trường chứa chất điều khiển sinh trưởng cần thiết (auxin, cytokinin) và điều kiện nuôi cấy thích hợp.

Khi tái sinh cây từ những mô sẹo được cấy chuyển nhiều lần, thì những cây này dễ mang những biến động di truyền về nhiễm sắc thể (dị bội, đa bội) và những biến đổi di truyền khác [1].

Đối với việc chọn dòng biến dị soma, những cây tái sinh từ mô sẹo với những biến dị di truyền có một ý nghĩa rất lớn, từ đây ta có thể chọn ra được nhiều dòng cây mang những đặc điểm khác nhau so với giống ban đầu. Vấn đề này đã mở ra một triển vọng trong việc sử dụng công nghệ tế bào thực vật để cải tiến di truyền những giống cây trồng có ý nghĩa kinh tế.

2.2.3. Tái sinh cây từ mô sẹo

Trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật, kỹ thuật tạo, nuôi và tái sinh cây từ mô sẹo phải được hoàn thiện một cách tối ưu nhất, trong đó đặc biệt là vấn đề tái sinh cây. Nhiều tác giả sau khi chọn được dòng tế bào đột biến từ nuôi cấy mô sẹo đã không tái sinh được cây hoặc những cây này lại không duy trì được tính trạng vừa chọn lọc.

Ở một vài loại cây cho hạt quan trọng, việc tái sinh chồi từ mô sẹo còn gặp nhiều khó khăn. Ở các đối tượng thuộc họ *Fabaceae* việc tái sinh cây hoàn chỉnh cho tới nay chỉ thành công trong một số trường hợp chẳng hạn *Archis hypogaea*, *Onobrychis viciifolia*.... Nuôi cấy mô sẹo của thuốc lá sau nhiều lần cấy chuyển vẫn duy trì được khả năng tái sinh [18].

Theo Amirato và cs (1984) nguồn gốc mô sẹo cũng ảnh hưởng đến khả năng tái sinh cây, chẳng hạn người ta chỉ thu được cây tái sinh từ mô sẹo nuôi cấy bằng đoạn hoa tự của lúa mì. Mức bội thể của mô sẹo cũng là nguyên nhân gây sự khác nhau trong quá trình tái sinh cây, mô sẹo đơn bội từ đoạn thân hoặc mảnh lá của *Datura innoxia* tạo chồi nhanh hơn mô sẹo cùng loài của cây nhị bội.

Theo Sharp (1984) năm 1951-Levine là người đầu tiên đã thành công trong việc tạo mô sẹo và tái sinh cây từ mô sẹo của *Nicotiana affinis* và *Helianthus annuus*, đến nay người ta đã tạo và tái sinh cây thành công từ mô sẹo trên hơn 100 loài.

2.3. Đột biến thực nghiệm và ứng dụng trong chọn tạo giống cây trồng

Tính ổn định trong cấu trúc di truyền ở cá thể sống không phải là tuyệt đối, nó có thể bị biến đổi do tác động của các tác nhân vật lý và hoá học. Người ta gọi những biến đổi nhỏ nhất trong cấu trúc gen hoặc nhiễm sắc thể là đột biến [11].

Cùng với tác nhân gây đột biến là các tác nhân hoá học, thì các tác nhân vật lý (chiếu xạ bởi tia Ronghen, tia Gamma, bức xạ Neutron...) là những tác nhân gây đột biến có hiệu quả giúp con người tạo ra hàng loạt giống mới có những thuộc tính mới có lợi về mặt kinh tế: thấp cây, thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, chất lượng dinh dưỡng tốt, đề kháng với sâu bệnh... [5].

Đối với chiếu xạ tia Gamma thường dùng nguồn là Co^{60} hoặc Cs^{137} có hoạt tính phóng xạ, tùy từng đối tượng cụ thể có thể sử dụng 2 cách chiếu xạ: (1). Chiếu xạ nhanh trong một thời gian ngắn bằng nguồn mạnh và cường độ chiếu xạ mạnh, (2). Chiếu xạ từ từ bằng nguồn yếu và thời gian chiếu xạ kéo dài.

2.3.1. Cơ chế gây đột biến khi chiếu xạ

Dựa vào tính chất biến đổi cấu trúc di truyền mà người ta chia đột biến thành hai kiểu cơ bản: Đột biến gen (còn gọi là đột biến điểm) và đột biến nhiễm sắc thể.

- Đột biến gen là những biến đổi trong cấu trúc phân tử của gen, tức là nó thay đổi trật tự các nucleotid trong DNA hoặc thay thế các bazơ nitơ trong các cặp nucleotid.
- Đột biến NST là những đột biến làm đứt và thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể, vì thế nó làm thay đổi nhiều dấu hiệu hay các đặc tính khác nhau của cơ thể. Ngoài ra còn loại đột biến nữa là sự tăng hoặc giảm một số lần bộ nhiễm sắc thể, gọi là đa bội thể.

Khi chiếu xạ bằng tia Gamma từ nguồn Co^{60} lên tế bào hoặc mô thì các phân tử sinh học chịu tác dụng trực tiếp và gián tiếp của bức xạ ion hoá.

- Tác dụng trực tiếp: bức xạ trực tiếp ion hoá và kích thích các phân tử sinh học làm tổn thương các phân tử đó, đối với vật chất di truyền xảy ra các hiệu ứng sau: (1) Thay đổi thành phần cấu tạo của DNA: đứt liên kết photphodiester giữa các phân tử đường, phá huỷ liên kết bazơ - đường, thay đổi cấu

trúc bậc 2 của DNA (đứt đoạn, biến tính, kết hợp chéo). (2). ảnh hưởng lên sự sao chép DNA - RNA. (3) Thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể: đứt đoạn, mất đoạn, đảo đoạn, lặp đoạn, trao đổi chéo, thay đổi mức bội thể.

- Tác dụng gián tiếp: bức xạ ion hoá tác dụng lên các phân tử nước với ion H^+ , OH^- , các gốc tự do OH , H và các sản phẩm oxy hoá mạnh như H_2O_2 . Các sản phẩm kể trên của quá trình xạ phân (Radiolysis) nước rất hoạt động về mặt hoá học, chúng sẽ công phá các phân tử sinh học làm thay đổi cấu trúc chức năng của chúng.

Bức xạ có thể gây ra những thay đổi hình thái cũng như thay đổi chức năng trong tế bào và mô. Nhưng bức xạ không tạo ra chức năng mới trong tế bào và mô mà chỉ làm thay đổi các chức năng sẵn có hay làm xuất hiện các chức năng trước đó tiềm tàng [5, 11].

2.3.2. Một số thành tựu của chọn giống đột biến

Công tác chọn giống và tạo giống mới có vai trò hết sức quan trọng trong việc tăng năng suất và chất lượng cây trồng đặc biệt là cây lương thực. Chính công tác này đã đóng vai trò quyết định trong cuộc cách mạng xanh trong những năm 1960 ở Ấn Độ và nhiều nước khác trên thế giới [5]. Một trong những thành tựu xuất sắc nhất của thế kỷ 20 là khám phá ra phương pháp tạo giống bằng cách gây đột biến thực nghiệm. Với kết quả của hơn 60 nước đã thu được chứng tỏ đây là phương pháp có hiệu quả để tạo giống mới.

Theo thống kê của Tổ chức lương thực và Tổ chức năng lượng nguyên tử thế giới (FAO/IAEA) năm 1960 chỉ có 7 giống cây trồng đột biến, 1975 có 145 giống, 1992 có 1530 giống, năm 1997 có 1870 giống. Phần lớn các giống tạo ra là cây ngũ cốc như: lúa, lúa mì, lúa mạch, ngô.... Các nước tạo ra nhiều giống đột biến như: Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, các nước Liên Xô cũ... [11].

Từ năm 1968, Việt Nam đã bắt đầu nghiên cứu chọn giống đột biến và đã thu được kết quả đáng kể như tạo ra các giống lúa A-20, DT10, DT-11, DT13, giống ngô DT-6, đậu tương DT84, DT-90 (Quý1997)... Gần đây Nguyễn Minh Công và cộng sự đã tạo được giống Tám thơm đột biến không cảm quang, có thể gieo cấy được cả hai vụ [2].

3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Vật liệu

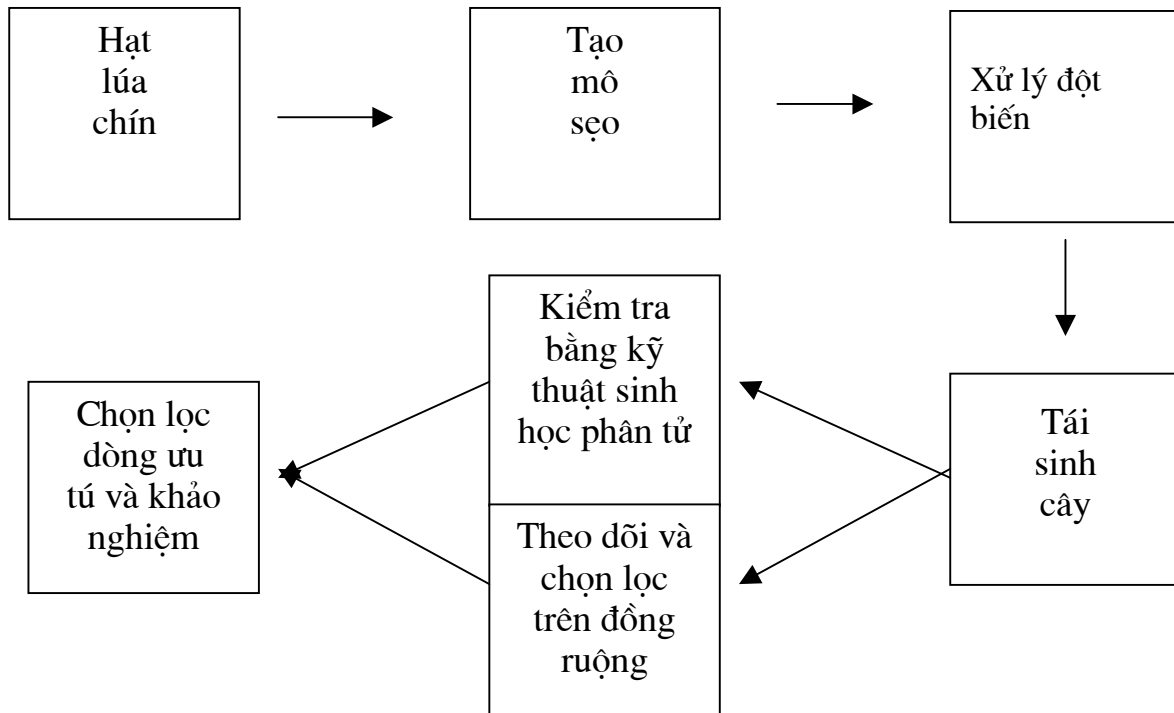
- Các giống lúa đặc sản của Việt Nam: Tám xoan, Tám áp bẹ, Dự thơm, Tẻ di hương, do Trung tâm tài nguyên di truyền thực vật, Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam cung cấp (bảng 1).

Bảng 1: Đặc điểm nông sinh học của các giống lúa làm nguyên liệu [4, 7, 8]

Đặc điểm	Tám xoan	Tám áp bẹ	Dự thơm	Tẻ di hương
Thời gian ST (ngày)	160-165	165-168	155-158	142-145
Chiều cao cây (cm)	140-145	137-140	140-145	125-130
Tổng số hạt/bông	130-135	150	100-110	110-115
P. 1000 hạt (g)	20-21	21-22	24-25	21,2
Năng suất (tạ/ha)	30-32	35-41	35-40	32-38
Chất lượng gạo và phẩm chất cơm	Gạo nhỏ, trắng trong, cơm ngon	Gạo nhỏ, ngon, rất thơm	Cơm mềm, dẻo, rất thơm ngon	Cơm mềm, dẻo và thơm
Đặc tính chống chịu	Thân mềm, chống đổ kém	Thân mềm, chống đổ kém	Chống đổ trung bình	Chống đổ trung bình

3.2. Phương pháp

Hình 1: Sơ đồ thí nghiệm tổng quát



3.2.1. Khử trùng hạt - tạo mô sẹo

Hạt lúa chín được bóc vỏ trấu, hạt gạo được đem khử trùng bằng cách ngâm và lắc nhẹ trong cồn 70⁰ thời gian 1 phút, javen 60% thời gian 15-20 phút, sau đó rửa sạch bằng nước cất vô trùng 4-5 lần. Hạt gạo sau khi khử trùng được đặt lên môi trường tạo mô sẹo C₁ (MS + 3% saccharoza + 0,8% agaroza + 0,1 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP + 2 mg/l 2,4D) và C₂ (MS + 3% saccharoza + 0,8% agaroza + 2 mg/l 2,4D), với số lượng 20 hạt/bình tam giác 250 ml.

Điều kiện nuôi cấy: Nuôi trong buồng tối 1 tuần ở nhiệt độ 26⁰C ± 2. Sau đó chuyển ra nuôi ở phòng sáng với cường độ ánh sáng 2000 lux, thời gian chiếu 16 giờ/ngày, nhiệt độ 26⁰C ± 2. Khoảng 2-3 tuần, khi khối mô sẹo hình thành thì tiến hành đánh giá khả năng tạo mô sẹo [5,6].

3.2.2. Xử lý mô sẹo bằng tia gamma từ nguồn Co⁶⁰

Sau khi đánh giá khả năng tại mô sẹo, tiến hành chọn các mô sẹo đẹp (kích thước đồng đều và màu vàng), cắt thành khối nhỏ với kích thước khoảng 2-3 mm và cấy lên môi trường nhân mô sẹo C₃ (MS + 3% saccharoza + 0,8% agaroza + 1 mg/l 2,4D). Mô sẹo được chiếu xạ bằng tia gamma từ nguồn Co⁶⁰ với 5 liều lượng là 3Krad, 5Krad, 7Krad, 9Krad, 11Krad và 13Krad.

3.2.3. Tái sinh chồi và tạo cây hoàn chỉnh

Mô sẹo sau khi xử lý tia gamma, được đặt lên môi trường tái sinh cây R (MS + 3% saccharoza + 0,8% agaroza + 0,2 mg/l NAA + 2 mg/l BAP), nuôi ở nhiệt độ 26⁰C ± 2, cường độ ánh sáng 2000 lux và thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày. Sau 4 tuần nuôi cấy, các chồi tái sinh được tách thành các dòng cây và cấy chuyển lên môi trường tạo cây hoàn chỉnh SR (MS + 3% saccharoza + 0,8% agaroza + 0,2 mg/l NAA) [8]. Trước khi chuyển cây ra nhà lưới, tiến hành cấy chuyển thêm 1-2 lần lên môi trường MS có vitamin để cây khoẻ có khả năng thích nghi tốt với điều kiện tự nhiên.

3.2.4. Phương pháp nghiên cứu trên đồng ruộng

- Cây từ ống nghiệm đưa ra ngoài đồng ruộng (thế hệ R₀) được cấy 1 dảnh và được gọi là 1 dòng. Bông của mỗi dòng thu được đánh dấu và thu hoạch riêng để gieo trồng cho vụ tiếp theo.
- Theo dõi sự phát triển của các dòng chọn lọc qua các giai đoạn phát triển trong mỗi vụ gieo trồng. Phân tích các đột biến và thu nhận các dòng có các đột biến có lợi, đánh giá các chỉ tiêu nông sinh học của các dòng chọn lọc theo các chỉ tiêu nông sinh học:

- Chiều cao cây
- Số bông trên khóm
- Chiều dài bông
- Số hạt chắc trên bông
- Chiều dài hạt
- Chiều rộng hạt
- Trọng lượng 1000 hạt
- Thời gian sinh trưởng
- Đặc điểm hình thái của bộ lá và lá đồng
- Khả năng chống đổ
- Chất lượng gạo

3.2.4. Phương pháp đánh giá tính đa hình DNA

- Tách DNA tổng số từ lá
- Xác định hàm lượng và độ sạch DNA
- So sánh RAPD và phân tích số liệu RAPD

3.2.5. Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

- Các máy móc, thiết bị chuyên dụng cho nuôi cấy mô và nghiên cứu sinh học phân tử của phòng Công nghệ tế bào thực vật và Phòng máy chung thuộc Viện Công nghệ Sinh học như máy PCR, máy điện di, máy ly tâm, máy đo quang phổ...
- Sử dụng tia gamma từ nguồn Co^{60} để chiếu xạ cho mô sẹo (tiến hành tại Trung tâm chiếu xạ Quốc gia Từ Liêm, Hà Nội)
- Các thí nghiệm trên đồng ruộng được tiến hành tại Trại Thực nghiệm Sinh học, Cổ Nhuế, Từ Liêm, Hà Nội

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Kết quả tạo mô sẹo

Khi nuôi cấy phôi hạt chín của 4 giống lúa địa phương trên 2 loại môi trường tạo mô sẹo C_1 và C_2 (bảng 2), chúng tôi nhận thấy, tỷ lệ tạo mô sẹo trên môi trường C_1 cao hơn hẳn so với môi trường C_2 . Kết quả đánh giá cũng cho thấy, các mô sẹo được tạo ra trên môi trường C_1 phát triển đồng đều, có màu sắc vàng đều và không bị mọng đen như trên môi trường C_2 . Điều này có thể giải thích là do sự kết hợp của các chất kích thích sinh trưởng ảnh hưởng trực tiếp đến mức độ phân chia và các hoạt động sinh hoá của tế bào. Tuy nhiên, hiệu suất và chất lượng của mô sẹo cũng còn phụ thuộc vào kiểu gen của từng giống.

Bảng 2: Đánh giá khả năng tạo mô sẹo của các giống lúa trên môi trường C_1 và C_2

Tên giống	SHĐ/MT*	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%) sau 3 tuần nuôi cấy	
		C_1	C_2
Tám Xoan	200	95,0	40,4
Tám ấp Bè	200	93,0	49,7
Dự Thơm	200	90,0	43,1
Tẻ Di Hương	200	93,3	48,5

(*) SHĐ/MT: số hạt đạt/môi trường

4.2. Tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau khi chiếu xạ

Kết quả bước đầu cho thấy xử lý chiếu xạ bằng tia gamma ở liều càng cao thì khả năng sống sót của mô sẹo càng giảm, sự mất cảm của mô sẹo phụ thuộc vào nguồn gốc của giống khác nhau. cùng liều chiếu tỷ lệ mô sống sót của các giống Tẻ Di Hương và Tám ấp Bè cao hơn so với giống Dự

Thơm và Tám Xoan. Ở liều chiếu 13Krad tỷ lệ sống sót của mô sẹo của giống Dự Thơm chỉ còn 2,4% trong khi đó các giống khác còn khoảng 20% (bảng 3).

Bảng 3: Tỷ lệ mô sống sau 30 ngày chiếu xạ (%)

Tên giống	Số mô chiếu xạ/liều	Liều chiếu xạ tia gamma từ nguồn C_{60}						
		0 Krad	3 Krad	5 Krad	7 Krad	9 Krad	11 Krad	13 Krad
Tám Xoan	250	100	45,2	44,4	26,0	23,6	22,0	21,2
Tám áp Bẹ	250	100	85,6	77,6	74,4	55,3	48,2	19,6
Dự Thơm	250	100	70,0	55,2	32,0	24,4	11,6	2,4
Tẻ Di Hương	250	100	94,4	80,0	75,5	72,7	50,0	20,8

4.3. Kết quả tái sinh cây từ mô sẹo sống sót sau chiếu xạ

Các mô sống sót được cấy chuyển lên môi trường tái sinh cây, sau 60 ngày tiến hành đánh giá: kết quả tái sinh cây (bảng 4) cho thấy khả năng tái sinh cây tỷ lệ nghịch với liều chiếu xạ. Liều chiếu càng cao tỷ lệ mô tái sinh càng giảm. Với liều chiếu 11Krad mô sẹo các giống Dự Thơm và Tám Xoan không còn khả năng tái sinh, còn đối với giống Tẻ Di Hương và Tám áp Bẹ có tỷ lệ mô tái sinh là 5,3% và 6,8% so với đối chứng là 52,4 và 48,5%. ở liều chiếu 13Krad chỉ có mô sẹo của giống Tẻ Di Hương còn khả năng tái sinh với tỷ lệ rất thấp là 3,8%.

Bảng 4: Tỷ lệ (%) mô sẹo tái sinh cây sau 60 ngày chiếu xạ

Liều chiếu xạ (Krad)	Tẻ Di Hương		Dự Thơm		Tám áp Bẹ		Tám Xoan	
	MTS*	SC/ M*	MTS*	SC/ M*	MTS*	SC/ M	MTS*	SC/ M*
0	52,4	2,4	51,7	4,5	48,5	3,2	47,9	2,4
3	38,5	3,1	18,6	2,4	32,1	2,3	40,2	2,6
5	29,3	2,7	10,4	1,5	19,7	1,4	35,8	1,7
7	26,4	2,5	7,1	1,3	17,0	1,0	22,7	1,2
9	15,6	2,2	4,6	2,0	15,8	2,0	18,3	1,9
11	5,3	1,0	0	0	6,8	1,2	0	0
13	3,8	1,0	0	0	0	0	0	0

Ghi chú: (*) MTS: mô tái sinh; SC/M: số cây/mô (giá trị trung bình)

Từ kết quả đánh giá khả năng sống sót và tái sinh cây của mô sẹo sau xử lý tia gamma chúng tôi thấy giới hạn trên của các giống là: Tẻ Di Hương là 13Krad, Tám áp Bẹ là 11Krad, Dự Thơm và Tám Xoan là 9Krad. Nếu vượt qua liều chiếu này đa số mô sẹo chết, các mô còn sống sót có khả năng tái sinh rất thấp. Dựa trên kết quả thu được chúng tôi xác định liều chiếu xạ thích hợp cho mô sẹo của 4 giống lúa nghiên cứu từ 7Krad đến 9Krad.

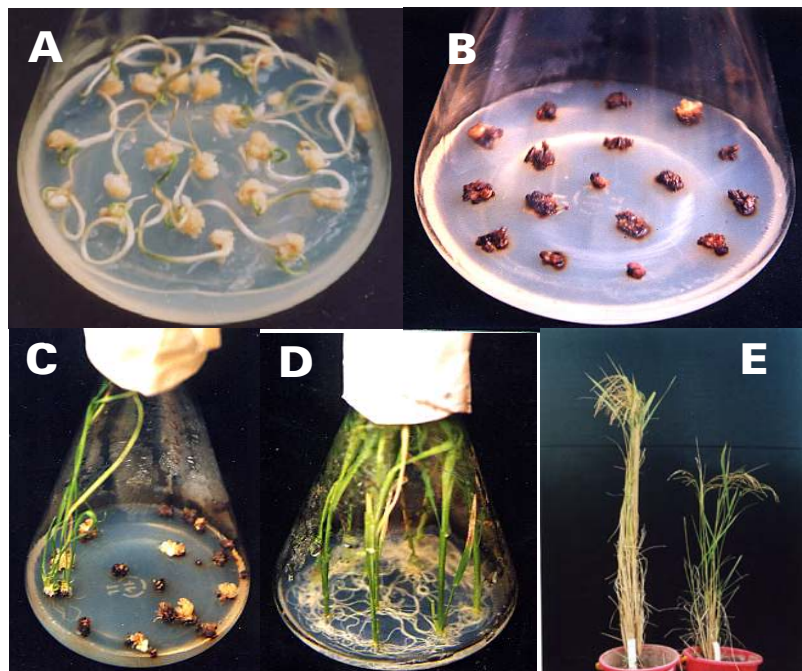
Bảng 5: Số cây tái sinh thu được

Tên giống	Số cây tái sinh ở từng liều chiếu xạ						
	0 Krad	3 Krad	5 Krad	7 Krad	9 Krad	11 Krad	13 Krad
Tám Xoan	287	120	68	18	21	0	0
Tám áp Bẹ	388	158	54	32	42	10	0
Dự Thơm	582	78	22	8	6	0	0
Tẻ Di Hương	316	281	158	124	62	7	2
Tổng	1573	637	302	182	131	17	2

Thống kê kết quả bảng 5 cho thấy khả năng tái sinh cây chịu sự ảnh hưởng của tia gamma và kiểu gen của từng giống. Số cây tái sinh giảm tỷ lệ nghịch với liều chiếu ở mỗi giống. Mẫu đối chứng tổng số cây tái sinh được 1573 cây trong khi đó mẫu chiếu xạ 3Krad tái sinh được 637 cây và ở liều

chiếu 13Krad chỉ tái sinh được 2 cây (Tẻ Di Hương). Quan sát cây tái sinh ở liều chiếu 11Krad và 13Krad đa số cây bị bạch tạng hoặc bị biến dạng (thân cong, lá xoắn, không thoát ngọn).

Các dòng lúa tạo ra được chuyển sang môi trường tạo cây hoàn chỉnh (SR) và được trồng ra nhà lưới để tiếp tục nghiên cứu các đặc điểm nông sinh học làm cơ sở để chọn lọc các dòng có những đặc điểm mong muốn như (thấp cây, ngắn ngày, mất cảm quang) phục vụ cho công tác chọn tạo giống mới. Kết quả ở thế hệ MR_0 một số dòng đã biểu hiện về chiều cao rất rõ (ảnh 4). Các dòng này tiếp tục được theo dõi ở các thế hệ tiếp theo.



Hình 2. (A) Mô sẹo giống Tăm Xoan sau 3 tuần trên môi trường C_1 ; (B) Mô sẹo giống Dự Thơm bị chết sau 30 ngày chiếu xạ ở liều 13 Krad; (C) Cây tái sinh sau 60 ngày chiếu xạ ở liều 9 Krad trên môi trường R; (D) Cây mạ nuôi trên môi trường tạo rễ; (E) Tăm Xoan đối chứng cao 142 cm (trái) và Tăm Xoan đột biến cao 1,05 cm (phải) ở thế hệ MR_0 (liều chiếu xạ 9 Krad)

4.4. Phân tích một số đặc điểm nông học trên đồng ruộng thế hệ RM_0

4.4.1. Hiện tượng bất dục thế hệ MR_0

Các dòng cây xanh được trồng trên đồng ruộng thế hệ MR_0 , kết quả cho thấy tỷ lệ bất dục hoàn toàn khá cao đối với tất cả các giống, ở giống Tăm áp bẹ có tỷ lệ các dòng bất dục cao nhất (44,60%), đây là đặc điểm khá phổ biến đối với cây tái sinh từ mô sẹo và đặc biệt đối với cây trồng khi xử lý đột biến.

Bảng 6: Kết quả gieo trồng các dòng tái sinh từ mô sẹo xử lý tia gamma thế hệ RM_0

TT	Tên giống	Số dòng cây	Số dòng thu được hạt	Tỷ lệ bất dục (%)
1	Dự thơm	201	118	41,29
2	Tẻ Di Hương	100	63	37,00
3	Tăm áp bẹ	139	77	44,60
4	Tăm xoan	137	105	23,36
	Tổng cộng	577	363	37,09

4.4.2. Sự biến động một số đặc điểm nông học ở thế hệ RM0

Theo dõi sự sinh trưởng và phát triển các dòng lúa thế hệ RM0 cho thấy mức độ biến dị của tất cả các đặc điểm nông học là rất lớn. Từ kết quả thu được ở bảng 7 cho thấy các dòng tái sinh từ mô sẹo xử lý tia gamma có những biến đổi rất lớn về đặc tính sinh lý, di truyền dẫn đến sự biến động các tính trạng hình thái, đây là nguồn nguyên liệu rất phong phú cho những chọn lọc tiếp theo.

Bảng 7: Một số đặc điểm nông sinh học của các dòng tái sinh từ mô sẹo xử lý tia gamma thế hệ RM0 của giống lúa Dự Thơm

Giống Dự Thơm								
Liều chiếu	Chiều cao cây		Số bông/khóm		Chiều dài bông (cm)		Số hạt chắc/bông	
	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)
L0 (ĐC)	132,10	6,52	8,90	3,88	25,78	3,39	135,54	29,61
L7	110,74	12,15	6,74	3,74	24,68	3,25	63,14	58,61
L9	114,27	13,96	7,40	4,34	25,85	1,76	50,32	46,20
Tẻ DH	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)
L0	123,07	5,76	14,07	3,99	22,12	2,64	76,00	17,65
L5	109,53	12,97	7,00	4,03	21,85	2,35	32,74	34,60
L7	120,58	7,45	7,08	4,29	23,83	3,83	46,83	45,89
L9	115,61	8,32	12,26	6,45	23,84	2,71	12,94	18,41
L11	117,39	6,88	9,86	5,42	25,35	2,39	64,90	42,57
Tám AB	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)
L0	142,14	6,92	9,04	2,73	27,48	2,24	188,25	34,90
L5	122,42	10,76	10,29	4,28	25,79	2,08	21,78	23,35
L7	117,32	17,89	10,66	5,13	24,49	2,12	35,07	39,62
L9	108,20	19,67	10,73	5,76	25,57	2,38	36,09	43,40
L11	122,67	6,90	17,40	7,23	24,18	2,05	47,18	47,97
Tám Xoan	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)	X	Cv(%)
L0	143,27	6,99	9,00	2,61	28,16	2,70	177,73	21,93
L7	129,05	13,44	7,47	5,17	24,82	2,73	54,63	63,97
L9	120,02	27,91	5,76	3,36	26,03	2,65	27,61	65,24

Ghi chú: X: giá trị trung bình của 1 chỉ tiêu, Cv%: hệ số biến động của 1 chỉ tiêu.

Nhận xét: Nhìn chung các đặc điểm nông sinh học của các dòng tái sinh từ mô sẹo xử lý tia gamma thế hệ RM0 của các giống có những đặc điểm sau:

- Chiều cao cây: thấp hơn đối chứng, có hệ số biến động lớn hơn đối chứng rất nhiều
- Số bông/khóm cũng biến động lớn đối với từng giống và từng liều chiếu khác nhau
- Chiều dài bông: đây là chỉ tiêu tương đối ổn định, có hệ số biến động không chênh lệch nhiều so với giống đối chứng.
- Số hạt chắc/bông: đây là chỉ số có hệ số biến động rất lớn, nhìn chung các dòng cây từ nuôi cấy mô thông qua xử lý khi trồng trên đồng ruộng có tỷ lệ hạt chắc tương đối thấp, tỷ lệ các dòng bất dục hoàn toàn tương đối cao.
- Đã thu được một số dòng có chiều cao cây thấp, chín sớm, tỷ lệ hạt chắc cao

4.4.3. Sự phân ly một số đặc điểm nông học ở thế hệ RM1

Các dòng thu được hạt ở thế hệ MR0 tiếp tục được gieo cấy vụ tiếp theo để đánh giá sự phân ly các tính trạng và chọn lọc các dòng mong muốn. Quan sát quần thể MR1 của các dòng cho thấy có nhiều tính trạng thay đổi khác hẳn so với đối chứng, như chiều cao cây, dạng cây, dạng lá dòng.... đặc biệt các dòng có nguồn gốc từ giống lúa Tám Xoan và Tám áp bẹ có sự biến dị rất rõ về màu sắc,

hình dạng và kích thước hạt, phân ly về màu sắc hạt có dòng hạt màu vàng sáng, nâu sáng, nâu đen... phân ly về dạng hạt có dạng hạt bầu, dạng hạt tròn, hạt có râu...

Kết quả bảng 8 thu được một số dòng quan tâm RM1 của giống Tám Xoan và Tám ấp Bẹ cho thấy hầu hết các dòng này dạng khóm gọn, lá đồng vừa phải, góc lá đồng đứng, thấp cây, chín sớm hơn so với đối chứng 5 –15 ngày. Tuy nhiên đặc điểm về số bông/khóm, số hạt chắc/bông của các dòng này thay đổi rất nhiều so với đối chứng.

4.4.4. Một số dòng không cảm quang – trở được vụ Xuân

Trong số các dòng thu được ở thế hệ RM1 được gieo cấy vào vụ Xuân (gieo cấy trái vụ), kết quả thu được một số dòng không có tính cảm quang với ánh sáng ngày dài– trở được vụ Xuân (bảng 9). Đáng chú ý là dòng lúa Tám xoan TXL7-01-1 có độ thuần khá cao, trở bông đồng đều, chiều cao cây 100,5cm, thời gian sinh trưởng là 116 ngày, màu sắc hạt nâu sáng như giống gốc, hình dạng hạt hơi bầu. Kết quả cũng thu được một số dòng lúa Tám xoan TXL9-29-3(1-15) cũng không cảm quang, tuy nhiên các dòng này có sự phân ly về hình thái rất mạnh, trong số này có các dòng TXL9-29-3-1, TXL9-29-3-2 và TXL9-29-3-3 vẫn giữ được màu sắc và hình dạng hạt so với giống gốc. Theo đánh giá cảm quan ban đầu thì các giống này vẫn giữ được mùi thơm của giống gốc.

Hai dòng lúa có nguồn gốc từ giống Dự Thơm (DTL7-01-08) và Tẻ Di Hương (TDHL9-8-5) cũng không cảm quang. Dòng DTL7-01-08 có thời gian sinh trưởng dài, cây cao, hạt có râu, tỷ lệ lép cao. Dòng TDHL9-8-5 cũng phân ly mạnh về các đặc điểm hình thái, một số khóm không trở bông, tỷ lệ lép cao.

Đồng thời với nghiên cứu này, chúng tôi cũng tiến hành chọn lọc một số dòng lúa Tám đột biến do Viện Kỹ thuật hạt nhân TP. HCM cung cấp, kết quả thu được dòng lúa Tám hạt nhỏ trở được cả 2 vụ, có độ thuần cao, thấp cây, chín sớm, hạt gạo thon dài và trong.

Bảng : Một số đặc điểm nông học các dòng lúa Tám Xoan và Tám ấp Bẹ quan tâm thu vụ mùa 2003 – thế hệ RM1

TT	Tên dòng	C.Cao cây (cm)	Số bông/khóm	Dài bông (cm)	Số hạt/bông	Tỷ lệ lép (%)	Dài hạt (mm)	Rộng hạt (mm)	Thời gian ST (ngày)	TL 1000 hạt (g)
0	TX ĐC	140,7	4,67	24,87	120,3	6,03	7,91	2,61	140	22
1	TXL7-01-1	130,5	6,4	22,60	140,3	21,45	7,23	3,12	120	23
2	TXL7-01-2	127,3	7,8	24,70	116,3	26,87	7,11	2,89	120	22
3	TXL7-01-3	125,0	7,5	26,50	134,5	22,18	7,41	2,90	130	23
4	TXL7-01-4	130,4	8,3	24,60	145,6	19,23	7,21	3,08	130	23
5	TXL7-27-2	127,5	4,6	27,21	206,0	32,57	7,26	2,26	125	20
6	TXL7-27-4	125,8	7,2	27,21	206,0	17,57	7,26	2,57	125	21
7	TXL7-30-2	141,5	6,5	22,65	103,2	31,7	7,43	2,58	125	22
8	TXL7-34-2	127,3	11,0	23,89	129,9	23,7	7,54	2,60	125	21
9	TXL9-41-3	139,2	8,0	24,40	156,0	14,87	7,23	2,38	130	21
10	TXL7-46-1	130,1	10,2	23,38	147,20	19,60	7,56	2,46	130	22
11	TXL7-47-13	141,2	11,0	21,77	90,10	18,7	7,71	2,53	125	21
12	TXL7-48-1	145,5	5,8	25,13	146,25	25,6	7,57	2,32	140	22
13	TXL7-52-7	124,8	5,8	24,50	139,6	29,7	7,69	2,64	120	21
14	TXL9-8-18	125,2	8,0	23,54	132,6	16,5	7,32	2,24	125	21
15	TXL9-10-13	127,9	5,7	27,77	124,3	25,1	7,7	25,5	130	22
16	TXL9-29-1	124,3	6,7	22,32	126,4	26,7	7,87	2,59	125	22
17	TXL9-47-2	120,0	9,1	28,96	161,5	26,8	7,71	2,50	125	21
0	TAB ĐC	135,2	4,59	25,84	143,9	13,99	7,72	2,67	143	22
19	TABL9-10-6	110,4	6,8	22,45	75,4	15,5	7,57	2,76	135	21
20	TABL7-32-1	130,2	12,3	25,3	97,6	24,4	7,84	2,85	125	21
21	TABL7-34-29	132,0	6,6	25,5	118,9	102	7,35	2,52	125	22
22	TABL7-53-2	143,3	8,4	26,1	190,8	29,7	7,54	2,42	125	21

23	TABL7-53-3	138,5	10,6	25,7	154,4	19,8	7,61	2,54	120	23
----	------------	-------	------	------	-------	------	------	------	-----	----

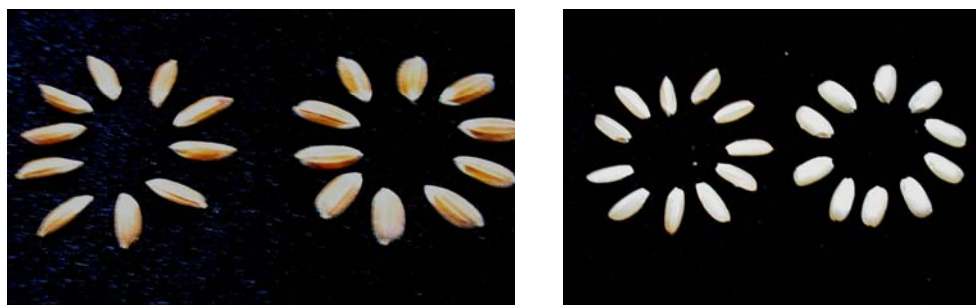
Bảng: Đặc điểm nông học của các dòng không cảm quang trở vụ Xuân 2004 – thế hệ RM2

TT	Tên dòng	C.Cao cây (cm)	Số bông/ khóm	Dài bông (cm)	Số hạt/bông	Tỷ lệ lép (%)	Dài hạt (mm)	Rộng hạt (mm)	Màu sắc, dạng hạt	Thời gian ST (ngày)	TL. 1000 hạt
1	TXL7-01-1	100,5	9,2	21,95	93,90	12,14	7,48	3,03	Nâu sáng Bầu tròn	116	23,8
2	TXL7-01-2	124,8	8,6	22,35	107,7	8,54	7,26	3,06	Nâu sáng Vàng sáng Bầu tròn	120	23,6
3	TXL7-01-3	112,1	7,2	22,30	89,60	17,07	7,50	3,36	Nâu sáng Vàng sáng Bầu tròn, có râu	120	23,0
4	TXL9-29-3-1	130,3	7,4	23,53	118,21	34,52	7,92	2,62	Nâu sáng Nhỏ thon	115	22,2
5	TXL9-29-3-2	127,5	7,1	22,96	105,65	36,45	7,87	2,61	Nâu sáng Nhỏ thon	115	22,1
6	TXL9-29-3-3	124,2	7,0	20,27	86,80	47,60	7,68	2,59	Nâu sáng Nhỏ thon	124	21,8
7	TXL9-29-3-4	122,7	9,3	19,31	80,23	94,30	7,72	2,64	Nâu sáng Nhỏ thon	124	20,5
8	TXL9-29-3-5	115,4	6,8	18,60	96,75	24,82	8,31	2,97	Vàng sáng, râu rất dài, hạt to dài	124	23,5
9	TXL9-29-3-6	150,3	7,5	22,71	76,12	10,52	8,42	3,54	Vàng sáng Hạt rất to	124	27,6
10	TXL9-29-3-7	130,6	5,6	22,56	75,51	31,86	7,25	2,46	Vàng sáng, nhỏ	124	19,6
11	TXL9-29-3-8	115,9	3,9	19,63	86,72	26,34	7,49	2,73	Vàng sáng, nhỏ	124	20,2
12	TXL9-29-3-9	130,2	6,4	21,12	90,74	25,60	8,15	2,89	Vàng sáng Dài	124	21,1
13	TXL9-29-3-10	135,4	4,5	22,24	81,15	30,23	8,27	3,32	Vàng sáng Dài-to	124	23,4
14	TXL9-29-3-11	117,5	5,7	21,15	76,88	26,78	8,21	3,29	Vàng sáng Dài-to	124	22,7
15	TXL9-29-3-12	142,0	3,6	19,27	84,86	22,71	7,41	2,56	Vàng sáng nhỏ	124	20,3
16	TXL9-29-3-13	150,4	2,6	18,38	83,45	24,51	7,71	2,64	Vàng sáng nhỏ	124	19,8
17	TXL9-29-3-14	120,4	6,4		87,42	28,56	7,78	2,68	Vàng sáng nhỏ	124	19,4
18	TXL9-29-3-15	118,5	8,4	19,54	75,65	100,00	-	-	Nâu - lép	-	-
19	DTL7-01-8	145,6	6,2	16,70	67,50	72,30	7,43	2,62	Vàng sáng	140	20,5
20	TDHL9-8-5	130,3	7,4	18,50	72,70	60,70	7,50	2,91	Vàng sáng	130	21,8

21	Tám Hạt nhỏ	96,3	9,0	23,80	149,10	8,11	8,66	2,48	Nâu sáng Nhỏ thon	110	19,2
----	-------------	------	-----	-------	--------	------	------	------	----------------------	-----	------



Hình 3: B: Dòng lúa TXL7-01-01 không cảm quang
A: Tám Xoan đối chứng - không trở bông



Hình 4: Hình dạng và màu sắc hạt lúa và gạo của dòng TXL7-01-01

- Bên trái mỗi hình: hạt Tám Xoan đối chứng
- Bên phải mỗi hình: hạt của dòng TXL7-01-01

5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

1. Các giống lúa Dự Thơm, Tẻ Di Hương, Tám Xoan và Tám Ấp Bẹ đều có khả năng tạo mô sẹo tốt trên môi trường MS có bổ sung 0.1mg/l NAA + 0.2mg/l BAP + 2mg/l 2,4-D với tỷ lệ tạo mô sẹo tương ứng là: 90%; 93.3%; 93% và 95%.
2. Xác định liều chiếu xạ thích hợp cho mô sẹo của 4 giống lúa nghiên cứu từ 7 Krad đến 9 krad.
3. Đã trồng được 577 dòng cây trên đồng ruộng thế hệ RMo và thu được 363 dòng có hạt
4. Bước đầu đã chọn lọc được 38 dòng của 4 giống cần quan tâm theo dõi ở thế hệ tiếp theo (Tám Xoan 17 dòng, Tám ấp bẹ 5 dòng, Dự Thơm 9 dòng, Tẻ Di Hương 8 dòng).
5. Đã thu được 20 dòng không cảm quang với ánh sáng ngày dài (trở được cả 2 vụ), trong đó có dòng Tám Xoan TXL7-01-01 có độ thuần cao, thấp cây và chín sớm.

Đề nghị

Cần tiến hành chọn lọc các dòng thu được ở các thế hệ tiếp theo và phân tích các đặc điểm sinh lý, sinh hoá và sinh học phân tử của chúng để làm nguyên liệu chọn lọc giống.

Tài liệu tham khảo

Tài liệu tiếng Việt

1. Lê Trần Bình, Hồ Hữu Nhị, Lê Thị Muội (1997). Công nghệ sinh học thực vật trong cải tiến giống cây trồng (giáo trình cao học nông nghiệp), NXB Nông nghiệp, Hà nội.
2. Nguyễn Minh Công, Đỗ Hữu ất, Bùi Huy Thủy, (1999). Nghiên cứu chọn tạo giống lúa tám thơm đột biến. Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm, số 5/1999, 212-213.
3. Bùi Huy Đáp, (1999). Một số vấn đề về cây lúa. NXB Nông nghiệp - Hà nội, 154tr.
4. Trương Đích, (1999). 265 giống cây trồng mới. NXB Nông nghiệp - Hà nội, 323tr.
5. Phan Văn Duyệt, (1998). Phương pháp vật lý và lý sinh phóng xạ dùng trong nông nghiệp, sinh học và y học. NXB Khoa học và kỹ thuật - Hà nội, 177tr.
6. Hệ thống tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen lúa, IRRI, INGRE-1996.
7. Nguyễn Văn Hiến, Trần Thị Nhân, (1982). Giống lúa miền Bắc Việt nam. NXBNông nghiệp- Hà nội, 203tr.
8. Nguyễn Văn Hoan, (1997). Hướng dẫn kỹ thuật thâm canh các giống lúa chuyên mùa chất lượng cao. NXB Nông nghiệp - Hà nội, 87tr.
9. Nguyễn Hoàng Lộc (1992). Chọn dòng chịu muối NaCl và chịu mất nước ở thuốc lá (*Nicotiana tabacum L.*) (luận án Phó tiến sĩ sinh học), Hà nội.
10. Đinh Thị Phòng, Nguyễn Văn Tĩnh, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội (1998). Kết quả chọn tạo và triển khai sản xuất hai giống lúa mới DR1 và DR2 bằng công nghệ tế bào thực vật. Tạp chí Khoa Học và Công Nghệ, Trung Tâm Khoa Học Tự Nhiên và Công Nghệ Quốc Gia, tập XXXVI, số 4.
11. Trần Duy Quý, (1997). Các phương pháp mới trong chọn tạo giống cây trồng. NXB Nông nghiệp - Hà nội, 348tr.
12. Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tấn (1997). Sinh lý học thực vật. NXB Giáo dục, 251 tr.

Tài liệu tiếng nước ngoài

13. Amirato P.V., Evans D.A., Sharp W.R. and Yamada Y. (1984). Handbook of plant cell culture. Crop Species, New York, Macmilan.Vol. 3.
14. Bartels D., Singh M., Salamini F. (1988). Onset of desiccation tolerance during development of the barley embryo. Planta Mol. Biol. 11, 277-291.
15. Brown et al. (1994). Development of simple bombardment device for gene transfer into plant cells. Plant Cell Tissue Organ Cul., 37, 47-53.
16. Casas, A.M. et al (1995). Cereal transformation through particle bombardment. Plant Breed. Rev., 13, 235-264.
17. Claes B., Dekeyser R., Villarroel R., Bulcke V.D.M., Baum G., Montagu M.V. (1990). Characterization of a rice gene showing organ-specific expression in response to salt stress and drought. Plant Cell 2, 19-27.
18. Dix P.J. (ed) (1990). Plant cell line selection (Procedures and applications) VCH Verlagsgellschft MBH.
19. Droste A., Pasquali G., Zanettini M.H.B. (2000). Intergratd bombardment and Agrobacterium transformation system: an alternative method for Soybean transformation. Plant molecular biology reporter 18: 51-59.
20. Goodman, H. M. <http://crstel.nal.usda.gov:8080>
21. Hadi MZ, McMullen MD and Finer JJ (1996). Transformation of 12 different plasmids into soybean via particle bombardment. Plant Cell Rep 15: 500-505.
22. Hahn J.H., Yoon U.H, Lee K.S., Kim U.W., Yun C.H., Kim Y.K. (2000). Plant & animal Genome VIII Conferenc, Ton & Country Hotel, San Diego, 12/2000.
23. Hiei et al, (1994). Breeding Sci. Suppl. 1: 52.
24. Kaeppler, H.; Akula C.; Akula, A. Kaeppler, S.M.; Chandler V.; Sidorenko, L.; Napoli, C. and Jorgensen R. (2001). Agrobacterium-mediated transformation of maize: optimization of parameters for utilization of nonsuperbinary vectors. In: Plant & animal genome IX conference.

25. McHughen A., Swartz M. (1984). A tissue culture derived salt tolerant line of flax (*Linum usitatissimum*). J. Plant Physiol. 117, 109-117.
 26. Meier C., Bouquin T., Nielsen M.E. (2001). Gibberellin response mutants identified by luciferase imaging. The plant journal 25(5), 509-519.
 27. Sanford, J.C. (1990). Biolistic plant transformation. Physiol.Planta., 79, 206-209.
 28. Sharp W.R., Evans D.A., Anmirato P.V. and Yamada Y. (1984). Handbook of plant cell culture. Volume 2. Crop species, New york : Macmillan.
 29. Sonewald U. (2000). Abteilung molekulare zellbiologie. Jahresforschungsbericht 2000, 87-88.
 30. Tinland B and Hohn B (1995). Recombination between prokaryotic and eukaryotic DNA: integration of *A. tumefaciens* T-DNA into the plant genome, 209-229. In: Setlow JK (ed), Genetic
 31. *Craterostigma plantagineum* Hochst. In: Planta 202 (4), 459-71.
 32. Yamaguchi, S., Sun, T.P., Kawaide, H and Kamiya, Y. (1998). The GA2 locus of *Arabidopsis thaliana* encodes ent-kaurene synthase of gibberellin biosynthesis. Plant Physiol. 116, 1271 - 1278.
-