

CHỌN DÒNG TẾ BÀO CHỊU HẠN Ở LẠC (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY IN VITRO

Vũ Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Thị Tâm¹, Chu Hoàng Mậu¹

TÓM TẮT

Sử dụng 10 giống lạc có nguồn gốc khác nhau do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, Viện Cây Lương thực và Cây Thực phẩm Việt Nam (L05, L16, L18, L23, L24, V79, MD7, MD9, SD30) và giống lạc đỏ (Đỏ BG) do Trung tâm Phát triển Đậu đỗ huyện Việt Yên, Bắc Giang cung cấp. Kỹ thuật thổi khô mô sẹo làm mất từ 58,66% đến 90,08% lượng nước so với khối lượng tươi ban đầu; tỷ lệ sống sót ở mức 3 giờ là 72,00% đến 100,00% so với đối chứng; mức 6 giờ là 40,74% đến 82,05%; mức 9 giờ là 10,81% đến 50,00%; và 11 giờ là 9,26% đến 19,05%. Tái sinh cây mức 3 giờ là 66,13 đến 90,27% so với tổng số mô sống sót; tỷ lệ tái sinh tăng dần khi thổi khô (67,10 – 94,23%, 83,33% - 100,00%, 53,33% - 100,00% tương ứng với 6, 9 và 11 giờ). Gây mất nước ở mức độ mô sẹo, đã xác định được ngưỡng chọn lọc dòng của giống L18 là 9 giờ, các giống còn lại chịu ngưỡng 11 giờ. Kết quả xử lý mất nước thu được 674 dòng mô và từ đó có 928 cây xanh được tạo ra. Phân tích mức độ biến động di truyền 5 giống của quần thể R0 qua một số đặc điểm nông học như chiều cao cây, số nhánh/cây, số quả/cây và số hạt chắc/cây cho thấy quần thể R0 có sự biến động di truyền các chỉ tiêu nghiên cứu và cao hơn nhiều so với giống gốc, đó là yếu tố cần thiết và thuận lợi để chọn ra những cá thể đầu dòng theo yêu cầu tạo giống.

Từ khóa: Cây lạc, nuôi cấy mô trong ống nghiệm, chọn dòng, tế bào thực vật.

I. MỞ ĐẦU

Lạc (*Arachis hypogaea* L.) là cây trồng có giá trị quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Tuy vậy, theo nhận định của nhiều nhà khoa học, tiềm năng để phát triển mở rộng sản xuất lạc ở nước ta còn hạn chế cần phải được đầu tư khai thác (Vũ Công Hậu và cs, 1995) [2]. Nhiều nguyên nhân làm ảnh hưởng đến sản xuất lạc, trong đó phải kể đến điều kiện sinh thái với yếu tố khô hạn. Sự biến thiên về lượng và phân bố mưa là yếu tố khiến cho các vùng trồng lạc nhờ nước trời hạn chế về năng suất (Vũ Công Hậu và cs, 1995) [2]. Kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào thực vật được sử dụng để cải tiến khả năng chống chịu của cây trồng, tính ưu việt của kỹ thuật này đã được khẳng định trên nhiều loại cây, tuy nhiên đối với cây lạc vẫn còn hạn chế (Nguyễn Hoàng Lộc và cs, 1992; Lê Trần Bình và cs, 1998) [1], [4]. Tế bào nuôi cấy *in vitro* có khả năng tạo biến dị di truyền lớn (tần số vào khoảng 10^5 - 10^8), đặc biệt nếu kết hợp với xử lý đột biến bằng thực nghiệm thì tần số đột biến có thể tăng từ 10 đến 100 lần, đây được xem là nguồn nguyên liệu phong phú cho chọn giống cây trồng (Lê Trần Bình và cs, 1998; Trần Duy Quý, 1997; Narbor, 1990) [1], [6], [12]. Trong bài báo này trình bày kết quả đánh giá khả năng chịu hạn của một số giống lạc

ở mức độ mô sẹo và chọn dòng tế bào chịu hạn bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Sử dụng 10 giống lạc có nguồn gốc khác nhau do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, Viện Cây Lương thực và Cây Thực phẩm Việt Nam (L05, L16, L18, L23, L24, V79, MD7, MD9, SD30) và giống lạc đỏ (Đỏ BG) do Trung tâm Phát triển Đậu đỗ huyện Việt Yên, Bắc Giang cung cấp.

- *Tạo mô sẹo:* Hạt lạc bóc vỏ gỗ, khử trùng hạt và tạo mô sẹo theo mô tả của Nguyễn Thị Tâm và cs, (2006) có cải tiến [8].

- *Xử lý mất nước:* Cắt nhỏ mô sẹo theo chiều ngang từ phía đầu thân phơi thành các đơn vị có khối lượng khoảng 100 - 150 mg, sau đó thổi khô bằng luồng khí vô trùng của hộp (thùng) cấy (Nuaire 2003, Tây Ban Nha) với các ngưỡng thời gian xác định.

- *Tái sinh cây:* Các khối mô đã xử lý mất nước được chuyển lên môi trường tái sinh. Xác định khả năng chịu mất nước thông qua tỉ lệ sống sót của mô sẹo sau xử lý thổi khô và khả năng tái sinh cây sau 6 tuần nuôi cấy. Mỗi chồi cây sống sót và đạt kích thước khoảng 2 - 2,5 cm được chuyển vào môi trường ra rễ để tạo cây hoàn chỉnh (Nguyễn Thị Tâm và cs, 2006) [8].

¹ Đại học Thái Nguyên

- *Ra cây và chế độ chăm sóc:* Sau 8 đến 10 tuần tạo cây hoàn chỉnh, toàn bộ cây con có bộ rễ to khỏe được chuyển ra khỏi phòng nuôi cấy, để trong phòng có ánh sáng tự nhiên, nhiệt độ bình thường khoảng 2 ngày; nhấc cây ra khỏi bình nuôi, rửa sạch lớp thạch bám xung quanh rễ cây, trồng trên nền đất tơi xốp, tưới liên tục đủ ẩm bằng dung dịch MS loãng. Sau khoảng 3 tuần nuôi cấy số cây con sống sót có rễ bám đất và xuất hiện thêm nhiều rễ mới, thân và lá có màu xanh và bắt đầu sinh trưởng phát triển.

- *Trồng và theo dõi ngoài đồng ruộng:* Cây tái sinh từ mô sẹo (thế hệ R0) được chuyển ra trồng ngoài đồng ruộng, chế độ chăm sóc như cây bình thường (theo chỉ dẫn của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) [15]. Mỗi cây được đánh dấu, theo dõi và thu hoạch riêng để trồng vụ tiếp theo.

Các chỉ tiêu nghiên cứu được thực hiện theo Lê Trần Bình và cs [1]. Số liệu thu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học với việc phân tích phương sai, trị số trung bình (\bar{x}); sai số trị số trung bình (m); độ lệch chuẩn, hệ số biến động di truyền (Cv , %) bằng chương trình Excel [9].

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng Công nghệ tế bào thực vật - Khoa Sinh, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên. Quần thể R0 trồng vụ xuân 2008 tại Phường Quang Vinh - Thành phố Thái Nguyên.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng chịu hạn của các giống lạc ở mức độ mô sẹo

Trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* nhiều công trình nghiên cứu đã tiến hành tạo mô sẹo và tái sinh cây từ những mảnh lá mầm (Nguyễn Xuân Tài và cs, 2005) [7], hay từ mô lá non của lạc (McKently và cs, 2000) [10]. Với mục đích tiếp tục đánh giá khả năng tạo mô sẹo của các giống lạc trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo, đã tiến hành thăm dò khả năng tạo mô sẹo từ các tế bào phôi mầm của hạt, thăm dò khả năng tái sinh cây và tạo cây hoàn chỉnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cả 10 giống lạc nghiên cứu đều có tỷ lệ tạo mô sẹo và tái sinh cây tốt, đáp ứng cho các nghiên cứu tiếp theo liên quan đến nuôi cấy *in vitro*.

Để xây dựng quy trình chọn lọc dòng tế bào chịu hạn ở lạc đã xác định ngưỡng chịu đựng của mô sẹo bằng kỹ thuật thổi khô liên tục từ luồng khí vô trùng của hộp cấy, ở các mức thời gian 3, 6, 9, 11 giờ. Đánh giá khả năng chịu hạn của các giống lạc ở mức độ

mô sẹo được tiến hành thông qua tỷ lệ mất nước, khả năng chịu mất nước và khả năng tái sinh cây.

Độ mất nước của mô sẹo

Nước là yếu tố hạn chế đối với cây trồng, bất kỳ sự mất nước nào cũng dẫn đến sự vi phạm chế độ nước và ảnh hưởng của hạn, trước hết là đến sự mất nước của tế bào và mô (Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998) [1]. Sau các ngưỡng thổi khô liên tục đã xác định được độ mất nước của mô sẹo, kết quả được thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

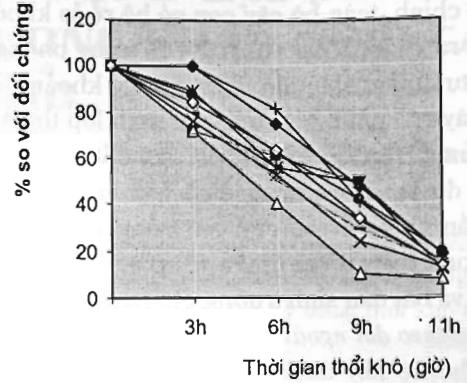
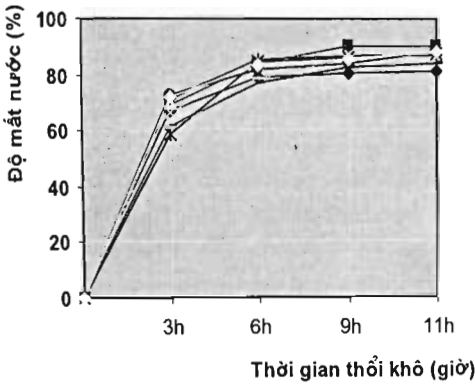
Bảng 1. Độ mất nước của mô sẹo sau xử lý thổi khô (% so với khối lượng mô ban đầu)

Giống lạc	Thời gian thổi khô (giờ)			
	3	6	9	11
L05	67,37 ± 0,88	78,90 ± 0,64	80,59 ± 1,28	84,34 ± 0,69
L16	69,11 ± 0,58	83,68 ± 0,65	89,89 ± 0,43	90,08 ± 0,47
L18	70,04 ± 0,77	84,71 ± 0,62	85,81 ± 0,32	86,60 ± 0,10
L23	66,21 ± 0,90	84,18 ± 1,09	86,00 ± 0,60	87,05 ± 0,88
L24	58,66 ± 0,64	84,67 ± 0,81	86,03 ± 0,82	87,09 ± 0,84
MD7	71,66 ± 0,86	84,99 ± 0,48	86,64 ± 0,73	86,82 ± 0,58
MD9	61,45 ± 0,81	77,19 ± 0,30	82,61 ± 0,31	85,18 ± 0,50
SD30	60,73 ± 0,67	78,47 ± 0,57	86,19 ± 0,79	87,14 ± 0,09
V79	73,01 ± 0,58	81,85 ± 0,51	84,05 ± 0,28	87,97 ± 0,48
SD30	72,33 ± 0,33	83,03 ± 0,52	85,03 ± 0,61	88,11 ± 0,48

Kết quả cho thấy, sau 3 giờ thổi khô liên tục đã làm giảm đáng kể lượng nước trong mô sẹo của các giống lạc. Độ mất nước của 10 giống lạc dao động từ 58,66% - 73,01% so với khối lượng mô ban đầu. Thời gian thổi khô càng dài thì độ mất nước càng lớn, sự mất nước của các đơn vị mô sẹo có sự thay đổi không lớn khi thổi khô ở mức 9 và 11 giờ. Giống có độ mất nước nhiều nhất sau 11 giờ thổi khô là L16 (90,08%) và ít nhất là L05 (84,34%).

Khả năng chịu mất nước của mô sẹo

Các tế bào có khả năng chịu mất nước trong điều kiện cực đoan là những tế bào có khả năng chống chịu tốt (Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998) [1]. Để đánh giá khả năng chịu mất nước của mô sẹo, đã tiến hành xác định tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau 4 tuần nuôi cấy. Kết quả cho thấy, những mô sẹo sống sót trên môi trường tái sinh chuyển màu xanh và có sự gia tăng dần về kích thước mô sẹo so với kích thước khối mô ban đầu. Ngược lại, các mô không có khả năng sống sót có màu trắng xám và sau đó chết dần. Khả năng chịu mất nước của mô sẹo được đánh giá thông qua tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau 4 tuần nuôi phục hồi (bảng 2, hình 2).



◆ L05 ■ L16 ▲ L18 × L23 * L24
● V79 + MD7 — MD9 — SD30 ◇ DBG

◆ L05 ■ L16 ▲ L18 × L23 * L24
● V79 + MD7 — MD9 — SD30 ◇ DBG

Hình 1. Tỷ lệ mất nước của mô sẹo theo thời gian thời khô của các giống lạc nghiên cứu

Hình 2. Tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau 4 tuần nuôi phục hồi

Bảng 2. Khả năng chịu mất nước của mô sẹo sau xử lí thời khô

(Tỷ lệ sống sót (%))

Giống lạc	Thời gian thời khô (giờ)			
	3	6	9	11
L05	100,00 ± 0,00	75,61 ± 0,64	48,39 ± 1,08	19,05 ± 0,49
L16	72,41 ± 0,63	61,76 ± 0,54	50,00 ± 0,45	19,05 ± 0,44
L18	72,00 ± 0,72	40,74 ± 0,43	10,81 ± 0,52	9,26 ± 0,60
L23	76,47 ± 0,64	53,13 ± 0,81	25,00 ± 0,30	13,33 ± 0,52
L24	89,58 ± 0,54	56,52 ± 0,46	50,00 ± 0,44	12,50 ± 0,54
MD7	90,97 ± 1,03	82,05 ± 0,42	41,67 ± 0,64	15,00 ± 0,66
MD9	79,55 ± 0,73	56,67 ± 0,50	33,33 ± 0,41	14,29 ± 0,60
SD30	82,05 ± 0,55	81,06 ± 0,47	29,27 ± 0,59	15,91 ± 0,39
V79	88,24 ± 0,52	63,33 ± 0,54	42,42 ± 0,64	19,01 ± 0,54
Đò BG	84,62 ± 0,54	63,89 ± 0,44	34,21 ± 0,34	14,29 ± 0,61

L18 có tỷ lệ sống sót thấp nhất (đạt 10,8%) sau 9 giờ. Tỷ lệ sống dưới 20% ở tất cả các giống sau 11 giờ thời khô liên tục.

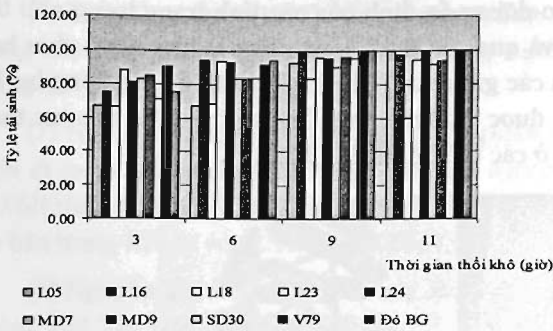
2. Tái sinh cây của mô sẹo chịu mất nước

Khả năng tái sinh cây là một nội dung quan trọng quyết định thành công trong chọn dòng tế bào và chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố (Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998; Nguyễn Hoàng Lộc và cs, 1992) [1], [4]. Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các giống lạc thí nghiệm đều có khả năng tái sinh cây từ các mô sẹo sống sót ở các ngưỡng thời gian thời khô khác nhau (bảng 3, hình 3).

Bảng 3. Khả năng tái sinh cây của mô sẹo sống sót (Tỷ lệ cây tái sinh (%))

Giống lạc	Thời gian thời khô (giờ)			
	3	6	9	11
L05	66,63 ± 2,37	67,10 ± 1,87	93,00 ± 4,13	100,00 ± 0,00
L16	74,97 ± 2,17	94,23 ± 1,28	100,00 ± 0,00	97,23 ± 2,77
L18	66,13 ± 0,57	68,47 ± 2,14	83,33 ± 3,61	53,33 ± 3,33
L23	87,70 ± 1,01	93,43 ± 0,35	96,30 ± 3,70	94,43 ± 3,94
L24	81,00 ± 0,23	93,27 ± 3,64	95,57 ± 2,63	100,00 ± 0,00
MD7	83,23 ± 1,24	83,70 ± 3,77	90,67 ± 2,16	91,67 ± 1,93
MD9	85,10 ± 3,55	83,43 ± 3,67	93,33 ± 3,70	96,30 ± 3,70
SD30	71,13 ± 1,19	83,87 ± 2,00	95,23 ± 4,77	100,00 ± 0,00
V79	90,27 ± 1,68	91,97 ± 0,98	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
Đò BG	75,60 ± 1,79	94,13 ± 1,23	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

Tỷ lệ sống sót của các tế bào sau thời khô thể hiện sức chịu đựng của tế bào và đây là cơ sở để xác định ngưỡng chọn dòng tế bào (Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998; Nguyễn Hoàng Lộc và cs, 1992, Đinh Thị Phòng, 2001) [1], [4], [5]. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống sót sau 4 tuần của các mô sẹo mất nước tỷ lệ nghịch với thời gian thời khô. Sức sống của mô sẹo có sự khác nhau giữa các giống lạc cùng thời khô ở một ngưỡng thời gian. Sau 3 giờ thời khô liên tục tỷ lệ sống sót của mô sẹo các giống có sự khác nhau, dao động từ 72,00% (L18) đến 100% (L05). Sau 6 giờ thời khô sức sống của mô sẹo đạt từ 40,74% (L18) đến 82,05% (MD7). Giống



Hình 3. Tỷ lệ tái sinh của mô sẹo sống sót sau 4 tuần

Quá trình xử lý các điều kiện cực đoan ở một mức độ nhất định và thời gian nhất định đã loại những mô hay những tế bào mẫn cảm, chỉ còn lại những tế bào có sức sống cao sống sót và có hiệu quả tái sinh [2]. Sau 3 giờ thổi khô khả năng tái sinh của mô sẹo sống sót dao động từ 66,13% đến 90,27%. Khả năng tái sinh của mô sẹo sống sót tăng dần theo thời gian thổi khô, giống L18 sau 11 giờ thổi khô khả năng tái sinh của mô sẹo giảm còn 53,33%.

Tỷ lệ sống sót thấp và mô mất trên 84% nước so với khối lượng tươi ban đầu là ngưỡng chọn lọc dòng

mô chịu mất nước. Gây mất nước ở mức độ mô sẹo, đã xác định được ngưỡng chọn lọc dòng của giống L18 là 9 giờ, các giống còn lại chịu ngưỡng 11 giờ. Kết quả xử lý mất nước thu được 674 dòng mô và từ đó có 928 cây xanh được tạo ra.

Từ kết quả nghiên cứu trên, đã đánh giá sơ bộ khả năng chịu hạn của 10 giống lạc ở mức độ mô sẹo theo thứ tự sau: L05 > MD7 > V79 > L24 > L16 > ĐòBG > MD9 > SD30 > L23 > L18.

3. Phân tích di truyền quần thể R0 có nguồn gốc từ mô sẹo chịu mất nước

Các dòng lạc, sau khi xác định được khả năng chịu hạn ở mức độ mô sẹo đã được nâng cao khả năng chịu hạn bằng cách lựa chọn những dòng mô chịu mất nước; tiếp tục được trồng và theo dõi ngoài đồng ruộng. Phân tích mức độ biến động di truyền của 457 cây R0 có hạt chắc ở 5 giống L05, L18, L23, MD9, SD30 qua một số đặc điểm nông học như chiều cao cây, số nhánh/cây, số quả/cây và số hạt chắc/cây. Dưới đây là kết quả về một số chỉ tiêu nông học của quần thể R0 có hạt chắc tái sinh từ mô sẹo chịu mất nước của 5 giống lạc.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu nông học của quần thể lạc R0 tái sinh từ mô sẹo chịu mất nước của 5 giống lạc

Chỉ tiêu theo dõi		Cao thân chính (cm)		Số nhánh/cây		Số quả/cây		Số quả chắc/cây	
		$\bar{X} \pm m$	Cv, %	$\bar{X} \pm m$	Cv, %	$\bar{X} \pm m$	Cv, %	$\bar{X} \pm m$	Cv, %
L05	Giống gốc	65,00 ± 1,53	4,07	9,00 ± 0,58	11,11	29,67 ± 0,67	3,89	23,00 ± 0,58	4,35
	QT R0	57,00 ± 11,55	35,09	4,67 ± 0,88	32,73	8,00 ± 3,46	75,00	2,00 ± 0,58	50,00
L18	Giống gốc	37,00 ± 0,58	2,70	8,33 ± 0,33	6,93	20,67 ± 0,67	5,59	16,33 ± 0,33	3,53
	QT R0	57,00 ± 4,61	25,58	3,00 ± 0,39	41,57	22,80 ± 1,81	25,05	14,80 ± 1,50	31,98
L23	Giống gốc	51,67 ± 0,88	2,96	11,67 ± 0,67	9,90	8,67 ± 0,33	6,66	6,33 ± 0,33	9,12
	QT R0	44,41 ± 1,56	14,48	5,53 ± 0,33	25,53	7,88 ± 0,38	20,00	4,71 ± 0,50	43,66
MD9	Giống gốc	56,67 ± 1,20	3,67	4,33 ± 0,33	3,32	12,67 ± 0,33	4,56	11,33 ± 0,33	5,09
	QT R0	43,87 ± 2,02	17,84	8,00 ± 0,22	10,56	13,6 ± 0,59	16,86	7,67 ± 0,42	21,30
SD30	Giống gốc	47,33 ± 1,45	5,32	10,33 ± 0,33	5,59	33,33 ± 1,67	8,66	24,33 ± 0,67	4,75
	QT R0	46,06 ± 5,23	19,65	10,33 ± 1,86	31,11	32,33 ± 4,10	21,94	15,00 ± 2,52	29,06

Ghi chú: Cv,% - Hệ số biến động di truyền của 1 chỉ tiêu trong quần thể thí nghiệm

Kết quả nghiên cứu trên quần thể lạc R0 ở bảng 4 cho thấy, các dòng lạc chuyển từ ống nghiệm ra trồng ngoài đồng ruộng (vụ xuân, 2008) có sự biến động di truyền lớn hơn nhiều so với giống gốc ở tất cả các chỉ tiêu nghiên cứu.

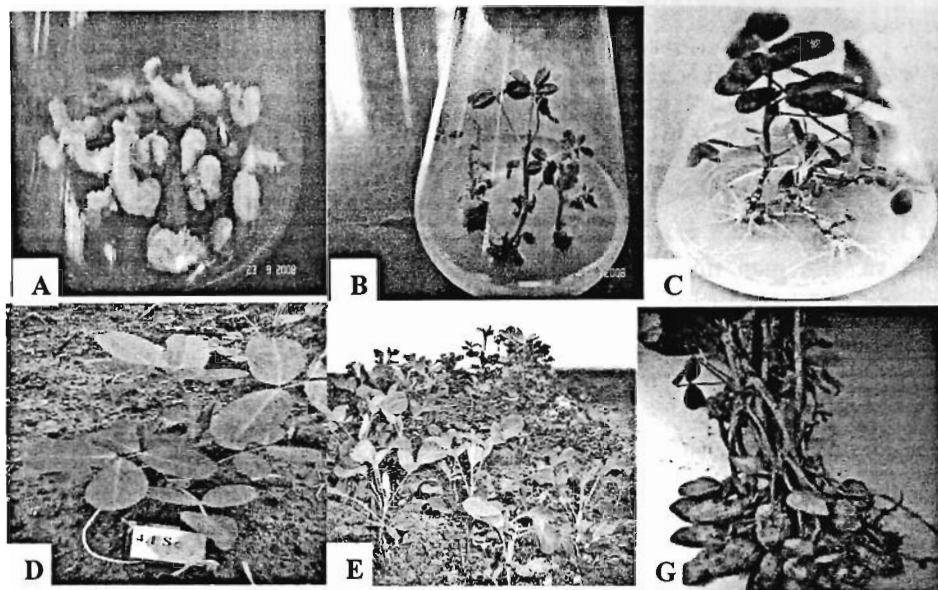
Sự biến động về chiều cao cây dao động từ 14,48% đến 35,09% (đối chứng là 2,70% đến 5,32%). Các dòng lạc được tạo ra từ mô sẹo chịu mất nước nhìn chung có chiều cao cây thấp hơn so với đối chứng, duy nhất có các dòng của giống lạc L18 là nhóm có chiều cao cây trung bình cao hơn so với đối chứng (Cv = 25,58%).

Tỷ lệ đẻ nhánh của quần thể R0 thấp hơn giống gốc nhưng cũng là chỉ tiêu có biến động di truyền lớn 10,56% đến 41,57% so với đối chứng là 3,32% đến 11,11%. Kết quả bước đầu cũng cho thấy số trung bình của quả và quả chắc trên cây ở quần thể R0 các dòng lạc chịu mất nước so với đối chứng (cây lạc trồng từ hạt) có quy luật chung là thấp hơn so với đối chứng, song sự biến động rất lớn. Quần thể R0 của giống lạc L05 có sự biến động di truyền lớn nhất về tỷ lệ quả/cây (Cv = 75,00%), và tỷ lệ quả chắc/cây (Cv = 50,00%). Sự biến động các chỉ tiêu cho thấy, mô sẹo sau xử lý mất nước có nhiều biến đổi về đặc tính

sinh lý dẫn đến sự biến động về các chỉ tiêu nghiên cứu, điều này là cần thiết và thuận lợi để chọn ra những cá thể đầu dòng theo yêu cầu tạo giống [1].

Có rất nhiều yếu tố tham gia vào việc cấu thành năng suất cũng như chất lượng cây lạc, cần thiết phải

theo dõi sự ổn định của các tính trạng trong mỗi thế hệ và qua các thế hệ, đặc biệt là khả năng chịu hạn của các giống lạc. Chính vì vậy tất cả các dòng lạc R0 thu được đã được phân loại và trồng để tiếp tục theo dõi ở các thế hệ R1, R2, R3.



Hình 4. Hình ảnh trong chọn dòng chịu hạn ở lạc bằng kỹ thuật nuôi cấy in vitro

A. Tạo mô sẹo, B. Tái sinh cây từ mô sẹo sau xử lý thời khô, C. Tạo cây hoàn chỉnh, E. Các dòng cây R0 ngoài đồng ruộng, E. Củ của một dòng R0

IV. KẾT LUẬN

- Mô sẹo của 10 giống lạc tạo thành sau 10 ngày tuổi đem thời khô liên tục từ 3 đến 11 giờ bị mất từ 58,66% đến 90,08 % lượng nước so với khối lượng mô ban đầu. Độ mất nước mạnh ở giai đoạn 3 và 6 giờ thời khô liên tục, sau đó giảm dần; tốc độ mất nước của mô sẹo các giống lạc ít sai khác.

- Tỷ lệ sống sót ở mức 3 giờ là 72,00 đến 100,00% so với đối chứng; mức 6 giờ là 40,74% đến 82,05%, mức 9 giờ là 10,81% đến 50,00%, 11 giờ là 9,26% đến 19,05%.

- Tái sinh cây mức 3 giờ là 66,13 đến 90,27% so với tổng số mô sống sót, tỷ lệ tái sinh tăng dần khi thời khô (67,10 - 94,23%, 83,33% - 100,00%, 53,33% - 100,00% tương ứng với 6, 9 và 11 giờ). Giống L18 giảm khả năng tái sinh khi thời khô 11 giờ và có tỷ lệ tái sinh thấp nhất đạt 53,33%.

- Ngưỡng chọn lọc dòng của giống L18 là 9 giờ, các giống còn lại chịu ngưỡng 11 giờ. Kết quả xử lý mất nước thu được 674 dòng mô và 928 cây xanh.

- Khả năng chịu hạn ở mức độ mô sẹo của 10 giống lạc sắp xếp từ cao xuống thấp là L05 > MD7 > V79 > L24 > L16 > ĐòBG > MD9 > SD30 > L23 > L18.

- Quần thể các dòng cây tái sinh sau xử lý bằng thời khô có sự biến động di truyền về các tính trạng chiều cao cây, đường kính thân chính, số hạt, số hạt chắc trên cây nhiều hơn so với giống gốc. Đây chính là cơ sở để lựa chọn các cá thể đầu dòng phục vụ cho công tác chọn tạo giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- (1) Lê Trần Bình, Lê Thị Muội (1998). *Phân lập gen và chọn dòng chống chịu ngoại cảnh bất lợi ở cây lúa*. Nxb ĐHQG HN, 250 trang.
- (2) Ngô Thế Dân và cs (2000). *Kỹ thuật đạt năng suất lạc cao ở Việt Nam*. Nxb NN, 258 trang.
- (3) Vũ Công Hậu, Ngô Thế Dân, Trần Thị Dung (1995). *Cây lạc*. Nxb Nông nghiệp.
- (4) Nguyễn Hoàng Lộc và cs (1992). *Nghiên cứu khả năng chịu mất nước mô sẹo thuốc lá nuôi cấy in vitro*. Tạp chí Sinh học, 14, 31-37.
- (5) Đinh Thị Phòng (2001). *Nghiên cứu khả năng chịu hạn và chọn dòng chịu hạn ở lúa bằng công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật*. Luận án Tiến sĩ Sinh học. Viện Công nghệ Sinh học Hà Nội, 134 trang.

(6) Trần Duy Quý (1997). *Các phương pháp mới trong chọn tạo giống cây trồng*. Nxb Nông nghiệp, trang 237-258.

(7) Nguyễn Xuân Tài và cs (2005). *Nghiên cứu biến dị soma trên quần thể cây lạc (Arachis hypogaea L.) tái sinh in vitro*. Kỹ yếu những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong KH sự sống. Hà Nội 2005, 1366-1369.

(8) Nguyễn Thị Tâm, Chu Hoàng Mậu, Ngô Thị Liêm, Bùi Thị Loan (2006). Nghiên cứu môi trường nuôi cấy in vitro phôi lạc phục vụ nghiên cứu chọn dòng chịu hạn. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. ĐHTN, số 1 (37), trang 87-92.

(9) Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi (1996). *Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu thực nghiệm trong nông lâm ngư nghiệp trên máy vi tính*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, 127 trang.

(10) A. H. McKently, G. A. Moore ad F. P.

Gardner (2000). Regeneration of peanut and perennial peanut from cultured leaf tissue. *Plant Biotechnology* Vol. 3 No.2, issue of August 15, 2000.

(11) Li S. N., Heszky L. E. (1986). Rice tissue culture and application to breeding. In: Induction of high totipotent haploid and diploid callus from different genotypes of rice (*Oryza sativa* L.)", *Cereal Res. Commun.* 14, pp 197-203.

(12) Narbor M. W. (1990). Environmental stress resistance. In: *Plant cell line selection*. Wein, New York, Basel, Cambridge, VCH, pp 167-186.

(13) Singla S. L., Pareek A., Grover A. (1997). High temperature. In: Prasad MNV, ed. *Plant ecophysiology*, New York: John Wiley & Sons, pp101-127.

(14) Sonti R. V., Sarma N. P. (1995). Transformation of rice genetics, *J. Genet.* 74, pp 139-143.

(15) <http://www.agroviet.gov.vn>

SELECTION FOR DEHYDRATION TOLERANCE IN VITRO OF SOME PEANUT CULTIVARS

Vu Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Tam, Chu Hoang Mau

Summary

10 peanut cultivars using in this study are provided by Legumes Research Development and Research Center, Food Crop Research Institute and Viet Yen, Bac Giang province. After blowing scar tissues of 10 peanut cultivars, the amount of losing water is approximately from 58.66% to 90.08% in comparative to their weight at the beginning. The surviving ratio are 72.00% - 100.00%, 40.74% - 82.05%, 10.81% - 50.00%, 9.26% - 19.05% and generation ratio are 66.13 - 90.27%, 67.10 - 94.23%, 83.33% - 100.00%, 53.33% - 100.00% in turn after blowing 3 hours, 6 hours, 9 hours, 11 hours comparing to control. All peanut cultivars have the surviving ratio below 20%. L18 is reduced generation ability after blowing 11 hours. Assessing drought resistance ability of L18 is 9 hours, and 9 peanut cultivars are 11 hours. All blow scar tissues are regenerated and then they are grown on the field to study genetic changes. The tendency of genetic changes of 10 peanut cultivars is similar to each others, and there are 5 peanut cultivars having seeds stand for them to report. The result show that level of genetic changes of some agronomic characters of R_0 popular is higher than the control.

Keywords: Peanut, tissue grow in-vitro, to select the cultivar, plant cell.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Quang Thạch