

Quantitative trait locus (QTLs) mapping for the giant embryo in rice

Nguyen Thi Thuy Hanh, Nguyen Quoc Trung, Pham Van Cuong

Abstract

The giant-embryo trait is one of the important goals in improving rice varieties. The ratio of embryo weight/grain weight is related to the oil content of rice bran which is used for producing animal feed, biofuel and edible oil. The present study was carried out to determine QTL related to embryo weight and embryo area by using the F₂ population generated from crossing between the mutant rice line MGE13-Mizuhochikara (with giant embryo) and the Taichung65 cultivar (medium embryo). The Bulk Segregation Analysis (BSA) was used to identify QTLs related to embryo weight and area. The results showed that 2 QTLs were identified on chromosome 7: qEW7 related to embryo weight and qES7 related to embryo area, respectively. Taken together, the RM21721 marker associated with qEW7 and the two markers RM445 and RM21721 related to qES7. The obtained results from this study will be useful information and might be used for detection and selection of individuals carrying the QTL/gene for giant embryo in rice breeding.

Keywords: Rice, giant embryo, embryo weight, embryo area, QTL mapping

Ngày nhận bài: 21/10/2021

Người phản biện: TS. Vũ Đăng Toàn

Ngày phản biện: 03/11/2021

Ngày duyệt đăng: 30/11/2021

NGHIÊN CỨU NUÔI CẤY PHÔI TRONG LAI XA HAI LOÀI LÚA KHÁC NHAU

Nguyễn Hữu Minh^{1*}, Trần Thu Thảo¹, Phạm Công Trí¹,
Hà Minh Luân¹, Võ Thanh Toàn¹

TÓM TẮT

Cứu phôi là phương pháp thường được sử dụng để vượt qua những rào cản về mặt di truyền khi lai xa hai loài lúa khác nhau. Hai giống OM5451 và OM6162 thuộc loài *Oryza sativa*, hai loài lúa hoang *Oryza rufipogon* và *Oryza officinalis* được sử dụng để lai tạo và thực hiện cứu phôi trong lai xa. Thí nghiệm lai tạo và thí nghiệm xác định môi trường thích hợp cho nuôi cấy được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 11 môi trường, 3 lần lặp lại. Kết quả cho thấy môi trường cơ bản của Murashige and Skoog (1962) thêm 3% sucrose và 0,2 mg/L NAA cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất ở tất cả 4 tổ hợp lai, chiều dài thân lá, chiều dài rễ và số lượng rễ của cây con tốt nhất. Phôi hạt lai giữa loài *Oryza sativa* và *Oryza officinalis* có xu hướng suy thoái từ ngày thứ 10 sau khi thụ phấn và hạt lai đến chín sẽ không được tạo thành.

Từ khóa: Cứu phôi, lai xa, lúa hoang, nuôi cấy *in vitro*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lai xa giữa hai loài là một công cụ rất quan trọng trong quá trình chọn giống của nhiều loại cây trồng, đặc biệt trong nhóm cây lương thực như lúa gạo. Tuy nhiên lai xa gặp nhiều khó khăn trong việc lai giữa lúa trồng và lúa hoang dại, hạt lai được tạo ra từ hai loài khác nhau thường bất dục hoặc không nảy mầm được. Việc thuần hóa, nhập nội lúa trồng ở một số khu vực của châu Á bắt đầu từ các quần thể khác nhau của cùng một loài, *Oryza sativa* (Chang, 1976).

Nguồn gen quý từ các loài lúa hoang đóng góp rất lớn trong quá trình chọn tạo giống lúa, tuy nhiên sự dẫn nhập một gen từ lúa hoang vào lúa trồng là rất hiếm và hạn chế do hai loài có bộ gen khác nhau. Lúa trồng (*Oryza sativa*) có sự đa dạng về di truyền và thích nghi rộng với nhiều điều kiện sinh thái khác nhau. Theo Chang (1976), hai loài lúa *O. nivara* và *O. rufipogon* có cùng bộ gen với *O. sativa* (Bộ gen AA), khi tiến hành lai giữa các loài này thì hạt có khả năng sống sót nhưng tỷ lệ sống

¹ Bộ môn Di truyền và Chọn giống, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

* Tác giả chính: E-mail: nguyenuhuuminhtt39b@gmail.com

sẽ biến động lớn. Khi lai giữa loài *O. nativa* và các loài lúa hoang khác như *O. officinalis*, *O. minuta*, *O. punctata* thì hạt sẽ rất khó sống sót. Niroula và cộng tác viên (2003), nghiên cứu rằng khi lai giống làm mẹ *O. sativa* và các giống bố *O. officinalis* và *O. granulata* để đánh giá mối quan hệ chéo giữa các loài lúa trồng và các loài hoang dã. Tất cả các phôi của con lai trước khi bị thoái hóa (7 - 10 ngày tuổi) đã được cấy và trồng trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*, duy trì ở $25 \pm 1^\circ\text{C}$ trong bóng tối cho đến khi nảy mầm và sau đó ánh sáng liên tục. Sự nảy mầm của phôi giữa các con lai thay đổi từ 0 - 66,67%. Để có thể vượt qua được những chương ngại khi lai xa chỉ khi áp dụng kỹ thuật cứu phôi (Amanate Bordeos *et al.*, 1991; 1992; Jena and Khush, 1990; Multani *et al.*, 1994; Pongtongkam *et al.*, 1997; Suputtitada *et al.*, 1994). Trong trường hợp để cứu lấy con lai, kỹ thuật

nuôi cấy phôi hạt sẽ được sử dụng để tạo cây con. Tuy nhiên hiện nay, chưa có một quy trình nuôi cấy phôi hạt đạt hiệu quả cao khi lai xa giữa hai loài lúa, đặc biệt là các giống lúa cao sản gần gũi với các loài lúa hoang dại. Do đó, sự cần thiết phải thực hiện cứu phôi trong lai xa giữa các loài lúa *O. sativa* (các giống lúa cao sản, năng suất cao, phẩm chất tốt) với 2 loài lúa hoang *O. rufipogon* và *O. officinalis*, làm tiền đề cho việc chuyển các gen quý từ loài lúa hoang dại vào lúa trồng trong những chương trình chọn tạo giống lúa kế tiếp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các giống lúa cao sản và lúa hoang thu thập từ nhiều nguồn khác nhau được trình bày ở bảng 1

Bảng 1. Danh sách các loài lúa nghiên cứu

STT	Loài	Loài phụ	Tên giống	Bộ gen	Nguồn gốc
1	<i>Oryza sativa</i>	<i>Indica</i>	OM5451	AA	Viện lúa đồng bằng sông Cửu Long
2	<i>Oryza sativa</i>	<i>Indica</i>	OM 6162	AA	Viện lúa đồng bằng sông Cửu Long
3	<i>Oryza rufipogon</i>			AA	Tràm Chim, Đồng Tháp
4	<i>Oryza officinalis</i>			AADD	Phong Điền, Cần Thơ

Hai giống lúa OM5451 và OM6162 là những giống lúa cao sản thuộc loài *Oryza sativa*, loài phụ *Indica*, mang bộ gen nhị bội AA, là những giống lúa cao sản, ngắn ngày, năng suất cao và chất lượng tốt được sử dụng để lai tạo với 2 loài lúa hoang khác nhau là *Oryza rufipogon* (Bộ gen AA) và *Oryza officinalis* (Bộ gen AADD). Các mẫu lúa hoang thu thập ở địa phương sẽ được định danh dựa trên các đặc tính về dạng hạt, màu sắc hạt, dạng hình và thời gian sinh trưởng khi so sánh với các đặc tính của loài lúa hoang đó đã được công bố.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thực hiện phép lai xa để tạo phôi hạt

Trồng các vật liệu bố mẹ trong các chậu ở nhà lưới, thực hiện phép lai hữu tính giữa các loài lúa để tạo hạt lai. Hai giống lúa cao sản OM5451 và OM6162 được sử dụng làm mẹ, thực hiện phép lai đơn giữa 2 giống lúa cao sản với *O. rufipogon* và *O. officinalis* để tạo thành 4 tổ hợp lai xa.

Những hạt lúa được thụ phấn 8 ngày (Nguyễn Việt Thạch, 2013; Niroula *et al.*, 2003) của 4 tổ hợp sẽ được thu thập riêng để phục vụ cho thí nghiệm

nuôi cấy sẽ được chọn để tách hạt, khử trùng bằng cồn 70° trong một phút và rửa bằng nước cất để loại bỏ cồn. Sau đó hạt tiếp tục được khử trùng bằng HgCl_2 0,1% với 1 giọt Tween 20 trong 7 phút, và rửa bằng nước cất vô trùng 5 lần để loại bỏ HgCl_2 .

2.2.2. Phương pháp nuôi cấy phôi hạt

Trong quá trình cứu phôi, môi trường nuôi cấy là điều kiện cần thiết, đóng vai trò quan trọng và ảnh hưởng đến kết quả cứu phôi vì mỗi môi trường có chứa các thành phần dinh dưỡng khác nhau. Nhằm tìm ra môi trường phù hợp nhất để cứu phôi khi lai xa giữa hai loài lúa, thí nghiệm được thực hiện theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên RCD, 11 nghiệm thức môi trường, 3 lần lặp lại cho mỗi tổ hợp lai (4 tổ hợp lai), mỗi lần lặp lại cấy 20 phôi/chai. Các nghiệm thức sử dụng trong thí nghiệm dựa trên môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog, 1962) được thêm vào các thành phần khác như đường sucrose, NAA và Kinetin. Tại thời điểm sau khi tung phấn được 8 ngày, kiểm tra bông lúa để xác định những hạt lúa được thụ tinh và tạo thành phôi, tiến hành thu thập hạt lai và tiếp tục nhân nuôi trong phòng nuôi cấy, các thành phần môi trường khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Các thành phần môi trường khác nhau áp dụng cho nuôi cấy phôi hạt

STT	Môi trường	Thành phần môi trường
1	M1	MS + 3% sucrose + 0,2mg/L NAA+ 0,2 mg/L Kinetin
2	M2	MS + 3% sucrose + 0,2mg/L NAA+ 0,5 mg/L Kinetin
3	M3	MS + 3% sucrose + 0,2mg/L NAA+ 0,1 mg/L Kinetin
4	M4	MS + 3% sucrose + 0,2mg/L NAA+ 0,7 mg/L Kinetin
5	M5	MS + 3% sucrose + 0,5 mg/L NAA+ 0,2 mg/L Kinetin
6	M6	MS + 3% sucrose + 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L Kinetin
7	M7	MS + 3% sucrose + 0,5 mg/L NAA + 0,1 mg/L Kinetin
8	M8	MS + 3% sucrose + 0,5 mg/L NAA + 0,7 mg/L Kinetin
9	M9 (ĐC)	MS + 3% sucrose
10	M10	MS + 3% sucrose + 0,2 mg/L NAA
11	M11	MS + 3% sucrose + 0,5 mg/L Kinetin

Tiếp tục để trong phòng nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C, trong điều kiện 3 ngày đầu để tối cho hạt nảy mầm, sau đó chiếu sáng liên tục cho tới ngày thứ 14 sau khi cấy, cường độ ánh sáng 2.000 lux. Những cây con sau khi nảy mầm sẽ được chuyển ra các chậu nhỏ để tiếp tục chăm sóc cho đến khi vận chuyển ra nhà lưới và tiếp tục cho đến khi thu hoạch. Các cá thể thu hoạch được sẽ là con lai ở thế hệ F₀ và sẽ được nhân lên chọn dòng ở các vụ tiếp theo.

2.2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

- Tỷ lệ nảy mầm (%) = (Số cây con nảy mầm/tổng số phôi non nuôi cấy) × 100.
- Chiều dài thân lá (cm): Đo từ gốc đến chóp lá cao nhất của mỗi cây tại thời điểm chuyển cây ra chậu.
- Chiều dài rễ (cm): Đo từ gốc đến chóp rễ của rễ dài nhất có trên cây tại thời điểm chuyển cây ra chậu.

- Số lượng rễ: Đếm số rễ có trên một cây tại thời điểm chuyển cây ra chậu.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý và thống kê bằng phương pháp toán học thông qua phần mềm Excel và phần mềm thống kê SPSS 20.0, IRRISTAT 5.0.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện tại Bộ môn Di truyền và chọn giống, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long từ tháng 7 năm 2020 đến tháng 7 năm 2021.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nảy mầm (%) của hạt lai ở các môi trường cho 4 tổ hợp lai

Bảng 3. Tỷ lệ nảy mầm (%) ở các nghiệm thức của phôi hạt của 4 tổ hợp lai

STT	Nghiệm thức	OM5451/ <i>O.rufipogon</i>	OM6162/ <i>O.rufipogon</i>	OM5451/ <i>O. officinalis</i>	OM6162/ <i>O. officinalis</i>	Trung bình	Đặc điểm
1	M1	25,0 ^c	35,0 ^d	-	-	15,0	Không tạo rễ
2	M2	43,3 ^b	46,7 ^b	3,3 ^c	-	23,3	Không tạo rễ
3	M3	26,7 ^c	30,0 ^c	3,3 ^c	3,3 ^c	15,8	Không tạo rễ
4	M4	40,0 ^b	46,7 ^b	-	-	21,7	Không tạo rễ
5	M5	6,7 ^f	41,7 ^c	7,9 ^b	-	14,1	Không tạo rễ
6	M6	8,3 ^f	24,5 ^f	3,3 ^c	3,3 ^c	9,9	Không tạo rễ
7	M7	21,7 ^d	31,7 ^{de}	8,3 ^b	5,0 ^c	16,7	Không tạo rễ
8	M8	61,7 ^a	68,3 ^a	6,7 ^{bc}	11,7 ^b	37,1	Không tạo rễ
9	M9 (đc)	18,3 ^e	35,0 ^d	13,1 ^a	17,6 ^a	21,0	Có rễ
10	M10	41,7 ^b	25,4 ^f	14,0 ^a	16,7 ^a	24,5	Có rễ
11	M11	21,7 ^d	30,0 ^c	6,7 ^{bc}	3,3 ^c	15,4	Không tạo rễ
	F tính	**	**	**	**		

Ghi chú: **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Trong cùng một cột, các số trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua phép thử Duncan.

Có thể nhận thấy rằng, tỷ lệ nảy mầm của phôi hạt trên hầu hết các môi trường của tổ hợp lai OM 5451/O. rufipogon, OM 6162/O. rufipogon cao hơn so với tổ hợp lai OM5451/O. officinalis và OM6162/O. officinalis. Phôi hạt của tổ hợp OM5451/O. rufipogon có tỷ lệ nảy mầm dao động từ 6,7 - 61,7% và tỷ lệ nảy mầm của phôi hạt ở tổ hợp OM6162/O. rufipogon dao động từ 24,5% - 68,3% ở các nghiệm thức, kết quả phù hợp với kết quả nghiên cứu của Chang (1976). Trong khi đó, tỷ lệ nảy mầm của phôi hạt từ tổ hợp OM5451/O. officinalis chỉ dao động từ 0 - 14,0% và OM6162/O. officinalis là 0 - 17,6% ở các nghiệm thức. Điều này có thể được

giải thích rõ ràng là do khi lai các giống lúa thuộc loài phụ *Indica* (OM5451, OM6162) với giống lúa hoang *O. rufipogon* có cùng bộ gen AA nên hạt lai tạo thành có sức sống khỏe và có thể sống sót cho tới khi chín. Ngược lại, khi lai 2 giống lúa này với loài lúa hoang *O. officinalis* (bộ gen AADD), do sự khác biệt lớn về bộ gen giữa 2 loài nên hạt lai tạo thành có xu hướng thoái hóa sau 10 ngày thụ phấn, hạt chuyển sang màu nâu, và dần dần rụng hết, hạt có kích thước rất nhỏ và có sức sống yếu. Kết quả này cũng được công bố trước đó bởi Niroula và cộng tác viên (2003).

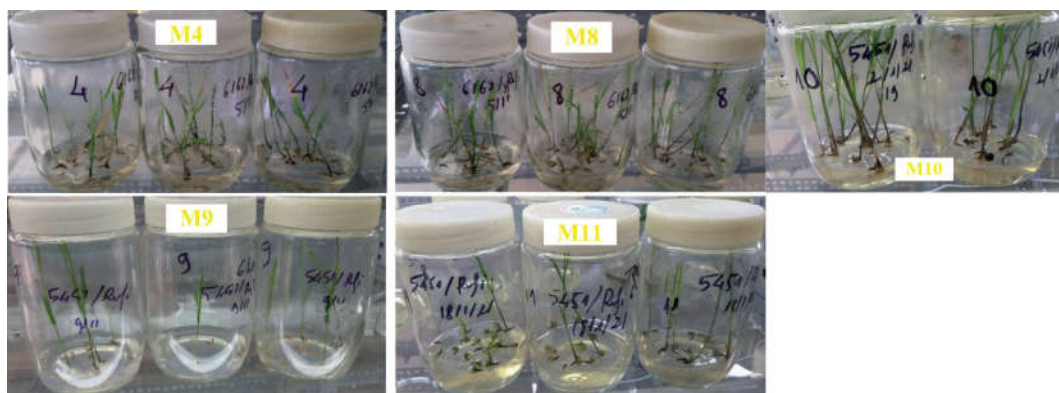


Hình 1. Hạt lai của các tổ hợp lai tại thời điểm 8 ngày sau khi tung phấn

Ghi chú: A: Hạt lai giữa loài *Oryza sativa* và *O. rufipogon* tại thời điểm 8 ngày sau khi tung phấn. B: Hạt lai giữa loài *Oryza sativa* và *O. officinalis* tại thời điểm 8 ngày sau khi tung phấn.

Qua bảng 1 cho thấy, các nghiệm thức cho tỷ lệ nảy mầm trung bình cao nhất ở cả 4 tổ hợp lai là môi trường M8 (37,1%), tiếp đến là M10 (24,5%), M2 (23,3%) và M4 (21,7%) so với đối chứng M9. Tuy nhiên trong thí nghiệm này, kết quả thu được tất cả các nghiệm thức mà có sự hiện diện của Kinetin thì cây con đều không hình thành rễ sau 14 ngày nuôi cấy, điều này có thể thấy rằng “Việc thêm Kinetin

vào thành phần môi trường nuôi cấy phôi đã kìm hãm sự phát triển của rễ lúa ở giai đoạn đầu mặc dù trong môi trường có thêm Auxin” Do đó, trong thí nghiệm này, nghiệm thức M10 (24,5%) được xem như là nghiệm thức tốt nhất cho môi trường nuôi cấy, bởi vì cho khả năng nảy mầm của phôi cao và cây con hình thành rễ rất sớm, tạo điều kiện thuận lợi trước khi chuyển cây ra môi trường bên ngoài.



Hình 2. Cây con của một số nghiệm thức tại thời điểm 14 ngày sau khi cấy

Ghi chú: M4: Cây con tạo thành ở nghiệm thức M4 của tổ hợp lai OM6162/O. rufipogon; M8: Cây con tạo thành ở nghiệm thức M8 của tổ hợp lai OM6162/O. rufipogon; M9: Cây con tạo thành ở nghiệm thức M9 của tổ hợp lai OM5451/O. rufipogon; M10: Cây con tạo thành ở nghiệm thức M10 của tổ hợp lai OM5451/O. rufipogon; M11: Cây con tạo thành ở nghiệm thức M11 của tổ hợp lai OM5451/O. rufipogon.

3.2. Chiều dài thân, lá; số lượng và chiều dài rễ của cây con ở các nghiệm thức

Chiều dài thân lá của cây con được đo trước khi chuyển cây con ra môi trường bên ngoài tại thời điểm 14 ngày sau khi cấy mô. Kết quả trong bảng 2 cho thấy, chiều dài thân lá của cây con có giá trị trung bình dao động từ 2,8 - 8,0 cm, nghiệm thức M10 có chiều dài cây con trung bình ở cả 4 tổ hợp lai đạt 8,0 cm. Ở tất cả hầu hết các nghiệm thức, cây con của các tổ hợp lai *OM5451/O. rufipogon*,

OM6162/O. rufipogon có chiều dài thân lá lớn hơn giữa cây con của tổ hợp lai *OM5451/O. officinalis* và *OM6162/O. officinalis*. Mặc dù chiều dài thân lá của cây con từ tổ hợp lai *OM5451/O. officinalis* và *OM6162/O. officinalis* ngắn và ở một số nghiệm thức không nảy mầm, tuy vậy việc tái tạo được cây con từ 2 tổ hợp lai này mang ý nghĩa rất lớn trong lai tạo và chọn giống lúa, vì hạt lai sẽ bị thoái hóa sau khoảng 10 ngày sau khi thụ phấn.

Bảng 4. Chiều dài thân, lá (cm) của cây con ở các nghiệm thức cho 4 tổ hợp lai

STT	Nghiệm thức	OM5451/ <i>O.rufipogon</i>	OM6162/ <i>O.rufipogon</i>	OM5451/ <i>O.officinalis</i>	OM6162/ <i>O.officinalis</i>	Trung bình
1	M1	7,7 ^a	6,9 ^{ab}	-	-	3,7
2	M2	6,4 ^{ab}	5,5 ^{bc}	1,3 ^b	-	3,3
3	M3	7,1 ^a	7,1 ^{ab}	3,2 ^b	3,7 ^b	5,3
4	M4	5,9 ^{ab}	5,3 ^{bc}	-	-	2,8
5	M5	4,5 ^b	7,0 ^{ab}	1,9 ^b	-	3,4
6	M6	5,3 ^{ab}	4,4 ^c	3,3 ^b	3,8 ^b	4,2
7	M7	7,7 ^a	6,5 ^{ab}	4,7 ^{ab}	3,7 ^b	5,7
8	M8	5,8 ^{ab}	6,5 ^{ab}	3,8 ^b	7,7 ^a	6,0
9	M9 (ĐC)	7,0 ^{ab}	7,3 ^{ab}	8,2 ^a	8,1 ^a	7,7
10	M10	7,3 ^a	7,8 ^a	8,1 ^a	8,6 ^a	8,0
11	M11	6,6 ^{ab}	7,0 ^{ab}	4,7 ^{ab}	7,3 ^a	6,4
	F tính	*	*	**	**	

Ghi chú: *, **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5% và 1%. Trong cùng một cột, các số trung bình có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% và 1% qua phép thử Duncan.

3.3. Số lượng và chiều dài rễ của cây con ở các nghiệm thức cho 4 tổ hợp lai

Trong thí nghiệm này, chỉ có nghiệm thức M9 và M10 là có rễ được hình thành trong quá trình cứu phôi với số lượng rễ và chiều dài rễ lần lượt là 5,5 rễ và 3,1 cm (M9), 6,0 rễ và 4,8 cm (M10). Kết quả này có thể chứng minh rằng, việc thêm Auxin

vào môi trường với một lượng thích hợp ở nghiệm thức M10 cho kết quả cây con có nhiều rễ hơn và rễ dài hơn, giúp cây khỏe hơn trước khi chuyển ra ngoài môi trường. Tất cả các nghiệm thức có sự hiện diện của thành phần Kinetin thì cây con không hình thành rễ giai đoạn đầu.

Bảng 5. Số lượng và chiều dài rễ của cây con ở các nghiệm thức cho 4 tổ hợp lai

STT	Nghiệm thức	Số lượng rễ					Chiều dài rễ (cm)				
		OM5451/ <i>O. Rufipogon</i>	OM6162/ <i>O. Rufipogon</i>	OM5451/ <i>O. Officinalis</i>	OM6162/ <i>O. Officinalis</i>	Trung bình	OM5451/ <i>O. Rufipogon</i>	OM6162/ <i>O. Rufipogon</i>	OM5451/ <i>O. Officinalis</i>	OM6162/ <i>O. Officinalis</i>	Trung bình
1	M9	4,2	6,8	4,7	6,1	5,5	2,5	2,8	3,3	4,0	3,1
2	M10	5,2	8,2	4,6	6,1	6,0	4,5	4,8	4,6	5,3	4,8

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Đã xác định được môi trường cơ bản MS chứa 3% sucrose và 0,2 mg/L NAA thích hợp cho sự nảy mầm của hạt lai xa và cây con tạo thành có chiều dài thân lá, số lượng và chiều dài rễ tốt nhất.

4.2. Đề nghị

- Tiếp tục thực hiện thêm các phép lai xa giữa các loài lúa khác nhau và thực hiện cứu phôi để tạo bộ vật liệu khởi đầu cho công tác chọn tạo giống lúa mới.

- Các hạt lai ở thế hệ F_0 đã tạo thành từ phép lai xa cần được tiếp tục chọn lọc, đánh giá các thế hệ tiếp theo, mặt khác tiến hành lai hồi giao nhiều bậc con lai F_1 với giống làm mẹ là các giống lúa cao sản OM5451 và OM6162 nhằm tạo được thế hệ con lai có dạng hình của các giống lúa cao sản nhưng mang gen quý từ các giống lúa hoang dại.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Viện lúa đồng bằng sông Cửu Long, đơn vị tài trợ kinh phí để thực hiện đề tài nghiên cứu cấp cơ sở và Bộ môn Di truyền và Chọn giống đã tạo điều kiện thuận lợi cho thí nghiệm được hoàn thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Viết Thạch, 2013. *Nghiên cứu xây dựng quy trình tái sinh cây từ phôi non các giống lúa phục vụ chuyển gen*. Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Nông Nghiệp Hà Nội.

Amanate - Bordeos, A., L.A. Sitch, R. Nelson, R.D. Dalmacio, N.P. Dalmacio, Oliva, H. Aswidinnoor and H. Leung, 1992. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 84: 345-354.

Amanate - Bordeos, A.D., R.J. Nelson, N.P. Oliva, R.D. Dalmacio, H. Leung and L.A. Sitch, 1991. Transfer of blast and bacterial blight resistance from *Oryza minuta* to *O. sativa*. In: *Rice genetics II. Proceedings of the Second International Rice Genetics Symposium*. International Rice Research Institute (ed.), Manila, Philippines: 237-246.

Chang T.T., 1976. Rice. In: Simmonds N.W. (ed.) *Evolution of crop plants*. Longman London: 98-104.

Jena, K.K. and G.S. Khush, 1990. Introgression of genes from *Oryza officinalis* Well ex Watt to cultivated rice, *O. sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 80: 737-745.

Multani, D.S., K.K. Jena, D.S. Brar, B.G. de los Reyes, E.R. Angeles and G.S. Khush, 1994. Development of monosomic alien addition lines and introgression of genes from *Oryza australiensis* Domin. to cultivated rice *O. sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 88: 102-109.

Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiological Plant*, 15: 473-497.

Niroula, R.K., L.P. Subedi., R.C. Sharma., and M.P. Upadhyay, 2003. Embryo culture for wide hybridization in the genus *Oryza*. A simplified technique of hardening improves the field plant establishment. In: *Second SAS convention*, 30 July - 01 August 2003, Khumaltar, organized by NARC and SAS (in press).

Pongtongkam, P., P. Ratisoontorn, S. Suputtitada, S. Apisitwanich, S. Peyachoknagul, K. Klakhaeng and S. Nettasana, 1997. Improvement of rice for brown plant hopper resistance through immature embryo culture. In *Proceedings of the 8th SABRAO General Congress and the Annual Meeting of the Korean Breeding Society*, Seoul, Korea: 303-304.

Suputtitada S., T. Adachi, P. Pongtongkam, P. Ratisoontorn, S. Peyachoknagul, S. Apisitwanich, K. Klakhaeng, P. Rodrangboonand, R. Lertvichai, 1994. Rice improvement through tissue culture. In *Proceedings of the International Colloquium on Impact of Plant Biotechnology on Agriculture*, Rogla, Slovenia: 73-84.

Study on embryo culture for interspecific hybridization of two different rice species

Nguyen Huu Minh, Tran Thu Thao, Pham Cung Tru, Hà Minh Luan, Vu Thanh Toàn

Abstract

Embryo rescue is a commonly used method to overcome the genetic barriers of interspecific hybridization in rice species. Two varieties OM5451 and OM6162 belonging to *Oryza sativa*, two wild rice species *Oryza rufipogon* and *Oryza officinalis* were used to crossbreed and perform embryo rescue in outcrossing. The hybridization experiment and the experiment to determine the suitable medium for the culture were performed in a completely randomized design (RCD) with 11 media, 3 replications. The experimental results showed that the base medium of Murashige and Skoog (1962) adding 3% sucrose and 2 mg/L NAA gave the highest germination rate in all 4 hybrid combinations; leaf, stem

and root length, root number of seedlings were the best. The embryos of hybrid seeds between *Oryza sativa* and *Oryza officinalis* species tend to degrade from 10th day after pollination and hybrid seeds to maturity will not be formed.

Keywords: Embryo rescue, interspecific hybridization, wild rice, *in vitro* culture

Ngày nhận bài: 14/10/2021
Ngày phản biện: 08/11/2021

Người phản biện: PGS.TS. Lê Hùng Linh
Ngày duyệt đăng: 30/11/2021

ẢNH HƯỞNG CỦA MẬT ĐỘ TRỒNG VÀ LIỀU LƯỢNG PHÂN BÓN ĐẾN SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN VÀ NĂNG SUẤT ĐẬU TƯƠNG ĐT51 TRỒNG XEN BƯỞI TẠI VIỆT YÊN, BẮC GIANG

Hoàng Thị Mai¹, Nguyễn Văn Vượng¹,
Dương Văn Quân¹, Trần Thị Trường²

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ trồng và liều lượng phân bón đến sinh trưởng, phát triển và năng suất đậu tương ĐT51 trồng xen bưởi giai đoạn kiến thiết cơ bản được tiến hành trong vụ Xuân năm 2020 tại Việt Yên, tỉnh Bắc Giang. Thí nghiệm gồm 3 mật độ 20, 30 và 40 cây/m² và 3 công thức phân bón trên nền 1 tấn phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh + 300 kg vôi bột/ha (P1: Nền + 10 kg N + 20 kg P₂O₅ + 20 kg K₂O (đ/c); P2: Nền + 20 kg N + 40 kg P₂O₅ + 40 kg K₂O; P3: Nền + 30 kg N + 60 kg P₂O₅ + 60 kg K₂O). Bố trí theo kiểu ô lớn (mật độ) và ô nhỏ (phân bón), 3 lần nhắc lại. Kết quả cho thấy, khi tăng mật độ trồng và liều lượng phân bón chiều cao cây, số cành cấp 1, chỉ số diện tích lá, số lượng nốt sần hữu hiệu và năng suất tăng lên. Mật độ trồng 40 cây/m² kết hợp liều lượng bón: nền + 30 kg N + 60 kg P₂O₅ + 60 kg K₂O/ha cho giá trị cao nhất về năng suất thực thu 3,53 tấn/ha/vụ, lãi thuần đạt 42,01 triệu đồng/ha/vụ. Bên cạnh đó, trồng xen ở công thức M3P1 (mật độ: 40 cây/m², phân bón: nền + 10 kg N + 20 kg P₂O₅ + 20 kg K₂O) có tỷ suất lợi nhuận cao nhất (VCR = 9,23).

Từ khóa: Giống đậu tương ĐT51, bưởi, trồng xen, mật độ, phân bón

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống ĐT51 là kết quả tuyển chọn giống đậu tương thích hợp trong điều kiện trồng xen tại vườn cây ăn quả có múi, có khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất cao tại Việt Yên, Bắc Giang. Mật độ trồng thích hợp của giống đậu tương có thể cải thiện cấu trúc quần thể thực vật, tạo ra môi trường thuận lợi để cây sử dụng đầy đủ năng lượng ánh sáng, thúc đẩy quang hợp và nâng cao khả năng chống chịu và tăng năng suất của giống đậu tương (Khan *et al.*, 2018).

Theo Hellal và Abdelhamid (2013), yếu tố phân bón ảnh hưởng đến năng suất đậu tương làm giảm 10% nếu thiếu đạm, giảm 29 - 45% nếu thiếu lân, khi cung cấp đủ kali giúp giống đậu tương tăng khả năng chống chịu và hấp thu dinh dưỡng khác

tốt hơn. Do vậy, đối với mỗi giống đậu tương canh tác trong điều kiện khác nhau việc bố trí mật độ và sử dụng lượng phân bón khác nhau. Nhằm hoàn thiện kỹ thuật canh tác đậu tương trồng xen ĐT51 trồng xen trong vườn cây bưởi Diễn tại Việt Yên, Bắc Giang. Địa phương có diện tích cây ăn quả 45.404 ha (năm 2015) và hàng năm tăng trên 2.529 ha diện tích trồng mới, việc nghiên cứu mật độ và công thức phân bón là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống đậu tương ĐT51. Phân bón vô cơ: Đạm urê 46% N, Supe lân 16% P₂O₅, Kali clorua 60% K₂O. Phân bón hữu cơ: Phân chuồng; phân HCVS Sông Gianh.

¹ Khoa Nông học, Trường Đại học Nông - Lâm Bắc Giang

² Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

* Tác giả chính: E-mail: hoangmainlbg@gmail.com