

FAOSTAT, 2019. *Production quantities of Rubber, natural by country.*

Priyadarshan., P. M., Hoa., T. T. T., Huasun., H., Goncalves., P. d. S, 2005. Yielding Potential of Rubber (*Hevea brasiliensis*) in Sub-Optimal

Environments, *Genetic and Production Innovations in Field Crop Technology*, 221-247.

Priyadarshan, P.M, 2017. *Biology of Hevea Rubber.* Springer.

## Selection of rubber clones with high yield in Northern mountainous region

Nguyen Xuan Truong, Nguyen Van Toan

### Abstract

Four domestic clones including DVT 27, DVT 30, DVT 54 and RRIV 124 and three introduced ones from China namely LT 74, VNg 77-2 and VNg 77-4 were evaluated from 2012- 2018 at the Northern Mountainous Agriculture and Forestry Science Institute (NOMAFSI). By evaluating 3 characteristics including survival rates, growth and latex yield, the research results indicated that the highly survival rate clones also had the better growth in the first year after planting. Regarding the domestic clones, RRIV 124 had strong growth ability (its girth reached 43,3 cm after 6 years of planting; 20,2 % higher than the standard) and was also potetial to have the highest yield in the first haversting year, accounting for 42.4 g/tree/tab. Another potentially high yield clone was DVT 27, which had an amount of 34 g/tree/tab in the first harversting year. As for the Chinese- introduced clones, only VNg 77-4 showed the growth ability in the immature stage (girth was 39,6 cm, 10% higher compared to the standard). In addition, its yield was relatively high with 25.7 g/tree/tab in the first harversting year.

**Keywords:** Rubber, growth, latex yield

Ngày nhận bài: 12/7/2019  
Ngày phản biện: 20/7/2019

Người phản biện: TS. Đỗ Văn Ngọc  
Ngày duyệt đăng: 9/8/2019

## THIẾT LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA QUY TRÌNH CHUYỂN GEN *VrD1* TRÊN GIỐNG ĐẬU XANH ĐX22

Hoàng Thị Thao<sup>1</sup>, Nguyễn Tuấn Điệp<sup>1</sup>, Chu Đức Hà<sup>2</sup>,  
Hoàng Thị Mai<sup>1</sup>, Lê Văn Sơn<sup>3</sup>, Chu Hoàng Mậu<sup>4</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, giống đậu xanh ĐX22 đã được ghi nhận chuyển thành công gen *VrD1*, mã hóa protein defensin liên quan đến cơ chế kháng một *Callosobruchus chinensis*. Trước hết, quy trình tái sinh giống ĐX22 *in vitro* đã được nghiên cứu và tối ưu để tạo tiền đề cho chuyển gen. Cụ thể, lá mầm được nuôi trong môi trường cảm ứng chồi chứa BAP 3,5 mg/l. Sau 15 ngày cấy chuyển, các cụm chồi được kéo dài trên môi trường có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5mg/l và IAA 0,1mg/l. Nghiên cứu đã chỉ ra môi trường dinh dưỡng chứa IAA 0,5mg/l thích hợp cho quá trình tạo rễ *in vitro*. Tiếp theo, giống ĐX22 được chuyển gen *VrD1* thông qua đồng nuôi cấy với *Agrobacterium* mang vector pPhaso-dest-*VrD1*. Kết quả đã xác định được 5 dòng mang gen chuyển ở thế hệ T<sub>0</sub> bằng kỹ thuật PCR. Trong đó, dòng ĐX1-3 và ĐX1-7 ở thế hệ T<sub>1</sub> có biểu hiện của protein VrD1 với hàm lượng tương ứng là 6,24 và 9,26 µg/mg protein tổng số. Kết quả của nghiên cứu này đã tạo tiền đề quan trọng cho công tác chọn tạo giống đậu xanh chuyển gen có khả năng kháng *C. chinensis*.

**Từ khóa:** Đậu xanh, defensin, chuyển gen, VrD1, protein

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu xanh (*Vigna radiata*) là đối tượng cây trồng luân canh ngăn ngừa có giá trị kinh tế cao, đồng thời là mắt xích quan trọng trong hệ sinh thái đồng ruộng (Lưu Quang Huy và *ctv.*, 2017). Hiện nay, đậu xanh đang thể hiện vai trò nổi bật với định hướng khuyến khích chuyển đổi cơ cấu cây trồng nông nghiệp ngăn

ngày theo hướng bền vững. Tuy nhiên, sâu bệnh hại, đặc biệt là một *Callosobruchus chinensis* là nguyên nhân gây sụt giảm năng suất và chất lượng của đậu xanh hiện nay (War *et al.*, 2017). Vì vậy, tìm hiểu cơ chế kháng và tìm ra các gen liên quan đến khả năng kháng của các giống đậu xanh được xem là một trong nhiệm vụ quan trọng hiện nay.

<sup>1</sup> Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang; <sup>2</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp, VAAS

<sup>3</sup> Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>4</sup> Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

Để giải quyết bài toán này, một trong những hướng được quan tâm là tìm kiếm các gen mã hóa protein tham gia vào cơ chế kháng, từ đó áp dụng các công cụ công nghệ sinh học nhằm cải thiện khả năng kháng ở cây đậu xanh. Đáng chú ý, gen *defensin1* ở đậu xanh (*VrD1*), mã hóa protein giàu Cys được ghi nhận là một trong những nhóm protein thực vật có khả năng kháng sâu bệnh hại rất mạnh (Chen *et al.*, 2004; Shiau *et al.*, 2006). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào ghi nhận về việc chuyển gen *VrD1* vào giống ĐX22, giống đậu xanh chủ lực của Việt Nam hiện nay. Trong nghiên cứu này, quy trình chuyển gen *VrD1* vào giống ĐX22 đã được báo cáo. Cụ thể, các bước tái sinh giống đậu xanh ĐX22 đã được thiết

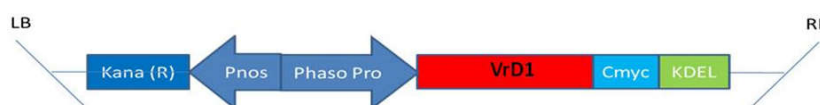
lập tạo tiền đề cho quy trình chuyển gen. Các dòng chuyển gen sau đó đã được đánh giá sự biểu hiện của gen *VrD1* chuyển thông qua các phương pháp sinh học phân tử.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống đậu xanh ĐX22 thuần chủng có nguồn gốc từ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Duyên hải Nam Trung Bộ được dùng làm vật liệu chuyển gen.

Chủng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* CV58 chứa vector chuyển gen pPhaso-dest-*VrD1* được cung cấp bởi Viện Công nghệ Sinh học (Hình 1).



Hình 1. Cấu trúc của vector chuyển gen pPhaso-dest-*VrD1*

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Tạo cây đậu xanh chuyển gen: Chuyển gen *VrD1* vào cây đậu xanh được tiến hành theo phương pháp biến nạp *A. tumefaciens* thông qua nách lá mầm đã được ghi nhận gần đây (Jaiwal *et al.*, 2001). Cụ thể, dịch huyền phù *A. tumefaciens* mang vector chuyển gen được đồng nuôi cấy với lá mầm *V. radiata* 3 ngày tuổi đã gây tổn thương trên môi trường thích hợp trong điều kiện 25°C trong 3 ngày.

- Tái sinh cây đậu xanh chuyển gen: Quy trình tái sinh giống đậu xanh ĐX22 được tiến hành dựa trên những mô tả gần đây (Nguyễn Thị Luyện và *ctv.*, 2009). Cụ thể, mẫu lá mầm được nuôi trong 2 tuần trên môi trường cảm ứng tạo chồi (shoot induction medium, SIM) chọn lọc. Các cụm chồi sau đó tiếp tục được chuyển sang môi trường kéo dài chồi

(shoot elongation medium, SEM) chọn lọc. Khi chồi đạt kích thước 4÷5 cm chuyển sang môi trường tạo rễ (root medium, RM) chọn lọc. Cây tái sinh được chuyển ra giá thể chứa trấu hun và cát với tỷ lệ 1 : 1 (Nguyễn Thị Luyện và *ctv.*, 2009).

- Kiểm tra sự có mặt của gen chuyển: Xác định sự có mặt gen *VrD1* ở dòng chuyển gen thông qua PCR (Rahman *et al.*, 2013). Trong đó, ADN tổng số của dòng chuyển gen được tách chiết theo phương pháp CTAB (Semagn, 2014). Cặp môi đặc hiệu cho đoạn gen chuyển *VrD1* được mô tả trong Bảng 1 (Chen *et al.*, 2004). Dòng chuyển gen  $T_0$  được sàng lọc sự có mặt của gen *VrD1* bằng kỹ thuật Southern blot. ADN tổng số đã tinh sạch được sử dụng để cắt bằng cặp enzyme giới hạn *Hind* III-*Sal* I. Tổng hợp ADN mẫu dò sử dụng bộ kit (GE Healthcare, Anh).

Bảng 1. Trình tự cặp môi đặc hiệu cho gen *VrD1* (Chen *et al.*, 2004)

TT	Tên môi	Trình tự môi
1	<i>VrD1-HindIII-F</i>	5'-CCAAGCTTGGTTAACAGTTTCTAGTGCACC-3'
2	<i>VrD1-SalI-R</i>	5'-GCGTCGACGATGGAGAAGAAATCACTGGCC-3'

- Đánh giá cây chuyển gen: Phân tích biểu hiện protein tái tổ hợp *VrD1* trong hạt chuyển gen ở thế hệ  $T_1$  được tiến hành bằng phương pháp điện di Western blot. Protein *VrD1* tái tổ hợp ở dòng  $T_1$  được định lượng bằng kỹ thuật ELISA (Shiau *et al.*, 2006).

- Phân tích và xử lý số liệu: Các số liệu thu thập được xử lý và phân tích thống kê bằng Microsoft Excel 2003.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thiết lập hệ thống tái sinh giống đậu xanh ĐX22 cho quy trình chuyển gen

Trong nghiên cứu này, hạt giống đậu xanh ĐX22 đã được khử trùng bằng khí Clo và nảy mầm trên môi trường dinh dưỡng để thu lấy lá mầm sạch bệnh tạo nguồn vật liệu cho quá trình chuyển gen. Để hình thành khả năng tái sinh đa chồi từ nách lá

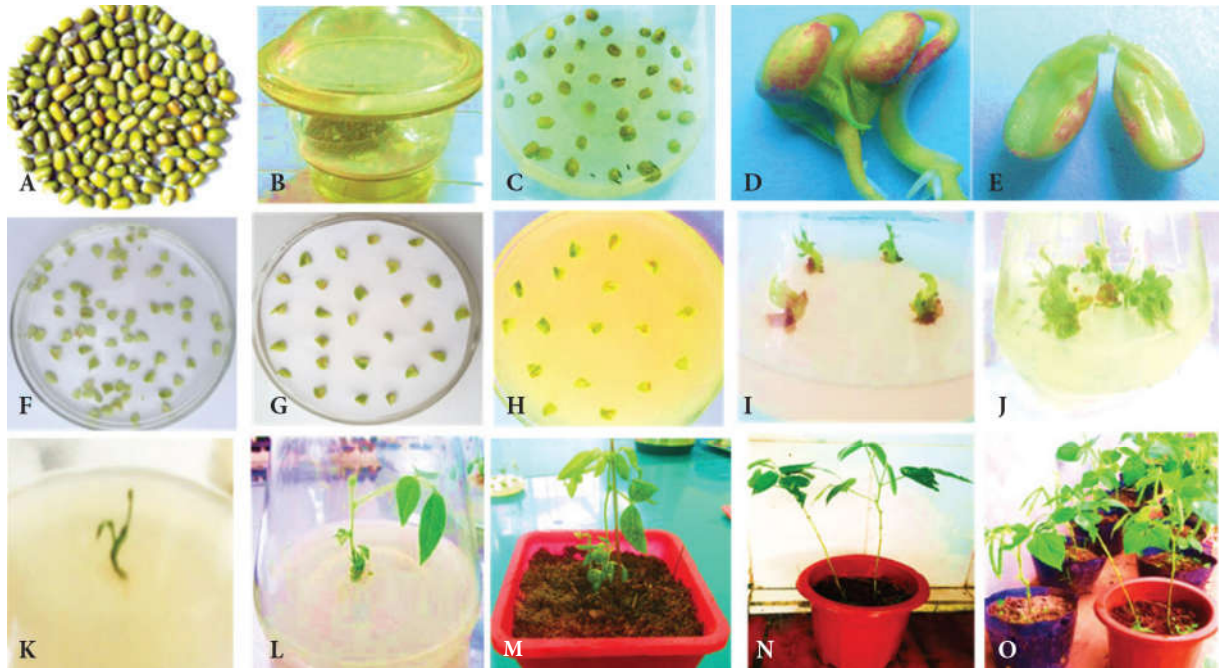
mầm, các lá mầm được nuôi trên môi trường SIM có bổ sung BAP ở nồng độ 2,5 ÷ 4,0 mg/l. Kết quả theo dõi sau 15 ngày cấy chuyển trên các công thức được thể hiện ở Bảng 2. Trong đó, môi trường SIM chứa BAP 3,5 mg/l được xác định là thích hợp cho quá trình tạo chồi từ lá mầm của giống ĐX22 (Bảng 2).

Tiếp theo, các cụm chồi được chuyển sang môi trường SEM có bổ sung GA<sub>3</sub> và IAA với các nồng độ khác nhau. Sau 10 ngày theo dõi đã xác định được môi trường SEM có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5mg/l và IAA 0,1mg/l cho hiệu quả chồi kéo dài nhanh nhất và chất lượng chồi tốt nhất, thân mập, lá to và có màu xanh đặc trưng, đảm bảo cho việc ra rễ tái sinh hoàn chỉnh. Trong nghiên cứu này đã thử nghiệm

tạo rễ cho các chồi trên môi trường chứa IAA từ 0,1 ÷ 1,0 mg/l và theo dõi trong 4 tuần. Kết quả đã xác định được công thức bổ sung IAA 0,5mg/l là thích hợp nhất cho việc tạo rễ *in vitro* với giống đậu xanh ĐX22.

**Bảng 2.** Đánh giá khả năng tái sinh đa chồi của ĐX22 trên môi trường chứa BAP

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu biến nạp	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)
1	2,5	30	75,56
2	3,0	30	81,11
3	3,5	30	86,67
4	4,0	30	77,78



**Hình 2.** Quy trình tái sinh giống đậu xanh ĐX22 phục vụ quy trình chuyển gen

A - Hạt đậu xanh ĐX22; B - Khử trùng hạt bằng khí Clo; C - Gieo hạt trên môi trường dinh dưỡng; D - Nảy mầm hạt sau 3 ngày; E - Lá mầm và nách lá mầm làm nguyên liệu biến nạp; F - Nhiễm khuẩn trong 30 phút; G - Đồng nuôi cấy; H - Cảm ứng tạo chồi; I÷J - Sau 2 tuần trên môi trường tạo chồi; K - Kéo dài chồi; L - Ra rễ; M - Cây ra giá thể; N ÷ O - Cây trồng trong chậu ở điều kiện nhà lưới.

### 3.2. Đánh giá hiệu quả chuyển gen *VrD1* vào giống đậu xanh ĐX22

Chuyển gen *VrD1* vào giống ĐX22 được thực hiện nhờ biến nạp *A. tumefaciens* thông qua nách lá mầm (Jaiwal *et al.*, 2001). Lá mầm 3 ngày tuổi được rạch gây tổn thương để thực hiện đồng nuôi cấy với dịch *A. tumefaciens* (Hình 2). Kết quả 3 lần biến nạp với tổng số 630 mẫu, 107 chồi, chiếm tỷ lệ 16,98%,

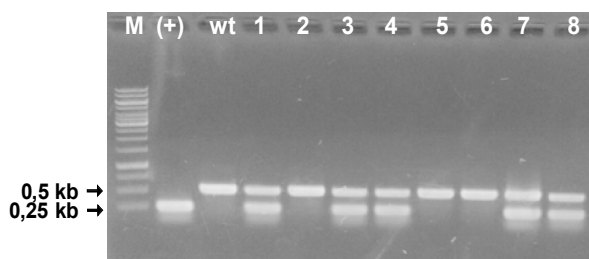
được ghi nhận có kéo dài trên môi trường chọn lọc chứa kháng sinh kanamycin 50 mg/l (Bảng 3). Trong đó, 46 chồi ra rễ khỏe mạnh và tiếp tục được trồng trên giá thể đất (Hình 2, Bảng 3). Theo dõi trong điều kiện nhà lưới đã cho thấy 23 dòng đậu xanh chuyển gen T<sub>0</sub> sống sót và sinh trưởng bình thường (Bảng 3).

**Bảng 2.** Đánh giá khả năng biến nạp cấu trúc pPhaso-dest-VrD1 vào giống ĐX22

Mẫu	Tổng số mẫu biến nạp	Số mẫu tạo chồi	Số chồi kéo dài	Số chồi ra rễ	Số cây sống trên giá thể	Số cây sống sót trong nhà lưới
Biến nạp 1	300	110	45	21	16	11
Biến nạp 2	180	92	39	16	14	9
Biến nạp 3	150	45	23	9	5	3
Đối chứng 1	30	0	0	0	0	0
Đối chứng 2	30	30	45	25	10	10

Ghi chú: Đối chứng 1 là mầm đậu xanh không chuyển gen được cấy trên môi trường tái sinh có bổ sung kháng sinh; Đối chứng 2 là mầm đậu xanh không chuyển gen được cấy trên môi trường tái sinh không bổ sung kháng sinh.

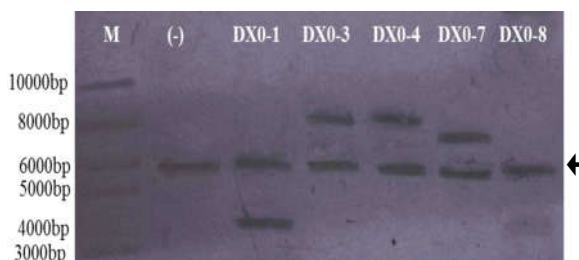
Để kiểm tra sự có mặt của gen chuyển VrD1 trong hệ gen của các dòng chuyển gen, ADN tổng số của các cây được tách chiết làm khuôn cho phản ứng khuếch đại gen với cặp mồi đặc hiệu VrD1-HindIII-F/VrD1-Sall-R (Bảng 1). Phân tích về trình tự gen VrD1 từ gDNA và từ mRNA đã chỉ ra rằng gen nội tại và gen chuyển VrD1 phân biệt nhau ở đặc điểm có hay không có đoạn intron. Khi thực hiện phản ứng PCR bằng cặp mồi đặc hiệu, dự kiến gen VrD1 nội tại cho phân đoạn DNA có kích thước ~356 bp, trong khi gen ngoại lai cho phân đoạn DNA kích thước ~228bp (Hình 3). Kết quả điện di cho thấy 5 dòng chuyển gen, được đặt tên là ĐX0-1, ĐX0-3, ĐX0-4, ĐX0-7 và ĐX0-8 (tương ứng với giếng số 1, 3, 4, 7 và 8) đã có mặt của gen chuyển VrD1 (Hình 3). Hiệu suất chuyển gen VrD1 đạt 0,79%.



**Hình 3.** Điện di kiểm tra sản phẩm PCR nhân gen VrD1 từ các dòng chuyển gen T<sub>0</sub>.

Ghi chú: M: thang DNA chuẩn 1 kb; (+): đối chứng dương là plasmid pBT-VrD1; (-) sản phẩm PCR nhân gen VrD1 cây đậu xanh không chuyển gen; Từ băng 1 ÷ 8: sản phẩm PCR nhân gen VrD1 từ các dòng cây đậu xanh được chuyển gen.

Để tăng độ tin cậy của thí nghiệm, 5 dòng chuyển gen T<sub>0</sub> được tiến hành phân tích Southern blot. Kết quả phân tích ở hình 4 cho thấy 5 dòng chuyển gen đều cho kết quả dương tính với Southern blot. Trong đó, tất cả dòng chuyển gen dương tính với 2 bản copy, ngoại trừ ĐX0-8 dương tính với 1 bản copy.



**Hình 4.** Phân tích 5 dòng chuyển gen T<sub>0</sub> bằng Southern blot

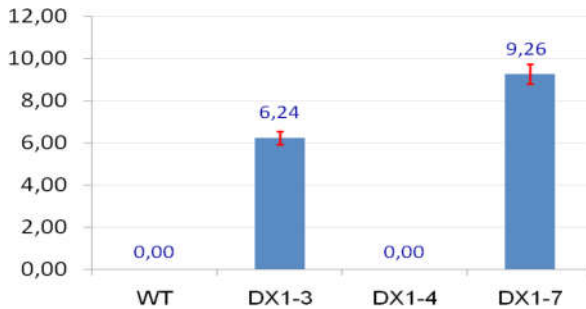
### 3.3. Phân tích biểu hiện protein ở dòng chuyển gen T<sub>1</sub>

Trong nghiên cứu này, 3 dòng chuyển gen ĐX0-3, ĐX0-4 và ĐX0-7 tiếp tục được tự thụ tạo thế hệ T<sub>1</sub>, đặt tên lần lượt là ĐX1-3, ĐX1-4 và ĐX1-7. Kết quả lai Western blot từ 3 dòng chuyển gen T<sub>1</sub> cho thấy trên màng lai nitrocellulose có xuất hiện băng màu ở vị trí kích thước khoảng gần 10 kDa ở dòng ĐX1-3 và ĐX1-7.



**Hình 5.** Kết quả lai Western từ 3 dòng chuyển gen T<sub>1</sub>

Để phân tích biểu hiện protein rõ nét hơn, dòng ĐX1-3 và ĐX1-7 được kiểm tra bằng kỹ thuật ELISA để xác định hàm lượng protein VrD1 so với hàm lượng protein tan tổng số. Trong đó, dòng ĐX1-4 và giống ĐX22 được sử dụng như đối chứng không biểu hiện protein VrD1. Kết quả được thể hiện ở hình 6.



**Hình 6.** So sánh hàm lượng protein VrD1 tái tổ hợp giữa các dòng đậu xanh chuyển gen

Trên biểu đồ so sánh cho thấy các dòng đậu xanh chuyển gen có hàm lượng protein VrD1 dao động từ 6,23 ÷ 9,26 µg/mg protein tổng số (Hình 6). Trong đó, dòng DX1-7 được xác định có hàm lượng protein VrD1 cao nhất (Hình 6). Kết quả này đã chứng minh các dòng cây đậu xanh chuyển gen đã được tăng cường biểu hiện protein defensin. Đây là cơ sở để tiếp tục phân tích hai dòng đậu xanh chuyển gen DX1-3 và DX1-7 ở các thế hệ sau.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

- Đã hoàn thiện được hệ thống tái sinh giống đậu xanh ĐX22 phục vụ quy trình chuyển gen. Trong đó, môi trường SIM chứa BAP 3,5 mg/l thích hợp cho tạo chồi từ lá mầm, môi trường SEM có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5mg/l và IAA 0,1mg/l được khuyến cáo cho kéo dài chồi và môi trường chứa IAA 0,5mg/l phù hợp cho tạo rễ *in vitro*.

- Sàng lọc kiểu gen của 23 cây T<sub>0</sub> đã thu được 5 dòng chuyển gen mang gen *VrD1*. Kiểm chứng bằng Southern blot cho thấy 4 dòng ĐX0-1, ĐX0-3, ĐX0-4 và ĐX0-7 mang 2 bản copy của gen *VrD1*, trong khi ĐX0-8 có 1 bản copy.

- Phân tích Western blot đã chứng minh dòng ĐX1-3 và ĐX1-7 có biểu hiện của protein VrD1. Trong đó, hàm lượng của VrD1 ở dòng ĐX1-3 và

ĐX1-7 lần lượt đạt 6,24 và 9,26 µg/mg protein tổng số.

##### 4.2. Đề nghị

Nghiên cứu này sẽ được tiếp tục nhằm đánh giá mức độ kháng một *C. chinensis* của 2 dòng chuyển gen ĐX1-3 và ĐX1-7.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Luyện, Nguyễn Vũ Thanh Thanh, Lò Mai Thu, Chu Hoàng Mậu**, 2009. Hoàn thiện hệ thống tái sinh *in vitro* ở cây đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) phục vụ cho chuyển gen. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 54(6): 123-128.
- Chen, J. J., Chen, G. H., Hsu, H. C., Li, S. S., Chen, C. S.**, 2004. Cloning and functional expression of a mungbean defensin *VrD1* in *Pichia pastoris*. *J Agric Food Chem*, 52(8): 2256-2261.
- Jaiwal, P. K., Kumari, R., Ignacimuthu, S., Potrykus, I., Sautter, C.**, 2001. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) - a recalcitrant grain legume. *Plant Sci*, 161(2): 239-247.
- Rahman, M., Iqbal, M. A., Shaheen, N., Zafar, Y.**, 2013. Microsatellites: Methods & Protocols. *In Stress and Plant Biotechnology*, 130-152.
- Semagn, K.**, 2014. Leaf tissue sampling and DNA extraction protocols. *In Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols*, 53-67.
- Shiau, Y. S., Horng, S. B., Chen, C. S., Huang, P. T., Lin, C., Hsueh, Y. C., Lou, K. L.**, 2006. Structural analysis of the unique insecticidal activity of novel mungbean defensin *VrD1* reveals possibility of homoplasy evolution between plant defensins and scorpion neurotoxins. *J Mol Recognit*, 19(5): 441-450.
- War, A. R., Murugesan, S., Boddepalli, V. N., Srinivasan, R., Nair, R. M.**, 2017. Mechanism of resistance in mungbean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek var. *radiata*] to bruchids, *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae). *Front Plant Sci*, 8: 1031.

### Establishment and evaluation of efficiency of the transformation of *VrD1* on mungbean variety ĐX22

Hoang Thi Thao, Nguyen Tuan Diep, Chu Duc Ha, Hoang Thi Mai, Le Van Son, Chu Hoang Mau

#### Abstract

In this study, *VrD1*, encoding defensin protein involved in the resistance of bruchids (*Callosobruchus chinensis*) has been successfully transformed into 'ĐX22' mungbean variety. Firstly, a protocol of regeneration of 'ĐX22' variety *in vitro* has been constructed and optimized in order to prepare for gene transformation. Particularly, cotyledonary nodes were cultured in the shoot induction medium containing 3.5 mg/l. The shoots were then optimized elongated in the medium adding GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l and IAA 0.1mg/l. The medium containing IAA 0.5 mg/l was recommended

for the *in vitro* root induction. Next, the 'ĐX22' explants were co-cultured with *Agrobacterium* strain harboring pPhaso-dest-VrD1 vector. Our results confirmed the presence of target gene in 5 T<sub>0</sub> lines by PCR technique. Among them, 'ĐX1-3' and 'ĐX1-7' (T<sub>1</sub> generation) were recorded to express VrD1 protein with the approximate content of 6.24 and 9.26 µg/mg total proteins, respectively. Our results could provide important information for mungbean breeding towards the *C. chinensis* resistance.

**Keywords:** Mung bean, defensin, transformation, VrD1, protein

Ngày nhận bài: 3/6/2019  
Ngày phản biện: 12/6/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Tuấn  
Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

## NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG THỰC VẬT CỦA 8 GIỐNG LÚA OM TRÊN CỎ LÔNG VỰC NƯỚC VÀ PHÂN LẬP CÁC CHẤT ĐỐI KHÁNG THỰC VẬT CÓ TRONG GIỐNG LÚA OM4498

Nguyễn Lê Văn<sup>1</sup>, Phan Khánh Linh<sup>1</sup>, Phòng Ngọc Hải Triều<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thế Cường<sup>1</sup>, Lê Văn Vàng<sup>2</sup>, Hồ Lệ Thi<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Dựa trên các nghiên cứu trong và ngoài nước về tính đối kháng thực vật trên cây lúa, 8 giống lúa OM được trồng phổ biến (bao gồm OM5451, OM Nếp 406 (N406), OM7347, OM6976, OM4498, OM5930, OM3536 và OM2395) được tiến hành nghiên cứu về hoạt động cạnh tranh cỏ dại trên loài cỏ gây hại chính - cỏ lông vực nước (*E. crus-galli*). Kết quả khảo sát ban đầu từ thí nghiệm đối kháng trực tiếp cho thấy giống lúa OM5930 có khả năng ức chế mạnh nhất đến sự phát triển cỏ lông vực nước. Tuy nhiên, khi thử nghiệm hoạt tính sinh học của dịch trích các giống lúa bằng methanol (MeOH) lại cho thấy hiệu quả ức chế tốt và ổn định của giống OM4498. Do đó, dịch trích giống OM4498 đã được chọn sử dụng cho các bước tách chiết chất đối kháng (CĐK) tiếp theo. CĐK được tách chiết sử dụng phương pháp tách pha lỏng/lỏng, sau đó pha nước được dùng để tách các CĐK bằng kỹ thuật chiết pha rắn lần lượt sử dụng các cột Silicagel, Sephadex và C18 với các dây nồng độ dung môi khác nhau. Hoạt chất ức chế cỏ dại được xác định trong phần chiết với 100% MeOH qua cột Silicagel, 40% MeOH qua cột Sephadex LH-20 và 20% MeOH qua cột C<sub>18</sub> Sep-Pak với tỷ lệ ức chế từ 41,6 - 83,3% đối với thân và 90,6 - 95% đối với rễ. Kết quả này cho thấy giống lúa OM4498 có khả năng chứa CĐK triển vọng, cần được định danh và khai thác nhằm phục vụ cho công tác quản lý cỏ dại bằng biện pháp sinh học, tiến tới một nền nông nghiệp bền vững.

**Từ khóa:** Chất đối kháng thực vật, cỏ lông vực nước, đối kháng thực vật, OM4498

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực quan trọng và được trồng khắp nơi trên thế giới. Cỏ dại là dịch hại quan trọng nhất cạnh tranh về chất dinh dưỡng, nước và ánh sáng, từ đó, làm giảm năng suất và chất lượng lúa. Các loài cỏ dại xâm lấn và có ảnh hưởng nghiêm trọng bao gồm cỏ lông vực nước (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), cỏ đuôi phụng (*Leptochloa chinensis* L.) và cỏ chác (*Fimbristylis miliaceae*). Năng suất của cây lúa có thể giảm đến 50 - 70% do sự cạnh tranh của các loài cỏ này (Chin, 2001; Labrada *et al.*, 2003; Xuan *et al.*, 2006). Ngày nay, để đẩy mạnh sản xuất nông nghiệp, việc sử dụng hóa chất nông nghiệp đã gia tăng nhanh chóng ở Việt Nam gây ô nhiễm môi trường, làm mất cân bằng sinh thái và ảnh hưởng tiêu cực đến sức

khỏe cộng đồng, đồng thời dẫn đến tồn dư thuốc trừ cỏ quá mức cho phép trong lúa gạo. Đây cũng là nguyên nhân làm giảm sức cạnh tranh của nông sản, hàng hoá của Việt Nam trên thị trường thế giới (Chí Nhân, 2016).

Tính đối kháng cỏ dại trên cây lúa đã được nghiên cứu nhiều nơi trên thế giới (Kato-Noguchi and Ino, 2005; Kato-Noguchi *et al.*, 2008, 2010; Chau *et al.*, 2008; Khanh *et al.*, 2009; Asaduzzaman *et al.*, 2010; Salam and Kato-Noguchi, 2011; Kato-Noguchi *et al.*, 2012; Khanh *et al.*, 2013; Thi *et al.*, 2014a, b). Tiềm năng đối kháng thực vật ở lúa có thể đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện hiệu quả và tính bền vững trong kiểm soát cỏ dại. Đây là một trong những biện pháp sinh học giúp loại trừ tồn dư thuốc trừ cỏ trong lúa gạo có triển vọng và đáng lưu ý.

<sup>1</sup> Phòng Thí nghiệm Trung tâm, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ