

marker-assisted backcrossing. Parental diversity was analyzed by 460 markers. Of which, 53 polymorphic markers were used for assessment on BC₁F₁, BC₂F₁ and BC₃F₁ generations. After three generations of backcrossing, the best BC₃F₁ individuals with 100% of recipient alleles were selected by application of MABC and the introgression size of *Sub1* was 0.3 Mb between the two markers ART5 and SC3. Phenotyping was carried out on BC₃F₂ of the selected lines. The survival ratio of these selected lines and IR64*Sub1* were almost the same. The promising breeding lines BC₃F₃ were selected for the development of new submergence tolerant rice variety ASS996-*Sub1* adapting to climate change.

Key words: Breeding, MABC, rice, submergence tolerance, QTL *Sub1*

Ngày nhận bài: 16/3/2017

Ngày phản biện: 19/3/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sừu

Ngày duyệt đăng: 24/3/2017

NGHIÊN CỨU TÍNH TRẠNG SỨC SỐNG CÂY CON VÀ BIỂU HIỆN GEN LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP CỦA CÂY LÚA Ở GIAI ĐOẠN NẤY MẦM

Chu Đức Hà¹, Võ Thị Minh Tuyền¹, Vũ Thị Thu Hiền¹

TÓM TẮT

Tính trạng chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm là một trong những đặc tính nông học quan trọng của hệ thống canh tác lúa gieo sạ thẳng. Trong nghiên cứu này, để xác định sự hoạt động của 4 gen *OsHREF1*, *OsB12D1*, *SRLR1* và *SUB1A* có liên quan đến khả năng chịu ngập của lúa ở giai nảy mầm hay không, sàng lọc kiểu hình chịu ngập của 48 giống lúa địa phương vùng trung của Việt Nam được tiến hành. Tiếp theo, 4 giống đại diện chịu ngập tốt và 4 giống mầm cảm ngập được chọn ra để sử dụng phân tích sự biểu hiện gen thông qua phản ứng RT-PCR. Kết quả thí nghiệm cho thấy, 3 gen *OsB12D1*, *OsHREF1* và *SRLR1* biểu hiện rất mạnh ở tất cả các giống đã xử lý ngập so với đối chứng; trong khi đó, gen *SUB1A* không biểu hiện trong điều kiện ngập. Điều này chứng tỏ hoạt động của các gen *OsHREF1*, *OsB12D1* và *SRLR1* có liên quan đến khả năng chịu ngập của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm. Kết quả của nghiên cứu hy vọng sẽ cung cấp thông tin hữu ích cho việc nghiên cứu di truyền, để cải thiện sức sống cây con trong điều kiện ngập nhằm hỗ trợ cho hệ thống gieo lúa sạ thẳng ở Việt Nam.

Từ khóa: Giai đoạn nảy mầm, sức sống cây con, chịu ngập, lúa, biểu hiện gen, RT-PCR (semiquantitative PCR)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa (*Oryza sativa*), không giống như một số loài ngũ cốc khác, là cây trồng có khả năng thích ứng và sinh trưởng được trong điều kiện ngập nước. Để đáp ứng với điều kiện ngập, cây lúa mọc vươn dài ra để thoát khỏi tình trạng ngập, hoặc là không vươn dài để bảo tồn nguồn năng lượng. Đặc tính chịu ngập của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm thể hiện bằng cơ chế sức sống của cây con nảy mầm nhanh và sinh trưởng sớm để cây lúa vươn lên khỏi mặt nước tiếp cận với oxy (Huang *et al.*, 2003). Khi thiếu oxy, nồng độ Ca²⁺ trong tế bào chất của lúa tăng nhanh (Yemelyanove *et al.*, 2011). Vì vậy, Ca²⁺ được coi là tín hiệu quan trọng thứ 2 của tình trạng thiếu oxy ở thực vật. Những nghiên cứu gần đây cho thấy, nhóm gen EF-hand (Oshref) mã hóa các protein HREFs đóng vai trò cảm nhận trực tiếp sự thay đổi nồng độ Ca²⁺ trong tế bào dưới tác động của các kích thích khác nhau (Otsuka *et al.*, 2010). Một gen khác mã hóa cho protein nằm trên ty thể được phát hiện có liên quan đến khả năng chịu ngập của cây lúa là *OsB12D1*. Kết quả phân tích RT-PCR cho thấy mức độ biểu hiện của gen

OsB12D1 rất thấp ở 24 h đầu tiên của lũ lụt, nhưng lại tăng đáng kể nếu như tình trạng ngập lụt kéo dài. Điều này chứng tỏ gen *OsB12D1* có liên quan với tình trạng thiếu oxy ở giai đoạn đầu của sự nảy mầm, và có thể tăng cường khả năng chịu úng của cây lúa ở giai đoạn mạ (He *et al.*, 2014). Mặt khác, Ethylene kích thích sự dãn dài lông thân và thành lập mô dẫn khí ở rễ lúa. Khi thiếu oxy, ethylene được sản sinh ra rất nhiều và tác động tới gen *SUB1A* ức chế ngược trở lại quá trình sản sinh ra ethylene nhờ đó ngăn cản sự vươn dài của lông thân, tích lũy năng lượng chờ khi nước rút để mọc ra các lá mới. Ethylene tác động đến gen *SUB1A* ức chế quá trình sản sinh ra ethylene và tác động đến gen *SRLR1* làm mất chức năng của GA ở các mô bị ngập trong nước (Bailey-Serres *et al.*, 2008). Chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm là một trong những đặc tính nông học rất quan trọng, bởi vì đây là thời kỳ cơ bản quyết định đến mật độ và thời vụ gieo trồng, đặc biệt trong hệ thống canh tác lúa gieo sạ thẳng ở những vùng bị lũ lụt trong mô hình canh tác cánh đồng mẫu lớn. Vì vậy, việc nghiên cứu khảo sát đa dạng kiểu hình và biểu hiện của các gen liên

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

quan đến tính chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm của các giống lúa bản địa Việt Nam là rất cần thiết.

Nam và lưu giữ tại Trung tâm Tài nguyên thực vật (Bảng 1).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tập đoàn 48 giống lúa địa phương được thu thập ở nhiều nơi thuộc các tỉnh đồng bằng châu thổ Việt

Các hóa chất phân sinh học phân tử chuyên dụng của các hãng Invitrogen: dNTPs, Taq Polymeraza, Agarose, RTase, Trizol RNAI... Trình tự các môi dùng cho phản ứng RT-PCR trong nghiên cứu biểu hiện gen được liệt kê ở bảng 2.

Bảng 1. Tập đoàn 48 giống lúa địa phương Việt Nam dùng cho nghiên cứu

TT	Ký hiệu	Tên giống	TT	Ký hiệu	Tên giống
1	H1	Dự thơm Hải Dương	26	H26	Cút hương
2	H2	Nếp vải Hải Dương	27	H27	Hom Nam Định
3	H3	Tám đen Hải Phòng	28	H28	Hom Nam Hà
4	H4	Tám son Nam Định	29	H29	Ré nước Thanh Hoá
5	H5	Tám thơm Thái Bình	30	H30	Ré quảng Hà Tĩnh
6	H6	Tám thơm Hải Dương	31	H31	Sải Nam Định
7	H7	Tám xoan Thái Bình	32	H32	ven lụạ nghệ an
8	H8	Nếp thơm Thái Bình	33	H33	Bầu Hải Dương
9	H9	Nếp hoa vàng Bắc Ninh	34	H34	Nàng thơm chợ đào
10	H10	Nếp thơm Nghệ An	35	H35	Nông nghiệp 1
11	H11	Dự Ninh Bình	36	H36	Bầu Thái Bình
12	H12	Ré thơm Thanh Hoá	37	H37	Bầu Thanh Hoá
13	H13	Dự thơm Thái Bình	38	H38	Ba tháng nước Nghệ An
14	H14	Dự sớm Nam Định	39	H39	Tép Hải Phòng
15	H15	Dự trắng Nam Định	40	H40	Lúa hèo (Quảng Nam)
16	H16	Tẻ trắng Nam Định	41	H41	Chành trụi
17	H17	Lúa ngoi Hà Đông	42	H42	Lúa chăm
18	H18	Lúa di Hải Phòng	43	H43	Cườm dạng 1
19	H19	Hom râu Hải Dương	44	H44	Nếp nòn tre
20	H20	Tẻ lốc Hoà Bình	45	H45	Lúa chăm biển
21	H21	Hom râu Nam Định	46	H46	Chiêm đỏ dạng 2
22	H22	Tám xoan hải hậu	47	H47	Tép hành
23	H23	Ba lá Nghệ An	48	H48	Hương thơm số 1
24	H24	Canh nông Bắc Ninh	49	H49	Kasalath (đ/c mẫn cảm)
25	H25	Canh nông Nghệ An	50	H50	Nipponbare (đ/c chịu ngập)

Bảng 2. Trình tự các môi dùng cho phản ứng RT-PCR

TT	Tên gen	Trình tự môi (5'-3')	Kích cỡ môi	Chiều của môi
1	Ubiquitin (đ/c)	AAG AAG CTG AAG CAT CCA GC	235 bp	Xuôi
		CCA GGA CAA GAT GAT CTG CC		Ngược
2	OsHREF1	ACACGGCAGAAACCAGGAG	110 bp	Xuôi
		ATTCCGCACAACATTTCAT		Ngược
3	OsB12D1	GTGGGAGGGATGTGCGTGT	143 bp	Xuôi
		TCGGAAGGCGTGGTGGTGAT		Ngược
4	SLRL1	GGCGGCGACAATAACAACAACAGT	125 bp	Xuôi
		TACAAACACACGCTGCTACCATCC		Ngược
5	SUB1A	AGG TGA AAA TGA TGC AGG	614 bp	Xuôi
		CTT CCC CTG CAT ATG ATA TG		Ngược

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá biến dị tự nhiên về tính trạng kiểu hình sức sống cây con ngập úng trong quần thể lúa

Được thực hiện theo phương pháp ống nghiệm (test tube) của Manangkil *et al.* (2008). Hạt lúa được khử trùng bề mặt bằng dung dịch NaClO 0,5% trong 30 phút. Rửa sạch 3 lần bằng nước cất và ngâm ủ đến khi hạt nảy mầm. Tiếp theo, mỗi giống lấy 10 hạt cho vào ống nghiệm, đổ ngập nước cất đến 20 cm. Sau đó đặt trong tủ ôn ở điều kiện tối với nhiệt độ 28°C (hàng ngày không thay nước). Sau 5 ngày tiến hành đo chiều dài lá (từ chỗ mọc mầm đến đầu lá). Thí nghiệm được thiết kế theo khối ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Sự sai khác giữa các lần lặp cho mỗi giống thí nghiệm được so sánh bằng phân tích phương sai (ANOVA). Sự sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD) ($P < 0,05$) sẽ được tính khi so sánh với chiều dài thân lá trung bình của giống đối chứng Nipponbare. Giá trị F tính được sử dụng để kiểm tra độ tin cậy của thí nghiệm.

2.2.2. Nghiên cứu sự biểu hiện gen liên quan đến tính trạng sức sống cây con trong điều kiện ngập

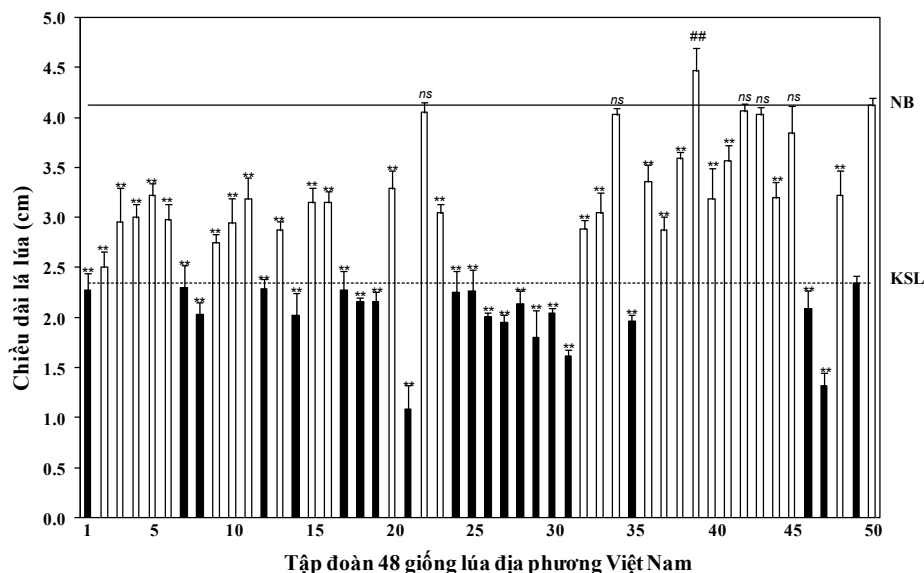
ARN tổng số được tách chiết và tinh sạch trong đệm chiết Trizol reagent (Invitrogen, California, USA). Sau đó, ARN tổng số được dùng làm khuôn cùng với mỗi oligo-dT và enzyme sao chép ngược RTase để tổng hợp sợi cADN. Chu trình nhiệt của

phản ứng PCR được thực hiện như sau: Biến tính ở 94°C trong 5 phút, sau đó nhân ADN với 30 chu kỳ, gồm: 94°C trong 1 phút, 55°C trong 1 phút và 72°C trong 2 phút. Kéo dài thêm 2 phút ở 72°C để phản ứng kết thúc hoàn toàn. Phân tích sản phẩm PCR trên gel agarose 0,9% để đánh giá mức độ biểu hiện (TOYOBO, Osaka, Nhật Bản).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự biến dị kiểu hình tính trạng sức sống cây con trong điều kiện ngập của quần thể giống lúa bản địa Việt Nam

Thí nghiệm dựa theo phương pháp ống nghiệm của Manangkil *et al.* (2008) đã đánh giá khả năng vươn dài lá lúa trong điều kiện ngập nước. Các giống nếu chịu ngập ở giai đoạn này thường thể hiện sức sống cây con khi nảy mầm tốt. Kết quả cho thấy hầu hết các giống đều thể hiện kiểu hình với khả năng chịu ngập thấp hơn so với giống đối chứng chịu ngập Nipponbare ở mức ý nghĩa ($P < 0,05$); trong đó có một giống (số 39) thể hiện khả năng chịu ngập cao hơn so với giống đối chứng Nipponbare ($4,13 \pm 0,08$ cm). Có 20 giống thể hiện kiểu hình mẫn cảm chịu ngập so với giống đối chứng Kasalath ($2,35 \pm 0,08$ cm) ở mức ý nghĩa 1% (Hình 1). Từ kết quả này, chọn ra 8 giống đại diện khả năng chịu ngập và mẫn cảm ngập để sử dụng cho nghiên cứu biểu hiện gen.



Hình 1. Biểu đồ chiều dài lá lúa của 48 giống lúa địa phương Việt Nam trong điều kiện ngập ở giai đoạn này mầm

Ghi chú: NB: Nipponbare (đ/c chịu ngập); KSL: Kasalath (đ/c mẫn cảm ngập); các cột màu trắng thể hiện sự vươn dài lá của các giống cao hơn giống KSL; các cột màu đen thể hiện sự vươn dài lá của các giống thấp hơn giống KSL; Trung bình sai số chuẩn (SE) của 3 lần lặp được thể hiện ở từng cột trên biểu đồ; Sai khác thấp (**/*) hoặc cao (**/*) hơn giống đối chứng Nipponbare ở mức ý nghĩa 1% và 5%; ns - Sai khác không ý nghĩa so với giống đối chứng Nipponbare.

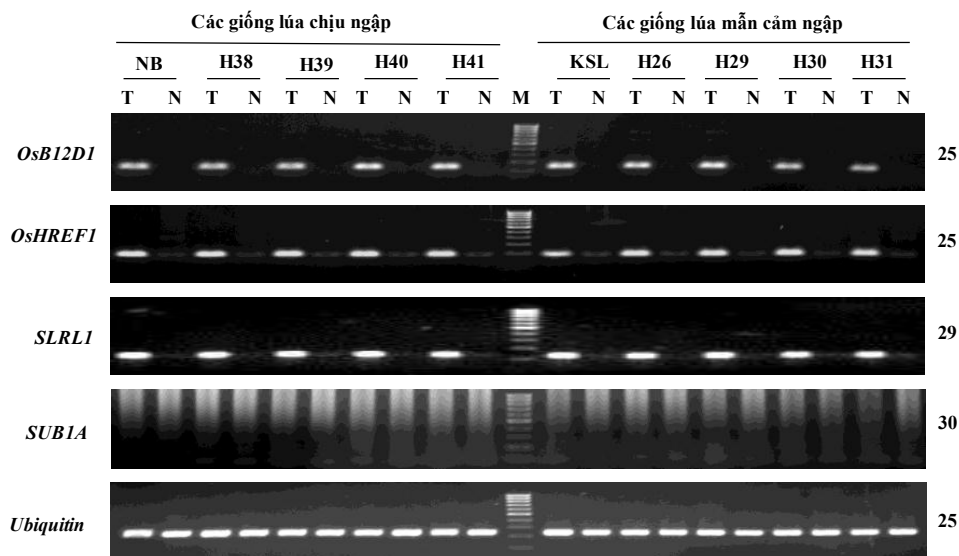
3.2. Kết quả nghiên cứu biểu hiện gen liên quan đến tính trạng sức sống cây con chịu ngập

Tám giống lúa đại diện đã được chọn cho thấy nồng độ ARN tổng số sau khi pha loãng (chuẩn về nồng độ là 500 nanomol/μL bằng máy Nanodrop 2000) là tương đối bằng nhau (Bảng 3). Điều này

chứng tỏ chất lượng và độ đồng đều ARN của các mẫu thí nghiệm là khá ổn định để có thể tiến hành tổng hợp cADN cho nghiên cứu biểu hiện gen. Bảo quản lạnh các mẫu này ở -20°C để làm các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3. Nồng độ ARN tổng số sau khi pha loãng (chuẩn về nồng độ là 500 nanomol/μL)

Kí hiệu	Tên giống	Chiều dài lá (cm)	Đặc tính	Nồng độ ARN (nanomol/μL)	
				Mẫu xử lý ngập	Mẫu không xử lý ngập
H50	Nipponbare	4,13	Chịu ngập	497,8	512,4
H38	Ba tháng nước Nghệ An	3,59	Chịu ngập	509,8	519,3
H39	Tép Hải Phòng	4,47	Chịu ngập	498,2	517,9
H40	Lúa hẻo Quảng Nam	3,18	Chịu ngập	505,0	557,5
H41	Chành trụi	3,57	Chịu ngập	509,2	543,5
H49	Kasalath	2,35	Mẫn cảm	501,0	481,3
H26	Cút hương	2,01	Mẫn cảm	486,3	540,3
H29	Ré nước Thanh Hoá	1,80	Mẫn cảm	488,5	513,4
H30	Ré quảng Hà Tĩnh	2,04	Mẫn cảm	491,3	498,2
H31	Sài Nam Định	1,63	Mẫn cảm	484,4	499,4



Hình 2. Ảnh điện di về sự biểu hiện của các gen liên quan đến sức sống cây con khi ngập úng; T: xử lý ngập, N: không xử lý ngập; M: 100bp DNA ladder (100 - 1500bp)

Tùy vào từng giai đoạn sinh trưởng phát triển khi bị ngập úng mà cây lúa có cơ chế đáp ứng ngập khác nhau. Ở giai đoạn mạ, cây lúa phải huy động rất nhiều năng lượng từ quá trình hô hấp yếm khí để kéo dài lóng. Theo Bailey-Serres và cs. (2008), để thoát khỏi tình trạng ngập, các cơ quan của cây lúa tăng cường sản sinh ethylene, làm giảm đối kháng với abscisic acid, gia tăng phản ứng với gibberillin

(GA), cho phép vươn dài lóng thân. Ngược lại, ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng cây lúa ngập hoàn toàn trong nước nhờ cơ chế ngừng hoạt động để bảo toàn nguồn năng lượng chờ đến khi nước rút (Fukao *et al.*, 2008).

Phân tích phản ứng RT-PCR phản ánh sự biểu hiện của các gen nghiên cứu khi cây con bị ngập úng (Hình 2). Kết quả điện di sản phẩm của gen

Ubiquitin cho thấy các băng thu được đều như nhau, chứng tỏ nồng độ ARN là khá bằng nhau ở các mẫu giống và chất lượng cADN tốt, đủ tiêu chuẩn để thực hiện nghiên cứu so sánh sự biểu hiện gen trong tất cả các mẫu thí nghiệm. Sản phẩm điện di ADN của các gen OsB12D1, OsHREF1, SRLR1 trên băng các mẫu giống đã qua xử lý ngập úng đậm hơn so với đối chứng không chịu ngập còn gen SUB1A ở tất cả các giống đều không biểu hiện (Hình 2). Sức sống cây con là một tính trạng khá phức tạp do sự ảnh hưởng của nhiều gen và các yếu tố môi trường. Mặc dù chưa xác định được các gen này là gen chính quy định sự khác nhau về kiểu hình giữa hai nhóm giống chống chịu và mẫn cảm. Nhưng qua nghiên cứu này bước đầu có thể đánh giá biểu hiện của 3 gen OsB12D1, OsHREF1 và SRLR1 có liên quan đến việc hỗ trợ cây lúa chống chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Phương pháp phân tích RT-PCR đã xác định được các gen OsHREF1, OsB12D1, SRLR1 đều biểu hiện trong điều kiện ngập ở tất cả các giống nghiên cứu, trong khi đó gen SUB1A không biểu hiện.

- Biểu hiện của các gen OsHREF1, OsB12D1, SRLR1 có liên quan tới khả năng chịu ngập của các giống lúa ở Việt Nam ở giai đoạn nảy mầm.

4.2. Đề nghị

- Tiếp tục nghiên cứu sự biểu hiện của các gen

khác liên quan đến tính chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm của các giống lúa địa phương Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Fukao, T., Baley-Serres, J., 2008. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(43):16814-16819.
- He, D., Zhang, H., Yang, P., 2014. The mitochondrion-located protein OsB12D1 enhances flooding tolerance during seed germination and early seedling growth in rice. *Int J Mo Sci*, 15(8): 13461-13481.
- Huang, S.B., Greenway, H., Colmer, T.D., 2003. Anoxia tolerance in rice seedlings: exogenous glucose improves growth of an anoxia-'intolerant', but not of a 'tolerant' genotype. *J Exp Bot*, 54(391): 2363-2373.
- Manangkil, O.E., Vu, H.T.T., Yoshida, S., Mori, N., Nakamura, C., 2008. A simple, rapid and reliable bioassay for evaluating seedling vigour under submergence in indica and japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 163(2): 267-274.
- Otsuka, C., Minami, I., Oda, K., 2010. Hypoxia-inducible genes encoding small EF-hand proteins in rice and tomato. *Biosci Biotechnol Biochem*, 74(12): 2463-2469.
- Yemelyanov, V.V., Shishova, M.S., Chirkova, T.V., Lindberg, S.M., 2011. Anoxia-induced elevation of cytosolic Ca²⁺ concentration depends of different Ca²⁺ sources in rice and wheat protoplast. *Planta*, 234(2): 271-280.

Study on seedling vigour and gene expression associated with submergence tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) at germination stage

Chu Duc Ha, Vo Thi Minh Tuyen, Vu Thi Thu Hien

Abstract

Submergence tolerance at germination stage is one of the major agronomic traits required for direct seeding in rice cultivation. In this study, the 48 rice accessions were collected from different lowland areas of Vietnam, which then were screened the seedling vigour under submergence. Eight representative cultivars in both vigorous and non-vigorous seedlings were evaluated on expression of four genes OsHREF1, OsB12D1, SLRL1 and SUB1A. The result showed that expression level of OsHREF1, OsB12D1, and SLRL1 genes induced highly under submergence by RT-PCR analysis. Whereas, the SUB1A mRNA levels rapidly were decreased. This trait is considered to be controlled by polygenic systems. Our results provide useful information for future breeding and genetic study to improve seedling vigour under submergence that supports for direct-seeded rice ecosystem in Vietnam.

Key words: Germination stage, seedling vigour, submergence tolerance, rice (*Oryza sativa* L.), gene expression, RT-PCR (semiquantitative PCR)

Ngày nhận bài: 14/3/2017

Người phản biện: TS. Phạm Xuân Hội

Ngày phản biện: 18/3/2017

Ngày duyệt đăng: 24/3/2017

NGHIÊN CỨU CHUYỂN GEN *GmNAC004* VÀO GIỐNG ĐẬU TƯƠNG ĐT22 THÔNG QUA VI KHUẨN *Agrobacterium*

Nguyễn Văn Đông¹, Nguyễn Anh Vũ¹,
Lê Thị Mai Hương¹, Nguyễn Trung Anh¹

TÓM TẮT

Các nghiên cứu gần đây đã xác định gen *GmNAC004* là một trong những gen thuộc nhóm gen *NAC* có liên quan chặt chẽ đến khả năng chịu hạn ở đậu tương. Trong nghiên cứu này, gen *GmNAC004* được sử dụng để biến nạp vào 2870 nốt lá mầm của giống đậu tương ĐT22 thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* mang vector *pZY101::RD29A::GmNAC004*. Phân tích cây đậu tương tái sinh sau quá trình chuyển gen đã thu được 8 dòng, vừa kháng thuốc trừ cỏ đồng thời cũng dương tính với phân tích PCR. Kết quả này cho thấy, gen *GmNAC004* đã được chuyển thành công vào giống đậu tương chọn lọc của Việt Nam với hiệu suất chuyển gen 0,28%.

Từ khóa: *Agrobacterium tumefaciens*, cây đậu tương (*Glycine max* (L.) Merr), chuyển gen, *GmNAC004*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu tương (*Glycine max* (L.) Merr) là cây trồng lấy hạt và là cây cho dầu quan trọng bậc nhất trên thế giới, được trồng khắp các châu lục nhưng tập trung nhiều nhất ở Châu Mỹ với sản lượng thu được chiếm 84,9% tổng sản lượng đậu tương trên toàn thế giới, tiếp đến là Châu Á - 12,8% (FAOSTAT, 2014).

Hiện nay, thế giới đang phải đối mặt với hiện tượng ấm lên của khí hậu toàn cầu, tần suất và sự ảnh hưởng của hạn hán càng trở nên rõ rệt hơn. Ở Việt Nam, diện tích gieo trồng đậu tương liên tục suy giảm, từ gần 200 nghìn ha năm 2010 đến năm 2015 chỉ còn 100,8 nghìn ha với sản lượng đạt 146,4 nghìn tấn (Tổng cục Thống kê, 2015). Mỗi năm Việt Nam nhập khẩu 2,5 triệu tấn đậu tương, trong khi sản lượng đậu tương hàng năm thu được chỉ đáp ứng 18% nhu cầu trong nước. Sản lượng đậu tương trong nước thấp do diện tích sản xuất rất hạn chế kèm theo năng suất thấp, chủ yếu do hạn hán. Trước thực trạng đó, việc nghiên cứu phát triển những giống cây trồng mới có khả năng thích ứng, chống chịu tốt trong điều kiện hạn hán đang là một trong những mục tiêu hàng đầu của các nhà khoa học trên thế giới cũng như các nhà khoa học Việt Nam.

Các nhân tố phiên mã *NAC* là một trong nhóm lớn nhất của các chất điều hòa phiên mã trong thực vật, các thành viên của nhóm gen *NAC* đóng vai trò quan trọng điều khiển quá trình phiên mã kết hợp với phản ứng stress của thực vật. Công trình nghiên cứu của Lam Son Phan Tran và *ctv.* (2009) đã chỉ ra rằng ở đậu tương trong số 31 gen *GmNAC* thuộc nhóm gen điều khiển *NAC* được kiểm tra, có 9 gen liên quan đến khả năng chịu hạn, mặn và lạnh. Trong số các gen *GmNAC* này thì các gen ở NST số 1 (*GmNAC002*, *GmNAC003*, *GmNAC004*) có khả năng biểu hiện mạnh hơn cả. Năm 2014,

Henry T. Nguyen và *ctv.* đã nghiên cứu chuyển gen *GmNAC003* và *GmNAC004* sử dụng promoter 35S vào cây *Arabidopsis*, kết quả cho thấy cây chuyển gen *GmNAC004* so với cây đối chứng có sự gia tăng số lượng và chiều dài rễ trong điều kiện thường và tăng cao trong điều kiện hạn. Theo nghiên cứu mới nhất của Reem M. Hussain và *ctv.* (2017), đã xác định được 139 gen *GmNAC*, nghiên cứu cụ thể 28 gen *GmNAC* chọn lọc kết quả cho thấy biểu hiện gen *GmNAC* phụ thuộc vào kiểu gen; 8 trong số 28 gen chọn lọc (*GmNAC004*, *GmNAC021*, *GmNAC065*, *GmNAC066*, *GmNAC073*, *GmNAC082*, *GmNAC083* và *GmNAC087*) đã được phát hiện có mức độ biểu hiện cao ở các giống đậu tương chịu hạn. Nghiên cứu này xác định gen *GmNAC* có thể được xem là trọng tâm trong các nghiên cứu phát triển đậu tương chịu hạn cao trong tương lai.

Xuất phát từ những thực tế trên, nghiên cứu chuyển gen *GmNAC004* vào giống đậu tương ĐT22 thông qua vi khuẩn *Agrobacterium* để nâng cao khả năng chịu hạn được tiến hành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu thực vật: Giống đậu tương ĐT22 (Nguồn: Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, Viện Cây lương thực và cây thực phẩm).

- Vật liệu di truyền:

Chủng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* EHA101 mang vector *pZY101::RD29A::GmNAC004* chứa gen chịu hạn *GmNAC004* và gen chỉ thị chọn lọc thực vật *bar* - kháng glufosinate (Hình 1), hiện đang được lưu giữ tại Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Tế bào Thực vật (Nguyễn Văn Đông và *ctv.*, 2012).

¹ Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Tế bào thực vật, Viện Di truyền Nông nghiệp