

CHỌN LỌC ĐỒNG BIẾN DỊ CHỊU MẮT NƯỚC VÀ CHỊU CHIỀU XẠ Ồ CÂY LẠC (*ARACHIS HYPOGAEA* L.)

Vũ Thị Thu Thủy¹, Chu Hoàng Mậu², Nguyễn Thị Tâm¹, Nguyễn Vũ Thanh Thanh³

¹Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

²Đại học Thái Nguyên

³Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, biến dị khí hậu đã gây ra hạn hán nghiêm trọng và phát triển trên diện rộng ở nhiều quốc gia trong đó có Việt Nam. Giống lạc L18 là giống có năng suất cao, sản xuất phổ biến các vùng, nhưng khả năng chịu hạn kém. Xử lý mô sẹo trong hệ thống nuôi cấy nuôi cấy *in vitro* góp phần nâng cao khả năng chịu hạn. Trong nghiên cứu này trình bày một số kết quả phát triển hệ thống tái sinh và chọn đồng biến dị soma chịu mắt nước ở giống lạc L18. Xử lý mắt nước mô sẹo và gây đột biến bằng chiếu xạ liều 2krad kết hợp với thời khô 9 h đã thu được 167 dòng mô, từ đó có 198 dòng lạc được tạo ra. Sự ổn định của các đặc tính nông học là cơ sở cho việc chọn dòng qua 5 thế hệ. Bảy dòng lạc chọn lọc, trong đó 3 dòng có nguồn gốc từ mô sẹo chịu thời khô, 4 dòng có nguồn gốc từ mô sẹo chịu tác động phối hợp của chiếu xạ và thời khô khác biệt nhau về một số chỉ tiêu cấu thành năng suất và chất lượng hạt. Sử dụng kỹ thuật RAPD với 25 mẫu ngẫu nhiên xác định sai khác trong hệ gen của các dòng lạc chọn lọc và giống gốc L18, với tỷ lệ từ 1,521% đến 9,143%. Kết quả phân tích tuyển chọn 3 dòng (RM48, R46, RM47) ưu việt về năng suất, chất lượng hạt đề nghị tiếp tục theo dõi và đánh giá các tính trạng liên quan đến khả năng chịu hạn của cây lạc.

Từ khóa: *Arachis hypogaea*, chịu mắt nước, chiếu xạ, dòng chịu hạn, mô sẹo

MỞ ĐẦU

Lạc (*Arachis hypogaea* L.) là cây trồng có vị trí quan trọng trong nền kinh tế của nhiều nước trên thế giới (Ngô Thế Dân *et al.*, 2000). Xu thế biến đổi chung của khí hậu làm cho hạn hán bất thường xảy ra ở nhiều nơi, đây là nguyên nhân chính làm giảm năng suất cây trồng (Zlatko *et al.*, 2004; Rorat, 2006). Ở Việt Nam, sản xuất lạc được phân bố ở tất cả các vùng sinh thái nông nghiệp, với khoảng 40% tổng diện tích các cây công nghiệp ngắn ngày. Trong đó, 2/3 diện tích đất trồng lạc phụ thuộc vào nước trời. Cây lạc thuộc nhóm cây họ đậu chịu hạn kém. Quá trình phát triển của cây lạc có những giai đoạn rất mẫn cảm với độ ẩm. Chính vì vậy, chọn biến dị chịu mắt nước sẽ góp phần giải quyết vấn đề mà thực tiễn đặt ra.

Công nghệ tế bào có thể tạo cây hoàn chỉnh từ các phần khác nhau của thực vật. Điều kiện nuôi cấy mô, tế bào là yếu tố làm phát sinh biến dị soma với tần số xuất hiện khoảng 10^{-5} - 10^{-10} . Có thể kết hợp với xử lý đột biến hoặc xử lý stress để tăng tần số đột biến từ 10 - 100 lần. Do đó, việc phối hợp gây đột biến cùng với quá trình nuôi cấy mô tế bào sẽ góp phần chọn được dòng đột biến có hiệu quả cao và tốn ít thời gian hơn so với các phương pháp chọn giống

truyền thống khác (Dix, 1980). Trong nghiên cứu này chúng tôi trình bày kết quả sàng lọc dòng biến dị chịu mắt nước bằng kỹ thuật xử lý mô sẹo giống lạc L18 trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* phục vụ chọn dòng chịu hạn ở cây lạc.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Giống lạc L18 có nguồn gốc từ Trung Quốc do Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm Việt Nam cung cấp. L18 có năng suất 55 - 70 tạ/ha, thời gian sinh trưởng vụ xuân từ 120 - 130 ngày, có khả năng kháng bệnh lá, kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, khả năng chịu hạn kém.

Phương pháp chọn dòng tế bào chịu tác động chiếu xạ và thời khô

Tạo mô sẹo: Hạt lạc được khử trùng bằng javen 60% (30 phút), rửa 70% (1 phút), làm sạch bằng nước cất vô trùng và tạo mô sẹo trên môi trường MS có bổ sung 12 mg⁻¹ 2,4D; 3% sucrose; 0,9% agar; pH = 5,8. Nuôi cấy hoàn toàn trong tối, ở nhiệt độ 25°C ± 1°C (Nguyễn Thị Tâm *et al.*, 2006).

Xử lý tạo đột biến: Mô sẹo được tạo thành sau

10 ngày tuổi được đem chiếu xạ tia gamma từ nguồn Co^{60} tại Trung tâm Chiếu xạ Quốc gia, Hà Nội với 5 liều chiếu xạ 0,5; 1; 2; 3 và 4 krad.

Xử lý mất nước: Cắt các khối mô sẹo thu được thành các đơn vị có khối lượng khoảng 100 - 150 mg, sau đó thổi khô bằng luồng khí vô trùng của box cây với các ngưỡng thời gian xác định 3, 6, 9 và 11 h. Nhiệt độ phòng ổn định ở 25°C .

Tái sinh cây: Các khối mô đã xử lý mất nước được chuyển lên môi trường tái sinh (MS có bổ sung 2 mg^{-1} BAP; 3% sucrose; 0,9% agar; pH = 5,8). Nuôi dưới ánh sáng đèn của phòng cây với cường độ 2000 lux, thời gian chiếu sáng 17/24 h, nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Xác định khả năng chịu mất nước thông qua xác định độ mất nước, tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau xử lý thời khô và khả năng tái sinh cây sau 6 tuần nuôi cấy.

Tạo cây hoàn chỉnh: Mỗi chồi cây sống sót và đạt kích thước khoảng 2 - 2,5 cm được chuyển vào môi trường ra rễ (MS có bổ sung $0,5\text{ mg}^{-1}$ NAA; 0,2% than hoạt tính; 3% sucrose; 0,9% agar, 20% nước dừa, nước cất vừa đủ; pH = 5,8), điều kiện nuôi cấy như ở tái sinh cây.

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°C ; nhắc 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 là bắt đầu sinh trưởng phát triển.

Trồng và theo dõi ngoài đồng ruộng: Cây tái sinh từ mô sẹo (Quần thể R_0 , RM_0) được chuyển ra trồng ngoài đồng ruộng. Trong đó: Cây R ký hiệu là cây tái sinh từ mô sẹo chịu mất nước; cây RM là ký hiệu cây tái sinh từ mô sẹo chịu xử lý chiếu xạ tia gamma kết hợp với mất nước. Mỗi cây của R_0 , RM_0 được gọi là một dòng. Các dòng được đánh dấu bằng các số, theo dõi và thu hoạch riêng để trồng vụ tiếp theo. Hạt của cây R_0 , RM_0 được gọi là thế hệ R_1 , RM_1 . Tương tự, hạt của cây R_1 , RM_1 được gọi là thế hệ R_2 , RM_2 ... Chế độ chăm sóc của các dòng và giống như nhau.

Phương pháp chọn dòng đột biến trên đồng ruộng qua các thế hệ thông qua phân tích một số chỉ tiêu nông sinh học và năng suất như: Chiều cao thân chính, số nhánh/cây, số quả/cây, số quả chắc/cây,

khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt. Các chỉ tiêu phân tích ở thời kỳ chín (Boote, 1982)

Xác định hàm lượng protein theo phương pháp Lowry, xác định hàm lượng lipid theo phương pháp của Nguyễn Văn Mui và đồng tác giả (2001)

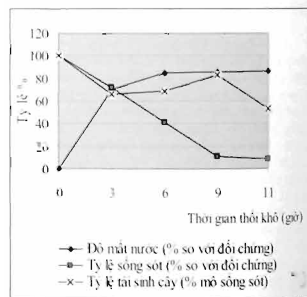
Phân tích sự đa hình DNA bằng kỹ thuật RAPD theo mô tả của Foolad *et al* (1995). Số liệu thu được xử lý bằng phần mềm NTSYSpc (USA, 1998) để xác định mối quan hệ di truyền của các dòng chọn lọc với giống gốc.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả chọn dòng tế bào soma của giống L18 bằng kỹ thuật xử lý mô sẹo trong hệ thống nuôi cấy *in vitro*

Đánh giá khả năng chịu mất nước của mô sẹo giống lạc L18 được tiến hành thông qua xác định độ mất nước, khả năng chịu mất nước của mô sẹo và khả năng tái sinh cây, kết quả nghiên cứu trình bày ở hình 1

Hình 1. Độ mất nước, tỷ lệ sống sót và tỷ lệ tái sinh cây của mô sẹo



Độ mất nước của mô sẹo được tính thông qua kết quả xác định khối lượng mô trước và sau khi thời khô. Hình 1 cho thấy, độ mất nước của mô sẹo tăng dần theo thời gian thời khô. Tốc độ mất nước của mô sẹo tăng nhanh trong những giờ thời khô đầu, sự chênh lệch độ mất nước của khối mô ở những giờ

thời khô sau không đáng kể.

Khả năng chịu mất nước của mô sẹo các giống lạc được xác định thông qua tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau xử lý thời khô. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ mô sống sót giảm dần khi kéo dài thời gian thời khô, sau 11 giờ còn 9,26% mô sống sót. Số mô sẹo sống sót có khả năng tái sinh thành cây thấp hơn so với đối chứng (0 giờ thời khô).

Khả năng tái sinh cây của mô bị xử lý tăng từ 3 giờ đến 9 giờ và giảm tái sinh sau 11 giờ. Điều này góp phần khẳng định quá trình xử lý các điều kiện cực đoan ở một mức độ nhất định đã loại bỏ những mô hay tế bào nằm cảm, chỉ còn lại những tế bào có sức sống cao sống sót và có hiệu quả tái sinh (Đinh Thị Phòng, 2001, Singh *et al.*, 2004).

Với mục tiêu làm tăng tần số đột biến của quần thể tế bào nuôi cấy, chúng tôi tiến hành chiếu xạ mô sẹo lạc và thăm dò với 5 liều chiếu 0,5 krad; 1 krad; 2 krad; 3 krad; 4 krad. Sau đó tính toán tỷ lệ mô sống sót, cho tỷ lệ tái sinh cao đảm bảo đủ nghiên

cứu ở các giai đoạn tiếp theo chúng tôi lựa chọn liều lượng 2 krad kết hợp với thời khô 9 giờ được lựa chọn để sàng lọc dòng mô và tạo cây hoàn chỉnh.

Kết quả xử lý mô sẹo trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* của giống lạc L18 bằng cách thời khô liên tục 9 giờ và chiếu xạ liều 2 krad kết hợp thời khô liên tục 9 giờ đã thu được 167 dòng mô, từ đó có 198 dòng lạc được tạo ra. Đánh giá phân tích đặc điểm nông học, năng suất của các dòng chọn lọc qua 5 thế hệ đã chọn được 7 dòng có sự ổn định các tính trạng về chiều cao thân chính, số quả/cây, số quả chấu/cây tốt hơn so với giống gốc để tiếp tục nghiên cứu năng suất chất lượng hạt, sự thay đổi hệ gen so với giống gốc.

Kết quả đánh giá năng suất chất lượng hạt các dòng lạc chọn lọc thế hệ thứ Năm

Các dòng lạc được chọn lọc từ dòng mô sẹo chịu mất nước bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* (hình 2) đã được tiến hành đánh giá ở thế hệ thứ Năm thông qua việc xác định khối lượng 100 quả, khối lượng 100 hạt, hàm lượng lipid và protein (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm năng suất, chất lượng hạt các dòng lạc chọn lọc thế hệ thứ năm ($\bar{X}$: Giá trị trung bình, $S_{\bar{X}}$: Sai số trung bình mẫu, Cv (%) Hệ số biến động, KKK khối lượng khô).

Chỉ tiêu theo dõi	Khối lượng 100 quả (g)		Khối lượng 100 hạt (g)		Hàm lượng protein (%) KKK	Hàm lượng lipid (%) KKK
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Cv %	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Cv %	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
R 44	121,33 $\pm$ 2,54	2,10	49,23 $\pm$ 0,89	1,80	32,33 $\pm$ 3,28	38,11 $\pm$ 0,89
R 46	145,12 $\pm$ 5,05	3,48	56,27 $\pm$ 1,32	2,34	32,08 $\pm$ 2,54	34,67 $\pm$ 0,77
R 48	83,11 $\pm$ 3,10	3,72	44,07 $\pm$ 3,47	7,88	26,58 $\pm$ 2,04	36,44 $\pm$ 0,89
RM 46	120,95 $\pm$ 9,42	7,79	52,40 $\pm$ 0,78	1,48	29,09 $\pm$ 2,29	38,22 $\pm$ 2,70
RM 47	103,43 $\pm$ 4,46	4,31	41,11 $\pm$ 2,50	6,08	38,97 $\pm$ 4,25	36,89 $\pm$ 0,89
RM 48	108,27 $\pm$ 6,98	6,45	46,53 $\pm$ 2,89	6,21	27,72 $\pm$ 1,96	38,67 $\pm$ 0,88
RM 49	107,05 $\pm$ 1,80	1,68	45,00 $\pm$ 3,52	7,82	25,72 $\pm$ 2,89	38,22 $\pm$ 0,44
L 18	116,59 $\pm$ 2,84	2,43	47,81 $\pm$ 0,55	1,14	34,47 $\pm$ 2,85	36,00 $\pm$ 2,67

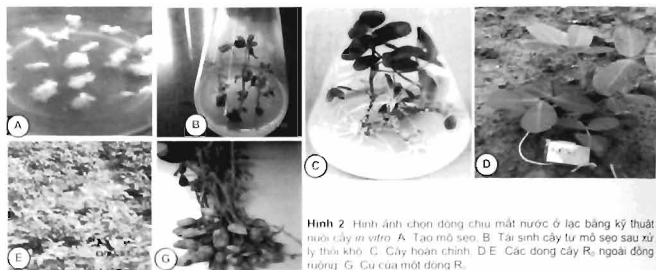
Bảng 1 cho thấy, khối lượng 100 quả lạc của các dòng chọn lọc ở thế hệ thứ Năm dao động từ 83,11 g đến 145,12 g. Theo phân loại của Vũ Công Hậu *et al* (1995) thì 5/7 dòng chọn lọc (chiếm 71,43%) có khối lượng 100 quả ở mức quả to (107,05 - 145,12 g). Ba dòng R44, R46, RM46 có khối lượng 100 quả cao hơn so với giống gốc (cao hơn 116,59 g). Trong cùng một điều kiện nuôi cấy, sự thay đổi khối lượng 100 quả có thể là do sự phát sinh đột biến soma khi xử lý mô sẹo và như vậy đã tạo ra sự khác nhau về kiểu gen giữa các dòng chọn lọc. Khối lượng 100 hạt

của các dòng chọn lọc thế hệ thứ Năm trong khoảng 41,11 g đến 56,27 g. Các dòng có khối lượng 100 quả lớn cũng là dòng có khối lượng 100 hạt cao. Sự biến động về chỉ tiêu quả và hạt của cây trong quần thể thí nghiệm ở mức thấp (mức biến động là 1,14% đến 7,88%). Hàm lượng lipid của các dòng chọn lọc thế hệ thứ Năm dao động trong khoảng từ 34,67% KKK (khối lượng khô) đến 38,67% KKK, hàm lượng protein khoảng từ 25,72% KKK đến 38,97% KKK.

Căn cứ vào kết quả nghiên cứu về đặc điểm năng suất, chất lượng hạt của các dòng lạc chọn lọc có

nguồn gốc từ mô sẹo chịu mất nước và mô sẹo chịu ảnh hưởng chiếu xạ kết hợp với xử lý gây mất nước, chúng tôi chọn được một số dòng có đặc điểm nổi bật,

bao gồm: (1) Dòng R46 có khối lượng 100 quả và 100 hạt lớn; (2) Dòng RM47 có hàm lượng protein cao; (3) Dòng RM48 là dòng có hàm lượng lipid lớn.



Hình 2 Hình ảnh chọn dòng chịu mất nước ở lạc bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. A. Tạo mô sẹo. B. Tái sinh cây từ mô sẹo sau xử lý thiếu khô. C. Cây hoàn chỉnh. D-E. Các dòng cây R₀ ngoài đồng ruộng. G. Củ của một dòng R.

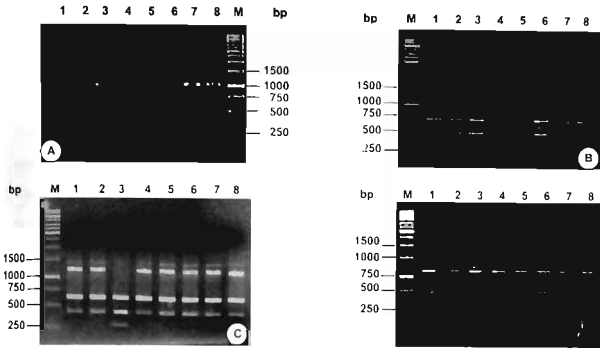
Đánh giá sự thay đổi hệ gen trong các dòng chọn lọc

Với mục tiêu nghiên cứu sự thay đổi hệ gen giữa các dòng lạc chọn lọc so với giống gốc, chúng tôi sử dụng kỹ thuật phân tích đa hình DNA của các dòng chọn lọc và giống gốc bằng kỹ thuật RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Hình 3 là hình ảnh điện di sản phẩm RAPD với mỗi OPA08, OPB05, OPH08 và OPQ02 trên agarose 1%

Phân tích tính đa hình của DNA dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện các đoạn DNA có cùng kích thước được khuếch đại từ hệ gen nhờ sự thay đổi các điểm gắn của môi (Moretzsohn *et al.*, 2004; Chu Hoàng Mậu, 2005). Phản ứng RAPD được thực hiện với 25 môi ngẫu nhiên có chiều dài 10 nucleotide, kết quả thu được 1254 phân đoạn DNA được nhân bản với kích thước ước đoán khoảng 0,2 kb đến 4,2 kb.

Bảng 2. Số phân đoạn DNA nhân bản ngẫu nhiên và tỷ lệ phân đoạn đa hình của 25 môi trong phản ứng RAPD

Ký hiệu môi	Số phân đoạn DNA			Tỷ lệ đoạn đa hình	Ký hiệu môi	Số phân đoạn DNA			Tỷ lệ đoạn đa hình
	Tổng số	Đơn hình	Đa hình			Tổng số	Đơn hình	Đa hình	
OPA01	82	64	18	21,95	OPA14	36	24	12	33,33
OPA02	63	56	7	11,11	OPA15	44	31	13	29,55
OPA03	63	56	7	11,11	OPB05	59	32	27	45,76
OPA04	110	104	6	5,45	OPB10	21	16	5	23,81
OPA05	64	64	0	0,00	OPH04	24	24	0	0,00
OPA06	62	48	14	22,58	OPH08	31	16	15	48,39
OPA07	29	28	1	3,45	OPF09	16	16	0	0,00
OPA08	48	28	20	41,67	OPF10	46	32	14	30,43
OPA09	77	64	13	16,88	OPN05	64	64	0	0,00
OPA10	40	40	0	0,00	OPQ02	64	64	0	0,00
OPA11	31	24	7	22,58	OPQ05	68	40	28	41,18
OPA12	41	33	8	80,49	UPC348	55	40	15	27,27
OPA13	16	16	0	0,00	Tổng cộng	1254	999	255	20,33



Hình 3. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD với mỗi OPA08, OPB05, OPH08 và OPQ02. M Marker chuẩn, 1. L18, 2. RM46, 3 RM47, 4 RM48; 5 RM49, 6. R44; 7. R46; 8 R48; A OPA08; B OPA08; C. OPH08; D OPQ02

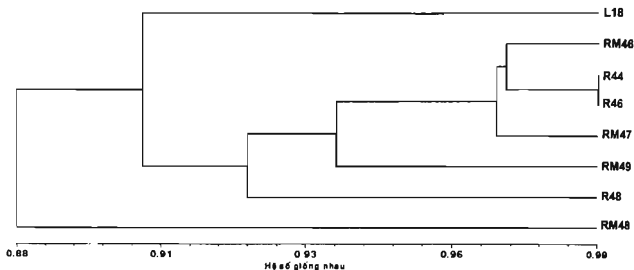
Tính toán kết quả của thí nghiệm với 25 mỗi nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy, sự xuất hiện trong 7 dòng chọn lọc và giống gốc từ 16 phân đoạn đến 110 phân đoạn. Có 7 mỗi (OPA05, OPA10, OPA13, OPH04, OPF09, OPN05, OPQ02) là những mỗi cho kết quả đơn hình về hệ gen trong các dòng với nhau và với giống gốc. Hai mỗi (OPA13 và OPF09), là 2 mỗi chỉ xuất hiện 2 băng vạch đơn hình trên cả 7 dòng và giống gốc. Mỗi có số phân đoạn nhiều nhất là OPA04 (với 110 phân đoạn).

Tổng số phân đoạn đa hình là 255 phân đoạn chiếm 20,33 % số phân đoạn được nhân. Các mỗi đa hình có số phân đoạn được nhân lên dao động từ 1 phân đoạn đến 33 phân đoạn. Tỷ lệ phân đoạn đa hình cao nhất ở mỗi OPA12 với 33/41 phân đoạn được nhân lên, chiếm 80,49%.

Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện các phân đoạn DNA chúng tôi đã thiết lập mối quan hệ di truyền của các dòng chọn lọc và giống gốc ở mức độ phân tử, kết quả nghiên cứu trình bày ở bảng 3 và hình 4.

Bảng 3. Tỷ lệ sai khác về hệ gen của các dòng chọn lọc và giống gốc L18 (%).

	R44	R46	R48	RM46	RM47	RM48	RM49	L18
R44	0,000							
R46	6,061	0,000						
R48	3,752	3,146	0,000					
RM46	1,521	1,540	4,807	0,000				
RM47	1,522	1,531	4,757	1,844	0,000			
RM48	6,043	5,437	9,143	6,464	6,405	0,000		
RM49	3,420	2,814	4,898	3,147	3,757	6,573	0,000	
L18	5,069	4,762	3,875	3,805	5,066	8,002	6,536	0,000



Hình 4. Sơ đồ mô tả mối quan hệ của 7 dòng lạc chọn lọc và giống gốc L18 ở mức phân tử với 25 mỗi ngẫu nhiên.

Bảng 3 trình bày sự sai khác ở mức phân tử của các dòng chọn lọc so với giống gốc. Kết quả bảng 3 cho thấy, 7 dòng lạc chọn lọc và giống gốc có tỷ lệ sai khác về hệ gen từ 1,521% đến 9,143%. Mức độ sai khác lớn nhất là cặp so sánh giữa RM48 với hệ gen của dòng R48 (tỷ lệ sai khác là 9,143%). Hai dòng chọn lọc có hệ gen giống nhau nhất (tỷ lệ sai khác nhỏ nhất) là dòng RM46 và dòng R44 (1,521%).

Hình 4 trình bày sơ đồ mô tả mối quan hệ của 7 dòng lạc chọn lọc và giống gốc L18 ở mức phân tử với 25 mỗi ngẫu nhiên. Tất cả các dòng chọn lọc đều có sự khác biệt so với giống gốc. Mối quan hệ của các dòng chọn lọc và giống gốc được chia thành hai nhánh lớn: Nhánh 1 chỉ có một dòng RM48, có nguồn gốc từ mô sẹo chịu tác động phối hợp giữa chiếu xạ và thời khô. Dòng RM48 có khoảng cách so với các dòng và giống gốc ở nhánh 2 là 12% ($1 - 0,88 = 0,12$). Nhánh 2 chia làm hai nhánh phụ, nhánh phụ thứ nhất là của giống gốc (L18); nhánh phụ thứ hai, chia thành nhiều nhánh nhỏ là của các dòng chọn lọc còn lại. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu về sự thay đổi trong hệ gen của một số cây trồng khác (Del Rio et al., 2006; Oksana, 2005; Trần Thị Minh Huệ, Lce, 2009).

Đánh giá các dòng chọn lọc thông qua phân tích một số đặc điểm nông học, chỉ tiêu năng suất, chất lượng hạt ở thế hệ thứ năm và sự sai khác hệ gen, chúng tôi đã tuyển chọn 3 dòng ưu việt đề nghị tiếp tục đánh giá, theo dõi các đặc điểm liên quan đến khả năng chịu hạn của cây lạc. Các dòng chọn lọc gồm: Dòng RM48 có hàm lượng lipid lớn nhất

(38,67% KLK); Dòng R46 có khối lượng 100 quả, 100 hạt cao (100 quả 145,12 g; 100 hạt 56,27 g); Dòng RM47 có hàm lượng protein lớn nhất (38,97 % KLK).

KẾT LUẬN

Chọn dòng biến dị chịu mất nước ở lạc bằng kỹ thuật xử lý mô sẹo mất nước và phối hợp chiếu xạ 2 krad và thời khô liên tục 9 h đã tạo được dòng cây tái sinh từ mô sẹo chịu mất nước ổn định về các tính trạng nông sinh học so với giống gốc, cho phép rút ngắn thời gian tạo giống lạc. Kỹ thuật xử lý mô sẹo trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* đã tạo ra sự khác biệt ở các dòng chọn lọc so với giống gốc về một số chỉ tiêu cấu thành năng suất và chất lượng hạt. Sử dụng kỹ thuật RAPD với 25 mỗi ngẫu nhiên đã xác định được sự thay đổi trong hệ gen của các dòng chọn lọc và giống gốc với tỷ lệ sai khác từ 1,521% đến 9,143%. Nghiên cứu đã lựa chọn 3 dòng RM48, RM47, R46 ưu việt về năng suất, chất lượng hạt để nghị theo dõi và đánh giá các tính trạng liên quan đến khả năng chịu hạn của cây lạc.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài Nghiên cứu Khoa học - Công nghệ cấp Bộ, mã số B2009-TN04-04.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Boote KJ, Ketring DL (1982) Growth stages of peanut L. *Peanut Sci* 9(1): 35-40.

Chu Hoàng Mậu (2005) *Cơ sở và phương pháp sinh học phân tử*. Nhà xuất bản Đại học Sư phạm, Hà Nội.

Del Rio AH, Bamberg JB (2006) Use of RAPD and SSR markers to assess putative duplicate germplasm collection at cip and us potato Genebanks. *Am J Potato Res* 83:279-285.

Dix PJ (1980). Environmental stress resistance: Selection in plant cell culture: Results and perspectives. *Elsevier/North-Holl and Biomedical Press*: 183-186.

Đinh Thị Phòng (2001) Nghiên cứu khả năng chịu hạn và chọn dòng chịu hạn ở lúa bằng công nghệ tế bào thực vật. *Luận án tiến sĩ sinh học. Viện Công nghệ sinh học Hà Nội*.

Foolad MR, Arulsekar S, Rodrigues RL (1995) Application of polymerase chain reaction (PCR) in plant genome analysis. In: *Gamborg OL, Phillips GC (eds). Fundamental methods of plant cell, tissue and organ culture and laboratory operation*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg- New York Tokyo:281-298.

Martin AJP, John PA, Shanhnazkhan, Peter JL, Alfred JK (2002) Rubisco Activity: Effects of Drought Stress. *Ann Bot* 89: 833-839.

Moretzsohn MC, Hopkins MS, Mitchell SE, Kresovich S, Valls J FM, Ferreira ME (2004) Genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and its wild relatives based on the analysis of hypervariable regions of the genome. *BMC Plant Biol* 4:11.

Ngô Thế Dân (2000) *Kỹ thuật đại năng suất lạc cao ở Việt*

Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

Nguyễn Thị Tâm, Chu Hoàng Mậu, Ngô Thị Liêm, Bùi Thị Hoài Loan (2006) Tìm hiểu môi trường nuôi cấy in vitro phôi lạc phục vụ nghiên cứu dòng chịu hạn. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ-Đại học Thái Nguyên* số 1(37): 87-92.

Nguyễn Văn Mùi (2001) *Thực hành hoá sinh học*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia, Hà Nội.

Oksana D, Sorochinsky B (2005) Use of RAPD assay for the detection of mutation changes in plant DNA induced by UV-B and γ -ray. *BMC Plant Biol* 5: 6.

Rorat T (2006) Plant dehydrins - Tissue location, structure and function. *Cell Mol Biol Lett* 11(4): 536-541.

Singh KP, Sehrawat AR, Neeelam Y, Sanjogta U (2004) In vitro callus growth, selection of NaCl tolerant cell lines and plant regeneration in wheat. *Nat J Plant Imp* (India) 6(2): 130-131.

Trần Thị Minh Huệ, Lee LS (2009) Chỉ thị phân tử dùng trong xác định tính đa dạng di truyền cà phê chè (*Coffea Arabica* L.) ở Việt Nam và Úc. *Kỷ yếu Hội nghị Sinh học toàn quốc* 173-176.

Vũ Công Hậu, Ngô Thế Dân, Trần Thị Dung (1995) *Cây lạc*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

Zlatko SZ, Ivan TY (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plant. *Bulg J Plant Physiol* 30(3-4): 3- 18.

SELECTION OF SOMATIC VARIATIONS WHICH RESISTANT TO DEHYDRATION AND RADIATION OF PEANUT (*ARACHIS HYPOGAEA* L.)

Vu Thi Thu Thuy¹, Chu Hoang Mau^{2,*}, Nguyen Thi Tam¹, Nguyen Vu Thanh Thanh³

¹Thai Nguyen University of Education

²Thai Nguyen University

³Thai Nguyen University of Sciences

SUMMARY

In recent years, drought has occurred more and more commonly as a result of climate change. Peanut variety L18 has low drought tolerance. Therefore, selection of drought-tolerant lines by *in vitro* technique as a technical measure to improve drought tolerance of peanut varieties L18 was performed. In this study, we present the results on the development of regeneration system for selecting the somatic variation lines from L18 peanut variety. The calli created from seed embryos of peanut and ability of callus to survive after water lose were assessed by the application of continuous air blowing method for 9 hours combined with irradiation using a dose of 2 krad. One hundred and sixty seven tissue lines were obtained after dehydration and radiation and 198 regenerated lines from the tissue lines subject to dehydration. The peanut lines are further analyzed and evaluated in field growing conditions. The stability of agronomic traits is the basis for the selection of peanut lines and 7 peanut lines have been selected, including three lines derived from callus that is resistant to water lose, four lines derived from irradiated and dry treatment. It is confirmed that the difference of selected

* Author for correspondence: E-mail: mauchdhtn@gmail.com

peanut lines in comparison with the original peanut variety (L18) for some characteristics such as productivity and seeds quality. The RAPD technique with 25 random primers has also been used to define genetic distances of the peanut lines and original peanut variety (L18), and the values obtained varied from 1.521% to 9.143%. Three peanut lines (RM48, R46 and RM47) which have high yield and good seed quality were obtained for further study of traits related with drought tolerance of peanut.

Keywords: *Arachis hypogaea*, callus, irradiation, drought-tolerant lines, resistant to dehydration