

CHỌN DÒNG BẠCH ĐÀN MANG BIẾN DỊ SOMA CÓ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN

Nguyễn Thế Hưởng¹, Bùi Thế Đồi², Nguyễn Thị Hường³, Hà Bích Hồng⁴

^{1,2,3,4}Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Chọn – tạo giống cây trồng bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào kết hợp với gây đột biến nhân tạo là một hướng nghiên cứu đang rất được quan tâm cả ở trong nước và trên thế giới. Đây là một trong những phương pháp có ưu điểm vượt trội vì có thể tạo ra các tính trạng mong muốn, đồng thời chọn lọc sớm những tính trạng này nhằm rút ngắn thời gian tạo giống mới. Nghiên cứu này sử dụng kỹ thuật nuôi cấy mô – tế bào, tạo mô sẹo, gây đột biến nhân tạo bằng chiếu xạ tia gamma, sàng lọc và chọn lọc sớm các dòng bạch đàn U rô (*Eucalyptus Urophylla*) trên môi trường mặn nhân tạo. Kết quả nghiên cứu cho thấy có 2 dòng thể hiện khả năng sống và khả năng tái sinh tốt ở nồng độ muối 100 mM với tỷ lệ sống đạt 18,9% và 27,8%, tỷ lệ mô sẹo tái sinh đạt 4,4 và 11,1%, số chồi trung bình của một cụm mô sẹo là 5 đến 6 chồi. Đáng chú ý là trên môi trường muối 125 mM cũng có 2 dòng Bạch đàn sống và tái sinh được, với tỷ lệ sống là 14,4% và 16,7%, tỷ lệ tái sinh đạt 1,1 và 3,3%, số chồi trung bình là 4,3 và 7,2 chồi. Trong số 4 dòng chịu mặn thu được, chúng tôi đã chọn ra 1 dòng ở mỗi nồng độ muối để tiếp tục nghiên cứu khả năng sinh trưởng và ra rễ của chồi, kết quả cho thấy cả 2 dòng đều có tỷ lệ chồi ra rễ khá cao, đạt 74,4% và 81,1%, chiều dài rễ trung bình là 1,9 cm và 3,2 cm. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng chiếu xạ mô sẹo Bạch đàn U rô ở liều lượng 20 Gy (cường độ 50 rad/s) cho hiệu quả gây đột biến chịu mặn tốt nhất.

Từ khóa: Bạch đàn U rô, chiếu xạ tia gamma, chịu mặn, đột biến mô sẹo.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trước những biến đổi khí hậu theo hướng bất lợi đối với điều kiện sống của sinh vật nói chung và cây trồng nói riêng làm cho môi trường sống của nhiều loài bị thu hẹp. Trong đó, mặn hóa, xâm mặn là nhân tố có tác hại rất lớn đối với canh tác nông – lâm nghiệp. Khắc phục những hậu quả đó, chọn lọc cây trồng có sức chống chịu nhằm sử dụng những điều kiện lập địa đó cho việc trồng các loài cây mục tiêu là hướng đi mang tính chiến lược và bền vững. Do vậy, chọn giống cây trồng chịu mặn là hướng đi mới trong công tác giống cây Lâm nghiệp hiện nay. Tính đến nay, mặc dù trên thế giới đã có khá nhiều công trình nghiên cứu chọn – tạo giống cây trồng chịu mặn và ở Việt Nam, cũng có một số giống cây nông nghiệp chịu mặn đã được tạo ra. Tuy nhiên, với đối tượng cây rừng và đặc biệt là những loài cây cho giá trị kinh tế cao như Bạch đàn và Keo thì hướng đi này còn khá mới mẻ. Ngoài ra, những nghiên cứu trước đây mới chỉ dừng lại ở một số công đoạn nhất định trong công tác cải thiện

giống. Trong bài viết này, nhóm tác giả công bố kết quả nghiên cứu bước đầu chọn lọc sớm dòng Bạch đàn mang biến dị soma có khả năng chịu mặn phục vụ trồng rừng ven biển.

II. NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Với mục tiêu sàng lọc được một số dòng Bạch đàn mang biến dị soma có khả năng chịu mặn trong điều kiện *in vitro*, nghiên cứu thực hiện 02 nội dung chính bao gồm:

- Đánh giá ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma đến hiệu quả gây đột biến;
- Khả năng chịu mặn của các dòng biến dị soma trong điều kiện *in vitro*.

2.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là vật liệu được tạo ra theo quy trình tái sinh bạch đàn thông qua mô sẹo đã và đang được nghiên cứu cũng như sử dụng tại Viện CNSH Lâm nghiệp – Đại học Lâm nghiệp. Cụ thể như sơ đồ hình 01 từ nguồn hạt bạch đàn Urô (*E. Urophylla*) được thu hái từ những cây trội đã được nhóm tác giả

chọn lọc (chưa làm thủ tục công nhận cây trội) tại Lộc Hà – Hà Tĩnh, đánh dấu theo từng cây mẹ và được vào mẫu nhiều lần với số lượng lớn, mỗi hạt giống nảy mầm được trong môi trường nhân tạo sẽ được đánh dấu và nhân dòng, tạo vật liệu khởi đầu để tạo ra số lượng mô sẹo cần thiết cho các thí nghiệm.

Các khối mô sẹo được hình thành từ thân mầm, có màu trắng xốp ở 4 tuần tuổi với kích thước khoảng 0,5 x 0,5 cm được chiếu xạ bằng nguồn Co⁶⁰ để gây đột biến.

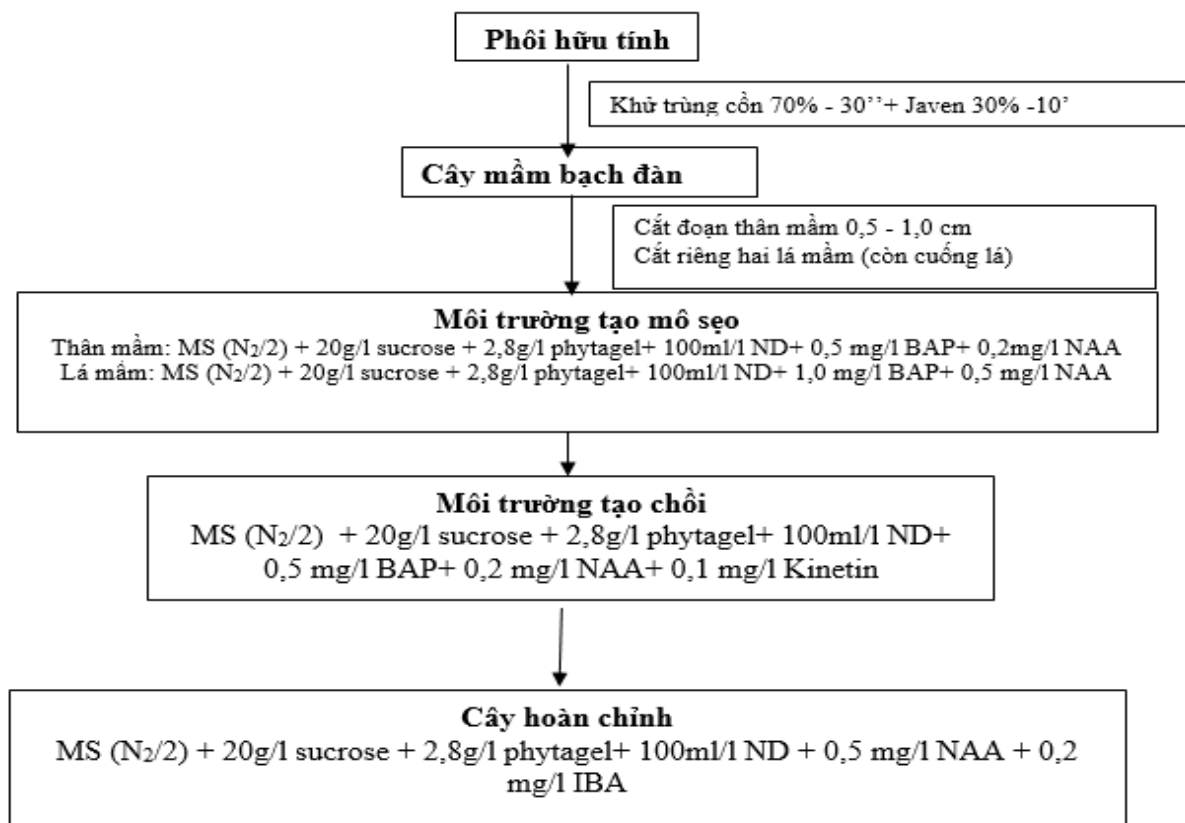
2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.2.2.1. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến hiệu quả gây đột biến

Để xác định liều chiếu thích hợp và giảm thiểu khối lượng thí nghiệm không cần thiết, nghiên cứu đã thăm dò liều lượng chiếu xạ phù hợp. Kết quả cho thấy, khi xử lý mô sẹo của các dòng Bạch đàn trong khoảng liều chiếu xạ từ 5gray (Gy) đến 50 Gy, ở liều chiếu 5 Gy không nhận thấy sự khác biệt nhiều về khả năng sống sót, sinh trưởng, phát triển của mô

sẹo so với đối chứng sau 4 tuần theo dõi. Khi tăng liều chiếu xạ lên, tỷ lệ mô sẹo bị hóa nâu cũng tăng và ở liều chiếu 40 Gy và 50 Gy thì tất cả các mô sẹo đều bị hóa nâu. Do đó khoảng liều chiếu thích hợp cho mô sẹo Bạch đàn được xác định là từ 10 Gy đến 30 Gy.

Sau khi mô sẹo được chiếu xạ ở các liều chiếu 10; 20 và 30Gy sẽ được cấy trên môi trường tái sinh chồi có bổ sung tác nhân chọn lọc NaCl ở các nồng độ từ 50 mM đến 125 mM (nồng độ muối này là nồng độ muối trong đất từ mặn trung bình đến mặn nhiều theo bảng phân loại đất mặn của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ), các công thức này được ký hiệu lần lượt là CL01, CL02, CL03 và CL04. Mỗi công thức về liều chiếu xạ cũng như nồng độ muối được bố trí với dung lượng mẫu là 30 khối mô sẹo và lặp lại 3 lần. Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường chọn lọc, theo dõi và thống kê các chỉ tiêu sau: số mô sẹo còn sống, số mô sẹo tái sinh và số chồi/mô sẹo.



Hình 01. Sơ đồ các bước trong quy trình tái sinh bạch đàn thông qua mô sẹo

2.2.2.2. *Đánh giá khả năng ra rễ của chồi bạch đàn trên môi trường chọn lọc chứa các nồng độ muối khác nhau*

Ở thí nghiệm về ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến hiệu quả gây đột biến, các chồi có được từ mỗi khối mô sẹo được coi là một dòng sẽ được gắn mã và tiếp tục nhân lên ở môi trường có nồng độ muối tương đương với 2 – 3 chu kỳ để tạo số lượng mẫu đủ lớn cho thí nghiệm về khả năng ra rễ. Khi các chồi đạt kích thước khoảng 2 cm, được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ có bổ sung nồng độ muối tương đương với nồng độ muối ở môi trường chọn lọc sau khi chiếu xạ. Mỗi dòng ở mỗi nồng độ muối được bố trí 30 chồi. Sau 4 tuần nuôi cấy,

thu thập các chỉ tiêu về số chồi ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài rễ.

2.2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Xác định các giá trị thống kê như giá trị trung bình, sai số chuẩn, hệ số biến động, phân tích phương sai 02 nhân tố để đánh giá sự sai khác giữa các kết quả thí nghiệm và sử dụng tiêu chuẩn Duncan để phân nhóm kết quả thí nghiệm ở các công thức dựa trên phần mềm SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU, THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma đến hiệu quả tạo dòng đột biến chịu mặn

Kết quả theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện trong bảng 01.

Bảng 01. Ảnh hưởng của liều chiếu xạ tia gamma đến khả năng tái sinh chồi của mô sẹo Bạch đàn trên môi trường chọn lọc chứa các nồng độ muối khác nhau

CTTN	Liều chiếu (Gy)	Số mô sẹo TN	Số mô sẹo sống	Tỷ lệ mô sẹo sống (%)	Số mô sẹo tái sinh	Tỷ lệ mô sẹo tái sinh (%)	Số chồi TB/mô sẹo
CL01 (50 mM NaCl)	ĐC	90	58	64,4	48	53,3	4,8
	10	90	69	76,7	68	75,6	5,9
	20	90	71	78,9	68	75,6	4,4
	30	90	34	37,8	30	33,3	5,6
CL02 (75 mM NaCl)	ĐC	90	5	5,6	0	0,0	0,0
	10	90	24	26,7	17	18,9	6,5
	20	90	16	17,8	12	13,3	8,6
	30	90	13	14,4	8	8,9	7,2
CL03 (100 mM NaCl)	ĐC	90	0	0,0	0	0,0	0,0
	10	90	8	8,9	0	0,0	0,0
	20	90	17	18,9	10	11,1	5,0
	30	90	25	27,8	4	4,4	6,0
CL04 (125 mM NaCl)	ĐC	90	0	0,0	0	0,0	0,0
	10	90	1	1,1	0	0,0	0,0
	20	90	15	16,7	3	3,3	7,2
	30	90	13	14,4	1	1,1	4,3

Kết quả phân tích phương sai 2 nhân tố đối với các chỉ tiêu được thể hiện trong bảng 02.

Bảng 02. Kết quả phân tích phương sai 2 nhân tố theo các chỉ tiêu

Chỉ tiêu	Nguồn biến động	F	Sig
Tỷ lệ sống	Công thức thí nghiệm	26,05	0,000
	Liều chiếu	2,08	0,047
Tỷ lệ tái sinh	Công thức thí nghiệm	29,34	0,000
	Liều chiếu	1,94	0,019
Số chồi TB/mô sẹo	Công thức thí nghiệm	1,84	0,210
	Liều chiếu	3,87	0,050

Kết quả phân tích phương sai về tỷ lệ sống, tỷ lệ tái sinh đều cho giá trị xác suất của F đối với các công thức thí nghiệm về nồng độ muối và các liều chiếu khác nhau nhỏ hơn so với 0,05. Điều này cho thấy những kết luận dưới đây về sự khác biệt theo các chỉ tiêu tỷ lệ sống và tỷ lệ tái sinh là rõ ràng và mang tính quy luật đối với tổng thể. Riêng chỉ tiêu khả năng tái sinh chồi, xác suất của F đều $\geq 0,05$ nên khả năng tái sinh chồi của mô sẹo ở các liều chiếu và các công thức môi trường chọn lọc khác nhau không có sự khác biệt rõ ràng.

Nhìn chung, khi thay đổi liều lượng, từ 10Gy đến 30 Gy, tỷ lệ sống và tỷ lệ tái sinh tăng dần đến liều lượng 20 Gy và sau đó lại giảm ở liều lượng chiếu 30 Gy ở tất cả các môi trường chọn lọc. Duy chỉ có ở môi trường chọn lọc CL03, quy luật về tỷ lệ thuận giữa tăng liều lượng chiếu xạ với tỷ lệ sống còn đảm bảo (tỷ lệ sống vẫn tăng khi tiếp tục tăng liều lượng chiếu). Mặc dù vậy, các mô sẹo sống được nhưng không có khả năng tái sinh.

Kết quả cụ thể đối với từng chỉ tiêu cụ thể như sau:

3.1.1. Về tỷ lệ sống của mô sẹo

Tia gamma đã ảnh hưởng tới sự sống sót của các mô sẹo Bạch đàn *in vitro*. Trên môi trường chọn lọc CL01 (50 mM NaCl), khi liều chiếu tăng từ 10 Gy đến 30 Gy, tỷ lệ sống của mô sẹo tăng từ 64,4% (10 Gy) lên đến 76,7% (ở 20 Gy) và lại giảm xuống 37,8% (30 Gy) sau 4 tuần theo dõi.

Quy luật về sự tăng liều lượng chiếu xạ tia gamma dẫn đến tăng tỷ lệ sống của mô sẹo ở

từng môi trường chọn lọc tiếp tục được duy trì ở các môi trường chọn lọc với các nồng độ muối cao hơn (75 mM, 100 mM và 125 mM). Khi tăng nồng độ muối trong môi trường chọn lọc, tỷ lệ sống của các mô sẹo ở mỗi liều lượng chiếu xạ đều giảm đáng kể.

Theo Ashok A. Nikam (2014) thì kết quả tương tự cũng được quan sát thấy khi chiếu xạ mô sẹo Mía, tỷ lệ sinh trưởng của mô sẹo giảm 50% so với đối chứng khi chiếu xạ ở liều lượng 10 - 20 Gy, giảm 70% khi chiếu xạ ở liều lượng 30 - 40 Gy, và mô sẹo hóa nâu nhiều hơn khi tăng liều lượng chiếu xạ. Tác giả chọn lọc được một dòng Mía chịu mặn ở liều chiếu 20 Gy và vài dòng ở liều chiếu 30 Gy. Mô sẹo sau khi chiếu xạ được chọn lọc trên môi trường muối NaCl 100 mM cho thấy sự tích lũy Prolin nhiều nhất và mô sẹo chọn lọc trên môi trường muối NaCl 150 mM cho thấy sự tích lũy Glycin Betain nhiều nhất.

Từ kết quả đánh giá khả năng sống sót của mô sẹo sau xử lý tia gamma cho thấy, giới hạn trên trong xử lý tia gamma với mô sẹo Bạch đàn là 30 Gy. Nếu vượt qua liều chiếu xạ này, đa số các mô sẹo chết hoặc sinh trưởng rất kém, hóa nâu và không tái sinh được chồi. Kết quả thu được từ tỷ lệ sống sót của mô sẹo sau khi chiếu xạ cũng cho thấy khoảng liều chiếu thích hợp cho mô sẹo Bạch đàn là từ 10 – 30 Gy.

3.1.2. Về tỷ lệ tái sinh chồi

Tia gamma ảnh hưởng rất mạnh mẽ tới khả năng tái sinh của mô sẹo, chỉ một số rất ít mô sẹo có khả năng tái sinh. Ở môi trường chọn

lọc có bổ sung muối với nồng độ 50 mM, đa số các mô sẹo sống đều có thể tái sinh với tỷ lệ từ 33,3 – 75,6%. Tuy nhiên, khi nồng độ muối tăng cao ở các môi trường chọn lọc khác, gần như các mô sẹo đều chết, tỷ lệ tái sinh chỉ đạt một vài phần trăm. Công thức có tỷ lệ tái sinh cao nhất là công thức ở môi trường chọn lọc CL02 với liều lượng chiếu xạ 10 Gy (đạt 18,9%). Ở liều lượng chiếu xạ 20 Gy, công thức này đạt tỷ lệ tái sinh 13,3%. Các công thức khác, số lượng mô sẹo chết hoàn toàn. Kết quả này cho thấy nồng độ muối được bố trí trong các công thức thí nghiệm đã có tác dụng sàng lọc hiệu quả, những mô sẹo được chiếu xạ mới có khả năng thích ứng tốt với môi trường mặn và có thể tái sinh.

Qua bảng 02 và kết quả xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS cho thấy, sự khác biệt về tỷ lệ tái sinh của mô sẹo giữa các công thức thí nghiệm khác nhau rất rõ rệt (xác suất của F ở cả nguồn biến động công thức thí nghiệm và liều lượng chiếu xạ có giá trị lần lượt là 0,000 và 0,019 đều $< 0,05$). Tuy nhiên, khả năng tạo chồi (số chồi trung bình/mô sẹo) không có sự khác biệt rõ ràng (xác suất của F ở cả 2 nguồn biến động đều $\geq 0,05$).

Như vậy có thể thấy:

Ở công thức môi trường CL03, đề tài thu được 10 dòng từ liều lượng chiếu xạ 20 Gy và

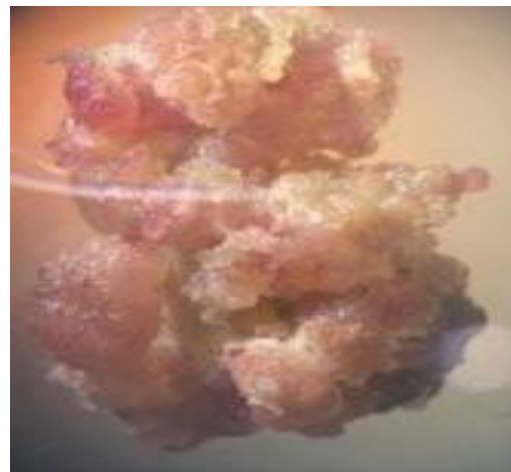
4 dòng ở liều chiếu xạ 30 Gy. Với công thức môi trường CL04, đề tài thu được 3 dòng ở liều chiếu xạ 20 Gy và chỉ có 1 dòng ở liều chiếu xạ 30 Gy.

Qua đó có thể thấy nồng độ muối NaCl 75 mM là nồng độ chọn lọc hiệu quả đối với mô sẹo chiếu xạ tia gamma.

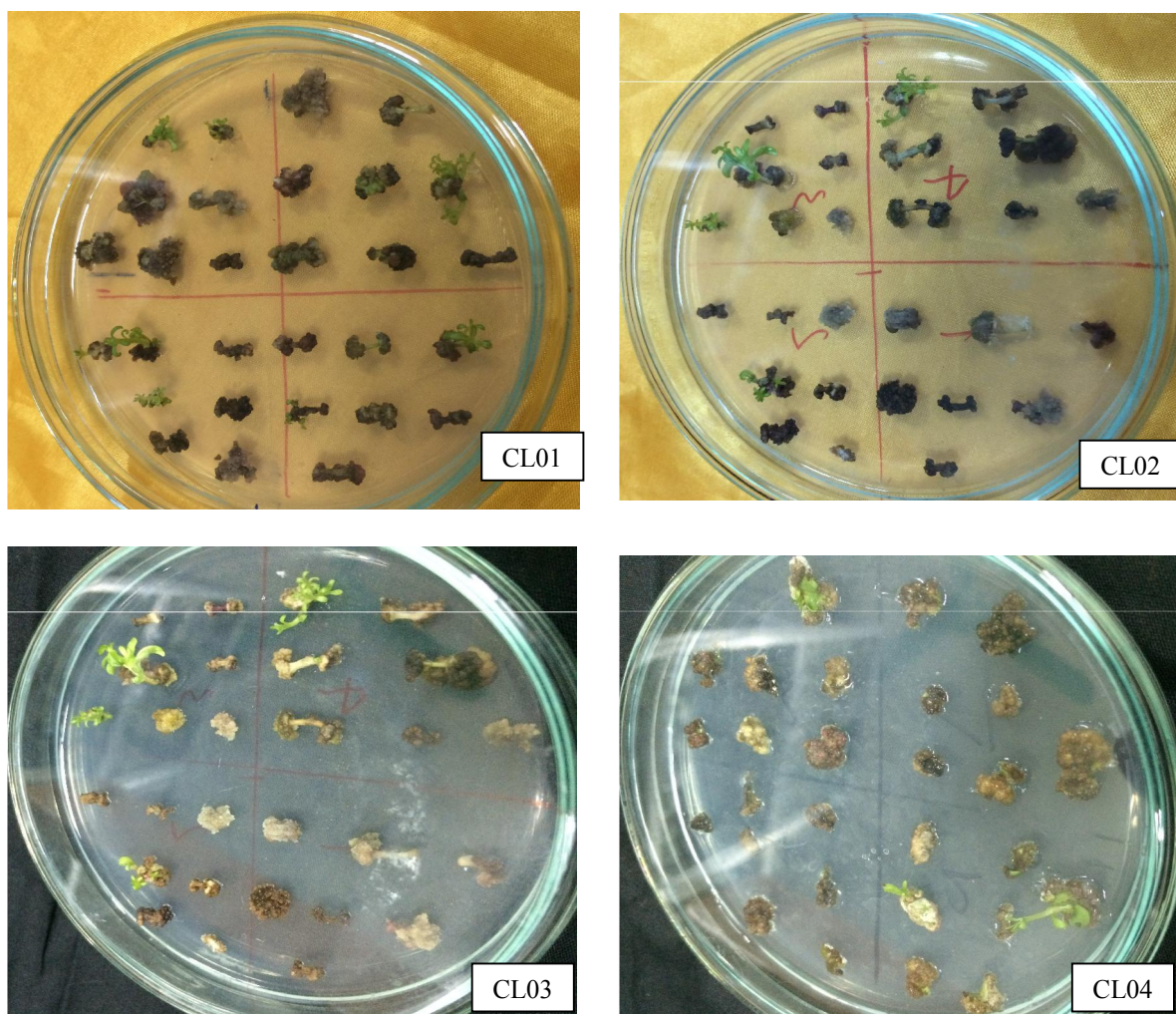
Công thức môi trường CL03 và CL04 với nồng độ muối tương ứng là 100 mM và 125 mM cho thấy rất ít mô sẹo sống sót, tỷ lệ sống sót tương ứng là 18,9% và 16,7% đều ở liều chiếu 20 Gy.

. Trong nghiên cứu này, việc tăng nồng độ muối chọn lọc làm giảm tỷ lệ mô sẹo sống sót và tỷ lệ mô sẹo tái sinh. Kết quả này có thể giải thích là do sự giảm lượng nước có thể hấp thu của mô sẹo như một hệ quả của việc tăng nồng độ muối trong môi trường chọn lọc, điều này cũng có thể làm giảm hàm lượng nước trong mô sẹo và phá hủy màng tế bào. Đối với mô sẹo Bạch đàn, sự giảm mạnh khả năng tái sinh chồi xảy ra từ nồng độ muối 150 mM trở lên, điều này có lẽ xuất phát từ tình trạng mất nước của tế bào thông qua tiềm năng nước thấp hoặc sự mất cân bằng dinh dưỡng vì sự tương tác của các ion muối với các chất dinh dưỡng thiết yếu.

Một số hình ảnh trong quá trình thí nghiệm được thể hiện trong hình 02 và 03.



Hình 02. Ảnh đĩa petri chứa mô sẹo trước khi đem chiếu xạ



Hình 03. Mô sẹo chiếu xạ ở các liều lượng chiếu trên các môi trường chọn lọc sau 3 tuần nuôi cấy (Góc 1. Mô sẹo không được chiếu xạ; Góc 2. Mô sẹo được chiếu xạ ở liều lượng 10 Gy; Góc 3. Mô sẹo được chiếu xạ ở liều lượng 20 Gy; Góc 4. Mô sẹo được chiếu xạ ở liều lượng 30 Gy)

3.2. Khả năng chịu mặn của các dòng biến dị soma ở giai đoạn ra rễ

Trong hai nhân tố nghiên cứu là liều lượng chiếu xạ tia gamma và nồng độ muối chọn lọc thì mục đích của nhóm nghiên cứu là tìm ra được công thức kết hợp cả hai nhân tố để thu được các dòng đột biến chịu mặn ở nồng độ muối cao nhất và qua kết quả nghiên cứu ở nội dung 01 có thể kết luận rằng liều chiếu 20 Gy và nồng độ muối chọn lọc 100 mM và 125 mM NaCl là hiệu quả nhất đối với mô sẹo Bạch đàn. Các dòng Bạch đàn đột biến tiếp tục được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh qua 3

chu kỳ để nhân lên số lượng lớn nhằm cung cấp vật liệu cho những thí nghiệm tiếp theo. Từ đó, nghiên cứu đã chọn ra 2 dòng từ môi trường chọn lọc CL03 với liều lượng chiếu xạ 20 Gy và 2 dòng từ môi trường chọn lọc CL04 cũng với liều lượng chiếu xạ 20 Gy để tiếp tục nghiên cứu giai đoạn ra rễ.

Bốn dòng đột biến được chọn để nghiên cứu giai đoạn ra rễ được ký hiệu lần lượt từ LH01 đến LH04 và kết quả thống kê sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường ra rễ được thể hiện ở bảng 03.

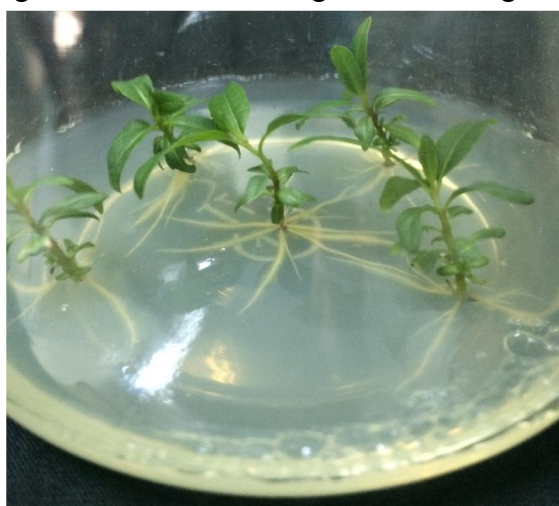
Bảng 03. Khả năng ra rễ của các dòng chịu mặn trên môi trường muối nhân tạo

Tên dòng	NaCl (mM)	Liều chiếu xạ (Gy)	Số chồi thí nghiệm (chồi)	Số chồi ra rễ (chồi)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Chiều dài rễ TB (mm)
LH01	100	20	90	73	81,1	32
LH02	100	20	90	13	14,4	9
LH03	125	20	90	5	5,6	11
LH04	125	20	90	67	74,4	19

Kết quả ở bảng 03 cho thấy tỷ lệ chồi ra rễ của các dòng đột biến là khác nhau, cao nhất là dòng LH01 với tỷ lệ 81,1% và thấp nhất là dòng LH03 với tỷ lệ ra rễ chỉ đạt 5,6%. Mặc dù ở cùng nồng độ muối chọn lọc như nhau, nhưng tỷ lệ ra rễ của 2 dòng khác nhau cũng khác nhau. Theo Nelson, (1977) và Schaeffer, (1981) ghi nhận thì có một số dòng thường không ổn định hoặc không có khả năng di

truyền bởi những thay đổi đó là do biến đổi ngoài gen (epigenetics) chứ không phải là biến đổi trong gen và chính những biến đổi không di truyền được này có thể dẫn đến những tín hiệu dương tính sai.

Hình ảnh cây hoàn chỉnh trong môi trường tạo rễ có bổ sung muối với nồng độ 125 mM được thể hiện trong hình 04.



Hình 04. Cây hoàn chỉnh dòng LH01 trên môi trường mặn nhân tạo 125 mM NaCl

Chiều dài rễ cũng là một chỉ tiêu cần quan sát và đánh giá sự khác biệt giữa các dòng đột biến chịu mặn. Trong bốn dòng nghiên cứu thì dòng LH01 có chiều dài rễ trung bình lớn nhất, tiếp đến là dòng LH04 và cuối cùng là dòng LH03 và LH02.

Trong 02 dòng đột biến được chọn lọc ở nồng độ muối 100 mM thì có một dòng là LH01 có tỷ lệ ra rễ và chiều dài rễ cao hơn hẳn so với dòng còn lại là LH02, lần lượt là 81,1% và 32 mm. Trong hai dòng đột biến được chọn lọc ở nồng độ muối 125 mM thì có một dòng là

LH04 vượt trội so với dòng LH03 về cả hai chỉ tiêu là tỷ lệ chồi ra rễ (74,4 %) và chiều dài trung bình rễ (19 mm).

IV. KẾT LUẬN

- Đã xác định được liều lượng 20 Gy ở cường độ 50 rad/s là công thức cho hiệu quả gây đột biến để tạo dòng Bạch đàn chịu mặn tốt nhất đối với Bạch đàn U rô.

- Với liều lượng chiếu xạ 20 Gy, nghiên cứu đã tạo ra được 4 dòng Bạch đàn chịu mặn cao bao gồm 2 dòng ở nồng độ muối 100 mM và 02 dòng ở nồng độ muối 125 mM.

- Trong 04 dòng có khả năng chịu mặn tốt ở giai đoạn tạo chồi, nghiên cứu đã chọn được 2 dòng có khả năng sống và ra rễ tốt ở giai đoạn ra rễ là dòng LH01 và LH04.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashok A. Nikam, Rachayya M. Devarumath, Akash Ahuja, Harinath Babu, Mahadeo G (2015). Shitole, Penna Suprasanna. Radiation-induced *in vitro* mutagenesis system for salt

tolerance and other agronomic characters in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), *The Crop Journal* 3, 46 – 56.

2. Nelson, O.E. (1977). The applicability of plant cell and tissue culture techniques to plant improvement. In Rubenstein I, Phillips R, Green CE (eds), *Molecular Genetic Modification of Eukaryotes*, Academic Press, New York, 67-76.

3. Schaeffer, G.W., (1981). Mutations and cell selections: Increased protein from regenerated rice tissue cultures. *Env Exp Bot*, 21: 333-345.

SELECTION OF EUCALYPTUS LINES CARRYING SOMATIC MUTATIONS WITH SALT TOLERANT

Nguyen The Huong¹, Bui The Doi², Ha Bich Hong³, Nguyen Thi Huong⁴
^{1,2,3,4}Vietnam National University of Forestry

SUMMARY

Plant selection - breeding using tissue culture method combined with artificial mutagenesis is a trending research direction both in the country and around the world. This is one of the methods, which has outstanding advantages because it can generate the desired traits and be selected early for these traits in order to shorten the time to create new breeds. This study used tissue culture techniques, callus formation, artificial mutagenic irradiation with gamma rays, screening and early selection *Urophylla* lines (*Eucalyptus urophylla*) in artificial salty medium. There are two lines showing ability to live and regenerate well in the salt concentration of 100 mM with the survival rates of 18.9% and 27.8%, tissue regeneration rates reached 4.4 and 11.1%, the average number of shoots was 5 to 6 shoots. It is noteworthy that on the medium of 125 mM NaCl also has 2 lines which were alive and capable of regeneration with the survival rates were 14.4% and 16.7%, regeneration rate reached 1.1 and 3.3%, the average number of shoot was 4.3 and 7.2 shoots. Among the four salt tolerant lines obtained, we chose one line in each salt concentration to continue studying the growth of shoots and roots, the results showed that both lines had quite high shooting rate, reaching 74.4% and 81.1%, the average root lengths were 1.9 cm and 3.2 cm. The study results also showed that *Eucalyptus urophylla* callus was irradiated at doses of 20 Gy (intensity of 50 rad/s) for the best effective mutagenic in creating salt tolerant lines.

Keywords: Callus irradiation, *Eucalyptus urophylla*, gamma irradiation, salinity.

Ngày nhận bài : 03/01/2017

Ngày phản biện : 10/01/2017

Ngày quyết định đăng : 18/01/2017