

# ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ CHỌN LỌC CÁ THỂ MANG QTL/GEN QUY ĐỊNH TÍNH TRẠNG TĂNG SỐ HẠT TRÊN BÔNG Ở QUẦN THỂ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> ĐỂ CẢI TIẾN NĂNG SUẤT GIỐNG LÚA KHANG DÂN 18

Nguyễn Thị Thúy Anh<sup>1</sup>, Trần Trung<sup>1</sup>,  
Khuất Hữu Trung<sup>2</sup>, Trần Đăng Khánh<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Trước những ảnh hưởng cực đoan từ biến đổi khí hậu cùng với quỹ đất trồng lúa bị thu hẹp do quá trình đô thị hóa đã làm năng suất lúa ở nước ta bị sụt giảm rõ rệt. Chọn giống nhờ chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC) là phương pháp thiết thực, hiệu quả để lai chuyển QTL hoặc gen vào dòng/giống ưu tú. Trong nghiên cứu này, nhờ ứng dụng MABC, đã lai chuyển thành công QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông từ dòng cho gen KC25 vào giống nhận gen (Khang dân 18). Ở thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> đã chọn lọc được cá thể số 59 mang gen và có nền di truyền cao nhất giống cây nhận gen đạt 92,3%.

**Từ khóa:** Chọn giống phân tử kết hợp lai trở lại (MABC), QTL/gen, KD18, KC25

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng nhất ở Việt Nam, đồng thời cũng là nguồn cung cấp thức ăn chính cho hơn một nửa dân số thế giới. Ngày nay, dân số ngày càng tăng nhanh gây áp lực lớn đến nền nông nghiệp toàn cầu và đặc biệt ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam. Một vấn đề đáng quan tâm là các ảnh hưởng cực đoan của biến đổi khí hậu như lũ lụt, hạn hán, xâm nhập mặn... đã và đang làm sản lượng lúa của nước ta bị sụt giảm đáng kể. Để đáp ứng nhu cầu lương thực, việc nghiên cứu, cải tiến các giống lúa có năng suất cao, chất lượng tốt là yếu tố quan trọng nhằm đảm bảo an sinh xã hội, tăng thu nhập cho người dân và là việc làm cấp bách của các nhà khoa học.

Năng suất và yếu tố cấu thành năng suất lúa là một tính trạng phức hợp gồm: Số bông trên khóm, số hạt trên bông và khối lượng nghìn hạt. Chọn giống nhờ chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC) là phương pháp thiết thực, hiệu quả trong việc lai chuyển locus gen hay gen quy định tính trạng di truyền số lượng (QTL) vào giống mới. Cho tới nay, nhiều QTL/gen kiểm soát các tính trạng năng suất đã được xác định vị trí trên bản đồ hệ gen lúa. Trên cơ sở đó, nhiều QTL/gen quy định tính trạng năng suất đã được lai chuyển thành công bằng phương pháp MABC vào các giống lúa ưu tú tại một số quốc gia trên thế giới. Chẳng hạn, tại Trung Quốc, năm 2014, các nhà chọn giống đã lai chuyển thành công gen *GW6* quy định khối lượng nghìn hạt bằng phương pháp MABC vào giống lúa trồng đại trà và làm tăng 30% khối lượng nghìn hạt, tăng tương đương 7% năng suất lúa (Li Y và cs., 2014). Gần đây, năm 2016, các nhà khoa học Malaysia đã quy tụ gen năng suất và chịu hạn

vào dòng lúa truyền thống MR219. Đây là nghiên cứu đầu tiên về ảnh hưởng của QTL *qDTYs* làm tăng năng suất lúa trong điều kiện khô hạn (Noraziyah *et al.*, 2016).

Vì vậy, ứng dụng chỉ thị phân tử kết hợp phương pháp lai trở lại để lai chuyển và quy tụ QTL/gen quy định tăng số hạt trên bông vào giống lúa Khang dân 18 nhằm tăng năng suất, đồng thời vẫn giữ nguyên đặc tính di truyền của giống nhận QTL/gen là việc làm cần thiết và có ý nghĩa.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống lúa KC25 và giống lúa Khang dân 18 (KD18); trong đó KD18 là giống lúa thuần nhập nội được trồng khá phổ biến ở các tỉnh Đồng bằng sông Hồng, giống KC25 có nguồn gốc nhập nội mang QTL/gen tăng số hạt trên bông.

- Cá thể số 74 và 109 là cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> đã được xác định mang QTL/gen tăng số hạt trên bông và có nền di truyền cao nhất của cây nhận gen, được kế thừa từ những nghiên cứu trước đó (Nguyễn Thị Thúy Anh và cs., 2016).

- 03 chỉ thị phân tử đa hình tại vị trí QTL/gene quy định tăng số hạt trên bông gồm RM445, RM500, RM21615. Kế thừa kết quả nghiên cứu của tác giả Linh và cs. (2008) đã xác định được chỉ thị RM445 nằm trên vùng gen và chỉ thị RM500, RM21615 là 2 chỉ thị cận biên lần lượt tại các vị trí 17,46Mb, 15,91Mb, 18,25Mb.

- 62 chỉ thị phân tử đa hình trải đều trên 12 NST giữa hai giống lúa KD18 và giống KC25.

<sup>1</sup> Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên

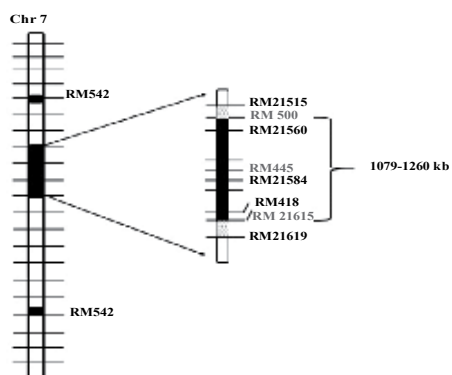
<sup>2</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

**Bảng 1.** Các chỉ thị cho đa hình giữa giống KD18 × KC25 tại vị trí QTL/gen

Tên mỗi	Mỗi xuôi	Mỗi ngược	Kích thước (bp)
RM445	CGTAACATGCATATCACGCC	ATATGCCGATATGCGTAGCC	251
RM500	GAGCTTGCCAGAGTGAAAG	GTTACACCGAGAGCCAGCTC	259
RM21615	CTTTCCTCCTCGGCCGTTGC	GAGGAGCCAGGCGAACATCACC	130

**Bảng 2.** Các chỉ thị cho đa hình giữa giống KD18 × KC25 trải đều trên 12 NST

NST	Tên chỉ thị phân tử đa hình	Số lượng
1	RM10115, RM10136, RM10694, RM10741, RM10800, RM10815, RM10916, RM11062, RM11438, RM11504, RM1287, RM3412b, RM493, RM5365, RM7075	15
2	RM526, RM5356, RM6, RM7355	4
3	RM14795, RM14820, RM282, RM3297, RM3654, RM5480, RM7389	7
4	RM16589, RM16820, RM280, RM3333, RM349, RM551	6
5	RM19199; RM31, RM7027	3
6	RM3, RM345, RM494, RM527, RM528, RM7434	6
7	RM11, RM21539, RM12769, RM248, RM7338	5
8	RM22825, RM331, RM447	3
9	RM296, RM7175, RM1208	3
10	RM24865, RM25181, RM25271, RM3628	4
11	RM7283, RM19840, RM341	3
12	RM1194, RM247, RM7102	3
	<i>Tổng</i>	62



**Hình 1.** Vị trí của QTL/gen *yd7* quy định tăng số hạt trên bông định vị trên nhiễm sắc thể số 7 (Linh và cs., 2008).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp tách chiết và tinh sạch ADN theo phương pháp CTAB cải tiến dựa trên cơ sở phương pháp của Shagai - Maroof và cộng tác viên (1984).

- Kỹ thuật PCR.

- Kỹ thuật điện di trên gel Agarose 0,8%; 3,5%.

- Phương pháp bố trí thí nghiệm nhà lưới của Phạm Chí Thành (1986).

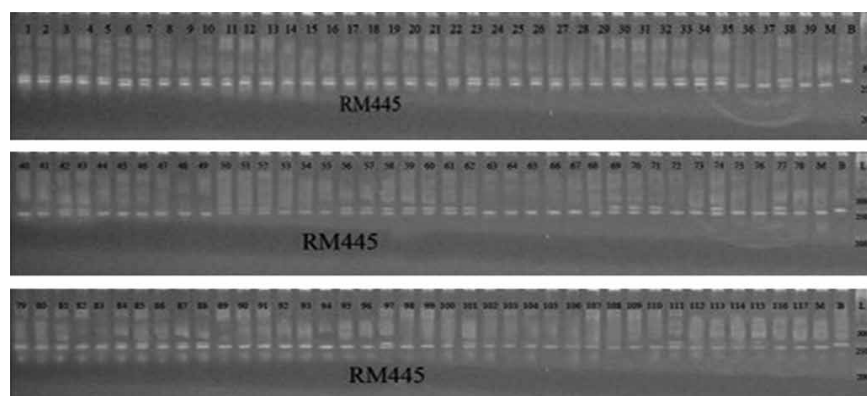
- Phương pháp phân tích số liệu thống kê. Số liệu được xử lý thống kê trên máy tính bằng chương trình Excel 2007, IRRISTART 5.0 và phần mềm GGT2.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Chọn lọc cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> mang QTL/gen tăng số hạt trên bông

Ở quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> đã xác định được cá thể số 74 và 109 là 2 cá thể mang QTL/gen *yd7* tăng số hạt trên bông và có nền di truyền gần nhất với mẹ đạt 83,4% và 80,2% (Nguyễn Thị Thúy Anh và cs., 2016). Do đó, 2 cá thể này được sử dụng để lai trở lại với Khang dân 18 tạo quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>. Kết quả thu được 210 hạt lai (trong đó từ tổ hợp lai cá thể số 74 và KD18 thu được 112 hạt và từ tổ hợp lai cá thể số 109 và KD18 thu được 98 hạt). Các hạt lai được gieo trồng để phát triển quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>. Sau khi cây lúa được khoảng 20 ngày tuổi tiến hành thu mẫu lá của các cá thể (cây lai có nguồn gốc từ cây 74 được đánh số thứ tự từ 1 - 67, cây lai có nguồn từ cây 109 được đánh số thứ tự từ 68 - 117). Mẫu thu được tách chiết và kiểm tra chất lượng ADN.

Trong nghiên cứu này, 03 chỉ thị liên kết chặt với QTL/gen *yd7* gồm chỉ thị RM445, RM500, RM21615 được sử dụng để sàng lọc các cá thể dị hợp tử. Kết quả được thể hiện trong hình 2, hình 3 và hình 4.



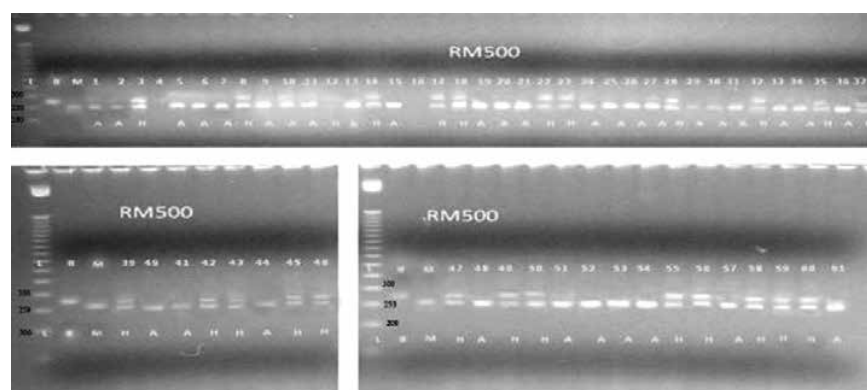
**Hình 2.** Hình ảnh điện di sàng lọc cá thể trong quần thể  $BC_2F_1$  với chỉ thị RM445  
L: 50bp ladder, M: KD18, B: KC25, 1-117: các cá thể  $BC_2F_1$

Kết quả sàng lọc với chỉ thị RM445 đã xác định được 61/117 cá thể mang kiểu gen dị hợp tử được lựa chọn gồm các cá thể số: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38, 42, 43, 50, 51, 52, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 69, 70, 71, 74, 77, 84, 85, 86, 87, 88, 97, 101 và cá thể số 111.

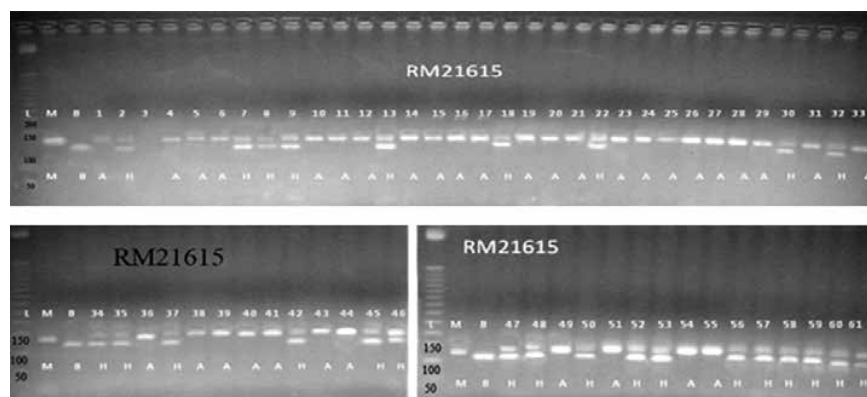
Sáu một cá thể  $BC_2F_1$  dị hợp tử tại vị trí chỉ thị

RM445 được đánh số thứ tự từ 1 - 61 và tiếp tục sàng lọc với chỉ thị RM500 và RM21615. Kết quả kiểm tra cá thể lai  $BC_2F_1$  thể hiện trong hình 3 và hình 4.

Như vậy, việc kết hợp sử dụng hai chỉ thị RM500 và RM21615 đã chọn lọc được 15 cá thể lai  $BC_2F_1$  mang QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông gồm các cá thể số: 8, 18, 22, 32, 35, 42, 56, 59, 60, 61, 70, 86, 88, 97 và 101.



**Hình 3.** Hình ảnh điện di sàng lọc cá thể trong quần thể  $BC_2F_1$  với chỉ thị RM500  
L: 50bp ladder, M: KD18, B: KC25, A: Đồng hợp tử; H: Dị hợp tử; 1-61: Cá thể trong quần thể  $BC_2F_1$

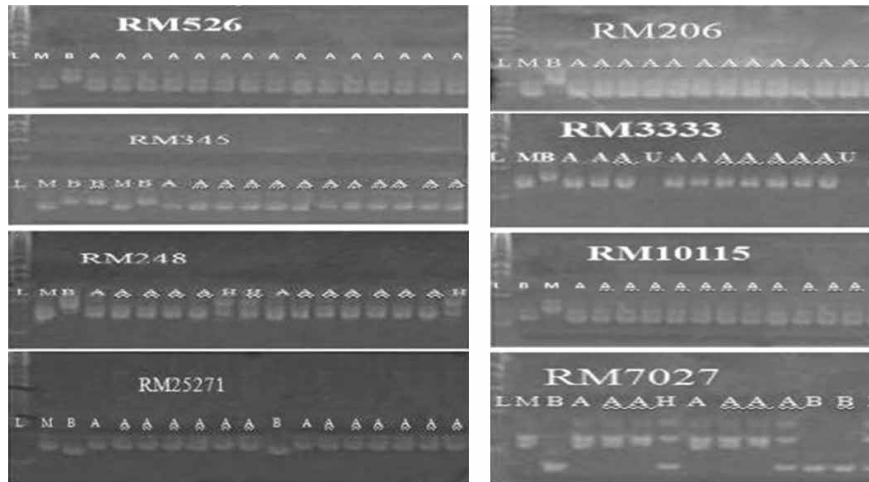


**Hình 4.** Hình ảnh điện di sàng lọc cá thể trong quần thể  $BC_2F_1$  với chỉ thị RM21615  
L: 50bp ladder; M: KD18; B: KC25; A: Đồng hợp tử; H: Dị hợp tử; 1-61: Cá thể  $BC_2F_1$

### 3.2. Xác định cá thể con lai BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> mang QTL/gen có nền di truyền cao nhất giống cây nhận gen

Mười năm cá thể con lai BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> mang QTL/gen tăng số hạt trên bông đủ điều kiện lựa chọn, sàng

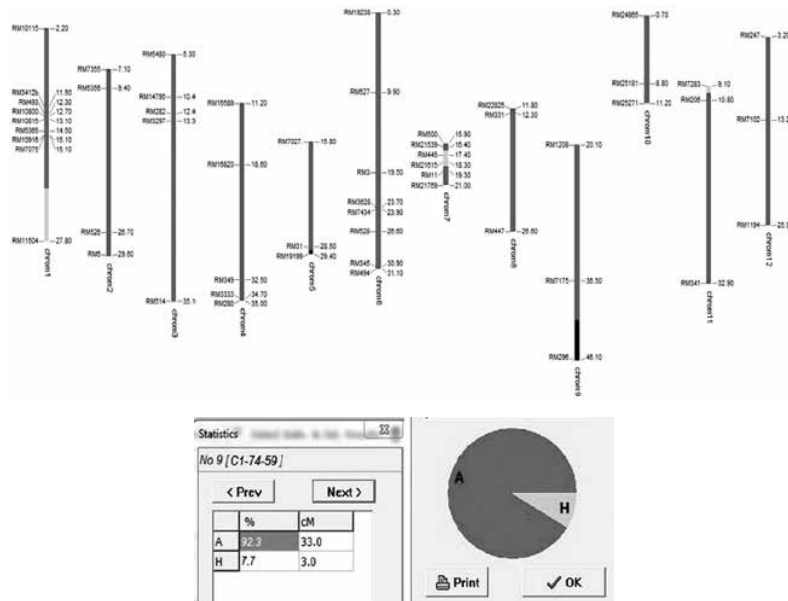
lọc, kiểm tra nền di truyền với 62/65 chỉ thị đa hình trải đều trên 12 NST (ngoại trừ những chỉ thị liên kết với với gen mục tiêu QTL/gen *yd7*). Kết quả được thể hiện qua một số hình ảnh điện di dưới đây.



**Hình 5.** Hình ảnh điện di sàng lọc nền di truyền của 15 cá thể mang QTL/gen *yd7* trong quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>  
L: Ladder 50bp, M: KD18; B: KC25; điểm H: dị hợp tử; điểm A: đồng hợp tử với KD18; điểm B: đồng hợp với KC25

Sau khi sàng lọc các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> với tất cả các chỉ thị (Hình 5) cho đa hình trên 12 nhiễm sắc thể để lựa chọn nền di truyền của cây nhận gen. Số liệu của từng cá thể được chấm điểm đưa vào phân tích trên chương trình phần mềm Graphical Genotyper 2

(GGT2) mục đích lựa chọn cá thể trong quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> mang QTL/gen *yd7* tăng số hạt trên bông và có nền di truyền cao nhất của cây nhận gen. Kết quả được thể hiện qua hình 6.



**Hình 6.** Biểu đồ phân tích của cá thể số 59 trong quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> giữa tổ hợp lai KD18/KC25  
A: Đồng hợp tử với Khang Dân 18; B: Đồng hợp tử với KC25; H: Dị hợp tử; U: Mẫu không biểu hiện

Ghi chú: Thứ tự các NST được biểu thị bằng số ở phía dưới và danh sách các chỉ thị sử dụng sàng lọc nền di truyền nằm ở phía bên trái, tương ứng với vị trí chỉ thị phân tử ghi bên phải NST. Vùng đỏ biểu thị nền di truyền tương đồng giống KD18, vùng xanh biểu thị nền di truyền của giống KC25. Vị trí và thứ tự chỉ thị phân tử được xây dựng dựa trên phần mềm GGT2.0

Trong nghiên cứu này, qua phân tích đánh giá nền di truyền, cá thể số 61 và cá thể số 59 mang QTL/gen tăng số hạt trên bông (*yd7*) được xác định có nền di truyền cao nhất giống cây nhận gen đạt 91,8 % và 92,3%. Hai cá thể này có nguồn gốc từ cá thể số 74 của thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> nên chúng tôi ký hiệu là C1-74- 59 và C1- 74-61.

Như vậy, quy trình chọn giống bằng phép lai trở lại với sự trợ giúp của chỉ thị phân tử có thể kết thúc ở ngay thế hệ sau, khi chọn ra được cá thể vừa mang QTL/gen tăng số hạt trên bông và mang xấp xỉ 100% nền di truyền hệ gen của cây nhận gen.

#### IV. KẾT LUẬN

Ứng dụng chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC) bước đầu đã thành công trong quy tụ QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông vào giống lúa nhập nội tại Việt Nam. Cá thể số 59 (thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>) là cá thể mang QTL/gen tăng số hạt trên bông có nền di truyền cao nhất giống cây nhận gen ở mức 92,3% sẽ tiếp tục được lựa chọn để sử dụng làm vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Bộ Khoa học và Công nghệ đã cung cấp kinh phí cho đề tài mã số ĐT.ĐL.G36-2012 để thực hiện nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Thúy Anh, Trần Trung, Khuất Hữu Trung, Lê Hùng Linh, Tạ Hồng Linh, Hoàng

Kim Thành, Thân Thị Thành, Nguyễn Như Toàn, Nguyễn Thị Loan, Trần Đăng Khánh, 2016. Ứng dụng chỉ thị phân tử chọn lọc cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> (tổ hợp lai KD18/KC25) mang QTL/gen tăng số hạt trên bông và có nền di truyền cao nhất giống nhận gen. *Hội thảo Quốc gia về Khoa học Cây trồng lần thứ hai*, tr 331-336.

Phạm Chí Thành, 1986. *Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội.

Li Y.Y, Tao H.J, Zhao X.Q, Xu J, Li G.M, Hu S.K, Dong G.J, Shi Z.Y, Wu L. W, Hu J, Ye G.Y, Gou L.B, 2014. Molecular Improvement of Grain Weight and Yield in Rice by Using GW6 Gene. *Rice Science* 21(3): 127 - 132.

Linh L.H, 2008. *Fine mapping of quantitative trait loci for heading date and yield component traits in NILs from an interspecific cross between Oryza sativa and O. Minuta*. Doctoral Thesis, Chungnam National University, Daejeon, Korea.

Linh L.H, Hang N.T., Kang K.H, Lee Y.T, Kwon S.J, Ahn S.N, 2008. Introgression of a quantitative trait locus for spikelets per panicle from *Oryza minuta* to the *O. sativa* cultivar Hwaseongbyeon. *Plant Breeding* 127:262-267.

Noraziyah A.A.S, Mallikarjuna S.B.P, Wickneswari R, Anitha R, Arvind K, 2016. Marker assisted pyramiding of drought yield QTLs into a popular Malaysian rice cultivar, MR219. *BMC Genetics*.

Saghai-Marouf M.A, Soliman K.M, Jorgensen R.A, Allard R.W, 1984. Ribosomal ADN spacer-length polymorphisms in barley: Medelian inheritance, chromosomal location, ADN population dynamics. *PNAS* 81:8014-8018.

### Application of molecular breeding to select individual plants of BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> population carrying the QTL/Gene (increasing grains number per panicle) to improve yield of KD18 variety

Nguyen Thi Thuy Anh, Tran Trung,  
Khuat Huu Trung, Tran Dang Khanh

#### Abstract

The pressure of rapid population growth, adverse effects from climate change and narrowing rice growing areas in Vietnam due to the urbanization and industrialization lead to decrease rice yield. Molecular breeding such as Marker - Assisted Backcrossing (MABC) is one of the efficient methods to transfer the specific quantitative trait loci (QTL) or gene into the elite varieties. In this study, MABC was applied to transfer QTL/gene which is responsible for increasing number of grains per panicle from donor (KC25) to recipient plant (KD18). The results showed that the successfully selected individual No.59 in BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> population carrying QTL/gene and the highest genetic background of the recipient plant up to 92.3% were obtained.

**Key words:** Marker - assisted backcrossing (MABC), QTL/gene, KD18, KC25

Ngày nhận bài: 8/5/2017

Người phản biện: GS.TS. Bùi Chí Bửu

Ngày phản biện: 20/5/2017

Ngày duyệt đăng: 29/5/2017

## NGHIÊN CỨU CHUYỂN GEN VÀO LAN *Mokara* QUA TRUNG GIAN VI KHUẨN *Agrobacterium tumefaciens*

Lý Nguyễn Phước Điềm<sup>1</sup>, Nguyễn Xuân Dũng<sup>1</sup>, Dương Hoa Xô<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Tại Việt Nam, *Mokara* là một trong hai loài lan cắt cành đang được ưa chuộng trên thị trường hiện nay. Việc xây dựng thành công quy trình chuyển gen vào lan này có thể được ứng dụng để nâng cao chất lượng hoa lan. Trong nghiên cứu này, vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* chủng LBA4404 mang vector pCAMBIA1301 được sử dụng để chuyển gen mục tiêu vào PLBs của lan *Mokara*. Các yếu tố như môi trường kích thích sự tái sinh PLB từ mẫu lá, môi trường kích thích sự tăng sinh của PLBs, nồng độ chất cảm ứng acetosyringone, nồng độ kháng sinh khử khuẩn và nồng độ kháng sinh sàng lọc PLBs chuyển gen đã được khảo sát. Hiệu quả chuyển gen được xác định dựa trên tỷ lệ mẫu dương tính GUS trên tổng số mẫu được lấy nhiễm. Kết quả cho thấy môi trường Murashige & Skoog (MS) bổ sung 0,5 mg/L BA kết hợp 2,0 mg/L NAA cho tỷ lệ tái sinh PLBs từ mẫu lá cao nhất (91,67%) sau 15 tuần nuôi cấy. Môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L kết hợp 1,0 mg/L NAA thích hợp cho sự tăng sinh PLBs, trọng lượng PLBs đạt 25,70 g sau 8 tuần nuôi cấy. Hiệu quả chuyển gen cao nhất đạt được khi có sự hiện diện của 50  $\mu$ M acetosyringone trong quá trình chuyển gen với thời gian đồng nuôi cấy là 2 ngày. Kháng sinh cefotaxime ở nồng độ từ 300 mg/L đến 500 mg/L có khả năng loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn sau thời gian đồng nuôi cấy. Kháng sinh hygromycin ở nồng độ 10 mg/L thích hợp cho giai đoạn sàng lọc PLBs chuyển gen.

**Từ khóa:** *Agrobacterium tumefaciens*, chuyển gen, hoa lan, *Mokara*, PLBs

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

*Mokara* (*Mokara* spp.) là loài lan lai được tạo ra từ 3 loài *Ascocentrum*, *Vanda* và *Arachnis* (Arditti, 2009). Đây là loài lan có hoa với màu sắc và hoa văn đa dạng, và đang là một trong hai loài hoa lan cắt cành chủ lực tại Việt Nam. Bệnh do virus gây ra gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành sản xuất hoa lan do làm giảm năng suất và chất lượng hoa. Tuy nhiên, các biện pháp kiểm soát virus gây bệnh trên hoa lan theo phương thức truyền thống (bao gồm việc kiểm soát và loại bỏ nguồn nhiễm) vẫn chưa mang lại hiệu quả như mong muốn. Việc nghiên cứu chuyển gen để tạo giống hoa lan có khả năng kháng virus được xem là một trong những giải pháp triển vọng cho vấn đề kiểm soát bệnh virus trên hoa lan ở Việt Nam. Những kết quả khả quan ban đầu về việc tạo giống kháng bằng phương pháp chuyển gen đã được công bố trên loài lan *Dendrobium* (Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự, 2015). Đây là tiền đề quan trọng cho việc tiếp tục triển khai các nghiên cứu tạo giống kháng virus trên các loài lan quan trọng khác, trong đó có lan *Mokara*.

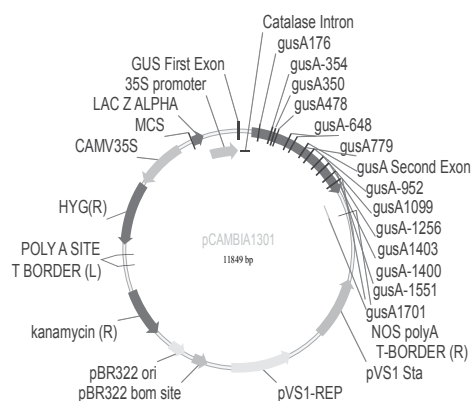
Là bước đầu tiên hướng đến việc tạo giống kháng virus, nghiên cứu này tiến hành thiết lập quy trình chuyển gen vào lan *Mokara* qua trung gian vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Trong đó, các yếu tố chính ảnh hưởng đến quá trình chuyển gen như môi trường tái sinh và tăng sinh PLB, nồng độ chất cảm ứng acetosyringone cũng như kháng sinh khử khuẩn và sàng lọc PLB chuyển gen đã được khảo sát.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Lá của cây lan *Mokara* Fullmoon *in vitro* (cao 3 - 4 cm) được nuôi cấy tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực Vật - Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh.

Chủng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 mang vector chuyển gen pCAMBIA1301 với vùng T-DNA chứa gen GUS và gen kháng hygromycin (Hình 1).



**Hình 1.** Cấu trúc vector pCAMBIA1301

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Khảo sát môi trường thích hợp để tạo PLBs từ mô lá

Cô lập mẫu lá từ cây con *in vitro*, tạo vết thương trên bề mặt và nuôi cấy trên môi trường MS

<sup>1</sup> Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh