TRÍCH YẾU LUẬN ÁN TIẾN SỸ

Tên luận án: Tạo dòng bông (*Gossypium hirsutum* L.) chống chịu thuốc trừ cỏ Glufosinate và Glyphosate bằng kỹ thuật chuyển gen qua trung gian *Agrobacterium tumefaciens*

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học; **Mã số:** 9.42.02.01

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Nhã

Người hướng dẫn: PGS. TS. Phan Thanh Kiếm; TS. Bùi Minh Trí

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

1. Mục tiêu và đối tượng nghiên cứu của Luận án

Mục tiêu nghiên cứu

- Chuyển được gen *bar* và *EPSPS* vào giống bông Coker310 bằng phương pháp chuyển gen qua trung gian *A. tumefaciens*.

- Tạo ra dòng bông chuyển gen chống chịu liều lượng gấp 2 lần liều lượng khuyến cáo với thuốc trừ cỏ Glufosinate hoặc Glyphosate làm vật liệu cho chọn tạo giống bông chống chịu thuốc trừ cỏ trong nước.

Đối tượng nghiên cứu

Các dòng bông mang đặc tính chống chịu thuốc diệt cỏ gốc Glufosinate và Glyphosate

2. Các phương pháp nghiên cứu chủ yếu của Luận án

- Tái sinh cây bông thông qua phôi soma.

- Cắt, ghép nối, biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* và *A. tumefaciens* các cấu trúc biểu hiện gen chống chịu thuốc diệt cỏ.

- Chuyển gen vào cây qua trung gian *A. tumefaciens.*

- Đánh giá, chọn lọc cây chuyển gen bằng kỹ thuật PCR, Southern blot, Northern blot.

- Thử tính kháng kháng sinh và tính chống chịu thuốc diệt cỏ.

- Đánh giá đặc điểm thực vật, tính chống chịu bệnh hại và khả năng di truyền gen chuyển qua các thế hệ T_0-T_2.

3. Các kết quả chính và kết luận

- Dòng Coker310FR chọn lọc qua tái sinh liên tục ba thế hệ của giống bông Coker310 có khả năng tái sinh rất cao, thể hiện qua tỷ lệ mô sẹo phát sinh phôi là 95,6% và tỷ lệ cây tái sinh không dị dạng trên môi trường GR5 là 36,7%.

- Bốn vector chuyển gen (gồm pCAMBIA1300:*hpt-bar*, pCAMBIA1300:*hpt-EPSPS*, pCB301:*npt*II-*bar* và pCB301:*npt*II-*EPSPS*) được tái cấu trúc bằng cách chèn vùng P35S-*EPSPS*-TNOS và PNOS-*bar*-TNOS vào vector biểu hiện thực vật pCB301:*npt*II và pCAMBIA1300:*hpt*. Kiểm tra hiện diện của 04 gen đích và gen độc lực *vir*C khẳng định 04 vector chuyển gen được biến nạp thành công vào vi khuẩn A. tumefaciens chủng C58/PGV2260.

- Nhiễm mẫu thân mầm giống bông Coker310 với *A. tumefaciens* mang gen *EPSPS* và *bar* ở mật độ, thời gian lây nhiễm, thời gian và nhiệt độ đồng nuôi khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ cảm ứng, sống sót và phát sinh phôi của mô sẹo chuyển gen. Kết quả tốt nhất đạt được khi lây nhiễm vi khuẩn với mật độ OD600 0,75 trong 10 phút, đồng nuôi cấy 64 giờ ở nhiệt độ 22^0C.

- Tương tác giữa loại mẫu/giống với tác nhân chọn lọc ảnh hưởng đến tỷ lệ tái sinh và tỷ lệ cây mang gen chuyển. Hiệu quả chuyển vector pCAMBIA1300:*bar* vào mẫu lá mầm Coker310FR đạt cao nhất với 2,8% mô sẹo phát sinh phôi, 15,8 cây/mẫu được tái sinh, 76,0% số cây mang gen chuyển và 64,7% trong số đó hữu thụ. Hiệu quả chuyển vector pCB301:*bar* vào mẫu thân mầm Coker310FR đạt cao nhất, với 2,1% mô sẹo phát sinh phôi, tái sinh được 20,6 cây/mẫu, 30,2% số cây mang gen chuyển và 82,5% trong số cây đó hữu thụ.

- Chọn được 5 dòng T_2 chuyển gen *bar* B1, B9, B18 và BF8 và BF17 mang 1 bản sao, có hoạt động phiên mã của gen chuyển, cây sinh trưởng đồng đều và có mức độ chống chịu thuốc trừ cỏ Glufosinate cao (0,6 kg ai./ha).

- Chọn được 5 dòng T_2 chuyển gen *EPSPS* có 1 bản sao, có hoạt động phiên mã của gen chuyển và có mức độ chống chịu thuốc trừ cỏ Glyphosate là E7, E8, E19, EF14 và EF25, không có dòng chống chịu cao.

- Hai dòng bông chuyển gen thế hệ T_2 là B9 và BF17 mang 01 bản sao gen, di truyền gen chuyển theo quy luật Mendel, chống chịu cao với thuốc trừ cỏ Glufosinate ở nồng độ 0,6 kg ai./ha, không sai khác về đặc điểm thực vật học và khả năng chống chịu bệnh hại so với giống bông nền Coker310 không chuyển gen.

Tập thể giáo viên hướng dẫn		**Nghiên cứu sinh**
PGS. TS. Phan Thanh Kiếm	**TS. Bùi Minh Trí**	**Nguyễn Thị Nhã**