

LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài: “Nghiên cứu khai thác và phát triển nguồn gen giống lúa Tẻ Mèo Sơn La và Tẻ đỏ Điện Biên” (mã số: 09/2018-HĐ-NVQG) thuộc Chương trình khai thác và phát triển nguồn gen do Bộ Khoa học Công nghệ cấp kinh phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2011. QCVN 01-65:2011/BNNPTNT. Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về Khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lúa do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành.

Vũ Thị Thu Hiền, 2012. Đa dạng di truyền dựa trên đặc điểm hình thái của các mẫu giống lúa có nguồn gốc khác nhau. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 10 (6): 844-852.

Lã Tuấn Nghĩa, Trần Danh Sửu, Lê Khả Tường, Lưu Quang Huy, Vũ Linh Chi, Vũ Văn Tùng, Hoàng Thị Huệ, 2011. Tài nguyên thực vật Việt Nam: Thành tựu và Kế hoạch bảo tồn vì Mục tiêu phát triển nông nghiệp bền vững và An ninh lương thực. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, (2): 3.

IRRI, 1996. *Tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa* (SES -1996).

IRRI, 2002. *Tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa* (SES -2002).

Survey and evaluation of specific agro-biological characteristics of rice varieties Te Meo Son La and Te do Dien Bien

Pham Van Tinh, Nguyen Phi Long, Nguyen Anh Dung, Hoang Thi Hue, Le Thu Hang, Nguyen Duc Trung

Abstract

The survey was conducted mainly in Dong Sang commune - Moc Chau district - Son La province and Quai Cang commune - Tuan Gia district - Dien Bien province, and additionally in several districts of Son La as Mai Son, Song Ma, Soc Cop, and of Dien Bien as Muong Cha, Tua Chua in 2018. The objective of the survey was to collect the specific agro-biological characteristics of these varieties, and investigated the cultivation status, practices of local farmers to find out advantages as well as disadvantages of each locality during production. Then, appropriate solutions and direction for conserving, maintaining and expanding production were proposed. Te Meo Son La and Te do Dien Bien are two traditional rice varieties cultivated in wet season. Because of long time cultivation, yield and quality of these varieties have been reduced, leading to decline seriously the production area. This survey described the morphological, agro-biological characteristic of these varieties. The description of morphology is ease for distinguishing between Te Meo Son La, Te do Dien Bien and other varieties. This is also a good information for maintenance and purification of the original varieties.

Keywords: Survey, Te Meo, Te do, genetic resources, speciality rice

Ngày nhận bài: 15/10/2019

Ngày phản biện: 11/11/2019

Người phản biện: TS. Bùi Văn Thanh

Ngày duyệt đăng: 10/12/2019

ĐÁNH GIÁ TÍNH KHÁNG RẦY NÂU VÀ CHỊU MẶN CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Phạm Thanh Minh¹, Trần Nhân Dũng², Lê Vĩnh Thúc³

TÓM TẮT

Đánh giá tính kháng rầy nâu và chống chịu mặn của một số giống lúa bằng thanh lọc trong nhà lưới và dùng dấu chỉ thị phân tử SSR là một phương pháp hiện đại và đem lại kết quả chính xác cao. 105 giống lúa thu thập từ một số tỉnh ở Đồng bằng sông Cửu Long, được sàng lọc với quần thể rầy nâu tại nhà lưới Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học - Đại học Cần Thơ theo phương pháp hộp mạ của IRRI và kết hợp xác định kiểu gen sử dụng cặp môi RG457FL/RL. Kết quả đã chọn được 10 giống có tính kháng với rầy nâu như OM6377, AS996, OC10, OM6677, ST20, OM5972, OMCS200, OM4900, OM4495, OM5451 so với giống chuẩn kháng PTB33 chỉ số hại lên đến 75,33%. Bên cạnh đó, việc sàng lọc mặn một số giống lúa trong nhà lưới bằng dung dịch Yoshida có bổ sung

¹ Nghiên cứu sinh Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ

² Viện Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ; ³ Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ

muối NaCl với các nồng độ 0‰, 4‰ và 6‰ trên 13 giống lúa ở giai đoạn mạ với giống chuẩn kháng là Pokkali đã đánh giá và kết hợp kiểm tra gen bằng 2 cặp mồi RM3412 và RM206. Kết quả đã xác định được 4 giống lúa có khả năng sống sót và chịu mặn cao, là các giống OM4900, OM7347, VT13, Một bụi đỏ và 3 giống chống chịu mặn trung bình OM6976, OM8017, Siêu hàm trâu.

Từ khóa: Chịu mặn, kháng rầy, kỹ thuật SSR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là một loại cây lương thực gắn gũi và đóng vai trò rất quan trọng đối với phần lớn đời sống người dân châu Á nói chung và người Việt Nam nói riêng. Trong nhiều năm qua, rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal) là dịch hại nghiêm trọng nhất đối với cây lúa, nó có thể làm giảm năng suất lên đến 70% hoặc thậm chí bị chết do dịch hại trên quy mô lớn. Dịch hại rầy nâu, đất nhiễm mặn đang là một trở ngại lớn trong sản xuất nông nghiệp ở các vùng ven biển. Vấn đề đặt ra là cần nghiên cứu các giải pháp cụ thể nhằm ổn định, nâng cao năng suất và hiệu quả trồng lúa tại các vùng đất nhiễm mặn trên. Việc chọn lựa các giống lúa có khả năng chịu mặn cao, xây dựng quy trình thâm canh các giống lúa trong điều kiện sản xuất thực tế, tập trung khai thác nguồn tài nguyên di truyền địa phương là việc làm mang tính cấp thiết (Tăng Thị Hạnh, 2010). Một vài vùng trồng lúa ở ven biển còn chịu ảnh hưởng ngập mặn do thủy triều, việc thanh lọc tính chống chịu mặn hoàn toàn cần phải xem xét. Nghiên cứu cho thấy không có tính đối kháng giữa chống chịu mặn và năng suất, do đó chọn giống chống chịu mặn là chương trình có tính khả thi (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2009). Do vậy, việc tìm nhiều nguồn vật liệu tốt tại địa phương để lai tạo nhằm tạo ra giống mới có năng suất cao, phẩm chất gạo đạt tiêu chuẩn xuất khẩu, tính kháng sâu bệnh cao, tính chống chịu tốt là cần thiết. Ứng dụng những tiến bộ của công nghệ sinh học được xem là công cụ hữu hiệu phục vụ cho công tác chuẩn đoán và xác định nhanh sự có mặt của các gen cần nghiên cứu. Xuất phát từ thực tế nêu trên, trong giai đoạn hiện nay việc “Đánh giá tính kháng rầy nâu và chống chịu mặn một số giống lúa ở Đồng bằng Sông Cửu Long trong điều kiện nhà lưới bằng kỹ thuật sinh học phân tử SSR” nhằm phục vụ tốt cho bà con nông dân ở vùng nhiễm mặn là vấn đề hết sức cấp thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu vật: lúa giống (bảng 1), rầy; Vật liệu: chậu, máy đo độ mặn,...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập, tìm hiểu các giống lúa kháng rầy và giống lúa chống chịu mặn

Giống lúa được thu thập là những giống được người dân trồng khá phổ biến ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Đề tài đã thu thập được 118 giống lúa - bao gồm 105 giống lúa dùng thanh lọc rầy nâu (bảng 1) và 13 giống lúa dùng thanh lọc mặn (bảng 2) (năm 2016 - 2018) và chia thành 2 nhóm để thanh lọc trong điều kiện nhà lưới nhằm đánh giá các đặc tính kháng rầy, đặc tính chống chịu mặn. Trong đó, giống lúa PTB33 và TN1 là giống đối chứng thanh lọc rầy; Giống lúa Pokkali và IR28 là giống đối chứng thanh lọc mặn (Bảng 1 và bảng 2).

2.2.2. Phương pháp đánh giá khả năng kháng rầy nâu và khả năng đáp ứng sinh lý mặn trong điều kiện nhà lưới

a) Phương pháp thanh lọc rầy trong điều kiện nhà lưới

Rầy nâu được thu thập trên các vùng đang nhiễm rầy ở 1 số tỉnh có đất nhiễm mặn như: Bến Tre, Sóc Trăng, Cà Mau, Cần Thơ. Rầy nâu trưởng thành được bắt đem về nuôi trong lồng lưới để sinh ấu trùng và khi trứng nở thành rầy cám tuổi 1 - 2 đồng thời với lúa ở giai đoạn 2 lá mầm (cao khoảng 2,0 cm).

Bố trí: Thanh lọc rầy nâu theo phương pháp hộp mạ của IRRI sử dụng giống chuẩn kháng (PTB33) và một giống chuẩn nhiễm (TN1) để làm đối chứng cộng với các giống lúa muốn thử tính kháng rầy và đánh giá theo SES của IRRI (IRRI, 1999): cấp 0 (rất kháng) đến cấp 9 (nhiễm nặng).

b) Phương pháp khảo sát khả năng đáp ứng sinh lý mặn trong môi trường dinh dưỡng Yoshida

Thanh lọc theo quy trình thanh lọc mặn của IRRI (1999) có cải tiến. Cây mạ được đánh giá cấp điểm theo tiêu chuẩn SES (Standard Evaluating Score) để phân biệt từ miễn cảm đến kháng. Khi cho dung dịch mặn vào dựa vào triệu chứng của cây lúa mà đánh giá tính chống chịu theo tiêu chuẩn của IRRI. Đánh giá khả năng chống chịu mặn, đo chiều cao cây, chiều dài rễ ở các giai đoạn: 7, 14, 21,... ngày đến lúc giống chuẩn nhiễm chết. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ chống chịu mặn ở giai đoạn tăng trưởng và phát triển theo thang điểm 9 cấp của IRRI cấp 1 - cấp 9 (IRRI, 1999).

Bảng 1. Những giống lúa dùng thanh lọc rầy nâu

STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	OM2499	28	OM3960	55	MTL495	82	OM6976
2	OM2514	29	OM4059	56	MTL 499	83	VNĐ 95 - 20
3	OM4095	30	OM4498	57	MTL 500	84	ST20
4	OM4097	31	OM4590	58	MTL 513	85	OC10
5	OM4101	32	OM4993	59	MTL 549	86	Siêu TQ
6	OM4214	33	OM5199	60	MTL 560	87	Một bụi đỏ
7	OM4218	34	OM5241	61	MTL 574	88	OM 2478
8	OM4244	35	OM5243	62	MTL 575	89	OM 2488
9	OM4495	36	OM5453	63	MTL 604	90	OM 3649
10	OM4900	37	OM5490	64	MTL 608	91	OM 3689
11	OM4926	38	OM5637	65	OM 3526	92	OM 5087
12	OM4928	39	OM5756	66	OM 3536	93	OM 5421
13	OM4940	40	OM5884	67	OM 4099	94	OM 5472
14	OM4944	41	OM5900	68	OM 5021	95	OM 5651
15	OM5239	42	OM6068	69	OM 5179	96	OM 5628
16	OM5625	43	OM6297	70	OM 5392	97	OM 5636
17	OM6054	44	OM6367	71	OM 5464	98	OM 5794
18	OM6072	45	OM6369	72	OM 5930	99	OM 5972
19	OM6377	46	OM6512	73	OM 5974	100	OM 5976
20	OM6511	47	OM6517	74	OM 5980	101	OM 6073
21	OM6839	48	OM6561	75	OM 6995	102	OM 6882
22	OM5451	49	OM6677	76	OM2395	103	IR728870
23	IR50404	50	OM7924	77	OM1350	104	MTL 555 - 8
24	OM5472	51	OMCS 2000	78	OM6677	105	MTL 589
25	OM6377	52	PC10	79	NV1	106	OM2395
26	AS996	53	PTB33	80	HĐ1	107	OM2474
27	OM3955	54	TN1	81	MTL480		

Bảng 2. Những giống lúa dùng thanh lọc mặn

STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	Pokkali	6	OM576	11	OM7347
2	Một bụi đỏ	7	OM6976	12	TV13
3	OM4900	8	OM6677	13	OC10
4	CL8	9	OM1350	14	Siêu hàm trâu (lúa Mùa- Trà Vinh)
5	IR50404	10	OM8017	15	IR28

2.2.3 Kiểm tra gen kháng rầy và gen chống chịu mặn bằng kỹ thuật SSR

- Kiểm tra gen kháng rầy nâu trên các giống khảo sát: Thực hiện theo qui trình của Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Cần Thơ dự kiến với cặp mỗi chuyên biệt là RG457FL/RL (RG457L-L).

- Đánh giá sự liên kết của một số marker phân tử SSR đến gen chịu mặn: Quy trình thực hiện với 2 cặp mỗi RM3412 và RM206 (Lang Nguyen Thi and Buu Bui Chi, 2003) được thực hiện dựa trên quy trình CTAB (Rogers and Bendich, 1988). Chu kỳ nhiệt phản ứng tùy thuộc vào từng loại mỗi.

2.2.4. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu thu thập được phân tích thống kê và so sánh theo phép thử LSD ở mức ý nghĩa 5% bằng phần mềm SAS, version 9.1.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6 năm 2016 đến tháng 12 năm 2018 tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học - Đại học Cần Thơ.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu thập và tìm hiểu về giống lúa kháng rầy và giống lúa chống chịu mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long

Đề tài đã thu thập 105 giống lúa dùng thanh lọc rầy nâu và 13 giống lúa dùng thanh lọc mặn trong điều kiện nhà lưới, được bố trí tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ (2016 - 2018). Những giống lúa này đã và đang được trồng khá phổ biến ở nhiều địa phương, tuy nhiên mỗi giống vẫn còn có những hạn chế nhất định. Theo một số nghiên cứu của các tác giả, để có được giống lúa mang nhiều đặc điểm quý là một quá trình biến đổi nguồn gene lâu dài và tăng dần giá trị thích nghi dưới sự tác động của chủ thể trực tiếp. Những giống lúa đã sống và thích nghi tốt tại địa phương, gọi chung là giống địa phương là nguồn giống quý cần được bảo tồn và phát triển nguồn gen quý này, phục vụ cho việc lai tạo (Tăng Thị Hạnh, 2010; Lê Thị Thu Trang, 2011).

3.2. Kết quả thanh lọc rầy nâu và thanh lọc mặn trong điều kiện nhà lưới

3.2.1. Khả năng kháng với độc tính rầy nâu từ một số giống lúa khảo sát trong điều kiện nhà lưới

Với 105 giống lúa, sau khi giống chuẩn nhiễm TN1 vừa chết hết, tiến hành đánh giá các giống thử nghiệm theo thang điểm 9 cấp của IRRI. Các giống có chỉ số hại (CSH) tương đối thấp so với thang chuẩn IRRI. Trong đó các giống thể hiện tính kháng tốt giống chuẩn kháng PTB33 như: OM6377, AS996, OC10, OM6677, ST20, OM5972, OMCS200, OM4900, OM4495, OM5451 có chỉ số hại thấp nhất (cấp 3 - 5), thể hiện ưu thế kháng với độc tính rầy nâu. Các giống còn lại có khả năng kháng thấp và mẫn cảm với độc tính rầy nâu.

Kết quả thanh lọc này giống PTB33 (chuẩn kháng) không thể hiện tính kháng tốt nhất với độc tính của rầy nâu với chỉ số hại là 75,33% và đa số các giống thanh lọc đều có chỉ số hại CSH tương đối cao so với kết quả nghiên cứu (Phạm Thanh Minh,

2011; Tăng Thị Tú Loan, 2011) với giống lúa PTB33 trồng thực nghiệm tại nhà lưới Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học chỉ bị gây hại của PTB33 ở mức 45%. Điều trên cho thấy độc tính của rầy nâu tăng lên theo thời gian tiến hóa của chúng. Theo Nguyễn Thị Giáng Đan (2008), kết quả thanh lọc trong nhà lưới các giống lúa lai của Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học năm 2008, đều kháng rầy nhưng không bền vững và có thể tái nhiễm do độc tính rầy tăng lên.

Như vậy, giống chuẩn kháng và các giống thử nghiệm với rầy nâu thể hiện tính kháng khác nhau qua các kết quả của các nghiên cứu. Theo thời gian thì tính kháng của giống chuẩn kháng PTB33 giảm xuống, điều này cũng cần được kiểm chứng bằng nhiều nguồn giống khác nhau và nhiều nguồn rầy khác nhau. Điều này có thể kết luận, quần thể rầy nâu được bắt và nuôi trong nhà lưới Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học có mang nhiều loại hình sinh học, chứ không phải chỉ là sự pha trộn giữa 2 loại hình sinh học 2 và 3 (Lương Minh Châu và *ctv.*, 2006) và độc tính của rầy nâu cũng thay đổi nên mặc dù các giống có mang gen kháng rầy vẫn bị nhiễm. Với kết quả này, những giống OM6377, AS996, OC10, OM6677, ST20, OM5972, OMCS200, OM4900, OM4495, OM5451 có tính kháng cao có thể sử dụng làm sản xuất hoặc làm vật liệu lai tạo.

3.2.2. Khả năng đáp ứng sinh lí mặn trong môi trường dinh dưỡng Yoshida

Các giống lúa sinh trưởng bình thường ở độ mặn 0‰. Trong điều kiện mặn 4‰ và 6‰ thì mức độ ảnh hưởng của mặn đối với các giống lúa tăng dần theo thời gian. Sau 7 ngày cho vào dung dịch mặn các giống lúa đều biểu hiện nhiễm mặn ở cấp 3 - 5 ở 4‰ và 6‰, thể hiện tính chống chịu cao là các giống Pokkali, Một bụi đỏ, OM7347, TV13 trong 13 giống thanh lọc. Sau 14 ngày, biểu hiện nhiễm mặn của các giống lúa có sự tăng nhẹ ở nồng độ 4‰; còn ở nồng độ 6‰ các giống IR50404, OM6076, OM6677, OM1350 thể hiện sự ảnh hưởng nghiêm trọng của mặn. Tuy nhiên, đến ngày thứ 21 - 28 sự ảnh hưởng mặn biểu hiện rõ rệt, trong đó các giống Pokkali, Một bụi đỏ, OM7347, OM6976, TV13 thể hiện tính chống chịu tốt (cấp 5). Qua đánh giá cho thấy, các giống lúa Pokkali, Một bụi đỏ, OM7347, OM4900, OM6976, Siêu hàm trâu, TV13 thể hiện tính chống chịu tốt trong điều kiện mặn cao. Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Thảo (2012) nhưng trong đánh giá này giống OM4900 thể hiện tính kháng tốt với mặn và cũng phù hợp với kết quả thí nghiệm của Phan Vinh

Quang (2013) đánh giá giống Một bụi đỏ, OM6976 có khả năng chống chịu mặn tốt ở 4‰ - 6‰.

Ảnh hưởng của mặn đến chiều cao thân (Bảng 3): Ở nghiệm thức đối chứng, chiều cao thân lá tăng liên tục, thể hiện sự sinh trưởng bình thường. Ở nồng độ mặn 4‰, các giống lúa Pokkali, Một bụi đỏ, OM4900, OM6976, TV13, OM7347 có chiều cao tăng liên tục ở giai đoạn 7- 14 ngày và phát triển chậm ở giai đoạn 21 ngày thể hiện rõ ở các giống OM8017, OM576, OM6677, Siêu hàm trâu. Ở nồng độ mặn 6‰ các giống IR50404, OM6677, VT13, Siêu hàm trâu lại có sự giảm mạnh và chết sau 21 ngày chùng mặn (thể hiện % giảm lớn). Nhưng các giống Pokkali, Một bụi đỏ, OM4900, OM6976, OM7347 thể hiện tính chống chịu tốt. Kết quả này tương đối phù hợp với nghiên cứu khi khảo sát khả năng chống chịu mặn giống lúa mùa địa phương (Nguyễn Thị Thanh Thảo, 2012; Phan Vinh Quang, 2013).

Bảng 3. Chiều cao thân của các giống lúa giảm sau 21 ngày chùng mặn

Tên giống	Các nghiệm thức (NT) ở 21 ngày chùng mặn		
	NT 0‰ (cm)	Giảm ở NT 4‰ (%)	Giảm ở NT 6‰ (%)
Pokkali	85,53a	11,53j	16,16l
Một bụi đỏ	71,33c	19,06h	29,48j
OM4900	52,47hi	18,29h	21,79k
CL8	54,36gh	21,44g	41,50gf
IR50404	51,867i	38,17d	64,71b
OM576	54,86gh	41,06c	41,91ef
OM6976	69,70cd	26,68e	35,43i
OM6677	56,70gf	38,85d	65,55a
OM1350	58,23f	38,17d	41,09g
OM8017	58,90f	50,76b	42,10e
OM7347	69,10cd	24,64f	44,86d
OC10	61,56e	14,67i	39,74h
TV13	68,80d	24,32f	44,18d
Siêu hàm trâu	78,76b	58,35a	50,90c
CV (%)	2,24*	1,75*	1,07*
LSD _{0,05}	2,39	0,89	0,75

Ghi chú: *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong cùng một cột, các số có cùng chữ số thì không khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo phép thử Duncan ở mức 5%.

Ảnh hưởng của mặn đến chiều dài rễ (Bảng 4): Một số giống có hiện tượng giảm không đáng kể so với giống chuẩn kháng Pokkali, trong số đó giống Một bụi đỏ, OM6976 có sự tăng trưởng tốt nhất ở điều kiện mặn 4 - 6‰ (thể hiện ở chỉ số % giảm nhỏ). Có thể giải thích đây là hiện tượng phản ứng lại với nồng độ mặn nhằm chống lại hiện tượng hạn sinh lý của cây. Kết quả này phù hợp với ghi nhận của Akbar (1986) rằng khi bị mặn ảnh hưởng thì sự sinh trưởng ở ngọn lúa giảm nhiều hơn sự sinh trưởng ở rễ.

Bảng 4. Chiều dài rễ của các giống lúa thanh lọc ở 21 ngày chùng mặn

Tên giống	Các nghiệm thức (NT) ở 21 ngày chùng mặn		
	NT 0‰ (cm)	Giảm ở NT 4‰ (%)	Giảm ở NT 6‰ (%)
Pokkali	21,86bcd	10,67i	14,85j
Một bụi đỏ	16,86e	10,80i	14,00k
OM4900	24,60a	13,55g	17,48g
CL8	24,10ab	14,11g	23,65b
IR50404	23,20abc	18,82d	35,49a
OM576	20,13ab	23,31a	21,42c
OM6677	23,80ab	16,73e	19,20e
OM6976	21,00cd	13,67gh	13,57l
OM1350	21,90bcd	21,61b	18,26f
OM8017	15,43e	13,24h	16,05h
OM7347	15,33e	16,96e	17,39g
OC10	20,96cd	19,50c	19,64d
TV13	21,76bcd	16,13f	15,36i
Siêu hàm trâu	20,03d	21,34b	15,67i
CV (%)	6,96*	1,97*	1,17*
LSD _{0,05}	2,46	0,55	0,37

Ghi chú: *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$); ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong cùng một cột, các số có cùng chữ số thì không khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê theo phép thử Duncan ở mức 5%.

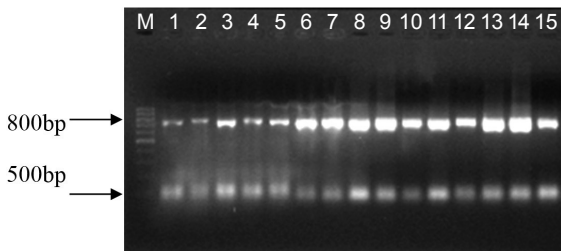
3.3. Kết quả phân tích gene kháng rầy và gene chống chịu mặn bằng kỹ thuật SSR

Sau khi thanh lọc trong nhà lưới, để tài chọn các giống từ hơi kháng đến kháng rầy nâu để trích DNA.

Bảng 5. Các giống lúa được chọn để trích DNA

STT	Tên giống	CSH	STT	Tên giống	CSH
1	PTB33	75%	7	OMCS200	69%
2	OM6677	62%	8	IR50404	81%
3	OM4900	62%	9	OM4495	80%
4	OM6377	46%	10	OM5972	63%
5	AS996	65%	11	OM5451	78%
6	ST20	71%	13	OM2395	78%
7	OC10	67%	14	OM1305	81%
			15	OM6695	71%

Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi RG457L-L nhằm phát hiện gen *Bph10* nằm trên nhiễm sắc thể số 12 của cây lúa, kháng rầy nâu Biotype 2 và 3 trên các giống lúa được chọn và sản phẩm gene kháng chụp dưới tia UV ở độ dài 800 bp.



Hình 1. Sản phẩm PCR các giống lúa trên thang chuẩn 1000bp

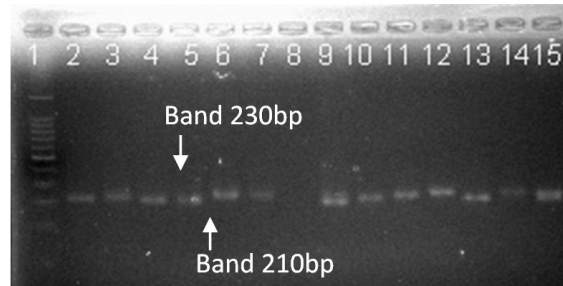
Ghi chú: Giếng 1: Ladder; Giếng 2 - 15: Giống kiểm tra.

Qua băng hình sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5%, ta thấy ngoài DNA được khuếch đại với băng ở khoảng 750 - 800 bp. Như vậy, các giống kháng rầy được phân tích đều có mang gen kháng rầy nâu. Điều này phù hợp với kết quả thí nghiệm của (Tăng Thị Tú Loan và Phạm Thanh Minh, 2011; Phạm Văn Một, 2014) khi thử nghiệm cặp mồi RG457L-L để phát hiện gen *Bph10* nằm trên nhiễm sắc thể số 12 của cây lúa. Theo Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2009) khi thực hiện phản ứng PCR với việc sử dụng cặp mồi RG457L-L thì đoạn DNA được khuếch đại có kích thước khoảng 750 - 800 bp, thể hiện một band rõ nét trên hình gel chụp dưới tia UV.

3.4. Đánh giá sự liên kết của một số marker phân tử SSR với gen chống chịu mặn của cây lúa

3.4.1. Marker RM3412

Kết quả phân tích của marker RM3412 cho thấy, giống chuẩn kháng mặn Pokkali biểu hiện band 210 bp. Các giống cho biểu hiện band tương đồng với giống Pokkali là Một bụi đỏ, OM4900, OM6576, OM6976, OM8017, OM7347, TV13, Siêu hàm trâu. Các giống CL8, IR50404, OM6677, OC10 không mang gene kháng (giếng 4, 5, 9, 13).

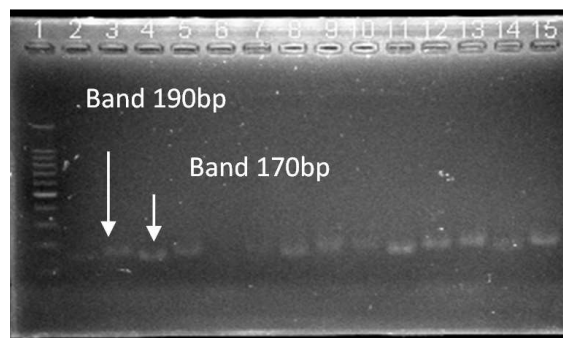


Hình 2. Sản phẩm PCR của marker RM3412

Ghi chú: Giếng 1: Ladder; Giếng 2 - 15: Giống kiểm tra.

3.4.2. Marker RM206

Qua kết quả phân tích băng hình cho thấy các giống cho biểu hiện các band tương ứng với giống chuẩn kháng mặn Pokkali biểu hiện ở 170 bp là Một bụi đỏ, OM6976, OM7347, TV13, Siêu hàm trâu. Các giống còn lại chưa thể hiện rõ do band quá mờ có thể do lượng DNA thấp hoặc do 2 band gần nhau quan sát. Kết quả này cũng khá phù hợp với kết quả đánh giá ở thí nghiệm thanh lọc trong nhà lưới của Lê Xuân Thái (2012) và cho thấy marker RM206 liên kết chặt với gene chịu mặn ở cây lúa.



Hình 3. Sản phẩm PCR của marker RM206

Ghi chú: Giếng 1: Ladder; giếng 2 - 15: giống kiểm tra.

IV. KẾT LUẬN

Qua sàng lọc 118 giống lúa được thu thập tại địa phương ở một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long, nghiên cứu đã chọn lọc được 10 giống kháng tốt với độc tính rầy nâu và 2 giống lúa có khả năng đáp ứng sinh lý với điều kiện mặn trong điều kiện nhà lưới. Trong 105 giống được thanh lọc rầy nâu đa phần tính kháng thấp. Điều này cho thấy, độc tính rầy nâu ngày được tăng lên có sự pha trộn các Biotype rầy và diễn biến phức tạp. Tuy nhiên để tài cũng chọn lựa được các giống có tính kháng khá tốt so với giống chuẩn kháng rầy nâu PTB33 (CSH 75,33%) và có liên kết với gene kháng rầy nâu *Bph10* như OM6377, AS996, OC10, OM6677, ST20, OM5972, OMCS200, OM4900, OM4495, OM5451. Bên cạnh đó để tài cũng đã chọn được 2 giống Một bụi đỏ và giống OM6976 thể hiện khả năng đáp ứng sinh lý mặn ở 4 - 6% và có mang gene chống chịu mặn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lương Minh Châu, Lương Thị Phương và Bùi Chí Bửu**, 2006. Đánh giá tính kháng của các tổ hợp lúa năng suất cao, phẩm chất tốt đối với quần thể rầy nâu tại Đồng bằng sông Cửu Long 2003 - 2005. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Kỳ 2, 4/2006: 16- 18.
- Nguyễn Thị Giáng Đan**, 2008. *Thanh lọc trong nhà lưới các giống lúa lai kháng rầy nâu*. Luận văn tốt nghiệp. Ngành Công nghệ Sinh học. Viện NC & PT ĐBSCL, Đại học Cần Thơ.
- Tăng Thị Hạnh**, 2010. Nghiên cứu khả năng chống chịu mặn của một số nguồn gene lúa lưu trữ tại ngân hàng gene cây giống Quốc gia. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Hà Nội. Quyển 17/2010: 119 - 127.
- IRRI**, 1999. *Hệ thống tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu**, 2009. *Giống lúa và sản xuất hạt giống lúa tốt*. NXB Nông nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh, tr.29-83.
- Tăng Thị Tú Loan**, 2011. *Khảo sát quần thể lai trong công tác chọn tạo các giống lúa (Oryza sativa L.) kháng rầy (Nilaparvata lugens Stal) cho vùng phèn, mặn*. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Phạm Thanh Minh**, 2011. *Khảo sát các tổ hợp lai trong công tác chọn tạo giống lúa (Oryza sativa L.) kháng rầy nâu (Nilaparvata lugens Stal)*. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Phạm Văn Một**, 2014. *Khảo sát các tổ hợp lai trong công tác chọn tạo giống lúa kháng rầy nâu*. Luận văn Thạc sĩ Nông học. Đại học Cần Thơ.
- Phan Vinh Quang**, 2013. *Ứng dụng chỉ thị phân tử SSR trong xác định gen chống chịu mặn của một số giống lúa mùa địa phương*. Luận văn tốt nghiệp chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường ĐH Cần Thơ.
- Lê Xuân Thái, Trần Nhân Dũng và Nguyễn Hoàng Khải**, 2012. Nguồn gen kháng rầy nâu của các giống lúa phổ biến ở Đồng bằng sông cửu Long năm 2008 -2011. *Tạp chí Đại học Cần Thơ*, Số 22a (2012), Trang 115-122.
- Nguyễn Thị Thanh Thảo**, 2012. *Tuyển chọn và tái sinh một số giống lúa có khả năng chịu mặn thích ứng với biến đổi khí hậu ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Luận văn Thạc sĩ. Đại học Cần Thơ.
- Lê Thị Thu Trang**, 2011. Nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen liên quan đến tính chịu mặn ở cây lúa Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. Hà Nội. Quyển 9/2011: 56 -72.
- Akbar M**, 1986. Breeding for Salinity Tolerance in rice, Prospects for Biosaline Research. In *Proceedings of US-Pakistan Biosaline Research Workshop*. Karachi, Pakistan, pp. 38-54.
- IRRI**, 1999. *The Standard Evaluation System for Rice*. Los Banos, Philippines.
- Lang Nguyen Thi and Buu Bui Chi**, 2003. Genetic and physical maps of gene Bph-10 controlling brown plant hopper resistance in rice (*Oryza sativa L.*). *Omon rice*, 11: 35-41.
- Rogers, S.O. and A.J. Benedich**, 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology Report*, 5(2): 69-76.

Evaluation of brown plant hopper resistance and salt tolerance of rice varieties in the Mekong Delta by molecular markers

Pham Thanh Minh, Tran Nhan Dung, Le Vinh Thuc

Abstract

Evaluation of brown plant hopper resistance and salt tolerance of rice varieties by screening in greenhouse and using SSR marker is a modern and highly effective method. 105 rice varieties collected from the Mekong Delta were screened with brown plant hopper population in nethouse of the *Cuu Long Delta Rice* Research Institute by IRRI method in combination with genotype identification by primer pairs RG457FL/RL. The results showed that 10 rice varieties resistant to brown planthopper as OM6377, AS996, OC10, OM6677, ST20, OM5972, OMCS200, OM4900, OM4495, OM5451 in comparison with standard resistant varieties to planthopper PTB33 with damage index of 75.33%. Besides, 13 rice varieties and control variety Pokkali (salt tolerance) were screened on salt tolerance at seedling stage in the greenhouse with a solution Yoshida supplemented with sodium chloride of different concentrations as 0‰, 4‰, 6‰ in combination with two primers RM3412 and RM206. 4 rice varieties including OM4900, OM7347, VT13, Mot bui do were identified to be high salt tolerance and 3 other varieties OM6976, OM8017, Sieu ham trau were moderately tolerant to salinity.

Keywords: plant hopper resistnace, salt tolerance, SSR marker

Ngày nhận bài: 21/8/2019

Ngày phản biện: 2/9/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Phong Lan

Ngày duyệt đăng: 14/10/2019

ẢNH HƯỞNG CỦA CHIẾU XẠ TIA GAMMA (Co^{60}) ĐẾN KHẢ NĂNG TẠO BIẾN DỊ CỦA GIỐNG ĐẬU TƯƠNG DT2012

Lê Đức Thảo¹, Phạm Thị Bảo Chung¹, Nguyễn Văn Mạnh¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của chiếu xạ tia gamma (Co^{60}) trên hạt khô ở các liều 150, 180, 200, 220 và 250 Gy đến khả năng tạo biến dị của giống đậu tương DT2012. Kết quả cho thấy, chiếu xạ đã tạo ra hàng loạt các biến dị kiểu hình của giống đậu tương DT2012 với liều chiếu xạ có phổ biến dị rộng nhất là 200 Gy; tần số biến dị có xu hướng tăng theo liều tăng liều chiếu xạ, đạt cao nhất ở 250 Gy (58,5%) ở thế hệ M_1 và M_2 . Thế hệ M_2 đã thu được 50 cá thể mang biến dị có lợi cho chọn tạo giống mới.

Từ khóa: Biến dị, đột biến, chiếu xạ, đậu tương

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đến năm 2015, Việt Nam đã công nhận và đưa vào sản xuất 61 giống cây trồng đột biến, đứng thứ 8 trên thế giới, trong số 11 giống đậu tương đột biến được chọn tạo thì 8 giống (chiếm 72,7%) được chọn tạo bằng chiếu xạ tia gamma như DT83, DT84, DT90, DT99, DT2008... (Phạm Thị Bảo Chung, 2015; Nguyễn Văn Mạnh và *ctv.*, 2016a, 2016b). Tuy nhiên, tại Việt Nam chưa có một thiết bị chiếu xạ chuyên dụng cho nông nghiệp mà phải dựa vào các thiết bị chiếu xạ y tế hay chiếu xạ công nghiệp nên không thể xác định được liều chiếu xạ một cách chính xác và không thể chủ động được hướng nghiên cứu cũng như đào tạo lâu dài. Thực hiện đề tài “Nghiên cứu thiết kế, chế tạo thiết bị chiếu xạ gamma dùng nguồn phóng xạ đã qua sử dụng”, Trung tâm Đánh giá không phá huỷ đã chế tạo thiết bị gamma cell phục vụ chiếu xạ gây đột biến cây trồng tại Viện Di truyền Nông nghiệp.

Với mục tiêu đánh giá hoạt động của thiết bị gamma cell, đồng thời tạo ra các biến dị có lợi, tạo nguồn vật liệu phục vụ công tác chọn tạo giống đậu tương, Viện Di truyền Nông nghiệp đã chiếu xạ hạt khô giống DT2012 bằng gamma cell.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống đậu tương DT2012 do Viện Di truyền Nông nghiệp chọn tạo, sinh trưởng khá, năng suất cao và ổn định từ 2,0 - 2,8 tấn/ha thích ứng rộng, trồng được 3 vụ/năm nhưng thời gian sinh trưởng trung ngày từ 91 - 100 ngày, bộ lá lớn (Phạm Thị Bảo Chung, 2015).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị hạt chiếu xạ: Hạt giống siêu nguyên chủng, độ sạch > 99%, tỷ lệ hạt nảy mầm > 95%, 500 hạt/liều chiếu xạ.

Chiếu xạ tia gamma: Hạt khô được chiếu xạ bằng thiết bị chiếu xạ gamma cell nguồn Co^{60} tại Trung tâm chiếu xạ đánh giá không phá huỷ (NED) với hoạt độ nguồn là 231 Ci, suất liều 87,86 Gy/h ở 150, 180, 200, 220 và 250 Gy. Đối chứng là 500 hạt không chiếu xạ (0 Gy).

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí tuần tự theo liều chiếu xạ từ thấp đến cao, có đối chứng xen kẽ.

Phương pháp sàng lọc biến dị: Sử dụng phương pháp quan sát đặc điểm hình thái trên quần thể đậu tương ở thế hệ M_1 và M_2 trong điều kiện đồng ruộng.

Các chỉ tiêu nghiên cứu theo Quy chuẩn Việt Nam QCVN 01-58/2011/BNNPTNT (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2011).

Xử lý số liệu trên phần mềm Excel 2007.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 09/2018 đến tháng 6/2019 tại Khu thí nghiệm đậu tương của Viện Di truyền Nông nghiệp tại xã Đồng Tháp, Đan Phượng, Hà Nội.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chiếu xạ tia gamma (Co^{60}) đến tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ sống sót của giống đậu tương DT2012 ở thế hệ M_1 và M_2

Kết quả số liệu ở bảng 1 cho thấy, không có sự khác biệt rõ về tỷ lệ nảy mầm ở các liều chiếu xạ khác nhau so với đối chứng (0 Gy). Tỷ lệ nảy mầm ở các liều chiếu xạ dao động từ 97,0 - 99,0% ở thế hệ M_1 và 98,7 - 100% ở thế hệ M_2 . Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của tác giả Lê Đức Thảo và cộng tác viên (2015^b, 2017) khi nghiên cứu ảnh hưởng của chiếu xạ tia gamma cho hạt khô trên các giống đậu tương.

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp