NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP MABC TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP AS996

Doãn Thị Hương Giang[1], Lưu Minh Cúc[1], Lê Huy Hàm[1]

TÓM TẮT

Phương pháp ứng dụng chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC) đã được sử dụng để cải tiến giống lúa AS996 phổ biến thành giống lúa có thể chịu ngập mà vẫn duy trì các đặc tính ban đầu đang được nông dân và người tiêu dùng đón nhận. QTL chịu ngập *Sub1* giữ vai trò tới 70% tính chịu ngập. Gen này được quy tụ vào giống AS996 bằng lai trở lại và hỗ trợ của chỉ thị phân tử. Nghiên cứu đã sử dụng 460 chỉ thị phân tử để đánh giá đa hình của bố mẹ; trong đó, 53 chỉ thị đa hình được sử dụng để đánh giá các thế hệ BC1F1, BC2F1 và BC3F1. Sau ba thế hệ lai trở lại, việc ứng dụng MABC đã tạo ra cá thể BC3F1 tốt nhất với 100% nền di truyền của giống nhân gen và kích thước gen chuyển *Sub1* là 0.3 Mb, nằm giữa 2 chỉ thị phân tử ART5 và SC3. Chọn lọc kiểu hình được thực hiện trên thế hệ BC3F2 của các dòng đã được lựa chọn. Tỷ lệ sống sót của những dòng đã chọn này và IR64 *Sub1* gần như giống nhau. Các dòng BC3F3 có đặc điểm nông sinh học tốt tiếp tục được chọn lọc để tạo giống lúa chịu ngập mới ASS996-*Sub1* thích ứng với biến đổi khí hậu.

Từ khóa: Chọn giống, cây lúa, MABC, chịu ngập, QTL *Sub1*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến đổi khí hậu là một trong những thách thức lớn nhất của nhân loại thế kỷ 21. Hiện tượng biến đổi khí hậu kéo theo sự gia tăng của nhiệt độ trái đất, sự dâng cao của mực nước biển gây nên ngập lụt và gây nhiễm mặn nguồn nước ảnh hưởng lớn tới sản xuất nông nghiệp (Phạm Khôi Nguyên, 2009). Hiện tượng ngập úng là một vấn đề phổ biến của sản xuất nông nghiệp nước ta, riêng khu vực Đồng bằng sông Cửu Long hiện có khoảng 600.000 ha đất nông nghiệp bị ảnh hưởng của ngập úng thường xuyên (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2011). Vì vậy cải thiện khả năng chịu ngập của các giống lúa là yêu cầu cấp thiết trong điều kiện canh tác mới dưới tác động của hiện tượng biến đổi khí hậu toàn cầu. Việc phát triển và sử dụng chỉ thị phân tử để đẩy nhanh quá trình quy tụ gen đó vào những giống mới năng suất cao thông qua phương pháp chọn giống lai trở lại kết hợp với chỉ thị phân tử (marker assisted backcrossing - MABC) (Thomson *et al.*, 2009; Septiningsih *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2009) đã đạt được các kết quả bước đầu. Mục tiêu của nghiên cứu là ứng dụng phương pháp MABC nhằm đưa QTL *Sub1* vào giống lúa AS996 mà vẫn giữ nguyên nền gen của giống AS996 để tạo giống chịu ngập thích hợp sinh thái vùng Đồng bằng ven biển của Đồng bằng sông Cửu Long.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống lúa nhận gen: Là giống AS996, ngắn ngày, chất lượng gạo trung bình, năng suất khá cao được trồng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long.

- Giống cho gen: Là giống IR64-*Sub1* được nhập nội từ Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế, mang locus gen Sub1, là QTL chính chịu trách nhiệm tới 70% tính chịu ngập chìm trong giống lúa.

- Giống lúa mẫn cảm với ngập trong thí nghiệm đánh giá tính chịu ngập là giống IR42 nhập nội từ Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế.

- Hơn 460 chỉ thị SSR đã được sử dụng trong nghiên cứu.

- Các vật tư, hóa chất sinh học phân tử chuyên dụng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp chọn giống MABC: AS996 được lai với IR64 *Sub1* để thu hạt lai F_1. Thế hệ F_1 được lai trở lại với AS996 để thu một lượng lớn BC_1F_1, BC_2F_1 và BC_3F_1.

- 460 chỉ thị SSR rải rác trên 12 nhiễm sắc thể của lúa sử dụng cho việc sàng lọc chỉ thị đa hình dùng trong sàng lọc gen đích, tái tổ hợp và nền gen ở các thế hệ chọn giống BC_1F_1, BC_2F_1 và BC_3F_1.

- Phân tích ADN cá thể của các thế hệ lai trở lại với các chỉ thị SSR, điện di trên gel polyacrylamide 6%, ghi nhận số liệu lại trên Excel.

- Phân tích số liệu bằng phần mềm Graphical Genotyper (GGT 2.0) (Van Berloo, 2008).

- Đánh giá mức độ chịu ngập theo phương pháp tiêu chuẩn của IRRI với điểm đánh giá từ 1 đến 9 (IRRI, 2014).

- Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh RCB.

- Đánh giá đặc tính nông sinh học của các dòng chọn giống theo phương pháp chọn giống truyền thống.

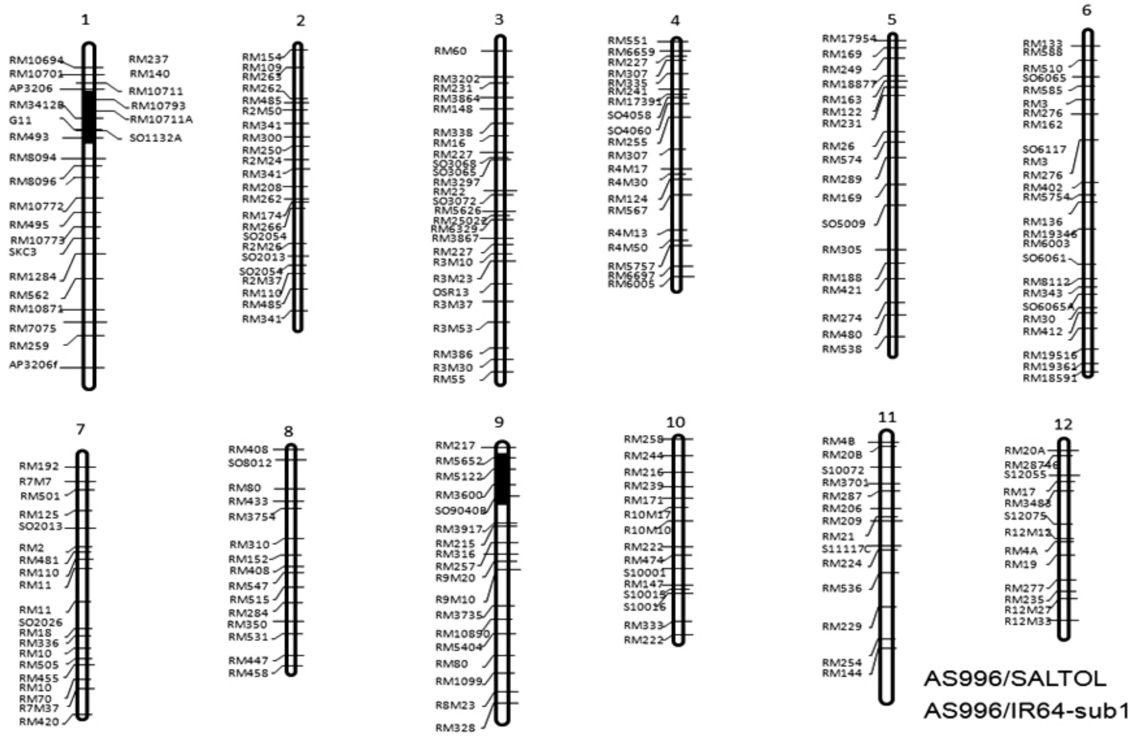
[1] Viện Di truyền Nông nghiệp

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa hình các giống bố mẹ giữa giống cho và nhận gen kháng

Trong nghiên cứu này đã sử dụng tổng số 460 chỉ thị SSR rải rác trên 12 nhiễm sắc thể lúa để xác định các chỉ thị đa hình ADN giữa giống lúa AS996 và IR64*Sub1*.

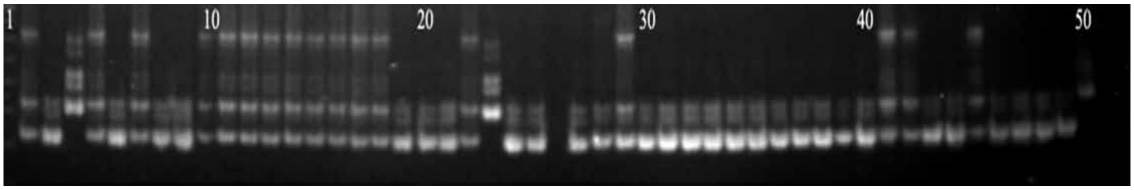
Trên hình 1 là những chỉ thị đã dùng để đánh giá đa hình các giống bố mẹ. Kết quả cho thấy 53 chỉ thị SSR (chiếm 11,3%) cho đa hình giữa hai giống bố mẹ bao gồm 12 chỉ thị nằm trên nhiễm sắc thể số 9, chỉ thị ART5 và SC3 nằm trong vùng gen kháng, 7 chỉ thị nằm ngoài vùng gen kháng, các chỉ thị còn lại rải rác tại các vị trí khác nhau trên 12 nhiễm sắc thể.



Hình 1. Các chỉ thị phân tử đã sử dụng trong sàng lọc đa hình các giống bố mẹ

3.2. Đánh giá kiểu gen thế hệ BC_1F_1

Bước sàng lọc gen đích với tổng số 497 cây BC_1F_1 được đánh giá trên hai chỉ thị liên kết chặt với QTL *Sub1* là chỉ thị ART5 (6,3 Mb) và SC3 (6,6 Mb). Đã tìm được 165 cây BC_1F_1 mang đồng thời cả hai băng đối với hai chỉ thị trên. Bước sàng lọc cá thể tái tổ hợp được tiến hành đối với các chỉ thị nằm cùng trên nhiễm sắc thể mang gen kháng và về hai phía của gen kháng. Sau bước sàng lọc thứ hai này, mười bốn cá thể có tái tổ hợp tại vị trí gen kháng đã được chọn lựa. Trong số các cá thể này, có 5 cá thể mang vị trí tái tổ hợp hai lần, trong khi 9 cá thể còn lại chỉ tái tổ hợp một lần. Cả 14 cá thể này được sàng lọc nền gen với 26 chỉ thị trên các nhiễm sắc thể còn lại. Kết quả là nền gen của giống nhận gen thu được từ 62,5% đến 87,5%. Các cá thể BC_1F_1 mang hai băng dị hợp tử của cả bố mẹ sẽ được chọn lựa như trong hình 2. Cuối cùng, cây tốt nhất (cá thể mang 87,5% nền gen của giống nhận gen và có chứa QTL *Sub1*) được chọn ra trong thế hệ BC_1F_1 được dùng để tiếp tục lai tạo phát triển quần thể BC_2F_1.

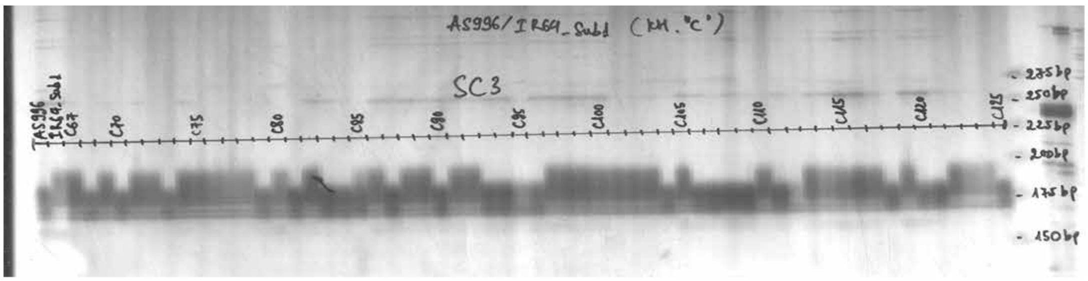


Hình 2. Sàng lọc các các thể thế hệ BC_1F_1 (tổ hợp AS996/IR64 *SUB1*) sử dụng chỉ thị SC3.
Giếng 1: thang chuẩn 25bp, giếng 2 - 25 và 27 - 48: các cá thể BC1F1, giếng 49: AS996, giếng 50: IR64 *Sub1*.

3.3. Đánh giá kiểu gen thế hệ BC_2F_1

Trong số 506 cá thể của thế hệ BC_2F_1, có 245 cây chứa QTL *Sub1* khi sàng lọc với chỉ thị ART5 và SC3 trong vùng gen đích *Sub1*. Các cá thể này được chọn ra để sàng lọc nền gen của giống nhận gen với các chỉ thị nằm về hai phía của gen kháng trên nhiễm sắc thể số số 9.

Sau bước sàng lọc đó, tổng cộng đã chọn ra được 17 cây tái tổ hợp. Tiến hành sàng lọc nền di truyền trên các nhiễm sắc thể còn lại với các chỉ thị đã cho đa hình. Kết quả đánh giá được phân tích trên Excel cho thấy, tỷ lệ tối đa của các alen giống nhận gen là 94,7 %; tối thiểu là 89,7%. Các cây có alen giống nhận gen từ 94,7% đến 90,6% đã được sử dụng để lai tạo phát triển thế hệ BC_3F_1.



Hình 3. Sàng lọc các cá thể BC_2F_1 của tổ hợp AS996/IR64*Sub1* sử dụng chỉ thị SC3.
Giếng 1: AS996, giếng 2: IR64*Sub1*, C67-C215: các cá thể BC_2F_1

3.4. Đánh giá kiểu gen thế hệ BC_3F_1

Tổng 445 cây của thế hệ BC_3F_1 được sàng lọc QTL *Sub1* sử dụng chỉ thị ART5 và SC3. Từ đó, lựa chọn được 124 cây dị hợp tử tại vùng gen kháng. Bước sàng lọc nền di truyền sử dụng 52 chỉ thị đã chọn ra 22 cây có nền di truyền cao, trong đó có một cây (cây P422) có mang gen kháng và có nền di truyền của giống nhận gen tới 100% đối với các chỉ thị đã sử dụng.

Các cây BC_3F_1 này đã được gieo trồng để thu hạt BC_3F_2 nhằm sàng lọc khả năng chịu ngập cũng như đánh giá các đặc tính nông sinh học tốt cho mục tiêu chọn giống.

3.5. Kết quả thanh lọc ngập

Tiến hành thanh lọc ngập cho 22 dòng BC_3F_2 thu được và hai giống bố mẹ AS996 và IR64*Sub1*. Sau 10 ngày làm ngập hoàn toàn ở độ sâu mực nước 1,2 mét kết quả đạt được như sau: Tỷ lệ sống của giống mẫn cảm ngập biến động từ 0 đến 20%, trong khi đó giống chuẩn chịu ngập IR64*Sub1* có tỷ lệ sống biến động từ 53% đến 67%. Tỷ lệ sống của các dòng thí nghiệm biến động từ 0% đến 97%. Để đánh giá khả năng chịu ngập úng của các dòng thí nghiệm, đã tiến hành so sánh tỷ lệ sống của chúng so với giống đối chứng chịu ngập úng (IR64*Sub1*) ở cùng khối.

Kết quả ghi nhận được:

+ Ở khối thứ nhất có 04 dòng có tỷ lệ sống bằng hoặc cao hơn so với giống chuẩn chống chịu ngập là C1, C8, C2, và C13 với tỷ lệ sống khi so với giống chuẩn chống chịu theo thứ tự là 100%, 113%, 156% và 163%.

Bảng 1. Tỷ lệ nền di truyền giống nhận gen AS996 qua các thế hệ

STT	Dòng	BC_1F_1	BC_2F_1	BC_3F_1
1	C1	87,5	94,7	98,7
2	*C2 (P422)*	*87,5*	*94,7*	*100,0*
3	C3	87,5	94,7	98,7
4	C4	87,5	94,7	96,1
5	C5	87,5	94,7	98,7
6	C6	87,5	94,7	98,7
7	C7	87,5	94,7	98,7
8	C8	87,5	94,7	98,7
9	C9	87,5	94,7	98,7
10	C10	81,2	90,6	94,7
11	C11	81,2	90,6	94,7
12	C12	81,2	90,6	94,7
13	C13	87,5	90,6	94,7
14	C14	87,5	90,6	94,7
15	C15	87,5	90,6	92,1
16	C16	87,5	90,6	94,7
17	C17	87,5	94,7	98,7
18	C18	87,5	90,6	92,1
19	C19	87,5	90,6	98,7
20	C20	87,5	90,6	94,7
21	C21	81,2	90,6	94,7
22	C22	81,2	90,6	94,7

+ Ở khối thứ hai có 06 dòng có tỷ lệ sống bằng hoặc cao hơn so với giống chuẩn chống chịu IR64-*Sub1* là C11, C6, C12, C22, C15 và C10 với tỷ lệ sống so với giống đối chứng chịu ngập theo thứ tự là 100%, 105%, 110%, 110%, 125% và 145%.

Như vậy, từ kết quả thanh lọc trên chọn được 10 dòng (C1, C8, C2, C13, C11, C6, C12, C22, C15, C10) có khả năng chịu ngập tương đương với giống đối chứng chịu ngập IR64*Sub1* để làm các dòng chọn giống trong các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Kết quả thanh lọc ngập các dòng BC_3F_2

STT	Tên giống	Xử lý ở 21 ngày tuổi + 10 ngày làm ngập hoàn toàn				
		Số cây sống	Tỷ lệ sống	Đánh giá		
				% so với IR64*Sub1*	>=100%	<100%
Khối 1						
1	IR64*Sub1*(CK)	36	53	100	Chịu ngập	
2	C1	30	37	100	Chịu ngập	
3	C6	16	20	38		Mẫn cảm
4	C2	35	83	156	Chịu ngập	
5	C19	25	50	75		Mẫn cảm
6	C8	28	60	113	Chịu ngập	Mẫn cảm
7	C4	19	30	56		Mẫn cảm
8	C7	19	30	56		Mẫn cảm
9	C17	37	57	85		Mẫn cảm
10	C21	19	30	56		Mẫn cảm
11	IR42 (CN)	5	10	19		Mẫn cảm
12	C13	30	67	163	Chịu ngập	Mẫn cảm
13	C18	35	50	75		Mẫn cảm
Khối 2						
14	IR64*Sub1*(CK)	30	67	100	Chịu ngập	
15	C5	16	22	39		Mẫn cảm
16	C20	32	73	110		Mẫn cảm
17	C15	35	83	125	Chịu ngập	
18	C3	20	33	63		Mẫn cảm
19	C9	18	27	50		Mẫn cảm
20	C11	39	67	100	Chịu ngập	
21	C12	32	40	110	Chịu ngập	
22	C10	32	73	145	Chịu ngập	
23	C6	31	70	105	Chịu ngập	
24	C16	24	47	70		Mẫn cảm
25	C22	31	70	110	Chịu ngập	
26	IR42 (CN)	5	10	15		Mẫn cảm

3.6. Đánh giá đặc tính nông sinh học của các dòng BC_3F_2 AS996 - *Sub1*

10 dòng có khả năng chịu ngập ở thí nghiệm trên được gieo trồng để đánh giá các đặc tính nông sinh học và các yếu tố cấu thành năng suất để chọn ra các dòng triển vọng. Kết quả đánh giá cho thấy, các dòng có năng suất dao động từ 43,2 - 59,6 tạ/ha. Dòng có năng suất cao nhất là dòng C13 (59,6 tạ/ha); có 3 dòng C2, C8 và C13 có năng suất cao hơn giống đối chứng bố mẹ từ 11,2% đến 11, 6%. Các dòng này được lựa chọn để phát triển quần thể ở thế hệ tiếp theo.

Như vậy, vụ Thu Đông đã đánh giá 10 dòng có khả năng chịu ngập được phát triển từ các dòng đã chọn qua thanh lọc ngập và chọn dòng ở vụ trước. Kết quả đã chọn được 3 dòng triển vọng phát triển tốt trên vùng nhiễm ngập của tỉnh Bạc Liêu. Đó là dòng C2, C8 và C13 có độ thuần tương đối tốt, năng suất cao, dạng hình đẹp, kháng sâu bệnh khá.

Bảng 3. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng AS996-*Sub1*

TT	Tên dòng	Số bông/ khóm	Số hạt/bông	Tỉ lệ lép (%)	P1000 hạt (g)	NSLT tạ/ha	NSTT (tạ/ha)
1	C1	4,6±0,7	126,3±25,9	6,1	26,3	64,5	48,2
2	*C2*	*5,2±0,6*	*153±56,6*	*12,7*	*28,6*	*89,3*	*57,4*
3	C6	4,9±0,8	134,7±30,2	8,9	25,9	62,5	46,3
4	*C8*	*5,0±0,6*	*154,2±23,1*	*8,4*	*27,9*	*88,5*	*58,2*
5	C10	4,6±0,9	134,2±26,5	9,3	26,5	66,8	48,8
6	C11	5,0±0,6	130,6±30,4	4,5	27,7	69,2	51,2
7	C12	4,8±1,1	137,7±34,9	6,5	28,1	78,2	52,3
8	*C13*	*5,9±0,7*	*146,5±19,2*	*9,4*	*26,5*	*93,5*	*59,6*
9	C15	4,4±0,5	167,1±31,8	8,4	25,8	78,1	52,1
10	C22	4,3±0,6	134±40,9	8,2	26,5	63,1	47,2
11	AS996	4,7±0,6	145,2±21,9	23,6	26,6	62,3	51,3
12	IR64*Sub1*	5,3±1,2	85,4±19,8	10,0	25,3	55,6	43,2
	CV						*8,98*
	$LSD_{.05}$						*0,73*

IV. KẾT LUẬN

- Đã sử dụng 53 đa hình chỉ thị để sàng lọc các thế hệ quần thể hồi giao BC_1F_1 đến BC_3F_1 nhằm chọn được các cá thể mang gen kháng và có tối đa nền di truyền của giống nhận gen.

- Đã thu được các cá thể BC_3F_1 có gen chịu ngập *Sub1* và mang tới 94,7 - 100% nền gen của AS996 đối với 53 chỉ thị được sử dụng.

- Nghiên cứu đánh giá tính chịu ngập kết hợp với khả năng sinh trưởng, phát triển, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng chịu ngập AS996-*Sub1* đã chọn được 3 dòng C2, C8, C13 có độ thuần tương đối tốt, năng suất cao, dạng hình đẹp để phát triển quần thể ở thế hệ sau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Phạm Khôi Nguyên, 2009. Diễn đàn *"Quan điểm toàn cầu về rừng và biến đổi khí hậu"*. Copenhagen, Đan Mạch tháng 12 năm 2009.

IRRI, 2014. *Hệ thống đánh giá tiêu chuẩn chịu ngập của cây lúa IRRI.*

Septiningsih EM., Pamplona AM., Sanchez DL., Maghirang-Rodriguez R, Neeraja CN, Vergara GV, Heuer S, Ismail AM, Mackill DJ, 2009. Development of submergence-tolerant rice cultivars: The Sub1 gene and beyond, *Ann. Bot.* 103:151-160.

Singh S, Mackill DJ, Ismail AM, 2009. Responses of SUB1 rice introgression lines to submergence in the field: Yield and grain quality. *Field Crops Res.* 113: 12-23.

Thomson M.J., Ismail A.M., McCouch S.R., Mackill D.J., 2009. "Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation", *Marker Assisted Breeding*. Chapter 20. Springer Science & Business Media: 451-469.

Van Berloo R., 2008. GGT 2.0: versatile software for visualization and analysis of genetic data. *J. Hered* 99:232-236.

Application of MABC method in breeding of submergence-tolerant rice variety AS996

Doan Thi Huong Giang, Luu Minh Cuc, Le Huy Ham

Abstract

Marker-assisted backcrossing (MABC) was used to improve popular rice variety AS996 into the one can tolerate submergence while maintaining its original characteristics preferred by farmers and consumers. The submergence tolerance QTL *Sub1* counts for up to 70% of the submergence. This gene was introgressed into AS996 by using marker-assisted backcrossing. Parental diversity was analyzed by 460 markers. Of which, 53 polymorphic markers were used for assessment on BC_1F_1, BC_2F_1 and BC_3F_1 generations. After three generations of backcrossing, the best BC_3F_1 individuals with 100% of recipient alleles were selected by application of MABC and the introgression size of *Sub1* was 0.3 Mb between the two markers ART5 and SC3. Phenotyping was carried out on BC_3F_2 of the selected lines. The survival ratio of these selected lines and IR64*Sub1* were almost the same. The promising breeding lines BC_3F_3 were selected for the development of new submergence tolerant rice variety ASS996-*Sub1* adapting to climate change.

Key words: Breeding, MABC, rice, submergence tolerance, QTL *Sub1*

Ngày nhận bài: 16/3/2017
Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu
Ngày phản biện: 19/3/2017
Ngày duyệt đăng: 24/3/2017

NGHIÊN CỨU TÍNH TRẠNG SỨC SỐNG CÂY CON VÀ BIỂU HIỆN GEN LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP CỦA CÂY LÚA Ở GIAI ĐOẠN NẢY MẦM

Chu Đức Hà[1], Võ Thị Minh Tuyển[1], Vũ Thị Thu Hiền[1]

TÓM TẮT

Tính trạng chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm là một trong những đặc tính nông học quan trọng của hệ thống canh tác lúa gieo sạ thẳng. Trong nghiên cứu này, để xác định sự hoạt động của 4 gen *OsHREF1, OsB12D1, SRLR1* và *SUB1A* có liên quan đến khả năng chịu ngập của lúa ở giai nảy mầm hay không, sàng lọc kiểu hình chịu ngập của 48 giống lúa địa phương vùng trũng của Việt Nam được tiến hành. Tiếp theo, 4 giống đại diện chịu ngập tốt và 4 giống mẫn cảm ngập được chọn ra để sử dụng phân tích sự biểu hiện gen thông qua phản ứng RT-PCR. Kết quả thí nghiệm cho thấy, 3 gen *OsB12D1, OsHREF1* và *SRLR1* biểu hiện rất mạnh ở tất cả các giống đã xử lý ngập so với đối chứng; trong khi đó, gen *SUB1A* không biểu hiện trong điều kiện ngập. Điều này chứng tỏ hoạt động của các gen *OsHREF1*, *OsB12D1* và *SRLR1* có liên quan đến khả năng chịu ngập của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm. Kết quả của nghiên cứu hy vọng sẽ cung cấp thông tin hữu ích cho việc nghiên cứu di truyền, để cải thiện sức sống cây con trong điều kiện ngập nhằm hỗ trợ cho hệ thống gieo lúa sạ thẳng ở Việt Nam.

Từ khóa: Giai đoạn nảy mầm, sức sống cây con, chịu ngập, lúa, biểu hiện gen, RT-PCR (semiquantitative PCR)

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa *(Oryza sativa)*, không giống như một số loài ngũ cốc khác, là cây trồng có khả năng thích ứng và sinh trưởng được trong điều kiện ngập nước. Để đáp ứng với điều kiện ngập, cây lúa mọc vươn dài ra để thoát khỏi tình trạng ngập, hoặc là không vươn dài để bảo tồn nguồn năng lượng. Đặc tính chịu ngập của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm thể hiện bằng cơ chế sức sống của cây con nảy mầm nhanh và sinh trưởng sớm để cây lúa vươn lên khỏi mặt nước tiếp cận với oxi (Huang *et al.*, 2003). Khi thiếu oxi, nồng độ Ca^{2+} trong tế bào chất của lúa tăng nhanh (Yemelyanove *et al.*, 2011). Vì vậy, Ca^{2+} được coi là tín hiệu quan trọng thứ 2 của tình trạng thiếu oxi ở thực vật. Những nghiên cứu gần đây cho thấy, nhóm gen EF-hand (Oshref) mã hóa các protein HREFs đóng vai trò cảm nhận trực tiếp sự thay đổi nồng độ Ca^{2+} trong tế bào dưới tác động của các kích thích khác nhau (Otsuka *et al.*, 2010). Một gen khác mã hóa cho protein nằm trên ty thể được phát hiện có liên quan đến khả năng chịu ngập của cây lúa là OsB12D1. Kết quả phân tích RT-PCR cho thấy mức độ biểu hiện của gen OsB12D1 rất thấp ở 24 h đầu tiên của lũ lụt, nhưng lại tăng đáng kể nếu như tình trạng ngập lụt kéo dài. Điều này chứng tỏ gen OsB12D1 có liên quan với tình trạng thiếu oxi ở giai đoạn đầu của sự nảy mầm, và có thể tăng cường khả năng chịu úng của cây lúa ở giai đoạn mạ (He *et al.*, 2014). Mặt khác, Ethylene kích thích sự dãn dài lóng thân và thành lập mô dẫn khí ở rễ lúa. Khi thiếu oxi, ethylene được sản sinh ra rất nhiều và tác động tới gen SUB1A ức chế ngược trở lại quá trình sản sinh ra ethylene nhờ đó ngăn cản sự vươn dài của lóng thân, tích lũy năng lượng chờ khi nước rút để mọc ra các lá mới. Ethylene tác động đến gen SUB1A ức chế quá trình sản sinh ra ethylene và tác động đến gen SRLR1 làm mất chức năng của GA ở các mô bị ngập trong nước (Bailey-Serres *et al.*, 2008). Chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm là một trong những đặc tính nông học rất quan trọng, bởi vì đây là thời kỳ cơ bản quyết định đến mật độ và thời vụ gieo trồng, đặc biệt trong hệ thống canh tác lúa gieo sạ thẳng ở những vùng bị lũ lụt trong mô hình canh tác cánh đồng mẫu lớn. Vì vậy, việc nghiên cứu khảo sát đa dạng kiểu hình và biểu hiện của các gen liên

[1] Viện Di truyền Nông nghiệp