

- Molecular Characterization and Genetic Diversity Analysis of Rice (*Oryza sativa* L.) Using SSR Markers. *J. Crop Dev*, 26(2): 244-257.
- Thomson, M.J., Septiningsih, E.M., Suwardjo, F., Santoso, T.J., Silitonga, T.S. and McCouch, S.R., 2007.** Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(3), pp: 559-568.
- Upadhyay P., Singh V. K. và N. Neeraja C., 2011.** Identification of genotype specific alleles and molecular diversity assessment of popular rice (*Oryza sativa* L.) varieties of India. *Int. J. Plant Breed. Genet.*, 5(2): 130-140.
- Zheng K., P. K. Subudhi, J. Domingo, G. Maopantay và N. Huang, 1995.** Rapid DNA isolation for marker assisted selection in rice breeding. *Rice Genet. Newslett.*, 12:48.

Evaluation of genetic diversity of Quang Nam rice varieties based on grain quality and SSR markers

La Tuan Nghia, Hoang Thi Hue, Le Thi Thu Trang,
Pham Thi Thuy Duong, Dam Thi Thu Ha,
Do Ha Thu, Chu Thi May

Abstract

This research was conducted to evaluate genetic diversity of 80 local rice varieties in Quang Nam, Vietnam based on grain quality and SSR marker. The results revealed that 61.3% of the accessions were *Japonica*; 18.7 % was identified to have aroma; amylose content was ranged from 3.1% to 22%. A total of 15 rice varieties were chosen to be promising based on aroma and amylose content characters. Evaluation of genetic diversity using 20 Simple Sequence Repeat (SSR) markers showed that a total number of alleles was 120, average of 6.0 alleles per locus; 01 unique alleles at the maker RM44 was revealed in the *Ba ka chah* variety. PIC values were varied from 0.49 to 0.86 with an average of 0.72. In addition, genetic similarity coefficient of 80 examined rice varieties were ranged from 0.72 to 0.88. Cluster analysis showed that varieties with aroma tend to be grouped into the cluster. This evaluation of grain quality and genetic diversity will be of great help in providing information and materials for rice conservation and recombination breeding program.

Key words: Rice, genetic diversity, grain quality, SSR marker

Ngày nhận bài: 19/7/2017

Ngày phản biện: 10/8/2017

Người phản biện: TS. Khuất Hữu Trung

Ngày duyệt đăng: 25/8/2017

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH MÔI TRƯỜNG LƯU GIỮ *IN VITRO* NGUỒN GEN GỪNG TẠI NGÂN HÀNG GEN CÂY TRỒNG QUỐC GIA

Lê Khả Tường¹, Nguyễn Thị Hà Phương¹

TÓM TẮT

Lưu giữ nguồn gen gừng trong điều kiện đồng ruộng là phương pháp truyền thống được áp dụng rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Tuy nhiên, phương pháp này ở nước ta đang làm xói mòn nguồn gen do sự lây nhiễm của một số đối tượng sâu bệnh hại, từ đó làm suy thoái và mất mát nguồn gen ngay trên đồng ruộng. Lưu giữ *in vitro* là phương pháp thích hợp đang được nhiều quốc gia áp dụng nhằm khắc phục những hạn chế trên đây. Để thực hiện nội dung này, Trung tâm Tài nguyên Thực vật đã tiến hành nghiên cứu xác định môi trường thích hợp trong lưu giữ *in vitro* nguồn gen giống gừng G10 đại diện cho tập đoàn gừng tại ngân hàng gen cây trồng quốc gia giai đoạn 2013 - 2015. Kết quả cho thấy bổ sung sucrose nồng độ 60 g/l và 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 100 mg/l myo-inositol trong môi trường MS với pH= 5,6 - 5,8 ở nhiệt độ 25°C đã làm cây gừng đạt tốc độ sinh trưởng chậm nhất về cao cây và số lá đồng thời đảm bảo chất lượng cây tốt nhất trong lưu giữ *in vitro* nguồn gen gừng đại diện tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia.

Từ khóa: Bảo tồn, gừng, *in vitro*, môi trường, sinh trưởng chậm

¹ Trung tâm Tài nguyên thực vật

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gừng (*Zingiber officinales Roscoe.*) là cây dược liệu truyền thống ở vùng nhiệt đới với thành phần sinh hoá chủ yếu gồm protein 5,08%, dầu 3,72%, isoluble fibre 23,5%, soluble fibre 25,5%, carbohydrate 38,35%, vitamin C 9,33%, chất tro 3,85% (Balachandran *et al.*, 1990). Lưu giữ, cung cấp, giới thiệu nguồn gen gừng cho công tác nhân giống và cải tiến giống là mục tiêu quan trọng của Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia (Trần Thị Đình và Lê Khả Tường, 2014). Giống gừng triển vọng G10 có nguồn gốc Trung Quốc đang lưu giữ trong điều kiện đồng ruộng thường nhiễm nhiều đối tượng sâu bệnh hại khó kiểm soát nên đã và đang làm giảm chất lượng nguồn gen. Bảo tồn *in vitro* nguồn gen gừng là phương pháp lưu giữ trong ống nghiệm với môi trường nhiệt độ, ánh sáng và dinh dưỡng thích hợp, đảm bảo nguồn gen sinh trưởng, phát triển chậm nhưng vẫn giữ nguyên đặc điểm di truyền của giống. Thực hiện mục tiêu này, Trung tâm Tài nguyên thực vật (PRC) đã tiến hành nghiên cứu kỹ thuật lưu giữ *in vitro* nguồn gen gừng G10 trong giai đoạn 2013 - 2015.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Gồm những cây gừng *in vitro* được nuôi cấy từ giống gừng G10 có sức sống tốt, chất lượng cao, sạch bệnh, lá xanh đậm, thực hiện tại Phòng nuôi cấy mô - Trung tâm Tài nguyên thực vật (PRC).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sử dụng nguồn vật liệu cây *in vitro* cao cây từ 9 - 10 cm, dùng pank lấy mẫu ra khỏi ống nghiệm, loại bỏ hoại tử, lá già úa, sau đó cắt mẫu thành những đoạn thân chứa chồi bên, cấy mẫu vào môi trường nuôi cấy MS bổ sung 30g/l sucrose, 6g/l agar, 100mg/l myo-inositol, pH = 5,6 - 5,8 và một số chất điều tiết sinh trưởng. Xác định môi trường thích hợp thông qua các thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và chất điều tiết đến khả năng lưu giữ nguồn gen gừng G10 ở nhiệt độ 20°C và 25°C với 16 h chiếu sáng/ngày trong 8 tuần như sau:

- Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ D-manitol đến khả năng phát triển của cây *in vitro* giống gừng G10 ở 2 nền nhiệt độ 20°C và 25°C với 5 công thức, được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 lần nhắc lại, 15 mẫu/ công thức: CT0: 0 g/l, CT1: 10 g/l, CT2: 30 g/l, CT3: 60 g/l, CT4: 90 g/l.

- Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ axit abscisic đến khả năng phát triển của cây *in vitro* giống gừng G10 ở 2 nền nhiệt độ 20°C và 25°C với 5 công thức, được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 lần nhắc lại, 15 mẫu/ công thức: CT0: 0 mg/l, CT1: 0,5 mg/l, CT2: 1,0 mg/l, CT3: 2,0 mg/l, CT4: 3,0 mg/l.

- Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ sucrose đến khả năng phát triển của cây *in vitro* giống gừng G10 ở 2 nền nhiệt độ 20°C và 25°C với 5 công thức được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 lần nhắc lại, 15 mẫu/ công thức: CT0: 0 mg/l, CT1: 20 g/l, CT2: 30 g/l, CT3: 60 g/l, CT4: 90 g/l.

Bảng 1. Phân loại sinh trưởng cây con trong điều kiện lưu giữ *in vitro*, giống gừng G10

Nhiệt độ lưu giữ	Sinh trưởng	Kém	Trung bình	Tốt
20°C	Cao cây (cm)	0-1,0	1,1-8,0	≥8,0
	Số lá	0-1,0	1,1-5,0	≥5,0
25°C	Cao cây (cm)	0-8,0	8,1-10,0	≥10,0
	Số lá	0-4,0	4,1-5,0	≥5,0

Môi trường thích hợp lưu giữ *in vitro* nguồn gen gừng được xác định đối với công thức đồng thời đạt chiều cao cây và số lá thấp nhất, chất lượng cây tốt nhất sau 8 tuần nuôi cấy theo phương pháp của PRC.

- Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng chương trình thống kê trong Excel và chương trình IRRISTART 5.0

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các nội dung nghiên cứu được thực hiện trong 2 năm, từ 12/2013 - 12/2015 tại Phòng nuôi cấy mô, Bộ môn Đa dạng sinh học Nông nghiệp, Trung tâm Tài nguyên thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam - An Khánh, Hoài Đức, Hà Nội.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ D-manitol đến sinh trưởng của cây con giống gừng G10 trong lưu giữ *in vitro*

Manitol là đồng phân của sorbitol, một trong các phân tử lưu trữ năng lượng và carbon có nhiều nhất trong tự nhiên, được sản xuất bởi rất nhiều các vi sinh vật, bao gồm cả vi khuẩn, nấm men, nấm, tảo, địa y và nhiều loài thực vật. Trong nuôi cấy *in vitro*, nguồn carbon giúp mô và tế bào thực vật tổng hợp các chất hữu cơ để tế bào phân chia, tăng sinh khối không phải từ quá trình quang hợp mà

chính là nguồn carbon bổ sung vào môi trường dưới dạng đường (Collin and Edwards, 1988). Kết quả nghiên cứu tốc độ sinh trưởng của cây gừng trong môi trường có bổ sung D-manitol với 5 nồng độ tăng dần: 0, 10, 30, 60, 90 g/l ở nhiệt độ 20 và 25°C đã cho thấy chiều cao cây, số lá và chất lượng cây có xu hướng tỷ lệ nghịch với nồng độ D-manitol và tỷ lệ

thuận với nhiệt độ. Theo đó trong môi trường có bổ sung 10 g/l (CT2) ở nhiệt độ 20°C được xem là môi trường thích hợp nhất để lưu giữ *in vitro* nguồn gen gừng do đồng thời đạt tốc độ sinh trưởng chậm về chiều cao cây, số lá tương ứng với 11,98 cm và 5,14 lá/cây nhưng vẫn đảm bảo chất lượng cây cao nhất (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ D- manitol đến khả năng phát triển của cây *in vitro* ở nhiệt độ 20°C và 25°C

CT	Nồng độ (g/l)	20°C			25°C		
		Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây	Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây
CT1	0	13,15	5,73	+++	15,77	6,21	+++
CT2	10	11,98	5,14	+++	13,40	5,47	+++
CT3	30	10,43	4,76	++	11,12	5,00	++
CT4	60	1,34	0,80	++	1,67	1,08	+
CT5	90	0,00	0,00	+	0,00	0,00	+
<i>LSD</i> _{0,05}		0,34	0,14		0,28	0,20	
<i>CV</i> (%)		3,0	2,90		2,2	3,7	

Ghi chú: + Sinh trưởng kém; ++ Sinh trưởng trung bình; +++ Sinh trưởng tốt

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ axit abscisic đến sinh trưởng của cây con giống gừng G10 trong lưu giữ *in vitro*

Axit abscisic có công thức hóa học C₁₅H₂₀O₄ là một chất ức chế sinh trưởng tự nhiên đại diện cho nhóm các chất thuộc nhóm tectenoit. Axit này ức chế sự tổng hợp axit nucleic trong tế bào, ức chế quá trình tổng hợp protein, từ đó ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng phát triển của cây, làm cây nhanh già và rút ngắn chu kỳ sống. Trong thực vật nó có vai trò đa dạng như đóng mở khí khổng, làm hạn chế sự bốc thoát nước, ngăn ngừa rụng hoa, quả, kiểm soát sự tăng trưởng (Võ Hà Giang và Ngô Xuân Bình,

2010). Kết quả nghiên cứu tốc độ sinh trưởng của cây gừng trong môi trường có bổ sung axit abscisic với 5 nồng độ tăng dần: 0; 0,5; 1,0; 2,0 và 3,0 mg/l ở nhiệt độ 20 và 25°C đã cho thấy chiều cao cây, số lá và chất lượng cây có xu hướng tỷ lệ nghịch với nồng độ axit abscisic và tỷ lệ thuận với nhiệt độ. Theo đó trong môi trường có bổ sung 1,0 mg/l (CT3) ở nhiệt độ 20°C được xem là môi trường thích hợp nhất để lưu giữ *in vitro* nguồn gen gừng do đồng thời đạt tốc độ sinh trưởng chậm về chiều cao cây và số lá tương ứng 12,35 cm và 5,14 lá/cây, đồng thời đảm bảo chất lượng cây cao nhất (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ axit abscisic đến khả năng phát triển của cây *in vitro* giống gừng G10 ở nhiệt độ 20°C và 25°C

CT	Nồng độ (mg/l)	20°C			25°C		
		Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây	Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây
CT1	0	13,40	5,46	+++	16,26	6,33	+++
CT2	0,5	12,65	5,34	+++	14,47	5,76	+++
CT3	1,0	12,25	5,14	+++	14,06	5,27	+++
CT4	2,0	11,16	3,79	++	13,21	4,37	++
CT5	3,0	10,52	3,11	++	12,16	3,97	++
<i>LSD</i> _{0,05}		0,30	0,14		0,76	0,15	
<i>CV</i> (%)		1,60	2,20		3,50	2,00	

Ghi chú: + Sinh trưởng kém; ++ Sinh trưởng trung bình; +++ Sinh trưởng tốt

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ sucrose đến sinh trưởng của cây con giống gừng G10 trong lưu giữ *in vitro*

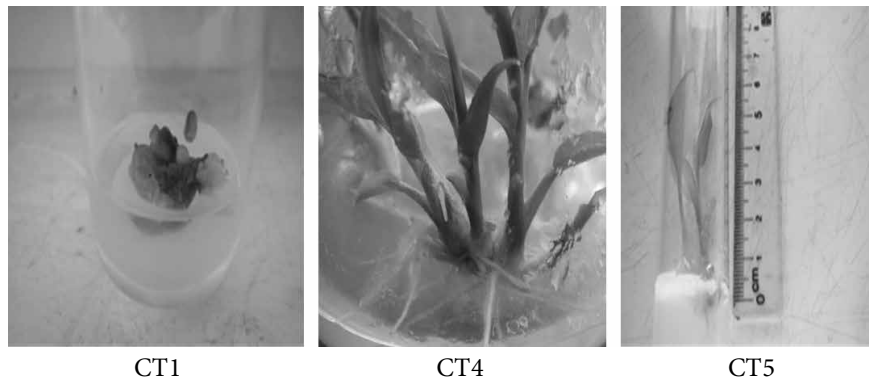
Đường sucrose (saccharoza) là nguồn cacbon chủ yếu và được sử dụng thường xuyên trong hầu hết các môi trường nuôi cấy mô, kể cả khi mẫu nuôi cấy là các chồi xanh có khả năng quang hợp (Ngô Xuân Bình, 2010). Khi khử trùng, đường sucrose bị thủy phân một phần, thuận lợi hơn cho cây hấp thụ. Kết quả nghiên cứu khả năng sinh trưởng của cây gừng trong môi trường có bổ sung đường sucrose với 5 nồng độ tăng dần: 0; 20; 30; 60 và 90 g/l ở nhiệt

độ 20 và 25°C đã cho thấy tốc độ tăng trưởng chiều cao cây, số lá và chất lượng cây có xu hướng tỷ lệ thuận với nồng độ đường sucrose từ 0 đến 30 g/l. Tuy nhiên khi nồng độ đường sucrose tiếp tục tăng lên ở 60 và 90 g/l đã làm giảm tốc độ tăng trưởng cao cây và số lá ở cả 2 nền nhiệt độ 20 và 25°C. Mặc dù vậy chất lượng cây giống cao nhất chỉ được ghi nhận ở nhiệt độ 25°C. Do đó sử dụng môi trường có bổ sung đường sucrose với nồng độ 60 g/l ở nhiệt độ 25°C đã làm tốc độ sinh trưởng chậm nhất đồng thời vẫn đảm bảo chất lượng cây cao nhất (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose đến khả năng phát triển của cây *in vitro* ở nhiệt độ 20°C và 25°C

CT	Nồng độ (g/l)	20°C			25°C		
		Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây	Cao cây (cm)	Số lá/cây	Chất lượng cây
CT1	0	0	0	0	0	0	0
CT2	20	8,94	4,54	++	10,02	5,22	++
CT3	30	10,51	5,20	+++	10,97	6,27	+++
CT4	60	6,61	4,44	++	10,07	5,12	+++
CT5	90	5,20	3,36	++	6,12	3,90	++
<i>LSD</i> _{0,05}		0,42	0,30		0,29	0,16	
<i>CV</i> (%)		4,40	4,20		2,70	2,40	

Ghi chú: + Sinh trưởng kém; ++ Sinh trưởng trung bình; +++ Sinh trưởng tốt



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose đến tốc độ sinh trưởng chiều cao cây và số lá của cây *in vitro* ở nhiệt độ 25°C

Trên cơ sở tổng hợp, so sánh các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của D-manitol, axit abscisic và đường sucrose đến tốc độ sinh trưởng, phát triển của cây con giống gừng G10 đã cho thấy bổ sung đường sucrose với nồng độ 60 g/l và 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 100 mg/l myo-inositol trong môi trường MS, pH = 5,6 - 5,8 ở nhiệt độ 25°C dưới điều kiện chiếu sáng 16 h/ngày đã làm tốc độ sinh trưởng chậm nhất về cao cây và số lá/cây đồng thời đảm bảo chất lượng cây cao nhất sau 8 tuần lưu giữ.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Bổ sung đường sucrose với nồng độ 60 g/l và 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 100 mg/l myo-inositol trong môi trường MS, pH = 5,6 - 5,8 ở nhiệt độ 25°C đã làm tốc độ sinh trưởng chậm nhất về cao cây và số lá đồng thời đảm bảo chất lượng cây tốt nhất sau 8 tuần lưu giữ dưới điều kiện chiếu sáng 16 h/ngày.

4.2. Đề nghị

Áp dụng môi trường MS với pH= 5,6 - 5,8, nhiệt độ 25°C và bổ sung sucrose nồng độ 60 g/l và 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 100 mg/l myo-inositol để thực hiện công tác bảo tồn, lưu giữ nguồn gen gừng G10 và các giống gừng khác có đặc điểm tương tự tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ngô Xuân Bình, 2010. *Nuôi cấy mô tế bào thực vật, cơ sở lý luận và ứng dụng*. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội.

Trần Thị Đình, Lê Khả Tường, 2014. Nhân giống gừng mới QT1 bằng phương pháp nuôi cấy mô. *Tạp chí Nông nghiệp & PTNT*, tr. 40-45.

Võ Hà Giang, Ngô Xuân Bình, 2010. Nghiên cứu nhân giống phong lan Đuôi chồn (*Rhynchotylis rotunda* (L.) Blume) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. *Tạp chí Nông nghiệp & PTNT* số 5/ 2010, tr. 25-30.

Balachandran, S.N., S.R. Bhat, and K.P.S. Chandel, 1990. *In vitro* clonal multiplication of turmeric (*Curcuma spp.*) and ginger (*Zingiber officinales* Rosc.). *Plant Cell Rep.*, 8: 521-524.

Collin, H.A. and S. Edwards, 1998. *Plant Cell Culture*. *Bios Scientific Eds.*, Guilford.

Identification of appropriate medium for *in vitro* conservation of ginger genetic resources at the National Crop Genebank

Le Kha Tuong, Nguyen Thi Ha Phuong

Abstract

On field maintenance of ginger germplasm is a traditional method applied in many countries in the world as well as in Vietnam. However, this method makes ginger germplasm eroding due to infection of pests and diseases, thus this is causing the degradation and loss of germplasm. *In vitro* preservation is an appropriate method that is being adopted by many countries to overcome the above limitations. To solve this problem, the Plant Resource Center (PRC) conducted study on appropriate media for *in vitro* conservation of ginger genetic resources in the period of 2013 - 2015. Experiments identified that the medium supplemented with sucrose at a concentration of 60 g/L and 30 g/L sucrose, 6 g/L agar, 100 mg/L myo-inositol in MS medium, pH = 5.6 - 5.8 at 25°C was appropriate for *in vitro* conservation of ginger genetic resources. This medium could make ginger growing slowly while ensuring the best quality seedlings.

Key words: Conservation, environment, ginger, *in vitro*, slow growth

Ngày nhận bài: 19/7/2017

Ngày phản biện: 13/8/2017

Người phản biện: TS. Trần Thị Thu Hoài

Ngày duyệt đăng: 25/8/2017

ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH NÔNG SINH HỌC VÀ NĂNG SUẤT CỦA MỘT SỐ DÒNG/ GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP, MẶN TẠI BẠC LIÊU

Doãn Thị Hương Giang¹, Lưu Minh Cúc¹

TÓM TẮT

Bài báo trình bày kết quả đánh giá một số dòng/giống lúa triển vọng chịu ngập, mặn về các đặc tính nông sinh học và năng suất tại xã Minh Diệu, huyện Hòa Bình, tỉnh Bạc Liêu. Vụ Hè Thu 2015 đánh giá 7 dòng/giống triển vọng, vụ Thu Đông 2015 đánh giá 4 dòng/giống triển vọng. Kết quả cho thấy giống lúa OM351-Sub1 là giống lúa mang gen Sub1 chịu ngập, ngắn ngày và cho năng suất vượt 10,49% vụ Hè Thu, vượt 7,13% vụ Thu Đông so với giống đối chứng AS996. Giống lúa OM352-Saltol là giống lúa mang gen Saltol chịu mặn, ngắn ngày và cho năng suất vượt 8,54% vụ Hè Thu, vượt 14,98% vụ Thu Đông so với giống đối chứng AS996. Hai giống lúa OM351-Sub1, OM352-Saltol có triển vọng, năng suất khá cao và ổn định trong các vụ, chống chịu sâu bệnh trên đồng ruộng tốt cần được chú ý tiếp tục khảo nghiệm và nhân rộng trong sản xuất cho những vùng ven biển bị nhiễm mặn, thích hợp với giống lúa ngắn ngày.

Từ khóa: Dòng/giống lúa, đặc tính nông sinh học, chịu mặn, chịu ngập, năng suất

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến đổi khí hậu đang ngày càng ảnh hưởng sâu sắc tới sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam. Hiện nay,

mức độ nhiễm mặn trên 4‰ đã lấn sâu vào 30 - 40 km tại một số nơi ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) và Đồng bằng sông Hồng (ĐBSH). Diện tích bị

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp