

Teng-Qiong Yu¹, Wenzhu Jiang¹, Tae-Ho Ham¹, Sang-Ho Chu¹, Puji Lestari¹, Jeong-Heui Lee, Myeong-Ki Kim, Fu-Rong Xu, Longzhi Han, Lu-Yuan Dai, Hee-Jong Koh, 2008. Comparison of Grain Quality Traits between Japonica Rice Cultivars from Korea and Yunnan Province. *J. Crop Sci. Biotech*, 11 (2): 135 ~ 140.

Yamakawa H, Hirose T, Kuroda M, Yamaguchi T,

2007. Comprehensive expression profiling of rice grain filling related genes under high temperature using DNA microarray. *Plant Physiol*, 144: 258-277.

Zhou Y, Cai H, Xiao J, Li X, Zhang Q, Lian X, 2009. Over-expression of aspartate aminotransferase genes in rice resulted in altered nitrogen metabolism and increased amino acid content in seeds. *Theor Appl Genet*, 118: 1381-1390.

Exploitation of initial materials for rice varieties without chalkiness

Truong Anh Phuong, Nguyen Thi Ngoc An, Nguyen Thi Lang

Abstract

Chalkiness is a major concern in rice breeding because it is one of the key factors in determining rice quality and price. It is a complicated quantitative trait and controlled by genetic, endosperm and cytoplasmic effects. In this study, we conducted to analyse percentage of grain chalkiness in 100 rice varieties using SSR and Indel marker and analysis. The result was recorded that the chalkiness degree of kernel was 0 in 7 varieties, including TLR 434, TLR 426, TLR 420, TLR 416, TLR 10383, TLR417 and RVT. The methods identified by scanners and clear analysis were confirmed that there was chalkiness loci according to percentage in transparent rice varieties. Both methods of analysis and phenotype associated with the analysis of molecular marker Indel 15 and SSR (RM21938) reached 50-77.7% of accuracy, respectively. These methods could help to recognize the chalkiness in faster way.

Key words: Chalkiness, SSR and Indel technique, rice

Ngày nhận bài: 12/7/2016

Người phản biện: TS. Huỳnh Văn Nghiệp

Ngày phản biện: 19/7/2016

Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

NGHIÊN CỨU CHỌN GIỐNG KẾT HỢP KHÔ HẠN VÀ MÙI THƠM TRÊN CÂY LÚA

Nguyễn Thị Lang¹, Trịnh Thị Lữ¹,
Nguyễn Ngọc Hương¹, Trần Bảo Toàn², Bùi Chí Bửu³

TÓM TẮT

Sàng lọc 75 dòng BC3F4 từ quần thể OM6162/Sawana-Sub1//OM6162 đã được phát triển tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) và đánh giá khô hạn ở giai đoạn mạ trở hoa và đồng thời sau đó tiếp tục đánh giá mùi thơm của các dòng này. Để có thể đánh giá loại dần các dòng không khô hạn cho các dòng lai hồi giao, các dòng sau khi đánh giá chịu hạn và mùi thơm cũng được xác định lại yếu tố di truyền thông qua chỉ thị phân tử. Ba chỉ thị phân tử RM201, RM105, RM23662 được đánh giá liên kết với kiểu gen khô hạn trên nhiễm sắc thể số 9 và mùi thơm RM223, SP6 và RG28 trên nhiễm sắc thể số 8 cũng được đánh giá và phân tích. Kết quả đều ghi nhận có sự liên kết giữa kiểu hình và kiểu gen. Các dòng từ tổ hợp OM6162/Sawana-Sub1//OM6162 chọn được chỉ 14 dòng nhưng chỉ có 2 dòng mang gen chịu khô hạn và mùi thơm là dòng D2-F1(BC3F4-1); D2-F14(BC3F4-75). Các dòng này được đánh giá năng suất và chọn đưa vào sản xuất trong thời gian tới.

Từ khóa: Thơm, khô hạn, chỉ thị phân tử, kiểu gen, kiểu hình

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đánh giá QTL chống chịu khô hạn trên quần thể lai hồi giao của OM1490/WAB 880-1-38-18-P1-HB cho thấy có 3 QTLs: qRRL-1 trên nhiễm sắc thể số 1, qRRL9a, qRRL9b trên nhiễm sắc thể số 9 liên kết với các chỉ thị SSR tương ứng: RM23662, RM105, RM210. Giá trị R² cho thấy những QTLs này giải

thích được sự biến thiên kiểu hình chấp nhận từ 11,85% đến 10,36%. Điều này cũng tương tự với nghiên cứu của (Lang và *ctv.*, 2009, 2013). Bên cạnh đó việc thiết lập bản đồ với 111 cây BC2F2 đã sử dụng các đánh dấu SSR, để kiểm tra mối tương quan với gen mùi thơm và đã tìm thấy được các đánh dấu RM223, RG28FL-RB và SP6 liên kết với gen mục

¹ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long; ² Công ty Sinh học PCR Cần Thơ

³ Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

tiêu với khoảng cách di truyền 8.5 cM ở đánh dấu RM233, 1.1 cM với SP6 và 4.3 cM đối với RG28FL-RB (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2004). Đối với 2 dòng BAC 25D10 và 31F5 được thiết kế thành 2 chỉ thị phân tử 25D10 và 31F5. Hai chỉ thị phân tử này được thử nghiệm trên quần thể BC2F2 từ tổ hợp lai OM2517/OM3536. Kết quả cho thấy hai chỉ thị phân tử 25D10 và 31F5 được đánh giá có liên kết với gen qui định mùi thơm trên quần thể hồi giao BC2F2 từ tổ hợp lai OM2517/OM3536 (Châu Tấn Phát và *ctv.*, 2011, 2014).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm thí nghiệm

Trồng và thí nghiệm lai hồi giao được thực hiện tại Viện lúa ĐBSCL. Marker assisted selection (MAS) được tiến hành tại Phòng Sinh học Phân tử của công ty Công Nghệ Sinh học PCR Cần Thơ và cho tất cả thế hệ lai hồi giao. Sau khi đạt được thế hệ BC3F3, các dòng chọn lọc sẽ được tự thụ để xác định các cá thể đồng hợp (BC3F4) có mang gen mục tiêu bằng phương pháp MAS.

2.2. Kiểu gen lúa được dùng trong thí nghiệm

Các dòng BC nguồn gốc lai từ OM6162/ Sawana sub1//OM6162 được sử dụng như cá thể cho gen của QTL liên quan đến khả năng chịu hạn và mùi thơm. Quá trình chọn lọc dựa vào kiểu hình tốt của các dòng dựa vào tính trạng nông học và sinh lý được đánh giá tại Viện lúa ĐBSCL. Nghiên cứu này được tiến hành với thời gian ra hoa của các dòng thí nghiệm đã được đồng bộ bằng cách trồng so le và các dòng này có mức độ nước tưới khác nhau bằng dòng nước. Các cây này được tưới cho đến khi gần kết thúc quá trình sinh trưởng sinh dưỡng. Nước được rút hết khỏi cách đồng tại thời điểm trở bông để tăng áp lực stress vào giai đoạn sinh sản. Lá bị cuộn lại và điểm khô hạn được đo lường và cho điểm bắt đầu từ khi rút nước cho đến khi chịu khô hạn (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).

Ngày ra hoa cũng đã được ghi nhận từ sự xuất hiện của những bông đầu tiên cho đến ra hoa 100%. Ở giai đoạn trưởng thành, năng suất và sản lượng các thành phần đã được đo. Phương pháp lai hồi giao và chọn lọc bằng “marker phân tử”.

- Phân tích hàm lượng mùi thơm theo IRRI, 2007; đánh giá kiểu gen theo Nguyễn Thị Lang (2002).

- Kết quả kiểm tra chất lượng DNA

Chỉ tiêu 1: RM201, RM105 và RM23662 (cho QTLs hạn hán trên nhiễm sắc thể số 9) cho gen chống chịu khô hạn.

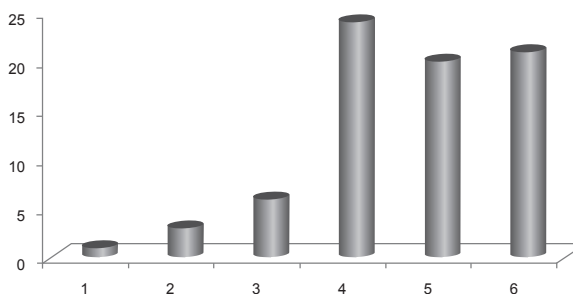
Chỉ tiêu 2: RM223, SP6 và RG28 (marker chỉ định mùi thơm thấp trên nhiễm sắc thể số 8).

- Đánh giá mùi thơm theo thang điểm IRRI (2007).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thanh lọc khô hạn các dòng BC3F4 giai đoạn trở hoa

Trong năm 2013-2015 tiến hành gieo toàn bộ hạt BC3F4 của quần thể OM6162/ Sawana-Sub1//OM6162 được lai hồi giao, đánh giá và chọn những cây chống chịu khô hạn giai đoạn trở hoa trong nhà lưới. Giai đoạn trở hoa tỉ lệ sống sót biến động mức độ sống sót của các dòng này cũng khác nhau: Cấp 0 có 1 dòng, cấp 1 có 3 dòng, cấp 3 có 6 dòng, cấp 5 có 24 dòng, còn lại là cấp 7 và cấp 9 (Hình1). Các cây chống chịu khô hạn tập trung các dòng D2-F1 (BC3F4-1); D2-F2(BC3F4-16, D1-F3(BC3F4-20), D2-F4(BC3F4-26); D2-F5(BC3F4-27); D2-F6 (BC3F4-28); D2-F7(BC3F4-29); D2-F8(BC3F4-30); D2-F13(BC3F4-74) và D2-F14(BC3F4-75).



Hình 1. Sự biến động của 75 dòng BC3F4 từ tổ hợp lai OM6162/Sawana-Sub1

3.2. Đánh giá kiểu gen trên 75 dòng BC3F4 từ tổ hợp lai OM6162/Sawana-Sub1

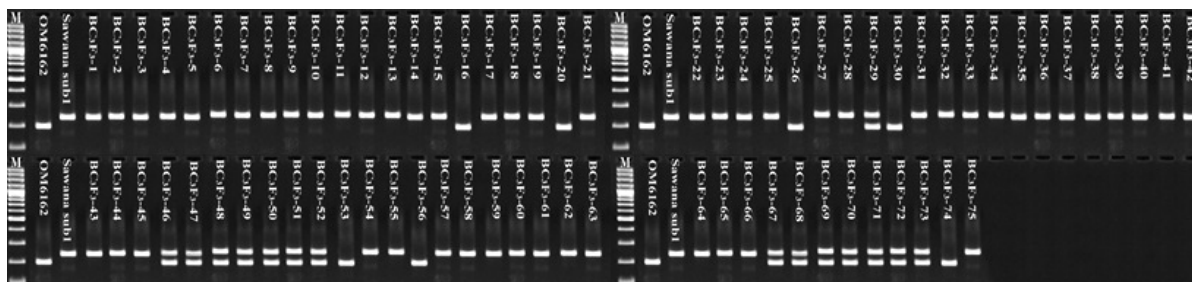
Để tài tiếp tục đánh giá các chỉ tiêu khác để xem sự phối hợp tính trạng khô hạn với gen có mùi thơm. Các quần thể chọn lọc OM6162/ Sawana sub1 //OM6162 đánh giá với chỉ thị RM201; RM 201 liên kết với gen chống chịu khô hạn và nằm trên nhiễm sắc thể số 9 (Lang và *ctv.*, 2013).

- Đối với đoạn môi RM 201:

Sự khuếch đại DNA cho sản phẩm đạt 78,57% và 2 alen với kích thước phân tử từ 210 bp đến 225 bp. Sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết với các dòng lai BC3F2 của tổ hợp cho thấy với chỉ thị RM 201 sự khuếch đại DNA cho sản phẩm đạt 100% và 2 alen với kích thước phân tử từ 210 bp đến 225 bp. Phân tích tần số alen trên cặp lai để giúp định hướng chọn cây lai cho tốt. Kết quả qua phân tích với quần thể

này với các con lai đã chuyển sang bố nhiều hơn ghi nhận có 8 cây mang alen cùng với kích thước của gen khô hạn; 15 cây mang dị hợp tử và còn lại các cây có kích thước alen giống với mẹ. Chọn lọc các

cây này chuyển sang ngoài đồng để đánh giá khô hạn bao gồm dòng 16, 20, 26, 30, 53, 56 và 74 để trồng ngoài đồng.



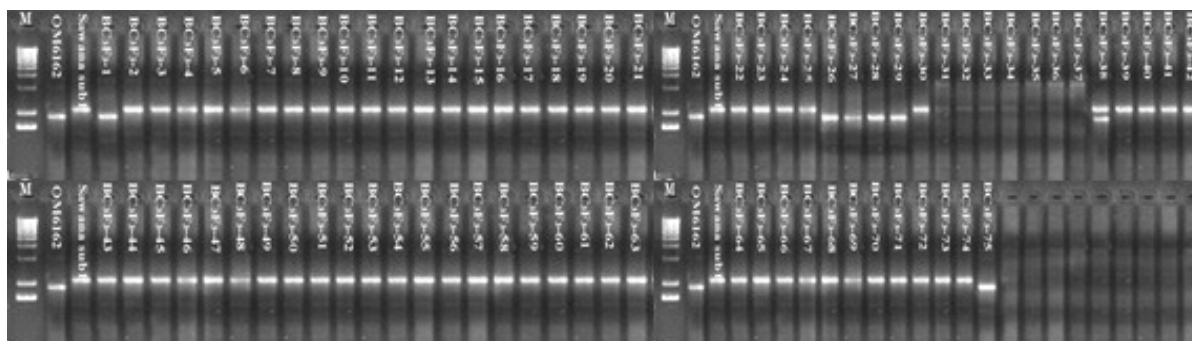
Hình 2. Sản phẩm PCR của RM201 trên quần thể BC3F4 từ cặp lai OM6162/Swarna Sub1//OM 6162

Sản phẩm được chạy điện di trên gel agarose 3% và gel này được nhuộm với ethidium bromide 0,5mg/ml và phân tích bằng thiết bị Alpha Imager 1220 (Alpha Innotech, CA, USA).

- Đối với chỉ thị đoạn mỗi RM 105:

Quần thể BC3F1 của OM6162/Swarnasub1//OM6162 cho đa hình khi khuếch đại với RM105. Kích thước phân tử chênh lệch của các băng này rất xa nhau với mức 210 bp và 200 bp, đã ghi nhận 100 % sản phẩm được khuếch đại. Phản ứng sản phẩm chia ra các alen A và B. Kích thước của các alen có vị trí phân tử bằng có kích thước 200-210 bp tương ứng

với giống Swarna sub1, ngược lại bằng kháng được ghi nhận trên kích thước có vị trí phân tử cao hơn với bằng có kích thước 210 bp, tương ứng với giống đối OM6162. Kết quả các alen A và B được ghi nhận trên Hình 2. Chỉ có 1 dòng ghi nhận tỷ lệ dị hợp tử trên tổ hợp này. Ghi nhận 6 dòng nghiên về kích thước bằng mang gen khô hạn. Tiếp tục trồng 6 dòng số 1, 26, 27, 28, 29 và 75 để chọn lọc cho gen khô hạn.



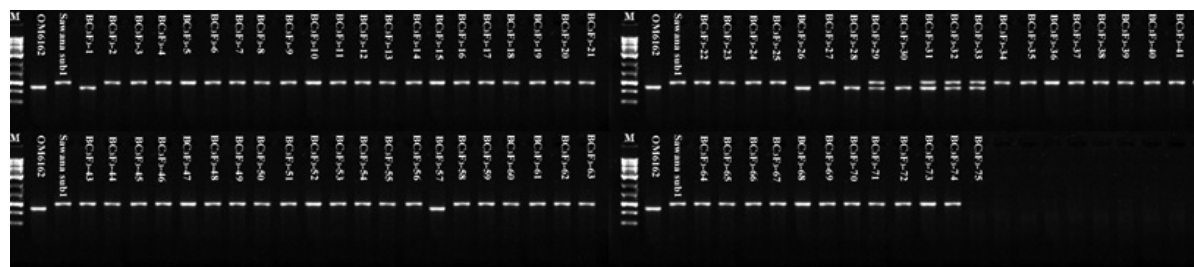
Hình 3. Sản phẩm PCR của RM105: trên quần thể BC 3 F4 từ cặp lai OM6162./Swarna-Sub1 //OM 6162.

Sản phẩm được chạy điện di trên gel agarose 3% và gel này được nhuộm với ethidium bromide 0.5mg/ml và phân tích bằng thiết bị Alpha Imager 1220 (Alpha Innotech, CA, USA).

- Đối với đoạn mỗi RM23662:

Sự khuếch đại DNA của tổ hợp OM6162/Swarna sub1//OM 6162 cho sản phẩm đạt 98,66% và tách ra đa hình với hai alen có kích thước phân tử từ 200 bp đến 215 bp. Phân tích tần số alen trên cặp lai để giúp định hướng chọn cây lai cho tốt. Có 1 dòng mang gen đồng trội nghiên về bố. Còn lại các gen nghiên về alen của cây mẹ (OM6162). Chọn lựa các cây mang gen khô hạn như dòng 1, 26, 28, 30 và 57 để trồng cho tự thụ chọn lựa tiếp tục BC3F5.

Như vậy, qua đánh giá trên đồng ruộng kết hợp với sàng lọc PCR lần thứ ba cho các quần thể hồi giao tại thế hệ BC3F4, đã chọn được 8 cây mang gen kháng độ khô hạn bao gồm cá thể: G16, G20, G26, G30, G53, G55, G56, G74 trên (RM201) và G1, G26, G27, G28, G75, G30 trên (RM105) và G1, G26, G28, G30 và G57 trên (RM23662). Các cá thể này đều biểu hiện gen kháng khi được khuếch đại bằng 3 marker khác nhau là RM201, RM105 và RM23662. Điều này chứng tỏ các cá thể trên có khả năng kháng



Hình 4. Sản phẩm PCR của RM23662 trên quần thể BC3F4 từ cặp lai OM6162/Swarna sub1//OM6162.

Sản phẩm được chạy điện di trên gel agarose 3% và gel này được nhuộm với ethidium bromide 0.5mg/ml và phân tích bằng thiết bị Alpha Imager 1220 (Alpha Innotech, CA, USA).

khô hạn tốt. Tuy nhiên trong ba chỉ thị này chưa ghi nhận sự trùng hợp gen kháng. Trong ba chỉ thị phân tử thì chỉ có dòng G26 trùng nhau cho gen kháng. Các dòng G1, G30, G28 có hai chỉ thị (RM105 và RM236662); G30 mang cả hai chỉ thị (RM201 và RM23662).

Trong vụ Đông Xuân 2015-2016, dự kiến đem gieo thành 75 dòng với nhóm bố mẹ cho và nhận gen kháng để đánh giá có 14 dòng chống chịu khô hạn. Song song với việc tự thụ nhằm gia tăng tần suất tái tổ hợp và chọn lọc các cá thể tốt, chúng tôi tiến hành đánh dấu, thu mẫu lá xét nghiệm PCR lần thứ ba để chọn tiếp các cá thể mang gen kháng khô hạn.

Bảng 1. So sánh kiểu gen và kiểu hình trên 3 chỉ thị phân tử RM 201, RM 105 và RM 23662

Chỉ thị phân tử	Số cá thể	Kháng	Nhiễm	Dị hợp	Ước đoán kháng (%)
Kiểu hình	75	10	41	24	100
RM 201	75	8	52	15	80
RM 105	75	6	61	1	60
RM 23662	75	5	66	4	50

Qua đánh giá các chỉ thị phân tử SSR ghi nhận sự biến động của các chỉ thị phân tử tùy thuộc vào sự đa hình trên bố mẹ và các chỉ thị phân tử đó cho thấy các marker khuếch đại tốt các gen kháng, và các gen kháng ghi nhận được rất nhiều từ quần thể con lai OM6162/Sawana-sub1 qua đánh giá khô hạn biến động thấp trên ba chỉ thị. Điều này chứng tỏ rằng sự khác biệt của quần thể và bố mẹ rất quan trọng để đánh giá tính trạng khô hạn.

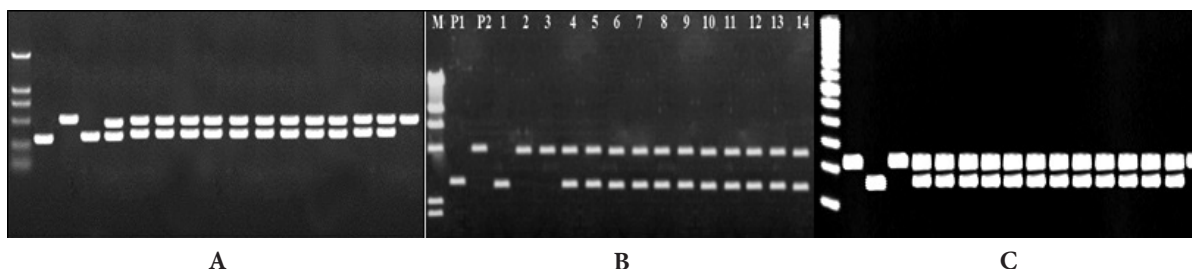
3.3. Liên kết gen và số vị trí của chỉ thị phân tử trên mùi thơm

Kết quả xét nghiệm PCR sàng lọc cây mang gen mùi thơm trên bộ lúa khô hạn: Qua đánh giá trên

đồng ruộng kết hợp với sàng lọc PCR cho các quần thể hồi giao tại thế hệ BC3F2 của OM6162/Sawana sub1, đã chọn được 14 dòng mang gen chống chịu khô hạn, đồng thời đều có các tính trạng nông học và kinh tế phù hợp từ quần thể OM6162/Sawana sub1//OM6162. Từ các cây trên quần thể đã xác định có sự hiện diện của mùi thơm trên 14 dòng. Trong vụ Đông Xuân 2015-2016 đã đem gieo thành 14 dòng với nhóm bố mẹ cho và nhận gen kháng khô hạn để đánh giá gen mùi thơm. Song song với việc tự thụ nhằm gia tăng tần suất tái tổ hợp và chọn lọc các cá thể tốt, tiến hành đánh dấu, thu mẫu lá xét nghiệm PCR lần thứ hai để chọn tiếp các cá thể mang gen mùi thơm.

Từ kết quả đánh giá phản ứng mùi thơm điều tra dựa trên các chỉ thị phân tử chọn được tổng số 16 dòng BC3F4 của tổ hợp lai hồi giao (OM6162/Sawana sub1//OM6162). Sau khi tách chiết, định lượng DNA tổng số phản ứng PCR giữa DNA tổng số của các cây hồi giao dùng mỗi chuyên biệt với vùng gen mùi thơm. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên agarose 3% (hình 5) cho thấy đã nhận được một đoạn đặc hiệu của gen có kích thước khoảng 210- 220 bp với RM223 và kích thước 200-220 bp với marker RG 28. Kết quả này cho phép khẳng định mẫu từ các cây hồi giao của các giống lúa nghiên cứu có xuất hiện đoạn gen này chắc chắn mang gen mùi thơm liên kết trên nhiễm sắc thể số 8. Xét trên chỉ thị SP 6 ghi nhận phân tử đa hình trên quần thể BC3F4 trên bố mẹ với mẹ (OM6162) mang alen A với kích thước phân tử là 220bp và alen B mang gen của Bố (Sawanasub1) là 210 bp (Hình 5).

Số liệu kiểm tra PCR được tổng hợp cho thấy trong số 14 dòng hồi giao nghiên cứu có 2 dòng thơm đối với chỉ thị phân tử SP6 và RM223. Một dòng mang cả 3 chỉ thị phân tử là RM223, RG28F-B và SP6. Tính chất đa hình này (polymorphism) được minh họa rõ nét trong kỹ thuật phân tử SSR chỉ thị phân tử RM223, RG28, SP 6, hầu hết các dòng dị hợp tử.



Hình 5. Sản phẩm khuếch đại PCR với marker RM 223 (A), RM28 (B), S6 (C)

trên quần thể BC3 F4 của OM6162/Sawanasub1

Ghi chú: 14 dòng tương ứng: 1:(D2-F1(BC3F4-1)); 2:D2-F2(BC3F4-1);,3: D1-F3(BC3F4-20); 4:D2-F4 (BC3F4-26); 5:D2-F5(BC3F4-27); 6:D2-F6(BC3F4-28);7:D2-F7(BC3F4-29); 8:D2-F8(BC3F4-30); 9:D2-F9(BC3F4-53); 10:D2-F10(BC3F4-55); 11:D2-F11(BC3F4-56);12:D2-F12(BC3F4-57) ; 13:D2-F13(BC3F4-74) và 14:D2-F14 (BC3F4-75).

Qua đánh giá và xác định gen mùi thơm trên tổ hợp BC3F4 của tổ hợp OM6162/Sawana Sub1 với 14 dòng: D2-F1(BC3F4-1); D2-F2(BC3F4-16); D1-F3(BC3F4-20); D2-F4(BC3F4-26); D2-F5(BC3F4-27); D2-F6(BC3F4-28); D2-F7(BC3F4-29); D2-F8(BC3F4-30); D2-F9(BC3F4-53); D2-F10(BC3F4-55); D2-F11(BC3F4-56); D2-F12(BC3F4-57); D2-F13(BC3F4-74) và D2-F14(BC3F4-75) với các marker RM223, RG28 và SP6 cho thấy đa số các cá thể đều thể hiện kết quả mang mùi thơm chỉ có 1 dòng, D2-F1(BC3F4-1); Riêng hai chỉ thị RM223 và SP6 thì ghi nhận alen mang mùi thơm là dòng số 14: D2-F14(BC3F4-75) còn lại không ghi nhận mùi thơm trên các dòng. Như vậy, việc xét nghiệm PCR sàng lọc các cây hồi giao mang gen cần chuyển mùi thơm được chúng tôi tiến hành qua hai thế hệ tự thụ chọn lọc liên tiếp (từ BC3F1 đến BC3F4). Kết quả xét nghiệm PCR (thế hệ BC3F4) cho phép khẳng định việc hồi giao đã chuyển được gen mùi thơm vào các giống lúa mong muốn. Qua đó xác định được 2 dòng được tuyển mang gen để đánh giá và chọn lọc tiếp tục trồng và tuyển chọn đưa so sánh giống.

Đất khô hạn là một trở ngại chính đến sản xuất lúa gạo ở phần lớn các khu vực ĐBSCL vào mùa khô (Vụ Đông Xuân). Các giống lúa cải tiến năng suất cao đặc biệt nhạy cảm cao với stress khô hạn. Ở đây, mô tả một phương pháp để xác định nhanh QTLs đối với sự chống chịu với khô hạn ở giai đoạn mạ bằng cách sử dụng phân tích quần thể thể phân ly hồi giao của OM6162/Sawana Sub1. Số lượng hồi giao cần thiết cho việc tạo ra hai quần thể phân ly với kiểu hình cực đoan được tối ưu hóa là mỗi 75 kiểu hình. Bố mẹ và quần thể được đánh giá kiểu gen bằng việc sử dụng 6 SSR để xác định vùng di truyền cho thấy sự đồng nhất đối với các alen tương phản của SSR đa

hình ở hai nhóm gen khác nhau. Phương pháp được áp dụng với OM6162/Sawana Sub 1 phân ly đối với sự chống chịu khô hạn ở giai đoạn mạ.

Đánh giá kiểu gen của bố mẹ và quần thể hồi giao thực hiện trên nền tảng chỉ số nhạy cảm với khô hạn. Điều này không chỉ xác định vị trí của SSR được thử nghiệm trước đó (Van Berloo và Stam, 2011) ghi nhận dung chỉ thị phân tử còn được xác định một vài alen mới và được cung cấp một cách nhanh chóng. Trong bài này dựa trên SSR để lựa chọn các nhóm gen khô hạn và mùi thơm chỉ có 2 dòng qua sàng lọc nhiều lần cho mùi thơm và chịu khô hạn. Tuy nhiên mùi thơm là gen lặn cần đánh giá thực tế mức độ thơm ở hạt gạo, thơm ở lá hoặc thơm ở thân, rễ .

IV. KẾT LUẬN

Đánh giá vật liệu khởi đầu cho công tác chọn giống: Đã hoàn thành số liệu phân tích quần thể OM6162/Sawana sub 1, cơ sở di truyền số lượng và sự tương tác gen của các giống lúa cũng được đánh giá thông qua hệ số di truyền trong chọn giống với chọn lọc được 14 dòng. Tuy nhiên, chỉ có một dòng khô hạn trên cùng ba chỉ thị phân tử là dòng D2-F4(BC3D4-26). Có ba dòng trên cùng hai chỉ thị phân tử D2-F1(BC3F4-1); D2-F6(BC3F4-28); D2-F7(BC3F4-30).

Kết quả đã có nhiều kết quả nghiên cứu về sản phẩm cụ thể với dòng chịu khô hạn và một dòng mang mùi thơm trên D2-F1(BC3F4-1) và một dòng trên D2-F14(BC3F4-75) .

Tiếp tục trồng các cá thể D2-F4(BC3D4-26); D2-F1(BC3F4-1); D2-F6(BC3F428); D2-F7(BC3F4-30) chọn lọc cho phát triển giống lúa về năng suất và thành phần năng suất trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Châu Tấn Phát, Nguyễn Thị Lang, Trịnh Thị Lũy, Bùi Chí Bửu**, 2014. Chứng minh BAC clone nhằm dòng hóa vùng chứa gen quy định mùi thơm trên giống lúa *Oryza sativa*L. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, T.4:24-29.
- Châu Tấn Phát, Nguyễn Thị Lang, Trần Anh Thư, Bùi Chí Bửu**, 2011. Nghiên cứu gen mùi thơm trên một số tổ hợp lai F1 của các giống lúa bằng công nghệ chỉ thị phân tử. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, số 23 10-16.
- Nguyễn Thị Lang**, 2002. *Những phương pháp cơ bản trong công nghệ sinh học*. NXB Nông nghiệp, TP. HCM.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu**, 2004. Xác định gen FGR điều khiển tính trạng mùi thơm bằng phương pháp fine mapping với microsattelite. *Hội nghị Quốc gia*. NXB Nông nghiệp, trang 192- 199.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu**, 2011. Kết quả chọn tạo giống lúa thơm chống chịu khô hạn OM 7347. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 2(12)/2011):24-29.
- IRRI**, 2007. *World rice statistics*. IRRI, Philippines.
- Lang, N.T, B.C. Buu**, 2009. Fine mapping for drought tolerance in rice. *Omon rice*, 16:9-15.
- Lang, N.T., C.T. Nha, P.T.T. Ha, B.C. Buu**, 2013. Quantitative trait loci (QTLs) associated with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *SABRAO Journal of Breeding and genetics*.45(3): 409-421.
- Van Berloo, R., P. Stam**, 2001. Simultaneous marker-assisted selection for multiple traits in autogamous crops. *Theoretical and applied genetics*, 102:1107-1112.

Rice selection by pyramiding two genes of drought tolerance and aroma

Nguyen Thi Lang, Trinh Thi Luy,
Nguyen Ngoc Huong, Tran Bao Toan, Bui Chi Buu

Abstract

Seventy five BC3F4 lines screened from populations OM6162/Sawana-Sub1//OM6162 developed in CuuLong Delta Rice Research Institute were evaluated on level of drought response and aroma at flowering stage. Genetic factors of these rice lines were also identified again via molecular marker after evaluating drought tolerance and aroma. Three evaluated molecular markers including RM201, RM105, RM23662 were associated with drought genes on chromosome 9 and other three markers as RG223, RG28F-R; SP6 were associated with aroma on chromosome 8. Results were recorded that there were association between genotype and phenotype. 14 among the studied lines of OM6162/SawanaSub1//OM6162 combination were selected but only two lines had aromatic and drought genes such as (D2-F1(BC3F4-1); D2-F14(BC3F4-75)). These lines could be used for evaluation of yield and yield components in the future.

Key words: Aroma, drought, genotypic, markers, phenotypic

Ngày nhận bài: 12/7/2016
Người phản biện: TS. Đặng Minh Tâm

Ngày phản biện: 19/7/2016
Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

SÀNG LỌC BỘ GIỐNG LÚA MÙA CHỊU MẶN GIAI ĐOẠN MẠ VÀ TRỞ HOA

Nguyễn Trọng Phước¹, Trần Bảo Toàn²,
Bùi Chí Bửu³, Nguyễn Thị Lang¹

TÓM TẮT

Sàng lọc 101 giống lúa Mùa tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) để đánh giá mức độ phản ứng chống chịu mặn với hai nồng độ muối: EC = 6dS/m và 12dS/m. Kết quả cho thấy các giống nghiên cứu được chia thành 3 nhóm khác nhau: Nhóm các giống chịu mặn, giống hơi nhiễm và giống nhiễm. Quan sát quá trình sinh trưởng của các giống cho thấy: Nồng độ muối càng cao thì số ngày sống sót càng thấp, điều này cho thấy điều kiện mặn ảnh hưởng rất lớn đến sự sống sót, sinh trưởng và phát triển của cây lúa. Các giống kháng mặn được đề xuất bao gồm: Pokkali, Một Bụi Lùn, Một Bụi, Tép Hành, Nàng Gước Đỏ. Các giống này cũng được kiểm tra với chỉ thị phân tử RM223 và RM3252-S1-1 và đều ghi nhận có sự liên kết giữa kiểu hình và kiểu gen. Các giống kháng mặn trên có thể đưa thử nghiệm trên vùng đất nhiễm mặn giới hạn nồng độ mặn từ 2-4‰.

Từ khóa: Giai đoạn mạ, trở hoa, nhiễm, chịu mặn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dựa vào marker phân tử liên kết với gene kháng mặn, nhà chọn giống có thể xác định được kiểu gene kháng và nhiễm ở ngay từ giai đoạn đầu. Chiến lược tạo chọn giống chống chịu mặn và canh tác mùa vụ thích hợp xem như là cách làm kinh tế và có hiệu quả nhất để gia tăng sản lượng lúa ở vùng bị nhiễm mặn (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 1997).

Do đó, ứng dụng chỉ thị phân tử để đánh dấu gen chống chịu mặn trên cây lúa (*Oryza sativa* L.), nhằm mục đích sàng lọc được các giống lúa chống chịu mặn trong điều kiện đất trồng bị nhiễm mặn. Qua đó, nguồn gen từ các giống lúa Mùa có triển vọng được sử dụng trong công tác chọn tạo giống mới.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thanh lọc 101 giống lúa mùa thu thập tại các tỉnh ĐBSCL. Giống chuẩn kháng Pokkali; giống chuẩn nhiễm IR29.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thanh lọc mặn theo Gregorio (1997) và phương pháp cải tiến (Nguyễn Thị Lang và ctv., 2001) ở giai đoạn mạ. Dùng 101 giống lúa mùa để đánh giá tính chống chịu mặn với giống Pokkali làm đối chứng kháng. Tính trạng đơn gen rất dễ đo đếm và quan sát, nhưng không phải luôn luôn trong mọi trường hợp. Kiểu hình trong trường hợp mặn là kết quả của ảnh hưởng giữa kiểu gen và môi trường. Do đó, điều rất quan trọng là phải làm sao đo đếm một cách chính xác kiểu hình. Người ta sử dụng một quần thể trong đó cho phép kiểu hình được lặp lại, điều này có lợi là

làm tăng độ chính xác khi đo đếm, đặc biệt đối với những tính trạng mẫn cảm đối với sự thay đổi do môi trường. Bất kỳ trường hợp nào, việc phân tích kiểu hình phải là công việc được đầu tư nhiều nhất (Nguyễn Thị Lang và ctv., 2006). Trong bài này dựa trên số ngày sống sót của cây lúa sau khi thanh lọc mặn tối đa là 35 ngày trong môi trường dinh dưỡng.

Phương pháp ly trích DNA và chạy PCR theo (Nguyễn Thị Lang, 2002).

Chuỗi mã trình tự primers theo Trường Cornel của Hòa Kỳ. Chuỗi trình tự của RM223 được thiết kế như sau: F 5'-GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC-3'

R 5'-GAAGGCAAGTCTTGGCACTG-3'

RM3252-S1-1 có chuỗi mã trình tự: F-5'-GGTAACTTTGTTCCCATGCC-3'

R-5'-GGTCAATCATGCATGCAAGC-3'

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân nhóm di truyền theo số ngày sống sót

Ngày sống sót của cây mạ được tính dựa trên cơ sở sau khi thanh lọc 30 ngày, cây mạ còn sống sót sẽ được ghi nhận và đánh giá từ khi cây bắt đầu khô lá. Phân tích ngày sống sót của các giống sau khi thanh lọc mặn với nồng độ 6dS/m và 12dS/m cho thấy ngày sống sót của các giống khác nhau có ý nghĩa thống kê mức 99% (**). Độ biến động giữa 3 lần lặp lại có ý nghĩa ở môi trường 6 dS/m là 2,6 và ở môi trường 12 dS/m là 4,4.

Qua kết quả thanh lọc của 101 giống lúa Mùa có sự khác nhau rõ rệt về thời gian sống sót ở môi trường 6dS/m và 12dS/m. Thời gian sống sót cao nhất ở môi trường 6dS/m là 29,5 ngày còn ở môi

¹ Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long; ² Công ty Công nghệ sinh học PCR

³ Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam