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

Nguyễn Trọng Phước[1], Trần Bảo Toàn[2],
Bùi Chí Bửu[3], Nguyễn Thị Lang[1]

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, trỗ 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 sốngsót 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'-GGTA-ACTTTGTTCCCATGCC-3'

R-5'-GGTCAATCATGCATGCAAGC-3'

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

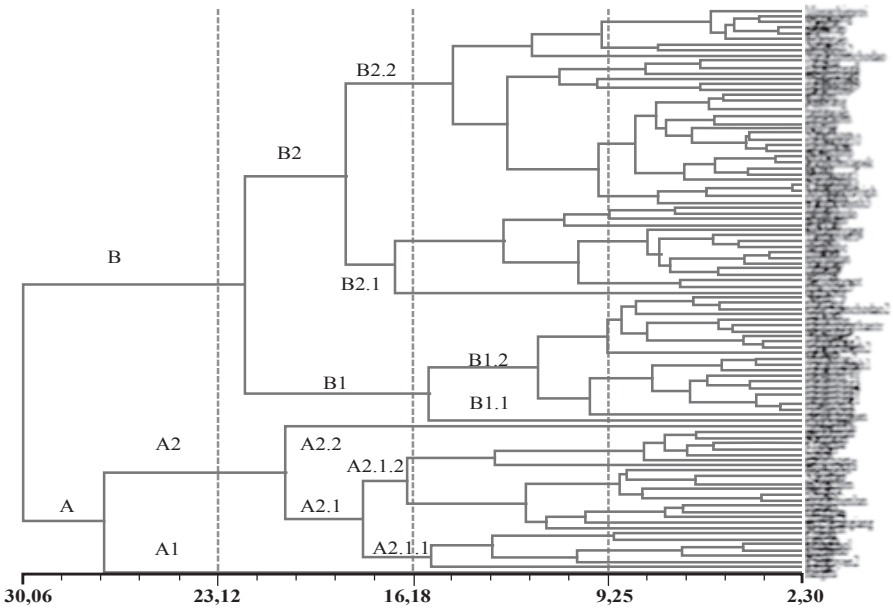
3.1. Phân nhóm di truyền theo số ngày sống sót

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

trường 12dS/m là 28,8 ngày. Nhìn chung, các giống có khả năng sống sót ở môi trường 6 dS/m và 12 dS/m. Hầu hết, các giống chết khi qua 30 ngày thanh lọc mặn trong môi trường dinh dưỡng.Môi trường mặn làm cho cây lúa sinh trưởng và phát triển không bình thường, những cá thể lúa chịu ảnh hưởng của stress mặn biểu hiện tình trạng cháy đầu lá, thân rễ kém phát triển hơn bình thường, nếu nhiễm nặng hơn có thể làm cây lúa bị vàng úa, thậm chí cháy khô và chết (Gregorio *et al.*, 2002).



Hình 1. Phân nhóm di truyền của 101 giống khác nhau trên lúa Mùa thanh lọc giai đoạn mạ

Ở hệ số tương đồng 30,06 các giống lúa Mùa được chia thành 2 nhóm chính A và B.

Nhóm A1 gồm 1 giống: Bằng Nữ. Giống này có thời gian sinh trưởng (TGST) dài (135 ngày), chiều cao cây lớn (144 cm), số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông rất cao (228 hạt), số hạt lép/bông thấp, dưới 10% (18 hạt), khối lượng 1000 hạt lớn (29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 27 ngày (EC=8dS/m) đến 29 ngày (EC=12dS/m).

- Nhóm A2 được chia thành 2 nhóm là A2.1 và A2.2 ở hệ số tương đồng 20,35:

Nhóm A2.1 được chia thành 2 nhóm nhỏ là A2.1.1 và A2.1.2 ở hệ số tương đồng là 17,90:

Nhóm A2.1.1 gồm các giống: Chên La, Lùn Cẩn, Ma-ha-Phol, Một Bụi Đỏ, Sơ Ri Đỏ, Tài Nguyên 2, Sơ Ri Đỏ. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (125 đến 130 ngày), chiều cao của giống lúa mùa rất cao dao động từ (125 đến 160 cm), chiều dài bông (từ 24 đến 29cm), số bông/bụi nhiều (từ 12 đến 18 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 141 đến 147 hạt), số hạt lép/bông thấp, số hạt/bông lớn (từ 152 đến 164 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (từ 6 đến 11%), năng suất bụi cao (từ 55 đến 113g), khối lượng 1000 hạt lớn (27 đến 29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 26 đến 27 ngày (EC=8dS/m) và 21 đến 25 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ từ 10 đến 23%.

Nhóm A2.1.2 gồm các giống: Tép Hành (giống được thu thập tại Cà Mau), Nàng Keo, Móng Chim, Nàng Trá, Nhỏ Đỏ, Móng Chim Lùn, Lúa Sari, Hương Lài, Mùa Số 19, Một Tép An Giang, Trắng Cụt, Nếp Khmau, Nàng Loan, Trắng Lựa, Lúa Sari, Lúa Sỏi, Nàng Thơm, Huyết Rồng 8. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (113 đến 135 ngày), chiều cao cây trung bình (123 đến 147 cm), chiều dài bông (từ 23 đến 27cm), số bông/bụi nhiều (từ 9 đến 25 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 160 đến 200 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 20 hạt), số hạt/bông lớn (từ 180 đến 200 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (từ 1 đến 12%), năng suất bụi cao (từ 60 đến 113g), khối lượng 1000 hạt lớn (25 đến 29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 25 đến 27 ngày (EC=6dS/m) và 21 đến 26 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ từ 10 đến 15%.

- Nhóm A2.2 gồm 1 giống: Lùn Minh Hải. Giống thuộc nhóm này có TGST cao (130 ngày), chiều cao cây thấp (128 cm), chiều dài bông cao, số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông cao (164 hạt), số hạt lép/

bông thấp (14 hạt), số hạt/bông cao (178 hạt), tỷ lệ lép/bông thấp (7,8%), năng suất bụi cao (trên 77 g), khối lượng 1000 hạt lớn (28,5g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn được 30 ngày (EC= 6dS/m), 28 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ rất cao 66,5%.

Nhóm B được chia thành 2 nhóm lớnlà B1 và B2 ở hệ số tương đồng 22,77:

Nhóm B1 được chia thành 2 nhóm nhỏ là B1.1 và B1.2 ở hệ số tương đồng là 16,64:

- Nhóm B1.1 gồm 1 giống: Tàu Hương. Giống thuộc nhóm này có TGST cao (130 ngày), chiều cao cây thấp (123 cm), chiều dài bông tốt, số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông trung bình (107 hạt), số hạt lép/bông cao (45 hạt), số hạt/bông trung bình (152 hạt), tỷ lệ lép/bông khá cao (30%), năng suất bụi trung bình (trên 47,8g), khối lượng 1000 hạt nhỏ (23,3g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn được 30 ngày (EC= 6dS/m), 29 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ khoảng 67,5%.

- Nhóm B1.2 bao gồm: Nếp đỏ, Nhỏ Vàng, Nàng Thơm Chợ Đào 2, Lúa Thơm, Nanh Chồn, Nàng Hương Thanh Trà, Nếp Ông Già, Thơm Sớm, Nàng Hương 2, Trắng Hòa Bình 2, Nàng Nhen, Một Bụi Lùn 2, Trắng Hòa Bình 1, Nàng Hương 6, Nếp Thơm, Nàng Hương 3, Nàng Hương 4, Nàng Hương 7, Nàng Hương 1, Nhỏ Thơm 5, Tàu Lệ Hương. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây trung bình (135 đến 146 cm), chiều dài bông (từ 16 đến 28cm), số bông/bụi (từ 8 đến 20 bông), số hạt chắc/bông thấp (từ 63 đến 120 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 20 hạt), số hạt/bông thấp (từ 68 đến 148 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (dưới 20%), năng suất bụi thấp (từ 10 đến 111g), khối lượng 1000 hạt thấp (23 đến 28g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 24 đến 32 ngày (EC=6dS/m) và 21 đến 31 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ từ 10 đến 17%.

Nhóm B2 được chia thành 2 nhóm nhỏ là B2.1 và B2.2 ở hệ số tương đồng là 18,59.

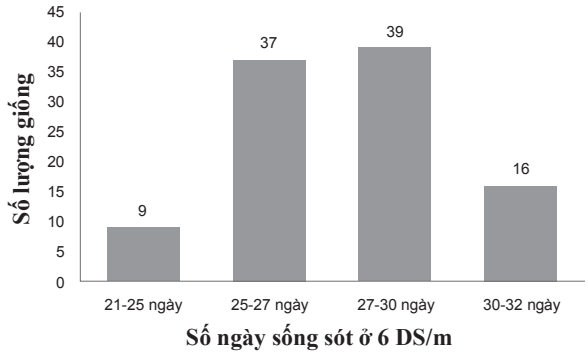
- Nhóm B2.1 gồm các giống: Rễ Hành, Nàng Guốt Đỏ, Nhỏ Thơm, Pokkali, Rễ Hành Trắng, Tài Nguyên 1, Rễ hành, Nàng Quốc, Chín Tèo, Một Bụi Lùn, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Tép Trắng, Đen Vỏ Đỏ Ruột, NhỏThơm 3, Nếp Phụng Tiên. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây (126 đến 160 cm), chiều dài bông (từ 23 đến 30cm), số bông/bụi (từ 10 đến 21 bông), số hạt chắc/bông trung bình (từ 110 đến 120 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 23 hạt), số hạt/bông cao (từ 125 đến 135 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (dưới 17%), năng suất bụi (từ 25 đến 80g), khối lượng 1000 hạt thấp (23 đến 27g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 24 đến 32 ngày (EC= 6dS/m) và 22 đến 30 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ từ 15 đến 70%.

- Nhóm B2.2 gồm các giống: Móng Chim Rơi, Nếp Mường, Nàng Tét, Nếp Ba Tập, C10-1, Trắng Pép, Nàng Co, Nhỏ Thơm 2, Nàng Thơm Chợ Đào, Vàng Lựa, Nàng Hương 8, Nàng Hương 5, Tài Nguyên 3, Nàng Hương 9, Nanh Chồn, Út Lượm, Sori Trắng, C10-2, Tài Nguyên, Nàng Thơm, Nàng Hương 10, Nàng thơm, Mong Chim, On Kuok, Sraukomlapek, Sa Lăng, Nhỏ Hương 5, Nàng Sóm, Tài Nguyên 4, Sóc Miên Trà Vinh, Chệt Xanh, Trắng Hòa Bình, Nhỏ Thơm 4, Nhỏ Thơm 4. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây (120 đến 165 cm), chiều dài bông (từ 22 đến 30cm), số bông/bụi (từ 11 đến 25 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 100 đến 145 hạt), số hạt lép/bông khá thấp (từ 8 dến 40 hạt), số hạt/bông cao (từ 110 đến 175 hạt), tỷ lệ lép/bông (từ 5 đến 22%), năng suất bụi (từ 20 đến 80g), khối lượng 1000 hạt cao (25 đến 30g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 21 đến 30 ngày (EC= 6dS/m) và 21 đến 30 ngày (EC=12dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ từ 0 đến 15%.

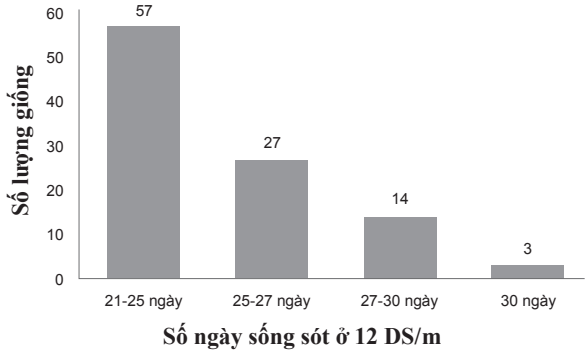
3.2. Phân tích bộ giống lúa Mùa chống chịu mặn giai đoạn mạ ở nồng độ mặn EC=6dS/m

Các giống được đánh giá ở môi trường 6 dS/m cho thấy, có 9 giống có thời gian sống sót từ 21-25 ngày: Nàng Thơm Thanh Trà, Nàng Thơm, Nàng Thơm Chợ Đào, Mùa số 19, Nhỏ Thơm-5, Nếp Ông Già, Nàng Hương-2, Trắng Lựa, Tài Nguyên. Có 37 giống có thời gian sống sót từ 25-27 ngày: Sóc Miên Trà Vinh, Móng Chim Lùn, Nàng Hương-8, Nếp Phụng Tiên, Trắng Hòa Bình-1, Nhỏ Tương-5, Nàng Tét, Nanh Chồn, Trắng Hòa Bình-3, Lúa Cẩn,Lúa Sỏi, Hương Lài, Nàng Hương-4, Móng Chim, Chệt Xanh, Lúa Sari, Tài Nguyên-3, Trắng Cụt, Nàng Hương-7, Nhỏ Đỏ, Nàng Thơm, Sơri Trắng, Nếp Đỏ, Nàng Hương-5, Lúa Thơm, Nàng hương-9, Nàng Nhen,Ngọc Nữ, Nàng Loan, Huyết Rồng 8, Nàng Hương-6, Nàng Hương-10, Móng Chim Rơi, Nếp Mường, Nếp Ba Tập, Út Lượm, Nàng Trá. Có 39 giống có thời gian sống sót từ 27-30 ngày: Sơri Đỏ, Nàng Co, Nàng Thơm, Tàu Lệ Hương, Trắng Hòa Bình-2, Lúa sari, Nàng Keo, Lùn Cẩn, Tài Nguyên-4, Sơ ri Đỏ, Một Bụi Lùn-2, Nàng Hương-3, Nàng Hương Thanh Trà, Móng Chim, Nanh chồn, Thơm Sớm, Nàng Hương-1, Vàng Lựa, Nhỏ thơm-2, Nhỏ Thơm-4,

On Kuốk, Sa Lăng, C10-2, C10-1, Nàng Sớm, Srauskom La pek, Nếp Khmau, Ma ha phol, Trắng Tép, Nếp Thơm, Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thơm Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thơm-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành, Chên La. Có 16 giống có thời gian sống sót từ 30-32 ngày: Các giống này được xem là chống chịu mặn ở 3‰ bao gồm: Đen Vỏ Đỏ Ruột, Rẽ Hành Trắng, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo, Rẽ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rẽ Hành, Tép Trắng, Nhỏ Thơm-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gướt Đỏ.



A



B

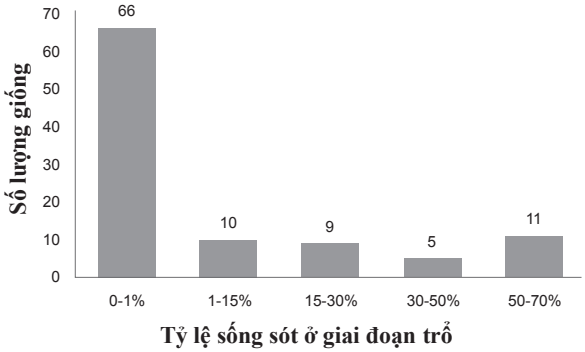
Hình 2. Biểu đồ thể hiện số ngày sống sót ở EC=6 dS/m (A) và 12 dS/m (B) của 101 giống lúa mùa

- Các giống được thanh lọc ở giai đoạn mạ với nồng độ mặn EC = 12 dS/m

Các giống được đánh giá ở môi trường với nồng độ mặn EC= 12dS/m cho thấy: Có 3 giống có số ngày sống sót được ở mức 30 ngày như giống: Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gước Đỏ. Có 14 giống có số ngày sống sót từ 27 đến 30 ngày: Chên La, Đen,Vỏ Đỏ Ruột, Rẽ Hành Trắng, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo, Rẽ Hành, Một Bụi Lùn, Rẽ hành, TépTrắng, Nhỏ Thơm-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải. Có 27 giống có thời gian sống sót từ 25 đến 27 ngày: Nàng Hương-3, Nàng Hương Thanh Trà, Móng Chim, Nanh Chồn, Thơm Sớm, Nàng Hương-1, Vàng Lựa, Nhỏ Thơm-2, Nhỏ Thơm-4, On kuốk, Sa Lăng, C10-2, C10-1, Nang Som, Srauskom la pek, Nếp Khmau, Ma ha phol, Trắng Tép, Nếp Thơm, Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thơm Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thơm-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành. Các giống còn lại có số ngày sống sót dưới 25 ngày.

3.3. Phân tích bộ giống lúa Mùa chống chịu mặn ở giai đạn trỗ hoa ở nồng độ mặn EC= 6dS/m

Đánh giá khả năng sống sót của các giống ở giai đoạn trỗ, có 11 giống có tỷ lệ sống sót từ 50-70%: Rẽ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rẽ Hành, Tép Trắng, Nhỏ Thơm-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng GướcĐỏ. Có 5 giống có tỷ lệ sống sót từ 30 đến 50%: Đen Vỏ Đỏ Ruột, Rẽ Hành Trắng, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo. Có 9 giống có tỷ lệ sống sót từ 15 đến 30%: Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thơm Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thơm-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành, Chên La. Có 10 giống có tỷ lệ sống sót từ 1 đến 15%: On kuốk, Sa Lăng, C10-2, C10-1, Nàng Sớm, Srauskom La Pek, Nếp Khmau, Ma Ha Phol, Trắng Tép, Nếp Thơm. Các giống còn lại đều không sống sót đến giai đoạn trỗ. Đối với nồng độ EC=12 dS/m thì chỉ có Rẽ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rẽ hành, Tép Trắng, Nhỏ Thơm-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng GướcĐỏ là còng sống sót. Còn các giống khác hoàn toàn lép và không thu được hạt.



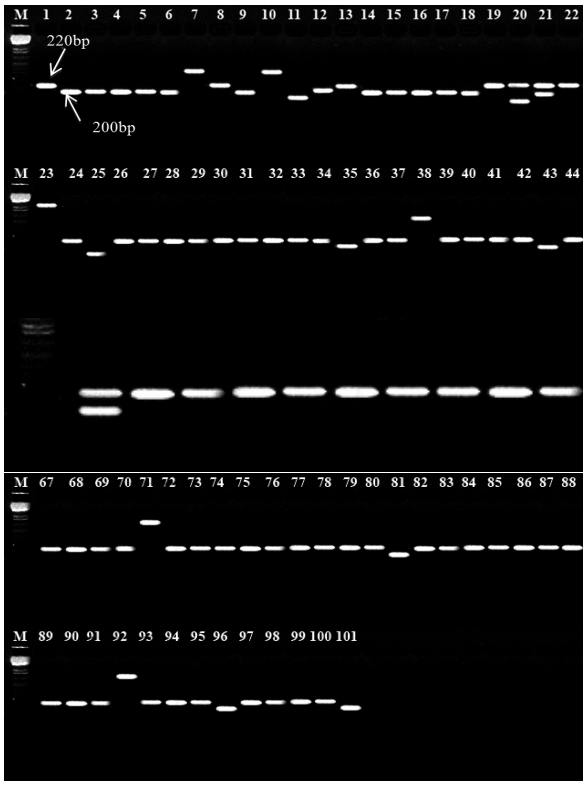
Hình 3. Biểu đồ thể hiện tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trỗ của các giống lúa mùa. Nồng độ muối EC = 6 dS/m

3.4. Đánh giá tương quan các chỉ tiêu ở hai môi trường muối EC= 6 dS/m và 12 dS/m

Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR-SSR với marker RM223.

Gen mục tiêu được chọn để thực hiện thí nghiệm này là gen kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8 (saltol). Gen liên kết chặt trên nhiễm sắc thể số 8 được đánh dấu bởi marker phân tử RM223. Gen này có liên kết với gen mùi thơm và với gen chống

chịu mặn ở giai đọan mạ và phát dục (Nguyễn Thị Lang và ctv., 2001). Marker RM223 được sử dụng làm marker đánh dấu, marker này có kích thước là (200-220bp) và được dùng làm khuôn DNA để thiết lập các cặp primer đặc hiệu. Các cặp primer này sẽ khuếch đại được các đoạn DNA nhỏ hơn nhờ phương pháp PCR. Các đoạn DNA nhỏ này được gọi là SSR.Sau đó tiến hành kiểm tra việc khuếch đại trên gel agarose 3% trong dung dịch TBE 1X. Kết quả thể hiện ở Hình 4.

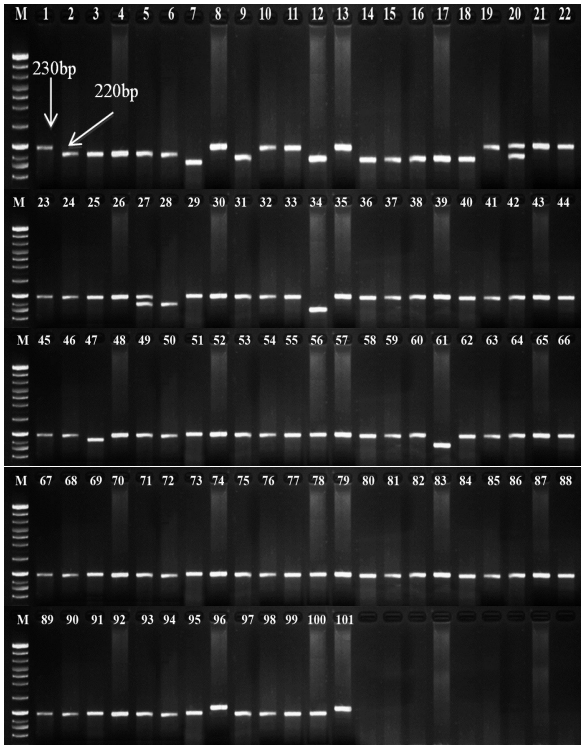


Hình 4. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử SSR223 trên 101 giống chống chịu mặn, liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí hai băng 220bp và 200bp, trên gel agarose 3%,

Ghi chú: M là marker chuẩn.

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở tất cả các cột đều có dạng đơn hình, xuất hiện với hai băng có kích thước 200bp tương ứng với IR28 và 220bp tương ứng với Pokkali cho gen kháng mặn.

Tương tự phân tích kiểu alen của chỉ thị RM3252-S1-1 ghi nhận kích thước phân tử cho vị trí của Pokkali là markerRM3252-S1-1được sử dụng làm marker đánh dấu, marker này có kích thước là (220-230 bp) và được dùng làm khuôn DNA để thiết lập các cặp primer đặc hiệu. Điều này cũng phù hợp với Mohammadi và ctv., 2010. Kết quả ghi nhận đa số các giống khác biệt với giống Pokkali.



Hình 5. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 101 giống chống chịu mặn

Ghi chú: M là marker chuẩn

3.5. Kiểm tra mức độ chính xác giữa việc đánh giá giống theo kiểu hình và dựa vào marker phân tử.

Phương pháp SSR marker với marker RM223 đã được (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2004) kiểm tra, với mức độ chính xác giữa kiểu gene và và kiểu hình đến 82% trên giai đoạn phát dục và 92% ở giai đoạn mạ.Tiến hành việc kiểm tra mức độ chính xác của phương pháp SSR marker với marker RM 223. Trước hết xác định kiểu hình thanh lọc đối với genekháng mặn chọn ra các giống kháng và nhiễm rõ rệt để đánh giá kiểu hình và kiểu gene cho nhanh bằng marker phân tử.

Kết quả ghi nhận về sự liên hệ giữa kiểu hình và kiểu gene cho thấy trong các giống lúa được kiểm tra: 13 giống chống chịu mặn tốt về kiểu hình thì có 13 giống mang kiểu gen kháng (T) chiếm 100%. Quá trình biểu hiện từ kiểu gen ra kiểu hình là một quá trình phức tạp gồm nhiều nhân tố quyết định trong đó quan trọng nhất là sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Phương pháp này cho thấy khả năng dự đoán kiểu gen chống chịu và kiểu hình chống chịu rất cao, do đó có thể áp dụng để chọn lọc những giống chống chịu cho điều kiện mặn, làm nguồn vật liệu lai cho những chương trình lai tạo giống lúa mới hiện nay.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Qua đánh giá kiểu hình của 101 giống lúa Mùa về mức độ phản ứng chống chịu mặn với hai nồng độ muối khác nhau EC=6dS/mvà 12 dS/m có thể chia thành 3 nhóm khác nhau: Nhóm các giống chống chịu mặn, giống hơi nhiễm và giống nhiễm.

Khả năng phản ứng với mặn của giống lúa có sự khác biệt rất lớn. Tuy nhiên xét về sự sinh trưởng của các giống cho thấy: Nồng độ muối càng cao thì số ngày sống sót càng thấp.

Các giống chống chịu mặn Pokkali, Một Bụi Lùn, Tép Hành, Nàng Gước Đỏ,… Các giống này có kiểu hình thống nhất kiểu gen, có khả năng chống chịu tốt với điều kiện mặn.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục khai thác các giống lúa Mùa sử dụng như là vật liệu ban đầu để làm vật liệu lai, tạo ra các con lai có khả năng chống chịu mặn và cho năng suất cao.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cám ơn đề tài *"Nghiên cứu ứng dụng công nghệ tiên tiến chọn tạo giống lúa thuần chống chịu mặn-hạn thích nghi với điều kiện canh tác lúa vùng nhiễm mặn thuộc đồng bằng sông Cửu Long"*. Cảm ơn Chương trình Đổi mới công nghệ quốc gia của Bộ Khoa học và Công nghệ, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cấp kinh phí cũng như thảo luận số liệu. Cảm ơn cán bộ của Bộ môn Di truyền - Chọn giống,Viện Lúa ĐBSCL, Viện Khoa học Nông nghiệp miền Nam tạo điều kiện để thực hiện đề tài này. Cảm ơn Công ty Công nghệ sinh học PCR Cần Thơ đã hỗ trợ thiết bị để phân tích mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 1997. Đánh giá quỹ gen cây lúa nhờ marker phân tử. *Kết quả nghiên cứu khoa học Viện lúa ĐBSCL*:83-86.

Gregorio, G.B, 1997. *Tagging salinity tolerance genes in rice using amplified fragment Length polymorphism (AFLP)*. Ph.D. Thesis, University of the Philippines Los Baños. Laguna, Philippines.

Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2002. *Phương Pháp Cơ Bản Trong Nghiên Cứu Công Nghệ Sinh Học*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Gregorio, G.B., D. Senadhira, R.D. Mendoza, N.L. Manigbas, J.P. Roxas, C.Q. Guerta, 2002. Progress inbreeding for salinity tolerance and other abiotic associated stresses in rice. *Field Crops Res*.76: 91-101.

Mohammadi-Nejada, G., R.K. Singhb, A. Arzanic, A.M. Rezaiec, H. Sabourid*, G.B. Gregoriob, 2010. Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. *International Journal of Plant Production 4* (3). ISSN: 1735-6814 (Print), 1735-8043 (Online). www.ijpp.info.

Nguyen Thi Lang, Seiji Yanhanagihara and Bui Chi Buu, 2001. A microsatellite marker for a gene conferring salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. SABRAO: *Plant Breeding & Genetics*: 1-10.

Nguyễn Thị Lang và Hoàng Thị Ngọc Minh, 2006. Đánh giá khả năng chống chịu mặn của các giống lúa ngắn ngày. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 24: 32-36.

Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2004. Nghiên cứu di truyền cho gen kháng mặn trên quần thể trồng dồn của cây lúa. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 6: 824-826.

Screening Summer rice collection for salt tolerance at the seedling and flowering stage

Nguyen Trong Phuoc, Tran Bao Toan,
Bui Chi Buu, Nguyen Thi Lang

Abstract

101 local rice varieties were used for evaluation of salt tolerance in two different salt concentrations as EC=6 dS/m, 12 dS/m. The result showed that the studied rice varieties were devided into 3 distinct groups: group of saline tolerant varieties, slightly susceptible varieties and subceptible varieties. The observation of rice growth showed that the higher the salt concentration, the lower the number of survial days was, this result suggested that the saline conditions affect greatly on the survival, growth and development of rice. The varieties were proposed including Pokkali, Mot Bui Lun, Mot Bui, Tep Hanh, Nang Guoc Đo, ... these varieties were also tested by molecular markers RM223 and RM3252-S1-1 and were recorded the linkage between genotype and phenotype. The studied salt tolerent varieties can be tested in salinity areas within salinity concentration of 2-4 ‰.

Key words: Seedling stage, flowering, susceptible, salt tolerance

Ngày nhận bài: 12/7/2016
Ngày phản biện: 17/7/2016
Người phản biện: TS. Đặng Minh Tâm
Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

NGHIÊN CỨU CHỒNG GEN MẶN VÀ HẠN TRÊN TỔ HỢP LAI HỒI GIAO PHỤC VỤ ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Thị Lang[1], Phạm Công Trứ[1]
Nguyễn Trọng Phước[1], Trần Minh Tài[1], Bùi Chí Bửu[2]

TÓM TẮT

Sàng lọc 100 dòng BC2F2 từ quần thể OM6162/Pokkali//OM6162 đã được phát triển tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Thí nghiệm đánh giá mức độ phản ứng chống chịu mặn được tiến hành với hai nồng độ muối khác nhau EC= 8 dS/m, 15 dS/m trên giai đoạn mạ và quần thể này cũng đồng thời được sàng lọc tính trạng chịu khô hạn trong nhà lưới giai đoạn mạ. Khả năng phản ứng với mặn của giống lúa có sự khác biệt rất lớn. Tuy nhiên xét về sự sinh trưởng, phát triển của các dòng cho thấy: Nồng độ muối càng cao thì ngày sống sót càng thấp, phần trăm giảm dần với nồng độ EC= 15ds/m. Các dòng sau khi đánh giá chịu khô hạn và mặn cũng được xác định lại yếu tố di truyền thông qua chỉ thị phân tử. Bốn chỉ thị phân tử RM223, RM3252-S1-1, RM105 và RM201 được đánh giá liên kết với kiểu gen mặn và khô hạn theo thứ tự. Kết quả đều ghi nhận có sự liên kết giữa kiểu hình và kiểu gen trên 100 dòng BC2F2. Các dòng từ tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162 chọn được chỉ 1 dòng (S1-D1) mang cả hai gen khô và hạn. Các dòng này có thể đưa thử nghiệm trên vùng đất nhiễm mặn khác nhau để đánh giá năng suất và thành phần năng suất phục vụ cho chương trình nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: Mặn, khô hạn, giai đoạn mạ, kiểu gen, kiểu hình

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong một đợt hạn hán hoặc thiếu nước tưới, hoặc do nhiễm mặn cây lúa tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) đầu năm 2016 trong vụ Đông Xuân 2015-2016 ước tính có 104.000 ha bị ảnh hưởng và giảm năng suất do nhiễm mặn (Tổng Cục Thủy lợi, 2016*)*. Mặn và khô hạn ảnh hưởng và tác động đến cây trồng có thể làm giảm từ 15 đến 50% năng suất, có thể dẫn đến tình trạng khan hiếm lương thực trên thế giới (MacKill *et al.,* 2006). Cây lúa đã phát triển một số cơ chế để chịu được các tác động của hạn hán và mặn. Năng suất cao được đi kèm với cao đặc điểm nông học mà làm cho cây trồng phù hợp với môi trường (Khush *et al.,*1998). Một số giống chống chịu đối với điều kiện này rất tốt như Pokkali, OM5629 chống chịu mặn (Lang và *ctv*., 2011b), OM 6162, OM7347 chống chịu khô hạn (Lang và *ctv.,*2011a). Lai hồi giao hỗ trợ cùng lúc phát hiện và chuyển QTL (Quantitive Trait Loci) thông qua di truyền số lượng có giá trị từ tế bào sang một dòng ưu tú đã được chứng minh (Tanksley *et al.,* 1986; Mackill *et al.,* 2006). Chuyển các tính trạng mục tiêu có thể sử dụng marker phân tử như là mapping flanking hoặc các liên kết chặt chẽ (tightly linked) với các tính trạng được kết hợp. Chồng gen có thể liên quan đến việc kết hợp gen từ nhiều hơn hai bố mẹ. Chiến lược cho chồng gen MAS của liên kết gen mục tiêu cũng đã được đánh giá (Servin *et al.,* 2004). Đối với nhiều locus mục tiêu được liên kết, chồng gen qua thế hệ kế tiếp là một lợi thế về giảm thiểu marker đánh giá kiểu gen.Việc sử dụng MAS (Marker Assisted Selection) giúp chuyển gene nhanh hơn kể từ khi cây có thể được lấy mẫu và kiểu gen với những đặc điểm mục tiêu có thể được xác định ngay cả ở giai đoạn đầu của sự phát triển. Mục tiêu chính của nghiên cứu này là phát triển dòng chồng gen mặn và khô hạn trên cây lúa để phục vụ cho chương trình chọn giống phục vụ cho các tỉnh ĐBSCL.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu bao gồm 100 dòng BC2F2 từ quần thể OM6162/Pokkali/ /OM6162 đã được phát triển tại Viện lúa ĐBSCL.

2.2. Địa điểm thí nghiệm

- 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 BC_2F_1, các dòng chọn lọc sẽ được tự thụ để xác định các cá thể đồng hợp (BC_3F_2) có mang gene mục tiêu bằng phương pháp MAS.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thanh lọc mặn và khô hạn

Các dòng BC (Back Cross) nguồn gốc lai từ OM 6162/ Pokkali được sử dụng như cá thể cho gene của

[1] Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long
[2] Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam