

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

Nguyễn Thị Lang¹, Phạm Công Trứ¹
Nguyễn Trọng Phước¹, Trần Minh Tài¹, Bùi Chí Bửu²

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 (Quantitative 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. Chống gen có thể liên quan đến việc kết hợp gen từ nhiều hơn hai bố mẹ. Chiến lược cho chống 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, chống 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 chống 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 BC₂F₁, các dòng chọn lọc sẽ được tự thụ để xác định các cá thể đồng hợp (BC₃F₂) 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

thông qua bản đồ số lượng liên quan đến khả năng chịu hạn và mặn. Giống OM6162 mang gen chống chịu khô hạn và Pokkali là giống mang gen chống chịu mặn. Thí nghiệm đánh giá tính chịu hạn được thực hiện trong nhà lưới, trong điều kiện khô hạn hoàn toàn trong 30 ngày sau gieo, được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 03 lần lặp lại (rep). Một lần lặp lại được gieo với 10 hạt/giống. Được thực hiện trong bể tại nhà lưới. Giống đối chứng được thực hiện dùng giống OM6162. Kiểm soát sâu bệnh, che chắn không cho nước vào bể. Lá bị cuộn lại, và điểm khô hạn được đo lường và cho điểm bắt đầu từ khi rút nước cho đến khi cây khô hạn (Lang và *ctv.*, 2004, 2006, 2014). Thanh lọc mặn theo (Gregorio, 1997). Phương pháp cải tiến (Lang và *ctv.*, 2001a,b).

2.3.2. Phương pháp lai hồi giao và chọn lọc bằng “marker phân tử”

Đánh giá kiểu gen theo Lang (2002).

a) Kết quả kiểm tra chất lượng DNA

Các mẫu ADN của tổ hợp OM6162/Pokkali (BC₂F₂) được kiểm tra chất lượng ADN trên môi trường agarose gel 0,9% trong TAE 1X.

Sau khi điện di xong, nhuộm gel với Ethidium-bromide, rồi đem gel vào máy chụp dưới tia UV.

b) Sản phẩm phản ứng PCR với marker SSR

Phản ứng được tiến hành với các mẫu dựa trên DNA thu được từ các mẫu lá các dòng lúa đã ly trích. Phản ứng PCR được tiến hành với 4 SSR marker. Sản phẩm khuếch đại được tạo ra từ những primer này được điện di trên gel agarose 3% với đệm TBE 1X, sau đó đem nhuộm Ethidiumbromide, sản phẩm tạo thành sẽ thể hiện trên băng hình gel chụp dưới tia UV.

Xác định dòng cho gene và thể hệ của các dòng chuyển gene bằng phương pháp lai hồi giao và phương pháp MAS.

Trong mỗi thể hệ hồi giao, marker chọn lọc trong vùng được sử dụng để thúc đẩy chọn lọc dòng mang QTL của tính trạng mục tiêu. Các marker được sử dụng trong MAS như sau:

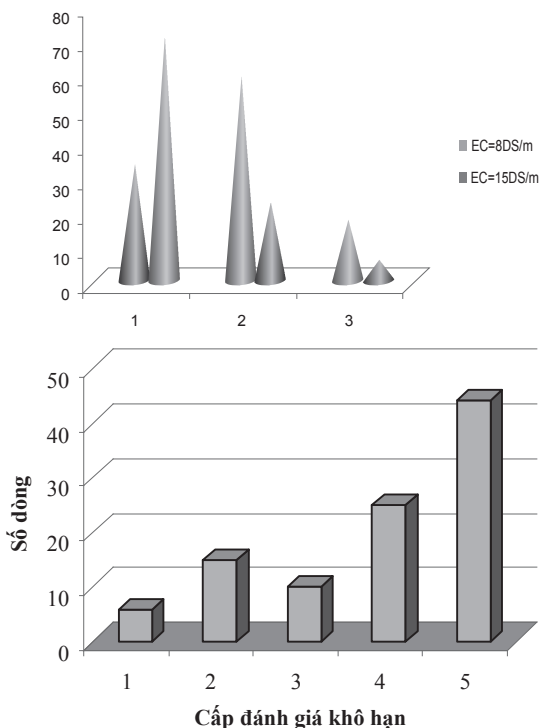
- Chỉ tiêu 1: RM233, RM 3252-S1 (marker cho chịu hạn QTLs trên nhiễm sắc thể 1).
- Chỉ tiêu 2: RM201, RM105 (cho QTLs hạn hán trên nhiễm sắc thể số 9) cho gen chịu khô hạn.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thanh lọc các dòng triển vọng ở hai mức độ mặn khác nhau và khả năng chịu khô hạn ở giai đoạn mạ

Tiến hành gieo toàn bộ hạt BC2F2 của quần thể OM6162/ Pokkali//OM6162 được lai hồi giao, đánh giá và chọn những cây chịu trên hai nồng độ khác nhau EC=8 và 15DS/m trong nhà lưới ở giai đoạn mạ. Kết quả giai đoạn mạ ở nồng độ mặn EC= 8DS/m các con lai có các dòng sống sót từ 20-25 ngày. Ghi nhận chỉ còn 18 dòng chịu mặn có thời gian sống sót từ 27-30 ngày. Giai đoạn EC= 15DS/m theo dõi chỉ có 6 dòng còn sống sót bao gồm: BC2F2 -1, BC2F2 -47, BC2F2 - 60, BC2F2 -61, BC2F2 -64, và dòng BC2F2 -66. Mức độ sống sót từ 27-30 ngày giai đoạn mạ. Tuy nhiên mức độ sống sót của các dòng này cũng khác nhau: Dòng BC2F2 -1 sống sót với tỷ lệ 47%; dòng BC2F2 -47 sống sót với tỷ lệ 25%. Hai dòng BC2F2 - 60, BC2F2 -61 sống sót với tỷ lệ 54-57,6%; dòng số BC2F2 -64 sống sót 52,8% và dòng BC2F2 -66 sống sót tỷ lệ 68%. Còn các dòng còn lại dưới 20% (Hình1-A).

Trong thí nghiệm khô hạn cũng được sàng lọc 100 dòng đánh giá thì có 6 dòng chịu khô hạn cấp 0, không có cấp 1. Cấp 3 ghi nhận có 15 dòng, cấp 5: 10 dòng, cấp 7 có 25 dòng và cấp 9 chết hoàn toàn là 44 dòng (Hình 1-B).



Hình 1. Sàng lọc gen chịu mặn và chịu hạn
 A- Sàng lọc gen chịu mặn ở hai nồng độ khác nhau EC=8DS/m và EC=15 DS/m (A).
 B- Đánh giá khô hạn của 100 dòng trong giai đoạn mạ (30 ngày).

Chọn dòng và đánh giá các dòng ưu tú theo mục tiêu quy tụ 2 gen chịu mặn, khô hạn bằng chỉ thị phân tử SSR.

Quần thể OM6162/ Pokkali hồi giao được tạo ra, đánh giá và chọn những cây chịu mặn để tiếp tục hồi giao với giống bố tái tục tương ứng. Việc lựa chọn các cá thể mang gen kháng trong các quần thể hồi giao trở nên phức tạp đối với đa gen như gen mặn, do đó phải kết hợp đánh giá kiểu hình và kiểu gen. Do vậy, để nhanh chóng xác định các cây hồi giao có khả năng mang gen kháng, chúng tôi tiến hành đánh giá sự biểu hiện của gen chỉ thị chọn lọc kháng là RM223 và RM 3252-S1-1 đối gen chịu mặn, và RM201 và RM105 đối với gen chịu khô hạn.

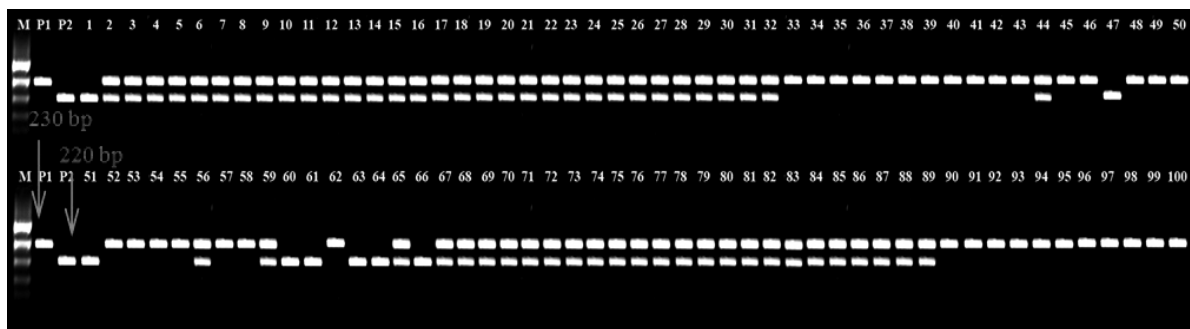
Kết quả đánh giá sàng lọc cây mang gen chống chịu và chọn dòng thuần từ các quần thể hồi giao mang gen mặn.

Từ 5 dòng của hai quần thể hồi giao đến thế hệ thứ (BC₂) có được ở kết quả ở thế hệ BC₁, chúng tôi tiếp tục đánh giá và chọn lọc dòng thuần qua hai thế hệ tự thụ (từ BC₂F₁ đến BC₂F₂). Việc tiến hành tự thụ và chọn lọc liên tiếp nhằm gia tăng tần suất tái tổ hợp các kiểu gen mong muốn trong các quần thể hồi giao là một yêu cầu bắt buộc. Việc đánh giá các tính trạng hình thái và kinh tế quan trọng, để tài tiến hành đánh giá khả năng mặn trong điều kiện nhà lưới để kiểm soát mức độ mặn. Tiến hành đánh giá khả năng chịu mặn với hai nồng độ muối là EC=8,

15 dS/M và trồng ra ngoài đồng ruộng để đánh giá năng suất và thành phần năng suất, sử dụng kỹ thuật PCR để xét nghiệm sàng lọc cây mang gen kháng. Trong từng bước nghiên cứu, các phương pháp đánh giá và sàng lọc được phối hợp với nhau nhằm chọn được các dòng hồi giao phù hợp với mục tiêu ban đầu. Sử dụng kỹ thuật PCR để xét nghiệm sàng lọc cây mang gen kháng. Phản ứng mặn trên các dòng hồi giao (ở thế hệ BC₂F₂) và xác định gen kháng bằng kỹ thuật PCR.

Thí nghiệm sử dụng chủ yếu là kết quả từ các quần thể phát triển từ sự kết hợp giữa hai giống lúa Pokkali (giống chịu mặn) và OM6162 (gen quy tụ gen chịu khô hạn giai đoạn mạ).

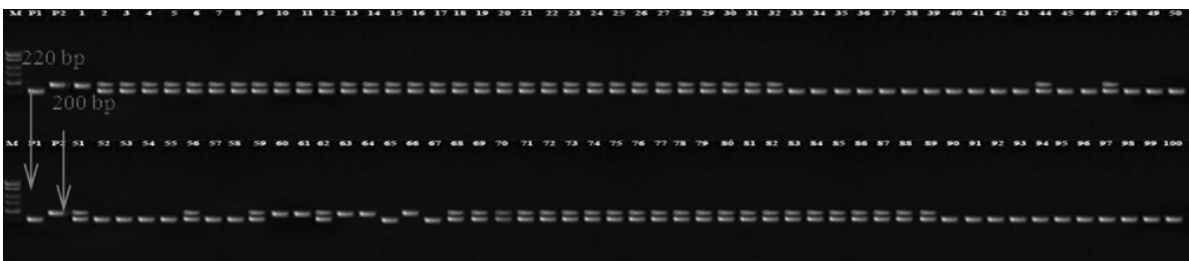
Quần thể OM 6162/Pokkali//OM6162 ghi nhận có sự đa hình trên RM3252-1-1 với nhiễm sắc thể số 1. Phân tích 100 dòng BC₂ ghi nhận chỉ có 7 dòng mang gen chịu mặn như : dòng số 1, 47, 60, 61, 63, 64, và 66. Ngoài ra các dòng còn phân ly dị hợp tử rất cao chiếm 56%, chứng tỏ với tổ hợp này các dòng con lai phân ly rất mạnh. Điều này cũng ghi nhận giống Pokkali là giống lúa mùa nên sự khác biệt genome đã tạo cho sự biến dị khá phong phú trên hình 2. Chứng tỏ rằng các donor quan hệ xa hơn, cụ thể là các giống lúa mùa (Pokkali) được du nhập từ Ấn Độ đã có xu hướng cho sự phân ly tính vượt trội nhiều hơn đối với chịu phi sinh học trong thế hệ con cháu ở thế hệ BC.



Hình 2. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 100 dòng BC₂F₂ trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162 vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose với nồng độ 3%

Kết quả sản phẩm PCR ghi nhận trên hình 3 cho thấy (100% có xuất hiện băng hình), có 6 cá thể ở vị trí Pokkali : BC₂F₂ -1, BC₂F₂ - 60, BC₂F₂ -61, BC₂F₂ - 63, BC₂F₂-64 và BC₂F₂ -66 còn lại có cùng kích thước với OM6162 tương ứng với kích thước 200bp. Có 57% cá thể còn lại mang kiểu gen dị hợp tử có cùng kích thước với bố và mẹ. Chú ý khi so

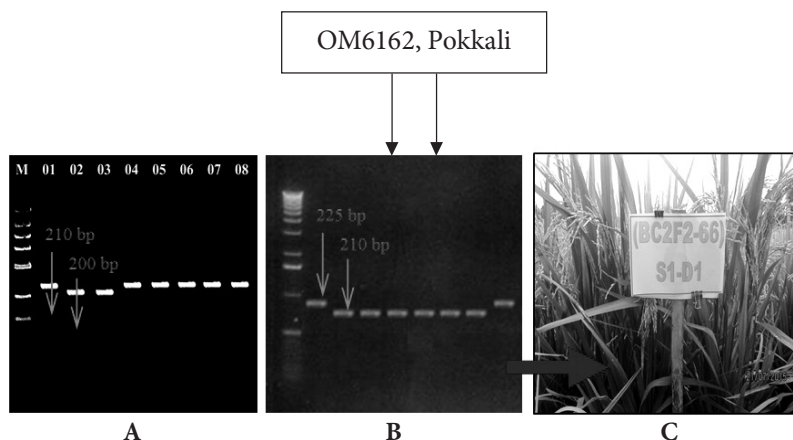
sánh với chỉ thị RM 3252-S1-1 thì có dòng số 47 chưa rõ mang dị hợp tử trên chỉ thị RM223. Điều này cũng chưa ghi nhận khi đánh giá kiểu hình ghi nhận tỷ lệ hạt sống sót trong nồng độ mặn EC=15% DS/m không cao 25%. Chứng tỏ dòng này vẫn còn phân ly tiếp tục cần chọn tiếp.



Hình 3. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 100 dòng BC2F2 trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162 vị trí hai băng 200bp và 220bp, trên gel agarose với nồng độ 3%

Phân tích tiếp trên chỉ thị RM105 cũng ghi nhận trên 6 dòng cho thấy có 5 dòng cho gen chịu khô hạn chỉ có dòng số 1 không ghi nhận khô hạn là dòng số 3 hình 4A. Vị trí phân tử 210bp cho OM6162 và 200bp cho Pokkali. Tương tự chọn lọc 6 dòng mang gen mặn trên hình 1 và 2 để đánh giá bằng thị RM201

để đánh giá gen khô hạn trên các dòng này: dòng số 1, 60, 61, 63, 64, và 66 tương ứng trên hình dòng số 1:OM6162,2:Pokkali ;3:BC2F2 -1,4:BC2F2 - 60,5: BC2F2 -61,6:BC2F2 - 63, 7: BC2F2 64, và 8: BC2F2 -66 chỉ có 1 dòng mang gen khô hạn tương ứng với OM6162 dòng số 8(BC2F2 -66) hình 4B.



Hình 4. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử trên 6 dòng BC2F2 trên quần thể OM6162/Pokkali liên kết với gene khô hạn trên nhiễm sắc thể số 9, trên gel agarose với nồng độ 3% và dòng S1-D1(BC2F2 -66)

- (A): Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 105
- (B): Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 201
- (C): Hình dòng S1-D1(BC2F2 -66)

Ghi chú: Tương ứng trên hình dòng số 1: OM6162,2: Pokkali ; 3: BC2F2 -1,4: BC2F2 - 60,5: BC2F2 -61,6: BC2F2 - 63, 7: BC2F2 -64, và 8: BC2F2 -66.

Như vậy trong 6 dòng mang gen chịu mặn đã tìm tiếp trên hai chỉ thị định khô hạn RM105 và RM201. Kết quả chỉ có 1 dòng mang cả 4 chỉ thị phân tử RM223, RM201, RM105 và RM 3252-S1-1 với gen chịu mặn và khô hạn vào chung 1 dòng mã số 6 (BC2F2 -66) hình 4C. Trong kết quả ghi nhận chỉ có dòng số 6 (BC2F2 -66) mang cùng vị trí phân tử với giống OM6162. Các dòng còn lại đều có vị trí phân tử cùng với giống Pokkali.

Tóm lại cả 4 chỉ thị RM201 và RM 105, RM223 và RM 3252-S1-1 ghi nhận trên có 1 dòng số 6 (BC2F2 -66) mang cả hai alen mặn và khô hạn được đánh

giá mã số S1-D1. Đây là điều kiện tốt để định hướng chọn lọc các gen tiếp theo và chọn chú ý.

Sau khi thế hệ của dòng BC2F2 đó là đồng hợp tử cho các cây nhận gen chịu mặn từ Pokkali (Đối với tổ hợp OM6162/Pokkali //OM 6162). Các dòng được lựa chọn được cho phép để tạo ra thế hệ BC2F2. Số lượng các dòng có sự kết hợp của các phân đoạn chịu mặn như hình 1. Thế hệ này đã được phân tích DNA, mà tỷ lệ phần trăm của các alen của cha mẹ được thể hiện trong hình 2 và 3. Đánh dấu các kiểu gen trên các marker trên hệ gen và tính tỷ lệ của số lượng các dấu hiệu đồng hợp tử cho các allele nhận trên tổng

số các marker ước tính thành phân bộ gene của cây được nhận trên tổ hợp OM7347/OM5629 (Lang *et al.*, 2013). Tổ hợp lai OM6162/Pokkali đã chuyển các đoạn trên nhiễm sắc thể số 1, 8, và 9 vào dòng số 6 (BC2F2 -66). Tổ hợp lai này đánh giá 100 dòng, tuy nhiên chỉ có 6 dòng mang gen chịu mặn và cuối cùng chỉ có 1 dòng mang cả gen mặn và khô hạn. Như dự đoán, nhiễm sắc thể 9 có tỷ lệ phần trăm alen thấp. Các ứng dụng của di truyền học phân tử trong chương trình chọn giống được xác định độ chính xác về tác động của các dấu hiệu liên quan cũng như hiệu quả chi phí của marker-assisted selection. Marker-assisted selection đã được tìm thấy hữu ích trong việc phát triển các kiểu gen với sự kết hợp của các alen trong cơ chế chống chịu ngập (Ismail *et al.*, 2009). Quá trình chuyển gene cho phép nghiên cứu các vùng gen cụ thể ảnh hưởng đến đặc điểm nông học quan trọng và cũng ước lượng của tác QTL, mà thường rất khó để có được do ảnh hưởng của môi trường và nguồn gốc di truyền. Vì vậy, nó là cần thiết để có một đánh giá chính xác tác động trong các môi trường khác nhau QTLs trước khi bắt đầu một chương trình chuyển gene. Một khi quần thể chuyển gene được tạo ra, nó cung cấp một công cụ để chọn các gene ứng tuyển trong các dữ liệu được chú thích của các trình tự bộ gen tương ứng với các QTL (Tanksley *et al.*, 1989). Marker-assisted selection (MAS) đã được sử dụng để nâng cao hiệu quả và tăng tốc cho phương pháp chống gen trong chọn giống, đặc biệt trong việc chọn lọc các gen mục tiêu. Chủ yếu sử dụng MAS để hỗ trợ lai hồi giao của các gen / QTLs các giống ưu tú trong cả hai gen khô hạn (Lang *et al.*, 2013) và mặn (Mackill *et al.*, 2006). Markers hỗ trợ trong việc lựa chọn các alen mục tiêu và đánh giá bộ gen của cây nhận. Chuyển gen và chọn lọc QTL bằng cách sử dụng marker phân tử trong chọn lọc. Đánh giá bằng kỹ thuật SSR cho thấy gene chống chịu mặn trên nhiễm sắc thể số 1 ghi nhận các cá thể trong các tổ hợp có mang alen của bố mẹ rất thấp chiếm 7% trên tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162.

IV. KẾT LUẬN

Quá trình lai hồi giao thế hệ BC2F2 từ OM6162/Pokkali//OM 6162 được đánh giá trên 100 dòng. Ghi nhận có 6 dòng mang gen chịu mặn trong nồng độ mặn EC=15DS/M bao gồm dòng BC2F2 -1, BC2F2 -47, BC2F2 - 60, BC2F2 -61, BC2F2 64 và dòng BC2F2 -66 với tỷ lệ sống sót biến động từ 25-6.

Tổ hợp OM6162/Pokkali//OM 6162 cho đa hình trên 4 chỉ thị phân tử RM201, RM105, RM23662, RM223.

Có 5 dòng mang gen chịu khô hạn trên RM105 nhưng chỉ có 1 dòng mang gen khô hạn trên RM2101.

Có 1 dòng mang cả hai gen vừa khô hạn và mặn: dòng (BC2F2 -66) với mã số S1-D1. Các dòng này tiếp tục trồng ngoài đồng để chọn lọc tiếp tục.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ tiên tiến chọn tạo giống lúa thuần 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 Công nghệ của Bộ Khoa học và Công nghệ, Bộ Nông nghiệp và PTNT 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.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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. Nghiên cứu di truyền cho gen kháng mặn trên quần thể trồng đốn của cây lúa. *Tạp chí Nông Nghiệp và phát triển Nông thôn*, 6: 824-826.
- Nguyễn Thị Lang, 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, Bùi Chí Bửu, 2011a. Kết quả chọn tạo giống lúa thơm chống chịu khô hạn OM 7347. *Tạp chí khoa học và Công nghệ NN Việt Nam*, số 2 (12/2011): 24-29.
- Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu, 2011b. Quy trình kỹ thuật sản xuất giống lúa OM5629. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ NN Việt Nam* số 5(26) : 20-25.
- Nguyễn Thị Lang, Bùi Phước Tâm, Phạm Thị Chúc Loan, Nguyễn Trọng Phước, Trần Bảo Toàn, Bùi Chí Bửu, Abdelbagi M.Smail, Glenn Gregorio, Russell Reinke, Reiner Wassmann, 2014. Sàng lọc gen chống chịu mặn trên bộ giống ngắn ngày ở giai đoạn mạ. *Tạp chí Nông Nghiệp và Phát triển nông thôn*, T.4: 19-29.
- Tổng cục Thủy Lợi, 2016. Báo cáo số 75/BC-TWPCTT, ngày 07 tháng 07 năm 2016 “ Báo cáo Tổng hợp tình hình thiên tai 6 tháng đầu năm 2016 và những nội dung tiếp theo cần triển khai”, truy cập ngày 17 tháng 7 năm 2016. Địa chỉ: <http://www.tongcucthuyloi>.

gov.vn/Tin-tuc-Su-kien/Tin-tuc-su-kien-tong-hop/catid/12/item/2801/ban-tin-tong-hop-tinh-hinh-thien-tai-va-thiet-hai.

Gregorio, G.B., Senadhira, D., Mendoza, R.D., 1997. Screening rice for salinity tolerance, *IRRI Discussion paper Series No.22*. International Rice Research Institute, Los Baños. Laguna, Philippines.

Ismail AM, Ella ES, Vergara GV, Mackill DJ., 2009. Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 103: 197–209.

Khush, WR Coffman, SD Tanksley, 1998. *Molecular mapping of rice chromosomes*.

Mackill D.J., Salam, M.A., Wang, Z.Y. & Tanksley, S.D., 1993. A major photoperiod-sensitivity gene tagged with RFLP and isozyme markers in rice. *Theor. Appl. Genet.*, 85: 536-540.

Mackill DJ, 2006. Breeding for resistance to abiotic stresses in rice: the value of quantitative trait loci. In: *Lamkey KR, Lee M (eds) Plant breeding: The Arnel R Hallauer international symposium*. Blackwell Pub, Ames, IA, pp 201–212.

Lang NT, CT Nha, PTT Ha, BCBuu, 2013. Quantitative trait loci (QTLs) associated with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 45 (3) 409-421, 2013.

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

Nguyen Thi Lang, Seji Yanagihara and Bui Chi Buu, 2001b. QTL analysis of salt tolerance in rice. *SABRAO Journal of Breeding*.

Nguyen thi Lang, and Bui Chi Buu, 2010. Quantitative trait loci influencing drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omon rice* 17: 22-28 (2010).

Servin B, Martin OC, Mezard M, Hospital F, 2004. *Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding*. *Genetics*;168: 513–523.

Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H. & Bonierbale, M.B., 1989. RFLP mapping in plants: new tools for an old science. *Biol. Tech.*, 7: 257-264.

Pyramiding two genes of salt and drought tolerance in rice for the Mekong River Delta

Nguyen Thi Lang, Pham Cong Tru,
Nguyen Trong Phuoc, Tran Minh Tai, Bui Chi Buu

Abstract

One hundred of BC2F2 lines from populations of OM6162/Pokkali//OM6162 developed in Cuulong Delta Rice Research Institute were screened. Evaluation of responding levels to salt tolerance with two different concentration of salt as EC= 8 dS/m, 15 dS/m was carried out and at the same time, drought tolerance of these lines was also investigated in greenhouse at the seedling stage. Response to salt of rice varieties was significantly different. However, for growth and development of rice lines showed that the higher salt concentration was, the lower survival day was, percentage reduced gradually with concentration of EC= 15ds/m. Genetic factor of these rice lines was also identified via molecular marker after evaluation of tolerance to salt and drought. Four molecular markers:RM223, RM3252-S1-1, RM105 và RM201 associated to salt and drought genes were used to evaluate and analyse. Result were recorded that there were association between genotype and phenotype. Only one line (S1-D1) among studied lines from combination of OM6162/Pokkali //OM6162, carrying both salt and drought genes were used selected. These lines can send to trial on saline soil with different salt concentration for further evaluation of yield and yield components.

Key words: drought, salt, seedling stage, genotypic, phenotypic

Ngày nhận bài: 19/7/2016
Người phản biện: TS. Trần Danh Sứ

Ngày phản biện: 22/7/2016
Ngày duyệt đăng: 26/7/2016

PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG AMYLOSE VÀ TÍNH TRẠNG NÔNG HỌC CỦA CÂY LÚA TRÊN QUẦN THỂ HỒI GIAO OM5390/OM7347//OM7347

Hồ Văn Được¹, Nguyễn Thị Lang¹,
Đặng Thị Diễm Kiều², Nguyễn Thị Thảo Nguyễn³, Bùi Chí Bửu³

TÓM TẮT

Nhằm mục đích phát triển những giống lúa có hàm lượng amylose thấp và năng suất cao cho vùng ĐBSCL, việc kết hợp phương pháp truyền thống và hiện đại (Sử dụng MABC) là cần thiết để rút ngắn thời gian chọn tạo giống, kịp thời phục vụ yêu cầu của sản xuất. Trong nghiên cứu này, phát triển giống lúa dựa vào hệ thống marker để tăng nhanh tốc độ đưa gen vào các giống phổ biến và chọn ra những dòng ưu tú từ tổ hợp lai hồi giao OM5930/ Om7347 để chuyển gen vào các giống năng suất cao. Các dòng này cũng được lựa chọn bằng chỉ thị phân tử về hàm lượng amylose và được đánh giá ngoài đồng để xem xét năng suất và thành phần năng suất.

Từ khóa: Hồi giao, hệ thống chọn tạo bằng sự giúp đỡ chỉ thị phân tử, hàm lượng amylose

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Độ dẻo của cơm liên quan với hàm lượng amylose và được xem là tính trạng có ý nghĩa quyết định đến sự mềm cơm. Hàm lượng amylose cao có tính trội không hoàn toàn so với hàm lượng amylose thấp, do một gen điều khiển kèm theo một số modifiers (gen phụ có tính chất cải tiến). Gen điều khiển sự co dãn hàm lượng amylose (amylose extender) được xác định trên nhiễm thể số 2 (Juliano *et al.*, 1980). Thành tựu có ý nghĩa trong nghiên cứu di truyền phân tử về chất lượng cơm có thể được ghi nhận qua công trình bản đồ liên kết gen hệ enzyme III của tinh bột trong hạt gạo trên nhiễm thể số 2, với hai chỉ thị kế cận CDO 718 và RG 157. Amylose được đo lường bằng phương pháp hấp thu phổ sóng “amylose - iodine complex”. Phân tích QTL (phân tích di truyền các gen điều khiển tính trạng số lượng) kiểm soát hàm lượng amylose cho thấy, vùng giả định nằm trên nhiễm sắc thể số 5 và 6 với gen *wx* và các alen khác, giải thích biến thiên kiểu hình 91,1% trong quãng giữa hai marker RG573-C624. Yanagisawa và các cộng sự (2003) đã dùng kỹ thuật SNP (single nucleotide polymorphism) và dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) để tìm kiếm gen *Wx-D1* trong lúa và lúa mì mã hóa protein *wx-D1* thông qua phân tích immunoblot. Hàm lượng amylose còn chịu ảnh hưởng của tương tác: tính cộng x tính cộng, và tương tác trội x trội, trong phân tích epistasis. Nguyễn Thị Lang và các cộng sự (2004) đã phát hiện AC (Amylose contents) được kiểm soát bởi gen chính định vị trên nhiễm sắc thể số 5 và 6 liên kết với chỉ thị RM42 (nhiễm sắc thể số 5) và *wx* (nhiễm sắc thể số 6).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

42 dòng lúa lai BC3F2 từ OM5930/OM7347//OM7347 được trồng và phân tích hàm lượng amylose và các tính trạng có liên quan.

Đánh giá kiểu hình dựa vào các đặc tính năng suất và thành phần năng suất theo Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Các chỉ tiêu về nông học

- Ngày trổ được ghi nhận khi quần thể lúa trổ 50%.
- Chiều cao đo từ mặt đất đến đỉnh bông cái
- Năng suất và thành phần năng suất:

Số bông/bụi: P/số bụi thu thập

Số hạt chắc/bông: $(f/v) \times (W+w)/P$

Khối lượng 1000 hạt: $(W/f) \times 1000$

Năng suất được qui về 14% ẩm độ

Trong đó: P là tổng số bông đếm được trên các bụi lúa đã chọn làm mẫu, f: Tổng số hạt chắc/bông cái, W: Trọng lượng hạt chắc trên tất cả bông lúa.

2.2.2. Các chỉ tiêu về phẩm chất gạo

- Chất lượng xay chà: 200g mẫu lúa được sấy khô ở ẩm độ hạt 14%, được đem xay trên máy McGill Polisher no. 3 của Nhật. Các thông số về tỷ lệ gạo lức, tỷ lệ gạo trắng, tỷ lệ gạo nguyên được thực hiện theo phương pháp của Bửu và ctv. (2000).

- Hình dạng và kích thước hạt được đo bằng máy Baker E-02 của Nhật và phân loại theo thang điểm IRRI (1996).

¹ Trường Đại học Cần Thơ; ² Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

³ Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam