



## CHỌN LỌC GIỐNG LÚA CHỐNG CHỊU MẶN Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Lê Xuân Thái<sup>1</sup> và Trần Nhân Dũng<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng Sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu và phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 09/05/2013

Ngày chấp nhận: 30/10/2013

### Title:

Selecting rice varieties tolerant to salinity in the Mekong Delta of Vietnam

### Từ khóa:

Giống lúa, chống chịu mặn, phân tích dấu phân tử, gen

### Keywords:

Rice varieties, tolerant to salinity, marker assisted selection, gene

### ABSTRACT

*Selection of salt tolerant rice varieties using hydroponic system and marker-assisted selection (MAS) is effective and accurate. 244 rice varieties were evaluated for salt tolerance in Yoshida media with addition of 4 and 6‰ NaCl. Four SSR markers RM206, RM223, RM10745 and RM8094 were used to identify the salt tolerant genotypes. The PCR patterns indicated that RM206 was associated with salt tolerant trait. In addition, the salt-tolerant varieties were tested for yield and yield components on the field under 4‰ NaCl. The results showed that MTL664 and MTL702 appeared to be the good salt tolerant candidates.*

### TÓM TẮT

*Chọn lọc giống lúa chống chịu mặn bằng kỹ thuật thanh lọc trong nhà lưới và kết hợp phân tích bằng chỉ thị phân tử là phương pháp mang lại hiệu quả nhanh, chính xác cao. 244 mẫu giống lúa đã được đánh giá khả năng chịu mặn bằng phương pháp thanh lọc mặn trong môi trường thủy canh có chứa dung dịch Yoshida với các nồng độ muối từ 4‰ đến 6‰. Bốn dấu phân tử RM206, RM223, RM8094 và RM10745 đã được sử dụng để đánh giá sự liên kết với gen chịu mặn của các giống thí nghiệm. Kết quả PCR cho thấy rằng RM206 liên kết chặt với gen chịu mặn. Các giống chống chịu mặn được đánh giá năng suất trong ruộng bị ảnh hưởng mặn 4‰. Dựa trên đánh giá bằng thanh lọc môi trường và kết quả phân tích PCR với dấu phân tử RM206 đã chọn được 2 giống lúa có khả năng chịu mặn tốt ở nồng độ mặn 4‰ – 6‰ là MTL664 và MTL702.*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là một trong những cây lương thực quan trọng nhất ở Việt Nam và là một loại cây trồng nhạy cảm với mặn. Các vùng đất canh tác lúa ven biển hiện nay cũng rất dễ bị mặn xâm nhập khi mực nước biển dâng cao do biến đổi khí hậu. Việc tạo ra các giống lúa chịu mặn là việc làm cấp thiết nhằm đảm bảo an ninh lương thực cho đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) và Việt Nam. Trong nhiều năm qua, các nhà khoa học đã cố gắng cải tiến nhiều giống lúa có tính chống chịu mặn và đã thành công bước đầu (Lang, 2000). Chọn giống

nhờ dấu phân tử (marker) liên kết với tính trạng mục tiêu (marker assisted selection - MAS) là một phương pháp cho kết quả chọn lọc giống nhanh và chính xác. Do đó, việc thu thập, tuyển chọn được giống lúa chịu mặn từ các giống đang được trồng ở các vùng có đất ngập mặn của ĐBSCL làm vật liệu cơ sở cho lai tạo và chọn giống lúa chịu mặn là hết sức quan trọng trong tình hình hiện nay. Đề tài nghiên cứu đã thực hiện sưu tập chọn lọc 244 mẫu giống lúa để thực hiện việc đánh giá và tuyển chọn các giống lúa chống chịu mặn cho ĐBSCL.

**2 PHƯƠNG PHÁP VÀ PHƯƠNG TIỆN**

**2.1 Thanh lọc chọn giống chống chịu mặn trong môi trường dinh dưỡng**

Đánh giá khả năng chịu mặn của 244 mẫu giống lúa bằng phương pháp thanh lọc mặn IRR1 (1976) trong môi trường thủy canh có chứa dung

dịch Yoshida với các nồng độ muối từ 4% đến 6%. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại và thực hiện trong nhà lưới có kiểm soát. Ghi nhận kết quả khi giống chuẩn mẫn cảm IR28 bị ảnh hưởng chết sau khi cho vào dung dịch mặn từ 7 đến 14 ngày.

**Bảng 1: Thang đánh giá mức độ chống chịu mặn (SES) ở giai đoạn tăng trưởng**

Cấp	Quan sát đánh giá sinh trưởng cây lúa	Mức chống chịu
1	Sinh trưởng bình thường không có triệu chứng ở lá	Chống chịu tốt
3	Sinh trưởng gần như bình thường, chóp lá hoặc vài lá có vết trắng và lá hơi cuộn lại	Chống chịu khá
5	Sinh trưởng chậm lại, hầu hết các lá bị cuộn, chỉ có vài lá có thể mọc dài ra	Chống chịu trung bình
7	Sinh trưởng hoàn toàn ngưng trệ, hầu hết các lá bị khô đi, một vài chồi bị chết	Nhiễm
9	Hầu hết các cây bị chết hoặc khô	Rất nhiễm

Gregorio và ctv. (1997)

**2.2 Ứng dụng kỹ thuật dấu sinh học phân tử (Marker Assisted Selection- MAS) chọn lọc giống lúa có khả năng chống chịu mặn**

Tiến hành khảo sát các dấu phân tử liên quan đến khả năng chịu mặn như RM8094, RM10745, RM206, RM223 đối với các giống chuẩn chống

chịu (Pokkali) và chuẩn nhiễm (IR28) để xác định các dấu phân tử phù hợp cho việc xác định giống mang gen chống chịu mặn. Phương pháp ly trích DNA của 200 giống lúa theo quy trình của Roger (1988).

**Bảng 2: Trình tự các môi dùng thí nghiệm**

Marker	Trình tự	NST Tác giả
RM8094	For 5' AAGTTTGTACACATCGTATAACA 3' Rev 5' CGCGACCAGTACTACTACTA 3'	1 Nejad et al., 2008
RM10745	For 5'TGACGAATTGACACACCCGAGTACG 3' Rev 5' ACTTCACCGTCGGCAACATGG 3'	1 Nejad et al., 2008
RM206	For 5' CCC ATG CGT TTA ACT ATT CT 3' Rev 5' CGT TCC ATC GAT CCG TAT GG 3'	8 Chen et al., 1997
RM223	For 5' AGT GAG CTT GGG CTG AAA C 3' Rev 5' GAA GGC AAG TCT TGG CAC TG 3'	11 Rahman et al., 2010

NST: nhiễm sắc thể

**2.3 Khảo nghiệm năng suất giống lúa chịu mặn trong điều kiện sản xuất**

Kết hợp chọn giống trong điều kiện sản xuất ở

vùng bị ảnh hưởng mặn, một bộ giống lúa chọn lọc gồm 19 giống được thử nghiệm tại ruộng bị ảnh hưởng mặn trong năm 2011 tại Bến Tre (Bảng 3).

**Bảng 3: Danh sách các giống lúa thí nghiệm**

STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	MTL580	6	MTL653	11	MTL690	16	MTL702
2	MTL624	7	MTL662	12	MTL691	17	MTL703
3	MTL626	8	MTL664	13	MTL692	18	MTL707
4	MTL638	9	MTL688	14	MTL693	19	OM3536
5	MTL650	10	MTL689	15	MTL695		

Thí nghiệm khảo nghiệm giống theo quy phạm khảo nghiệm giống lúa (10 TCN 558 - 2002 - Bộ NN&PTNT). Thí nghiệm được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Địa điểm thí

nghiệm tại vùng nuôi tôm xã An Phú, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre. Thời vụ gieo trồng theo thời vụ ở địa phương (Vụ Thu Đông 2011). Diện tích mỗi ô thí nghiệm 15 m<sup>2</sup> (5 m x 3 m). Mật độ cấy: 45

bụi/ m<sup>2</sup>, cây một tép/bụi. Bón phân theo công thức 90-100 kg N/ha + 60 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (kg/ha) + 30 K<sub>2</sub>O (kg/ha).

**Bảng 4: Thời điểm bón phân và số lượng phân bón sử dụng**

Thời điểm	N (%)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	K <sub>2</sub> O (%)
Bón lót trước khi cấy	50	50	30
Thúc lần 1: 15-20 ngày sau cấy	30	50	40
Thúc lần 2: trước lúa trổ 20-25 ngày	20		30

Ruộng được kiểm soát giữ nước trong giai đoạn mưa cuối vụ Hè Thu 2011 để làm mạ và cấy, sau đó giữ nước ổn định trong ruộng để hạn chế rửa mặn.

Nước ruộng được theo dõi độ mặn trong suốt thời kỳ từ giai đoạn nảy chồi tích cực đến thu hoạch. Nước ruộng có độ mặn duy trì 4 ‰ từ khi lúa nảy chồi tối đa (25 ngày sau khi cấy) đến lúc thu hoạch. Ghi nhận giống chống chịu mặn tốt tại ruộng thí nghiệm.

Thu hoạch: Thu hoạch được thực hiện khi có khoảng 85% số hạt trên bông đã chín. Thu riêng từng ô và phơi đến khi độ ẩm hạt đạt khoảng 14%, cân khối lượng (kg/ô) và tính năng suất tấn / ha.

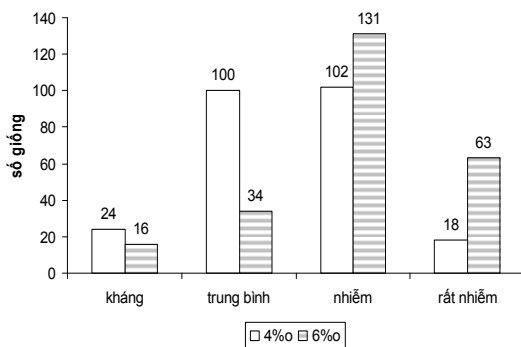
*Các chỉ tiêu theo dõi, đánh giá*

Thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, số bông/m<sup>2</sup>, số hạt chắc/bông, khối lượng 1000 hạt, năng suất.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Đánh giá tính chống chịu mặn của các giống lúa sưu tập**

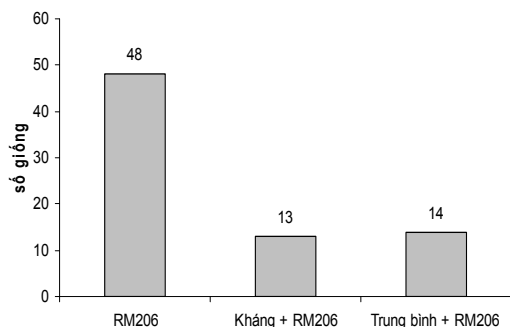
Kết quả đánh giá tính chống chịu mặn trong môi trường dinh dưỡng của 244 mẫu giống lúa cho



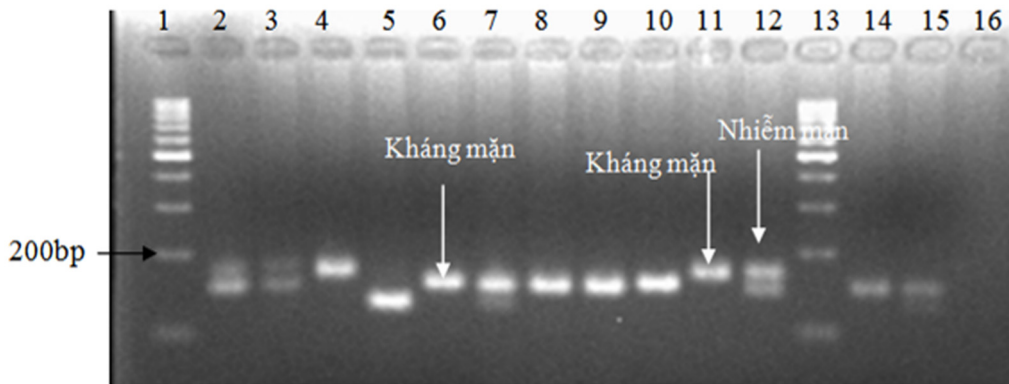
**Hình 1: Số giống chống chịu mặn của bộ giống thí nghiệm (244 giống)**

thấy số giống chống chịu tốt (kháng) là rất ít: 24 giống ở nồng độ mặn 4‰ (chiếm 10%) và 16 giống chống chịu ở nồng độ mặn 6‰ (chiếm 7%). Số giống chống chịu được mặn ở mức trung bình là khá nhiều (100 giống ở nồng độ mặn 4‰ và 34 giống ở nồng độ mặn 6‰). Các giống lúa chống chịu mặn tốt trong thí nghiệm ở 4‰ là MTL430, MTL442, MTL451, MTL454, MTL461, MTL462, MTL463, MTL455, MTL458, MTL504, MTL508, MTL664, MTL693, CL8, DH2, DH3, OM6976, Bông dừa đục, Một bụi đỏ, ST20 và Pokkali; và ở 6‰ là các giống MTL421, MTL506, MTL507, MTL519, MTL653, MTL702, DH4, DH5, OM1348, OM6677, Ba Cô, Bông dừa đục và Pokkali (Lê Xuân Thái 2011; Trần Nhân Dũng, 2012).

Kết quả sử dụng các dấu phân tử để xác định giống lúa mang gen chịu mặn cho thấy các dấu phân tử RM8094, RM10745, RM223 không có biểu hiện dấu khác biệt giữa giống chuẩn kháng Pokkali và giống chuẩn nhiễm IR28 trên băng. Theo Rahman (2010) cho biết dấu phân tử RM223 chỉ thị đặc tính chống chịu mặn trên một số giống lúa ngăn ngày cải tiến; tuy nhiên, kết quả phân tích 224 giống lúa khảo sát chưa tìm ra được liên hệ giữa dấu phân tử này và giống kháng. Dấu phân tử RM206 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa giống chuẩn kháng và chuẩn nhiễm thể hiện trên băng. Sử dụng dấu phân tử RM206 phân tích 200 mẫu giống lúa chọn lọc cùng với giống chuẩn kháng Pokkali cho thấy có 48 giống mang chỉ dấu phân tử RM206, trong đó có 26 giống có tính chống chịu từ trung bình đến tốt với mặn ở nồng độ 4‰ (Bảng 5). Các giống lúa chống chịu mặn tốt và mang chỉ dấu phân tử RM206 là MTL461, MTL463, MTL504, MTL664, DH2, DH4, DH5, OM1348, OM6677, OM6976, CL8, ST20, Một bụi đỏ và Pokkali (Trần Nhân Dũng, 2012).

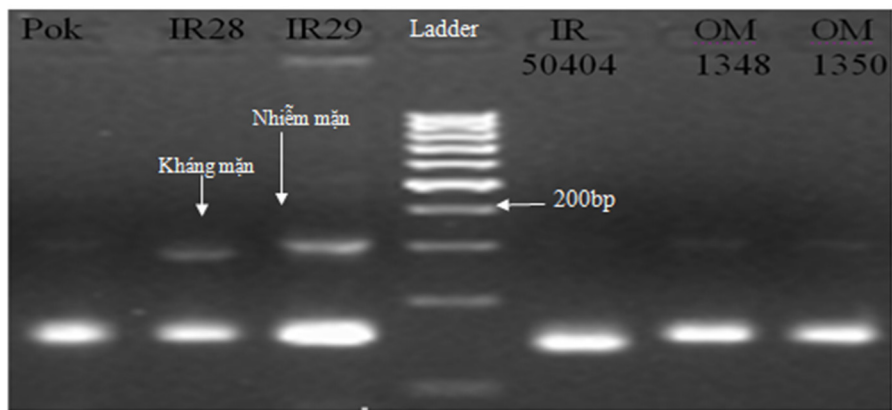


**Hình 2: Số giống chống chịu mặn có mang dấu phân tử RM206**



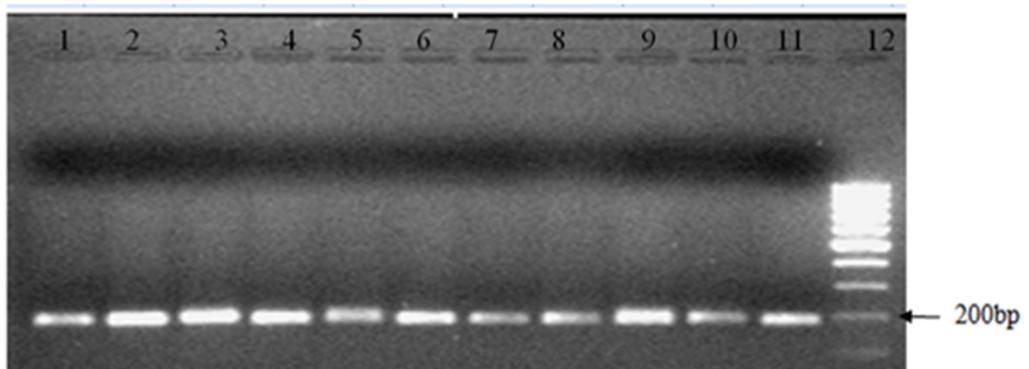
**Hình 3: Điện di PCR với dấu phân tử RM206**

1: Ladder, 2: DH2, 3: DH3, 4: OM4900; 5: DH5, 6: CL8, 7: OM6677, 8: CNI, 9: Một bụi đỏ, 10: Pokkali, 11: IR28, 12: IR29, 13: Ladder, 14: OM6976, 15: MTL504, 16: DC âm



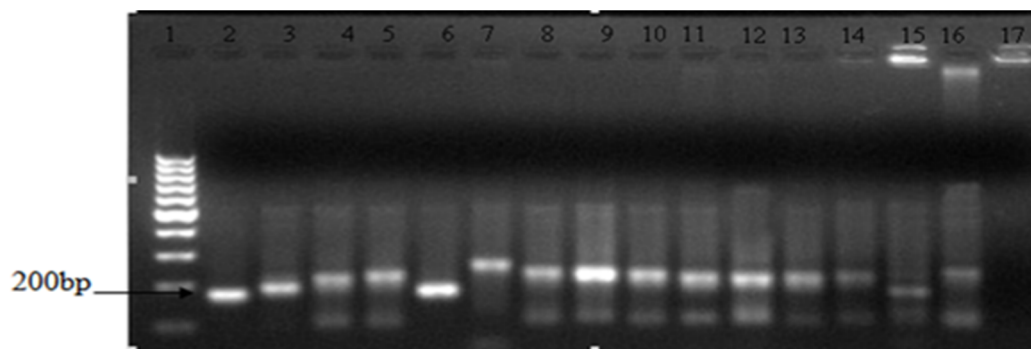
**Hình 4: Điện di PCR với dấu phân tử RM233**

1: Pokkali; 2:IR28; 3:IR29; 4: Ladder; 5: IR50404; 6: OM1348; 7: OM1350



**Hình 5: Điện di PCR với dấu phân tử RM10745**

1: DH2, 2: OM4900, 3: CL8, 4: IR50404, 5: OM1348, 6: OM1350, 7: CNI, 8: Một bụi đỏ, 9: OM6677, 10: Pokkali, 11: IR28, 12: Ladder



**Hình 6: Điện di PCR với dấu phân tử RM8094**

1: Ladder, 2: DH2, 3: DH3, 4: DH4, 5: DH5, 6: CNI, 7: DH5, 8: TC2, 9: OM1350, 10 OM576, 11: Một bụi đỏ, 12: OM6976, 13: OM6677, 14: Pokkali, 15: IR28, 16: IR29, 17: DC âm

**Bảng 5: Các giống lúa chống chịu mặn mang dấu phân tử RM206**

STT	Tên giống	Chống chịu mặn	Dấu RM206
1	CL8	Kháng tốt	+
2	DH2	Kháng tốt	+
3	DH4	Kháng tốt	+
4	DH5	Kháng tốt	+
5	Một bụi đỏ	Kháng tốt	+
6	MTL461	Kháng tốt	+
7	MTL463	Kháng tốt	+
8	MTL504	Kháng tốt	+
9	MTL664	Kháng tốt	+
10	OM1348	Kháng tốt	+
11	OM6677	Kháng tốt	+
12	OM6976	Kháng tốt	+
13	Pokali	Kháng tốt	+
14	ST20	Kháng tốt	+
15	CU LU 2	Kháng trung bình	+
16	MOT BUI BO DIA 1	Kháng trung bình	+
17	MTL307	Kháng trung bình	+
18	MTL314	Kháng trung bình	+
19	MTL320	Kháng trung bình	+
20	MTL384	Kháng trung bình	+
21	MTL449	Kháng trung bình	+
22	MTL605	Kháng trung bình	+
23	MTL702	Kháng trung bình	+
24	MUOI LUYEN	Kháng trung bình	+
25	NAM VANG 1	Kháng trung bình	+
26	NANG QUOT DIEM	Kháng trung bình	+
27	Tét hành lùn	Kháng trung bình	+

**3.2 Khảo nghiệm năng suất một số giống lúa chịu mặn triển vọng**

Kết quả đánh giá năng suất các giống chống chịu mặn triển vọng trong ruộng lúa với độ mặn nước ruộng 4‰ trong suốt thời gian canh tác cho thấy các giống lúa tỏ ra chống chịu tốt và cho năng

suất cao là MTL653, MTL664, MTL690, MTL691, MTL692, MTL695, MTL702 và OM3536 (Bảng 6). Các giống lúa chống chịu tốt trong ruộng nhiễm mặn có số bông/m<sup>2</sup> thuộc nhóm trung bình. Các giống nhiễm có số bông/m<sup>2</sup> cao nhưng có số hạt chắt/bông thấp nên cho năng suất thấp. Số hạt chắt/bông cao của các giống chống chịu là yếu tố

tác động giúp các giống này có năng suất cao trong điều kiện bị ảnh hưởng mặn. Kết quả đánh giá trong ruộng thí nghiệm cho thấy các giống lúa

MTL664 và MTL702 có mang gen kháng mặn và cho năng suất khá cao trong thí nghiệm.

**Bảng 6: Đặc tính năng suất và chống chịu mặn của các giống lúa khảo nghiệm tại Bến Tre năm 2011**

TT	Tên giống	Số bông /m <sup>2</sup>	hạt chắc /bông	Năng suất (tấn/ha)	Chống chịu mặn (cấp) <sup>1</sup>
1	MTL580	357	78	4,38	5
2	MTL624	376	76	4,71	7
3	MTL626	437	70	4,90	6
4	MTL638	409	63	4,72	7
5	MTL650	335	88	4,80	7
6	MTL653	317	85	5,09	5
7	MTL662	362	74	4,31	5
8	MTL664	221	105	5,87	4
9	MTL688	443	74	4,39	5
10	MTL689	307	72	4,67	7
11	MTL690	251	96	5,23	6
12	MTL691	256	65	5,92	7
13	MTL692	279	85	5,18	7
14	MTL693	288	63	4,74	5
15	MTL695	317	74	5,47	5
16	MTL702	310	93	6,10	5
17	MTL703	334	71	4,61	4
18	MTL707	329	69	4,67	7
19	OM3536	243	72	5,23	-
	T.bình	325	78	5,00	
	LSD 5%	99	23	0,98	
	F-test	**	*	**	

\*: số liệu các thí nghiệm cơ bản của Viện Nghiên cứu lúa ĐBSCL

(1) Đánh giá mặn trong môi trường dung dịch Yoshoda ở độ mặn (4‰)

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả thanh lọc và điện di với dấu phân tử RM206 đã tìm được 13 giống lúa có khả năng chống chịu mặn ở mức độ từ 4‰ đến 6‰ (MTL461, MTL463, MTL504, MTL664, CL8, DH2, OM6976; OM1348, OM6677, Một bụi đỏ, ST20, DH4, DH5). Kết quả năng suất khảo nghiệm và đánh giá tổng hợp các đặc tính nông học, tính chống chịu cho thấy các giống lúa triển vọng có thể sản xuất trong vùng canh tác lúa tôm, chống chịu mặn là MTL653, MTL664, MTL691, MTL695, MTL702; hai giống lúa MTL664 và MTL702 có liên kết chặt với gen kháng mặn qua dấu phân tử RM206, thể hiện tốt ở cả hai thí nghiệm thanh lọc - xác định dấu phân tử kháng mặn và đánh giá năng suất trên ruộng bị ảnh hưởng mặn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dien Nguyen Ngoc. 2010. Selection for salt

tolerance of local traditional rice varieties in mekong delta by ses (standard evaluation system) and srr (simple sequence repeats) markers. Summary bachelor of science thesis the advanced program in biotechnology.

- Chen XS, Temnykh Yxu ChoYG, McCouch SR (1997). Development microsatellite framework map providing genome wide coverage in rice (*Oryza sativa*.L). Theor. Appl. Genet. 95: 553-567.
- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997). Screening rice for salinity tolerance, IRRI Discussion paper Series No.22. International Rice Research Institute, Los Baños. Laguna, Philippines.
- IRRI. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute, Los Baños. Laguna, Philippines.



5. Lang NT, Yanagihara S, Buu BC (2000). Quantitative trait loci for salt tolerance in rice via molecular markers. *Omonrice* 8:37-48.
6. Lang N.T., Z. Li, B.C. Buu. 2001 c. Microsatellite markers linked to salt tolerance in rice. *OMonRice* 9: 9-21
7. Lang Nguyen Thi, Nguyen Van Tao, Bui Thi Duong Khuyeu, Trinh Hoang Khai, Dang Minh Tam, Bui Xuan Ky, Hiroyuki Hiraoka, Hiromi Kobayashi and Bui Chi Buu, 2003. Genetic Variability of Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.).
8. Lê Xuân Thái. 2011. Kết quả chọn lọc giống lúa chịu mặn giai đoạn 2010-2011. Viện NCPT Đồng bằng Sông Cửu Long. Trường Đại học Cần Thơ.
9. Linh Nguyen Vu, Suriyan Cha-um and Chalermopol Kirdmanee. 2011. Physiological responses in indica rice (*Oryza sativa* L. *spp. indica*) to salinity. Human Resource Development Program in Biotechnology.
10. Maxwell, K., G.N. Johnson, 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51: 659-668.
11. Nejad, G.M., A. Arzani, A.M. Rezai, R.K. Singh and G.B. Gregorio, 2008. Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. *Afr. J. Biotech.*, 7: 730-736.
12. Nguyen Ngoc De, Le Xuan Thai and Pham Thi Phan. 2003. Selection of suitable rice varieties for monoculture and rice–shrimp farming systems in the Mekong Delta of Vietnam. Australian Centre for International Agricultural Research, GPO Box 1571, Canberra, ACT 2601.
13. Nguyễn Thị Thanh Thảo. 2012. Tuyển chọn và tái sinh một số giống lúa có khả năng chịu mặn thích ứng với biến đổi khí hậu ở đồng bằng sông Cửu Long. Luận văn Thạc sĩ Khoa học; chuyên ngành Công nghệ Sinh học năm 2012. Trường Đại học Cần Thơ.
14. Rahman M. S, M. K. H. Sohag and L. Rahman. 2010. Microsatellite based DNA fingerprinting of 28 local rice (*Oryza sativa* L.) varieties of Bangladesh. Genetic Fingerprinting Laboratory, Department of Genetics and Plant Breeding, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh, Bangladesh. 8(1): 7–17.
15. Suriyan Cha-um, Thippawan T, Prasartporn S, Chalermopol K. 2009. Salt tolerance in two rice cultivars differing salt tolerant abilities in responses to iso-osmotic stress. *Australia journal of Crop Science*. 3(4): 221-230.
16. Trần Nhân Dũng, 2012. Lưu giữ và đánh giá nguồn gen lúa chịu mặn phèn vùng đồng bằng sông Cửu Long. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học công nghệ cấp bộ. Mã số: B2012-16-03GEN. 12/ 2012. Trường Đại học Cần Thơ.