

ĐÁNH GIÁ TÍNH CHỐNG CHỊU PHÈN NHÔM CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA MTL (*Oryza sativa* L.)

Đỗ Tấn Khang¹, Hồ Duy Hạnh, Lê Xuân Thái², Trần Văn Bé Năm¹, Nguyễn Thị Pha¹ và Trần Nhân Dũng¹

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 19/10/2015

Ngày chấp nhận: 25/07/2016

Title:

Evaluation of aluminum tolerance of MTL rice (*Oryza sativa* L.) varieties

Từ khóa:

Chống chịu phèn nhôm, dấu phân tử, đất phèn, lúa

Keywords:

Acid sulfate soil, aluminum tolerance, molecular marker, rice

ABSTRACT

The effects of aluminum cation on different growth stages of 25 rice varieties were evaluated by screening in Yoshida's nutrient solution supplemented with 30 ppm Al³⁺ (pH4) at seedling (14 days) and tillering stages (15-45 days). Rice genotypes were classified into three groups including tolerant, moderately tolerant, and susceptible, based on root tolerance index (RTI). The results showed that 30 ppm Al³⁺ did not affect on seed germination stage. However, in the seedling and tillering stage of rice varieties, toxic level of aluminum cation in nutrient solution caused significantly reduction in root length and plant height. Based on root tolerance index, in seedling stage, there were eight tolerant genotypes, 12 moderately tolerant genotypes and five susceptible genotypes. In tillering stage, there was a decrease in the average RTI value compared to that of seedling stage. Evaluating the association of SSR markers with aluminum tolerant gene, two SSR markers RM215 and RM223 were used in this study. Analysis of PCR products revealed that marker RM223 located on chromosome 8 associated with aluminum tolerant gene.

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của Al³⁺ lên sự tăng trưởng ở các giai đoạn khác nhau của 25 giống lúa đã được khảo sát qua thanh lọc trên môi trường dinh dưỡng Yoshida có bổ sung Al³⁺ 30 ppm, với pH 4 ở giai đoạn mạ (14 ngày) và giai đoạn cây đẻ nhánh (15-45 ngày). Kiểu gen lúa được phân loại thành 3 nhóm: chống chịu, chống chịu vừa và nhạy cảm dựa trên chỉ số RTI (root tolerance index). Kết quả cho thấy không có sự ảnh hưởng của Al³⁺ lên tỉ lệ nảy mầm của các giống lúa. Tuy nhiên, chiều dài rễ, chiều cao cây giảm đáng kể ở hầu hết các giống lúa. Ở giai đoạn mạ, có 8 giống thể hiện tính chống chịu, 12 giống chống chịu vừa và 5 giống nhạy cảm với Al³⁺. Ở giai đoạn cây đẻ nhánh, chỉ số RTI trung bình giảm và số lượng giống nhạy cảm với Al³⁺ nhiều hơn so với ở giai đoạn mạ. Để đánh giá tính liên kết của dấu phân tử với gen chống chịu nhôm, hai dấu phân tử SSR RM215 và RM223 đã được sử dụng. Phân tích sản phẩm PCR cho thấy dấu phân tử RM223 nằm trên nhiễm sắc thể số 8 liên kết với gen chống chịu phèn nhôm.

Trích dẫn: Đỗ Tấn Khang, Hồ Duy Hạnh, Lê Xuân Thái, Trần Văn Bé Năm, Nguyễn Thị Pha và Trần Nhân Dũng, 2016. Đánh giá tính chống chịu phèn nhôm của một số giống lúa MTL (*Oryza sativa* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 44b: 86-95.

1 GIỚI THIỆU

Việt Nam là một trong những quốc gia có kim ngạch xuất khẩu gạo cao nhất thế giới. Hàng năm, sản lượng gạo xuất khẩu của cả nước là rất lớn. Theo Hiệp hội Lương thực Việt Nam, sản lượng gạo xuất khẩu của nước ta xếp thứ hai trên thế giới, năm 2011 tổng kim ngạch xuất khẩu gạo đạt 3,507 tỷ đô la Mỹ. Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có khoảng 50% diện tích là đất phèn chiếm khoảng gần 70% diện tích đất nông nghiệp của khu vực. Đất phèn gây hại đến cây trồng thông qua nhiều yếu tố, độ độc sắt, pH thấp, độ độc nhôm... Trong đó, độ độc nhôm được xem là yếu tố hạn chế chính đối với sự tăng trưởng của cây trồng (Kochian, 1995).

ĐBSCL có bốn vùng đất phèn chính là vùng Đồng Tháp Mười, vùng phèn Tứ giác Long Xuyên, vùng phèn Bán đảo Cà Mau và vùng phèn thuộc các tỉnh Tiền Giang, Vĩnh Long, Bến Tre, Cần Thơ và Hậu Giang. Hiện nay, Viện Lúa ĐBSCL đã khai thác nguồn gen mục tiêu từ các giống lúa hoang *Oryza rufipogon* ở vùng Đồng Tháp Mười và phát triển thành công giống lúa AS996 (được công nhận là giống quốc gia năm 2002) chống chịu được độc nhôm và cho năng suất cao ở ĐBSCL.

Bên cạnh đó, việc ứng dụng công nghệ sinh học phân tử trong công tác xác định gen thích ứng với sự biến đổi khí hậu trên các giống cây trồng đã đạt những thành công vượt trội. Cụ thể, Tang *et al.* (2000) đã xác định được các dấu phân tử Xbcd1117, Xwg464 và Xcdo1395 liên kết với gen

chống chịu phèn nhôm trên lúa mạch nhờ vào kỹ thuật RFLP (restriction fragment length polymorphism). Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2013) đã ứng dụng các chỉ thị phân tử RM6, RM240, RM252 và RM451 nhằm phát hiện gen điều khiển tính chống chịu với độ độc sắt trên tổ hợp BC3F2 của OM1490/AS996. Các dấu phân tử đều cho kết quả đa hình với sản phẩm PCR có kích thước cách nhau 10 bp giữa alen chống chịu và alen nhiễm. Bùi Chí Bửu *et al.* (2010) đã nghiên cứu sâu hơn về đặc tính di truyền của tính chống chịu độc nhôm đề nghị sử dụng chiến lược MAS (chọn giống từ sự trợ giúp của dấu phân tử) để sàng lọc các giống lúa có kiểu gen chống chịu độc Al^{3+} . Đây là tiền đề thuận lợi cho việc nghiên cứu và phát triển các giống lúa mới để đưa vào phát triển trên những vùng đất phèn ở ĐBSCL.

Nhằm tiếp tục việc ứng dụng các dấu phân tử DNA trong chọn lọc giống lúa chống chịu phèn nhôm, nghiên cứu “**Đánh giá tính chống chịu phèn nhôm của một số giống lúa (*Oryza sativa* L.)**” đã được tiến hành. Mục tiêu chủ yếu của nghiên cứu là đánh giá tính chống chịu nhôm của một số giống lúa MTL ở điều kiện nhà lưới và sự liên kết giữa dấu phân tử SSR với gen chống chịu nhôm trên các giống lúa khảo sát.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

– Vật liệu: sử dụng 25 giống lúa được cung cấp từ Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long.

Bảng 1: Các giống lúa dùng trong thí nghiệm

STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	AS996	6	MTL793	11	MTL838	16	MTL847	21	MTL874
2	IR29	7	MTL801	12	MTL840	17	MTL848	22	MTL872
3	MTL877	8	MTL834	13	MTL841	18	MTL851	23	MTL873
4	MTL790	9	MTL836	14	MTL845	19	MTL862	24	MTL875
5	MTL792	10	MTL837	15	MTL846	20	MTL864	25	MTL876

Giống AS996: là giống chuẩn chống chịu độc nhôm; Giống IR29: giống chuẩn nhiễm phèn

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Ảnh hưởng của ion Al^{3+} đến tỉ lệ nảy mầm và chỉ tiêu sinh trưởng của các giống lúa ở giai đoạn mạ

Nhằm khảo sát tỷ lệ nảy mầm và sự phát triển ở giai đoạn mạ của các giống lúa trong điều kiện phèn nhôm. Mỗi thí nghiệm bố trí gồm 10 hạt và lặp lại 3 lần, thời gian thí nghiệm 14 ngày. Các hạt giống được khử trùng bằng dung dịch NaOCl 10%

trong 15 phút, rửa lại bằng nước cất, sau đó gieo trong đĩa petri (đường kính 9 cm) có lót giấy ẩm, dùng nước ấm (45 – 50°C) để ngâm giống, sau 24 giờ cho dung dịch dinh dưỡng Yoshida (Yoshida *et al.*, 1976) và Al^{3+} vào tương ứng với mỗi giống gồm 2 nồng độ (0 ppm và 30 ppm). Dung dịch Yoshida được chuẩn đến pH 4 và nhôm hoạt động là Al^{3+} từ $AlCl_3.6H_2O$ ở pH 4. Trong quá trình thí nghiệm theo dõi các chỉ tiêu về môi trường: pH, và

mức nước. Quan sát hình thái cây lúa và ghi nhận các chỉ tiêu bao gồm tỷ lệ nảy mầm, chiều cao cây, chiều dài rễ và tính chỉ số RTI (chỉ số chống chịu của rễ). Chỉ số chống chịu của rễ được tính theo công thức như sau:

$$RTI = \frac{\text{Chiều dài rễ ở nồng độ } 30 \text{ ppm Al}^{3+}}{\text{Chiều dài rễ ở nồng độ } 0 \text{ ppm Al}^{3+}}$$

2.2.2 Thanh lọc các giống lúa ở giai đoạn đẻ nhánh trong môi trường Yoshida

Để tiến hành nhận định sức chống chịu của các giống lúa trong điều kiện phèn nhôm ở giai đoạn đẻ nhánh. Nghiệm thức bố trí: 25 nghiệm thức ở nồng độ Al³⁺ 0 ppm và 25 nghiệm thức ở nồng độ Al³⁺ 30 ppm. Kiểu bố trí: hoàn toàn ngẫu nhiên, 9

lần lặp lại/ nghiệm thức. Các giống lúa được gieo trong đĩa petri, dùng nước có nhiệt độ từ 45 – 50°C để ngâm giống, ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 – 3 ngày, sau 2 tuần bố trí vào khay nhựa. Các nghiệm thức được bố trí vào tám xốp dày 2-3 cm, có (6 x 8) ô, trong đó với mỗi ô trên tám xốp được chuyên vào 3 cây/ô, mỗi nghiệm thức được thực hiện với 3 ô. Dung dịch trồng lúa là dung dịch Yoshida. Mỗi khay gồm 10 lít dung dịch có pH 4. Mục nước và pH được theo dõi để điều chỉnh mỗi ngày. Môi trường được thay 3 ngày/lần. Thời gian thí nghiệm là 4 tuần. Các chỉ tiêu sinh trưởng được ghi nhận bao gồm chiều dài rễ (cm), chiều cao cây (cm) và chỉ số RTI.

Bảng 2: Bảng đánh giá các mức độ chống chịu sau 4 tuần theo tiêu chuẩn IRRI (1997).

Tỷ lệ lá khô (%)	Điểm	Mức độ	Quan sát
0 – 20	1	Chống chịu	Cây phát triển bình thường, không có triệu chứng trên lá.
21 – 25	2	Chống chịu	Đề chồi bình thường, trên chóp lá hay phần trên nửa lá có điểm trắng và cuộn tròn.
36 – 50	3	Chống chịu	Phát triển và đề chồi chậm lại, một số lá bị cuộn tròn.
51 – 70	5	Hơi chống chịu	Chồi kém phát triển và hầu hết bị cuộn tròn, chỉ vài lá phát triển.
71 – 90	7	Hơi nhiễm	Sự phát triển hầu như ngưng lại, hầu hết các lá bị khô, một vài cây chết.
91 - 100	9	Nhiễm	Tất cả cây đều chết.

2.2.3 Đánh giá sự liên kết giữa marker phân tử và gen chống chịu phèn nhôm trên các giống lúa

Các giống lúa được ly trích DNA và tiến hành PCR để đánh giá sự liên kết của các marker phân tử và gen chống chịu phèn nhôm.

Ly trích DNA

Dùng lá non (giai đoạn 2-3 lá) để ly trích DNA, thực hiện theo quy trình CTAB được mô tả bởi Trần Nhân Dũng (2011).

Thực hiện phản ứng PCR

Thành phần và trình tự mỗi sử dụng được trình bày trong Bảng 3 và Bảng 4.

Bảng 3: Thành phần phản ứng PCR với mỗi cặp primer

Thành phần	Nồng độ	Thể tích (µl)
Nước cất khử trùng		15,75
Buffer (NH ₄ ⁺) ₂ SO ₄	10X	2,50
MgCl ₂	25 mM	2,00
dNTPs	1,25 mM /loại	2,00
Mồi xuôi	10 µM	0,25
Mồi ngược	10 µM	0,25
Taq DNA polymerase	5 U/µL	0,25
DNA	50-100 ng	2,00

Các mồi được sử dụng trong phản ứng PCR là: RM223, RM215.

Bảng 4: Trình tự các mồi sử dụng trong phản ứng PCR

STT	Mồi	Trình tự	Nhiệt độ bắt cặp (°C)	Kích thước sản phẩm	Trình tự lặp
1	RM223	5' – gagtgagcttgggctgaaac 5' – gaaggaagcttggcactg	55	165	(CT) 25
2	RM215	5' - caaaatggagcagcaagagc 5' – tgagcacctccttctgtgag	55	148	(CT) 16

2.2.4 Xử lý số liệu

Đọc kết quả PCR trên hình gel dựa vào thang chuẩn (100 bp). Số liệu thu thập được tính toán các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, cao nhất, thấp nhất, vẽ đồ thị, bằng phần mềm Excel. So sánh sự khác biệt giữa các giá trị trung bình của các nghiệm thức theo phương pháp phân tích ANOVA trong phần mềm MiniTab 16.0. Số liệu được trình bày dạng Mean ± SD.

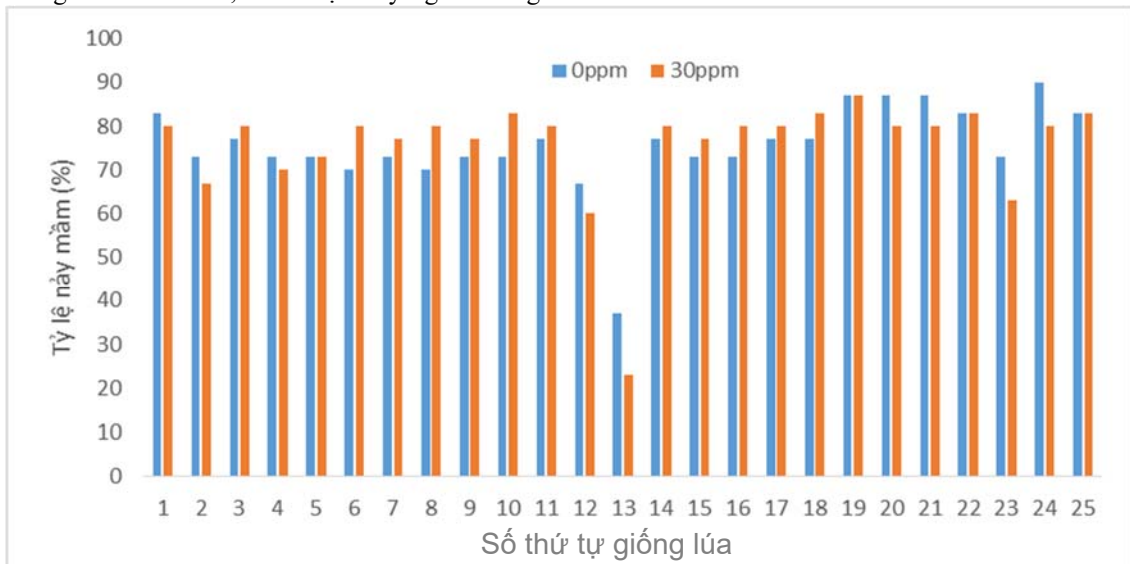
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của ion Al³⁺ đến tỉ lệ nảy mầm và chỉ tiêu sinh trưởng của các giống lúa ở giai đoạn mạ

Tỷ lệ nảy mầm giữa các giống lúa có sự khác biệt rõ rệt, tỷ lệ nảy mầm trung bình của các giống lúa là 75% và có khoảng dao động tương đối lớn từ khoảng 36% đến 90%, khác biệt có ý nghĩa thống

kê ($p < 0.05$) (Hình 1). Trong đó, giống 19 có tỷ lệ nảy mầm trung bình cao nhất, với 86,7% và thấp nhất là giống MTL841 chỉ với 30% . Tuy nhiên, sự khác biệt giữa cùng một giống lúa ở 2 mức nồng độ là không đáng kể. Như vậy, có thể nói ở nồng độ Al³⁺ 30 ppm sự ảnh hưởng của độ độc nhôm đến sự nảy mầm của cây lúa là không đáng kể.

Khi nghiên cứu về các kim loại gây độc, Cr và Al được cho biết là không gây ức chế quá trình nảy mầm nhưng có ảnh hưởng đến tăng trưởng của những rễ mới và sự tạo hạt (Nosko *et al.*, 1988). Lima *et al.* (1995) khi nghiên cứu về tế bào mầm của bắp cũng chỉ ra rằng sự nảy mầm của hạt thì ít nhạy cảm với Al³⁺ hơn là tăng trưởng của cây con. Ở một loài khác như *P. juliflora*, Jamal *et al.* (2006) cũng cho biết khi Al³⁺ ở nồng độ 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm không ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm và trọng lượng khô của cây.



Hình 1: Tỷ lệ nảy mầm của các giống lúa

(Danh sách giống tương ứng với số thứ tự được trình bày ở Bảng 1)

Kết quả còn cho thấy có sự khác nhau về sự tăng trưởng chiều cao cây giữa các nghiệm thức (Bảng 5). Ở các nghiệm thức đối chứng (không có Al³⁺), tăng trưởng chiều cao cây trung bình là 6,49 cm/ tuần, dao động trong khoảng 4,13 - 8,02 cm/tuần, trong đó 2 giống có tăng trưởng cao nhất là giống MTL838 và giống MTL874, thấp nhất là giống MTL793 và giống 841. Ở các nghiệm thức

có Al³⁺, chiều cao cây tăng thấp hơn so với ở các nghiệm thức đối chứng, với mức tăng trung bình 4,78 cm/tuần, dao động trong khoảng 1,94 - 6,79 cm/tuần. Một số giống thể hiện sự chống chịu tốt với phèn Al³⁺ là MTL846, MTL847, MTL851, MTL862, MTL864, MTL874, MTL872, MTL875 và MTL876.

Bảng 5: Chỉ tiêu tăng trưởng của cây mạ khi xử lý với Al³⁺

Giống	Chiều cao (cm)		Chiều dài rễ (cm)	
	0 ppm	30 ppm	0 ppm	30 ppm
AS996	6,74±0,76 ^{a-d}	5,65±0,69 ^{a-f}	8,86±1,54 ^{abc}	8,72±1,01 ^a
IR29	6,26±0,90 ^{a-d}	1,94±1,09 ^k	7,36±1,82 ^{abc}	3,33±1,88 ^g
MTL877	6,82±1,04 ^{a-d}	4,49±1,13 ^{d-j}	6,70±2,19 ^c	7,43±1,60 ^{abc}
MTL790	6,67±0,96 ^{a-d}	4,29±0,57 ^{e-j}	7,86±2,18 ^{bcd}	5,16±2,23 ^{ef}
MTL792	6,55±0,74 ^{a-d}	3,16±0,51 ^{h-k}	7,70±1,64 ^{abc}	4,55±0,99 ^{fg}
MTL793	4,13±0,63 ^e	2,87±1,50 ^{jk}	6,57±1,38 ^c	4,46±1,33 ^{fg}
MTL801	5,94±0,54 ^{b-e}	3,63±0,71 ^{g-k}	8,21±2,05 ^{abc}	5,21±1,55 ^{ef}
MTL834	6,12±1,16 ^{a-e}	3,61±0,99 ^{g-k}	8,74±1,37 ^{abc}	5,50±1,79 ^{def}
MTL836	6,93±1,02 ^{abc}	3,76±1,73 ^{f-k}	7,86±1,36 ^{bcd}	4,63±1,45 ^{fg}
MTL837	6,70±1,03 ^{a-d}	3,56±0,87 ^{g-k}	7,55±1,86 ^{abc}	5,16±1,30 ^{ef}
MTL838	7,83±1,24 ^{ab}	4,89±0,55 ^{b-i}	7,26±1,57 ^{bc}	4,58±0,95 ^{fg}
MTL840	5,74±1,48 ^{b-e}	2,85±0,67 ^{h-k}	7,60±1,81 ^{abc}	4,78±1,39 ^{fg}
MTL841	4,38±0,83 ^{de}	2,24±1,22 ^{i-k}	8,22±2,30 ^{abc}	4,96±1,50 ^{c-g}
MTL845	7,02±1,94 ^{abc}	5,06±1,53 ^{b-h}	8,22±2,60 ^{abc}	5,71±1,81 ^{def}
MTL846	6,74±1,70 ^{a-d}	6,01±0,60 ^{a-e}	8,75±2,26 ^{abc}	5,26±1,73 ^{def}
MTL847	6,66±1,25 ^{a-d}	6,53±1,45 ^{abc}	9,73±2,44 ^a	8,23±2,27 ^{ab}
MTL848	5,81±2,06 ^{cde}	5,34±1,01 ^{a-g}	7,24±2,30 ^{bc}	5,12±1,29 ^{ef}
MTL851	6,28±1,58 ^{a-d}	6,22±0,75 ^{a-e}	7,72±2,21 ^{abc}	6,92±1,88 ^{bcd}
MTL862	7,58±0,90 ^{abc}	7,03±0,54 ^a	7,07±1,77 ^{bc}	6,65±1,17 ^{b-e}
MTL864	7,21±0,96 ^{abc}	6,57±0,60 ^{abc}	9,20±2,24 ^{ab}	8,17±2,07 ^{ab}
MTL874	8,02±0,63 ^a	6,79±1,48 ^{ab}	8,46±2,17 ^{abc}	7,50±1,60 ^{ab}
MTL872	7,39±1,17 ^{abc}	6,22±1,07 ^{a-e}	7,05±3,09 ^{bc}	4,80±1,44 ^{fg}
MTL873	5,83±0,66 ^{b-e}	4,58±2,25 ^{c-j}	7,71±2,47 ^{abc}	5,02±1,64 ^{efg}
MTL875	6,54±0,84 ^{a-d}	6,24±1,27 ^{a-d}	7,62±1,80 ^{abc}	5,47±1,62 ^{def}
MTL876	6,34±0,27 ^{a-d}	6,00±0,90 ^{a-e}	8,68±3,96 ^{abc}	8,10±1,23 ^{ab}
TB	6,49±0,90	4,78±1,53	7,92±2,10	5,82±1,55
CV(%)	13,9	32,0	26,52	26,63

Số liệu có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng 1 cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Chiều dài rễ cũng được đánh giá sau 2 tuần thí nghiệm (Bảng 5), với chiều dài rễ dao động từ 6,57 – 9,73 cm ở các nghiệm thức đối chứng (0 ppm Al³⁺). Các giống có tăng trưởng cao là MTL847 và MTL864. Các giống còn lại có chiều dài rễ khá đồng đều. Chiều dài rễ của các giống lúa có xu hướng giảm ở các nồng độ Al³⁺ 30 ppm khi so với ở nồng độ Al³⁺ 0 ppm. Mức độ giảm nhiều nhất được ghi nhận ở các giống IR29, MTL792, MTL793, MTL836, MTL838, MTL840 và

MTL872. Nhìn chung, trong môi trường dinh dưỡng có bổ sung Al³⁺, hầu hết các giống lúa có chiều dài rễ giảm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng. Tuy nhiên, vẫn có một số giống (MTL847, MTL864, MTL874 và MTL876) có tăng trưởng chiều dài tốt và ổn định khi so với giống chuẩn kháng AS996 (giống 1).

Dựa trên RTI, kiểu hình được phân loại thành ba nhóm: chống chịu (RTI ≥ 0,80), chống chịu vừa (RTI 0,60- 0,80) và nhiễm (RTI ≤ 0,60) (Bảng 6).

Bảng 6: Chỉ số RTI trong điều kiện Al³⁺ 30 ppm của các giống lúa ở giai đoạn mạ

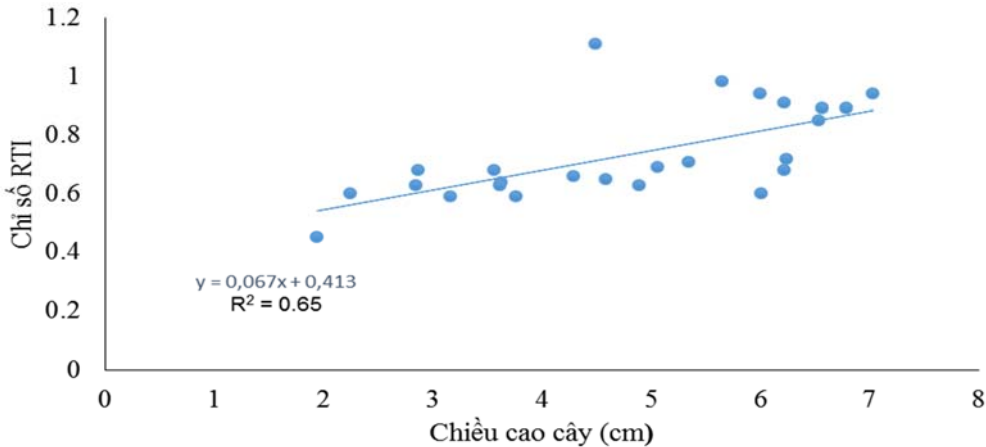
Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI
AS996	0,98	MTL793	0,68	MTL838	0,63	MTL847	0,85	MTL874	0,89
IR29	0,45	MTL801	0,64	MTL840	0,63	MTL848	0,71	MTL872	0,68
MTL877	1,11	MTL834	0,63	MTL841	0,60	MTL851	0,91	MTL873	0,65
MTL790	0,66	MTL836	0,59	MTL845	0,69	MTL862	0,94	MTL875	0,72
MTL792	0,59	MTL837	0,68	MTL846	0,60	MTL864	0,89	MTL876	0,94

Sau 14 ngày thí nghiệm cho thấy, chỉ số RTI dao động từ 0,45 đến 1,11. Trong đó, giống MTL877 có chỉ số RTI cao nhất, sau AS996 và

thấp nhất là 2 giống MTL792 và MTL836, sau IR29. Nhìn chung, đa số các giống trong thí nghiệm ở giai đoạn mạ thể hiện tính chống chịu

vừa ở mức nồng độ Al^{3+} 30 ppm. Các giống thể hiện tính chống chịu tốt đối với Al^{3+} dựa theo chỉ số RTI là AS996, MTL877, MTL847, MTL851, MTL862, MTL864, MTL874, MTL876. Như vậy, có 8 giống thể hiện tính chống chịu, 12 giống chống chịu vừa và 5 giống nhạy cảm đối với độ độc Al^{3+} chiếm lần lượt 32%, 48% và 20% trong

25 giống thí nghiệm. Khi phân tích mối tương quan giữa tăng trưởng chiều cao cây và chỉ số chống chịu của rễ ở các giống lúa trong thí nghiệm cho thấy có mối tương quan thuận với mức tương quan khá cao ($R^2 = 0,65$). Điều này cho thấy các giống có chỉ số chống chịu của rễ cao sẽ có tăng trưởng chiều cao tốt hơn và ngược lại.



Hình 2: Tương quan giữa chiều cao cây và chỉ số RTI ở các nghiệm thức Al^{3+} 30 ppm

Quan sát Hình 2 cho thấy các giống lúa có chỉ số RTI rất biến động từ 0,45- 1,11 và tương ứng với tăng trưởng chiều cao từ 1,94 – 7,03 cm/tuần.

3.2 Thanh lọc các giống lúa ở giai đoạn đẻ nhánh trong môi trường Yoshida có bổ sung Al^{3+}

Chiều cao cây có sự khác biệt tương đối nhiều giữa mức hai nghiệm thức không có (đối chứng) và có bổ sung Al^{3+} (Bảng 7). Cụ thể, ở nồng độ Al^{3+} 0 ppm cây tăng trưởng khá tốt với mức tăng trưởng trung bình là 7,12 cm/tuần trong khi ở nồng độ Al^{3+} 30 ppm tăng trưởng chỉ ở mức 5,67 cm/tuần. Tăng trưởng giữa các giống lúa ở nghiệm thức đối chứng khá đồng đều, dao động từ 6,00 – 8,66 cm/tuần trong khi sự chênh lệch nhiều hơn được ghi nhận ở các nghiệm thức xử lý với Al^{3+} 30 ppm (2,49 – 8,24 cm/tuần). Trong đó, ở nồng độ Al^{3+} 30 ppm các giống 1, 3, 21, 22, 23, 24, 25 có mức tăng trưởng cao hơn so với các giống còn lại, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Các giống 13, 2, 12, 11, 14, 15 tăng trưởng thấp. Nhìn chung, mặc dù tăng trưởng tương đối thấp ở một số nghiệm thức nhưng vẫn có sự tăng trưởng của cây trong môi trường Al^{3+} . Như vậy, Al^{3+} gây ức chế sự tăng trưởng bình thường ở hầu hết các giống lúa nhưng không gây

chết nghiêm trọng ở nồng độ Al^{3+} 30 ppm. Al^{3+} làm trì trệ tăng trưởng của rễ và làm rối loạn cơ chế của cây thông qua việc giảm hấp thu nước và khoáng, kết quả là làm giảm tăng trưởng của cây. Điều này thì phù hợp với công bố của Guo *et al.* (2013) cho rằng có sự giảm tăng trưởng chiều cao cây trong môi trường có Al^{3+} so với khi trồng trong môi trường không bổ sung Al^{3+} .

Chiều dài rễ giảm ở các nghiệm thức bổ sung Al^{3+} (Bảng 7). Chiều dài rễ trung bình ở các nghiệm thức đối chứng là 20,1 cm, dao động từ 15,4- 22,7 cm, thấp nhất ở giống 9, cao nhất ở giống 2. Ở nghiệm thức có bổ sung Al^{3+} , chiều dài rễ giảm rõ rệt, với chiều dài trung bình là 14,2 cm. Các giống AS996, MTL877, MTL847, MTL851, MTL864, MTL874, MTL873 và MTL876 thể hiện sự tăng trưởng tương đối ổn định ở các nghiệm thức bổ sung Al^{3+} khi so với môi trường không có mặt Al^{3+} . Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Rout *et al.* (2001) là độc nhôm trong môi trường dinh dưỡng làm giảm đáng kể tăng trưởng của rễ, số lượng rễ, chiều dài chồi, trọng lượng khô. Bùi Chí Bửu (1987) cũng cho biết có sự giảm chiều dài rễ lúa ở nồng độ Al^{3+} 30 ppm so với đối chứng.

Bảng 7 : Chỉ tiêu tăng trưởng của cây lúa trong môi trường thanh lọc

Giống	Chiều cao cây (cm)/tuần		Chiều dài rễ (cm)	
	0 ppm	30 ppm	0 ppm	30 ppm
AS996	8,02±1,06 ^{ab}	7,90±1,22 ^a	20,6±1,2 ^{ab}	18,7±1,0 ^a
IR29	7,01±0,66 ^{abc}	3,91±1,24 ^{e-i}	22,7±1,9 ^a	7,9±1,1 ^j
MTL877	7,77±1,20 ^{abc}	7,14±1,38 ^{abc}	21,7±1,5 ^{ab}	18,4±1,3 ^{ab}
MTL790	6,97±0,78 ^{abc}	5,39±0,97 ^{c-g}	20,8±1,5 ^{ab}	13,2±1,6 ^{fgh}
MTL792	6,41±1,52 ^{bc}	5,40±0,93 ^{c-g}	21,0±1,5 ^{ab}	13,4±1,3 ^{fgh}
MTL793	7,09±0,76 ^{abc}	4,47±0,74 ^{e-i}	18,6±2,7 ^{bc}	12,2±1,6 ^{ghi}
MTL801	7,26±1,02 ^{abc}	4,66±0,76 ^{d-i}	21,3±2,3 ^{ab}	14,5±2,5 ^{c-g}
MTL834	6,00±1,05 ^c	4,40±0,58 ^{f-i}	18,8±1,7 ^{abc}	12,7±2,4 ^{gh}
MTL836	6,41±1,12 ^{bc}	4,99±1,41 ^{d-h}	15,4±2,4 ^c	11,2±1,8 ^{hij}
MTL837	6,59±0,79 ^{bc}	4,01±1,17 ^{f-i}	18,4±1,8 ^{bc}	9,6±1,7 ^{ij}
MTL838	7,52±0,62 ^{abc}	3,69±1,11 ^{g-i}	21,6±1,1 ^{ab}	12,6±2,5 ^{gh}
MTL840	6,58±1,18 ^{bc}	3,56±1,18 ^{g-i}	22,8±3,9 ^a	13,7±2,6 ^{e-h}
MTL841	6,91±1,50 ^{abc}	2,49±0,88 ⁱ	18,9±4,1 ^{abc}	12,1±1,0 ^{ghi}
MTL845	6,50±1,29 ^{bc}	3,92±0,97 ^{f-i}	19,7±3,2 ^{ab}	14,3±1,4 ^{d-g}
MTL846	6,27±1,14 ^{bc}	3,29±0,54 ^{hi}	18,3±3,7 ^{bc}	14,4±1,2 ^{c-g}
MTL847	7,01±1,23 ^{abc}	5,59±1,90 ^{b-h}	20,0±2,4 ^{ab}	16,7±0,7 ^{a-d}
MTL848	6,77±1,35 ^{bc}	5,72±1,00 ^{b-g}	18,2±2,7 ^{bc}	14,1±2,4 ^{d-g}
MTL851	7,32±1,17 ^{abc}	5,16±1,19 ^{c-h}	19,0±2,4 ^{abc}	16,2±1,3 ^{a-e}
MTL862	7,26±1,08 ^{abc}	6,51±1,01 ^{a-e}	19,2±1,6 ^{abc}	15,9±1,0 ^{b-f}
MTL864	7,42±0,91 ^{abc}	5,91±0,81 ^{b-f}	20,7±2,0 ^{ab}	16,8±1,0 ^{a-d}
MTL874	7,39±0,99 ^{abc}	6,69±0,74 ^{a-d}	20,5±2,6 ^{ab}	17,1±1,1 ^{a-c}
MTL872	7,61±0,87 ^{abc}	7,27±0,75 ^{ab}	20,5±1,4 ^{ab}	14,5±1,0 ^{c-g}
MTL873	7,67±1,02 ^{abc}	7,30±0,72 ^{ab}	21,0±1,4 ^{ab}	15,9±1,0 ^{a-f}
MTL875	8,66±0,83 ^a	8,24±1,57 ^a	20,8±1,0 ^{ab}	12,3±1,3 ^{ghi}
MTL876	7,58±0,76 ^{abc}	7,28±0,93 ^{ab}	20,9±1,5 ^{ab}	16,7±1,1 ^{a-d}
TB	7,12±1,12	5,67±1,76	20,1±2,14	14,2±1,48
CV(%)	15,7	31,0	10,6	10,4

Số liệu có các chữ cái theo sau khác nhau trong cùng 1 cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Sau 28 ngày thí nghiệm cho thấy, chỉ số RTI dao động từ 0,34 đến 0,91 (Bảng 8). Trong đó, giống có chỉ số RTI cao nhất là giống AS996 và thấp nhất là giống IR29. Nhìn chung, đa số các

giống trong thí nghiệm ở giai đoạn cây đẻ nhánh thể hiện tính chống chịu khá tốt ở mức nồng độ Al^{3+} 30 ppm.

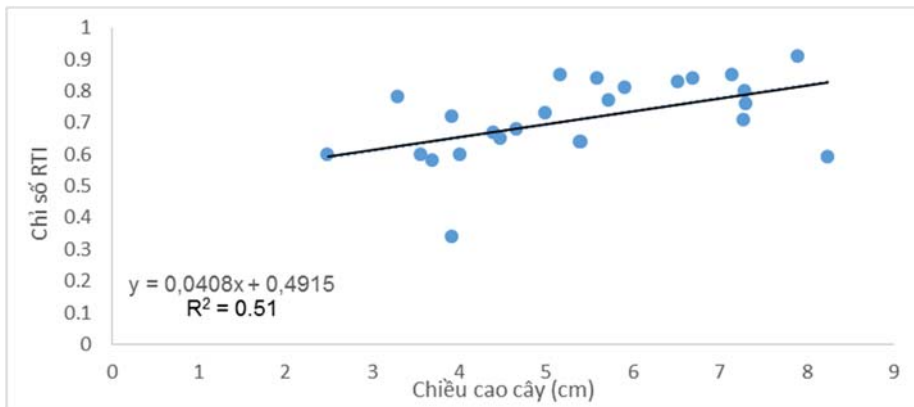
Bảng 8: Chỉ số RTI trong điều kiện Al^{3+} 30ppm của các giống lúa ở giai đoạn đẻ nhánh

Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI	Giống	RTI
AS996	0,91	MTL793	0,65	MTL838	0,58	MTL847	0,84	MTL874	0,84
IR29	0,34	MTL801	0,68	MTL840	0,60	MTL848	0,77	MTL872	0,71
MTL877	0,85	MTL834	0,67	MTL841	0,60	MTL851	0,85	MTL873	0,76
MTL790	0,64	MTL836	0,73	MTL845	0,72	MTL862	0,83	MTL875	0,59
MTL792	0,64	MTL837	0,60	MTL846	0,78	MTL864	0,81	MTL876	0,80

Kết quả này tương tự với kết quả của Roy và Bhadra (2014) khi nghiên cứu về ảnh hưởng của độc nhôm đối với các chỉ số của lúa báo cáo rằng RTI dao động từ 0,3 – 1,7 ở nồng độ Al^{3+} 30 $\mu g/mL$. Khi thanh lọc lúa trong môi trường Yoshida cho thấy chỉ số RTI của lúa ở nồng độ 40 ppm dao động từ 0,22 - 0,72, sự khác biệt về chỉ số RTI ở hai mức nghiệm thức Al^{3+} 40 ppm và 60 ppm là rất nhỏ, ở nồng độ Al^{3+} 80 ppm các cây thuộc giống IR64 chết, tuy nhiên các giống

Azucena, CT9993 thì vẫn còn sống.

Hệ số tương quan giữa tăng trưởng chiều cao cây và chỉ số RTI là $R^2 = 0,51$, cho thấy có mối tương quan thuận giữa hai yếu tố với mức tương quan khá chặt chẽ. Chỉ số RTI dao động từ 0,45 – 1,11 với chiều cao cây nằm trong khoảng từ 3,91 – 8,21 cm (Hình 3). Tuy nhiên, mức độ tương quan này thấp hơn khi so với ở giai đoạn mạ, có thể ở giai đoạn này tăng trưởng của cây chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố bên ngoài môi trường.



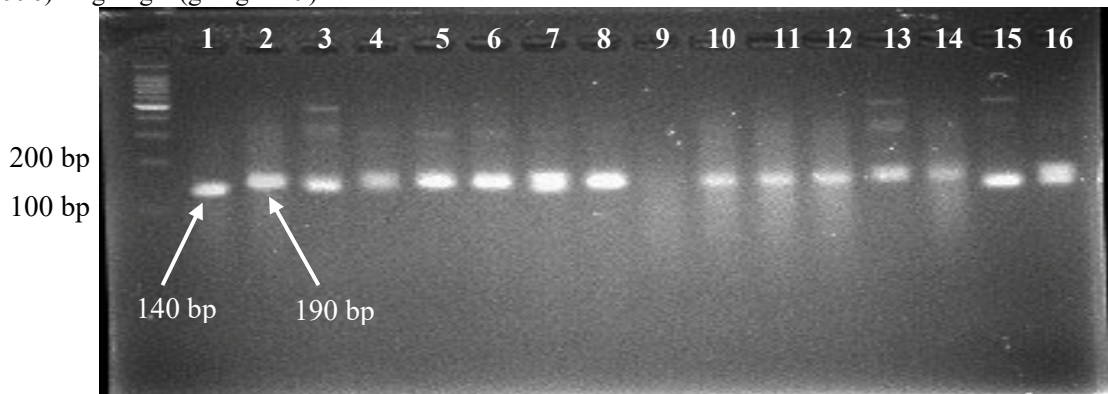
Hình 3: Tương quan giữa tăng trưởng chiều cao cây trung bình/tuần và chỉ số RTI ở giai đoạn cây đẻ nhánh

3.3 Đánh giá sự liên kết giữa marker phân tử và gen chống chịu phen nhôm trên các giống lúa

3.3.1 Kết quả PCR với môi RM223

Thực hiện phản ứng PCR với 25 giống lúa, trong đó 2 giống đối chứng là giống 1 (giống AS996) và giống 2 (giống IR29).

Gen mục tiêu là gen chống chịu độc nhôm nằm trên nhiễm sắc thể số 8. Dấu phân tử RM223 được dùng để đánh dấu và làm khuôn DNA để thiết lập các môi. DNA của các giống lúa được cho khuếch đại bằng dấu phân tử RM223 để kiểm tra tính đa hình.



Hình 4: Sản phẩm PCR dấu phân tử RM223 trên nhiễm sắc thể số 8

Chú thích: 1:AS996 (chuẩn chống chịu); 2:IR29 (chuẩn nhiễm); 3-16: các giống lúa thí nghiệm theo số thứ tự trong Bảng 1

Bảng 9: Sự hiện diện của dấu phân tử RM223 trên các giống lúa khảo sát

Giống	RM223	Giống	RM223	Giống	RM223
AS996	140 bp	MTL838	190 bp	MTL874	140 bp
IR29	190 bp	MTL840	190 bp	MTL872	190 bp
MTL877	140 bp	MTL841	190 bp	MTL873	190 bp
MTL790	190 bp	MTL845	190 bp	MTL875	140 bp
MTL792	190 bp	MTL846	140 bp	MTL876	140 bp
MTL793	190 bp	MTL847	140 bp		
MTL801	190 bp	MTL848	140 bp		
MTL834	190 bp	MTL851	140 bp		
MTL836	140 bp	MTL862	140 bp		
MTL837	190 bp	MTL864	140 bp		

Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 3% trong dung dịch TBE 1X (Hình4). Kết quả cho thấy có 11 giống lúa xuất hiện băng có kích thước

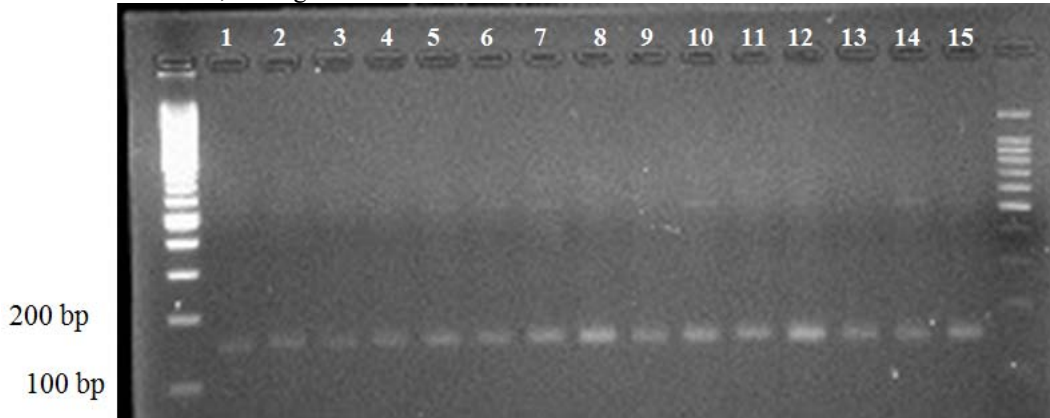
khoảng 140 bp tương ứng với AS996 (giống 1) mang kiểu gen chống chịu độc nhôm (MTL877, MTL836, MTL846, MTL847, MTL848, MTL851,

MTL862, MTL864, MTL874, MTL875 và MTL876) các giống còn lại có băng ở kích thước khoảng 190 bp tương ứng với IR29 mang kiểu gen nhạy cảm với độc nhôm (Hình 4 và Bảng 9). Kết quả này tương ứng với kết quả của Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2003), khi thực hiện phản ứng PCR với marker RM223, khi nghiên cứu trên các

giống lúa thu từ vùng phèn Tràm Chim - Đồng Tháp Mười cho biết giống AS996 có kích thước band 140 bp.

3.3.2 Kết quả PCR với môi RM215

Gen mục tiêu là gen chống chịu độc nhôm nằm trên nhiễm sắc thể số 9.



Hình 5: Sản phẩm PCR của các giống lúa tại locus RM215

Chú thích: 1:AS996 (chuẩn chống chịu); 2:IR29 (chuẩn nhiễm); 3-15: các giống lúa thí nghiệm theo số thứ tự trong Bảng 1

Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy chỉ xuất hiện dạng đơn hình, vạch DNA kích thước khoảng 160 bp không khác biệt giữa các giống (Hình 5). Kết quả này tương tự như kết quả của Phan Vinh Quang (2011) khi thực hiện phản ứng PCR với các giống lúa mùa cho kích thước băng khoảng 160 bp cho tất cả các giống thí nghiệm.

4 KẾT LUẬN

Sau khi khảo sát ảnh hưởng của Al^{3+} đến sự tăng sinh của 25 giống lúa cho thấy:

Chiều cao cây và chiều dài rễ của các giống lúa giảm khi trồng trong môi trường dinh dưỡng Yoshida có bổ sung Al^{3+} với hàm lượng 30 ppm.

Các giống AS996, MTL877, MTL847, MTL851, MTL862, MTL864, MTL874, MTL876 thể hiện tính chống chịu tốt (dựa trên chỉ số chống chịu của rễ (RTI)) đối với Al^{3+} ở giai đoạn mạ và giai đoạn đẻ nhánh khi thanh lọc trong môi trường dinh dưỡng Yoshida bổ sung Al^{3+} ở nồng độ 30 ppm.

Phân tích kiểu gen thông qua dấu phân tử RM223 cho thấy, các giống lúa mang kiểu gen chống chịu độc nhôm gồm có AS996, MTL877, MTL836, MTL846, MTL847, MTL848, MTL851, MTL862, MTL864, MTL874, MTL875, MTL876.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2003. Cơ sở di truyền tính chống chịu đối với thiệt hại môi trường của cây lúa. Nhà xuất bản Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh. Trang 52-56.
- Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2013. Nghiên cứu biến động di truyền trên quần thể lai hồi giao của giống chống chịu độ độc của sắt trên cây lúa (*Oryza sativa* L.). Báo cáo khoa học Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam. Thành phố Hồ Chí Minh.
- Bùi Chí Bửu, 1987. Nghiên cứu một vài đặc tính quan trọng của các giống lúa nước sâu địa phương ở Đồng bằng sông Cửu Long cho công tác chọn giống. Luận án Tiến sĩ Khoa học nông nghiệp. Viện KHKTNVN. Hà Nội.
- Bùi Chí Bửu, Phạm Thị Thu Hà, Nguyễn Việt Cường, Nguyễn Thị Lang, 2010. Phân tích QTL các địa điểm tình trạng số lượng điều khiển tính chống chịu độ độc nhôm của cây lúa (*Oryza sativa* L.). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. 1: 3-9.
- Guo, T.R., Yao, P.C., Zhang, Z.D., Wang, J.J., Wang, M., 2013. Involvement of antioxidative defense system in rice seedlings exposed to aluminum toxicity and

- phosphorus deficiency. Chinese Journal of Rice Science. 27(6): 653–657.
- IRRI, 1997. Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute. Philippines.
- Jamal, S.N., Iqbal M.Z., Athar, M., 2006. Phytotoxic effect of aluminum and chromium on the germination and early growth of wheat (*Triticum aestivum*) varieties Anmol and Kiran. International Journal of Environment, Science and Technology. 3(4): 411 – 416.
- Lima, M., Filho, M., Furlani, P.R., 1995. Diallel cross among inbred lines of maize differing in aluminum tolerance. Brazilian Journal of Genetics. 18: 579-584
- Nosko, P., Brassard, P., Kramer, J.R., Kershaw, K.A., 1988. The effect of aluminum on seed germination and early seedling establishment, growth and respiration of white spruce (*Picea glauca*). Canadian Journal of Botany. 66: 2305-2310.
- Phan Vinh Quang, 2011. Ứng dụng chỉ thị phân tử SSR (Microsatellite) trong xác định gen chống chịu mặn của một số giống lúa mùa địa phương (*Oryza sativa* L.). Luận văn thạc sĩ chuyên ngành Công nghệ sinh học. Trường Đại học Cần Thơ.
- Rout, G.R., Samantara, S., Dasg, P., 2001. Aluminum toxicity in plants. Agronomie, 21: 3-21.
- Roy, B. and Bhadra, S., 2014. Effects of toxic levels of aluminum on seedling parameters of rice under hydroponic culture. Rice Science. 21(4): 217-223.
- Tang, Y., Sorrells, M.E., Kochian, L.V., Garvin, D.F., 2000. Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. Crop Science 40(3): 778–782.
- Trần Nhân Dũng, 2011. Sổ tay thực hành sinh học phân tử. NXB Đại học Cần Thơ, tr. 164-168.
- Yoshida, S.I., Forno, D.A., Cock, J.H., Gomez, K.A., 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute. Philippines.