



ỨNG DỤNG KỸ THUẬT SSR (SIMPLE SEQUENCE REPEAT) TRONG VIỆC LAI TẠO CÁC ĐÒNG LÚA LAI F₁ VÀ BC₁F₁ KHÁNG RẦY NÂU, CHỐNG CHỊU MẶN

Phạm Thanh Minh¹, Lê Vĩnh Thúc² và Trần Nhân Dũng¹

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

²Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 26/10/2016

Title:

Application of SSR technique for the identification of markers linked to salinity tolerance and planthoppers in F₁ and BC₁F₁ rice generation

Từ khóa:

Chống chịu mặn, đặc tính kháng rầy, lai hồi giao, kỹ thuật SSR

Keywords:

Backcross, brown planthopper resistance, salinity tolerance, SSR techniques

ABSTRACT

This study was carried out to develop elite rice variety/lines that are brown planthopper resistant and salinity tolerant. This study includes three stages: (1) producing backcross populations (BC₁F₁) with AS996/Một bụi đỏ, ST20/Một bụi đỏ, IR50404/OM6976, OM6677/OM6976, OM6377/OM6976, and OC10/OM6976; (2) screening phenotypic for brown planthopper resistance and salinity tolerance; and (3) examining the presence of tagret genes by SSR method. The results indicated that the tagret genes have been successfully transferred into 12 rice backcross breeding lines. The three hybrid F₁ lines (ST20/Một bụi đỏ, OM6377/OM6976, OC10/OM6976) and 3 backcross breeding BC₁F₁ lines (AS996*2//Một bụi đỏ, OM6377*2//OM6976, OC10*2//OM6976) showed high resistance to brown planthopper and tolerance to saline condition. The examination by molecular biology techniques SSR showed target gene expression in 12 F₁ and BC₁F₁ hybrid rice lines.

TÓM TẮT

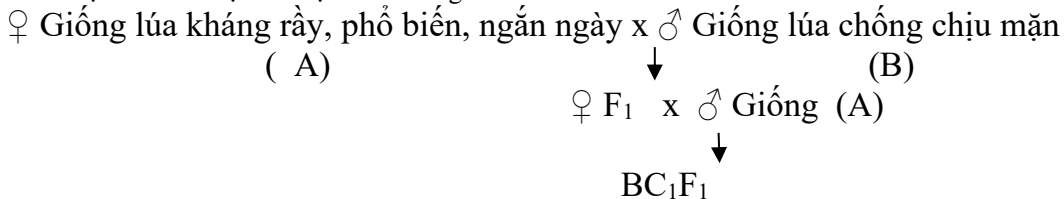
Đề tài được thực hiện nhằm tìm ra tổ hợp lai vừa kháng với độc tính rầy nâu, vừa có khả năng đáp ứng sinh lý mặn. Nghiên cứu này gồm: (1) lai tạo theo phương pháp lai hồi giao (backcross) với giống mẹ của 6 tổ hợp (AS996/Một bụi đỏ, ST20/Một bụi đỏ, IR50404/OM6976, OM6677/OM6976, OM6377/OM6976, OC10/OM6976) đến thế hệ BC₁F₁; (2) đánh giá kiểu hình tính kháng rầy nâu và khả năng chống chịu mặn bằng phương pháp hộp mạ theo tiêu chuẩn IRRI, (3) kiểm tra gene kháng rầy nâu và gene chống chịu mặn bằng kỹ thuật SSR. Kết quả thí nghiệm cho thấy đã chuyển thành công gene kháng rầy nâu và gene chống chịu mặn vào 12 dòng lúa lai hồi giao. Trong đó 3 dòng lai F₁ (ST20/Một bụi đỏ, OM6377/OM6976, OC10/OM6976) và 3 dòng lai BC₁F₁ (AS996*2//Một bụi đỏ, OM6377*2//OM6976, OC10*2//OM6976) thể hiện tính kháng cao về khả năng kháng rầy nâu và khả năng đáp ứng sinh lý trong điều kiện mặn. Qua kiểm tra bằng kỹ thuật sinh học phân tử SSR cho thấy thể hiện gene mục tiêu trong 12 dòng lúa lai F₁ và BC₁F₁.

Trích dẫn: Phạm Thanh Minh, Lê Vĩnh Thúc và Trần Nhân Dũng, 2016. Ứng dụng kỹ thuật SSR (Simple sequence repeat) trong việc lai tạo các dòng lúa lai F₁ và BC₁F₁ kháng rầy nâu, chống chịu mặn. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3): 160-169.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) và hạt gạo là một loại thực phẩm hết sức gần gũi và đóng một vai trò quan trọng trong đời sống của phần lớn người dân Việt Nam nói chung và người dân Đồng bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) nói riêng. Đồng bằng Sông Cửu Long được xem là vựa lúa lớn nhất nước, đóng góp lượng lớn gạo xuất khẩu (Bùi Chí Bửu, 2008). Những năm gần đây, ở nước ta cùng với sự thâm canh tăng vụ và tiến bộ khoa học kỹ thuật được áp dụng trong sản xuất lúa, giúp cải tiến chất lượng và năng suất lúa nhưng đang đối mặt với diện tích canh tác ngày càng bị thu hẹp do đô thị hóa, công nghiệp hóa, chuyển đổi canh tác cây trồng cũng như hiểm họa từ sâu rầy, từ biến đổi khí hậu,... Ngày nay, theo đà phát triển và nhu cầu ngày càng tăng về năng suất và chất lượng lương thực phục vụ cho xã hội đặc biệt là ở các vùng trồng lúa nhiễm mặn đã đưa ngành trồng lúa gặp phải những trở ngại và thách thức. Phần lớn những giống lúa năng suất và chất lượng cao thì không kháng mặn với rầy nâu và cũng như không đáp ứng sinh lý trong điều kiện khắc nghiệt của khí hậu và ngược lại (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2008; Ngô Vĩnh Viễn, 2014).

Do vậy, việc tạo ra những giống lúa vừa kháng tốt đối với rầy nâu, vừa có tính chống chịu mặn là công việc được quan tâm không chỉ ở Việt Nam mà còn ở nhiều nước khác trên thế giới. Ứng dụng những tiến bộ của công nghệ sinh học được xem là công cụ hữu hiệu phục vụ cho công tác chuẩn đoán và xác định nhanh sự có mặt của các gen cần



Sơ đồ lai các tổ hợp bằng phương pháp lai hồi giao

(Theo Nguyễn Ngọc Đệ, 2008)

2.2.2 Đánh giá kiểu hình tính kháng rầy nâu các cây lai F₁ và BC₁F₁ bằng phương pháp hộp mạ

Thanh lọc rầy nâu: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, mỗi giống thử nghiệm gồm 30 hạt, mỗi lặp lại là một hàng/lô gồm 10 hạt cách nhau 1,0 cm, mỗi hàng cách nhau 4,0 cm với các giống thử nghiệm, giống chuẩn nhiễm TN1, giống chuẩn kháng PTB33.

Chỉ tiêu theo dõi: Khi tất cả những cây của giống chuẩn nhiễm (TN1) vừa chết hết do rầy gây hại, tiến hành đánh giá tính kháng của các giống

thử nghiệm. Xuất phát từ thực tế nêu trên, trong giai đoạn hiện nay việc “*Ứng dụng kỹ thuật SSR trong việc lai tạo các dòng lúa lai F₁, BC₁F₁ kháng rầy nâu, chống chịu mặn bằng phương pháp hồi giao*”, rút ngắn thời gian lai tạo giống lúa mới nhằm phục vụ cho bà con nông dân ở vùng biển là vấn đề cấp thiết.

2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Các giống lúa phổ biến ở địa phương và đã qua sàng lọc kỹ lưỡng bằng phương pháp hộp mạ IRRI (1997) trên 118 giống lúa về các đặc tính kháng rầy và tính chống chịu mặn, được thực hiện từ năm 2013, đề tài chọn ra các giống lúa có đặc tính tốt dùng làm vật liệu lai tạo như: AS996 – Chịu phèn, kháng rầy, khá phổ biến ở Sóc Trăng; ST20 – Thom, khá phổ biến ở Sóc Trăng; IR50404 – Ngắn ngày năng suất ổn định, kháng rầy kém, khá phổ biến ở Đồng bằng Sông Cửu Long; OM6677 – Kháng rầy, năng suất ổn định, khá phổ biến ở Đồng Tháp, OM6377 – Kháng rầy, khá phổ biến ở Cần Thơ, OC10 – Kháng rầy, khá phổ biến ở Bến Tre, Một bụi đỏ - Chịu mặn, phổ biến ở Bạc Liêu, OM6976 – Chịu phèn mặn, phổ biến ở Cần Thơ.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Lai tạo các tổ hợp lai đến thế hệ F₁ và BC₁F₁ bằng phương pháp hồi giao

Kỹ thuật lai hồi giao có cải tiến theo phương pháp nghiên cứu Nguyễn Ngọc Đệ (2008) và Nguyễn Thị Lang (2003).

thử nghiệm theo thang đánh giá 9 cấp của Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996).

2.2.3 Đánh giá kiểu hình tính chống chịu mặn các dòng lúa lai F₁ và BC₁F₁ trong môi trường dinh dưỡng Yoshida

Thanh lọc theo phương pháp của IRRI (1997) có cải tiến. Cây mạ được đánh giá cấp điểm theo tiêu chuẩn SES (Standard Evaluating Score) để phân biệt từ mầm cảm đến kháng. Khi cho mặn vào dựa vào triệu chứng của cây lúa mà đánh giá tính chống chịu theo tiêu chuẩn 9 cấp của IRRI (1997),

sử dụng Pokkali làm giống chuẩn kháng, IR29 làm giống chuẩn nhiễm.

2.3 Đánh giá kiểu gen dòng lai F1 và BC1F1 bằng kỹ thuật SSR

2.3.1 Kiểm tra gene kháng rầy nâu Bph3 trên dòng lúa lai F1 và BC1F1 bằng kỹ thuật SSR

Thực hiện theo qui trình CTAB (Cetyltrimethyl Ammonium Bromide) được mô tả bởi Rogers và Bendich (1988), có cải tiến (Trần Nhân Dũng, 2011). Phản ứng PCR với cặp mồi RM190, RM19291 (Jairin *et al.*, 2007a; Jairin *et al.*, 2007b). Giống/dòng kháng sẽ thể hiện 1 band trên gel với kích thước khoảng 130 bp, còn giống/dòng nhiễm sẽ có kích thước là 120 bp đối với RM190. Còn RM19291 thì cho băng hình kích thước khoảng 1.000 bp đối với giống/dòng kháng và 146 bp với band nhiễm.

2.3.2 Kiểm tra gene chống chịu mặn con lai F1 và BC1F1 bằng kỹ thuật SSR

Thực hiện theo quy trình CTAB (Rogers and Bendich, 1988) có cải tiến (Trần Nhân Dũng, 2012), phản ứng PCR với một cặp mồi RM3412 (Nejad *et al.*, 2008) và RM206 (Lang *et al.*, 2003)

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả lai tạo các tổ hợp lai hồi giao

Bảng 1: Tỷ lệ thụ tinh của các tổ hợp lai

Stt	Tên tổ hợp	Số hạt lai (hạt)	Tỷ lệ đậu hạt (%)
1	AS996/Một bụi đỏ	970	73,7
2	ST20/Một bụi đỏ	972	67,1
3	IR50404/OM676	934	71,0
4	OM6677/OM6976	639	53,1
5	OM6377/OM6976	545	52,4
6	OC10/OM6976	642	63,1
7	AS996*2//Một bụi đỏ	978	63,9
8	ST20*2//Một bụi đỏ	875	60,1
9	IR50404*2//OM676	734	60,0
10	OM6677*2//OM6976	839	50,7
11	OM6377*2//OM6976	649	52,3
12	OC10*2//OM6976	949	60,5

Giống bố được sử dụng là các giống Một bụi đỏ và giống OM6976. Đây là những giống có khả năng thích ứng tốt với điều kiện mặn nhưng năng suất không cao, thời gian sinh trưởng khá dài, kháng rầy nâu kém. Kết quả lai tạo cho thấy tỉ lệ thụ tinh và đậu hạt của các tổ hợp lai tương đối khá cao, tỉ lệ được tính dựa trên % số hạt lai so với tổng số hạt đem thụ phấn có kiểm soát. Lượng hạt lai đủ cho thí nghiệm thanh lọc và làm dòng mẹ cho thế hệ lai tiếp theo sau đó. Các tổ hợp lai F1 có

tỷ lệ lai thành công cao hơn BC1F1, điều này được giải thích là thế hệ F1 được thực hiện ở vụ Đông Xuân (2013) nên có điều kiện khí hậu thời tiết nhiệt độ thấp, nắng ấm, ít mưa thuận lợi hơn so với BC1F1 được thực hiện ở vụ Hè Thu (2014) mưa nhiều, nắng ít, cản trở việc lấy phấn và thụ tinh.

3.2 Đánh giá kiểu hình tính kháng rầy nâu và khả năng đáp ứng sinh lý mặn trong điều kiện nhà lưới

Sau khi lai tạo thành công các dòng lúa lai, đề tài tiến hành đem các hạt lai khảo sát tính kháng với độc tính rầy nâu (rầy nâu thu thập chủ yếu các tỉnh Đồng bằng SCL) và khảo sát khả năng đáp ứng sinh lý trong điều kiện mặn Yoshida có cải tiến, thực hiện xen kẽ với thời gian lai tạo từ cuối năm 2013 – 2016, tại Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, ĐH Cần Thơ và đề tài vẫn được tiếp tục đến các thế hệ tiếp theo để chọn ra được các cá thể Ưu Việt nhất.

3.2.1 Đánh giá kiểu hình tính kháng rầy nâu các con lai F1 và BC1F1

Kết quả thanh lọc 20 giống/dòng lúa thí nghiệm cho thấy: khả năng kháng rầy nâu của các giống bố, mẹ và các con lai khá biến động, đều biểu hiện từ hơi kháng đến hơi nhiễm. Trong đó, 2 dòng lai kháng tốt là OM6377/OM6976 và OM6377*2//OM6976; có 2 dòng lai IR50404/OM676, IR50404*2//OM676 cho biểu hiện nhiễm cấp 7 – 9 và có 2 dòng còn lại đều hơi nhiễm rầy cấp 5 - 7 so với giống chuẩn kháng rầy nâu ptb33 với chỉ số hại (CSH) là 57,04%, hơi nhiễm rầy nâu cấp 5 - 7. Kết quả này tương đối phù hợp với nhiều kết quả nghiên cứu của các tác giả Tăng Thị Tú Loan (2011), Phạm Thanh Minh (2011); Nguyễn Thị Diễm Thúy và *ctv.* (2012), Phạm Thị Khả Ái (2012) và Bùi Chí Bửu và *ctv.* (2013), Phạm Văn Một (2014) hầu hết các giống lai tạo đều có tính kháng rầy nâu biến động ở mức trung bình so với giống chuẩn kháng Ptb33.

Tóm lại, kết quả thí nghiệm đánh giá kiểu hình tính kháng rầy nâu, cho thấy khả năng chống chịu với rầy nâu của 10/12 tổ hợp lai F1 và BC1F1 có xu hướng kháng tốt hơn so các giống bố mẹ và có tính kháng cũng tiệm cận với giống chuẩn kháng ptb33(57.04%). Các tổ hợp lai hồi giao chưa thuần, nên có thể trong 30 cá thể đem thanh lọc của mỗi dòng lai hồi giao vẫn có các cá thể không mang gen kháng và không kháng với rầy nâu nên làm tăng chỉ số hại và làm giảm cấp kháng rầy. Bên cạnh đó, tính kháng của giống chuẩn kháng giảm xuống (CSH tăng) có thể do độc tính của rầy nâu tăng lên.

Bảng 2: Kết quả thanh lọc rầy nâu các giống/dòng thí nghiệm

Stt	Giống/dòng	Chỉ số hại (%)	Cấp hại	Phản ứng rầy nâu
1	TN1	100a	9	RN
2	PTB33	57,04j	5-7	HN
3	AS996	58,15i	5-7	HN
4	IR50404	71,48e	7-9	N
5	OM6377	43,13p	5-7	KV
6	ST20	65,56fg	5-7	HN
7	OM6677	56,30k	5-7	HN
8	OC10	55,15m	5-7	HN
9	Một bụi đỏ	91,15b	7-9	RN
10	OM6976	79,93b	7-9	N
11	AS996/Một bụi đỏ	55,56ml	5-7	HN
12	ST20/Một bụi đỏ	46,67n	5-7	HN
13	IR50404/OM676	75,56d	7-9	N
14	OM6677/OM6976	59,63h	5-7	HN
15	OM6377/OM6976	43,33p	5	KV
16	OC10/OM6976	65,93fg	5-7	HN
17	AS996*2//Một bụi đỏ	45,15o	5-7	HN
18	ST20*2//Một bụi đỏ	66,27f	5-7	HN
19	IR50404*2//OM676	75,13d	7-9	N
21	OM6377*2//OM6976	43,13p	5	KV
22	OM6677*2//OM6976	59,33h	5-7	HN
23	OC10*2//OM6976	55,93kl	5-7	HN
CV%		0.48		
LSD _{0.05}		0.50		

Chú thích: KV: Kháng vừa; HN: hơi nhiễm; N: nhiễm; RN: rất nhiễm

3.2.2 Đánh giá kiểu hình tính chống chịu mặn trong môi trường dinh dưỡng Yoshida

Qua thí nghiệm thanh lọc trong nhà lưới, kết quả cho thấy các dòng phát triển rất tốt ở nghiệm

thức đối chứng, biểu hiện hơi nhiễm ở nghiệm thức mặn 4‰ và nhiễm ở nghiệm thức mặn 6‰. Qua các giai đoạn 7, 14, 21, 28, 30 ngày các giống lúa càng biểu hiện rõ sự thiệt hại của mặn.

Bảng 3: Cấp độ chịu mặn qua các ngày thí nghiệm ở nồng độ mặn 4‰

Tên giống/dòng	Mặn 4‰				
	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	30 ngày
Pokkali	1	1	5	7	7
AS996	3	5	7	7	9
IR50404	5	5	7	9	9
OM6377	5	5	7	9	9
ST20	3	5	7	9	9
OM6677	5	5	7	9	9
OC10	3	5	7	7	9
Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
OM6976	1	3	5	7	7
AS996/Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
ST20/Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
IR50404/OM676	1	3	5	7	9
OM6677/OM6976	1	3	5	7	9
OM6377/OM6976	1	3	5	7	7
OC10/OM6976	1	3	5	7	7
AS996*2//Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
ST20*2//Một bụi đỏ	1	5	5	7	7
IR50404*2//OM676	1	3	5	7	9
OM6677*2//OM6976	1	5	5	7	9
OM6377*2//OM6976	1	3	5	7	7
OC10*2//OM6976	1	3	5	7	7
CV%	3.41	3.33	2.17	2.98	3.14
LSD _{0.05}	0.12	0.20	0.20	0.37	0.43

Bảng 4: Cấp độ chịu mặn qua các ngày thí nghiệm ở nồng độ mặn 6‰

Tên giống/dòng	Mặn 6‰				
	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	30 ngày
Pokkali	1	1	5	7	7
AS996	3	5	5	7	9
IR50404	5	5	7	9	9
OM6377	5	5	7	9	9
ST20	3	5	7	9	9
OM6677	5	5	7	9	9
OC10	3	5	5	7	9
Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
OM6976	1	3	5	7	7
AS996/Một bụi đỏ	1	3	5	7	9
ST20/Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
IR50404/OM676	3	3	5	7	9
OM6677/OM6976	3	3	5	7	9
OM6377/OM6976	1	3	5	7	9
OC10/OM6976	1	3	5	7	9
AS996*2//Một bụi đỏ	1	3	5	7	7
ST20*2//Một bụi đỏ	1	3	5	7	9
IR50404*2//OM676	3	5	5	7	9
OM6677*2//OM6976	3	3	5	7	9
OM6377*2//OM6976	1	3	5	7	7
OC10*2//OM6976	1	3	5	7	9
CV%	2.85	7.90	0.78	1.78	1.40
LSD _{0.05}	0.17	0.49	0.07	0.22	0.20

Sau ngày thứ 21 các giống Pokkali, Một bụi đỏ, các dòng F₁ và BC₁F₁ thể hiện tính chống chịu tốt (cấp 5); trong khi các giống bố AS996, ST2, IR50404, OM6677, OM6377 biểu hiện nhiễm mặn nghiêm trọng. Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Thảo (2012) khi khảo nghiệm các giống AS996, ST20, IR50404, OM6677, OM6377 đều cho kết quả tương tự, trong đó giống lúa OM6976 chống chịu tốt nhất trong các giống lúa được khảo sát.

3.2.3 Ảnh hưởng của mặn đến chiều cao thân các giống/dòng lúa thanh lọc

Các giống lúa trong cùng một nghiệm thức cũng có sự khác biệt rất đáng kể và thể hiện rõ khi nồng độ muối tăng. Ở nồng độ mặn 4‰, các giống/dòng lúa lai có chiều cao tăng liên tục ở giai

đoạn 7, 14 ngày và ngưng phát triển ở giai đoạn sau 21 ngày, trong đó dòng ưu thế ở NT này là OM6377/OM6976, OC10/OM6976 và OC10*2//OM6976. Ở nồng độ mặn 6‰, chiều cao thân lá của giống Pokkali, Một bụi đỏ, OM6976 giảm không đáng kể, các giống/dòng còn lại so với nghiệm thức đối chứng; các dòng lai IR50404/MBĐ, IR50404*2//MBĐ lại có sự giảm mạnh; Các dòng lai ST20/MBĐ, OM6377/OM6976, AS996*2//MBĐ, OC10*2//OM6976 và OM6377*2//OM6976 thể hiện tính chống chịu tốt. Như vậy, kết quả cho thấy ở các dòng lai đều có khả năng đáp ứng sinh lý tốt hơn các giống mẹ. Kết quả này tương đối phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Thảo (2012), Phan Hồng Quang (2013).

Bảng 5: Chiều cao thân của các giống lúa sau 21 ngày thanh lọc mặn

Tên giống/dòng	Các nghiệm thức (NT) ở 21 ngày thanh lọc mặn		
	NT 0‰ (cm)	Giảm ở NT 4‰ (%)	Giảm ở NT 6‰ (%)
Pokkali	85.53a	11.54m	16.17p
Một bụi đỏ	71.33e	19.07l	29.48o
OM6976	78.77b	58.36a	50.91c
AS996	52.46k	38.28e	38.37m
IR50404	51.86l	38.16f	64.71a
OC10	69.56ef	52.85b	55.29b
OM6677	54.86i	41.07d	44.09h
OM6377	61.10g	31.16k	47.46d
ST20	58.23h	38.18f	41.10j

Tên giống/dòng	Các nghiệm thức (NT) ở 21 ngày thanh lọc mặn		
	NT 0‰ (cm)	Giảm ở NT 4‰(%)	Giảm ở NT 6‰(%)
AS996/Một bụi đỏ	68.89f	34.43h	41.65i
ST20/Một bụi đỏ	68.80f	38.42f	34.19n
IR50404/OM676	52.46j	34.30h	46.57f
OM6677/OM6976	68.80f	34.33h	44.62g
OM6377/OM6976	61.10g	31.16k	39.28k
OC10/OM6976	77.66d	32.01j	47.64d
AS996*2//Một bụi đỏ	68.20f	33.61hi	29.74
ST20*2//Một bụi đỏ	58.90h	30.76lk	40.41jk
IR50404*2//OM676	52.67j	48.66c	41.05j
OM6677*2//OM6976	58.20h	37.75g	41.58i
OM6377*2//OM6976	68.80f	34.33h	34.19n
OC10*2//OM6976	77.76d	32.33i	38.56l
CV%	0.04	0.07	0.11
LSD _{0.05}	0.05	0.04	0.07

3.2.4 Ảnh hưởng của mặn đến chiều dài rễ các giống lúa thanh lọc

Chiều dài rễ của các giống lúa giảm dần sau các ngày thanh lọc, ở từng nồng độ mặn khác nhau thì mức độ giảm của rễ ở các giống cũng khác nhau. Chiều dài rễ lúa ở các nghiệm thức đối chứng 0‰, mặn 4‰, mặn 6‰ sau 21 ngày chùng mặn thể hiện

trong bảng cho thấy, ở cùng một nghiệm thức chiều dài rễ của các giống lúa không có sự khác biệt rõ rệt trong điều kiện mặn. Trong đó dòng ưu thế ở NT này là ST20/MBĐ, OM6377/OM6976, OC10/OM6976, AS996*2//MBĐ, OC10*2//OM6976 và OM6377*2//OM6976 thể hiện sự tăng trưởng tốt.

Bảng 6: Chiều dài rễ của các giống lúa thanh lọc ở 21 ngày thanh lọc mặn

Tên giống	Các nghiệm thức (NT) ở 21 ngày thanh lọc mặn		
	NT 0‰ (cm)	Giảm ở NT 4‰(%)	Giảm ở NT 6‰(%)
Pokkali	24.86a	9.37o	9.76p
Một bụi đỏ	24.60b	13.58ij	13.41lm
OM6976	24.10c	18.26d	17.72g
OC10	22.96f	20.60c	19.86cd
IR50404	15.33m	16.96f	17.37h
AS996	21.13i	14.67h	15.62i
OM6677	23.80d	18.07e	19.33d
OM6377	23.20e	10.22m	13.92k
ST20	22.90g	11.97k	13.10m
AS996/Một bụi đỏ	24.23bc	15.06gh	26.54a
ST20/Một bụi đỏ	23.80d	11.13kl	11.76n
IR50404/OM676	20.43l	22.03b	19.24e
OM6677/OM6976	21.00j	12.10j	22.24b
OM6377/OM6976	22.77h	10.28l	11.90n
OC10/OM6976	23.00f	14.22i	14.91j
AS996*2//Một bụi đỏ	24.23bc	10.85kl	11.14o
ST20*2//Một bụi đỏ	22.80gf	20.35bc	21.62bc
IR50404*2//OM676	20.85k	23.26a	20.38c
OM6677*2//OM6976	21.11i	15.87g	17.10h
OM6377*2//OM6976	24.90a	10.32l	13.13m
OC10*2//OM6976	24.60b	10.16n	13.82l
CV%	0.11	0.18	0.16
LSD _{0.05}	0.04	0.05	0.04

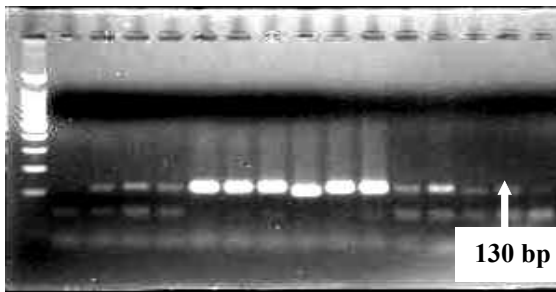
Tóm lại, qua thí nghiệm thanh lọc mặn trong nhà lưới, kết quả cho thấy các dòng lúa lai F₁ và BC₁F₁ phát triển khá tốt ở nghiệm thức đối chứng, nghiệm thức 4‰ và 6‰ trong giai đoạn trước 21 ngày. Sau ngày thứ 21 các dòng lai chống chịu với

điều kiện mặn có khác nhau được thể hiện qua sự suy giảm tăng trưởng chiều cao thân, chiều dài rễ. Tuy có sự suy giảm nhưng không đáng kể so với giống đối chứng và giống bố/mẹ.

3.3 Kiểm tra gene kháng rầy nâu và gene chống chịu mặn bằng kỹ thuật SSR

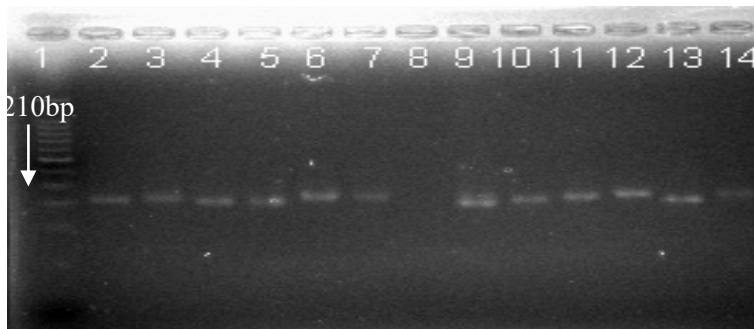
3.3.1 Kiểm tra và chọn lọc cá thể các tổ hợp lai nhờ sự liên kết marker RM190 và RM19291 với gene kháng rầy nâu *Bph3*

Marker RM190: RM190 liên kết chặt với gen lặn *bph4* trên NST số 6 (Kawaguchi *et al.*, 2001), và đã được ứng dụng để phân tích tình trạng kháng rầy trên các giống lúa ở ĐBSCL tỏ ra rất hiệu quả (Trần Nhân Dũng và *ctv.*, 2010). Mặt khác, Jairin *et al.* (2007a) cho rằng RM190 liên kết chặt chẽ với gen trội kháng rầy nâu *Bph3* trên các quần thể hồi giao. Cả 2 gen kháng này đều nằm trên vai ngắn của NST số 6 và liên kết chặt với nhau (Jairin *et al.*, 2010). Kết quả PCR cho thấy, các dòng lai đều có mang gen kháng rầy nâu kích thước bằng hình khoảng 130 bp. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Tăng Thị Tú Loan (2011) và Nguyễn Thị Diễm Thủy và *ctv.* (2012), Phạm Văn Một (2014) khi cho rằng gen kháng *bph4* và *Bph3* liên kết RM190 mang đặc tính kháng rầy nằm trên NST số 6.



Hình 1: Kết quả PCR với marker RM190 của các dòng lai

Giếng M: thang chuẩn 100 bp; Giếng 1: đối chứng âm BiH_2O ; Giếng 2 PTB33, Giếng 3 – 14 các dòng F_1 và BC_1F_1



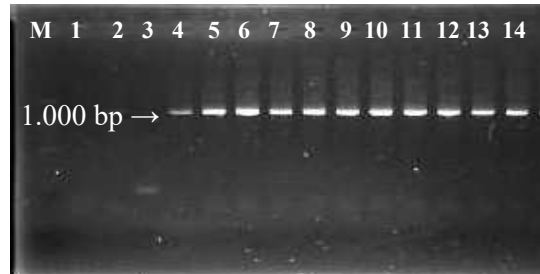
Hình 3: Sản phẩm PCR của marker RM3412

1: Ladder; 2: Pokkali; 3 – 14: dòng lai

– Marker RM206

Qua kết quả phân tích gel cho thấy, các dòng lai cho biểu hiện các band tương ứng với giống chuẩn

Marker RM19291: Kết quả phân tích cho thấy gene kháng rầy nâu *Bph3* có liên kết marker RM19291 gen kháng rầy nâu *Bph3* trên NST 12 và nằm ở band 1000 pb.



Hình 2: Kết quả PCR với marker RM19291 của các dòng lai

Giếng M: thang chuẩn 100 bp; Giếng 1: đối chứng âm BiH_2O ; Giếng 2 PTB33, Giếng 3 – 14 các dòng lúa lai

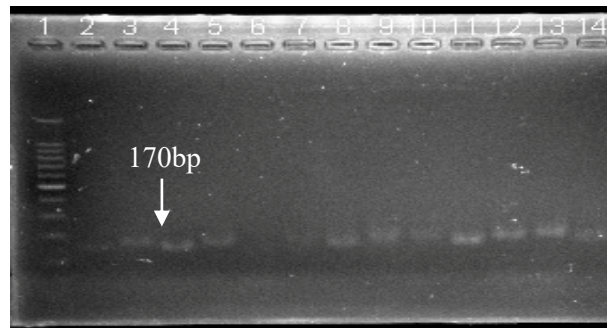
Như vậy, cả 12 tổ hợp lai F_1 và BC_1F_1 khi kiểm tra bằng hai cặp mồi RM190 và RM19291 bằng kỹ thuật SSR đều cho kết quả có mang gen kháng rầy nâu *Bph3*.

3.3.2 Kiểm tra sự liên kết gene chống chịu mặn với các marker

– Marker RM3412

Kết quả phân tích sản phẩm PCR của marker RM3412 cho thấy, giống chuẩn kháng mặn Pokkali biểu hiện band 210bp và các dòng lai cũng cho biểu hiện band tương đồng với giống Pokkali. Kết quả này phù hợp thực tế thí nghiệm thanh lọc trong nhà lưới và phù hợp với thí nghiệm của Phan Hồng Quang (2012) khi sử dụng RM3412 để phân tích gene chống chịu mặn. Kết quả của Rakesh K. Singh, Glenn B. Gregorio, Sharik Ali *et al.*, cũng chứng minh marker RM3412 thể hiện tốt nhất trong việc phân tích đa dạng di truyền trên cây lúa.

kháng mặn Pokkali biểu hiện ở 170 bp. Kết quả của thí nghiệm này tương ứng với kết quả thí nghiệm của Phan Hồng Quang (2012); Nguyễn Thị Lang *et al.*, 2008 ; Priyanka Siwach *et al.* (2004).



Hình 4: Sản phẩm PCR của marker RM206

1: Ladder; 2: Pokkali; 3 – 14: dòng lai

Bảng 7: Tổng hợp khả năng nhận diện gene chống chịu mặn của RM206 và RM3412

Giống	Kiểu hình	Kiểu gen (RM206&RM3412)
Pokkali	Chống chịu tốt	Có mang gen
F ₁ AS996/Một bụi đỏ	Chống chịu tốt	Có mang gen
F ₁ ST20/Một bụi đỏ	Chống chịu	Có mang gen
F ₁ IR50404/OM6976	Nhiễm mặn	Có mang gen
F ₁ OM6677/OM6976	Chống chịu	Có mang gen
F ₁ OM6377/OM6976	Chống chịu tốt	Có mang gen
F ₁ OC10/OM6976	Chống chịu tốt	Có mang gen
BC ₁ F ₁ AS996//Một bụi đỏ	Chống chịu tốt	Có mang gen
BC ₁ F ₁ ST20//Một bụi đỏ	Chống chịu tốt	Có mang gen
BC ₁ F ₁ IR50404//OM6976	Nhiễm mặn	Có mang gen
BC ₁ F ₁ OM6677//OM6976	Chống chịu tốt	Có mang gen
BC ₁ F ₁ OM6377//OM6976	Chống chịu	Có mang gen
BC ₁ F ₁ OC10//OM6976	Chống chịu	Có mang gen

3.4 Một số chỉ tiêu nông học và thành phần năng suất con lai F₁ và BC₁F₁

ở thế hệ F₁ dao động từ 90-100 ngày, số chồi/bụi cũng khá tốt dao động từ 8 – 12 chồi, chiều cao cây từ 98-110 cm.

Kết quả Bảng 8 cho thấy TGST của các con lai

Bảng 8: Đặc tính nông học của 6 tổ hợp lai F₁

STT	Tên giống/dòng	TGST (ngày)	Số chồi/bụi	Chiều cao cây (cm)
1	AS996/Một bụi đỏ	90-95	10	98,96d
2	ST20/Một bụi đỏ	95-100	9	106,8b
3	IR50404/OM6976	90 - 95	12	98,57d
4	OM6377/OM6976	95 - 100	9	116,8a
5	OM6677/OM6976	95 - 100	10	106,9b
6	OC10/OM6976	95 - 100	8	100,6c
CV%		1.33	0.02	0.36
LSD _{0,05}		2.43	0.002	0.6, 9

Bảng 9: Thành phần năng suất của 6 tổ hợp lai F₁

STT	Giống/dòng	Dài bông (cm)	Hạt chắc/bông	% hạt chắc	TL 1.000 hạt (g)	Năng suất (g/bụi)
1	AS996/MBĐ	24,58ab	142.8cb	90b	26,00b	26,07e
2	ST20/MBĐ	24,90a	148.3ab	90b	26,8a	37,80b
3	IR50404/OM6976	22,81c	151.5a	97a	24,30d	39,75a
4	OM6377/OM6976	24,99a	140.0c	82e	25,45c	29,60c
5	OM6677/OM6976	22,81c	130.0d	89c	24,50d	37,86b
6	OC10/OM6976	24,05b	126.5d	85d	25,45c	27,60d
CV%		1.35	2.9	0.27	0.84	0.86
LSD _{0,05}		0.59	6.1	0.43	0.39	0.52

Về thành phần năng suất: Chiều dài bông của tổ hợp ST20/MBĐ và OM6377/OM6976 thể hiện ưu thế vượt trội so với các dòng còn lại (dài 24,99 cm), số hạt chắc/bông của các tổ hợp dao động từ 126 - 152 hạt. Hai tổ hợp lai ST20/MBĐ và IR50404/OM6976 thể hiện ưu thế hơn các dòng lai khác.

Phần trăm hạt chắc của các tổ hợp dao động từ 82 - 97%, các tổ hợp F₁ đã cải thiện được tỷ lệ hạt chắc. Bên cạnh đó, trọng lượng 1000 hạt là một trong những yếu tố liên quan đến sự ổn định di truyền kiểu gen và đặc tính cố hữu của giống lúa, lại cho thấy sự gia tăng ở dòng lai F₁ cũng khá cao

từ 24,4 – 28.6 g. Theo Tăng Thị Tú Loan (2011), trọng lượng 1000 hạt ở thế hệ F₁ của các tổ hợp lai này dao động từ 26 – 30 g, như vậy đến thế hệ F₁ đã xuất hiện tổ hợp lai vượt trội.

Năng suất thực tế: Năng suất/bụi của các tổ hợp lai dao động từ 27,6 – 39,75 g/bụi, trong đó cao nhất là tổ hợp F₁ IR50404/OM697 (39,75) và thấp nhất là F₁ AS6976/MBĐ (26,07) cho thấy có sự khác biệt giữa các tổ hợp lai. Tuy nhiên nhìn chung các dòng lai F₁ cũng đã thể hiện ưu thế vượt trội về năng suất và thành phần năng suất so với bố mẹ trong điều kiện chăm sóc trong chậu.

Bảng 10: Đặc tính nông học của 6 tổ hợp lai BC₁F₁

STT	Giống/dòng	TGST (ngày)	Số chồi (chồi)	Chiều ca (cm)
1	AS996*2/Một bụi đỏ	90- 95	8b	97,16e
2	ST20*2//MBĐ	95 -100	8b	119,30a
3	IR50404*2//OM6976	90-95	10a	98,96f
4	OM6377*2//OM6976	95 - 100	6c	109,30b
5	OM6677*2//OM6976	95 - 100	6c	106,30c
6	OC10*2//OM6976	95 - 100	6c	100,30d
CV%		1.33	0.01	0.27
LSD _{0,05}		2.43	0.002	0.55

Trong bảng trên cho thấy TGST của các tổ hợp lai F₁ chia hai nhóm sinh trưởng 90 – 95 ngày (AS996*2/MBĐ và IR50404*2/OM6976), nhóm còn lại 95 –100 ngày (ST20*2/MBĐ, OM6677*2/OM6976, OM6377*2/OM6076 và OC10*2/OM6976). So với kết quả nghiên cứu của Tăng Thị Tú Loan (2011), thì qua 2 thế hệ lai hồi

giao TGST của các thế hệ hồi giao đều thấp hơn thế hệ F₁ và các giống bố mẹ ban đầu. Như vậy, lai hồi giao cho thấy hiệu quả trong công tác chọn tạo các giống lúa.

Về mặt sinh trưởng: dòng IR50404/OM6976 thể hiện ưu thế vượt trội (10 chồi), các dòng còn lại có số chồi cũng khá tốt dao động từ 6 – 8 chồi.

Bảng 11: Thành phần năng suất của các tổ hợp lai BC₁F₁

STT	Tên giống/dòng	Chiều dài bông (cm)	Số hạt chắc/bông	hạt chắc (%)	TL 1.000 hạt (g)	Năng suất (g/bụi)
1	AS996*2/MBĐ	22,29b	106d	82b	24,45b	23,60b
2	ST20*2//MBĐ	24,40a	137a	70d	31,05a	25,10a
3	IR50404*2//OM6976	22,83b	118c	83a	24,50b	24,86a
4	OM6377*2//OM6976	24,00a	137a	70d	31,05a	25,10a
5	OM6677*2//OM6976	24,00a	117c	70d	31,05a	24,10b
6	OC10*2//OM6976	24,00a	127b	72c	31,05a	24,10b
CV%		1.40	1.10	0.16	0.76	1.37
LSD _{0,05}		0.60	4.28	0.21	0.4	0.61

Về thành phần năng suất: Chiều dài bông ST20*2/MBĐ (24,4 cm) thể hiện ưu thế vượt trội so với các dòng còn lại (dài 22,3 – 24,0 cm), số hạt chắc/bông của các tổ hợp dao động từ 106 - 137 hạt. Hai tổ hợp lai ST20*2/MBĐ và OM6377*2/OM6976 thể hiện ưu thế hơn các dòng khác (137 hạt) đã cải thiện được số hạt chắc/bông. Tuy nhiên cũng còn thấp so với các dòng lúa lai F₁. Phần trăm hạt chắc của các tổ hợp dao động từ 70 - 83%, các tổ hợp lai đã cải thiện được tỷ lệ hạt chắc.

Trọng lượng 1000 hạt của các con lai tương đối cao dao động từ 24,5-31,05 g.

Năng suất thực tế: năng suất/bụi của các tổ hợp lai dao động từ 24,1 – 34,8 g/bụi, trong đó cao nhất là tổ hợp ST20*2/OM697 và OM6377*2//OM6976 cho thấy có sự khác biệt giữa các tổ hợp lai. Nhìn chung, các dòng lai cũng đã thể hiện ưu thế vượt trội về năng suất và thành phần năng suất so với bố mẹ trong điều kiện chăm sóc trong chậu. Tuy nhiên, các dòng lai BC₁F₁ chưa thể hiện ưu thế hơn so với các dòng lai F₁.

4 KẾT LUẬN

Đề tài đã lai tạo thành công 12 tổ hợp lai kháng rầy nâu, chống chịu mặn, trong đó có 6 tổ hợp lai F_1 và 6 tổ hợp BC_1F_1 . Bằng việc ứng dụng kỹ thuật SSR và kết hợp thanh lọc trong nhà lưới đề tài đã chọn lọc được 10/12 dòng lai vừa có tính kháng rầy nâu vừa có khả năng đáp ứng sinh lý trong điều kiện mặn: AS996/Một bụi đỏ, ST20/Một bụi đỏ, OC10/OM6976, OM6377/OM6976, OM6677/OM6976, AS996*2/Một bụi đỏ, ST20*2/Một bụi đỏ, OC10*2/OM6976, OM6377*2/OM6976, OM6677*2/OM6976. Qua kiểm tra gene bằng kỹ thuật SSR cho thấy có sự liên liên kết các gene mục tiêu trong các dòng lai. Trong 10 dòng ưu thế thì đề tài cũng chọn ra được 6 dòng lúa lai ưu thế nhất (ST20/Một bụi đỏ, OM6377/ OM6976, OC10/OM6976) và (AS996*2/Một bụi đỏ, OM6377*2/ OM6976, OC10*2/OM6976).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Chí Bửu, 2004. Hội nghị quốc gia về chọn tạo giống lúa. Nxb. Nông nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh, tr.18-20 và tr. 200.
- Bùi Chí Bửu, 2012. Công nghệ sinh học và bảo vệ thực vật - nghiên cứu tình huống trên cây lúa. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. <http://iasvn.org/chuyen-muc/Cong-nghe-sinh-hoc-va-Bao-ve-thuc-vat-nghien-cuu-tinh-huong-tren-cay-lua-532.html>, truy cập ngày 20/10/2013.
- Bùi Chí Bửu, D.S. Brar và Nguyễn Thị Lang, 2013. Du nhập nguồn gen kháng rầy nâu từ loài lúa hoang sang lúa trồng (*Oryza sativa* L.). Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. [http://iasvn.org/tin-tuc/Du-nhap-Gen-khang-Ray-Nau-tu-loai-Lua-hoang-sang-Lua-trong-\(Oryza-sativa-L.\)-3907.html](http://iasvn.org/tin-tuc/Du-nhap-Gen-khang-Ray-Nau-tu-loai-Lua-hoang-sang-Lua-trong-(Oryza-sativa-L.)-3907.html), truy cập ngày 20/06/2014.
- Ngô Vĩnh Viễn, Nguyễn Như Cường, Nguyễn Trường Thành, Đinh Văn Thành, Lê Văn Trịnh và Tạ Hoàng Anh, 2014. Kết quả nghiên cứu các giải pháp phòng trừ rầy nâu, bệnh vàng lùn và

lùn xoắn lá hại lúa tại ĐBSCL 2007-2009. Kết quả Nghiên cứu khoa học công nghệ 2006-2010. Viện Khoa học nông nghiệp Việt Nam.

- Nguyễn Ngọc Đệ, 2009. Giáo trình cây lúa. Nxb. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Thành phố Hồ Chí Minh, 338 trang.
- Nguyễn Thị Diễm Thuý, Lê Vĩnh Thúc và Trần Nhân Dũng, 2012. Khảo sát tính kháng rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal) trên các giống lúa (*Oryza sativa* L.) bằng hai dấu phân tử RG457 và RM190. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 23(a): 145-154.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2008. Giống lúa và sản xuất hạt giống lúa tốt, Nxb. Nông Nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh, tr.29-83.
- Phạm Nguyễn Khả Ái, 2012. Khảo sát quần thể lai trong công tác chọn tạo các giống lúa nếp (*Oryza sativa* L.) kháng rầy (*Nilaparvata lugens* Stal) tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Phạm Thanh Minh, 2011. Khảo sát các tổ hợp lai trong công tác chọn tạo giống lúa (*Oryza sativa* L.) kháng rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal). Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Tăng Thị Tú Loan, 2011. Khảo sát quần thể lai trong công tác chọn tạo các giống lúa (*Oryza sativa* L.) kháng rầy (*Nilaparvata lugens* Stal) cho vùng phèn, mặn. Luận văn tốt nghiệp Cao học ngành Công nghệ Sinh học. Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
- Trần Nhân Dũng, Nguyễn Thị Pha và Đỗ Tấn Khang, 2012. Giáo trình công nghệ di truyền. Nxb. Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ, 207 trang.
- Trần Nhân Dũng, Trần Thị Xuân Mai, Lý Tiến và Nguyễn Vũ Linh, 2010. Khảo sát một số marker phân tử dùng trong chọn giống lúa kháng rầy nâu. Tạp chí Công nghệ Sinh học, 8(3A): 573-579.