

CẢI TIẾN GIỐNG LÚA BẮC THƠM 7 BẰNG QUY TRÌNH TÍCH HỢP ĐA GEN CHỊU MẶN VÀ CHỊU NGẬP

Chu Đức Hà¹, Nguyễn Thị Minh Nguyệt¹, Phạm Thị Lý Thu¹,
Khuyết Thị Mai Lương¹, Lê Huy Hàm^{1,2}, Lê Hùng Linh¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, giống lúa thuần Bắc Thơm 7 (BT7) đã được tích hợp thành công 2 locus gen *Sub1* và *Saltol* nhằm cải thiện khả năng chịu ngập và mặn. Trước hết, giống BT7 được quy tụ locus gen *Sub1* từ giống cho gen IR64-*Sub1* thông qua chọn dòng cá thể nhờ chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC). Cụ thể, quần thể BC₂F₂ từ tổ hợp lai BT7 × IR64-*Sub1* đã được sàng lọc kiểu gen và đánh giá kiểu hình. Kết quả đã xác định được 10 cá thể BC₂F₂ mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, nên di truyền giống với BT7 nhất và có khả năng chịu ngập giai đoạn mạ trong điều kiện nhân tạo. Song song với đó, nghiên cứu đã tiến hành lai tạo quần thể BC₂F₂ từ tổ hợp lai BT7 × FL478 thông qua MABC để xác định các cá thể mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử, nên di truyền giống BT7 nhất và có khả năng chịu mặn. Lai tạo các cá thể mang gen *Sub1* và *Saltol* và tiến hành thu tự đã thu được 6 dòng cá thể F₃. Trong đó, F₃₋₃ và F₃₋₆ được xác định mang cả locus gen *Sub1* và *Saltol* đồng hợp tử, nên di truyền giống với BT7 và có khả năng chịu ngập và mặn.

Từ khóa: Lúa gạo, BT7, *Sub1*, *Saltol*, chịu mặn, chịu ngập

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phát triển lúa gạo (*Oryza sativa*) ứng phó với biến đổi khí hậu là một trong những nhiệm vụ được đặt ra hàng đầu của ngành sản xuất nông nghiệp hiện nay. Trong đó, ngập úng và mặn được đề xuất là hai trong số những kiểu thời tiết cực đoan có ảnh hưởng lớn nhất đến sinh trưởng và phát triển của lúa gạo. Vì vậy, cải thiện đồng thời tính chịu ngập và mặn của các giống lúa đại trà được đánh giá là mục tiêu ưu tiên ở những nước chịu ảnh hưởng của biến đổi khí hậu (Zhang, 2007).

Về mặt lý thuyết, các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận vai trò của locus gen *Sub1* và *Saltol* lần lượt quy định tính trạng chịu ngập và chịu mặn ở cây lúa (Thomson *et al.*, 2010, Xu and Mackill, 1996). Cải tiến đồng thời hai tính trạng được xem là khả thi và có thể được thực hiện thông qua chọn giống truyền thống hoặc các kỹ thuật công nghệ sinh học hiện đại. Trong đó, tích hợp đa gen vào một giống thông qua chọn dòng cá thể sử dụng chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (Marker-assisted backcrossing, MABC) là cách tiếp cận nổi bật, tiết kiệm chi phí và hiệu quả (Zhang, 2007).

Trong nghiên cứu này, giống lúa chất lượng chủ lực Bắc Thơm 7 (BT7) (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 1998) đã được sử dụng làm nguồn vật liệu để cải thiện đồng thời hai đặc tính chịu ngập và mặn thông qua công cụ MABC. Đây được xem là cơ sở lý thuyết để có thể xây dựng quy trình quy tụ đa gen chống chịu cho các giống lúa đại trà trong thời gian tiếp theo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống nhận gen được sử dụng là BT7 được cung

cấp từ Viện Di truyền Nông nghiệp. Giống cho gen được khai thác từ Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI) là IR64-*Sub1* (chịu ngập) và FL478 (chịu mặn). Giống đối chứng là IR42 (chuẩn mẫn cảm ngập) và Pokkali (chuẩn kháng mặn) được cung cấp bởi IRRI.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá khả năng chịu mặn trong điều kiện nhân tạo: Thanh lọc mặn nhân tạo giai đoạn mạ theo phương pháp đã được mô tả trong nghiên cứu gần đây (IRRI, 2002). Cụ thể, cây lúa giai đoạn mạ được xử lý trên dung dịch thủy canh Yoshida có bổ sung NaCl 6‰. Theo dõi và quan sát cây sau 14 ngày xử lý được tiến hành theo mô tả của IRRI (2002) (Bảng 1).

Bảng 1. Đánh giá khả năng chịu mặn của cây lúa (IRRI, 2002)

TT	Quan sát và theo dõi	Thang điểm	Mức chống chịu
1	Tăng trưởng bình thường Không có vết cháy lá	1	Chống chịu tốt
2	Gần như bình thường Đầu lá hoặc vài lá có vết trắng	3	Chống chịu
3	Tăng trưởng chậm lại Hầu hết lá bị khô, một vài lá phát triển	5	Chống chịu trung bình
4	Tăng trưởng bị ngưng lại hoàn toàn Hầu hết lá bị khô, một vài cây bị chết	7	Mẫn cảm
5	Tất cả cây bị chết hoặc khô	9	Rất mẫn cảm

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp - VAAS; ² Trường Đại học Công nghệ - Đại học Quốc gia Hà Nội

- Đánh giá khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo: Thí nghiệm bố trí ngập nhân tạo được tiến hành theo phương pháp của IRRI (2002). Trong đó, cây lúa giai đoạn mạ (14 + 21 ngày tuổi) được gây ngập hoàn toàn (1100 + 1400 mm) trong 6 + 8 ngày (IRRI, 2002). Đánh giá tỷ lệ sống sót của giống theo thang điểm của IRRI (2002).

- Xác định locus gen mục tiêu và sàng lọc nền di truyền: Các bước tiến hành thí nghiệm, bao gồm tách chiết ADN, phản ứng khuếch đại gen PCR, điện di

sản phẩm PCR trên gel agarose được thực hiện theo mô tả trong các nghiên cứu gần đây (Lê Hùng Linh và ctv., 2017; Linh *et al.*, 2013). Các chi thư phân tử liên kết chặt với locus gen *Sub1* và *Saltol* được liệt kê trong bảng 2 (Thomson *et al.*, 2010; Xu and Mackill, 1996). 49 mối SSR (đa hình giữa BT7 và IR64-*Sub1*) và 102 mối SSR (đa hình giữa BT7 và IR42S) được thu thập trước đây (Lê Hùng Linh và ctv., 2012; Linh *et al.*, 2013). Nền di truyền của con lai so với BT7 được đánh giá trên Graphical Genotypes 2.0.

Bảng 2. Thông tin về chi thư phân tử liên kết chặt với locus gen *Sub1* và *Saltol*

TT	Chi thư	Liên kết locus gen	Trình tự mỗi xuôi/mỗi ngược	Nguồn
1	ART5	<i>Sub1</i>	5'-CAGGGAAGAGATGGTGTGA-3' 5'-TTGGCCCTAGGTGTTCAG-3'	(Xu and Mackill, 1996)
2	SC3		5'-GCTAGTCAGGGTTGACACA-3' 5'-CTCTGGCCGTTTCATGGTAT-3'	
3	RM3412	<i>Saltol</i>	5'-TGATGGATCTCTGAGGTGTAAGAGC-3' 5'-TGACTAATCTTCTGCCACAGC-3'	(Thomson <i>et al.</i> , 2010)
4	RM493		5'-TAGCTCCAACAGGATCGACC-3' 5'-GTACGTAACCGGAAGGTG-3'	

- Phân tích và xử lý số liệu: Số liệu đóng ruộng được xử lý trên Microsoft Excel và xử lý ANOVA trên phần mềm thống kê sinh học NTSYS-PC 2.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tích hợp locus gen *Sub1* vào giống BT7 bằng công cụ MABC

Trong nghiên cứu này, giống nền BT7 được chuyển locus gen chịu ngập *Sub1* từ giống cho gen (IR64-*Sub1*) thông qua công cụ MABC. Kết quả lai tạo ở thế hệ BC₂F₁ đã thu được 92 cá thể, trong đó đã xác định được 26 cá thể (chiếm tỷ lệ 28,26%) mang locus gen *Sub1*. Sàng lọc nền di truyền đã chỉ ra hai cá thể số 8 và số 20 có nền di truyền giống BT7 cao nhất để tạo lập thế hệ BC₂F₁, lần lượt là 80,7% và 77,8%. Tiếp theo, trong số 46 cá thể mang locus gen

Sub1 ở thế hệ BC₂F₁, 2 cá thể số 14 và 19 đã được kiểm tra có nền di truyền cao nhất giống mẹ với tỷ lệ lần lượt là 84,6% và 88,4%. Sau đó, 2 cá thể này tiếp tục được tự thụ tạo quần thể BC₂F₂ nhằm tìm cá thể mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử tạo vật liệu cho tích hợp đa gen.

Song song với đánh giá kiểu gen, các cá thể BC₂F₂ đã được sàng lọc trong điều kiện ngập nhân tạo. Thí nghiệm đánh giá ngập ở giai đoạn mạ đã chỉ ra rằng hai giống đối chứng IR64-*Sub1* và IR42 (mẫn cảm) cho kết quả tương phản, với tỷ lệ sống sót đạt 90,0% (18 cây sống sót) và 17,0% (3,3 cây sống sót). Giống nền cảm cải tiến BT7 cũng không có khả năng chịu ngập. Trong khi đó, các cá thể của quần thể BC₂F₂ đều thể hiện tính chịu ngập khá (điểm 5), tỷ lệ sống đạt 90% (Bảng 3).

Bảng 3. Đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng/giống lúa nghiên cứu

TT	Tên dòng/giống	<i>Sub1</i>	Số cây sống (cây)	Số cây chết (cây)	Tỷ lệ sống (%)	Điểm	Đánh giá
1	BC ₂ F ₂ BT7- <i>Sub1</i>	+	18 ^a	2 ^a	90,0	5	Chịu ngập khá
2	IR42	-	3,3 ^b	16,7 ^b	17,0	9	Chịu ngập kém
3	BT7	-	0 ^c	20 ^a	0	9	Không chịu ngập
4	IR64- <i>Sub1</i>	+	18,7 ^a	1,3 ^c	93,5	5	Chịu ngập khá
	<i>F-test</i>		**	**			
	CV%		8,98	8,98			
	LSD _{0,05}		0,73	0,73			

Trước đó, nỗ lực của các nhà khoa học cũng đã được ghi nhận và đồng thuận với kết quả của nghiên cứu này về việc cải thiện tính chịu ngập của các giống lúa. Cụ thể, giống lúa BT7 cải tiến mang locus gen *Sub1* đã được chọn tạo bằng công cụ MABC (Linh *et al.*, 2013). Trong đó, cá thể số 116 từ quần thể hồi giao BC_3F_1 của tổ hợp lai BT7 × IR64-Sub1 mang nên di truyền giống BT7 cao nhất, đạt 98,6% đã được lựa chọn để tạo dòng thuần (Linh *et al.*, 2013). Gần đây, giống lúa thuần Khang Dân 18 cũng đã được cải tiến khả năng chịu ngập thông qua việc tích hợp locus gen *Sub1* từ PSB-Rc68 thông qua công cụ MABC (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2017). Nghiên cứu này đã kế thừa vật liệu từ quần thể BC_2F_1 của tổ hợp lai (BT7 × IR64-Sub1)//BT7 (Linh *et al.*, 2013), từ đó tiếp tục lai tạo quần thể BC_2F_2 nhằm đưa locus gen *Sub1* vào trạng thái đồng hợp tử. Như vậy, 10 cá thể BC_2F_2 mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, có nên di truyền giống với BT7 cao nhất và thể hiện khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo đã được lựa chọn làm vật liệu cho tích hợp đa gen.

3.2. Tích hợp locus gen *Saltol* vào giống BT7 bằng công cụ MABC

Trong nghiên cứu này, song song với quá trình tích hợp locus gen *Sub1*, giống nên BT7 tiếp tục được chuyển locus gen chịu mặn *Saltol* từ giống cho gen (FL478) thông qua công cụ MABC. Kết quả sàng lọc sự có mặt của locus gen *Saltol* ở thế hệ BC_1F_1 gồm 94 cá thể đã xác định được 14 cá thể mang locus gen mục tiêu. Tiếp tục sàng lọc đã xác định được cá thể số 8 ở quần thể BC_2F_1 mang locus gen *Saltol* và có nên di truyền giống BT7 đạt 85,7%. Hồi giao để tạo quần thể BC_3F_1 , các cá thể được sàng lọc kiểu gen, từ đó tự thụ tạo BC_3F_2 nhằm đánh giá kiểu hình.

Kết quả đánh giá thanh lọc mặn quần thể BC_3F_2 ở giai đoạn mạ cho thấy hầu hết các dòng cá thể mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử đều có khả năng chịu mặn (đạt điểm 1 + 5). Trong đó, 19 dòng cá thể BC_3F_2 (được ký hiệu từ BC_3F_2-1 + BC_3F_2-19) đã được kiểm tra kiểm gen và đánh giá có khả năng chịu mặn. Cụ thể, tỷ lệ sống của các dòng này dao động từ 71,5 (điểm 3 + 5) đến 88,5% (điểm 1 + 3) (Bảng 4). Trước đó, giống BT7 cũng đã được cải tiến tính chịu mặn bằng cách quy tụ locus gen *Saltol* nhờ MABC (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2012). Cụ thể, 30 dòng BC_3F_2 , đặt tên từ IL32-1 + IL32-30, đã được tạo lập. Trong đó, cá thể IL-30 và IL-32 trong quần thể BC_3F_2 được xác định có nên di truyền giống BT7 lần lượt là 99,2 và 100% (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2012).

Như vậy, nghiên cứu này đã tiếp tục kế thừa nguồn vật liệu là các cá thể BC_3F_2 mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử, có nên di truyền giống với BT7 cao nhất và thể hiện khả năng chịu mặn cho phép lai tích hợp đa gen.

Bảng 4. Đánh giá chịu mặn nhân tạo của các dòng/giống lúa nghiên cứu

TT	Ký hiệu	Số cây sống	Tỷ lệ sống	Thang điểm	Đánh giá
1	BC_3F_2-1	16,3	81,5	3-5	Chịu mặn
2	BC_3F_2-2	17,7	88,5	1-3	Chịu mặn cao
3	BC_3F_2-3	15,3	76,5	3-5	Chịu mặn
4	BC_3F_2-4	15,7	78,5	3-5	Chịu mặn
5	BC_3F_2-5	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
6	BC_3F_2-6	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn
7	BC_3F_2-7	16,0	80,0	3-5	Chịu mặn
8	BC_3F_2-8	16,3	81,5	3	Chịu mặn
9	BC_3F_2-9	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
10	BC_3F_2-10	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn
11	BC_3F_2-11	16,3	81,5	3	Chịu mặn
12	BC_3F_2-12	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
13	BC_3F_2-13	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
14	BC_3F_2-14	17,7	88,5	1-3	Chịu mặn cao
15	BC_3F_2-15	16,7	83,5	3	Chịu mặn
16	BC_3F_2-16	15,7	78,5	3-5	Chịu mặn
17	BC_3F_2-17	15,3	71,5	3-5	Chịu mặn
18	BC_3F_2-18	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn cao
19	BC_3F_2-19	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn cao
20	BT7	3,0	1,5	7-9	Chịu mặn
21	FL478	17,0	85,0	1-3	Chịu mặn cao
22	Pokkali	17,3	88,5	1-3	Chịu mặn cao
	CV (%)	0,37	0,45		

3.3. Quy tụ hai locus gen *Sub1* và *Saltol* vào giống lúa BT7

Trong thí nghiệm này, 10 cá thể BC_2F_2 của phép lai (BT7 × IR64-Sub1)//BT7, mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, mang nên di truyền của giống BT7 và chống chịu tốt sau 13 ngày thử ngập nhân tạo đã được lai với 10 cá thể BC_3F_2 của tổ hợp lai (BT7 × FL478)//BT7. Các cá thể lai được tiếp tục tự thụ để tạo quần thể F_2 . Như vậy, quần thể F_2 được sàng lọc kiểu gen để kiểm chứng sự có mặt của 2 locus gen mục tiêu và sàng lọc kiểu hình để đánh giá tính chống chịu ngập - mặn của giống.

- Đánh giá khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo: Thí nghiệm bố trí ngập nhân tạo được tiến hành theo phương pháp của IRR1 (2002). Trong đó, cây lúa giai đoạn mạ (14 + 21 ngày tuổi) được gây ngập hoàn toàn (1100 + 1400 mm) trong 6 + 8 ngày (IRR1, 2002). Đánh giá tỷ lệ sống sót của giống theo thang điểm của IRR1 (2002).

- Xác định locus gen mục tiêu và sàng lọc nền di truyền: Các bước tiến hành thí nghiệm, bao gồm tách chiết ADN, phản ứng khuếch đại gen PCR, điện di

sản phẩm PCR trên gel agarose được thực hiện theo mô tả trong các nghiên cứu gần đây (Lê Hùng Linh và *cs.*, 2017; Linh *et al.*, 2013). Các chi thị phân tử liên kết chặt với locus gen *Sub1* và *Saltol* được liệt kê trong bảng 2 (Thomson *et al.*, 2010; Xu and Mackill, 1996). 49 môi SSR (đa hình giữa BT7 và IR64-*Sub1*) và 102 môi SSR (đa hình giữa BT7 và FI 478) được thu thập trước đây (Lê Hùng Linh và *cs.*, 2012; Linh *et al.*, 2013). Nền di truyền của con lai so với BT7 được đánh giá trên Graphical Genotypes 2.0.

Bảng 2. Thông tin về chi thị phân tử liên kết chặt với locus gen *Sub1* và *Saltol*

TT	Chi thị	Liên kết locus gen	Trình tự mỗi xuôi/mỗi ngược	Nguồn
1	ART5	<i>Sub1</i>	5'-CAGGAAAAGAGATGGTGGGA-3' 5'-TTGGCCCFIAGGTTGTTTCAG-3'	(Xu and Mackill, 1996)
2	SC3		5'-GCTAGTGCAGGTTGACACA-3' 5'-CTCTGGCCGTTTCATGGTAT-3'	
3	RM3412	<i>Saltol</i>	5'-TGATGGATCTCTGAGGTGTAAGAGC-3' 5'-TGCCTAATCTTCTGCCACAGC-3'	(Thomson <i>et al.</i> , 2010)
4	RM493		5'-TAGCTCAAACAGGATCGACC-3' 5'-GTACGTAAACGGGAAGGTG-3'	

- Phân tích và xử lý số liệu: Số liệu đóng ruộng được xử lý trên Microsoft Excel và xử lý ANOVA trên phần mềm thống kê sinh học NTSYS-PC 2.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tích hợp locus gen *Sub1* vào giống BT7 bằng công cụ MABC

Trong nghiên cứu này, giống nền BT7 được chuyển locus gen chịu ngập *Sub1* từ giống cho gen (IR64-*Sub1*) thông qua công cụ MABC. Kết quả lai tạo ở thế hệ BC₂F₁ đã thu được 92 cá thể, trong đó đã xác định được 26 cá thể (chiếm tỷ lệ 28,26%) mang locus gen *Sub1*. Sàng lọc nền di truyền đã chỉ ra hai cá thể số 8 và số 20 có nền di truyền giống BT7 cao nhất để tạo lập thế hệ BC₂F₁, lần lượt là 80,7% và 77,8%. Tiếp theo, trong số 46 cá thể mang locus gen

Sub1 ở thế hệ BC₂F₁, 2 cá thể số 14 và 19 đã được kiểm tra có nền di truyền cao nhất giống mẹ với tỷ lệ lần lượt là 84,6% và 88,4%. Sau đó, 2 cá thể này tiếp tục được tự thụ tạo quần thể BC₂F₂ nhằm tìm cá thể mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử tạo vật liệu cho tích hợp đa gen.

Song song với đánh giá kiểu gen, các cá thể BC₂F₂ đã được sàng lọc trong điều kiện ngập nhân tạo. Thí nghiệm đánh giá ngập ở giai đoạn mạ đã chỉ ra rằng hai giống đối chứng IR64-*Sub1* và IR42 (mẫn cảm) cho kết quả tương phản, với tỷ lệ sống sót đạt 90,0% (18 cây sống sót) và 17,0% (3,3 cây sống sót). Giống nền cần cải tiến BT7 cũng không có khả năng chịu ngập. Trong khi đó, các cá thể của quần thể BC₂F₂ đều thể hiện tính chịu ngập khá (điểm 5), tỷ lệ sống đạt 90% (Bảng 3).

Bảng 3. Đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng/giống lúa nghiên cứu

TT	Tên dòng/giống	<i>Sub1</i>	Số cây sống (cây)	Số cây chết (cây)	Tỷ lệ sống (%)	Điểm	Đánh giá
1	BC ₂ F ₂ BT7- <i>Sub1</i>	+	18 ^a	2 ^a	90,0	5	Chịu ngập khá
2	IR42	-	3,3 ^b	16,7 ^b	17,0	9	Chịu ngập kém
3	BT7	-	0	20 ^a	0	9	Không chịu ngập
4	IR64- <i>Sub1</i>	+	18,7 ^a	1,3 ^a	93,5	5	Chịu ngập khá
	<i>F-test</i>		..				
	CV%		8,98	8,98			
	LSD _{0,05}		0,73	0,73			

Trước đó, nỗ lực của các nhà khoa học cũng đã được ghi nhận và đồng thuận với kết quả của nghiên cứu này về việc cải thiện tính chịu ngập của các giống lúa. Cụ thể, giống lúa BT7 cải tiến mang locus gen *Sub1* đã được chọn tạo bằng công cụ MABC (Linh *et al.*, 2013). Trong đó, cá thể số 116 từ quần thể hồi giao BC_3F_1 của tổ hợp lai $BT7 \times IR64-Sub1$ mang nên di truyền giống BT7 cao nhất, đạt 98,6% đã được lựa chọn để tạo dòng thuần (Linh *et al.*, 2013). Gần đây, giống lúa thuần Khang Dân 18 cũng đã được cải tiến khả năng chịu ngập thông qua việc tích hợp locus gen *Sub1* từ PSB-Rc68 thông qua công cụ MABC (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2017). Nghiên cứu này đã kế thừa vật liệu từ quần thể BC_3F_1 của tổ hợp lai ($BT7 \times IR64-Sub1$)/BT7 (Linh *et al.*, 2013), từ đó tiếp tục lai tạo quần thể BC_3F_2 nhằm đưa locus gen *Sub1* vào trạng thái đồng hợp tử. Như vậy, 10 cá thể BC_3F_2 mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, có nên di truyền giống với BT7 cao nhất và thể hiện khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo đã được lựa chọn làm vật liệu cho tích hợp đa gen.

3.2. Tích hợp locus gen *Saltol* vào giống BT7 bằng công cụ MABC

Trong nghiên cứu này, song song với quá trình tích hợp locus gen *Sub1*, giống nên BT7 tiếp tục được chuyển locus gen chịu mặn *Saltol* từ giống cho gen (FL478) thông qua công cụ MABC. Kết quả sàng lọc sự có mặt của locus gen *Saltol* ở thể hệ BC_3F_1 gồm 94 cá thể đã xác định được 14 cá thể mang locus gen mục tiêu. Tiếp tục sàng lọc đã xác định được cá thể số 8 ở quần thể BC_3F_1 mang locus gen *Saltol* và có nên di truyền giống BT7 đạt 85,7%. Hối giao để tạo quần thể BC_3F_1 , các cá thể được sàng lọc kiểu gen, từ đó tự thụ tạo BC_3F_2 nhằm đánh giá kiểu hình.

Kết quả đánh giá thanh lọc mặn quần thể BC_3F_2 ở giai đoạn mạ cho thấy hầu hết các dòng cá thể mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử đều có khả năng chịu mặn (đạt điểm 1 – 5). Trong đó, 19 dòng cá thể BC_3F_2 (được ký hiệu từ BC_3F_1-1 – BC_3F_2-19) đã được kiểm tra kiểm gen và đánh giá có khả năng chịu mặn. Cụ thể, tỷ lệ sống của các dòng này dao động từ 71,5 (điểm 3 + 5) đến 88,5% (điểm 1 + 3) (Bảng 4). Trước đó, giống BT7 cũng đã được cải tiến tính chịu mặn bằng cách quy tụ locus gen *Saltol* nhờ MABC (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2012). Cụ thể, 30 dòng BC_3F_2 đã tạo nên từ IL32-1 + IL32-30, đã được tạo lập. Trong đó, cá thể IL-30 và IL-32 trong quần thể BC_3F_2 được xác định có nên di truyền giống BT7 lần lượt là 99,2 và 100% (Lê Hùng Linh và *ctv.*, 2012).

Như vậy, nghiên cứu này đã tiếp tục kế thừa nguồn vật liệu là các cá thể BC_3F_2 mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử, có nên di truyền giống với BT7 cao nhất và thể hiện khả năng chịu mặn cho phép lai tích hợp đa gen.

Bảng 4. Đánh giá chịu mặn nhân tạo của các dòng/giống lúa nghiên cứu

TT	Ký hiệu	Số cây sống	Tỷ lệ sống	Thang điểm	Đánh giá
1	BC_3F_2-1	16,3	81,5	3-5	Chịu mặn
2	BC_3F_2-2	17,7	88,5	1-3	Chịu mặn cao
3	BC_3F_2-3	15,3	76,5	3-5	Chịu mặn
4	BC_3F_2-4	15,7	78,5	3-5	Chịu mặn
5	BC_3F_2-5	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
6	BC_3F_2-6	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn
7	BC_3F_2-7	16,0	80,0	3-5	Chịu mặn
8	BC_3F_2-8	16,3	81,5	3	Chịu mặn
9	BC_3F_2-9	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
10	BC_3F_2-10	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn
11	BC_3F_2-11	16,3	81,5	3	Chịu mặn
12	BC_3F_2-12	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
13	BC_3F_2-13	17,3	86,5	1-3	Chịu mặn cao
14	BC_3F_2-14	17,7	88,5	1-3	Chịu mặn cao
15	BC_3F_2-15	16,7	83,5	3	Chịu mặn
16	BC_3F_2-16	15,7	78,5	3-5	Chịu mặn
17	BC_3F_2-17	15,3	71,5	3-5	Chịu mặn
18	BC_3F_2-18	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn cao
19	BC_3F_2-19	17,7	86,5	1-3	Chịu mặn cao
20	BT7	3,0	1,5	7-9	Chịu mặn
21	FL478	17,0	85,0	1-3	Chịu mặn cao
22	Pokkali	17,3	88,5	1-3	Chịu mặn cao
	CV (%)	0,37	0,45		

3.3. Quy tụ hai locus gen *Sub1* và *Saltol* vào giống lúa BT7

Trong thí nghiệm này, 10 cá thể BC_3F_2 của phép lai ($BT7 \times IR64-Sub1$)/BT7, mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, mang nên di truyền của giống BT7 và chống chịu tốt sau 13 ngày thử ngập nhân tạo đã được lai với 10 cá thể BC_3F_2 của tổ hợp lai ($BT7 \times FL478$)/BT7. Các cá thể lai được tiếp tục tự thụ để tạo quần thể F_2 . Như vậy, quần thể F_2 được sàng lọc kiểu gen để kiểm chứng sự có mặt của 2 locus gen mục tiêu và sàng lọc kiểu hình để đánh giá tính chống chịu ngập - mặn của giống.



Hình 1. Phân tích quần thể F_2 với (A) chỉ thị SC3 và (B) chỉ thị RM3412

Trước hết, để xác định những cá thể mang locus gen đích trong quần thể F_2 , hai chỉ thị, SC3 (liên kết chặt với locus *Sub1*), và RM3412 (liên kết chặt với locus gen *Saltol*) đã được sử dụng nhằm chọn lọc cá thể mang cả hai gen đích ở trạng thái đồng hợp tử (Hình 1). Kết quả đã xác định được 6 cá thể tích

hợp cả hai locus gen *Sub1* và *Saltol* trong quần thể F_2 . Như vậy, 6 cá thể tích hợp hai gen *Sub1* và *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử tiếp tục được phát triển ở thế hệ F_3 (ký hiệu là $F_{3,1}$ - $F_{3,6}$) để đánh giá kiểu hình về đặc điểm nông sinh học, khả năng chịu ngập, chịu mặn trong điều kiện nhân tạo.

Bảng 5. Đánh giá khả năng chịu ngập và mặn của 6 dòng cá thể F_3

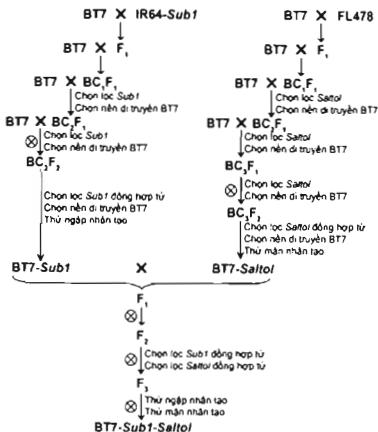
TT	Tên dòng/giống	Khả năng chịu ngập				Khả năng chịu mặn			
		<i>Sub1</i>	Tỷ lệ sống	Thang điểm	Đánh giá	<i>Saltol</i>	Tỷ lệ sống	Thang điểm	Đánh giá
1	$F_{3,1}$	+	88,0	5	Chịu ngập khá	+	76,5	3-5	Chịu mặn
2	$F_{3,2}$	+	89,0	5	Chịu ngập khá	+	70,5	3-5	Chịu mặn
3	$F_{3,3}$	+	90,5	5	Chịu ngập khá	+	85,0	1-3	Chịu mặn cao
4	$F_{3,4}$	+	88,5	5	Chịu ngập khá	+	81,5	3-5	Chịu mặn
5	$F_{3,5}$	+	89,5	5	Chịu ngập khá	+	80,0	3-5	Chịu mặn
6	$F_{3,6}$	+	90,5	5	Chịu ngập khá	+	83,5	3	Chịu mặn
7	IR42		0,0	9	Không chịu ngập				
8	BT7		15,0	7	Chịu ngập kém				
9	IR64- <i>Sub1</i>	+	93,5	5	Chịu ngập khá				
10	FL478					+	88,5	1-3	Chịu mặn cao
11	Pokkali					+	90,0	1-3	Chịu mặn cao

Kết quả đánh giá trong điều kiện nhân tạo đã chỉ ra 2 dòng $F_{3,3}$ và $F_{3,6}$ có khả năng chịu ngập khá và khả năng chịu mặn ở mức tốt nhất. Tỷ lệ sống của 2 dòng này khi xử lý ngập ở giai đoạn mạ đều đạt 90,5%, tương đương điểm 5. Bên cạnh đó, dòng $F_{3,3}$ có tỷ lệ sống khi xử lý mặn đạt 85,0%, được đánh giá là có khả năng chịu mặn cao, trong khi $F_{3,6}$ có

tỷ lệ sống đạt 83,5%, tương đương mức chịu mặn (Hình 2). Hai dòng này sơ bộ được đặt tên là BT7-*Sub1*-*Saltol*, mang 2 locus gen ở trạng thái đồng hợp tử, có nền di truyền của BT7 và có khả năng chịu ngập và chịu mặn trong điều kiện nhân tạo. Quy trình tích hợp đa gen vào giống BT7 đã được thể hiện ở hình 3.



Hình 2. Đánh giá khả năng chịu ngập (A) và chịu mặn (B) của 6 dòng cá thể F_3



Hình 3. Quy trình tích hợp locus gen *Sub1* và *Saltol* vào giống lúa BT7

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Đã tạo lập được quần thể BC_2F_2 từ tổ hợp lai $BT7 \times IR64-Sub1$. Trong đó, đã xác định được 10 cá thể BC_2F_2 mang locus gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, có nền di truyền giống với BT7 nhất và đồng thời có khả năng chịu ngập giai đoạn mạ.

Đã tạo lập được quần thể BC_2F_2 từ tổ hợp lai $BT7 \times FL478$. Trong đó, đã xác định được 10 cá thể BC_2F_2 mang locus gen *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử, có nền di truyền giống với BT7 nhất và đồng thời có khả năng chịu mặn trong điều kiện nhân tạo.

Đã xác định được 2 dòng cá thể F_3 và F_3 từ tổ hợp lai $(BT7 \times IR64-Sub1) // BT7 \times (BT7 \times FL478) // BT7$. Các dòng này đều mang locus gen *Sub1* và *Saltol* ở trạng thái đồng hợp tử, có nền di truyền giống với BT7 và có khả năng chịu ngập và mặn trong điều kiện nhân tạo. Các dòng này sơ bộ được gọi là *BT7-Sub1-Saltol*.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu này sẽ được tiếp tục nhằm phân tích nền di truyền và các đặc điểm nông sinh học chính của giống *BT7-Sub1-Saltol*, đồng thời đánh giá khả năng chống chịu ngập úng và mặn ngoài sản xuất của giống tích hợp đa gen.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ từ tiểu dự án FIRST-AGI “Nâng cao năng lực nghiên cứu, làm chủ công nghệ genôm học (Genomics-assisted breeding - GAB) và công nghệ chọn giống ứng dụng chi thị phân tử (Marker-assisted backcrossing - MABC) để chọn tạo các giống lúa kháng đa yếu tố ứng phó với biến đổi khí hậu”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 1998. Quyết định số 1224 QĐ/BNN-KHCN về việc công nhận các giống cây trồng, các biện pháp kỹ thuật mới cho phổ biến trong sản xuất ở các tỉnh phía Bắc.
- Lê Hùng Linh, Chu Đức Hà, Đào Văn Khởi, Phạm Thị Lý Thu. 2017. Tích hợp gen/RTL trong cải tiến giống lúa ứng phó biến đổi khí hậu bằng phương pháp chọn giống nhờ chi thị phân tử kết hợp lai trở lại. *Tap chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 15(4): 60-64.
- Lê Hùng Linh, Trần Đăng Khánh, Nguyễn Văn Luận, Đống Thị Kim Cúc, Lê Duy Đức, Tạ Hồng Linh, Abdelbagi M. Ismail, Lê Huy Hàm. 2012. Application of marker assisted backcrossing to pyramid salinity tolerance (*Saltol*) into rice cultivar - Bac Thom 7. *VNU Journal of Science*, 28: 87-99.
- IRRI. 2002. Standard evaluation system for rice. *International Rice Research Institute*, 260 pages.

- Linh, T. H., Cuc, D. T. K., Ham, L. H., Khanh, T. D. 2013. Improving submergence tolerance of Vietnamese rice cultivar by molecular breeding. *J Plant Breed Genet.* 1(3): 157-168.
- Thomson, M. J., Ocampo, M., Egdane, J., Rahman, M. A., Sajise, A. G., Adorada, D. L., Tumimbang-Raiz, E., Blumwald, E., Seraj, Z. I., Singh, R. K., Gregorio, G. B., Ismail, A. M.. 2010. Characterizing the *Saltol* quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice*, 3(2): 148-160.
- Xu, K., Mackill, D. J., 1996. A major QTL for submergence tolerance mapped on rice chromosome 9. *Mol Breed*, 2(3): 219-224.
- Zhang, Q., 2007. Strategies for developing Green Super Rice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(42): 16402-16409.

Improvement of submergence and salinity tolerance of Bac Thom 7 rice variety by pyramiding multilocus approach

Chu Duc Ha, Nguyen Thi Minh Nguyet, Pham Thi Ly Thu, Khuat Thi Mai Luong, Le Huy Ham, Le Hung Linh

Abstract

The inbred rice variety Bac Thom 7 (BT7) was successfully pyramided *Sub1* and *Saltol* to improve the submergence and salinity tolerance in the study. Firstly, BT7 was pyramided *Sub1* from the donor (namely IR64-*Sub1*) through the marker-assisted backcrossing (MABC). Particularly, BC₂F₂ population of BT7 × IR64-*Sub1* was genotyped and phenotyped. As the results, 10 individuals of BC₂F₂ population were found to carry locus *Sub1*, retain the highest genetic background of BT7 and express the submergence tolerance. Meanwhile, our study also constructed the BC₂F₂ population of BT7 × FL478 via MABC to screen the individuals containing locus *Saltol*, harboring the genetic background of BT7 and having the salinity tolerance in the greenhouse condition. Finally, 6 F₃ lines were established from the individuals carrying *Sub1* and *Saltol*. Among them, F₃-3 and F₃-6 lines were noted to carry both *Sub1* and *Saltol*, have the genetic background of BT7 and enhance the submergence and salinity tolerance.

Keywords: Rice, BT7, *Sub1*, *Saltol*, salinity tolerance, submergence tolerance

Ngày nhận bài: 5/6/2019
Ngày phản biện: 15/6/2019

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Trí Hoàn
Ngày duyệt đăng: 11/7/2019

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO GIỐNG NGŌ LAI VN116

Vương Huy Minh¹, Nguyễn Văn Cảnh¹, Đỗ Việt Tiếp¹

TÓM TẮT

Giống ngô lai đơn VN116 được Viện Nghiên cứu Ngô chọn tạo theo hướng chống chịu, phục vụ cho các vùng trồng ngô không chủ động tưới ở các tỉnh phía Bắc. VN116 có dòng bố (H60) được tạo ra từ giống lai NK54 (Syngenta), dòng mẹ (H665) được tạo ra từ cặp lai giữa giống ngô lai đơn CP8868 và NK4300 theo phương pháp tự phối kết hợp với thụ phấn chéo (Full-sib). VN116 là giống có thời gian sinh trưởng trung bình, sinh trưởng và phát triển khỏe, bộ lá thoáng; ít nhiễm sâu đục thân, bệnh đốm lá, thối thân, nhiễm nhẹ khô vằn; bộ lá xanh bền, chống đổ khá, chịu hạn tốt. VN116 có bắp khá to và dài, lá bị bao kín bắp; hạt dạng bán đá, to, sâu cay, màu hạt vàng đậm; chất lượng hạt tốt; năng suất ổn định trong nhiều điểm và thời vụ khảo nghiệm. Năng suất trung bình đạt 71,26 tạ/ha vượt trung bình các đối chứng 8,3%. Giống có khả năng thích ứng rộng ở nhiều vùng trồng ngô ở các tỉnh phía Bắc qua kết quả khảo nghiệm sản xuất và trình diễn.

Từ khóa: Chịu hạn, bộ lá xanh, nhiễm sâu bệnh, VN116

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, sản xuất ngô nước ta đã đạt được những kết quả quan trọng. Theo số liệu của Tổng cục Thống kê cho thấy: Năm 2017, diện tích gieo trồng ngô Việt Nam đạt gần 1,1 triệu ha, đạt sản lượng 5.131,9 nghìn tấn với năng suất 4,67 tấn/ha (Tổng cục Thống kê, 2018). Sản xuất ngô

ở nước ta hiện vẫn chưa tương xứng với tiềm năng, chưa đáp ứng được nhu cầu tiêu dùng trong nước, theo số liệu của Agromonitor, năm 2018 chúng ta đã nhập 8,436 triệu tấn ngô. Để đáp ứng được nhu cầu ngô hạt ngày càng tăng, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã có chủ trương đẩy mạnh sản xuất ngô trong nước thông qua Đề án tái cơ cấu ngành Nông nghiệp,

¹ Viện Nghiên cứu Ngô