

SỰ KÉO DÀI THÂN MẦM (DIỆP TIÊU) - ĐẶC TÍNH QUYẾT ĐỊNH KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP CỦA LÚA Ở GIAI ĐOẠN NẤY MẦM

Nghị Khắc Nhu^{1*}

TÓM TẮT

Ngập là một trong những điều kiện bất thuận của thiên nhiên ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển của cây lúa, đặc biệt là trong giai đoạn nảy mầm. Lúa là loại cây trồng duy nhất trong nhóm ngũ cốc có khả năng nảy mầm trong điều kiện ngập sâu. Đặc điểm quyết định tính chịu ngập của các giống lúa trong giai đoạn nảy mầm chính là khả năng hình thành và kéo dài thân mầm. Nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới đã được thực hiện nhằm làm sáng tỏ cơ chế điều khiển đặc tính này. Một trong số đó là việc tìm ra gene TPP7 có vai trò quan trọng trong tính chịu ngập của giống lúa Khao Hlan On. Vai trò của một số hormone như Auxin trong việc kích thích kéo dài thân mầm trong điều kiện ngập sâu cũng đã được công bố. Tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long, do tình hình thiếu hụt lao động trong ngành sản xuất lúa gạo, phương pháp canh tác đã chuyển gần như hoàn toàn từ lúa cấy sang lúa gieo sạ trực tiếp (sạ khô, sạ ngầm). Việc nghiên cứu và sử dụng các giống lúa có khả năng chịu ngập trong giai đoạn nảy mầm là vô cùng quan trọng. Trong phạm vi bài tổng quan này, tác giả tổng hợp các công trình công bố gần đây liên quan tính chịu ngập của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm và cơ chế đằng sau kiểm soát đặc tính này của cây lúa cũng như thảo luận về triển vọng nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu ngập giai đoạn nảy mầm ở nước ta.

Từ khóa: Cây lúa (*Oryza sativa*), thân mầm, tính chịu ngập giai đoạn nảy mầm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngập được xem là một trong những nhân tố tác động chính gây cản trở cho sự sinh trưởng và phát triển của lúa. Nó cản trở quá trình nảy mầm cũng như sự hình thành cây mạ của hạt lúa do hàm lượng rất thấp của O₂ và CO₂ trong môi trường nước ức chế hô hấp và quang hợp. Gần đây, do tình trạng thiếu hụt nguồn lao động và chi phí thuê lao động cao, việc canh tác lúa tại khu vực châu Á đang chuyển từ lúa cấy sang gieo sạ trực tiếp. Đây là phương pháp đặc biệt nhạy cảm với môi trường ngập.

Lúa là cây trồng duy nhất trong họ cây lương thực có khả năng nảy mầm và sinh trưởng được trong điều kiện ngập hoàn toàn (Magneschi and Perata, 2009). Trong suốt quá trình nảy mầm, thân mầm của cây lúa sẽ được kéo dài liên tục. Nó đóng vai trò như một đường ống dẫn không khí (O₂ và CO₂) từ môi trường thoáng khí bên trên xuống phần bị ngập bên dưới (Saika *et al.*, 2006). Quá trình này sẽ kết thúc khi đỉnh của thân mầm vươn khỏi mặt nước và tiếp xúc với bề mặt thoáng khí bên trên. Do đó, khả năng kéo dài thân mầm thể hiện tính chịu ngập của lúa ở giai đoạn này trong môi trường ngập hoàn toàn.

Nhiều nghiên cứu nhằm làm sáng tỏ những cơ chế điều hòa khả năng kéo dài thân mầm của lúa trong điều kiện ngập hoàn toàn đã được thực hiện. Trong bài báo này, mục tiêu chung của tác giả là nhằm tổng kết lại những kết quả nổi bật từ những nghiên cứu đã được công bố về khả năng chịu ngập của lúa ở giai đoạn nảy mầm. Tác giả muốn làm rõ những đặc điểm sinh lý trong giai đoạn nảy mầm của hạt lúa trong điều kiện ngập sâu cũng như cơ chế di truyền nào đứng sau điều khiển đặc tính này. Việc tổng hợp lại sẽ là nền tảng tham khảo rất tốt cho những nghiên cứu về chọn tạo giống lúa chịu ngập của Việt Nam.

II. SỰ KÉO DÀI THÂN MẦM CỦA CÂY LÚA TRONG MÔI TRƯỜNG NGẬP

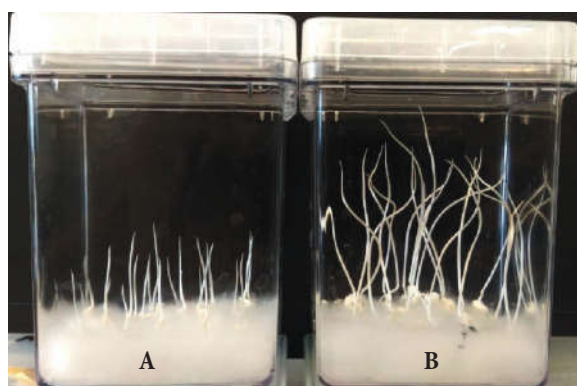
Cây lúa nước là một trong số ít những cây trồng sinh trưởng và phát triển được trong nhiều môi trường ngập nước khác nhau. Nền tảng của đặc tính này là nhờ hạt lúa sở hữu một hệ enzyme hoàn chỉnh có khả năng phân hủy tinh bột dự trữ trong hạt giải phóng năng lượng ngay cả trong điều kiện thiếu O₂ (Guglielminetti *et al.*, 1995). Tuy nhiên, tính nhạy cảm với điều kiện ngập của các giống lúa khác nhau ở giai đoạn nảy mầm là khác nhau tùy thuộc vào mức độ và thời gian ngập.

¹ Trung tâm Công nghệ Sinh học, Khoa Nông nghiệp và Thủy Sản, Trường Đại học Trà Vinh

* Tác giả liên hệ: E-mail: nknhu@tvu.edu.vn

Sự nảy mầm của hạt là giai đoạn rất quan trọng, có ảnh hưởng rất lớn lên sự phát triển và năng suất của cây lúa. Trong giai đoạn này, trạng thái ngủ của hạt bị phá vỡ, tinh bột dự trữ trong nội nhũ sẽ được sử dụng cho sự hình thành thân mầm và cây mạ con (Narsai *et al.*, 2017). Trong môi trường thoáng khí, hạt lúa có thể hoàn tất quá trình nảy mầm trong vòng vài ngày.

Nhìn chung, thân mầm có cấu trúc hình nón với 2 bó mạch nằm đối diện nhau, chạy song song theo chiều dọc từ gốc tới đỉnh. Đây là cơ quan đầu tiên của cây lúa bị lão hóa khi quá trình nảy mầm kết thúc (Kawai and Uchimiya, 2000). Trong điều kiện đầy đủ O_2 , khi những lá non đầu tiên xuất hiện, thân mầm nhanh chóng chuyển sang màu nâu và chết chỉ sau vài ngày. Trong điều kiện ngập (thiếu hoặc hoàn toàn không có O_2), thân mầm là cơ quan đầu tiên xuất hiện, theo sau đó là sự hình thành rễ mầm. Tuy nhiên, rễ mầm chỉ xuất hiện khi thân mầm phát triển đủ dài để vươn ra khỏi mặt nước và tiếp xúc với O_2 tự do phía trên (Perata *et al.*, 1992). Không có dấu hiệu nào cho thấy quá trình chết của tế bào, sự mở ra và lão hóa của thân mầm diễn ra suốt quá trình nảy mầm trong điều kiện ngập hoàn toàn. Cùng với sự ức chế hình thành rễ mầm, năng lượng được tập trung tối đa cho sự kéo dài nhanh chóng của thân mầm nhằm thoát ra khỏi môi trường ngập nước trong thời gian ngắn nhất (Kawai and Uchimiya, 2000).



Hình 1. Khả năng kéo dài thân mầm dưới nước của các giống lúa khác nhau

Ghi chú: A: Lamone; B: Arborio.

Thân mầm kéo dài tạo thành cấu trúc giống như một ống thông khí. Khi thân mầm vươn ra khỏi mặt nước, cấu trúc hình ống này sẽ giúp cho sự lưu thông O_2 từ phần trên đến phần bị ngập bên dưới (Saika *et al.*, 2006). Trong điều kiện ngập hoàn

toàn, thân mầm có thể tăng trưởng kéo dài trong nhiều ngày mà không bị lão hóa, chiều dài của nó có thể đạt trạng thái ổn định (sau 8 đến 10 ngày) khi quá trình kéo dài tế bào đạt tối đa (Nghị *et al.*, 2019). Khi thân mầm kéo dài và tiếp xúc với không khí bên trên mặt nước, nó sẽ bị tiêu biến cùng với sự xuất hiện của rễ và lá non để tạo thành cây mạ hoàn chỉnh (Narsai *et al.*, 2017). Thời gian kéo dài cũng như chiều dài cuối cùng của thân mầm thay đổi tùy theo mực nước ngập và các giống lúa khác nhau (Hình 1) (Nghị *et al.*, 2019).

Nhìn chung, chiều dài cuối cùng của thân mầm được quyết định bởi cả số lượng (sự phân bào) lẫn chiều dài tế bào (sự kéo dài tế bào). Quá trình phân chia tế bào thường chỉ đóng vai trò quan trọng ở giai đoạn đầu của sự nảy mầm, quá trình này tiêu tốn rất nhiều năng lượng cho các hoạt động như tổng hợp DNA, RNA, và protein. Trong khi đó, sự kéo dài tế bào chỉ đơn giản là sự “gia tăng kích thước tế bào theo chiều dọc”. Do đó, sự kéo dài tế bào sử dụng ít năng lượng hơn so với sự phân chia tế bào. Trong điều kiện ngập hoàn toàn cần sử dụng tiết kiệm năng lượng, sự kéo dài tế bào là quá trình chủ đạo đóng góp vào sự kéo dài thân mầm (Takahashi *et al.*, 2011).

III. HOẠT ĐỘNG BIẾN DƯỠNG DIỄN RA DƯỚI ĐIỀU KIỆN NGẬP

Nền tảng cho đặc tính nảy mầm của hạt lúa trong điều kiện ngập hoàn toàn là ở khả năng phân hủy tinh bột giải phóng năng lượng trong điều kiện thiếu O_2 của hạt lúa (Magneschi and Perata, 2009). Quá trình phân hủy tinh bột và biến dưỡng đường là 2 cơ chế quan trọng giúp cho hạt lúa nảy mầm và kéo dài thân mầm trong điều kiện ngập nước. Sở dĩ hạt lúa có được các đặc tính trên là nhờ nó sở hữu một hệ thống đầy đủ các enzyme (α -amylase, β -amylase, các enzyme phân hủy mạch nhánh, và α -glucosidase) cần thiết cho sự phân hủy chất dự trữ (tinh bột) từ nội nhũ thành các dạng đường đơn hòa tan đưa đến các bộ phận đang phát triển của hạt, trong đó α -amylase giữ vai trò chủ đạo (Guglielminetti *et al.*, 1995).

Ở lúa, các enzyme α -amylase được mã hóa bởi ít nhất 10 gene khác nhau được chia làm 3 nhóm chính: *RAMY1*, *RAMY2*, *RAMY3* (Loreti *et al.*, 2003). Trong điều kiện đầy đủ O_2 , hoạt động của *RAMY1*, *RAMY2* được điều hòa bởi Gibberellin (GA) và acid abscisic (ABA), trong khi đó gene

RAMY3 được hoạt hóa khi lượng đường bị thiếu hụt (Hwang *et al.*, 1999).

Quá trình biến dưỡng carbohydrate của hạt đang nảy mầm trong điều kiện thiếu O₂ có thể chia làm 2 giai đoạn. Trong những ngày đầu tiên của sự nảy mầm, hạt khô sử dụng lượng đường có sẵn bên trong nó. Trong những ngày tiếp theo, lượng đường sẵn có này sẽ bị sử dụng hết dẫn đến việc thiếu hụt lượng đường hòa tan trong hạt, điều này sẽ kích hoạt gene *RAMY3D* hoạt động để tổng hợp nên enzyme α -amylase, enzyme này sẽ thủy phân tinh bột thành các dạng đường đơn cần thiết giúp cho hạt lúa hoàn thành quá trình nảy mầm (Guglielminetti *et al.*, 1995). Hoạt động của họ gene này cho thấy sự biểu hiện vượt trội ở hạt lúa đang nảy mầm trong điều kiện ngập, nó chỉ hiện diện duy nhất ở lúa, đó là lý do tại sao lúa là loài ngũ cốc duy nhất có khả năng nảy mầm dưới điều kiện ngập (Loreti *et al.*, 2003).

Các enzyme α -amylase có vai trò chính trong sự thủy phân tinh bột cung cấp năng lượng cho quá trình nảy mầm của hạt lúa, trong đó Amy1A và Amy3D là 2 enzyme chính. Enzyme Amy1A có hoạt tính cao trên các hạt tinh bột, trong khi enzyme Amy3D thủy phân chủ yếu các mạch oligosaccharide (Terashima *et al.*, 1995). Trong khoảng 3 ngày đầu tiên của sự nảy mầm dưới điều kiện ngập, Amy3D là enzyme chịu trách nhiệm chính cho sự thủy phân tinh bột trong phôi lúa (Hwang *et al.*, 1999). Enzyme này bị bất hoạt khi hàm lượng đường trong môi trường cao. Trong môi trường ngập, Amy3D xúc tác sự thủy phân tinh bột tương đối chậm, lượng đường được tạo ra từ từ sẽ được sử dụng hết, do đó ngăn chặn được sự ức chế ngược hoạt động của chính nó (Loreti *et al.*, 2003). Việc cung cấp liên tục đường glucose nhờ hoạt động của enzyme Amy3D cho phép lượng ATP được tạo ra thông qua quá trình lên men đủ cho sự nảy mầm của hạt trong điều kiện ngập hoàn toàn (Loreti, *et al.*, 2003).

Thủy phân tinh bột và biến dưỡng đường là một con đường phức tạp với sự tham gia điều hòa của nhiều enzyme xúc tác khác nhau, tất cả tạo thành hiệu ứng tầng (cascade effect) trong đó đích cuối cùng là sự điều hòa hoạt động thủy phân tinh bột của các enzyme α -amylase. Một protein kinase có tên CIPK15 (Calcineurin B-Like (CBL) Interacting Protein Kinase 15) đóng vai trò quan trọng trên con đường này (Lee *et al.*, 2009). Nhiều nghiên cứu

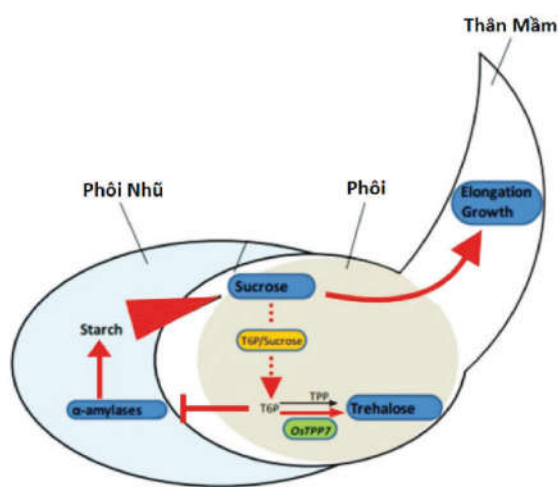
cho thấy, những dòng lúa gây đột biến mất chức năng của CIPK15 rất nhạy cảm với môi trường ngập ở giai đoạn nảy mầm và mạ non. CIPK15 là tác nhân điều hòa hoạt động của enzyme α -amylase và alcohol dehydrogenase kiểm soát quá trình biến dưỡng tinh bột trong điều kiện thiếu O₂, cung cấp năng lượng cho sự kéo dài của thân mầm (Lee *et al.*, 2009).

CIPK15 điều hòa hoạt động của enzyme α -amylase trong môi trường ngập thông qua 2 tác nhân trung gian là SnRK1A (sucrose non-fermenting-1-related protein kinase 1) và MYBS1 (Myeloblastosis Sugar Response Complex 1) (Lu *et al.*, 2007). SnRK1A cũng là một dạng protein kinase tương tự như CIPK15, trong khi MYBS1 là nhân tố phiên mã. Protein SnRK1A là tác nhân cảm ứng năng lượng, giữ vai trò cốt lõi trong việc điều hòa toàn bộ quá trình biến dưỡng của thực vật dưới điều kiện bất thuận của môi trường (Polge and Thomas, 2007), trong môi trường thiếu oxy, nó đóng vai trò như tác nhân điều hòa đầu nguồn (upstream), kiểm soát sự tương tác trong hoạt động của nhân tố phiên mã MYBS1 và gene *RAMY3D* mã hóa cho enzyme α -amylase (Lu *et al.*, 2007). Nhìn chung, tình trạng thiếu hụt đường trong môi trường ngập hoàn toàn kích hoạt sự hoạt động của CIPK15, tác nhân này sau đó sẽ tương tác với nhân tố điều hòa SnRK1A để kích hoạt nhân tố phiên mã MYBS1 dẫn tới sự hoạt hóa hoạt động của enzyme α -amylase (Lu *et al.*, 2007). Do đó sự tương tác giữa CIPK15 và SnRK1A sẽ giúp cho hạt lúa nảy mầm và sinh trưởng tốt trong điều kiện ngập hoàn toàn.

Sự gia tăng hoạt động của enzyme α -amylase thủy phân tinh bột dẫn đến sự ức chế ngược hoạt động của SnRK1A do lượng đường Trehalose-6-Phosphate (T6P) mà nó tạo ra trình biến dưỡng đường có hoạt động như một tác nhân ức chế SnRK1A (Kretschmar *et al.*, 2015). T6P có sự liên quan mật thiết với hàm lượng sucrose tạo nên sự cân bằng trao đổi chất bên trong tế bào. Hàm lượng sucrose tăng sẽ dẫn đến sự gia tăng hàm lượng T6P, và ngược lại. Sự tăng cường hoạt tính của enzyme α -amylase bởi SnRK1A (tăng hoạt động của gene *AMY3D*) trong điều kiện ngập làm cho hàm lượng của các loại đường tăng lên trong đó có sucrose. Hàm lượng sucrose tăng cũng đồng nghĩa với việc gia tăng hàm lượng T6P nội bào. T6P gia tăng sẽ ức chế ngược lại hoạt động hoạt hóa của SnRK1A lên enzyme α -amylase. Do đó, sự hiện diện của nó sẽ

làm giới hạn lượng đường và năng lượng cung cấp cho sự kéo dài của thân mầm trong điều kiện ngập (Kretzschmar *et al.*, 2015). Điều này giải thích cho lý do nhiều giống lúa rất nhạy cảm với điều kiện ngập hoàn toàn trong giai đoạn nảy mầm.

Nghiên cứu trên giống lúa *japonica* Khao Hlan On, nhóm của Angaji đã xác định được 5 QTLs (Quantitative Trait locus), trong đó có QTL qAG-9-2 có chứa gene *TPP7* (TREHALOSE 6 PHOSPHATE PHOSPHATASE 7) có liên quan đến đặc tính chịu ngập cao ở giai đoạn nảy mầm (Angaji *et al.*, 2010). Gene *TPP7* mã hóa cho enzyme trehalose 6 phosphate phosphatase, nó có chức năng chuyển hóa T6P thành đường trehalose, qua đó loại bỏ tính nội cân bằng giữa T6P và sucrose cũng như sự ức chế của T6P lên hoạt động của SnRK1A và enzyme α -amylase trong điều kiện thiếu O_2 , do đường trehalose được tạo thành không có đặc tính ức chế này (Hình 2) (Kretzschmar *et al.*, 2015). Nghiên cứu của nhóm Kretzschmar cũng giải thích cho sự khác biệt lớn về khả năng kéo dài thân mầm trong điều kiện ngập giữa giống lúa IR64 (giống nhạy cảm) và Khao Hlan On (giống kháng) cũng như các dòng con lai có chứa QTL qAG-9-2. Khả năng nảy mầm và kéo dài thân mầm của IR64 trong điều kiện ngập rất kém do nó không chứa gene *TPP7* (Kretzschmar *et al.*, 2015). Tuy nhiên, nhiều con đường khác nhau hỗ trợ cho sự kéo dài thân mầm dưới điều kiện ngập của các dòng lúa *japonica* bên cạnh gene *TPP7* cũng đã được tìm ra (Nghị *et al.*, 2019).



Hình 2. Tác động ức chế của Trehalose-6-Phosphate lên enzyme α -amylase và vai trò của *OsTPP7* (Kretzschmar *et al.*, 2015)

IV. CƠ CHẾ DI TRUYỀN QUY ĐỊNH TÍNH CHỊU NGẬP

Theo định nghĩa của Catling (1992), tính chịu ngập “là khả năng cây lúa có thể tồn tại trong điều kiện ngập hoàn toàn từ 10 đến 14 ngày và quay trở lại sinh trưởng phát triển bình thường khi mực nước rút đi hoàn toàn”. Cây lúa đã hình thành 2 phương pháp thích nghi cho điều kiện ngập hoàn toàn, đó là phương pháp chịu đựng (Quiescence) và đào thoát (escape) với sự tham gia điều hòa của nhiều gene đặc trưng.

Sự kéo dài thân mầm của lúa dưới điều kiện ngập cũng thuộc phương pháp thích nghi đào thoát. Thân mầm của những giống chịu tăng trưởng nhanh hơn và kéo dài hơn dưới điều kiện ngập nước. Con đường chính cho đặc tính chịu này có sự tham gia của các nhóm gene chính là *RAMY3D*, *SnRK1A*, *MYBS1*, *CIPK15* cùng các họ gene tham gia vào quá trình lên men kỵ khí như *PDC* và *ADH*. Gene *RAMY3D* mã hóa cho enzyme α -amylase, chịu trách nhiệm chính cho sự thủy phân tinh bột trong điều kiện thiếu O_2 . Hoạt động của nó được điều hòa bởi sự tương tác của 2 gene *CIPK15* và *SnRK1A* (Lu *et al.*, 2007).

Ngoài các gene tham gia vào con đường chính bên trên, cơ chế di truyền cho tính chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm của lúa rất phức tạp với sự tham gia của nhiều gene thuộc nhiều QTL khác nhau đã được tìm ra (Bảng 1). Năm 2006, nhóm của Jiang tìm ra 2 QTLs nằm trên nhiễm sắc thể (NST) 5 (qAG-5) và 11 (qAG-11) liên quan đến sự ngủ đông và điều hòa hàm lượng đường trong hạt. QTL qAG 7-1 liên quan đến tính chịu ngập của giống lúa Ma-Zhan Red (MZR) cũng được tìm ra (Septiningsih *et al.*, 2013). Hai QTL qAG 9-1 và qAG 9-2 được Angaji và cộng tác viên (2010) xác định vào năm 2010, trong đó qAG-9-2 có chứa gene *TPP7* đã được nhóm của Kretzschmar (2015) xác định giữ vai trò then chốt trong khả năng chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm của giống lúa Khao Hlan On.

Phương pháp GWAS (genome-wide association study - nghiên cứu mối tương quan giữa kiểu gene và kiểu hình bằng cách quét trên toàn bộ NST) cũng đã được nhiều nhóm sử dụng để xác định các gene liên quan đến đặc tính kéo dài thân mầm dưới điều kiện ngập của lúa. Sử dụng 153 giống lúa khác nhau (bao gồm cả lúa *japonica* và *indica*), Hsu và Tung (2015) đã xác định được tổng cộng 88 điểm

đa hình nucleotide đơn (SNP) với nhiều vùng gene có liên quan đến đặc tính kéo dài thân mầm trong điều kiện ngập của cây lúa, trong đó có 1 vùng QTL định vị trên NST số 1. Vùng này có tất cả 13 gene, với gene *HXX6* được kiểm tra cho thấy có mối liên

quan với tính trạng quan tâm. Sử dụng kỹ thuật tương tự, Zhang và cộng tác viên (2017) cũng đã xác định được 20 SNP có liên quan đến sự khác nhau trong khả năng kéo dài thân mầm dưới nước của 432 giống lúa *indica* khác nhau.

Bảng 1. Các vùng QTLs và MTAs liên quan đến khả năng nảy mầm và kéo dài diệp tiêu trong điều kiện ngập của lúa

Đặc tính nghiên cứu	Quần thể/Giống	Vùng QTL	Nhiễm sắc thể	Tác giả
Chịu ngập giai đoạn nảy mầm	Lai hồi giao (Khao Hlan On × IR64)	qAG 9-1, qAG 9-2	9	Angaji <i>et al.</i> , 2010
	F2, F3 (IR64 × Kharsu)	qAG 3, qAG 7-1, qAG 7-2, qAG 7-3	3,7	Baltazar <i>et al.</i> , 2019
Chiều dài thân mầm trong điều kiện ngập hoàn toàn	273 giống lúa <i>japonica</i>	MTAs	1,5	Nghi <i>et al.</i> , 2019
	423 giống lúa <i>indica</i>	MTAs	6	Zhang <i>et al.</i> , 2017
Khả năng nảy mầm trong điều kiện ngập hoàn toàn	Lai hồi giao (Ma-Zhan (Red) × IR42)	qAG 7-1	2,5,6,7	Septiningsih <i>et al.</i> , 2013
Nảy mầm trong điều kiện ngập và nhiệt độ thấp	F2 (USSR5 × N22)	qAG 5, qAG 11	5,11	Jiang <i>et al.</i> , 2006
Khả năng kéo dài thân mầm trong điều kiện thiếu oxy	Các dòng cận phối từ tổ hợp lai Nipponbare × IR64	qAG 1-2	1	Hsu and Tung, 2015

Ghi chú: MTA: Vùng liên kết giữa gene và tính trạng (marker trait association).

Cùng hướng nghiên cứu, nhóm của Nghi và cộng tác viên (2019) đã xác định khả năng phát triển thân mầm với chiều dài rất khác nhau trong điều kiện ngập sâu và thiếu ánh sáng của 273 giống lúa *japonica*. Từ kết quả phân tích GWAS, họ xác định được 11 SNP có liên quan mật thiết đến đặc tính trên, trong đó có 2 SNP định vị ở NST số 1 và 5 thể hiện mối liên quan cao nhất. Phân tích xa hơn 2 SNP này, họ xác định được một nhóm gene có liên quan, trong đó có 2 gene liên quan đến sự vận chuyển và cảm ứng auxin là *AUX1* và *TIR1* giữ vai trò quan trọng (Nghi *et al.*, 2019).

Một vùng QTL mới nằm trên NST số 3 là Qace3.1 (anaerobic coleoptile elongation) điều hòa sự biểu hiện của các gene liên quan đến các quá trình lên men dưới điều kiện ngập như pyruvate decarboxylase (PDC) và alcohol dehydrogenase (ADH) đã được xác định (Nishimura *et al.*, 2020). Hai gene khác là *OsXDH1* và *OsSSXT* cũng đã được Rohilla và cộng tác viên (2020) tìm ra bằng GWAS, cả 2 gene này đều có vai trò kiểm soát sự kéo dài của thân mầm dưới điều kiện ngập sâu. Ở một nghiên cứu gần đây, nhóm của Su và cộng tác viên

(2021) đã tìm 4 gene là *OsVPI*, *OsGA2ox8*, *OsDi19-1* và *Os06g0548200* có liên quan đến sự khác nhau về chiều dài và đường kính thân mầm của một quần thể gồm 209 giống lúa *indica* và *japonica*. 3 trong 4 gene này liên quan đến việc điều hòa con đường truyền tín hiệu thông qua GA và ABA, cả 2 hormone này đều đóng vai trò quan trọng trong việc kéo dài thân mầm dưới điều kiện ngập hoàn toàn (Su *et al.*, 2021).

V. TRIỂN VỌNG NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO LÚA CHỊU NGẬP GIAI ĐOẠN NẢY MẦM Ở VIỆT NAM

Việt Nam là một nước có nền nông nghiệp phát triển rất mạnh, trong đó cây lúa nước giữ vị trí hết sức quan trọng. Công việc đánh giá tính đa dạng di truyền của các giống lúa bằng nhiều kỹ thuật hiện đại (SSR, GWAS) đã được thực hiện khá đầy đủ qua đó tạo nguồn vật liệu tốt cho công tác chọn tạo giống mới (Hue *et al.*, 2018; Hoang *et al.*, 2019; Khanh *et al.*, 2021). Tuy nhiên, hầu hết các công trình này đều tập trung vào đặc tính chịu hạn và chịu mặn của các giống lúa. Riêng về đặc tính chịu ngập, hầu hết các nghiên cứu đều tập trung

vào giai đoạn mạ, là giai đoạn cây lúa đã phát triển tương đối hoàn chỉnh về hình dạng (Vu *et al.*, 2012; Tu *et al.*, 2021).

Việt Nam có 2 vùng sản xuất lúa chính là đồng bằng sông Hồng và đồng bằng sông Cửu Long. Riêng vùng đồng bằng sông Cửu Long do diện tích lớn và tình hình thiếu hụt lao động ngày càng tăng, nên hầu hết diện tích lúa trong khu vực này đều đã chuyển sang sử dụng phương pháp lúa sạ thay vì lúa cấy truyền thống như trước đây. Xu hướng này đang dần được áp dụng rộng rãi trên cả nước. Nhược điểm của phương pháp này là cây lúa rất dễ chết nếu có hiện tượng ngập úng kéo dài xảy ra sau khi sạ, dẫn đến tổn thất rất nhiều công sức cho việc cấy dặm lại sau đó. Tuy nhiên, hầu như chưa có công trình nghiên cứu nào liên quan đến đặc tính chịu ngập trong giai đoạn này được công bố ở nước ta. Việc áp dụng các công cụ nghiên cứu hiện đại của thế giới (SSR, GWAS, kỹ thuật giải trình tự) nhằm tìm ra các vùng QTLs, các gen mới có khả năng giúp cho các giống lúa trong nước chống chịu được điều kiện ngập trong giai đoạn này là hướng đi hết sức cấp thiết hiện nay. Bên cạnh tìm ra các giống lúa có khả năng chống chịu, chúng ta còn tạo ra nguồn vật liệu cho công tác chọn tạo giống mới sau này.

VI. KẾT LUẬN

Lúa là cây trồng duy nhất có khả năng nảy mầm và phát triển thành cây con trong điều kiện ngập nước hoàn toàn nhờ vào khả năng tạo ra một thân mầm rất dài trong điều kiện thiếu O_2 . Tuy nhiên, trong cùng điều kiện ngập, các giống lúa khác nhau sẽ phát triển các thân mầm với chiều dài khác nhau tùy thuộc vào tính chống chịu của chúng. Khả năng thủy phân tinh bột và biến dưỡng đường trong điều kiện thiếu hoàn toàn O_2 là con đường chủ chốt với enzyme α -amylase giữ vai trò điều hòa quan trọng. Ở lúa, enzyme này được mã hóa bởi gene *RAMY3D*. Đây là con đường điều hòa phức tạp với sự tham gia của 2 protein kinase CIPK15, SnRK1A và nhân tố phiên mã MYBS1. Gần đây, vai trò điều hòa của gene *TPP7* trong việc tăng cường hoạt động của enzyme α -amylase trong điều kiện ngập đã được tìm ra. *TPP7* là 1 trong 5 gene định vị trong QTL qAC 9-2, sự biểu hiện của nó sẽ loại bỏ sự ức chế của đường Trehalose-6-Phosphate lên hoạt động của SnRK1A, giúp tăng tính chịu ngập giai đoạn nảy mầm cho những giống lúa sở hữu

gene này thông qua việc phát triển 1 thân mầm rất dài (Kretzschmar *et al.*, 2015).

Mặc dù nhiều công trình nghiên cứu đã được thực hiện nhằm làm sáng tỏ cơ chế kiểm soát sự kéo dài của thân mầm lúa suốt giai đoạn nảy mầm trong điều kiện ngập hoàn toàn. Nhiều vấn đề vẫn cần nhiều nghiên cứu để tìm câu trả lời thỏa đáng như:

1. Có sự đồng nhất trong cơ chế chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm giữa lúa *indica* và *japonica* hay không?

2. Nhiều QTL với nhiều gene liên quan đến đặc tính trên đã được tìm ra bên cạnh con đường chính, nhưng vai trò thật sự của chúng vẫn cần tiếp tục làm sáng tỏ.

3. Việc thích nghi theo con đường đào thoát thông qua việc kéo dài thân mầm trong giai đoạn này đã được rất nhiều nhà nghiên cứu quan tâm với nhiều công trình được công bố. Tuy nhiên, liệu con đường ngược lại (cơ chế chịu đựng) có được một số giống lúa sử dụng hay không vẫn cần nhiều nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ.

Việc giải đáp rõ ràng được tất cả các vấn đề nêu trên có thể giúp phác thảo ra một bức tranh hoàn chỉnh về các cơ chế điều khiển tính chống chịu của cây lúa ở giai đoạn nảy mầm, tạo cơ sở cho các nghiên cứu cũng như công tác chọn tạo giống lúa chịu ngập thích hợp cho phương pháp gieo sạ trực tiếp sau này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Angaji S.A., Septiningsih E.M., Mackill D.J., Ismail A.M., 2010. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 172: 159-168.
- Baltazar, M.D., Ignacio, J.C.I., Thomson, M.J., Ismail, A.M., Mendioro, M.S., & Septiningsih, E.M., 2019. QTL mapping for tolerance to anaerobic germination in rice from IR64 and the aus landrace Kharsu 80A. *Breeding Science*, 69 (2): 227-233.
- Catling D., 1992. *Rice in deep water*. MacMillan Press Ltd., London, UK.
- Guglielminetti L., Perata P., & Alpi A., 1995. Effect of anoxia on carbohydrate metabolism in rice seedlings. *Plant Physiology*, 108: 735-741.
- Hoang G.T., Dinh L.V., Nguyen T.T., Ta N.K., Gathignol F., Mai C.D., Jouannic S., Tran K.D., Khuat T.H., Do V.N., et al., 2019. Genome-wide association study of a panel of Vietnamese rice landraces reveals new QTLs for tolerance to water deficit during the vegetative phase. *Rice*, 12: 1-20.

- Hsu S.K., & Tung C.W., 2015. Genetic mapping of anaerobic germination-associated QTLs controlling coleoptile elongation in rice. *Rice*, 8 (1): 1-12.
- Hue H.T., Nghia L.T., Minh H.T., Anh L.H., Trang L.T.T., Khanh T.D., 2018. Evaluation of genetic diversity of local-colored rice landraces using SSR Markers. *International Letters of Natural Sciences*, 67: 24-34.
- Hwang Y.S., Thomas B.R., Rodriguez R.L., 1999. Differential expression of rice α -amylase genes during seedling development under anoxia. *Plant Molecular Biology*, 40: 911-920.
- Jiang L., Liu S., Hou M., Tang J., Chen L., Zhai H., & Wan J., 2006. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*, 98 (1): 68-75.
- Kawai M. and Uchimiya H., 2000. Coleoptile senescence in rice (*Oryza sativa* L.) *Annals of Botany*, 86: 405-414.
- Khanh T.D., Duong V.X., Nguyen P.C., Xuan T.D., Trung N.T., Trung K.H., Gioi D.H., Hoang N.H., Tran H-D., Trung D.M., Huong B.T.T., 2021. Rice Breeding in Vietnam: Retrospects, Challenges and Prospects. *Agriculture*, 2021; 11(5): 397.
- Kretzschmar T, Pelayo M, Trijatmiko K, Kretzschmar T, Pelayo M, Anne F, Trijatmiko K.R, Gabunada L.F.M., Alam R., Jimenez R., Mendioro M.S., Slamet-Loedin I.H., Sreenivasulu N., Bailey-Serres J., Ismail A.M., Mackill D.J, Septiningsih E.M., 2015. A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. *Nature Plants*, 1: 15124. DOI: 10.1038/nplants.2015.124.
- Lee K.W., Chen P.W., Lu C.A., Chen S., Ho T.H., Yu S.M., 2009. Coordinated Responses to Oxygen and Sugar Deficiency Allow Rice Seedlings to Tolerate Flooding. *Science Signaling*, 2, ra61.
- Loreti E., Alpi A., Perata P., 2003. α -amylase expression under anoxia in rice seedlings: An update. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50: 737-742.
- Lu C.A., Lin C.C., Lee K.W., Chen J.L., Huang L.F., Ho S.L., Liu H.J., Hsing Y.I., Yu S.M., 2007. The SnRK1A protein kinase plays a key role in sugar signaling during germination and seedling growth of rice. *Plant Cell*, 19: 2484-2499.
- Magneschi L. and Perata P., 2009. Rice germination and seedling growth in the absence of oxygen. *Annals of Botany*, 103: 181-196.
- Narsai R., Secco D., Schultz M.D., Ecker J.R., Lister R., Whelan J., 2017. Dynamic and rapid changes in the transcriptome and epigenome during germination and in developing rice (*Oryza sativa*) coleoptiles under anoxia and re-oxygenation. *The Plant Journal*, 89: 805-24.
- Nghi K.N., Tondelli A., Val è G., Tagliani A., Mar è C., Perata P., Pucciariello C., 2019. Dissection of coleoptile elongation in *japonica* rice under submergence through integrated genome-wide association mapping and transcriptional analyses. *Plant Cell Environment*, 42: 1832-1846.
- Nishimura T., Sasaki K., Yamaguchi T., Takahashi H., Yamagishi J., Kato Y., 2020. Detection and characterization of quantitative trait loci for coleoptile elongation under anaerobic conditions in rice. *Plant Production Science*, 23: 374-383.
- Perata P., Pozueta-Romero J., Akazawa T. and Yamaguchi J., 1992. Effect of anoxia on starch breakdown in rice and wheat seeds. *Planta*, 188: 611-618.
- Polge C. and Thomas M., 2007. SNF1/AMPK/SnRK1 kinases, global regulators at the heart of energy control? *Trends Plant Science*, 12: 20-28.
- Rohilla M., Singh N., Mazumder A., Sen P., Roy P., Chowdhury D., Singh Nagendra, Tapan, Mondal K., 2020. Genome-wide association studies using 50 K rice genic SNP chip unveil genetic architecture for anaerobic germination of deep-water rice population of Assam, India. *Molecular Genetics and Genomics*, 295: 1211-1226.
- Saika H., Matsumura H., Takano T., Tsutsumi N., & Nakazono M., 2006. A point mutation of Adh1 gene is involved in the repression of coleoptile elongation under submergence in rice. *Breeding Science*, 56: 69-74.
- Septiningsih E.M., Ignacio J.C.I., Sendon P.M.D., Sanchez D.L., Ismail A.M., & Mackill D.J., 2013. QTL mapping and confirmation for tolerance of anaerobic conditions during germination derived from the rice landrace Ma-Zhan Red. *Theoretical and Applied Genetics*, 126 (5): 1357-1366.
- Su L., Yang J., Li D., Peng Z., Xia A., Yang M., Luo L., Huang C., Wang J., Wang H., Chen Z. and Guo T., 2021. Dynamic genome-wide association analysis and identification of candidate genes involved in anaerobic germination tolerance in rice. *Rice*, 14 (1): 1. doi: 10.1186/s12284-020-00444-x.
- Takahashi H., Saika H., Matsumura H., Nagamura Y., Tsutsumi N., Nishizawa N.K., Nakazono M., 2011. Cell division and cell elongation in the coleoptile of rice alcohol dehydrogenase 1-deficient mutant are reduced under complete submergence. *Annals of Botany*, 108: 253-261.
- Terashima M., Katoh S., Thomas B.R., and Rodriguez R.L., 1995. Characterization of Rice α -Amylase Isozymes Expressed by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43: 1050-1055.
- Tu X.D., Huong N.Y., Giang L.T., Thanh L.T., Khanh T.D., Trung K.H., Nhan D.T., Tuan N.T., 2021.

Screening drought tolerance of Vietnamese rice landraces in the laboratory and net house condition. *Advanced Studies in Biology*, 13: 21-28.

Vu T.T.H., Le D.D., Ismail A.M., Le H.H., 2012. Marker-assisted backcrossing (MABC) for improved salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to cope with climate change in Vietnam. *Australian Journal of Crop Science.*, 6: 1649-165.

Zhang M., Lu Q., Wu W., Niu X., Wang C., Feng Y., Xu Q., Wang S., Yuan X., Yu H., Wang Y. and Wei X., 2017. Association mapping reveals novel genetic loci contributing to flooding tolerance during germination in *Indica* rice. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-9. doi: 10.3389/fpls.2017.00678.

Coleoptile elongation - characteristics determining the ability of rice anaerobic germination tolerance

Nghi Khắc Nhu

Abstract

Flooding or submergence is one of the natural calamities which affects the growth and development of rice, especially at the germination stage. Rice is the only crop in the cereal group capable of germinating in submerged conditions. The rice anaerobic germination tolerance is characterized by the capacity of rice coleoptile elongation underwater. Over the last several decades, many great studies have been conducted to elucidate the mechanism controlling this characteristic. TPP7 gene has been found to play an important role in the anaerobic germination of rice variety Khao Hlan On. Besides, the role of some hormones such as Auxin related to elongation ability of rice coleoptile has also been reported. Because of labor shortage for rice production in the Mekong Delta, the farming method has changed almost entirely from transplanted rice to direct sown rice (dry sowing, underground sowing). Studying and utilizing the rice varieties with the ability of rice anaerobic germination tolerance is extremely important. In this review, we documented the latest reports on the ability of anaerobic coleoptile elongation of rice and the mechanisms behind this trait as well as discussing perspectives of rice breeding to improve rice anaerobic germination tolerance in Vietnam.

Keywords: Rice (*Oryza sativa*), coleoptile, anaerobic germination tolerance

Ngày nhận bài: 31/3/2022
Ngày phản biện: 17/4/2022

Người phản biện: PGS.TS. Trần Đăng Khánh
Ngày duyệt đăng: 30/5/2022

TÁI SINH CHỒI TỪ LÁ MẦM CÂY DƯA LEO NẾP TA

Phan Lê Trâm Anh¹, Nguyễn Thị Thanh Thảo¹, Lý Triệu Minh¹,
Dương Hoa Xô¹, Nguyễn Xuân Dũng^{1*}

TÓM TẮT

Dưa leo (*Cucumis sativus* L.) là cây rau ăn quả được trồng phổ biến ở Việt Nam. Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy sự tái sinh của cây dưa leo phụ thuộc vào kiểu gen và sự đáp ứng tái sinh không giống nhau ở các giống dưa leo. Nghiên cứu này được thực hiện để phát triển quy trình tái sinh hiệu quả cho giống dưa leo Nếp ta (*Cucumis sativus* L. cultivar Nếp ta) thông qua nuôi cấy mô lá mầm. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả khử trùng hạt, sự tái sinh chồi và phát triển cây *in vitro* được khảo sát. Kết quả cho thấy hạt này mầm tốt nhất khi được khử trùng với javen ở nồng độ 40% trong thời gian 15 phút. Lá mầm 3 ngày tuổi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/L BA thích hợp cho sự tái sinh chồi. Môi trường MS và MS bổ sung 0,1 mg/L BA phù hợp tương ứng cho sự tạo rễ và tăng trưởng chồi. Kết quả này là tiền đề quan trọng cho nghiên cứu sản xuất và phát triển giống dưa leo Nếp ta.

Từ khóa: Giống dưa leo Nếp ta, nuôi cấy mô lá mầm, tái sinh chồi

¹ Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh

* Tác giả liên hệ: E-mail: nguyensexandung294@gmail.com