

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO            BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT**  
**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**

-----

**NGUYỄN TRỌNG PHƯỚC**

**ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐỂ NGHIÊN CỨU CHỌN  
GIỐNG CHỐNG CHỊU MẶN TRÊN QUẦN THỂ LÚA TẠI  
ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**CẦN THƠ - 2022**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO                      BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT**  
**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**

-----

**NGUYỄN TRỌNG PHƯỚC**

**ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐỂ NGHIÊN CỨU CHỌN  
GIỐNG CHỐNG CHỊU MẶN TRÊN QUẦN THỂ LÚA TẠI  
ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG**

**Chuyên ngành: Công nghệ sinh học**

**Mã số: 9420201**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**Người hướng dẫn khoa học:**

- 1. Gs. Ts. Nguyễn Thị Lang**
- 2. Gs. Ts. Bùi Chí Bửu**

**CẦN THƠ - 2022**

**Cộng Hòa Xã Hội Chủ Nghĩa Việt Nam**

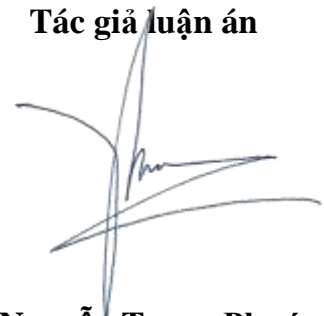
**Độc Lập - Tự Do - Hạnh Phúc**

-----

**LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi, các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa được sử dụng để bảo vệ bất kỳ một luận án hay công trình khoa học nào. Tôi xin cam đoan rằng các thông tin trích dẫn sử dụng trong luận án đều được ghi rõ nguồn gốc, mọi sự giúp đỡ đã được cảm ơn.

**Tác giả luận án**



**Nguyễn Trọng Phước**

## LỜI CẢM ƠN

*Xin tỏ lòng biết ơn chân thành*

**Gs.Ts. Nguyễn Thị Lang** và **Gs.Ts. Bùi Chí Bửu** đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài cũng như hoàn chỉnh luận án!

*Xin chân thành biết ơn*

Quý thầy cô tham gia giảng dạy lớp nghiên cứu sinh ngành công nghệ sinh học khóa 2015-2021 của cơ sở đào tạo Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

Anh chị và các em trong Viện nghiên cứu Nông nghiệp công nghệ cao Đồng bằng sông Cửu Long, Công ty Công Nghệ Sinh học PCR đã nhiệt tình giúp đỡ, hỗ trợ các phương tiện, trang thiết bị và vật liệu nghiên cứu để thực hiện đề tài nghiên cứu này.

Ban lãnh đạo Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long, Ban Đào tạo Sau đại học - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Phòng Khoa học và Hợp tác quốc tế - Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian học tập, thực hiện đề tài và hoàn thiện luận án.

Sau cùng là gia đình đã luôn động viên khích lệ, tạo điều kiện về thời gian, công sức và kinh tế để tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn./.

*Cần Thơ, ngày tháng năm 2022*

**Tác giả luận án**



**Nguyễn Trọng Phước**

## MỤC LỤC

Mục lục.....	i
Danh mục từ viết tắt.....	v
Nội dung bảng.....	vi
Nội dung hình.....	viii
<b>MỞ ĐẦU.....</b>	<b>1</b>
1. Tính cấp thiết đề tài.....	1
2. Mục tiêu đề tài.....	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn đề tài.....	2
3.1. Ý nghĩa khoa học.....	2
3.2. Ý nghĩa thực tiễn.....	3
4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu của đề tài.....	3
4.1. Đối tượng nghiên cứu.....	3
4.2. Phạm vi nghiên cứu.....	3
5. Tính mới của đề tài.....	4
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI</b>	<b>5</b>
1.1. Tình hình xâm nhập mặn.....	5
1.1.1. Trên thế giới.....	5
1.1.2. Tình hình mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long.....	6
1.2. Tác hại của đất mặn đến cây lúa.....	12
1.2.1. Tác hại của đất mặn.....	12
1.2.2. Phân loại thực vật theo đặc trưng chịu mặn.....	13
1.2.3. Ảnh hưởng của mặn đến sinh trưởng của cây trồng.....	14
1.2.4. Ảnh hưởng của mặn đến năng suất cây trồng.....	15
1.2.5. Ảnh hưởng trong giai đoạn nảy mầm và đầu giai đoạn mạ trên cây lúa.....	16
1.3. Đặc tính chống chịu mặn của cây lúa.....	17
1.4. Các nghiên cứu liên quan tính chống chịu mặn trên cây lúa.....	19
1.4.1. Nghiên cứu ngoài nước.....	19

1.4.2. Nghiên cứu trong nước .....	23
1.5. Các phương pháp chọn tạo giống.....	30
1.6. Phương pháp lai hồi giao trong chọn tạo giống lúa .....	34
1.6.1. Một số khái niệm trong phương pháp lai hồi giao .....	34
1.6.2. Ưu điểm của phương pháp lai hồi giao .....	35
1.6.3. Nhược điểm của phương pháp lai hồi giao .....	36
1.7. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa .....	36
1.7.1. Sơ lược về phương pháp chọn lọc bằng chỉ thị phân tử.....	37
1.7.2. Một số thành tựu của chỉ thị SSR trong chọn giống lúa .....	38
1.8. Chọn tạo giống bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với chỉ thị phân tử .....	40
1.8.1. Các giả thuyết mô hình MAS.....	41
1.8.2. Điều kiện để ứng dụng MAS .....	42
<b>CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .</b>	<b>45</b>
Địa điểm và thời gian nghiên cứu .....	45
2.1. Vật liệu nghiên cứu .....	45
2.2. Nội dung nghiên cứu .....	45
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	46
2.3.1. Đánh giá vật liệu bố mẹ sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo chịu mặn.....	46
2.3.2. Đánh giá hiệu quả chọn lọc tính trạng mục tiêu dựa trên các quần thể lai F <sub>1</sub> .	50
2.3.3. Chọn tạo quần thể lai hồi giao phục vụ cho gen chống chịu mặn thấp thông qua MAS .....	52
2.3.4. Chọn lọc các quần thể hồi giao BC <sub>n</sub> F <sub>2</sub> thông qua lập bản đồ GGT .....	53
2.3.5. Đánh giá kiểu hình và kiểu gen liên quan gen saltol trên quần thể con lai.....	55
2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	56
2.3.7. Khảo nghiệm cơ bản .....	56
2.3.8. Khảo nghiệm và đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường .....	57
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>61</b>
3.1. Đa dạng nguồn gen cây lúa .....	61
3.1.1. Thanh lọc mặn (đo lường kiểu hình) giai đoạn mạ trên lúa mùa.....	61

3.1.2. Thanh lọc bộ giống lúa cao sản.....	70
3.1.3. Phân tích kiểu hình và đánh giá sự tương quan của các gen theo công thức và phần mềm IRRI Start .....	81
3.2. Tạo các quần thể hồi giao chuyên gen chống chịu mặn trên cây lúa.....	87
3.2.1. Tạo quần thể hồi giao .....	87
3.2.2. Tìm tính đa hình trên các giống lúa bố mẹ bằng chỉ thị phân tử .....	89
3.2.3. Chọn tạo quần thể lai hồi giao mang gen chịu mặn thông qua MAS .....	96
3.2.3.1. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OM1490 và Pokkali.....	96
3.2.3.2. Kết quả đánh giá các quần thể BC1 trên OM1490/ Pokkali //OM1490 .....	97
3.2.3.3. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OMCS2000 và Pokkali.....	102
3.2.3.4. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OM6162 và Pokkali.....	108
3.2.3.5. Kết quả tạo cá thể hồi giao BC <sub>2</sub> từ tổ hợp hồi giao OM 6162/ Pokkali// OM6162 .....	110
3.3. Thanh lọc các dòng triển vọng ở hai mức độ mặn khác nhau ở giai đoạn mạ. ....	115
3.3.1. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 Quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> được chọn và gieo cho tự thụ để có quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> .....	115
3.3.2. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 .....	116
3.3.3. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 .....	117
3.4. Đánh giá tính chống chịu mặn của các dòng thông qua đánh giá kết hợp kiểu gen và kiểu hình .....	118
3.5. Chọn lọc các quần thể hồi giao BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> thông qua lập bản đồ GGT .....	125
3.5.1. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 .....	125
3.5.2. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên nhiễm sắc thể số 8 .....	126
3.5.3. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên quần thể số 1.....	128

3.5.4. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 8 .....	130
3.5.5. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 1 .....	132
3.5.6. Chọn lọc các cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 8.....	135
3.6. Khảo nghiệm cơ bản .....	137
3.7. Khảo nghiệm vùng sinh thái các dòng lúa chọn lọc trong vụ Đông Xuân 2019- 2020 .....	138
3.8. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2019.....	143
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....</b>	<b>148</b>
1. KẾT LUẬN.....	148
2. ĐỀ NGHỊ .....	149
CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....	150
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	151



## DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

GDM:	Giai đoạn mạ
ĐBSCL:	Đồng bằng sông Cửu Long
VKHTLMN:	Viện Khoa Học Thủy Lợi Miền Nam
KHKTTN:	Khoa Học Kỹ Thuật Nông Nghiệp
NN&SHUD:	Nông Nghiệp Và Sinh Học Ứng Dụng
STL:	Sau thanh lọc
<i>Et al.</i> :	Cộng tác viên
ABA:	Abscisic acid
DNA:	Deoxyribonucleic acid
SSR:	Simple sequence repeat (microsatellite)
MAS:	Marker assisted selection
CTAB:	Cetyltrimethyl Ammonium Bromide
EDTA:	Ethylenediaminetetra acetic acid
SDS:	Sodium dedoxyl sulfat
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
ALP:	Amplicon length polymorphism
AFLP:	Amplified fragment length polymorphism
SNP:	Single nucleotide polymorphism
SES:	Standard Evaluation System for Rice
EC:	Electrical Conductivity
IRRI:	International Rice Research Institute
PCR:	Polymerase Chain Reaction
QTL:	Quantitative Trait Locus
RM:	Rice Microsatellite
HATRI:	High Agricultural Technology Research Institute For Mekong Delta

## NỘI DUNG BẢNG

<b>TT</b>	<b>Trang</b>
1.1 Độ mặn lớn nhất (g/l) nhất đến ngày 14/3/2017 ở một số trạm ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long.....	9
1.2 Độ mặn lớn nhất (g/l) đến ngày 14/3/2017 tại vùng Hai sông Vàm Cỏ.....	11
1.3 Khả năng chịu mặn của cây trồng ở giai đoạn sinh trưởng.....	15
1.4 Ảnh hưởng của các cấp độ mặn khác nhau lên năng suất cây trồng..	16
1.5 Sự tương quan giữa số thể hệ BC <sub>n</sub> F <sub>1</sub> với tỷ lệ kiểu gen của dòng triển vọng (nhận gen mong muốn) được đưa vào con lai BC <sub>n</sub> F <sub>1</sub> .....	43
2.1 Thành phần dung dịch đệm ly trích DNA và TE buffer (pH = 8)..	47
2.2 Các thành phần của gel polyacrylamide và agarose được sử dụng	48
2.3 Tiêu chuẩn đánh giá mức độ chịu mặn của cây lúa.....	55
2.4 Các dòng lúa chịu mặn tham gia thí nghiệm.....	58
3.1 Số ngày sống sót ở 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m trên 100 giống lúa.....	71
3.2 Môi trường mặn với EC = 0, 8, 15dS/m.....	82
3.3 Đánh giá kiểu hình gen chống chịu mặn của 100 giống lúa giai đoạn trổ hoa.....	83
3.4 Tóm tắt quá trình tạo các quần thể hồi giao đến thế hệ BC <sub>3</sub> cho các giống lúa nghiên cứu.....	87
3.5 Các primers được đánh giá trên 05 giống lúa dùng cho vật liệu lai.....	89
3.6 Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F <sub>1</sub> đến BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	96
3.7 Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F <sub>1</sub> đến BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> .....	102
3.8 Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F <sub>1</sub> đến BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	107
3.9 Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162.....	119

3.10	Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000.....	121
3.11	Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của tổ hợp OM1490/Pokkali//OM1490.....	123
3.12	Năng suất và thành phần năng suất của bộ so sánh vụ Đông Xuân 2018-2019.....	138
3.13	Năng suất (tấn/ha) của bộ dòng lúa triển vọng tại 6 điểm vụ Đông Xuân 2019-2020.....	139
3.14	Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2019-2020.....	140
3.15	Năng suất (tấn/ha) của các dòng lúa triển vọng tại 6 điểm trong vụ Hè Thu 2019.....	144
3.16	Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2019.....	145

## NỘI DUNG HÌNH

TT	Trang
1.1	So sánh sự xâm nhập mặn năm 2016 và năm 2020 ở các tỉnh ĐBSCL..... 7
1.2	Đồ thị so sánh độ mặn lớn nhất đến ngày 14 tháng 3 năm 2017 vùng Cửa sông Cửu Long..... 10
1.3	Mật độ xâm nhập mặn tại Đồng bằng sông Cửu Long..... 10
1.4	Đồ thị thể hiện độ mặn lớn nhất đến ngày 14 tháng 3 năm 2017 vùng hai sông Vàm Cỏ..... 11
1.5	Sơ đồ phương pháp lai hồi giao..... 35
1.6	Giá trị trung bình của gen phục hồi qua từng thế hệ hồi giao..... 35
2.1	Vật liệu bố mẹ được chuẩn bị..... 49
2.2	Khử đục trên cây mẹ..... 50
2.3	Sơ đồ quy tụ gen saltol trên quần thể lai hồi giao thông qua MAS 52
2.4	Phân tích GGT trên quần thể lai ở cây lúa..... 54
3.1	Phân nhóm di truyền của 101 giống khác nhau trên lúa mùa..... 62
3.2	Biểu đồ thể hiện số ngày sống sót ở EC = 8dS/m (A) và 15dS/m (B) của 101 giống lúa mùa..... 66
3.3	Biểu đồ thể hiện tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ của các giống lúa mùa. Nồng độ muối EC = 8dS /m..... 67
3.4	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 101 giống chống chịu mặn..... 69
3.5	Đồ thị so sánh sự khác nhau về ngày sống sót giữa 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m..... 75
3.6	Kết quả thanh lọc mặn ở các nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m..... 76
3.7	Đồ thị so sánh sự khác nhau về chiều dài thân giữa 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 77

	15dS/m.....	
3.8	Đồ thị so sánh sự khác nhau về chiều dài rễ giữa 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC=15dS/m	78
3.9	Đồ thị so sánh sự khác nhau về trọng lượng khô thân giữa 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC =15dS/m.....	80
3.10	Đồ thị so sánh sự khác nhau về trọng lượng khô rễ giữa 3 nồng độ EC = 0dS/m, môi trường mặn EC = 8dS/m và môi trường mặn EC = 15dS/m.....	81
3.11	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM223.....	90
3.12	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM3252-S1-1.....	91
3.13	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM1324.....	92
3.14	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM3412.....	93
3.15	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM453.....	94
3.16	Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM511.....	95
3.17	Sản phẩm PCR của các giống lúa cao sản tại locus RM223 liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí hai băng 220bp và 200bp, trên gel agarose 3%.....	97
3.18	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3 %.....	98
3.19	Sản phẩm PCR của 36 dòng hồi giao BC <sub>2</sub> của OM1490/Pokkali//OM1490 liên kết với marker RM223.....	99

3.20	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 36 dòng BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của quần thể OM1490/ Pokkali//OM1490 trên gel agarose 3%.....	100
3.21	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 53 dòng BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> trên quần thể OM1490/Pokkali//OM1490 trên gel agarose 3%.....	100
3.22	Sản phẩm PCR của các giống lúa cao sản tại locus RM223 liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí hai băng 220bp và 200bp, trên gel agarose 3%.....	103
3.23	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.....	104
3.24	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.....	105
3.25	Sản phẩm PCR của 50 dòng hồi giao BC <sub>2</sub> của OMCS2000/pokkali//OMCS2000 liên kết với marker RM223.....	105
3.26	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của quần thể OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000 trên gel agarose với nồng độ 3%.....	106
3.27	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 50 dòng BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của quần thể OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000 trên gel agarose 3%.....	107
3.28	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 200bp và 220bp, trên gel agarose 3%.....	109
3.29	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.....	110
3.30	Sản phẩm PCR của 35 dòng hồi giao BC <sub>2</sub> của	111

	OM6162/pokkali//OM6162 liên kết với marker RM223.....	
3.31	Sản phẩm PCR của 35 dòng hồi giao BC <sub>2</sub> của OM6162/pokkali//OM6162 liên kết với marker RM3252-S1-1.....	111
3.32	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 100 dòng BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> của quần thể OM6162/ Pokkali// OM6162 trên gel agarose 3%.....	112
3.33	Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 100 dòng trên 100 dòng BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> của quần thể OM6162/ Pokkali// OM6162 trên gel agarose 3%.....	113
3.34	Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali// OM6162 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.....	116
3.35	Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali// OMCS2000 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.....	117
3.36	Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali// OM1490 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.....	118
3.37	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên nhiễm sắc thể số 1.....	126
3.38	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM616 trên nhiễm sắc thể số 8.....	127
3.39	Sản phẩm PCR của RM223 trên nhiễm sắc thể số 8 trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162.....	127
3.40	Sản phẩm PCR của RM344 trên nhiễm sắc thể số 8 trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162.....	128
3.41	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 3252- S1-1. Với band hình của mẹ P1: 230 cha (P2) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	128

3.42	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 24 Với band hình của mẹ P1: 230 cha (P2) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	129
3.43	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 1.....	130
3.44	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 223 Với band hình của mẹ P1(OM1490) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	131
3.45	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 344 Với band hình của mẹ P1(OM1490) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	131
3.46	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 8.....	132
3.47	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM24 Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000): 230 cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	133
3.48	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 Với band hình của mẹ P1 (OMCS200) = 230bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	134
3.49	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 1.....	134
3.50	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 223 Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	135
3.51	Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 344 Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp. Con lai BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	136
3.52	Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 8.....	136



3.53	A : Phân nhóm kiểu gen trên 14 giống lúa; B: Phân nhóm theo môi trường.....	142
3.54	A: Phân nhóm kiểu gen trên 14 giống lúa; B: Phân nhóm theo môi trường.....	146
3.55	Hình ảnh dòng lúa lai triển vọng vụ Hè Thu 2020 trồng tại Trại giống Viện nghiên cứu Nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL (HATRI).....	147

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực quan trọng trên thế giới cung cấp nguồn năng lượng chính cho một nửa dân số trên thế giới. Trong đó, ở châu Á, hơn 90% sản lượng lúa được sản xuất và tiêu thụ theo Nirmala Bandumula (2017) [66].

Lúa gạo là một trong năm loại lương thực (lúa nước, lúa mì, ngô, sắn, khoai tây) quan trọng cung cấp cho con người, chiếm hơn một phần ba lương thực trên thế giới. Ở châu Á, lúa gạo được coi là cây lương thực quan trọng nhất. Chiến lược phát triển của thế giới sẽ tập trung vào các nội dung như sau: (1) thích ứng sự thay đổi khí hậu, (2) cải tiến năng suất vượt trần, (3) tạo nền tảng đa dạng di truyền. Để làm được điều ấy, người ta phải thực hiện nghiên cứu trình tự genome, xây dựng quỹ gene (genetic stocks), và cải tiến phương pháp đánh giá kiểu hình. Việc đầu tư nghiên cứu tập trung vào cây lúa chống chịu điều kiện bất lợi như mặn, khô hạn, chống chịu sâu bệnh như vậy cần phải được chuẩn bị. Sàng lọc 100 dòng lúa chịu mặn được thực hiện bởi Nguyễn Thị Lang và Hoàng Thị Ngọc Minh (2006) [15].

Tuy nhiên, biến đổi khí hậu gây ra hiệu ứng nhà kính, nhiệt độ không khí ấm dần lên, hạn hán gây nhiễm mặn ở các vùng thiếu nước và sự xâm nhập ở vùng ven biển. Nước biển xâm nhập vào đất liền ngày càng nhanh, gây hậu quả nghiêm trọng lên việc sản xuất lúa gạo ở Việt Nam cũng như các nước khác trên thế giới, đặc biệt là vùng Đồng bằng sông Cửu Long theo Nguyễn Thị Lang và *ctv* (2016) [16]. Từ cuối năm 2014 đến 2016, do tác động của hiện tượng thời tiết El Nino, các tỉnh khu vực Nam Trung bộ, Tây Nguyên và Đồng bằng sông Cửu Long phải chịu tác động nặng nề bởi hạn hán cũng như xâm nhập mặn làm cuộc sống của khoảng hơn hai triệu dân bị đảo lộn, hàng trăm nghìn ha lúa bị thiệt hại.

Vấn đề đất mặn có thể giải quyết bằng nhiều biện pháp như: Cải tạo đất, dùng hóa chất và thủy lợi để rửa mặn. Nhưng việc này rất tốn kém, khó thực hiện ở những quốc gia chậm phát triển. Vì vậy, cần nghiên cứu phát triển giống cây trồng

chống chịu mặn bằng những phương pháp khác để đạt nhiều hiệu quả và tiết kiệm chi phí. Theo Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007) [1] cho rằng chiến lược tạo chọn giống chống chịu mặn và canh tác mùa vụ thích hợp xem như là cách làm kinh tế và có hiệu quả nhất để gia tăng sản lượng lúa ở vùng nhiễm mặn. Do đó, việc chọn tạo giống lúa chống chịu mặn được thực hiện bằng kỹ thuật ứng dụng chỉ thị phân tử là ưu tiên hàng đầu, bởi tiết kiệm chi phí nghiên cứu, rút ngắn thời gian nghiên cứu và độ thành công tương đối cao.

Vì thế, đề tài *“Ứng dụng chỉ thị phân tử để nghiên cứu chọn giống chống chịu mặn trên quần thể lúa tại Đồng bằng sông Cửu Long”* được thực hiện.

## **2. Mục tiêu của đề tài**

- Tuyển chọn và xác định vật liệu bố mẹ và dòng triển vọng bằng chỉ thị phân tử phục vụ cho cải tiến giống chịu mặn.
- Xác định kiểu gen và kiểu hình thích nghi với vùng bị xâm nhập mặn ở đồng bằng sông Cửu Long.
- Xác định dòng con lai ưu việt trong quần thể hồi giao có khả năng chịu mặn ở giai đoạn mạ.

## **3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài**

### **3.1. Ý nghĩa khoa học**

- Xác định nguồn vật liệu di truyền mang các gen chống chịu mặn trong quá trình lai tạo.
- Khai thác có hiệu quả chỉ thị phân tử để phát hiện gen đích chống chịu mặn trong quần thể con lai đang phân ly và ổn định dòng con lai thông qua hồi giao để kiểu gen của các dòng con lai mang gen đích chịu mặn trở thành trạng thái đồng hợp tử.

### 3.2. Ý nghĩa thực tiễn

- Chọn giống lúa mang gen chống chịu mặn phục vụ sản xuất lúa tại ĐBSCL. Tuyển chọn được 13 dòng lúa triển vọng chống chịu mặn mang gen *Saltol* ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> bao gồm các dòng: dòng số 1: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, 2: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40, 3: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51, 4: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52, 5: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16, 6: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-18, 7: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34, 8: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48, (của quần thể OM1490/Pokkali //OM1490) và các dòng 9: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, 10: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16, 11: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34, 12: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39 và 13: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48 (Từ tổ hợp lai OMCS2000/Pokkali//OMCS2000)".

- Khai thác nội dung chọn giống chống chịu mặn nhờ chỉ thị phân tử và quần thể hồi giao làm rút ngắn quá trình cải tiến giống lúa cao sản chịu mặn ở giai đoạn mạ.

## 4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu của đề tài

### 4.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là tập đoàn giống lúa mùa, tập đoàn giống lúa cao sản ở đồng bằng sông Cửu Long.

### 4.2. Phạm vi nghiên cứu

#### Phạm vi chuyên môn:

Phạm vi nghiên cứu của đề tài là xác định kiểu hình, kiểu gen chống chịu mặn của bộ giống lúa mùa cao sản được trồng tại các tỉnh ĐBSCL, ở giai đoạn mạ, có khả năng thích nghi rộng và ổn định về năng suất.

#### Địa điểm nghiên cứu:

Thu thập bộ lúa mùa tại các vùng trồng lúa mùa của 10 tỉnh ĐBSCL. Đề tài được tiến hành tại phòng thí nghiệm Công ty công nghệ sinh học PCR; phòng thí nghiệm, hệ thống nhà lưới, nhà kính và lô đất thí nghiệm của Bộ môn Di truyền giống và Bộ môn Di truyền, chọn giống – Viện lúa ĐBSCL từ 06/2015 – 09/2018.

Phòng thí nghiệm, hệ thống nhà lưới, nhà kính và lô đất thí nghiệm của Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL từ 06/2015 – 09/2021.

## **5. Tính mới của đề tài**

Đề tài cung cấp thông tin di truyền và vật liệu khởi đầu làm bố mẹ trong lai tạo giống lúa chịu mặn.

Đánh giá các gen chống chịu mặn còn hiệu lực tại ĐBSCL.

Bên cạnh, đề tài thực hiện nhằm chọn tạo giống lúa chống chịu mặn, đề tài còn chú trọng đến năng suất, phẩm chất và thời gian sinh trưởng phù hợp. Đây là điều kiện quyết định để các sản phẩm giống lúa có thể ứng dụng và phát triển rộng khi đề tài hoàn thành.

Đề xuất phương pháp lai tạo hồi giao cải tiến sử dụng ứng dụng chỉ thị phân tử để rút ngắn thời gian chọn tạo giống chịu mặn, qui tụ gen kháng mặn của cây lúa.

## CHƯƠNG 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI

Theo thống kê của FAO (2010) [36], cây lúa được trồng trên khắp thế giới nhưng nhiều nhất là ở châu Á. Tổng sản lượng gạo thế giới năm 2016 đạt 493,0 triệu tấn. Trong đó, tổng sản lượng gạo của châu Á dự báo đạt 446,2 triệu tấn.

#### 1.1. Tình hình xâm nhập mặn

##### 1.1.1. Trên thế giới

Theo tính toán của Zhang và Peng (1996) [89] đến năm 2030 sản lượng lúa của thế giới cần phải đạt 800 triệu tấn mới có thể đáp ứng được nhu cầu lương thực của con người [89]. Với tình hình dân số tăng nhanh, thế giới sẽ phải đối mặt với nguy cơ thiếu lương thực. Theo một nghiên cứu của Lobell, đến năm 2030 sản lượng lương thực ở châu Á sẽ giảm khoảng 10%, đặc biệt là sản phẩm lúa gạo theo Lobell, D. B và M. B. Burke (2008) [60]. Nguyên nhân năng suất và sản lượng lúa gạo giảm đi do ảnh hưởng bởi thiên tai, sâu bệnh và các yếu tố môi trường. Trong đó, yếu tố đáng chú ý là hiện tượng đất nhiễm mặn. Trên thế giới, đất trồng trọt bị ảnh hưởng mặn ước khoảng 397 triệu ha, chiếm khoảng 1/3 tổng diện tích đất canh tác theo Chen, S. và *ctv* (2001) [32].

Độ mặn của đất là một khó khăn lâu dài và lan rộng trên chín trăm triệu ha trên khắp thế giới theo Singh, A. (2022) [76]. Các báo cáo gần đây cho thấy rằng hơn một tỷ ha đất bị ảnh hưởng bởi độ mặn của đất và liên tục lan rộng. Báo cáo đã ghi nhận xâm nhập mặn đang gia tăng hơn hai triệu ha mỗi năm. Tình trạng nhiễm mặn đất đang gia tăng trên toàn cầu và mở rộng ra hơn 100 quốc gia theo Singh, A. (2022) [76].

Thiệt hại trong nông nghiệp do mặn rất khó đánh giá nhưng ước tính là đáng kể và dự kiến sẽ tăng theo thời gian. Xâm nhập mặn đặc biệt phổ biến rộng rãi ở các vùng khô hạn và bán khô cằn, nơi sản xuất trồng trọt yêu cầu có các công trình thủy lợi. Ít nhất 20% diện tích đất canh tác bị ảnh hưởng bởi mặn, với một số ước tính

cao nhất có thể đạt 50%. Xâm nhập mặn làm giảm diện tích tưới của thế giới khoản 1-2% mỗi năm, đánh khó khăn nhất ở các vùng khô hạn và bán khô hạn theo Chen, S. và *ctv* (2001) [32]. Trong khi đó, dân số thế giới tiếp tục tăng tổng diện tích đất canh tác dường như đã chững lại. Do đó, cần thiết phải tăng sản xuất lương thực bằng cách tăng năng suất trên một đơn vị diện tích.

Tình trạng xâm nhập mặn xảy ra ở nhiều khu vực trên thế giới. Trường hợp cực đoan nhất của xâm nhập mặn xảy ra ở một số sông của Úc. Tại châu Âu, quá trình xâm nhập mặn tại các con sông do các hành động của con người đang ngày càng trở nên tồi tệ hơn. Tình trạng xâm nhập mặn sông là một vấn đề lớn ở Tây Ban Nha gây thiếu nước ngọt và đáng kể. Tại các vùng đồng bằng sông Ebro, do đặc điểm của đất và các hoạt động nông nghiệp, độ mặn của các con sông cao hơn ở Úc, nhưng việc bảo tồn các con sông không nằm trong số các ưu tiên hoạt động quản lý tài nguyên nước vì vậy những vấn đề này vẫn không được giải quyết. Khu vực Murcia là khu vực bán khô cần nơi thủy lợi là hoạt động phổ biến và các con sông bị nhiễm mặn là kết quả của việc khai thác quá mức các nguồn tài nguyên nước. Tình trạng lượng mưa thấp hơn, hạn hán tồi tệ hơn, tiêu thụ nhiều nước hơn sẽ khiến độ mặn ở các con sông tăng cao trong khu vực Địa Trung Hải.

Xâm nhập mặn là phổ biến rộng rãi trong nông nghiệp tưới tiêu, đặc biệt là các nước châu Á và châu Phi có diện tích đất lớn bị ảnh hưởng ở Ấn Độ và Trung Quốc và tỉ lệ lớn đất được tưới tiêu bị ảnh hưởng ở Argentina, Ai Cập, Iran, Pakistan và Mỹ.

### ***1.1.2. Tình hình mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long***

Đồng bằng sông Cửu Long là nơi có lượng đất đai màu mỡ, khí hậu ôn hòa, hệ thống sông suối, kênh rạch dày đặc, nên rất thuận lợi cho phát triển nông nghiệp. Với diện tích chỉ chiếm 12% tổng diện tích tự nhiên cả nước, bao gồm 13 tỉnh và thành phố với số dân trên 17 triệu người, Đồng bằng sông Cửu Long hàng năm đóng góp đến 27% GDP với 90% số lượng gạo xuất khẩu theo Paik, S và *ctv* (2020) [67]. Đồng bằng sông Cửu Long cũng đang đảm nhận vai trò quan trọng về bảo

đảm “an ninh lương thực” của đất nước và ở mức nhất định “an ninh lương thực” cho khu vực và thế giới. Tuy nhiên trong nước ta, Đồng bằng sông Cửu Long là nơi có địa hình thấp, nhiều nơi cao trình chỉ đạt từ 20-30cm so với mặt nước biển, có đường bờ biển dài nên được đánh giá là khu vực chịu ảnh hưởng mạnh mẽ và nghiêm trọng nhất của biến đổi khí hậu theo Schneider và ctv (2020) [73].

Trong những năm gần đây, tình trạng xâm nhập mặn diễn ra mạnh mẽ hơn. Cụ thể theo thống kê của Trung Tâm Khí tượng Quốc gia, tình trạng xâm nhập mặn từ năm 2016 đến 2020 diễn ra gay gắt. Nếu như đợt xâm nhập mặn năm 2016 được xem là đợt nhiễm mặn kỷ lục, 100 năm mới lặp lại, thì mùa khô năm 2020 đã phá vỡ mọi kỷ lục trước đó. Điều đó chứng tỏ, biến đổi khí hậu làm ảnh hưởng rất nghiêm trọng trong sản xuất mùa màng của bà con nông dân, đặc biệt là bà con nông dân trồng lúa ở các tỉnh ĐBSCL. Dự báo các đợt nhiễm mặn lớn sẽ xuất hiện trong tương lai gần.



(Nguồn: Trung tâm Dự báo Khí tượng Thủy văn Quốc gia 2020) [20]

### Hình 1.1. So sánh sự xâm nhập mặn năm 2016 và năm 2020 ở các tỉnh ĐBSCL

Hiện trạng xâm nhập mặn vùng cửa sông Cửu Long từ đầu mùa khô đến giữa tháng 3/2017, độ mặn xuất hiện lớn nhất so với cùng kỳ (CK) năm 2016 tại một số trạm điển hình vùng cửa sông Cửu Long như dưới đây:

Tại Vàm Kênh, trên sông Cửa Tiểu: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 23,5g/l so với cùng kỳ năm 2016 (23,6g/l) thấp hơn 0,1 g/l.



Tại Vàm Giồng, trên sông Cửa Tiểu: độ mặn lớn đến ngày 14/3/2017 đạt 3,6 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (10,4g/l) thấp hơn 6,8 g/l.

Tại Xuân Hòa, trên sông Cửa Tiểu: độ mặn lớn đến ngày 14/3/2017 đạt 0,6 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (4,5g/l) thấp hơn 3,9 g/l.

Tại Bình Đại, trên sông Cửa Đại: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 25,6 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (27,0g/l) thấp hơn 1,4 g/l.

Tại Lộc Thuận, trên sông Cửa Đại: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 14,2g/l so với cùng kỳ năm 2016 (16,8 g/l) thấp hơn 2,6 g/l.

Tại Giao Hòa, trên sông Cửa Đại: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 3,2 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (8,5g/l) thấp hơn 5,3 g/l.

Tại An Thuận, trên sông Hàm Luông: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 29,0 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (31,5g/l) thấp hơn 2,5 g/l.

Tại Sơn Đốc, trên sông Hàm Luông: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 13,1 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (27,4g/l) thấp hơn 14,3 g/l.

Tại Bến Trại, trên sông Cổ Chiên: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 25,2 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (29,3g/l) thấp hơn 4,1 g/l.

Tại Trà Vinh, trên sông Cổ Chiên: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 9,6 g/l so với cùng kỳ năm 2016 (14,6g/l) thấp hơn 5,0 g/l.

Tại Trần Đề, trên sông Hậu: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 20,3 g/l so với cùng kỳ năm 2016 thấp hơn 7,0 g/l.

Tại Đại Ngãi, trên sông Hậu: độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3/2017 đạt 7,2 g/l so với cùng kỳ năm 2016 thấp hơn 6,5 g/l.

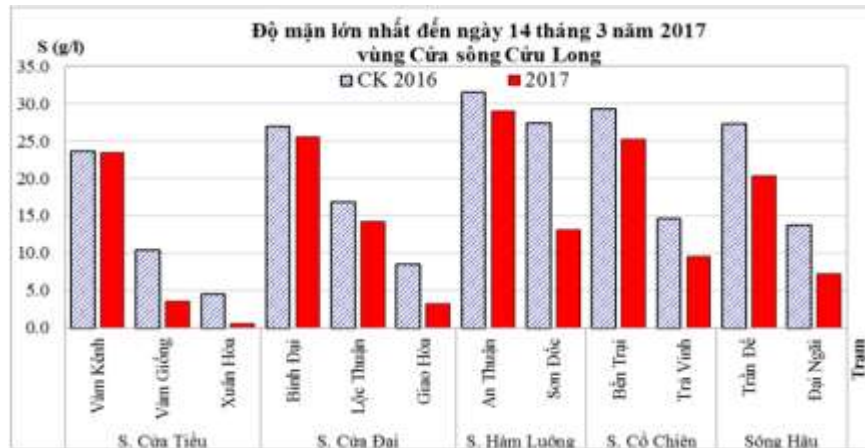
**Bảng 1.1. Độ mặn lớn nhất (g/l) nhất đến ngày 14/3/2017 ở một số trạm ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long**

TT	Trạm	Sông	K/c từ biển (km)	Độ mặn lớn nhất (g/l) đến ngày 14/3		So sánh 2016 (+) tăng (-) giảm
				2016	2017	
1	Vàm Kênh	Cửa Triều	4	23,6	23,5	-0,1
2	Vàm Giồng	Cửa Triều	27	10,4	3,6	-6,8
3	Xuân Hòa	Cửa Triều	43	4,7	0,6	-3,9
4	Bình Đại	Cửa Đại	8	27	25,6	-1,4
5	Lộc Thuận	Cửa Đại	20	16,8	14,2	-2,6
6	Giao Hòa	Cửa Đại	38	8,5	3,2	-2,5
7	An Thuận	Hàm Luông	5	31,5	29,0	-2,5
8	Sơn Đốc	Hàm Luông	24	27,4	13,1	-14,3
9	Bến Trại	Cổ Chiên	6	29,3	25,2	-4,1
10	Trà Vinh	Cổ Chiên	26	14,6	9,6	-5
11	Trần Đề	Sông Hậu	6	27,3	20,3	-7
12	Đại Ngải	Sông Hậu	33	13,7	7,2	-6,5

(Nguồn: Viện khoa học thủy lợi Miền Nam, 2017)

Tình trạng xâm nhập mặn tác động tiêu cực đến sản xuất nông nghiệp của vùng. Vào mùa khô, ảnh hưởng của nhiệt độ trung bình ngày càng tăng sẽ làm nhu cầu nước tiêu dùng và nhất là nhu cầu nước tưới cho cây trồng tăng lên, trong khi nước từ thượng nguồn đổ về không nhiều, kết hợp với mực nước biển ngày càng dâng cao, khi thủy triều lên, nước biển theo các con sông vào sâu trong đất liền làm khả năng xâm nhập mặn, gây khó khăn cho hoạt động sản xuất nông nghiệp. Bởi lẽ khi bị ngập mặn kéo dài, đất sẽ bị chua mặn (do bị nhiễm mặn, phèn sunfat bị rửa trôi), làm thay đổi tính chất cơ – lý hóa thổ nhưỡng và các chất dinh dưỡng, từ đó ảnh hưởng tới cây trồng, nhất là lúa nước (như làm khô héo lá, chết cây), ảnh hưởng xấu đến năng suất và chất lượng nông sản thu hoạch. Xâm nhập mặn sẽ biến nhiều vùng đồng bằng từ nước ngọt trở thành nước lợ. Theo dự báo, vào năm 2050, khoảng 45% diện tích của Đồng bằng sông Cửu Long có nguy cơ nhiễm mặn cao,

năng suất lúa có khả năng giảm 9%, diện tích trồng lúa sẽ bị thu hẹp đáng kể. Cũng theo dự báo, nếu nước biển dâng cao 1m thì 70% diện tích của vùng bị xâm nhập mặn, mất khoảng 2 triệu ha diện tích đất trồng lúa.



**Hình 1.2. Đồ thị so sánh độ mặn lớn nhất đến ngày 14 tháng 3 năm 2017 vùng Cửa sông Cù Long**

(Nguồn: Viện khoa học thủy lợi Miền Nam, 2017)

Theo Bộ Tài nguyên và Môi trường công bố, biến đổi khí hậu và nước biển dâng sẽ làm Đồng bằng sông Cù Long ngập chìm từ 19 – 38% nếu mực nước biển dâng thêm 1m. Trong khi đó dự báo mực nước biển sẽ dâng cao 33cm vào năm 2050 và 1m vào năm 2100. Như vậy, mực nước biển dâng sẽ làm giảm diện tích nông nghiệp nói chung và diện tích lúa của vùng nói riêng (Tổng cục Thủy lợi Miền Nam, 2016).



**Hình 1.3. Mật độ xâm nhập mặn tại Đồng bằng sông Cù Long**

(Nguồn: Tổng cục Thủy lợi Việt Nam, 2016)

Hiện trạng xâm nhập mặn vùng hai sông Vàm Cỏ từ đầu mùa khô đến giữa tháng 3/2017, độ mặn xuất hiện lớn nhất so với cùng kỳ năm 2016 tại một số trạm điển hình như dưới đây:

Tại Cầu Nổi, trên dòng chính sông Vàm Cỏ: độ mặn lớn nhất từ đầu mùa khô đến ngày 14/03/2017 đạt 13,6g/l; so với cùng kỳ năm 2016 (20,3g/l) thấp hơn 6,7g/l.

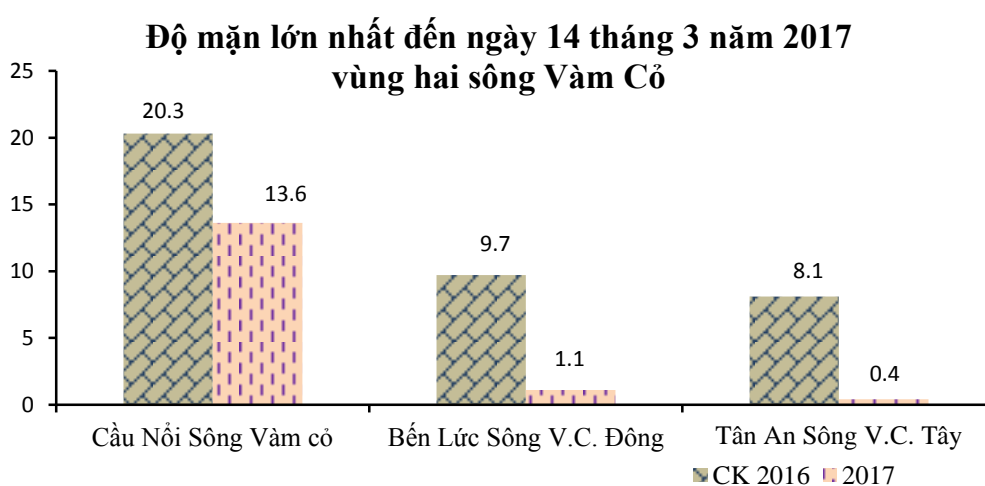
Trên sông Vàm Cỏ Đông, tại trạm Bến Lức: độ mặn lớn nhất đạt 1,1g/l so với cùng kỳ năm 2016 (9,7g/l) thấp hơn 8,6g/l.

Trên sông Vàm Cỏ Tây, tại trạm Tân An: độ mặn lớn nhất đạt 0,4g/l so với cùng kỳ năm 2016 (8,1g/l) thấp hơn 7,7g/l.

**Bảng 1.2. Độ mặn lớn nhất (g/l) đến ngày 14/3/2017 tại vùng Hai sông Vàm Cỏ**

STT	Trạm	Sông, rạch	Khoảng cách từ biển (km)	Độ mặn lớn nhất đến ngày 14/3(g/l)		So sánh với 2016 tăng (+) giảm (-)
				2016	2017	
1	Cầu Nổi	Vàm cỏ	30	20,3	13,6	-6,7
2	Bến Lức	V.C. Đông	67	9,7	1,1	-8,6
3	Tân An	V.C. Tây	78	8,1	0,4	-7,7

(Nguồn: Viện khoa học thủy lợi Miền Nam, 2017)



**Hình 1.4. Đồ thị thể hiện độ mặn lớn nhất đến ngày 14 tháng 3 năm 2017 vùng hai sông Vàm Cỏ**

Nhìn chung, từ cuối năm 2015 đến tháng 6/2016, các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long đã phải hứng chịu nhiều đợt thiên tai như hạn hán, xâm nhập mặn nghiêm trọng. Hạn hán và xâm nhập mặn đã làm thiệt hại gần 139.000 ha lúa trong vùng, trong đó hơn 50% diện tích bị phá hủy hoàn toàn, thiệt hại khoảng 9,3 triệu USD. Cà Mau, Kiên Giang, Bến Tre, Bạc Liêu là những tỉnh có diện tích lúa bị thiệt hại lớn nhất. Đồng thời, khoảng 400.000 hộ gia đình (1,5 triệu người) bị thiếu nước ngọt. Ước tính tổng thiệt hại trong mùa hạn-xâm nhập mặn 2015–2016 ở toàn ĐBSCL là khoảng 326,2 triệu người, trong đó Kiên Giang, Cà Mau và Bạc Liêu là các tỉnh bị ảnh hưởng nặng nhất: thiệt hại khoảng 188,7 triệu người theo Nguyen, C. T., Ha, H. N., & Tran, T. T. (2020) [65].

Tình trạng xâm nhập mặn trong năm 2019–2020 tương đương với năm 2015–2016 và hạn hán năm 2019–2020 thậm chí còn nghiêm trọng hơn đợt hạn hán kỷ lục trong năm 2015–2016. Hạn hán, xâm nhập mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long năm 2019 diễn ra sớm hơn thường lệ, từ cuối tháng 11, so với tháng 01 năm 2020. Tính đến tháng 1 năm 2020, có những khu vực mặn xâm nhập sâu vào đất liền tới 70 km, như những vùng ở Bến Tre, Tiền Giang, một phần Sóc Trăng và Bạc Liêu, Cà Mau, Kiên Giang, Trà Vinh và những nơi khác trong đợt hạn-mặn năm 2019–2020, ảnh hưởng đến gần 100.000 ha lúa, 30.000 ha cây ăn trái ở đồng bằng sông Cửu Long. Bên cạnh đó, có khoảng 100.000 hộ dân có nguy cơ thiếu nước máy, ước tính thiệt hại về kinh tế sẽ lớn hơn đợt hạn - mặn 2015–2016, thiệt hại khoảng 346,3 triệu người theo Nguyen, C. T., Ha, H. N., & Tran, T. T. (2020) [65].

## **1.2. Tác hại của đất mặn đến cây lúa**

### ***1.2.1. Tác hại của đất mặn***

Cây trồng thể hiện một loạt các phản ứng dưới tác động của mặn. Độ mặn không chỉ làm giảm sản lượng nông nghiệp của hầu hết các loại cây trồng mà còn ảnh hưởng đến các đặc tính lý hóa của đất và cân bằng sinh thái của khu vực. Các tác động của độ mặn bao gồm - năng suất nông nghiệp thấp, lợi nhuận kinh tế thấp và xói mòn đất theo Wang, F., C. và *ctv* (2016) [83]. Ảnh hưởng của độ mặn là kết quả của những tương tác phức tạp giữa các quá trình hình thái, sinh lý và sinh hóa bao gồm sự nảy mầm của hạt, sự phát triển của thực vật và sự hấp thụ nước và chất dinh dưỡng [83]. Độ mặn ảnh hưởng đến hầu hết các khía cạnh của sự phát triển của thực vật bao gồm: sự nảy mầm, sinh trưởng và phát triển sinh sản. Độ mặn của đất

gây ra độc tính ion, stress thẩm thấu, thiếu chất dinh dưỡng (N, Ca, K, P, Fe, Zn) và stress oxy hóa đối với cây trồng, do đó hạn chế sự hút nước từ đất [83], theo Xiao, C., J. và *ctv* (2016) [85]. Độ mặn của đất làm giảm đáng kể sự hấp thụ photpho (P) của thực vật vì các ion photphat kết tủa với các ion Ca [83], [85]. Một số nguyên tố, chẳng hạn như natri, clo và bo, có tác dụng độc hại cụ thể đối với thực vật. Sự tích tụ quá nhiều natri trong thành tế bào có thể nhanh chóng dẫn đến stress thẩm thấu và chết tế bào [83]. Thực vật nhạy cảm với các nguyên tố này có thể bị ảnh hưởng ở nồng độ muối tương đối thấp nếu đất chứa đủ nguyên tố độc hại. Vì nhiều muối cũng là chất dinh dưỡng thực vật, nồng độ muối cao trong đất có thể làm đảo lộn sự cân bằng dinh dưỡng trong cây hoặc cản trở sự hấp thụ một số chất dinh dưỡng. Độ mặn cũng ảnh hưởng đến quang hợp chủ yếu thông qua việc giảm diện tích lá, hàm lượng diệp lục và độ dẫn khí khổng, và ở mức độ thấp hơn thông qua việc giảm hiệu quả của hệ thống quang II [75], [85]. Độ mặn ảnh hưởng xấu đến sự phát triển sinh sản bằng cách tạo vi bào tử và kéo dài nhị hoa, tăng cường quá trình chết tế bào theo chương trình ở một số loại mô, sự phát triển không đầy đủ của noãn và già đi của phôi thụ tinh. Môi trường sinh trưởng nhiễm mặn gây ra nhiều ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của cây trồng, do tiềm năng thẩm thấu của dung dịch đất thấp (stress thẩm thấu), các hiệu ứng ion cụ thể (stress mặn), mất cân bằng dinh dưỡng, hoặc sự kết hợp của các yếu tố này [75]. Tất cả những yếu tố này đều gây ra những ảnh hưởng xấu đến sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng ở cấp độ sinh lý và sinh hóa, và ở cấp độ phân tử [75].

### ***1.2.2. Phân loại thực vật theo đặc trưng chịu mặn***

Thực vật tích lũy muối (euhalophyte)

Thực vật thải muối (crinohalophyte)

Thực vật cách ly muối (localihalophyte)

Thực vật không thấm muối (glycohalophyte)

### 1.2.3. Ảnh hưởng của mặn đến sinh trưởng của cây trồng

Thách thức chính của đất mặn đối với đất nông nghiệp là ảnh hưởng của chúng đến mối quan hệ nước và cây. Muối dư thừa trong vùng rễ làm giảm lượng nước trong vùng rễ hữu dụng cho cây và là nguyên nhân làm cho cây trồng tốn nhiều năng lượng để loại bỏ muối và hấp thu nước tinh khiết.

Theo Ashraf, M. (2009) [22] Cây lúa trồng ở đất mặn đối mặt với stress thẩm thấu cao, nồng độ cao của các ion độc tố như  $\text{Na}^+$  và  $\text{Cl}^-$  và cuối cùng gây ra sự giảm sinh trưởng. Sự hấp thu ion làm cho việc điều chỉnh thẩm thấu dễ dàng hơn nhưng có thể dẫn đến ngộ độc ion và mất cân bằng dinh dưỡng. Sự ức chế của muối gây ra mất cân bằng dinh dưỡng có thể được giảm tới mức tối thiểu cùng với việc cung cấp đúng dinh dưỡng cho cây.

James, J và Camberato (2001) [50] cho rằng mặn làm chậm sự nảy mầm của hạt và giảm sinh trưởng của cây trồng do ảnh hưởng của quá trình thẩm lọc làm hạn chế khả năng hấp thu nước của rễ cây.

Nồng độ muối cao trong vùng rễ làm giảm lượng nước hữu hiệu cho cây trồng và làm cây tiêu hao năng lượng hơn trong việc hấp thu nước hoặc nước bị mất ra khỏi tế bào thực vật gây hiện tượng co rút và khô héo tế bào theo Blanco và *ctv* (2003) [25].

Độ mặn trong đất cũng có thể ảnh hưởng đến cây trồng do gián tiếp tác động đến sự thiếu dưỡng chất hoặc mất cân bằng dinh dưỡng trong cây, như tỉ lệ  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  vượt ngưỡng sự thiếu hụt Ca xảy ra, hoặc trực tiếp gây ra độc cho cây trồng như các ion gây độc ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , B,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ -N). Sự gia tăng nồng độ muối gây ra việc giảm đối với trọng lượng khô của cây, hấp thu dinh dưỡng chất, hàm lượng N, P, K và năng suất hạt [21].

Sức sống để đánh giá mức độ chống chịu mặn, nó được tổng hợp 3 chỉ tiêu là chiều cao, trọng lượng khô và thời gian sống sót. Sức sống rất quan trọng và thay đổi tùy thuộc vào hàm lượng muối trong thân, lá, chẳng hạn như cùng lượng  $\text{Na}^+$  hấp thu vào thân thì nồng độ  $\text{Na}^+$  trên lá của cây lúa cao thấp hơn cây lúa lùn nên

cây cao ít bị ảnh hưởng bởi muối, trọng lượng khô sẽ lớn hơn nhưng chưa chắc chống chịu mặn tốt hơn. Khả năng chặn ion của lá cũng là một chỉ tiêu đánh giá tính chống chịu mặn, còn gọi là sự chống chịu của mô, có thể được ước lượng qua tốc độ chết của lá tương quan với sự gia tăng nồng độ  $\text{Na}^+$  trong lá. Nồng độ muối cao trong đất là nguyên nhân ảnh hưởng xấu đến cây trồng. ảnh hưởng dễ thấy nhất là nước kém hữu dụng cho cây ở vùng rễ. Điều này do áp suất thẩm thấu của dung dịch đất gia tăng. Ngoài ra nồng độ đậm đặc của những ion muối có thể gây độc đối với cây. Khi nồng độ muối gia tăng, sự sinh trưởng của cây giảm cho đến khi cây già và chết, mỗi loại cây trồng khác nhau thì khác nhau về khả năng chịu mặn trong đất.

Theo Maas và Hoffman (1977) [61] cho rằng khả năng chịu đựng mặn của cây thay đổi theo giai đoạn sinh trưởng của cây và ông kết luận rằng lúa mạch, lúa mì và bắp chịu đựng nồng độ muối gần giống lúa. Củ Cải Đường và cỏ Linh Lăng thì miễn cảm suốt giai đoạn nảy mầm, đậu nành thì thay đổi phụ thuộc vào giống.

**Bảng 1.3. Khả năng chịu mặn của cây trồng ở giai đoạn sinh trưởng**

Cây trồng	Giai đoạn nảy mầm	Giai đoạn đánh giá
Lúa mạch	Rất tốt	Tốt
Bắp	Tốt	Xấu
Lúa mì	Khá tốt	Trung bình
Cỏ linh lăng	Xấu	Tốt
Củ cải đường	Rất xấu	Tốt
Đậu	Rất xấu	Rất xấu

(Nguồn: Maas và Hoffman, 1997)[74]

#### 1.2.4. Ảnh hưởng của mặn đến năng suất cây trồng

Nhiều nghiên cứu đã khám phá mối liên hệ giữa độ mặn của đất và năng suất cây trồng. Hầu hết các cây trồng không giảm năng suất đáng kể ở độ mặn 2 dS/m, trong khi các cây nhạy cảm cho thấy sự giảm năng suất giữa độ mặn 2–4 dS/m. Mức độ mặn vượt quá 4 dS/m có thể làm giảm năng suất đối với hầu hết các loại



cây trồng, ngoại trừ những cây chịu mặn. Phần lớn các loại cây trồng không thể phát triển nếu độ mặn của đất vượt quá 16dS/m. Thông thường, năng suất cây trồng không bị nhiễm mặn tương đương với mức ngưỡng và giảm khi mức độ mặn tăng lên. Việc giảm năng suất cây trồng trực tiếp được ghi nhận trong các nghiên cứu với sự gia tăng độ mặn vượt ngưỡng cho phép. Ảnh hưởng của các mức độ mặn khác nhau đến năng suất cây trồng được tóm tắt trong Bảng 1.4.

**Bảng 1.4. Ảnh hưởng của các cấp độ mặn khác nhau lên năng suất cây trồng**

Phân loại độ mặn	Cấp độ mặn (dS/m)	Ảnh hưởng lên năng suất cây trồng
Không mặn	< 2	Không đáng kể
Mặn nhẹ	2-4	Chỉ ảnh hưởng đối với cây nhạy cảm
Mặn trung bình	4-8	Ảnh hưởng đến nhiều cây
Mặn cao	8-16	Ảnh hưởng đến tất cả các loại cây ngoại trừ các cây chống chịu mặn
Rất mặn	>16	Ảnh hưởng đến hầu hết tất cả các loại cây ngoại trừ cây chống chịu mặn cao

(Nguồn: Singh, 2022) [76]

#### **1.2.5. Ảnh hưởng trong giai đoạn nảy mầm và đầu giai đoạn mạ trên cây lúa**

Ảnh hưởng của mặn bắt đầu lúc 30, 60, 90 ngày sau khi cấy nhận thấy rằng mặn gây hại nhiều nhất ở thời kỳ non nhất. Khi cây già hơn sự chống chịu của chúng gia tăng. Ở 90 ngày, cây hầu như không bị ảnh hưởng bởi mặn trong đất cao bằng 1%.

Sự nảy mầm khoảng 80-100% xảy ra ở  $EC = 25-30 \text{ mS/cm}^{-1}$  ở  $25^\circ\text{C}$  của dung dịch mặn sau 14 ngày. Thời gian nảy mầm của hạt lúa kéo dài khi tăng nồng độ muối vì nó ảnh hưởng đến lượng nước hạt hấp thụ.

Cây lúa mẫn cảm với mặn trong thời gian cây mạ 14 ngày tuổi, cây lúa cho thấy triệu chứng stress như lá xoắn lại, hơi vàng chóp lá xuất hiện nhiều hơn ở các giống nhiễm. Cây lúa mẫn cảm nhiều trong giai đoạn cây mạ non (2-3 lá) hơn trong thời gian nảy mầm.

Giá trị EC làm giảm 50% số cây ở tuần tuổi sau khi cấy dao động từ 2-3 dS/m trong khi mức giới hạn ( $LD_{50}$ ) của mặn do sinh trưởng của cây mạ khoảng 0,5 dS/m. Những thông số sinh trưởng như: vật chất khô, chiều cao cây mạ, chiều dài rễ và sự xuất hiện rễ mới giảm một cách có ý nghĩa ở 0,5-0,6 dS/m  $LD_{50}$  cho phần trăm nảy mầm và những đặc điểm của cây mạ khác nhau giữa các giống lúa [74].

Đầu giai đoạn mạ mặn gây ra sự khô và cuộn tròn lá, màu nâu của chóp lá và cuối cùng là sự chết cây mạ. Nói chung triệu chứng gây hại của mặn xuất hiện trước hết trên lá thứ nhất, sau đó lá thứ hai và cuối cùng là đến lá trưởng thành. Mặn ngăn cản sự kéo dài lá và sự hình thành lá mới. Sự sinh trưởng giảm với việc gia tăng áp suất thẩm thấu cũng như giảm hấp thụ nước.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  trong lá và thân gia tăng, sự hấp thụ bề mặt của  $\text{K}^+$  và  $\text{Ca}^{2+}$  bởi cây lúa giảm. Chức năng quang hợp và hàm lượng chlorophyll giảm tỷ lệ với việc gia tăng nồng độ muối giảm kích cỡ khí khổng cho thấy nồng độ  $\text{CO}_2$  trong lá thấp chứa nhiều NaCl dẫn đến tỉ lệ quang hợp giảm. Mặn cũng ảnh hưởng bất lợi sự phát triển của rễ, giảm đáng kể bắt đầu sau sự thiết lập cây mạ và tiếp tục cho đến lúc thu hoạch.

### **1.3. Đặc tính chống chịu mặn của cây lúa**

Nhiều nghiên cứu còn cho thấy rằng, cây lúa chống chịu mặn trong suốt giai đoạn nảy mầm lại trở nên rất nhiễm trong giai đoạn mạ non (giai đoạn 2-3 lá), sau đó chống chịu trong giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng, rồi lại nhiễm trong suốt giai đoạn thụ phấn và thụ tinh, cuối cùng trở nên chống chịu hơn trong giai đoạn chín.

Theo một nghiên cứu khác của Aslam và *ctv* (2000) [23], thấy rằng tại giai đoạn trổ bông cây lúa không mẫn cảm với mặn.

Mặn gây hại trên cây lúa bắt đầu bằng triệu chứng giảm diện tích lá, những lá già nhất bắt đầu cuộn tròn và chết, theo sau đó là những lá già kế tiếp và cứ thế tiếp diễn. Cuối cùng, những cây sống sót có những lá già bị mất, những lá non duy trì sự sống và xanh. Trong điều kiện thiệt hại nhẹ, trọng lượng khô có xu hướng tăng lên trong một thời gian, sau đó giảm nghiêm trọng do giảm diện tích lá. Trong điều kiện thiệt hại nặng hơn, trọng lượng khô của chồi và rễ suy giảm tương ứng với mức độ thiệt hại.

Nhiễm mặn gây tổn hại đến cây lúa là do mất cân bằng thẩm thấu và tích lũy quá nhiều ion  $\text{Cl}^-$ . Nhưng những nghiên cứu gần đây cho thấy rằng nguyên nhân gây tổn hại cho cây lúa trong môi trường mặn là do tích lũy quá nhiều ion  $\text{Na}^+$ , ion này trực tiếp gây độc trên cây.

Ion  $\text{Na}^+$  có tác động phá vỡ và cản trở vai trò sinh học của tế bào chất trong cây. Ion  $\text{K}^+$  có vai trò quan trọng làm kích hoạt enzyme và đóng mở khí khổng, tạo ra tính chống chịu mặn của cây. Hơn nữa, sự mất cân bằng tỷ lệ Na-K trong cây sẽ làm giảm năng suất hạt. Do vậy, cây lúa chống chịu mặn bằng cơ chế ngăn chặn, giảm hấp thu  $\text{Na}^+$  và gia tăng hấp thu  $\text{K}^+$  để duy trì sự cân bằng Na-K trong chồi.

Theo Yeo và Flowers (1984) [86] những thay đổi sinh lý của cây lúa liên quan đến tính chống chịu mặn được tóm tắt như sau:

Cây lúa không hấp thu (hoặc hạn chế ở mức rất thấp) lượng muối dư thừa nhờ hiện tượng hấp thu có chọn lọc.

Cây lúa hấp thu lượng muối thừa nhưng tái hấp thu lại trong mô libe, do đó  $\text{Na}^+$  không di chuyển đến chồi thân.

Sự vận chuyển của  $\text{Na}^+$  từ rễ đến chồi là rất thấp.

Lượng muối hấp thu thừa sẽ được vận chuyển đến các lá già và được giữ lại tại đó.

Tăng tính chống chịu của cây lúa do lượng muối hấp thu dư thừa sẽ được giữ lại tại các không bào, làm giảm mức gây hại đến quá trình sinh trưởng của cây lúa.

Cây làm loãng nồng độ muối dư thừa nhờ tăng tốc độ sinh trưởng và gia tăng hàm lượng nước trong chồi.

Tất cả những cơ chế trên đều nhằm hạ thấp nồng độ  $\text{Na}^+$  trong các mô chức năng, do đó làm giảm tỉ lệ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  trong chồi ( $<1$ ).

#### **1.4. Các nghiên cứu liên quan tính chống chịu mặn trên cây lúa**

##### ***1.4.1. Nghiên cứu ngoài nước***

Nhiễm mặn là một thách thức nghiêm trọng đối với nền nông nghiệp. Hơn một phần năm tổng số đất trồng bị nhiễm mặn trên toàn cầu và diện tích này có thể tăng lên trên 50% trong vài thập kỷ tới theo Chaaou và *ctv* (2022) [30]. Mỗi năm mặn đã làm mất hàng triệu tấn lúa, mà trong đó phổ biến nhất là ở các nước như Thái Lan, Việt Nam, Banglades,... nơi sản xuất hơn 90% lúa gạo thế giới.

Trên thế giới từ những năm giữa thế kỷ XX, các nước phát triển đã xây dựng các khu nông nghiệp công nghệ cao, chẳng hạn như Hoa Kỳ đầu những năm 80 đã có hơn 100 khu khoa học nông nghiệp công nghệ. Ở Anh, đến năm 1988 đã có 38 khu vườn khoa học công nghệ với sự tham gia của hơn 800 doanh nghiệp. Bên cạnh các nước tiên tiến, nhiều nước và khu vực lãnh thổ ở Châu Á cũng đã chuyển nền nông nghiệp theo hướng số lượng là chủ yếu sang nền nông nghiệp chất lượng, ứng dụng công nghệ sinh học, công nghệ tự động hoá, cơ giới hoá, tin học hoá... để tạo ra sản phẩm có chất lượng cao, an toàn, hiệu quả. Viện Lúa quốc tế (IRRI) cũng đã có những nghiên cứu sâu trên cây lúa về các vấn đề mặn, thích ứng biến đổi khí hậu, và đã phóng thích những vật liệu lai, các kỹ thuật phòng lab cũng như kỹ thuật đồng ruộng có liên quan. Những thành tựu này là cơ sở để các quốc gia ứng dụng vào điều kiện thực tế của cụ thể từng khu vực canh tác lúa. Nhiều giống lúa chống chịu mặn ra đời như: *Pokkali*, *FL478*, *Bina Dhan 8*, *BRRI Dhan 55*, *IR64-saltol*... Các giống chịu bao gồm: *Swarna-sub1*, *IR64-sub1*, *BR11-sub1*.

Về vấn đề sâu bệnh hại (rầy nâu, đạo ôn và bạc lá) là các đối tượng chính được nghiên cứu. Việc phát hiện ra các gen chống chịu với các nòi sinh học mới giúp việc nghiên cứu và phát triển các giống lúa chống chịu stress sinh học ngày một tốt hơn. Hiện nay, trên thế giới đã phát hiện trên 25 gen kháng rầy nâu (gen *BPH*); trên 54 gen chủ lực kháng bệnh đạo ôn (*Pi*); trên 30 gen kháng bệnh bạc lá đã được phát hiện (*Xa1* đến *Xa38*) từ nhiều giống lúa.

Ngày nay, có nhiều nghiên cứu về tính chống chịu sinh học và phi sinh học đã được xuất bản. Tuy nhiên, sự kết hợp các tính trạng này với nhau để tạo giống lúa chống chịu rộng và bền vững đang là một thách thức lớn. Một số nghiên cứu giống lúa chống chịu đa dạng cũng đã được tiến hành, tuy nhiên chưa có nhiều thành tựu quan trọng.

Những giống lúa đặc sản địa phương có phẩm chất thơm ngon, chống chịu stress sinh học và phi sinh học rất hiếm. Do vậy, việc duy trì và đánh giá nguồn tài nguyên di truyền cây lúa là nội dung vô cùng cần thiết. Những stress phi sinh học bao gồm khô hạn, úng, nhiệt độ nóng, lạnh, ảnh hưởng nước mặn cùng với các yếu tố khác cũng là mục tiêu cần phải cải tiến để giống cây trồng trở nên chống chịu tốt hơn theo Brady and Weil (2002) [26].

Những thách thức cho an ninh lương thực toàn thế giới là tập trung vào các sự kiện như sau: (i) sự thay đổi khí hậu toàn cầu làm ấm lên khí quyển trái đất, (ii) thiếu nước tưới cho cây trồng, (iii) nguy cơ thiếu hụt lương thực trước tình trạng đất nông nghiệp giảm và dân số tăng, (iv) stress phi sinh học và sinh học ngày càng biểu hiện nghiêm trọng, đặc biệt nhiễm, mặn và sâu bệnh hại.

Gần đây, phương pháp cloning *SKCI* QTL lúa đã thể hiện sự ảnh hưởng đối với nồng độ ion  $K^+$ , nhận dạng gen chủ yếu như là người vận chuyển sodium *OsHKT8*. *SKCI* đã được lập bản đồ về khu vực QTL *Saltol* trên nhiễm sắc thể số 1. Kết hợp cả 2 *AtHKT1* và *OsHKT8* vào lúa để duy trì trạng thái cân bằng  $K^+$  trong rễ thông qua sự điều tiết  $Na^+$  bên trong. Mục tiêu duy nhất của chúng ta là nhận dạng cho được các alen có ích trong các gen này ở lúa để nhằm phục vụ cho công tác

chọn giống. Phân tích sự biểu hiện gen ở lúa đã mang lại nhiều thông tin có ích trên số lượng lớn các gen có liên quan đến việc phản ứng lại với mặn theo Kawasaki, S. và *ctv* (2001) [52]. Hai trong nghiên cứu này để kiểm tra sự biểu hiện genome trong giai đoạn nhạy cảm với mặn và giai đoạn hình thành bông cho thấy rằng các gen chống chịu stress mặn ở giai đoạn có sự khác biệt một cách đáng kể với giai đoạn hình thành bông PI, do vậy cần xem xét các cơ chế khác nhau đối với mỗi giai đoạn.

SSR đã được ứng dụng thành công từ năm 1995. Đó là tập hợp các đoạn chuỗi mã rất ngắn từ 2 – 10 bp. Các đoạn này xuất hiện trên chuỗi mã DNA được lặp đi lặp lại nhất định, sắp xếp ngẫu nhiên, rất khác nhau được phân tán khắp nơi trên bộ gen của sinh vật kể cả con người theo Gunter, K. (2001) [42]. Những chuỗi mã ngắn này có thể ở dạng lặp lại của hai, ba hay bốn nucleotide và được sắp xếp ngẫu nhiên trên một dãy của 5 – 50 bản sao (copy) chẳng hạn như (AT)<sub>29</sub>, (CAC)<sub>16</sub> hay (GACA)<sub>32</sub>, SSR xuất hiện rất nhiều trên bộ gen thực vật và xuất hiện trung bình sau mỗi 6 – 7 kb. Các đoạn này được khuếch đại trong phản ứng PCR nhờ vào môi xuôi (forward primer) và môi ngược (reverse primer). Sản phẩm PCR chứa các alen SSR tuân theo sự tự động và đa thành phần cho phép phân tích kiểu gen cùng lúc trên nhiều dòng và nhiều vị trí. SSR trở thành kiểu chỉ thị phân tử đồng trội phổ biến trong phân tích di truyền, ứng dụng trong chọn giống và đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của di truyền.

Sự hiện diện của SSR trên cây lúa ước tính khoảng 5.700 đến 10.000 SSR. Nhiều nghiên cứu trên cây lúa đã phát triển hàng trăm SSR và lập bản đồ di truyền cho 320 SSR [22], [29], [71]. Các chỉ thị này được dùng để phân tích sự đa dạng di truyền [30], [45] và để định vị gen và QTL trên nhiễm sắc thể của cây lúa thực hiện lai cùng và khác loài theo Singh, S. và *ctv* (2001) [77]. SSR hữu ích trong thiết lập bản đồ di truyền, bản đồ vật lý và bản đồ chuỗi mã cơ bản trên cây lúa.

Ngoài ra SSR còn cung cấp cho các nhà chọn giống và các nhà di truyền học những công cụ đáng tin cậy và hiệu quả để liên kết sự khác biệt giữa kiểu gen và kiểu hình theo Lang, N.T và B. C. Buu (2004) [54].

Các giống chịu mặn Pokkali và Nona Boka được sử dụng một cách phổ biến trong quá khứ cho mục đích chọn tạo dòng chống chịu năng suất cao. Tuy nhiên, sự nhận được các dòng mới với mức độ chống chịu thấp hơn giống cho truyền thống và sự tồn tại chống chịu được xem xét như là ưu tú chỉ trong một vài tính trạng kết hợp với tính chống chịu mặn. Sự kết hợp của các alen có lợi tăng cường các tính trạng này có thể là kết quả tìm ẩn trong mức độ chống chịu cao hơn, nó sẽ là một nhiệm vụ vô cùng khó khăn để hoàn thành với phương pháp truyền thống. Hơn nữa gần đây, việc ứng dụng bản đồ QTL được hỗ trợ với sự phân tích tỉ mỉ các tính trạng chống chịu thuộc về di truyền, sau đó có thể được rút ngắn thời gian bằng cách sử dụng chỉ thị DNA. Bằng cách phân tích tỉ mỉ sự hợp nhất tính trạng thuộc về sinh lý với công cụ di truyền và genome, một bức tranh hoàn hảo về cơ chế phức tạp của tính chống chịu ở lúa đang bắt đầu được làm sáng tỏ hơn.

Việc sử dụng chỉ thị phân tử trong nghiên cứu di truyền và phục vụ công tác chọn giống cây trồng đang được nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới triển khai rộng rãi. Nhiều bản đồ phân tử cùng vị trí các gen kiểm soát các tính trạng khác nhau đã được định vị thay thế cho những phương pháp đánh giá theo hình thái cổ điển thông thường. Các nhà khoa học ở Trường Đại học Cornell (Mỹ) là những người đầu tiên định vị hàng loạt các chỉ thị phân tử RFLP trên bản đồ di truyền ở lúa. Trong chương trình genome lúa do Nhật chủ trì, các nhà khoa học đã phát hiện và thiết kế, trong đó có nhiều chỉ thị liên kết với gen có ý nghĩa kinh tế quan trọng. Một trong những yếu tố chính làm khó khăn trong chiến lược phát triển sản lượng nông sản, năng suất tấn/ha, và thử thách lớn trong mục tiêu an toàn lương thực, trong điều kiện khí hậu toàn cầu đang thay đổi.

Nghiên cứu chọn tạo giống lúa chống chịu mặn trên thế giới cho đến nay đã và đang được nghiên cứu sâu rộng. Nhiều cách tiếp cận thông qua sự tiến bộ trong công nghệ được áp dụng trong các chương trình chọn giống như chọn giống hỗ trợ bằng chỉ thị phân tử (MAS), kỹ thuật chuyển nạp gen, chọn giống đột biến bằng tác nhân hóa lý, và gần đây nhất là áp dụng kỹ thuật chỉnh sửa gen CRISPR/Cas để

chỉnh sửa các gen mục tiêu để tạo ra tính chống chịu mặn trên lúa theo Haque và *ctv* (2021) [43].

#### **1.4.2. Nghiên cứu trong nước**

##### **Đối với mặn:**

Cây lúa vẫn có thể bị mặn gây hại ở giai đoạn mạ, hoặc giai đoạn trổ đến chín. Việc xác định tiêu chuẩn chọn giống chống chịu mặn, xác định các tính trạng cần thiết, cơ chế kháng mặn ở giai đoạn mạ, và giai đoạn phát dục là mục tiêu của nhiều chương trình chọn giống. Tính trạng được quan tâm nhiều là mức độ tổn thương trên lá ở giai đoạn mạ, tỉ lệ hạt bất thụ ở giai đoạn phát dục, tỉ số  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  của chồi thân, trong điều kiện môi trường mặn. Ảnh hưởng gây hại do mặn trên cây lúa rất phức tạp, chúng ta không chỉ quan sát tính trạng hình thái, mà còn tính trạng sinh lý, sinh hóa, tương tác với môi trường. Do đó, việc chọn lọc cá thể chống chịu mặn không thể căn cứ trên một tính trạng riêng biệt nào đó. Giống chống chịu mặn nổi tiếng Nona Bokra được ghi nhận tốt ở giai đoạn mạ và giai đoạn tăng trưởng, nhưng giống chuẩn kháng Pokkali được ghi nhận tốt ở giai đoạn phát dục. Giống Đốc Đỏ và Đốc Phụng đã được đánh giá như nguồn cho gen kháng ở ĐBSCL [2]. Chương trình chọn giống lúa chống chịu mặn tập trung khai thác nguồn tài nguyên di truyền địa phương, tính thích nghi với môi trường và tập quán canh tác. Kỹ thuật di truyền phân tử hiện được ứng dụng để tạo giống lúa năng suất cao và chống chịu điều kiện bất lợi chính [5] đã nghiên cứu và họ đã tìm ra nhiều loci tính trạng số lượng (quantitative trait loci – QTLs) cho tính trạng mặn đã chuyển thành công gen chống chịu mặn vào cây lúa (*Oryza sativa* L.) trên giống lúa AS996 theo Robert Koebner (2003) [70], giống lúa OM4900 [56], giống lúa OM5629 [56]. Ứng dụng công nghệ di truyền phân tử là xu hướng tất yếu của thời đại ngày nay khi nền kinh tế nước ta đang ở trong thời kỳ công nghiệp hóa - hiện đại hóa (CNH -HĐH) mà trước hết là CNH-HĐH nông nghiệp nông thôn.

Việt Nam là một nước nông nghiệp với 75% dân số sống dựa vào nông nghiệp. Sản xuất nông nghiệp hiện nay vẫn chủ yếu dựa trên các hộ cá thể, quy mô nhỏ, trình độ khoa học kỹ thuật chưa cao và còn phụ thuộc rất nhiều vào thời tiết,



khí hậu. Khi nhiệt độ, tính biến động và dị thường của thời tiết và khí hậu tăng sẽ ảnh hưởng rất lớn tới sản xuất nông nghiệp, nhất là trồng trọt, làm tăng dịch bệnh, dịch hại, giảm sút năng suất của mùa màng.

Vì vậy, việc xác định mức độ đa dạng di truyền của bộ giống lúa bản địa có nguồn gốc ở Đồng bằng sông Cửu Long là vấn đề cấp thiết nhằm thực hiện có hiệu quả trong việc chọn tạo giống, đồng thời để xây dựng định hướng về kiểm tra, quản lý và bảo quản nguồn gen lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long theo Nguyễn Thị Lang (2004) [10].

Sự đa dạng di truyền cần thiết cho tất cả các sinh vật để có thể duy trì nòi giống, kháng với các loại dịch bệnh và thích nghi với những thay đổi của môi trường. Sự đa dạng di truyền có giá trị đặc biệt trong chọn tạo giống cây trồng mới phục vụ cho lợi ích của con người. Do sự thay đổi khí quyển với hiệu ứng nhà kính, nhiệt độ của khí quyển ấm dần lên, băng tan ở hai cực sẽ tạo sự lụt ở các vùng đất thấp (như Đồng bằng sông Cửu Long). Như vậy, lũ lụt và sự xâm nhập mặn sẽ trở thành vấn đề lớn trong nhiều năm sau. Với tầm quan trọng như vậy, người ta đã hoạch định một thứ tự ưu tiên trong đầu tư tính chống chịu khô hạn và tính chống chịu mặn trên toàn thế giới, trên lĩnh vực cải tiến giống cây trồng, sau đó là tính chống chịu lạnh, chống chịu úng, chống chịu đất có vấn đề (acid, thiếu lân, độ độc sắt, độ độc nhôm, thiếu kẽm, Mg, Mn và một số chất vi lượng khác...) [6].

Các khu vực bị ảnh hưởng mặn, khô hạn, phèn đa số tập trung ở các hộ nông dân nghèo. Hướng phát triển nguyên liệu giống lúa và cung cấp giống lúa cho vùng mặn phục vụ của ĐBSCL là nhu cầu rất cấp thiết. Các giống lúa sản xuất hiện tại trên địa bàn tỉnh chỉ có thể chống chịu mặn, khô hạn và phèn ở giai đoạn mạ, hàm lượng amylose cao, không đạt tiêu chuẩn xuất khẩu. Chính vì vậy, ĐBSCL cần có giống lúa cao sản ngắn ngày chống chịu - mặn, thích hợp với điều kiện từng vùng lúa trong điều kiện mặn, khác nhau để tăng năng suất và đạt tiêu chuẩn xuất khẩu là hướng đi rất cần thiết. Những tiến bộ kỹ thuật về chuyển nạp gen, ứng dụng marker phân tử trong chọn lọc giống lúa cho phép chúng ta nghĩ đến một giống lúa dạng hình mới đột phá ngưỡng năng suất hiện nay, có khả năng chống chịu sâu bệnh hại

ổn định, chống chịu - mặn, có khả năng chống chịu bệnh bạc lá là cần thiết. Những tiến bộ kỹ thuật hiện nay và tương lai gần, cho phép chúng ta thực hiện việc đa dạng hóa sinh học trong sản xuất lương thực. Chúng ta phải giải quyết vấn đề khó nhất của vùng là: hiệu quả sản xuất trên một ha canh tác lúa còn quá thấp, ngay trong những nơi có điều kiện thâm canh tốt nhất. Bên cạnh đó, hiện tượng năng suất giảm dần, đặc biệt trong vùng canh tác ba vụ lúa đã được ghi nhận, nhưng chưa được giải thích bằng cơ sở khoa học. Chúng ta đã sử dụng một lượng nước khá lớn để tưới cho lúa Xuân Hè, trong điều kiện mặn xâm nhập ở các tỉnh ven biển ngày càng trầm trọng (trung bình sản xuất 1kg lúa cần 5m<sup>3</sup> nước). Các tỉnh thuộc ĐBSCL còn là điểm nóng thường xuyên của bệnh bạc lá trong vụ mùa, rầy nâu và đạo ôn trong vụ Đông Xuân, Hè Thu.

Hệ thống sản xuất hạt giống, chúng ta tuy có nhiều cố gắng nhưng vẫn còn nhiều việc cần hoàn thiện về chính sách trợ giá và mạng lưới cấp cơ sở (huyện, xã, ấp). Cơ sở tác giả đang phối hợp với Viện nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI) trong giai đoạn 2004-2015 để nghiên cứu chọn giống lúa chống chịu mặn cho vùng mặn ĐBSCL đã được nghiệm thu. Đề tài cấp Nhà nước chống chịu khô hạn – mặn nghiệm thu năm 2017. Đây là cơ sở để ứng dụng các giống lúa tốt phục vụ cho vùng sản xuất lúa rất lớn của ĐBSCL [11], [12], [13].

Sản xuất lúa gạo bây giờ không chỉ đặt mục tiêu về sản lượng mà cần phải quan tâm đến việc nâng cao chất lượng, sự thích ứng với điều kiện môi trường khác nhau để đảm bảo kế sinh nhai cho người nông dân. Mặn và khô hạn là một vấn đề cần thiết trong bối cảnh thay đổi khí hậu tại vùng ĐBSCL. Phát triển giống lúa có khả năng chịu mặn và khô hạn và với những đặc điểm nông học và chất lượng có thể chấp nhận được để phục vụ cho nông dân là một số thách thức đã được đặt ra nhằm đáp ứng cho việc tạo ra sản lượng lúa bền vững [12], [13].

Các nghiên cứu tại Việt Nam trong việc chọn giống lúa chịu mặn đã được tiến hành từ nhiều năm trước đây. Cụ thể, Lê Xuân Thái và Trần Nhân Dũng [8] qua sàng lọc bằng chỉ thị phân tử SSR đã chọn lọc ra hai giống lúa kháng mặn tốt từ 4%o – 6%o, MTL664 và MTL702. Tương tự, Trần Thị Phương Thảo và *ctv* (2019)

[19] cũng đã chọn lọc ra bốn dòng lúa chịu mặn tốt ở giai đoạn mạ ( $15-19dSm^{-1}$ ) với hai dòng cho năng suất trên 1 tấn/ha. Nguyễn Thị Mỹ Duyên và cộng sự [17] báo cáo đã chọn được hai dòng lúa thông qua chỉ thị phân tử SSR ở  $BC_3F_6$  vừa mang gen chịu mặn của bố Pokkali và vừa có phẩm chất tốt. Gần đây nhất, Lê Hùng Lĩnh và cộng sự [7] cũng đã chọn được dòng lúa triển vọng chịu mặn tốt ở nồng độ 4‰ – 6‰ và thể hiện năng suất thực thu khá cao trên 6 tấn/ha thông qua chỉ thị phân tử SSR cho các tỉnh phía Bắc. Bên cạnh đó, nhiều đề tài dự án cho chọn giống lúa chống chịu mặn tại Việt Nam đã được thực hiện.

Đề tài nghiên cứu ứng dụng marker phân tử trong chọn tạo giống lúa chịu mặn bằng kỹ thuật nuôi cấy túi phấn theo Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2017) [13] tạo ra được 72 dòng lúa bằng nuôi cấy túi phấn trong nhà lưới. Từ kết quả thanh lọc mặn ở giai đoạn mạ thông qua các dữ liệu marker SSR với primer RM 223 sử dụng trên 72 dòng, kết quả các băng hình thu được có sự phân tách giữa giống chống chịu và giống nhiễm với kích thước phân tử có chiều dài nằm trong khoảng 140 - 160bp. Các dòng lúa tái sinh qua nuôi cấy túi phấn: C53/Độc Phụng - 17, C53/Độc Phụng - 19, C53/Pokkali - 5, C53/Pokkali - 11, C53/Pokkali - 27, C53/Pokkali - 42, C53/Pokkali - 43, C53/Pokkali - 44, C53/D51 - 4, C53/D51 - 5 và C53/D51 - 8 là các dòng có khả năng chống chịu tốt với điều kiện mặn [10], [12], [13], [14].

Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2000) [3], [4] đã sử dụng 30 SSR marker để lập bản đồ gen cho tính chống chịu mặn của quần thể F3 gồm 257 cá thể phân ly, phát triển từ tổ hợp lai IR28/Độc Phụng. Các tác giả xác định 10 SSR marker cho thể đa hình của các sản phẩm PCR giữa các cá thể phân ly và bố mẹ. Tuy nhiên chỉ có marker RM223 liên kết với gen chống chịu mặn với khoảng cách là 6,3 cM trên nhiễm sắc thể số 8. RM223 nhân bản đoạn ADN có kích thước 120 bp, liên kết với gen chống chịu mặn, từ giống Độc Phụng và sản phẩm PCR có kích thước 160 bp từ giống nhiễm IR28 theo Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2003) [5]. Theo báo cáo của tác giả Lang *et al.* (2001) [57] marker OSR1 và RM315 liên kết với QTL cho tính chống chịu mặn ở lúa, định vị trên NST số 1.

Để có thể canh tác lúa trên các vùng đất nhiễm mặn cho năng suất cao, chất lượng tốt thì đề tài “Nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu mặn có năng suất cao, khả năng chống chịu sâu bệnh và phẩm chất tốt cho các tỉnh phía Bắc” do Nguyễn Trọng Khanh và *ctv* thuộc trung tâm nghiên cứu và phát triển lúa thuần, FCRI đã đánh giá khả năng chịu mặn của các dòng trong điều kiện mặn nhân tạo, từ đó sử dụng chỉ thị phân tử SSR marker để đánh giá gen kháng mặn tại locus *saltol* của các dòng, giống và đánh giá khả năng chịu mặn của các dòng, giống tại các vùng nhiễm mặn Kiến Thụy – Hải Phòng và Hậu Lộc – Thanh Hóa.

Theo kết quả nghiên cứu trước đây tại bộ môn Di truyền và chọn giống nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp & SHUD, Trường Đại Học Cần Thơ, 2005 về khả năng chịu mặn của tập đoàn giống lúa mùa ven biển ĐBSCL cho thấy có 3 giống lúa mùa có khả năng chịu mặn cao. Chính vì vậy đề tài “Đánh giá khả năng chịu mặn và phẩm chất của ba giống lúa Mùa”. Trường Đại Học Cần Thơ thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá lại khả năng chịu mặn của ba giống lúa Mùa và đánh giá phẩm chất của ba giống lúa mùa.

Đề tài “Nghiên cứu tình hình sinh trưởng và phát triển của một số giống lúa chịu mặn trong vụ Đông Xuân 2011 – 2012 tại huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế” thuộc trường Đại học Nông Lâm, Đại Học Huế, với mục đích tuyển chọn được một số giống lúa chịu mặn có năng suất cao, chất lượng tốt, có khả năng chống chịu sâu bệnh và thích ứng với điều kiện sinh thái để bổ sung vào cơ cấu giống của địa phương. Nhóm nghiên cứu chọn 10 giống lúa, trong đó có 7 giống lúa chịu mặn của Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long, 1 giống của viện KHKTNN Duyên hải Nam Trung Bộ và 2 giống lúa từ Công ty cổ phần Giống cây trồng tỉnh Thừa Thiên Huế.

Đề tài “Nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu mặn cho vùng Đồng bằng sông Cửu Long” do Lê Thị Yến Hương và *ctv*. Tác giả cũng khuyến cáo việc sử dụng hai marker RM 8094 và RM 10745 trong xác định kiểu gen của cây lúa chống chịu mặn có mang đoạn QTL *Saltol 1* trong các chương trình lai tạo lúa chịu mặn. Từ những

thực tế nêu trên, đề tài “chọn tạo giống lúa chịu mặn và ứng dụng dấu phân tử liên kết với hệ gen *Saltol 1* chọn tạo giống lúa cao sản, ngắn ngày, có khả năng chịu mặn cho vùng ĐBSCL.

Đề tài Công Nghệ tiên tiến chọn giống chống chịu mặn ĐBSCL do Nguyễn thị Lang chủ nhiệm đề tài năm 2018. Trong năm 2013 - 2017 kế thừa những năm trước với các dòng lai được đánh giá hiệu quả chọn lọc trên các cặp lai đơn ghi nhận ở thế hệ  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$ ,  $F_6$ ,  $F_7$ ,  $F_8$  để chọn tiếp tục và xin công nhận giống. Bên cạnh đó đã ước đoán các tính trạng sau đây trên từng cặp lai theo Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2017) [13].

Bản đồ di truyền cho gen mặn trên 12 nhiễm sắc thể trên quần thể OM7347/OM5629//OM7347 tiến hành với 253 cá thể từ  $BC_2F_2$  bước đầu tìm đa hình trên quần thể là 416 chỉ thị phân tử với chiều dài là 4.447,5 cM. khoảng cách tổng hợp trung bình tương ứng của quần thể  $BC_2F_2$  này là 10,69 cM và QTLs cho tính chống chịu mặn được ghi nhận nhiễm sắc thể 1, 3, 5 và 12.

Các dòng chọn lọc bằng chỉ thị phân tử đã chọn được 1 dòng mang cả hai gen khô hạn và hàm lượng amylose thấp trên 200 dòng của tổ hợp lai trong khi đó đối với chọn lọc giống chống chịu mặn và phẩm chất đã chọn lọc hai dòng trên quần thể.

Kế thừa đề tài đã chọn lọc và kế thừa đề tài của nhà nước trước kia đưa sản phẩm sản xuất.

### ***Công nhận giống***

Các giống đã được công nhận gồm 1 giống chính thức: OM8928 Giống chống chịu khô hạn.

Các giống được sản xuất thử gồm 6 giống lúa:

- 6 giống sản xuất thử: OM6328, OM3673, OM10418, OM137, OM10373, OM5976.

Đã có nhiều kết quả nghiên cứu về sản phẩm cụ thể với 250 tổ hợp lai với 12.600 dòng từ các thể hệ khác nhau, nhiều giống lúa bổ sung vào vật liệu khởi đầu, và cải tiến và đưa vào sản xuất 75 dòng /giống triển vọng.

### ***Khả năng chống chịu mặn trong giai đoạn trổ hoa***

Ảnh hưởng của mặn do thẩm thấu, được tạo ra bởi sự tích tụ của các ion ở vùng rễ, triệu chứng đầu tiên của mặn mà hạn chế khả năng lấy nước từ rễ của cây lúa và cuối cùng dẫn đến giảm tốc độ tăng trưởng của cây. Mất cân bằng ion là hiện tượng thứ hai của dư thừa muối trong cây lúa và dẫn đến thiếu dinh dưỡng, enzym hoạt tính, stress oxy hóa và độc tính ion trong mô thực vật theo Temnykh, S. (2000) [79]. Đất nhiễm mặn là yếu tố hạn chế chính trong việc sản xuất lúa, một loại cây nhạy cảm muối, năng suất bị ảnh hưởng rất nhiều bởi tính độc ion theo Quesada, V., S. và ctv (2002) [68]. Sự khác biệt và giữa các loài thực vật về khả năng chịu mặn ion theo Quesada, V., S. và ctv (2002) [68]. Thực vật sử dụng các cơ chế khác nhau để chống chịu áp lực mặn như loại trừ muối, vận chuyển, tích lũy các ion độc hại vào các mô khác nhau và không bào theo Munns, R. and M. Tester (2008) [63]. Yeo, KT (1990) [87] báo cáo rằng các khoang từ mô lá đến mô lá là một trong những cơ chế chịu mặn chính hoạt động trong cây lúa. Việc tìm hiểu các cơ chế liên quan đến khả năng chịu mặn ở thực vật là cần thiết để phát triển các giống có tính chống chịu mặn theo Khan, W.U.D (2016) [53].

Cây lúa có khả năng chống chịu tương đối với stress trong quá trình nảy mầm, đẻ nhánh hoạt động và trưởng thành nhưng rất nhạy cảm ở đầu giai đoạn cây con và giai đoạn sinh sản. Hai giai đoạn nhạy cảm của cây lúa độc lập nhau và được điều khiển bởi gen, ý nghĩa, ở giai đoạn trổ hoa cây không có khả năng chống chịu giống cây ở giai đoạn cây con và ngược lại. Hơn nữa, khả năng chịu mặn ở giai đoạn sinh sản là rất quan trọng bởi vì quá trình thụ tinh và hình thành hạt xảy ra trong giai đoạn này và giai đoạn sinh sản liên quan trực tiếp đến năng suất hạt. Do đó, các giống lúa chịu mặn có năng suất cao cần phải có khả năng chịu ở giai đoạn trổ hoa.

Phương pháp chính xác xây dựng kiểu hình là phương pháp hết sức quan trọng trong việc phát hiện quantitative trait loci (QTLs) hoặc vùng gen thích hợp hỗ trợ cho phương pháp chọn giống theo Shrivastava và Kumar (2015) [75]. Một số nghiên cứu đã chứng minh thực vật trồng trong nhà kính có điều kiện mặn, có khả năng chịu mặn ở tương tự ở trong điều kiện môi trường. Tuy nhiên, ở một số loài thực vật khả năng chống chịu điều kiện môi trường không giống khả năng chịu mặn của cây lúa trong điều kiện nhà kính. Điều này có thể do yếu tố mặn trong đất và ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường, làm cho thực vật chống chịu khó khăn với độ mặn trong điều kiện môi trường. Cùng với những biến động stress mặn, các thí nghiệm cho kết quả khác nhau gây khó khăn, bao gồm cả việc sử dụng đúng các phương pháp theo Hossain và *ctv* (2015) [47]. Các giống lúa khác nhau chủ yếu ở giai đoạn sinh dưỡng (ST), nhưng giống nhau từ khi làm đòng (PI) cho đến ra hoa và trưởng thành. Các ảnh hưởng trong thời gian ST này chủ yếu do nồng độ muối làm ảnh hưởng đến giai đoạn bắt đầu sinh sản trong thực vật, gây khó khăn để xác định do ảnh hưởng đến các cây giống và giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng. Tương tự như vậy, mặn có thể dẫn đến stress mặn gây khó trong quá trình phát triển tại thời điểm thích hợp trong giai đoạn sinh sản có thể gây nhầm lẫn cho các kiểu hình. Tính chống chịu mặn trong giai đoạn sinh sản là quan trọng nhất vì nó quyết định năng suất hạt. Có rất ít các nghiên cứu về khả năng chịu mặn trong giai đoạn sinh sản của cây lúa chủ yếu là do phân tích kiểu hình của cây lúa, phương pháp lấy mẫu và hiểu biết chưa đầy đủ các cơ chế giai đoạn cụ thể của khả năng chịu mặn.

## **1.5. Các Phương Pháp Chọn Tạo Giống**

### **\* Chọn Giống Bằng Phương Trồng Dồn**

Phương pháp trồng dồn đã được các nhà chọn tạo giống sử dụng từ lâu ở các vùng nhiệt đới và ôn đới. Mặc dù, phương pháp này có lợi là rất đơn giản nhưng thông qua nhiều năm sử dụng trồng lúa tại vùng Châu Á nhiệt đới đã luôn luôn thất bại không đưa năng suất toàn quốc lên được. Tuy nhiên vài chương trình lai tạo

giống lúa *japonica* đã thành công nhờ dùng những giống có liên hệ gần và hình thái tương tự các dòng lai rất ít cạnh tranh nhau nên từ từ cũng cho những giống tốt, ổn định.

Phương pháp trồng dòn chưa đưa đến nhiều tiến bộ đáng kể trong nền sản xuất lúa vùng nhiệt đới vì các nhà khoa học đã không để ý đến hai nguyên tắc căn bản của cải tiến giống:

1. Ảnh hưởng của hình thái của thân trên khả năng cho năng suất và sự cần thiết phải thay thế những dạng cây cao quá, lá rũ bằng những dạng hình có sản lượng cao hơn.

2. Tác dụng loại trừ của sự cạnh tranh trong quần thể phân ly làm giảm đi những cây phân ly có giá trị.

Những kiểu cây có tiềm năng cho năng suất cao luôn luôn đã xuất hiện trong quần thể cây  $F_2$  trong các chương trình lai giống vùng nhiệt đới; vài cá thể phân ly đôi khi được tìm thấy trong tổ hợp giữa các cây cha mẹ cao, lá rũ.

Những nhà chọn giống thường không nhận ra giá trị của nhóm phân ly nhỏ hơn này hoặc bị mất chúng vì chúng bị lấn át thiếu ánh sáng. Vì vậy phương pháp trồng dòn không đem lại những bước tiến về năng suất mặc dù có thể dùng một cách hữu hiệu để chọn những tính trạng kiểu hình không phụ thuộc vào mật độ như kích thước hạt, phẩm chất nấu, thời gian sinh trưởng, tính không quan cảm, tính kháng và tính không đổ lông của cơm.

Gần đây, do nhận thức được sự tương tác của kiểu hình, khả năng cho năng suất và sự cạnh tranh, đa số các nhà chọn tạo giống đã tránh không dùng hoặc không cải tiến phương pháp trồng dòn thông thường. Phương pháp trồng dòn không giới hạn được xem như vô hiệu quả nếu muốn tìm những dạng cây có tiềm năng năng suất cao trong tổ hợp phân ly mạnh về kiểu hình.



### **\* Chọn Tạo Giống Theo Phả Hệ**

Phương pháp tuyển chọn theo phả hệ được sử dụng rộng rãi và thành công nhất trong việc cải tiến giống lúa. Tuy nhiên tuyển chọn theo phương pháp này cũng có những thất bại nhất định. Phương pháp này đòi hỏi phải có nhiều thời gian để đánh giá thường xuyên những dòng suất vụ trồng và giữ các số liệu làm căn cứ cho sự lựa chọn lúc lúa chín. Người ta phải tốn nhiều công sức vì đối với từng cá thể được chọn vừa phải chuẩn bị trồng ngoài đồng, vừa đánh giá trong phòng thí nghiệm về phẩm chất hạt tính kháng sâu, bệnh và về các tính trạng khác đối với những bộ giống đặc biệt. Trong tất cả các phương pháp chọn tạo giống, phương pháp phả hệ đòi hỏi phải quen thuộc với những đặc tính của cây đang sử dụng và sự tương tác giữa kiểu gen với môi trường trên sự biểu hiện các tính trạng.

Tuy nhiên, vì có nhiều ưu điểm phương pháp phả hệ được sử dụng rộng rãi. Quan trọng nhất là những thế hệ đầu đã được chọn ngoài đồng có thể được đánh giá ngay ban đầu. Phương pháp này cho ta cơ sở vững chắc hơn để loại bỏ những dòng không thích hợp và kết quả tập trung vào những cây có giá trị. Khi những dòng mới được trồng ngoài đồng người ta sẽ thu được dữ kiện từ sự đánh giá từng cá thể trong những thế hệ con cháu sau này. Vì vậy, những dòng kém phẩm chất, dễ nhiễm sâu bệnh hay có những khuyết điểm khác sẽ bị loại bỏ ngay từ trong sổ ghi để khỏi mất thời gian.

### **\* Phương Pháp Hồi Giao (Backcross-BC)**

Đây là phương pháp được các nhà chọn tạo giống lúa sử dụng rộng rãi. Trong phương pháp hồi giao một tính trạng được chuyển sang một giống cải tiến bằng cách được sử dụng lại làm cây cha mẹ để lai lại nhiều lần. Sự bất lợi chủ yếu của phương pháp hồi giao là không có giống duy nhất nào lý tưởng đến nỗi nó chỉ cần cải tiến một tính trạng. Mặc dù, các chương trình chọn tạo giống lúa liên tục tìm ra những giống mới có thể tốt hơn để thay thế những giống cũ nhưng chưa có chương trình dạng hình nào đạt đến sự cải tiến vượt bậc về phẩm chất hạt, năng suất hay sự ổn định tiềm năng cho năng suất cao.

Phương pháp hồi giao thông thường có thể được sử dụng trong vài vấn đề đặc biệt nào đó. Thí dụ dòng *Colombia 1* có đơn gen trội về tính kháng bệnh cháy lá. Sự tuyển chọn trong những thế hệ đầu tiên từ tổ hợp dòng *Colombia 1* với những cây thấp cải tiến cho thấy rằng có sự phân ly tính kháng xảy ra thường xuyên theo dự đoán nhưng kiểu cây hay hạt thì luôn luôn xấu.

Điều này chứng tỏ có sự liên kết mạnh giữa tính kháng và những tính trạng kiểu hình về kiểu cây và hạt giống *Colombia 1*. Trong trường hợp này, sự hồi giao nhiều lần với giống cha mẹ thấp cây của lúa cải tiến kết hợp với sự tuyển chọn mạnh ở  $F_1$  sau khi mỗi lần hồi giao có thể phá vỡ sự liên kết này.

#### **\* Chọn Giống Bằng Chỉ Thị Phân Tử (MAS)**

Sự phát triển của kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học đã tạo thành công rất lớn cho công tác tạo chọn giống cây trồng. Việc ứng dụng các kỹ thuật ở mức độ phân tử cho phép chúng ta chuyển những gen mong muốn hay xác định cá thể có mang gen mong muốn. Kỹ thuật hỗ trợ cho việc chọn giống thường được sử dụng là các chỉ thị phân tử RAPD, RFLP, SSR, STS, AFLP... liên kết chặt với tính trạng mong muốn dựa trên quần thể  $F_2$  hoặc quần thể hồi giao (BC-backcross), quần thể các dòng cận giao tái tổ hợp (RIL - recombinant), quần thể các dòng gần như đẳng gen (NIL - nearly isogenic lines), quần thể đơn bội kép (DH - double haploid) [6], [10].

Một trong những mục tiêu chung của công tác chọn giống cây trồng là chuyển một gen mục tiêu vào trong giống cây trồng mong muốn. Phương pháp hồi giao được các nhà chọn tạo giống lúa sử dụng rộng rãi, tiết kiệm 1 - 2 thế hệ, giúp cho việc cải tiến cây trồng đáp ứng với sản xuất sớm hơn rất nhiều. Trong phương pháp hồi giao, một tính trạng được chuyển sang một giống cải tiến bằng cách dùng cây cha mẹ để lai lại nhiều lần [3], [10]. Hiện nay, với sự trợ giúp nhờ DNA chỉ thị phân tử người ta càng phát triển tiềm năng của hồi giao trong nghiên cứu và ứng dụng du nhập gen từ các loài hoang dại, thâm định khả năng du nhập từng bước (introgression) từ loài hoang dại sang cây trồng [6].

Thông qua sử dụng chỉ số chọn lọc kết hợp với đánh giá phân tử và đánh giá kiểu hình, chọn giống nhờ đánh dấu phân tử có thể làm gia tăng hiệu quả chọn lọc rất cao so với phương pháp chọn giống cổ truyền. Nó còn tạo nên các cơ hội để gia tăng cường độ chọn lọc trong những thế hệ đầu, trong khi phương pháp cổ truyền gần như không có chọn lọc hoặc chọn lọc bằng mắt rất khó để loại bỏ các dòng xấu [6].

## **1.6. Phương pháp lai hồi giao trong chọn tạo giống lúa**

### ***1.6.1. Một số khái niệm trong phương pháp lai hồi giao***

Lai hồi giao là phương pháp thường được sử dụng phổ biến nhất để chuyển một gen hoặc một tính trạng nào đó vào một giống để chuyển thành giống ưu tú. Con lai  $F_1$  sau khi được tạo ra sẽ lai lại nhiều lần với bố hoặc mẹ gọi là phép lai hồi giao.

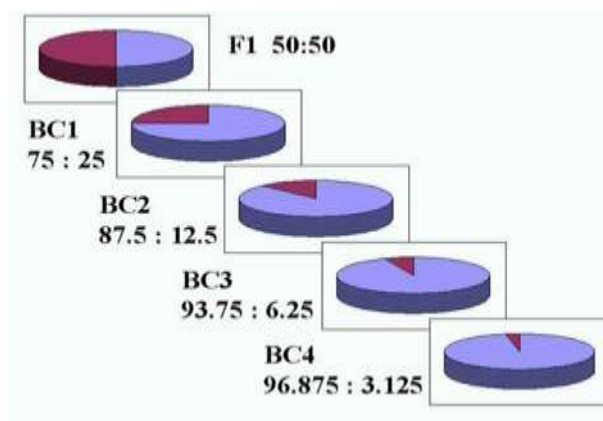
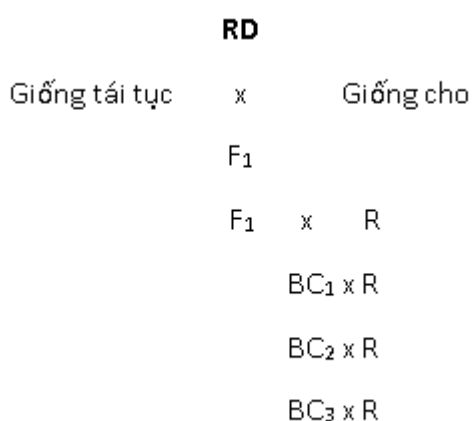
Phương pháp lai hồi giao được khởi xướng bởi Harlan và Pope vào năm 1922 [44]. Sau đó, nó được sử dụng rộng rãi trong việc chọn tạo giống cây trồng ở nhiều loài cây khác nhau. Phương pháp này được thực hiện trong trường hợp muốn du nhập một gene mục tiêu quan trọng nào đó từ nguồn vật liệu cho (là giống cây bản địa, loài hoang dại có quan hệ gần gũi) vào giống cây trồng [6], [26].

Tổ hợp lai bao gồm nguồn vật liệu cho (donor) thường được sử dụng làm bố và nguồn giống cây trồng có nhiều tính trạng ưu việt, chỉ thiếu một vài gene điều khiển tính trạng mục tiêu thường được sử dụng làm mẹ; thuật ngữ chuyên môn gọi là giống tái tục (recurrent).

Tuy nhiên, các con lai ở thế hệ  $BC_2$  và  $BC_3$  (BackCrosses) có sự chênh lệch về kiểu gen với nhau trong suốt quá trình lai, giúp các nhà chọn giống có cơ hội chọn được những dòng mong muốn. Trong hầu hết các trường hợp, giống tái tục được sử dụng trong lai hồi giao có phần lớn các tính trạng mong muốn nhưng chỉ thiếu một vài tính trạng nào đó theo Giora, B.A và U. Lavi (2012) [41]. Bên cạnh đó, các nhà nghiên cứu cũng cho rằng có 3 yếu tố chính quyết định đến sự thành công của một chương trình chọn giống hồi giao là chọn lựa giống làm giống tái tục, phương pháp

hiệu quả để chọn lọc các tính trạng mục tiêu và số lần lai hồi giao theo Bres-Patry và *ctv* (2001) [27].

Mặc dù vậy, phép lai hồi giao vẫn có một số hạn chế như: lai hồi giao không có hiệu quả trong việc lai để cải thiện những tính trạng số lượng do những tính trạng này có hệ số di truyền cao. Ngoài ra, sự xuất hiện của những liên kết không mong muốn có thể ngăn cản sự cải thiện giống theo Acquaah, G. (2012) [21]. Hơn nữa khả năng xảy ra tái tổ hợp không mong muốn đối với những tổ hợp lai mà cha mẹ xa nhau về khoảng cách di truyền là rất cao khi lai giữa nhóm hoang dại với nhóm trồng hoặc giữa nhóm *indica* và *japonica* [6], [10], [12], [13].



**Hình 1.5. Sơ đồ phương pháp lai hồi giao**

**Hình 1.6. Giá trị trung bình của gen phục hồi qua từng thế hệ hồi giao**

### ***1.6.2. Ưu điểm của phương pháp lai hồi giao***

Về mặt di truyền, phương pháp hồi giao tạo ra sự kiểm soát di truyền tối đa trong quá trình cải tiến giống cây trồng. Không có một phương pháp chọn giống nào, nhà chọn giống có thể dự đoán trước kiến tạo di truyền của dòng cây trồng mới. Nhà chọn giống cũng có thể lặp lại tiến trình hồi giao nếu cần thiết để một lần nữa phát triển giống tái tục.

Giống được phát triển bằng phương pháp hồi giao không cần trắc nghiệm ngoài đồng trên diện rộng. Việc đánh giá chủ yếu dựa vào tính trạng mục tiêu của

giống cho có kết hợp được trong giống tái tục hay không. Phương pháp hồi giao không bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường trong sự thể hiện tính trạng. Nó có thể được thể hiện để tạo ra quần thể trong mùa nghịch hoặc bất cứ ở địa điểm nào. Hệ số di truyền của tính trạng mục tiêu không quá quan trọng đặc biệt khi việc chọn lọc tính trạng của giống tái tục chưa thật sự hoàn chỉnh.

Nó cho chúng ta giải pháp lý tưởng để sử dụng những nguồn gen chưa được thích ứng, chưa có tính chất “productive”, những tiềm ẩn nguồn gen kháng stress, gen cho chất lượng nông sản tốt, hoặc năng suất cao.

### ***1.6.3. Nhược điểm của phương pháp lai hồi giao***

Nhìn chung, phương pháp hồi giao được xem như một phương pháp có tính chất bảo thủ về mặt di truyền, vì nó không tạo ra một năng suất đột phá mới. Nó mất nhiều thời gian từ (6-7 năm) để gắn thêm một hoặc một vài tính trạng có lợi cho giống cây trồng.

Vì khuyết điểm này, người ta đã cố gắng tìm kiếm một phương pháp mới để khắc phục yếu điểm thời gian, nhờ marker phân tử. Những phát triển trong nghiên cứu marker phân tử gần đây đã mở rộng hướng sử dụng nguồn gen từ loài hoang dại để cải tiến giống cây trồng. Một phối hợp đặc biệt của hồi giao nhờ bản đồ QTL đối với các gen điều khiển tính trạng số lượng đã được công bố với thuật ngữ chuyên môn là “Advanced Backcross QTL Analysis” (phân tích QTL trên quần thể hồi giao cải tiến) đã được ứng dụng trên cà chua, nhằm chuyển tính trạng số lượng “tổng chất đặc hòa tan” (total soluble solids) vào giống cà chua thương phẩm. Đây là phương pháp có một tiềm năng không lồ để bổ sung cho phương pháp chọn tạo giống thông thường khác và được kỳ vọng là một trong những phương pháp có tính chất tiếp cận với những phương pháp hiện đại trong thời điểm hiện nay.

### **1.7. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa**

Phương pháp lai hồi giao là kỹ thuật được sử dụng rộng rãi trong chọn tạo giống lúa để chuyển gen mục tiêu từ cây cho sang cây nhận. Mục đích chính của phương pháp này là giảm số lượng gen của cây cho trong con lai theo Singh, S. và

*ctv* (2001) [77]. Các nước Nam Á và Đông Nam Á đã ứng dụng thành công phương pháp tạo giống này để cải tiến khả năng kháng đạo ôn của các giống lúa như KDML105, Basmati và Manawthukha theo Toojinda, T. và *ctv* (2005) [81]. Cùng thời gian đó, phương pháp tiếp cận hồi giao mới cũng được thiết lập bằng việc ứng dụng dấu phân tử. Sự kết hợp này đã tạo ra nhiều thuận lợi hơn trong việc lai tạo giống và báo cáo đầu tiên trên cây lúa bởi theo Chen, S. và *ctv* (2000) [33].

### **1.7.1. Sơ lược về phương pháp chọn lọc bằng chỉ thị phân tử**

Việc sử dụng các chỉ thị phân tử ADN cho mục tiêu chọn lọc trong các chương trình chọn giống được đề cập đầu tiên bởi Sorensen và Robertson (1961) [78]. Với sự phát triển của công nghệ sinh học thì việc chọn giống cây trồng cũng đã có cuộc cách mạng lớn, hầu hết các phương pháp chọn lọc không thể thực hiện được bằng việc dựa trên kiểu hình thì có thể sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết với các gen quy định tính trạng đó. Chọn lọc bằng chỉ thị phân tử có lợi thế rất lớn vì nhiều đặc tính cây trồng không thể đánh giá được ở điều kiện ngoài đồng theo Haque và *ctv* (2021) [43]. Bên cạnh đó, việc chọn lọc bằng chỉ thị phân tử có thể thực hiện ở giai đoạn sớm (khi cây còn nhỏ), giúp ngắn thời gian chọn lọc, công sức và chi phí thực hiện. Tuy nhiên, ở một vài tính trạng thì việc chọn lọc kiểu hình sẽ hiệu quả và tiết kiệm chi phí hơn là sử dụng chỉ thị phân tử. Các nhà chọn giống đặc biệt quan tâm đến các tính trạng quan trọng như chống chịu với điều kiện bất lợi từ môi trường cũng như các tính trạng nông học.

### **Chọn lọc bằng dấu phân tử đối với stress phi sinh học**

Stress phi sinh học được xác định như là tác động gây hại của các yếu tố không có sự sống đến các sinh vật sống trong một môi trường như hạn, mặn, nhiệt độ thấp hay cao,... Khác với đặc tính kháng của cây đối với stress sinh học đa số là các tính trạng đơn gen, tính trạng kháng đối với stress phi sinh học là đa gen. Do vậy, việc xác định, kiểm soát hay tác động theo ý muốn là rất khó theo Giora, B.A và U. Lavi (2012) [41]. QTL của tính trạng chống chịu hạn đã được thực hiện ở các loài cây trồng như lúa, sorghum, lúa mì.

Với chế độ tưới không hợp lý, cùng với biến đổi khí hậu thì hiện tượng xâm nhập mặn ngày càng gia tăng. Để đối đầu với vấn đề này, việc tạo ra các giống cây trồng có khả năng chống chịu mặn là một trong những giải pháp quan trọng. Bản đồ QTL cho khả năng chống chịu mặn hoặc liên quan đến các đặc tính sinh lý giúp chống chịu mặn đã được ghi nhận trên cây *Arabidopsis thaliana*, lúa, lúa mạch, đậu nành,... [69], [85]. Tuy nhiên, dù có nhiều nghiên cứu về khả năng chống chịu mặn ở nhiều loài cây khác nhau nhưng khi đưa vào điều kiện sản xuất ngoài đồng ruộng thì lại không thành công như mong đợi theo Buckler, E.S và *ctv* (2009) [28].

### **Chọn lọc bằng dấu phân tử đối với các đặc tính nông học**

Có gần 100 gen và chức năng và tính đa hình đã được xác định dưới điều kiện tự nhiên ở mức độ sinh lý và phát triển của cây. Ở nhiều loài cây trồng, các gen này quy định cho một số tính trạng như thời gian nảy mầm và ra hoa, kiểu hình và cấu trúc của hạt và trái, cũng như các tính trạng năng suất và chất lượng theo Temnykh, S. và *ctv* (2000) [79]. Chín gen tác động quy định đến sự khác nhau trong thời gian ra hoa của cây *Arabidopsis* đã được phân lập và một số có ảnh hưởng chính như *FRI*, *FRL1*, *FRL2* và *FLC*. Ngược lại, sự phân tích thời gian ra hoa ở cây bắp không cho thấy có QTL ảnh hưởng chính đến tính trạng này. Thay vào đó, các QTL chỉ có ảnh hưởng nhỏ đã được nhận định bởi Bao và *ctv* (2002) [24]. Bên cạnh đó, Blanco và *ctv* (2003) [25] cũng cho thấy rằng *DOG1* cảm ứng cho sự nảy mầm của hạt và biểu hiện trong suốt quá trình phát triển của hạt.

#### **1.7.2. Một số thành tựu của chỉ thị SSR trong chọn giống lúa**

Microsatellite là một PCR-based chỉ thị khám phá sự khác biệt các "vệ tinh" (microsatellite) bằng cách nhân bản các chuỗi mã đơn giản lặp lại phân tán trong genome sinh vật nhờ phản ứng PCR. Các đoạn ADN này sau đó được tách ra trên gel polyacrylamide hoặc agarose và hiện thị nhờ phản ứng nhuộm Bạc (Ag) hoặc Ethydium Bromide sau đó chụp hình bằng tia UV. Chiều dài các đoạn ADN trên điện di khoảng 100-200bp. Các đoạn mồi (primer) được thiết kế cho phản ứng PCR dựa trên chuỗi mã ở hai đầu của các "vệ tinh". Thể đa hình chiều dài các chuỗi mã

đơn giản lặp lại (SSLPs) được xác định dựa trên sự khác biệt về số lượng các đơn vị lặp lại tại locus mà chỉ thị đo định vị theo Zhao, K. và *ctv* (2016) [88] và cung cấp một nguồn đánh dấu sự khác biệt ngay trên vật chất di truyền.

Dấu SSR rất phong phú và phân bố rộng trong genome cây lúa vì thế chúng được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền giữa các giống [6], [51], [90].

Bản đồ di truyền SSR trên genome cây lúa được thiết kế với các SSR marker được viết tắt là RM (Rice Microsatellite) ở Mỹ và OSR ở Nhật. Sự phong phú về số lượng các marker SSR với các motif lặp lại phát triển trên những phần mã hoá và không mã hoá của genome cây lúa [32], [90] giúp cho việc khảo sát sự hiện diện và khác biệt các chuỗi mã đơn giản lặp lại trên toàn bộ genome ngày càng hoàn hảo. So sánh 323 SSR marker 194 marker từ kho dự trữ genomics của cây lúa và 129 marker từ kho lưu trữ thiết lập từ protein (isozyme marker) thể hiện các tính trạng rice – expressed sequence tags - ESTs), Cho, Y.G. và *ctv* (2000) [34] xác định tỉ lệ đa hình tìm thấy nhờ các marker từ genome cao hơn rất nhiều các marker từ ESTs (83,8% so với 54,0%). Về các motif lặp lại, mức độ đa dạng di truyền cao nhất tìm thấy ở marker khuếch đại chuỗi mã GA trong khi hầu hết các marker khuếch đại chuỗi mã CCG hoặc CAG không tìm thấy sự khác biệt. Ở lúa đã phát hiện các nhóm GA, GT, CAT, CTT theo Liu, Q (2005) [59].

Robert Koebner (2003) [70] đã thiết lập bản đồ di truyền cho gen kháng mặn trên cây lúa bằng SSR marker trên các quần thể con lai  $BC_2F_2$  của nhiều tổ lai khác nhau. Đối với quần thể con lai giữa IR64/Chenghui bản đồ được thiết lập với 34 SSR marker có tổng chiều dài là 148,6 cM phủ trên 3 nhiễm sắc thể số 1, 8, 9. Quần thể con lai giữa IR64/OM1706 có 35 SSR marker được sử dụng để xây bản đồ, có tổng chiều dài 50,5 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 1 với 8 marker. Có 47 marker được sử dụng trong phân tích quần thể con lai của tổ hợp IR64/FR13A, các marker này có tổng chiều dài 191,6 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 1 và 109,3 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 11. Quần thể con lai của tổ hợp Teqing/OM1706 sử dụng 28 SSR marker với tổng chiều dài 95,4 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 6. Tác giả cũng đã sử



dụng 40 SSR marker để thiết lập bản đồ di truyền trên quần thể con lai giữa IR68552-55-3-2/Chenghui 448 với tổng chiều dài 253,1 cM được phủ trên nhiễm sắc thể số 1 và 9. Bản đồ di truyền cho gen kháng mặn được nghiên cứu trên quần thể IR28 lai với Đốc Phụng [10].

Các tổ hợp lai giữa giống lúa trồng và lúa hoang đã được phân nhóm di truyền thông qua STS marker trên gen kháng gầy nâu *Bph-10* và ứng dụng SSR marker để phát hiện gen mục tiêu du nhập từ lúa hoang vào lúa thường các tính trạng chống chịu độ độc nhôm, chống chịu sâu bệnh chính, năng suất cao,... [1]. Marker STS và SSR khẳng định gen kháng bệnh bạc lá *xa-13* cũng được thiết lập trên quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> giữa lúa mùa và lúa cải tiến [18], qua đó đặc tính di truyền kháng bệnh bạc lá cũng được phân tích và thiết kế các cặp mồi tương ứng trên cơ sở các chuỗi ký tự của primer RG140 để phát hiện các gen kháng *Xa-21*, *xa-13*, *xa-5* theo Lang, N. T và *ctv* (2009) [58].

Cũng với marker vi vệ tinh, bản đồ gen mùi thơm được xây dựng nhờ marker RG28F-R liên kết trên nhiễm sắc thể số 8 thông qua phân tích BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> các tổ hợp lai IR/64/Jasmine, IR64/DS20 [6], [10].

### **1.8. Chọn tạo giống bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với chỉ thị phân tử**

Phương pháp lai hồi giao có sự hỗ trợ của dấu phân tử (Marker – Assisted Backcross Method – MABC) là một trong những phương pháp chính xác và hiệu quả để bảo tồn các đặc tính quan trọng của giống bố mẹ. Trong phương pháp này, một dấu phân tử được sử dụng dựa trên đặc tính hình thái, sinh hóa hoặc dựa trên sự biến đổi của ADN/ARN để gián tiếp chọn lọc những kiểu gen hoặc những tính trạng mà nhà chọn giống quan tâm (ví dụ như tính kháng bệnh, khả năng chịu đựng với những điều kiện bất lợi của môi trường...). Nguyên tắc của MABC là tích hợp gen mục tiêu đã xác định được vị trí trên nhiễm sắc thể từ giống cho khi lai lại với bố mẹ. Có ba yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của MABC là: số lượng cá thể của quần thể hồi giao, khoảng cách của dấu phân tử với mục tiêu và số lượng dấu phân tử được sử dụng trong quá trình chọn lọc theo Sarkar, R và *ctv* (2009) [72]. MABC

giúp các nhà chọn giống xác định được chính xác sự hiện diện của gen mục tiêu trên các dòng hồi giao. Điều này sẽ giúp cải thiện giống lúa, giúp các giống này có thể chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường như lũ lụt hay kháng được với sâu bệnh. Như vậy, MABC nên được sử dụng để cải thiện chất lượng và gia tăng năng suất lúa theo Neelam Bishwas và *ctv* (2016) [64].

### **1.8.1. Các giả thuyết mô hình MAS**

Trong những năm gần đây, một vài mô hình MAS đã được các nhà khoa học đưa ra và được phân tích cặn kẽ. Theo một số mô hình, chỉ cần tiến hành lai trở lại qua 4 thế hệ, chứ không cần đến 6 thế hệ, ngay cả khi quần thể chọn lọc có kích thước nhỏ và các dữ liệu về chỉ thị phân tử bị hạn chế. Hơn thế nữa, theo Frisch, M. và *ctv* (1999) [40] đã đưa ra chiến lược “chọn lọc hai giai đoạn” để áp dụng trong trường hợp chưa biết các thông tin về bản đồ liên kết của các chỉ thị phân tử.

Theo nghiên cứu của Robert Koebner (2003) [70], những tính toán dựa trên cơ sở máy tính để so sánh các chiến lược chọn lọc 2 bước, 3 bước và 4 bước (stage) về tỷ lệ kiểu gen bố mẹ phục hồi (recurrentparentgenotype-RPG) cho thấy: Với chiến lược lấy mẫu 4 bước và quần thể từ 50-100 cá thể, tỷ lệ kiểu gen giống bố mẹ (RPG) có thể đạt 96% với độ tin cậy 90%. Trong khi chọn giống truyền thống phải cần tới 6 thế hệ và với rủi ro lớn hơn.

Việc tăng số lượng chỉ thị để đánh giá kiểu gen ở mỗi thế hệ có rất ít tác dụng. Khi ngưỡng 1 chỉ thị/20cM đạt được, việc thêm chỉ thị nữa là không cần thiết (ngoại trừ các chỉ thị xung quanh locus quan tâm). Tỷ lệ tái tổ hợp chứ không phải số lượng chỉ thị là yếu tố hạn chế trong việc giảm các cản trở liên kết. Điều đó cho thấy, việc lấy mẫu quần thể lớn hơn với ít chỉ thị hơn có tác dụng hơn việc làm ngược lại. Chọn lọc giống lúa dựa trên chỉ thị phân tử (Markerassistedselection-MAS) là sử dụng chỉ thị ADN liên kết chặt với locus mục tiêu để thay cho chọn lọc đánh giá kiểu hình với giả định chỉ thị ADN (ADN markers) có thể dự đoán kiểu hình một cách đáng tin cậy.

MAS ứng dụng trong chọn tạo giống lúa có những ưu điểm nổi bật là: đặc biệt với những tính trạng khó đánh giá thanh lọc dựa trên kiểu hình; tiết kiệm thời gian và nguồn lực trong quá trình chọn lọc; rất quan trọng với một số tính trạng như chất lượng hạt; có thể chọn lọc sớm, trước khi gieo trồng, có thể chọn ngay ở thế hệ phân ly  $F_2$  hoặc  $F_3$ ; không bị ảnh hưởng của môi trường; và có thể phân biệt giữa đồng hợp và dị hợp và chọn lọc từng cây.

Chọn tạo giống lúa ứng dụng chỉ thị phân tử gồm đánh giá nguồn vật liệu di truyền trước khi thực hiện một chương trình chọn giống.

Trong một số trường hợp thuận lợi, đôi khi các nhà chọn giống chỉ cần lai trở lại 3 thế hệ là có thể đạt được mục tiêu của mình.

### ***1.8.2. Điều kiện để ứng dụng MAS***

Theo Francia (2005) [38], sự thành công của hệ thống chọn giống nhờ MAS phụ thuộc vào các yếu tố: bản đồ di truyền với một số lượng hợp lý các chỉ thị đa hình tại các vùng tương đồng để định vị chính xác QTLs hay gen quan tâm; mối liên kết chặt giữa chỉ thị và các gen kháng hay các QTLs; sự tái tổ hợp thích hợp giữa các chỉ thị và phần còn lại của bộ gen; khả năng đánh giá một số lượng lớn cá thể trong một thời gian và giá thành hiệu quả. Có 2 kiểu chỉ thị có thể ứng dụng trong MAS: (1) chỉ thị phân tử được định vị ngay trong phạm vi gen quan tâm. Đây là trường hợp lý tưởng nhất cho MAS; (2) nhóm chỉ thị có khuynh hướng di truyền cùng với gen quan tâm. Mối quan hệ này tìm thấy khi gen và chỉ thị có khoảng cách vật lý gần nhau. Chọn lọc dựa trên chỉ thị này gọi là LD-MAS (linkage disequilibrium-MAS).

Chỉ thị phân tử làm tăng thêm hiệu quả sàng lọc trong các chương trình chọn giống với các ưu điểm sau: khả năng chọn lọc ngay từ giai đoạn cây con đang nảy mầm trong khi nhiều dấu hiệu chỉ có thể sàng lọc khi chúng được biểu hiện ở những giai đoạn muộn hơn trong quá trình sống nếu chỉ sử dụng phương pháp chọn giống cổ điển (ví dụ: chất lượng quả và hạt, tính bất dục đực, khả năng phản ứng chu kỳ quang); khả năng sàng lọc những dấu hiệu mà việc đánh giá các đặc tính này khó khăn, đắt

tiền, tồn thời gian (ví dụ như hình thái rễ, tính kháng nhiễm đối với các dịch hại hoặc đối với những nòi, những bệnh đặc hiệu, hay tính kháng những điều kiện gây sốc sinh học như hạn, mặn, thiếu muối, các chất độc); khả năng phân biệt trạng thái đồng hợp tử hay dị hợp tử của nhiều lôcut trong cùng một thể hệ mà không cần kiểm tra thể hệ sau; khả năng chọn lọc đồng thời vài đặc tính trong cùng một thời gian, do vậy mà có thể đưa vào cùng lúc vài gen có giá trị về mặt nông học, ví dụ đưa vào cùng một lúc nhiều gen kháng dịch hại khác nhau. Các phương pháp sàng lọc kiểu hình các cá thể thông qua sự lây nhiễm (đồng thời hoặc thậm chí lần lượt từng thể gây bệnh hay từng côn trùng gây hại) rất khó đạt được kết quả. Nhưng nếu áp dụng công nghệ chỉ thị phân tử có thể kiểm tra sự có mặt hay vắng mặt của từng alen kháng (hay nhiễm) khác nhau ở từng cá thể.

**Bảng 1.5. Sự tương quan giữa số thế hệ  $BC_nF_1$  với tỷ lệ kiểu gen của dòng triển vọng (nhận gen mong muốn) được đưa vào con lai  $BC_nF_1$**

Số thế hệ backcross (n)	Tỷ lệ kiểu gen của dòng nhận gen
1	0,75
2	0,875
3	0,938
4	0,969
5	0,984
6	0,992

Gần đây, với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ chọn giống nhờ chỉ thị phân tử, các nhà khoa học đã đưa ra một phương pháp chọn giống phân tử mới— đó là “Chọn giống hồi giao nhờ chỉ thị phân tử (Marker-Assisted Backcrossing—MABC). MABC là phương pháp thiết thực, hiệu quả trong việc đưa locus gen quy định tính trạng di truyền số lượng (QTL) hay gen mong muốn vào giống ưu tú nhằm chọn tạo giống mới mang gen/QTL mong muốn nhưng vẫn giữ nguyên (gần 100%) nền gen di truyền của giống ưu tú với thời gian chọn giống rất ngắn: quy trình chọn giống kết thúc ở thế hệ  $BC_3$ , thậm chí  $BC_2$ .

Nguyên lý của phương pháp MABC là chuyển một QTL/gen từ dòng cho gen vào dòng nhận gen trong khi chọn lọc sự hội nhập của dòng cho thông qua phần còn lại của hệ gen [74], [72]. Việc sử dụng các chỉ thị phân tử cho phép khảo sát di truyền của con lai ở mỗi thế hệ, đẩy nhanh tốc độ của quá trình chọn lọc, vì thế tăng cường nền di truyền qua mỗi thế hệ.

Ưu điểm chính của phương pháp MABC là: (1) Chọn lọc bằng chỉ thị phân tử đối với locus gen đích; (2) Chọn lọc nền di truyền đối với hệ gen cây bố mẹ tái tổ hợp; (3) Tiên gần đến locus quan tâm trên bản đồ liên kết; (4) Chọn giống ngẫu nhiên kiểu gen mới với một số tính trạng quan tâm. Hiệu quả của các sản phẩm MABC sẽ được thể hiện trên đồng ruộng [80], [84]. Ngoài ra, thông qua phương pháp này, tốc độ của quá trình chọn lọc được đẩy nhanh lên gấp đôi, thậm chí gấp ba (chỉ cần đến thế hệ BC<sub>2</sub> hoặc BC<sub>3</sub> là đạt kết quả tương đương với BC<sub>6</sub> theo phương pháp thông thường).

Chọn giống hồi giao nhờ chỉ thị phân tử còn giúp khắc phục được những trở ngại mà công tác chọn giống truyền thống rất khó giải quyết nhờ loại bỏ được các tác động gây nhiễu do các tương tác trong cùng một alen hay giữa các alen gây ra. Những tương tác này thường không thể phát hiện được bằng cách phân tích kiểu hình. Phương pháp này còn đặc biệt hiệu quả trong trường hợp cần đưa nhiều gen khác nhau vào một nền gen ưu việt.

Ở Việt Nam, *Saltol* QTL có được từ giống có khả năng chịu mặn cao FL478 đã được đưa vào các giống lúa cao sản thông qua phương pháp lai hồi giao kết hợp dấu phân tử theo Huyen, L.T. N. và *ctv* (2012) [48]. Các thế hệ con lai được chọn lọc nhờ vào các primer liên kết với gen kháng mặn như AP3206, RM3412 và RM10793,... Con lai của giống lúa Bacthom 7 được nhận *Saltol* QTL từ giống FL478 sau khi hồi giao 3 thế hệ và có bộ gen tương đồng với giống tái tục Bacthom trên 96% theo Vu, H. T. T. và *ctv* (2012) [82]. Hasan và *ctv*. (2015) [46] nhận định rằng có thể phát triển các giống lúa có khả năng chống chịu mặn cho vùng ven biển Đồng bằng sông Cửu Long bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với dấu phân tử.

## CHƯƠNG 2

### VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Các thí nghiệm được thực hiện tại Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL.

Thời gian thực hiện từ tháng 06/2015 đến tháng 09/2021.

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa: 101 giống lúa mùa và 100 giống lúa cao sản được thu thập từ ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long và Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL; của Viện lúa Quốc tế (IRRI) và các nước như: Ấn Độ và Nhật (Phụ lục 1). Trong đó, các giống làm bố mẹ là OMCS2000; OM1490, OM6162, Pokkali.

Dụng cụ, thiết bị, hóa chất: dụng cụ, thiết bị, hóa chất dùng trong phòng sinh học phân tử, phòng phân tích phân tử (Phụ lục 2).

Chỉ thị phân tử: 52 chỉ thị phân tử dùng trong việc đánh giá đa dạng nguồn gen bố mẹ; 52 chỉ thị sử dụng lập bản đồ GGT (Phụ lục 3).

#### 2.2. Nội dung nghiên cứu

***Nội dung 1: Đánh giá vật liệu bố mẹ sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo chịu mặn***

***Ly trích DNA từ cây lúa:***

Phương pháp ly trích DNA thực hiện theo quy trình của IRRI (2011) [49] và Nguyễn Thị Lang (2002) [9].

***Nội dung 2: Đánh giá hiệu quả chọn lọc tính trạng mục tiêu dựa trên các quần thể lai F<sub>1</sub>***

Lai là một phương pháp nhằm kết hợp những đặc trưng, đặc tính của bố mẹ vào cơ thể mới, là phương pháp quan trọng để tái tổ hợp các kiểu gen của bố mẹ nhằm tạo ra tổ hợp mới, từ đó chọn lựa, bồi dưỡng để tạo ra giống mới. Vì thế, việc chọn lựa bố mẹ phù hợp là rất quan trọng trong công tác chọn tạo giống mới.

***Nội dung 3: Chọn tạo quần thể lai hồi giao phục vụ cho gen chống chịu mặn thấp thông qua MAS***

Lai tạo và chọn lọc các quần thể lai hồi giao nhờ các chỉ thị phân tử ( $BC_1F_1$ - $BC_nF_1$ )

***Nội dung 4: Chọn lọc các quần thể hồi giao  $BC_nF_2$  thông qua lập bản đồ GGT***

*2.3.4.1. Kiểm tra kiểu gen của quần thể con lai trên nhiễm sắc thể 1 và 8 dựa trên các chỉ thị phân tử đa hình giữa cây bố và mẹ*

Phương pháp ly trích DNA, PCR, kiểm tra sản phẩm PCR được thực hiện tương tự như phần 2.3.1

*2.3.4.2. Lập bản đồ GGT đánh giá sự di truyền của quần thể con lai, qua đó chọn lọc các cá thể mang gen mục tiêu mong muốn*

***Nội dung 5: Đánh giá kiểu hình và kiểu gen liên quan gen saltol trên quần thể con lai***

**2.3. Phương pháp nghiên cứu**

***2.3.1. Đánh giá vật liệu bố mẹ sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo chịu mặn***

***Ly trích DNA từ cây lúa:***

Phương pháp ly trích DNA thực hiện theo quy trình của IRRI (2011) [49] và Nguyễn Thị Lang (2002) [9].

Mẫu lá lúa tươi, còn non (2-3 cm) thu được nghiền bằng cối và chày. Sau đó, 400 $\mu$ l dung dịch ly trích DNA (DNA extraction buffer) được cho vào mẫu lá nghiền. Các mẫu mô lá được nghiền đến khi dung dịch mẫu chuyển sang có màu xanh lá cây (tế bào bị phá vỡ và phóng thích ra diệp lục). Dung dịch mẫu tiếp tục được thêm vào 400 $\mu$ l ADN extraction buffer, trộn và lắc đều. Sau đó, 400 $\mu$ l dung dịch mẫu này được hút và chuyển sang một tube 1,5 ml đã được ghi nhãn tên giống. 800 $\mu$ l dung dịch chloroform: isoamyl alcohol (24:1) vào tube mẫu, trộn và lắc đều, sau đó ly tâm với 12.000 vòng trong 3 phút. Các tube mẫu sau ly tâm sẽ phân thành hai lớp riêng biệt, phần dung dịch phía trên (supernatant) được lấy và chuyển sang một tube khác có cùng thể tích. Mẫu được thêm vào 800  $\mu$ l ethanol (100% trữ lạnh), trộn kỹ bằng máy lắc và tiếp tục ly tâm với tốc độ 13.000 vòng trong 5 phút. Dung dịch mẫu lúc này xuất hiện phần kết tủa (pellet) bên dưới tube. Thu phần kết tủa và rửa bằng ethanol (70%). Phần kết tủa là phần DNA tổng số được phơi khô ở nhiệt

độ phần (~25-30°C). Hòa tan DNA vào 50µl TE buffer (Bảng 2.1) và trữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng.

**Bảng 2.1. Thành phần dung dịch đệm ly trích DNA và TE buffer (pH = 8)**

<b>Thành phần dung dịch đệm ly trích DNA (5 ml)</b>			
<i>Thành phần</i>	<i>Nồng độ</i>	<i>Thể tích</i>	<i>Chức năng</i>
Tris (pH = 8)	50 mM	0,25 ml	Ổn định pH = 8
EDTA (pH = 8)	25 mM	0,25 ml	Kết hợp với Mg <sup>2+</sup> , cofactor của DNase (tự do)
NaCl	300 mM	0,30 ml	Kết hợp với ethanol 100% để tủa và rửa sạch DNA, bảo vệ DNA
SDS	1%	0,50 ml	Biến tính protein
Nước cất		3,70 ml	Dung môi hòa tan
<b>Thành phần dung dịch TE buffer (pH = 8) (50 ml)</b>			
<i>Thành phần</i>	<i>Nồng độ</i>	<i>Thể tích</i>	
Tris (pH = 8)	10 mM	0,5 ml	
EDTA (pH = 8)	0,5 mM	0,1 ml	
Nước		49,4 ml	

(Nguồn: Nguyễn Thị Lang, 2002) [9]

***Khuếch đại gen mục tiêu thông qua phương pháp PCR-SSR:***

Sản phẩm PCR được khuếch đại thông qua microsatellite (SSR) theo phương pháp của IRRI (1996) [49] và Nguyễn Thị Lang (2002) [9].

Các thành phần hóa chất cho 15µl mẫu phản ứng PCR được chuẩn bị bao gồm: 8,5µl nước cất hai lần; 1,5µl dung dịch đệm cho PCR (10xTB buffer) (200mM Tris-HCl (pH = 8,0-8,5), 500mM KCl và 15mM MgCl<sub>2</sub>); 1µl dung dịch 1mM dNTP; 1µl dung dịch mồi xuôi và mồi ngược (5µM); 1µl dung dịch *Taq* DNA polymerase (4 U/µl) và 2µl DNA tổng số (35 ng/µl).



Sản phẩm PCR được khuếch đại bằng máy thermal cycler 9600 (Perkin Elmer, USA) theo chương trình SSR được thiết lập như sau:

1. 94°C trong 5 phút (khởi đầu biến tính)
2. 35 chu kỳ với các bước sau:
  - 94°C trong 30 giây (biến tính, tách đôi mạch kép DNA)
  - 55°C trong 30 giây (ủ mồi)
  - 72°C trong 45 giây (kéo dài)
3. 72°C trong 5 phút (kết thúc giai đoạn kéo dài)
4. Trữ ở 4°C.

***Kiểm tra sản phẩm PCR trên bản gel:***

Chuẩn bị gel theo thành phần ở. Dung dịch gel được đun sôi đến khi dung dịch chuyển sang trong suốt và để nguội với nhiệt độ 50-60°C. Dung dịch gel được đổ nhẹ từ từ ra khay, chú ý tránh bọt khí. Khi gel cứng rút lấy các lược và khung chắn ra khỏi gel.

Dùng 5-10µl dung dịch nhuộm (98% formamide, 10 mM EDTA; 0,025% bromo phenol; 0,025% xylene cyanol) trộn đều vào mẫu PCR. Bơm mẫu vào các lỗ giếng. Chạy điện di nằm khoảng 1-2 giờ tùy thuộc vào đặc tính từng cặp mồi.

Nhuộm gel trong dung dịch có ethidium bromide 0,5% khoảng 10-20 phút.

Chụp gel dưới tia UV và đọc kết quả hiện thị trên màn hình.

**Bảng 2.2. Các thành phần của gel polyacrylamide và agarose được sử dụng**

<b>Gel polyacrylamide 6%</b>		<b>Gel agarose 3%</b>	
<b>Thành phần</b>	<b>Thể tích</b>	<b>Thành phần</b>	<b>Thể tích</b>
Nước cất	78,9 ml	Nước cất	98 ml
10X TBE buffer	5,0 ml	50X TAE buffer	2 ml
40% Acrylamide	15,0 ml	Agarose	3,0 g

10% APS	1,0 ml		
TEMED	100,0 $\mu$ l		
<b>Tổng cộng</b>	<b>100,0 ml</b>	<b>Tổng cộng</b>	<b>100,0 ml</b>

(Nguồn: IRRI, 2011; Nguyễn Thị Lang, 2002) [49], [9].

### Lai tạo lúa trong nhà lưới

*Chọn bố mẹ:* khi cây lúa bắt đầu trở bông, cây lúa xanh, khỏe, cứng cáp, không sâu bệnh. Đối với cây mẹ, bông phải trở khỏi bẹ từ 50- 60%. Đối với cây bố, bông lúa trở vươn ra khỏi bẹ và các hoa lúa nở để lộ các nhị đực vàng ra bên ngoài vỏ trấu.



**Hình 2.1. Vật liệu bố mẹ được chuẩn bị**

*Khử đực trên cây mẹ:* thời gian khử đực thường vào lúc chiều mát (khoảng 15 đến 17 giờ). Bông lúa được tách nhẹ nhàng ra khỏi bẹ đòng, sau đó được xử lý bằng cách dùng kéo cắt bỏ các hoa đã nở ở chóp bông (nhị đực đã phơi ra) và những hoa còn non ở cuối bông. Các hoa còn lại được cắt xiên theo viền vỏ trấu để lộ ra những túi phấn. Thao tác này cần nhẹ nhàng, tránh làm vỡ bao phấn, làm rơi hạt phấn lên đầu nhụy. Các nhị đực được loại bỏ ra khỏi vỏ trấu bằng dụng cụ gấp hạt phấn (ben). Các bông lúa đã khử đực được bao bọc lại bằng giấy bóng mờ, không thấm nước, cố định và ghi thông tin lên bao giấy.



**Hình 2.2. Khử đực trên cây mẹ**

*Cách phủ phấn:* thời gian phủ phấn lúc có nắng tốt (thường khoảng 9-10 giờ). Các bông cho phấn hoa được chọn lựa và cắt cẩn thận bằng kéo. Sau đó, rắc nhẹ nhàng phấn hoa lên các hoa của cây mẹ đã được khử đực.

Chăm sóc bông lai: kiểm tra hạt lai sau 3 - 4 ngày phủ phấn. Nếu bầu noãn bắt đầu phình to chứng tỏ sự thụ phấn đã thành công, ngược lại, bông lúa sẽ bị khô và trắng. Hạt lai sẽ chín khi màu hạt chuyển sang vàng và được thu hoạch vào khoảng 25- 30 ngày sau khi thụ phấn. Hạt được sấy ở 38°C trong 3 ngày.

### **2.3.2. Đánh giá hiệu quả chọn lọc tính trạng mục tiêu dựa trên các quần thể lai $F_1$**

Lai là một phương pháp nhằm kết hợp những đặc trưng, đặc tính của bố mẹ vào cơ thể mới, là phương pháp quan trọng để tái tổ hợp các kiểu gen của bố mẹ nhằm tạo ra tổ hợp mới, từ đó chọn lựa, bồi dưỡng để tạo ra giống mới. Vì thế, việc chọn lựa bố mẹ phù hợp là rất quan trọng trong công tác chọn tạo giống mới.

Theo Bùi Chí Bửu (2003) [5] trong các phép lai thì nguyên tắc chung là bổ sung khiếm khuyết luôn được ưu tiên. Các nguyên tắc cơ bản sau: (1) khác nhau về kiểu sinh thái địa lí; khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất; khác nhau về thời

gian các giai đoạn sinh trưởng; khác nhau về tính chống chịu; bổ sung các tính trạng đặc biệt.

Đánh giá sự di truyền và hiệu quả chọn lọc của các cặp bố mẹ ở thế hệ  $F_2$  nhằm chọn lọc các tổ hợp lai phù hợp để chuyển các gen mục tiêu từ cây bố vào hệ gen của cây mẹ. Các chỉ số di truyền bao gồm:

$$\text{Phương sai kiểu gen: } \sigma_g^2 = [(\text{TrMS} - \text{EMS}) / r]$$

$$\text{Phương sai kiểu hình: } \sigma_p^2 = [\sigma_g^2 + \text{EMS}]$$

$$\text{Hệ số di truyền: } h_{BS}^2 = [\sigma_g^2 / \sigma_p^2]$$

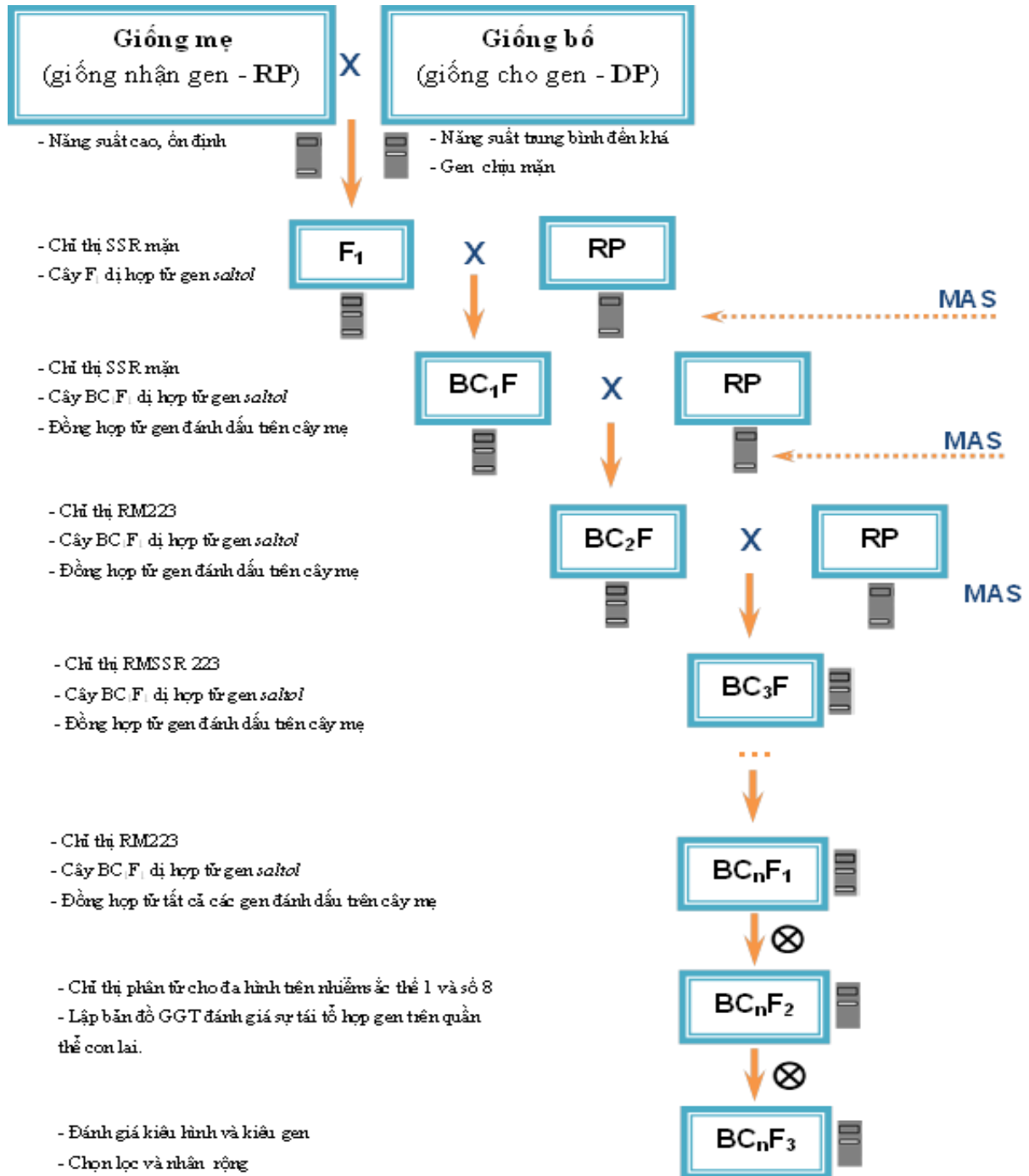
$$\text{Hiệu quả chọn lọc: } GA = i \cdot h_{BS}^2 \cdot (\sigma_p^2)^{-1}$$

*Trong đó:*  $\sigma_g^2$ : phương sai kiểu gen;  $\sigma_p^2$ : phương sai kiểu hình; TrMS: trung bình bình phương của nghiệm thức; EMS: trung bình bình phương của sai số; r: số lần lặp lại của thí nghiệm;  $h_{BS}^2$ : hệ số di truyền theo nghĩa rộng; GA: hiệu quả chọn lọc; i: giá trị chuẩn của cường độ chọn lọc ( $i_{(10\%)}=1,76$ ).

Quần thể  $F_2$  nào có giá trị hệ số di truyền càng cao và hiệu quả chọn lọc càng cao thì quần thể đó cho hiệu quả lai tạo và di truyền kiểu gen càng tốt.

### 2.3.3. Chọn tạo quần thể lai hồi giao phục vụ cho gen chống chịu mặn thấp thông qua MAS

Lai tạo và chọn lọc các quần thể lai hồi giao nhờ các chỉ thị phân tử ( $BC_1F_1$ - $BC_nF_1$ )



Hình 2.3. Sơ đồ quy tụ gen saltol trên quần thể lai hồi giao thông qua MAS

Bước 1: *Chọn lọc bố mẹ phù hợp*. Đánh giá đa hình kiểu gen giữa giống bố (giống cho gen, donor, DP) và giống mẹ (giống nhận gen, recipient, RP) đối với gen saltol và các gen được đánh dấu trên cá thể mẹ (gen tái tổ hợp). Từ đó, chọn ra các cặp bố mẹ và chỉ thị phân tử SSR phù hợp cho chọn lọc cá thể trong quần thể phân ly lai hồi giao (Backcross, BC).

Bước 2: *Lai tạo quần thể lai hồi giao*. Các cá thể  $F_1$  được lựa chọn cho lai hồi giao là các cá thể mang gen saltol dị hợp tử. Cây  $F_1$  được lai lại với giống mẹ (RP) tạo quần thể  $BC_1F_1$ . Các cá thể  $BC_1F_1$  được chọn lọc thông qua MAS (dị hợp tử trên gen *waxy* và đồng hợp tử trên các gen tái tổ hợp) được cho lai với cây mẹ (RP) để tạo quần thể  $BC_2F_1$ . Quá trình lai tạo và chọn lọc quần thể lai hồi giao được thực hiện tương tự các bước nêu trên cho đến khi đạt được quần thể mang gen mong muốn ( $BC_nF_1$ ).

Bước 3: *Chọn lọc dòng thuần các quần thể lai hồi giao*. Các dòng hồi giao mang gen saltol dị hợp tử và mang gần như toàn bộ nền di truyền của cây mẹ (các gen tái tổ hợp đồng hợp như cây mẹ đạt khoảng 90%) được cho tự thụ để đạt được quần thể  $BC_nF_2$ . Đối với gen mục tiêu (*saltol*), ở thế hệ này, các cá thể thể hiện gần như toàn bộ các alen và việc chọn lọc gen đích là hiệu quả nhất. Các thế hệ của quần thể được cho tự thụ và chọn lọc liên tục cho đến dòng thuần (Phụ lục 4).

#### **2.3.4. Chọn lọc các quần thể hồi giao $BC_nF_2$ thông qua lập bản đồ GGT**

2.3.4.1. *Kiểm tra kiểu gen của quần thể con lai trên nhiễm sắc thể 1 và 8 dựa trên các chỉ thị phân tử đa hình giữa cây bố và mẹ*

Phương pháp ly trích DNA, PCR, kiểm tra sản phẩm PCR được thực hiện tương tự như phần 2.3.1

2.3.4.2. *Lập bản đồ GGT đánh giá sự di truyền của quần thể con lai, qua đó chọn lọc các cá thể mang gen mục tiêu mong muốn*

Phương pháp GGT do Young và Tanksley đề xuất (1989) và sau đó Van Berllo (2008) và Milne và ctv. (2010) [62] đã xây dựng phần mềm hữu dụng này theo Singh, S. và ctv (2001) [77]. GGT 2.0: “graphical genotyping” là phương pháp mới

do nhóm tác giả của Đại Học Wageningen phát triển, khi đó các alen thể hiện đồng hợp trội, đồng hợp lặn, dị hợp ở tất cả các con lai trong một quần thể, cho phép công tác chọn lọc các cá thể quy tụ những gen mong muốn một cách có hiệu quả nhất.

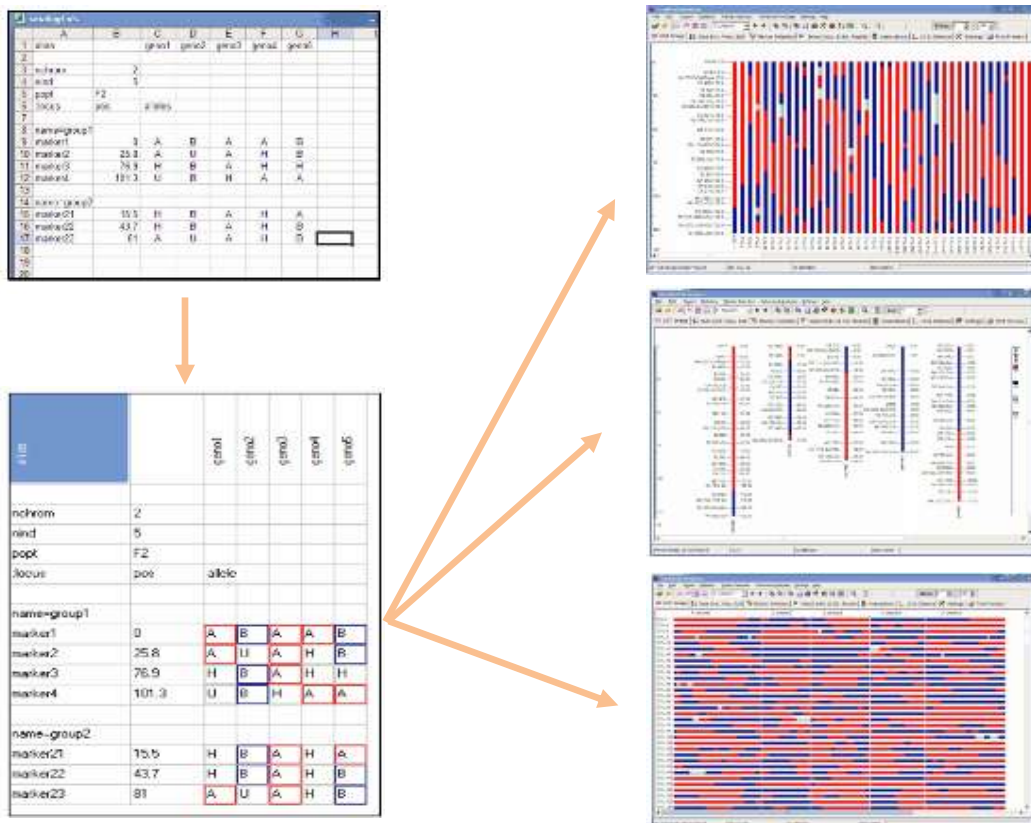
Phương pháp lập bản đồ GGT thông qua các bước như sau:

(1) Lập file dữ liệu trên Excel: mã hóa gen của quần thể với A, B là kiểu gen đồng hợp tử của cây bố mẹ; H là kiểu gen dị hợp tử; U là kiểu gen chưa được xác định.

(2) Nhập dữ liệu vào cửa sổ GGT: Chuyển đổi dữ liệu Excel sang dữ liệu GGT.

(3) Xử lý số liệu trong GGT,

(4) Đăng xuất kết quả.



**Hình 2.4. Phân tích GGT trên quần thể lai ở cây lúa**

### 2.3.5. Đánh giá kiểu hình và kiểu gen liên quan gen saltol trên quần thể con lai

*Phương pháp kiểu hình thanh lọc mặn*

#### **Thanh lọc mặn trong nhà lưới**

Thanh lọc mặn ở giai đoạn mạ trong dung dịch Yoshida chứa muối (NaCl) với giống chuẩn kháng Pokkali và chuẩn nhiễm IR29. Thanh lọc mặn được thực hiện theo phương pháp của IRRI, phương pháp cải tiến của Nguyễn Thị Lang và *ctv.* (2001) [70] và một số điểm bổ sung như sau:

- Bố trí: 3 lần lặp lại, hoàn toàn ngẫu nhiên.
- Sau khi hạt nảy mầm, gieo hạt vào tấm xốp nổi trong dung dịch nước cất trong 3 ngày.
- Sau đó, thay nước bằng dung dịch Yoshida mặn có EC=8dS/m và 15dS/m trong 3 ngày. Cuối cùng, thay bằng dung dịch Yoshida mặn có EC=5dS/m pH=5,0-5,5.
- Kết quả được ghi nhận sau 21 ngày thanh lọc hoặc khi giống chuẩn nhiễm chết hoàn toàn.

**Bảng 2.3. Tiêu chuẩn đánh giá mức độ chịu mặn của cây lúa**

<b>Cấp độ</b>	<b>Chỉ tiêu quan sát</b>	<b>Chống chịu</b>
1	Tăng trưởng và lá bình thường	Chống chịu cao
3	Tăng trưởng bình thường, nhưng đầu lá của một vài cây mạ bị cuộn lại và có màu trắng	Chống chịu
5	Tăng trưởng yếu, hầu hết lá bị cuộn lại, chỉ một vài lá có thể kéo dài ra	Chống chịu trung bình
7	Hầu như không tăng trưởng và lá bị khô, một vài cây bị chết	Chống chịu thấp
9	Tất cả cây khô và chết	Nhiễm mặn

(Nguồn: IRRI, 1996)[51]



### **2.3.6. Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được nhập và lưu trữ bằng chương trình Microsoft Office Excel 2013.

Phân tích và thống kê số liệu (ANOVA, DUCAN) bằng Microsoft Office Excel, Cropstat 7.2, STAR.

Phân nhóm di truyền sử dụng phần mềm NTSYSpC.

Vẽ biểu đồ sử dụng Microsoft Office Excel, R-studio.

Chọn lọc cá thể của quần thể thông qua phân tích Graphical genotypes2 (GGT 2.0).

### **2.3.7. Khảo nghiệm cơ bản**

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Bộ giống khảo nghiệm được thực hiện bằng phương pháp cấy (15x20 cm, 1 tép/bụi), phân bón 80-40-30 kg NPK/ha vụ Hè Thu, và 100-40-30 kg NPK/ha vụ Đông Xuân.

Các chỉ tiêu đánh giá: thời gian sinh trưởng, cao cây, số bông/bụi, số bông/m<sup>2</sup>, trọng lượng 1000 hạt, năng suất (QCVN 01-55:2011/BNNPTNT) được ghi nhận tại các điểm khảo nghiệm.

#### **• Bón phân**

##### **Bón phân đợt 1**

- Các loại phân nên áp dụng là: urea, lân super, DAP (trường hợp không bón lót). Trường hợp có bón lót, thì sử dụng các loại phân hữu cơ như phân chuồng, phân super lân bón khi làm đất.
- Thời gian từ 5-7 ngày sau khi sạ
- Phân bón: (1/4 N-1/4P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)

##### **Bón phân đợt 2**

- Thời gian từ 15-25 ngày sau khi sạ
- Phân bón: (1/2N-1/2P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-1/2 K<sub>2</sub>O)

### **Bón phân đợt 3**

- Thời gian từ 35-40 ngày sau khi sạ
- Phân bón: Urea, DAP, KCl (1/4N-1/4P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-1/2 K<sub>2</sub>O)

### **Thu hoạch, bảo quản**

Lúa trở được từ 25-28 ngày thì tiến hành thu hoạch. Nếu đập lúa bằng phương pháp thủ công thì rất tốt nhưng rất khó khăn về công lao động nên có thể dùng máy tuốt. Trước khi tuốt phải tiến hành vệ sinh máy để không bị lẫn tạp với giống tuốt trước.

Trước khi thu hoạch cần kiểm tra cụ thể trên đồng ruộng nhằm tiện việc phân lô bố trí lao động thời gian gặt, bố trí sân phơi, nhà kho để không ảnh hưởng chất lượng giống.

Sau khi phơi xong, quạt sạch, đóng tinh bao xếp vào kho theo lô, theo cấp, có lối đi, thông thoáng, tiện cho việc lấy mẫu kiểm tra. Trong và ngoài bao giống phải có nhãn thẻ ghi rõ: tên giống, cấp giống, nơi sản xuất, vụ sản xuất, khối lượng.

#### **2.3.8. Khảo nghiệm và đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường**

*2.3.8.1 Phân tích tính ổn định, thích nghi về năng suất của các dòng lúa chịu nóng triển vọng*

Trong nội dung này thí nghiệm tiến hành trên tám dòng lai có triển vọng và giống đối chứng UC10 và thực hiện tại năm địa điểm là Long An, Cần Thơ, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Bến Tre và Trà Vinh. Sáu địa điểm thí nghiệm trên đại diện các đặc điểm chung cho các vùng trồng lúa tại Đồng bằng sông Cửu Long.

Thí nghiệm tiến hành qua hai vụ là Đông Xuân năm 2019 - 2020 và vụ Hè Thu 2020. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Diện tích mỗi ô cơ sở là 30 m<sup>2</sup>. Bộ giống thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp cấy (15 x 20 cm, 1 tép/ bụi). Nền phân bón được áp dụng 80 - 40 - 30 kg NPK/ ha trong vụ Hè Thu và 100 - 30 - 30 kg NPK/ha trong vụ Đông Xuân. Mẫu năng suất được thu hoạch là 10 m<sup>2</sup> trên ô cơ sở. Năng suất được quy về 14% ẩm độ hạt, sau đó ui ra đơn vị

tấn /ha. Bộ giống thí nghiệm được thể hiện ở **Bảng 2.4**. Đây là các dòng lúa chịu mặn từ những cặp lai hồi giao được chọn bằng chỉ thị phân tử.

**Bảng 2.4. Các dòng lúa chịu mặn tham gia thí nghiệm**

<b>Kí hiệu dòng</b>	<b>Dòng lai</b>	<b>Tổ hợp lai hồi giao</b>	<b>Đặc điểm</b>
1	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11</b>	OM1490/Pokkali //OM1490	Chịu mặn, ngắn ngày, năng suất cao, phẩm chất tốt.
2	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40</b>	OM1490/Pokkali //OM1490	Ngắn ngày, năng suất cao, phẩm chất tốt, chịu mặn.
3	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51</b>	OM1490/Pokkali //OM1490	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu nóng.
4	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52</b>	OM1490/Pokkali //OM1490	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn.
5	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16</b>	OM1490/Pokkali //OM1490	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn
6	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-18</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn
7	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn
8	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn phẩm chất tốt
9	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, chịu mặn
10	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn
11	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn
12	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, năng suất cao, chịu mặn phẩm chất tốt
13	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48</b>	OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000	Ngắn ngày, chịu mặn
14	<b>UC10</b>		Giống địa phương

**Đánh giá tính ổn định, thích nghi sử dụng mô hình của Eberhart và Russell (1966) [35]:**

$$Y_{ij} = \mu_i + b_i I_j + \delta_{ij}$$

$Y_{ij}$ : biểu hiện kiểu gen thứ  $i$  ( $i^{\text{th}}$ ) ở môi trường thứ  $j$  ( $j^{\text{th}}$ )

$\mu_i$ : trung bình của tất cả các kiểu gen trên tất cả môi trường

$b_i$ : hệ số hồi quy của kiểu gen  $i^{\text{th}}$  theo chỉ số môi trường

$\delta_{ij}$ : độ lệch từ hồi quy kiểu gen  $i^{\text{th}}$  ở môi trường  $j^{\text{th}}$

$I_j$ : chỉ số môi trường

Năng suất của các giống có thể dự đoán theo phương trình hồi quy:

$$Y = X_i + b_i I_j + S^2_{di}$$

$X_i$ : năng suất trung bình của giống qua các môi trường

$b_i$ : hệ số hồi quy được tính theo công thức  $b_i = \frac{\sum_{i=1}^L (Y_{ij} I_j) / \sum_{i=1}^L I_j^2}{\sum_{i=1}^L Y_{ij} / V}$

$$I_j = \frac{\sum_{i=1}^V Y_{ij} / V}{\sum_{i=1}^V \sum_{i=1}^L Y_{ij} / VL}$$

trong đó:  $V$  – Số giống

$L$  – Số điểm thí nghiệm

$$S^2_{di} = \left[ \sum_j \delta^2_{ij} / (L - 2) \right] - S^2_e / r$$

$$\text{trong đó: } \sum_j \delta^2_{ij} = \left[ \sum_j Y^2_{ij} - Y^2_{i.} / L \right] - \left[ \frac{\sum_{j=1}^L Y_{ij} I_j^2}{\sum_{j=1}^L I_j^2} \right]$$

$s^2_e$ : trung bình phương sai của kiểu gen trên tất cả môi trường

$r$ : số lần lặp lại của một kiểu gen trên một môi trường

Theo mô hình trên, kiểu gen có  $S^2_{di} = 0$  được xem là ổn định, kiểu gen có  $S^2_{di} \neq 0$  thì không ổn định. Kiểu gen ổn định và thích nghi rộng có  $S^2_{di} = 0$  và  $b_i = 1$ ; trường hợp  $b_i > 1$  kiểu gen đó thích nghi ở môi trường thuận lợi, ngược lại  $b_i < 1$  kiểu gen đó thích nghi điều kiện khó khăn (môi trường bất lợi).

Nếu  $S^2_{di} \neq 0$ : mối quan hệ kiểu hình và chỉ số môi trường ( $I_j$ ) không còn là quan hệ đường thẳng hồi quy (tuyến tính), giống không ổn định, khi đó  $b_i$  không còn được sử dụng để đánh giá tính thích nghi của giống.

Phân tích tính ổn định, thích nghi theo mô hình của Eberhart và Russell (1966) [35] bằng phần mềm ổn định version 3.0 của Nguyễn Đình Hiền (Đại học Nông nghiệp 1).

- Số liệu phân tích từng điểm, qua nhiều điểm bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm MSTAT.C, SAS 9.1, xếp hạng nghiệm thức theo trắc nghiệm LSD ở  $\alpha = 0,05$ .

#### 2.3.8.2 Phân tích AMMI (*Additive Main Effects và Multiplicative Interaction Model*)

Tương tác giữa kiểu gen và môi trường theo phương pháp kinh điển đã tập trung vào sự kiện ổn định nhiều hơn sự kiện thích nghi. Do đó, phân tích AMMI được tổng hợp trên cơ sở các mô hình của Finlay và Wilkinson (1963) [37], Freeman và Perkin (1971) [39] và nhiều tác giả khác, trong đó có nhiều nhà khoa học của IRRI. Minh họa giản đồ AMMI tương tác gen và môi trường bằng phần mềm IRRISTAT.

- Minh họa giản đồ phân nhóm các dòng lai bằng UPGMA hệ số Euclidean trên SAS 9.1

## CHƯƠNG 3

### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đa dạng nguồn gen cây lúa

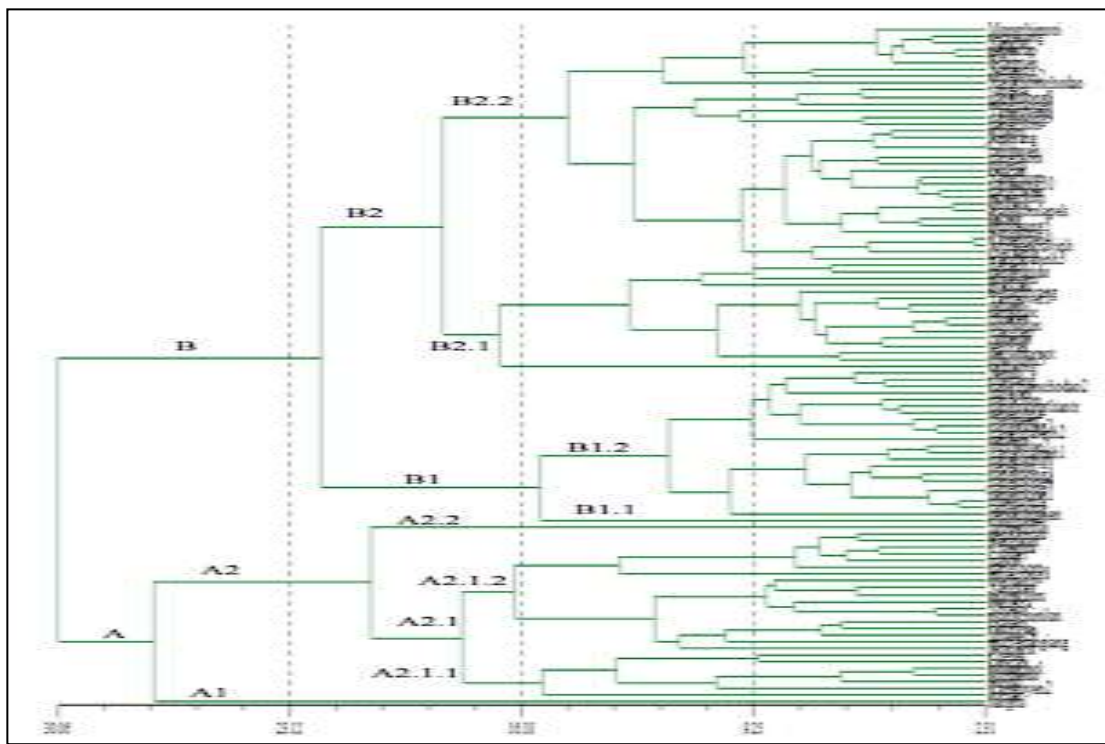
##### *3.1.1. Thanh lọc mặn (đo lường kiểu hình) giai đoạn mạ trên lúa mùa*

Dùng 101 giống lúa mùa để đánh giá tính chống chịu mặn với giống Pokkali làm đối chứng kháng. Tính trạng đơn gene rất dễ đo đếm và quan sát, nhưng không phải luôn luôn trong mọi trường hợp. Kiểu hình trong trường hợp cây lúa chống chịu mặn là kết quả của ảnh hưởng giữa kiểu gene và môi trường. Do đó, điều rất quan trọng là phải làm sao đo đếm một cách chính xác kiểu hình. Người ta sử dụng một quần thể trong đó cho phép kiểu hình được lặp lại, điều này có lợi là làm tăng độ chính xác khi đo đếm, đặc biệt đối với những tính trạng mẫn cảm đối với sự thay đổi do môi trường. Bất kỳ trường hợp nào, việc phân tích kiểu hình phải là công việc được đầu tư nhiều nhất theo Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2017) [13]. Trong bài này dựa trên ngày sống sót của cây lúa sau khi thanh lọc mặn tối đa là 35 ngày trong môi trường dinh dưỡng.

Số ngày sống sót: ngày sống sót của cây mạ được tính dựa trên cơ sở sau khi thanh lọc 30 ngày, cây mạ còn sống sót sẽ được ghi nhận và đánh giá số ngày sống sót từ khi cây bắt đầu khô lá. Phân tích ngày sống sót của các giống sau khi thanh lọc mặn với nồng độ 8dS/m và 15 dS/m cho thấy ngày sống sót của các giống khác nhau có ý nghĩa thống kê mức 99% (\*\*). Độ biến động giữa 3 lần lặp lại có ý nghĩa ở môi trường 8dS/m là 2,59 và ở môi trường 15dS/m là 4,37.

Qua kết quả thanh lọc của 101 giống lúa mùa có sự khác nhau rõ rệt về thời gian sống sót ở môi trường 8dS/m và 15dS/m. Thời gian sống sót cao nhất ở môi trường 8dS/m là 29,5 ngày còn ở môi trường 15dS/m là 28,8 ngày (Phụ lục 3). Nhìn chung, các giống sống sót ở môi trường 8 dS/m, và ở 15 dS/m các giống chết hầu hết khi qua 30 ngày thanh lọc mặn trong môi trường dinh dưỡng. Môi trường mặn làm cho cây lúa sinh trưởng và phát triển không bình thường, những cá thể lúa chịu ảnh hưởng của stress mặn biểu hiện tình trạng cháy đầu lá, thân rễ kém phát triển

hơn bình thường, nếu nhiễm nặng hơn có thể làm cây lúa bị vàng úa, thậm chí cháy khô và chết.



**Hình 3.1. Phân nhóm di truyền của 101 giống khác nhau trên lúa mùa**

Ở hệ số tương đồng 30.06 các giống lúa mùa được chia thành 2 nhóm chính A và B.

Nhóm A1 gồm 1 giống: Bằng Nữ. Giống này có thời gian sinh trưởng (TGST) dài (135 ngày), chiều cao cây lớn (144 cm), số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông rất cao (228 hạt), số hạt lép/bông thấp, dưới 10% (18 hạt), khối lượng 1000 hạt lớn (29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 27 ngày (EC = 8dS/m) đến 29 ngày (EC = 15dS/m).

Nhóm A2 được chia thành 2 nhóm là A2.1 và A2.2 ở hệ số tương đồng 20.35:

Nhóm A2.1 được chia thành 2 nhóm nhỏ là A2.1.1 và A2.1.2 ở hệ số tương đồng là 17.90:

Nhóm A2.1.1 gồm các giống: Chên La, Lùn Cắn, Ma-ha-Phol, Một Bụi Đỏ, Sơ Ri Đỏ, Tài Nguyên 2, Sơ Ri Đỏ. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (125 đến 130 ngày), chiều cao của giống lúa mùa rất cao dao động từ (125 đến 160

cm), chiều dài bông (từ 24 đến 29cm), số bông/bụi nhiều (từ 12 đến 18 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 141 đến 147 hạt), số hạt lép/bông thấp, số hạt/bông lớn (từ 152 đến 164 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (từ 6 đến 11%), năng suất bụi cao (từ 55 đến 113g), khối lượng 1000 hạt lớn (27 đến 29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 26 đến 27 ngày (EC = 8dS/m) và 21 đến 25 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở từ 10 đến 23%.

- Nhóm A2.1.2 gồm các giống: Tép Hành (giống được thu nhập tại Cà Mau), Nàng Keo, Móng Chim, Nàng Trá, Nhỏ Đỏ, Móng Chim Lùn, Lúa Sari, Hương Lài, Mùa Số 19, Một Tép An Giang, Trắng Cụt, Nếp Khmau, Nàng Loan, Trắng Lụa, Lúa Sari, Lúa Sỏi, Nàng Thom, Huyết Ròng 8. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (113 đến 135 ngày), chiều cao cây trung bình (123 đến 147 cm), chiều dài bông (từ 23 đến 27cm), số bông/bụi nhiều (từ 9 đến 25 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 160 đến 200 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 20 hạt), số hạt/bông lớn (từ 180 đến 200 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (từ 1 đến 12%), năng suất bụi cao (từ 60 đến 113g), khối lượng 1000 hạt lớn (25 đến 29g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 25 đến 27 ngày (EC = 8dS/m) và 21 đến 26 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở từ 10 đến 15%.

- Nhóm A2.2 gồm 1 giống: Lùn Minh Hải. Giống thuộc nhóm này có TGST cao (130 ngày), chiều cao cây thấp (128 cm), chiều dài bông tốt, số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông cao (164 hạt), số hạt lép/bông thấp (14 hạt), số hạt/bông cao (178 hạt), tỷ lệ lép/bông thấp (7,8%), năng suất bụi cao (trên 77 g), khối lượng 1000 hạt lớn (28,5g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn được 30 ngày (EC = 8dS/m), 28 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở rất cao 66,5%.

Nhóm B được chia thành 2 nhóm lớn là B1 và B2 ở hệ số tương đồng 22.77:

Nhóm B1 được chia thành 2 nhóm nhỏ là B1.1 và B1.2 ở hệ số tương đồng là 16.64:

- Nhóm B1.1 gồm 1 giống: Tàu Hương. Giống thuộc nhóm này có TGST cao (130 ngày), chiều cao cây thấp (123 cm), chiều dài bông tốt, số bông/bụi nhiều, số hạt chắc/bông trung bình (107 hạt), số hạt lép/bông cao (45 hạt), số hạt/bông trung



binh (152 hạt), tỷ lệ lép/bông khá cao (30%), năng suất bụi trung bình (trên 47,8g), khối lượng 1000 hạt nhỏ (23,3g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn được 30 ngày (EC = 8dS/m), 29 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở khoảng 67,5%.

- Nhóm B1.2 bao gồm: Nếp đỏ, Nhỏ Vàng, Nàng Thơm Chợ Đào 2, Lúa Thơm, Nanh Chồn, Nàng Hương Thanh Trà, Nếp Ông Già, Thơm Sớm, Nàng Hương 2, Trắng Hòa Bình 2, Nàng Nhen, Một Bụi Lùn 2, Trắng Hòa Bình 1, Nàng Hương 6, Nếp Thơm, Nàng Hương 3, Nàng Hương 4, Nàng Hương 7, Nàng Hương 1, Nhỏ Thơm 5, Tàu Lệ Hương. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây trung bình (135 đến 146 cm), chiều dài bông (từ 16 đến 28cm), số bông/bụi (từ 8 đến 20 bông), số hạt chắc/bông thấp (từ 63 đến 120 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 20 hạt), số hạt/bông thấp (từ 68 đến 148 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (dưới 20%), năng suất bụi thấp (từ 10 đến 111g), khối lượng 1000 hạt thấp (23 đến 28g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 24 đến 32 ngày (EC = 8dS/m) và 21 đến 31 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở từ 10 đến 17%.

Nhóm B2 được chia thành 2 nhóm nhỏ là B2.1 và B2.2 ở hệ số tương đồng là 18.59:

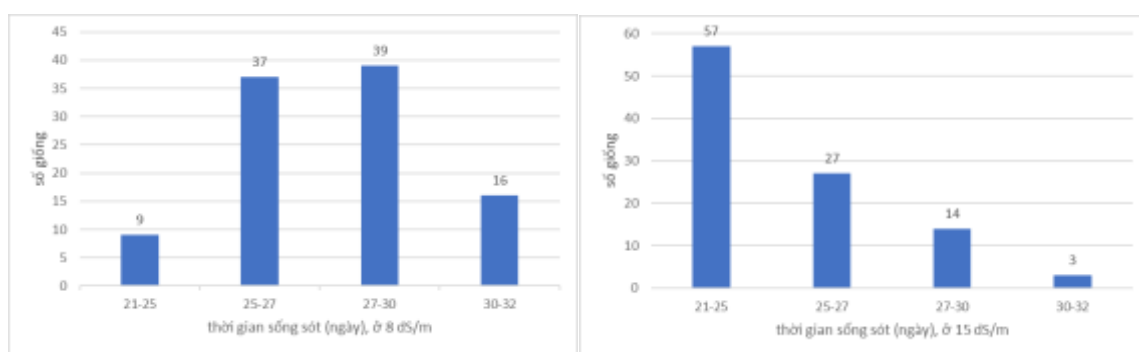
- Nhóm B2.1 gồm các giống: Rễ Hành, Nàng Gước Đỏ, Nhỏ Thơm, Pokkali, Rễ Hành Trắng, Tài Nguyên 1, Rễ hành, Nàng Quốc, Chín Tèo, Một Bụi Lùn, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Tép Trắng, Đen Vỏ Đỏ Ruột, Nhỏ Thơm 3, Nếp Phụng Tiên. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây (126 đến 160 cm), chiều dài bông (từ 23 đến 30cm), số bông/bụi (từ 10 đến 21 bông), số hạt chắc/bông trung bình (từ 110 đến 120 hạt), số hạt lép/bông thấp (dưới 23 hạt), số hạt/bông cao (từ 125 đến 135 hạt), tỷ lệ lép/bông rất thấp (dưới 17%), năng suất bụi (từ 25 đến 80g), khối lượng 1000 hạt thấp (23 đến 27g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 24 đến 32 ngày (EC = 8dS/m) và 22 đến 30 ngày (EC = 15dS/m) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở từ 15 đến 70%.

- Nhóm B2.2 gồm các giống: Móng Chim Roi, Nếp Mường, Nàng Tét, Nếp Ba Tập, C10-1, Trắng Tép, Nàng Co, Nhỏ Thơm 2, Nàng Thơm Chợ Đào, Vàng Lụa, Nàng Hương 8, Nàng Hương 5, Tài Nguyên 3, Nàng Hương 9, Nanh Chồn, Út Lượm, Sori Trắng, C10-2, Tài Nguyên, Nàng Thơm, Nàng Hương 10, Nàng thơm, Móng Chim, On Kuok, Sraukomlapek, Sa Lãng, Nhỏ Hương 5, Nàng Sớm, Tài Nguyên 4, Sóc Miên Trà Vinh, Chệt Xanh, Trắng Hòa Bình, Nhỏ Thơm 4, Nhỏ Thơm 4. Các giống thuộc nhóm này có TGST trung bình (120 đến 135 ngày), chiều cao cây (120 đến 165 cm), chiều dài bông (từ 22 đến 30cm), số bông/bụi (từ 11 đến 25 bông), số hạt chắc/bông cao (từ 100 đến 145 hạt), số hạt lép/bông khá thấp (từ 8 đến 40 hạt), số hạt/bông cao (từ 110 đến 175 hạt), tỷ lệ lép/bông (từ 5 đến 22%), năng suất bụi (từ 20 đến 80g), khối lượng 1000 hạt cao (25 đến 30g), khả năng sống sót được trong môi trường mặn từ 21 đến 30 ngày ( $EC = 8dS/m$ ) và 21 đến 30 ngày ( $EC = 15dS/m$ ) và có tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trở từ 0 đến 15%.

**Phân tích bộ giống lúa mùa chống chịu mặn giai đoạn mạ ở nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$**

Các giống được đánh giá ở môi trường  $8dS/m$  cho thấy, có 9 giống có thời gian sống sót từ 21-25 ngày: Nàng Thơm Thanh Trà, Nàng Thơm, Nàng Thơm Chợ Đào, Mùa số 19, Nhỏ Thơm-5, Nếp Ông Già, Nàng Hương-2, Trắng Lụa, Tài Nguyên. Có 37 giống có thời gian sống sót từ 25-27 ngày: Sóc Miên Trà Vinh, Móng Chim Lùn, Nàng Hương-8, Nếp Phụng Tiên, Trắng Hòa Bình-1, Nhỏ Tương-5, Nàng Tét, Nanh Chồn, Trắng Hòa Bình-3, Lúa Cẩn, Lúa Sỏi, Hương Lài, Nàng Hương-4, Móng Chim, Chệt Xanh, Lúa Sari, Tài Nguyên-3, Trắng Cụt, Nàng Hương-7, Nhỏ Đỏ, Nàng Thơm, Sori Trắng, Nếp Đỏ, Nàng Hương-5, Lúa Thơm, Nàng hương -9, Nàng Nhen, Ngọc Nữ, Nàng Loan, Huyết Ròng 8, Nàng Hương-6, Nàng Hương-10, Móng Chim Roi, Nếp Mường, Nếp Ba Tập, Út Lượm, Nàng Trá. Có 39 giống có thời gian sống sót từ 27-30 ngày: Sori Đỏ, Nàng Co, Nàng Thơm, Tàu Lệ Hương, Trắng Hòa Bình-2, Lúa sari, Nàng Keo, Lùn Cẩn, Tài Nguyên-4, Sori Đỏ, Một Bụi Lùn-2, Nàng Hương-3, Nàng Hương Thanh Trà, Móng Chim, Nanh chồn, Thơm Sớm, Nàng Hương-1, Vàng Lụa, Nhỏ thơm-2, Nhỏ thơm-4, On Kuok,

Sa Lãng C10-2, C10-1, Nàng Sớm, Srauskom La pek, Nếp Khmau, Ma ha phol, Trắng Tép, Nếp Thom, Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thom Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thom-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành, Chên La. Có 16 giống có thời gian sống sót từ 30-32 ngày: Các giống này được xem là chống chịu mặn ở 3‰ bao gồm: Đen Vô Đỏ Ruột, Rễ hành trắng, Trắng tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo, Rễ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rễ Hành, Tép Trắng, Nhỏ Thom-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gưót Đỏ.



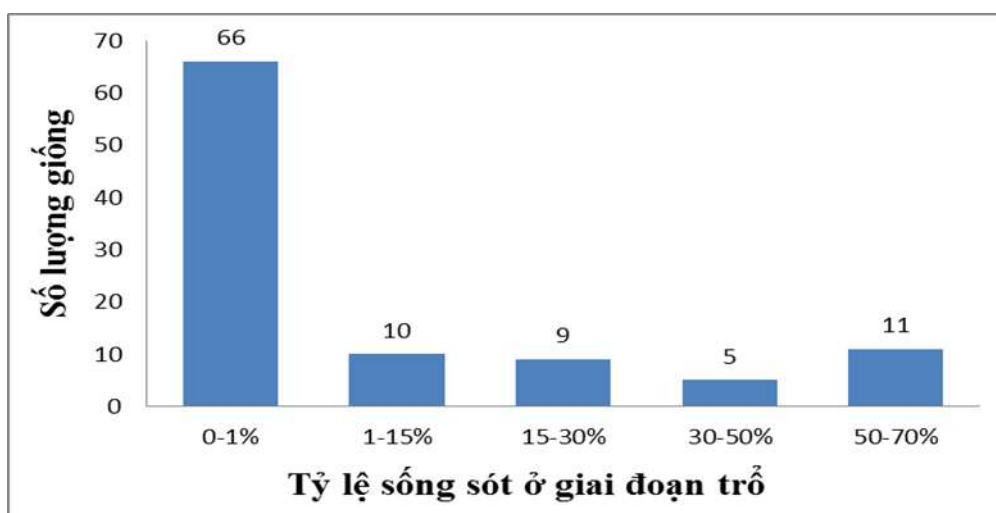
**Hình 3.2. Biểu đồ thể hiện số ngày sống sót ở EC = 8dS/m (A) và 15dS/m (B) của 101 giống lúa mùa**

#### **Các giống được thanh lọc ở giai đoạn mạ với nồng độ mặn EC = 15 dS/m**

Các giống được đánh giá ở môi trường với nồng độ mặn EC = 15 DS/m cho thấy: Có 3 giống có số ngày sống sót được ở mức 30 ngày như giống: Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gưót Đỏ. Có 14 giống có số ngày sống sót từ 27 đến 30 ngày: Chên La, Đen, Vô Đỏ Ruột, Rễ Hành Trắng, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo, Rễ Hành, Một Bụi Lùn, Rễ hành, Tép Trắng, Nhỏ Thom-1, Tài nguyên-1, Lùn Minh Hải. Có 27 giống có thời gian sống sót từ 25 đến 27 ngày: Nàng Hương-3, Nàng Hương Thanh Trà, Móng Chim, Nanh Chồn, Thom Sớm, Nàng Hương-1, Vàng Lụa, Nhỏ Thom-2, Nhỏ Thom-4, On kuốc, Sa Lãng, C10-2, C10-1, Nàng Som, Srauskom la pek, Nếp Khmau, Ma ha phol, Trắng Tép, Nếp Thom, Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thom Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thom-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành. Các giống còn lại có số ngày sống sót dưới 25 ngày.

**Phân tích bộ giống lúa mùa chống chịu mặn ở giai đoạn trổ hoa ở nồng độ mặn EC = 8, 15dS/m**

Đánh giá khả năng sống sót của các giống ở giai đoạn trổ, có 11 giống có tỷ lệ sống sót từ 50-70%: Rễ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rễ Hành, Tép Trắng, Nhỏ Thom-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gứt Đỏ. Có 5 giống có tỷ lệ sống sót từ 30 đến 50%: Đen Vỏ Đỏ Ruột, Rễ Hành Trắng, Trắng Tép, Cà Đun Đỏ, Chín Tèo. Có 9 giống có tỷ lệ sống sót từ 15 đến 30%: Một Tép An Giang, Một Bụi Đỏ, Tài Nguyên-2, Nàng Thom Chợ Đào-2, Bằng Nữ, Nhỏ Thom-3, Nhỏ Vàng, Tép Hành, Chên La. Có 10 giống có tỷ lệ sống sót từ 1 đến 15%: On kuốc, Sa Lãng, C10-2, C10-1, Nàng Sớm, Srauskom La Pek, Nếp Khmau, Ma Ha Phol, Trắng Tép, Nếp Thom. Các giống còn lại đều không sống sót đến giai đoạn trổ. Đối với nồng độ EC = 15dS/m thì chỉ có Rễ Hành, Nàng Quốc, Một Bụi Lùn, Rễ hành, Tép Trắng, Nhỏ Thom-1, Tài Nguyên-1, Lùn Minh Hải, Tàu Hương, Pokkali, Nàng Gứt Đỏ là còn sống sót. Còn các giống khác hoàn toàn lép và không thu được hạt.



**Hình 3.3. Biểu đồ thể hiện tỷ lệ sống sót ở giai đoạn trổ của các giống lúa mùa.**

**Nồng độ muối EC = 8dS /m**

**Đánh giá tương quan các chỉ tiêu ở hai môi trường muối EC = 8 và 15dS/m**

Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR-SSR với marker RM223. Gene mục tiêu được chọn để thực hiện thí nghiệm này là gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể

số 8 (*saltol*). Gene liên kết chặt trên nhiễm sắc thể số 8 được đánh dấu bởi marker phân tử RM223. Gene này có liên kết với gen mùi thơm và với gen chống chịu mặn ở giai đoạn mạ và phát dục. Marker RM223 được sử dụng làm marker đánh dấu, marker này có kích thước là (200-220bp) và được dùng làm khuôn DNA để thiết lập các cặp primer đặc hiệu. Các cặp primer này sẽ khuếch đại được các đoạn DNA nhỏ hơn nhờ phương pháp PCR. Các đoạn DNA nhỏ này được gọi là SSR. Sau đó tiến hành kiểm tra việc khuếch đại trên gel agarose 3% trong dung dịch TBE 1X.

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở tất cả các cột đều có dạng đơn hình, xuất hiện với hai băng có kích thước 200bp tương ứng với IR29 và 220bp tương ứng với Pokkali cho gen kháng mặn.

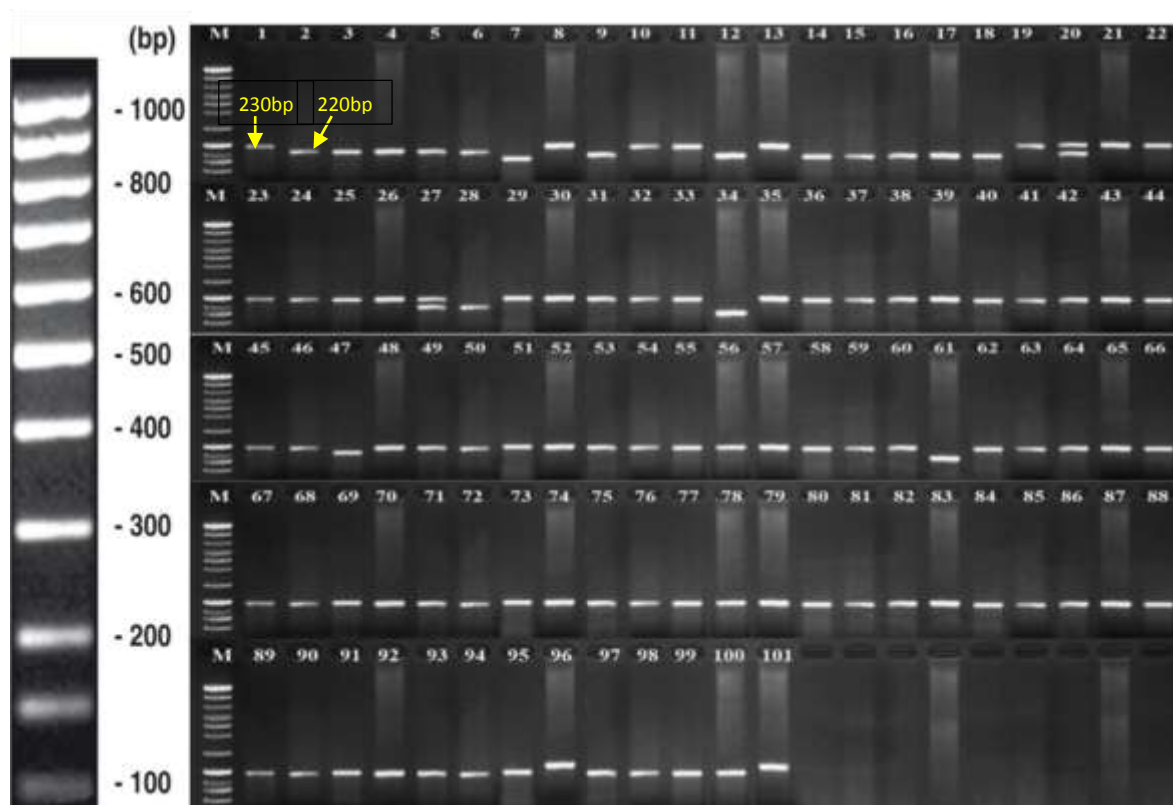
Tương tự phân tích kiểu alen của chỉ thị RM3252-S-1-1 ghi nhận kích thước phân tử cho vị trí của Pokkali là Marker RM3252-S-1-1 được sử dụng làm marker đánh dấu, marker này có kích thước là (220-230 bp) và được dùng làm khuôn DNA để thiết lập các cặp primer đặc hiệu. Điều này cũng phù hợp với G. Mohammadi và *ctv* (2010). Kết quả ghi nhận đa số các giống khác biệt với giống Pokkali.

**Kiểm tra mức độ chính xác giữa việc đánh giá giống theo kiểu hình và dựa vào marker phân tử.**

Phương pháp SSR marker với marker RM223 đã được Nguyễn Thị Lang (2004) [10] kiểm tra, với mức độ chính xác đến 82% giữa kiểu gene và kiểu hình trên giai đoạn phát dục và 92% ở giai đoạn mạ. Tiến hành việc kiểm tra mức độ chính xác của phương pháp SSR marker với marker RM 223. Trước hết xác định kiểu hình thanh lọc đối với gene kháng mặn chọn ra các giống kháng và nhiễm rõ rệt để đánh giá kiểu hình và kiểu gene nhanh bằng marker phân tử.

Kết quả ghi nhận về sự liên hệ giữa kiểu hình và kiểu gene cho thấy trong giống lúa được kiểm tra: trong 13 giống chống chịu mặn tốt về kiểu hình thì có 13 giống mang kiểu gene kháng (T) chiếm 100%. Quá trình biểu hiện từ kiểu gene ra kiểu hình là một quá trình phức tạp gồm nhiều nhân tố quyết định trong đó quan trọng nhất là sự tương tác giữa kiểu gene và môi trường. Phương pháp này cho thấy khả năng dự đoán kiểu gene chống chịu và kiểu hình chống chịu rất cao, do đó có

thể áp dụng để chọn lọc những giống chống chịu cho điều kiện mặn, làm nguồn vật liệu lai cho những chương trình lai tạo giống lúa mới hiện nay.



**Hình 3.4. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 101 giống chống chịu mặn.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; (1): Pokkali – 230bp; (2): IR29 – 220bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

### **Tóm lại**

Qua đánh giá kiểu hình của 101 giống lúa mùa về mức độ phản ứng chống chịu mặn với hai nồng độ muối khác nhau EC = 8dS/m và 15dS/m có thể chia thành 3 nhóm khác nhau: nhóm các giống chống chịu mặn, giống hơi nhiễm và giống nhiễm.

Khả năng phản ứng với mặn của giống lúa có sự khác biệt rất lớn. Tuy nhiên xét về sự sinh trưởng của các giống cho thấy: nồng độ muối càng cao thì số ngày sống sót càng thấp.

Các giống chống chịu mặn: Pokkali, Một Bụi Lùn, Tép Hành, Nàng Gước Đỏ, Nhỏ Hương 0098, Nhỏ Hương 0097)... Các giống này có kiểu hình thống nhất kiểu gene, có khả năng chống chịu tốt với điều kiện mặn.

### **Đề nghị**

Tiếp tục khai thác các giống lúa mùa sử dụng như là vật liệu ban đầu làm vật liệu lai, để tạo ra các con lai có khả năng chống chịu mặn và cho năng suất cao.

### **3.1.2. Thanh lọc bộ giống lúa cao sản**

#### **Đánh giá phản ứng mặn trên bộ giống vật liệu lai**

##### ***Thanh lọc mặn (đo lường kiểu hình)***

Mặn là một yếu tố đa gene, bị ảnh hưởng rất lớn của điều kiện môi trường, do đó khi phân tích sàng lọc gene mặn ta phải kết hợp đánh giá kiểu hình và kiểu gene.

Dùng 100 giống lúa cao sản, ngắn ngày để đánh giá tính chống chịu với điều kiện bất lợi (mặn). Tính trạng đơn gene rất dễ đo đếm và quan sát, nhưng không phải luôn luôn trong mọi trường hợp. Kiểu hình là kết quả của ảnh hưởng giữa kiểu gene và môi trường. Do đó, điều rất quan trọng là phải làm sao đo đếm một cách chính xác kiểu hình. Người ta sử dụng một quần thể trong đó cho phép kiểu hình được lặp lại, điều này có lợi là làm tăng độ chính xác khi đo đếm, đặc biệt đối với những tính trạng mẫn cảm đối với sự thay đổi do môi trường. Bất kỳ trường hợp nào, việc phân tích kiểu hình phải là công việc được đầu tư nhiều nhất theo Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2017) [13].

**Số ngày sống sót của các giống giai đoạn mạ.**

**Bảng 3.1. Số ngày sống sót ở 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m trên 100 giống lúa**

STT	Tên giống	Số ngày sống sót (ngày)		
		nồng độ mặn EC = 0dS/m	nồng độ mặn EC = 8dS/m	nồng độ mặn EC = 15dS/m
1	OM4900	30,0a	24,6t-z (A)	23,5s-z (A-D)
2	OM1490	30,0a	24,2z (A-C)	-
3	AS 996	30,0a	26,0k-t	24,7l-v
4	M362	30,0a	26,0i-p	24,9j-s
5	BASMATI	30,0a	26,6g-p	-
6	Basmati ĐB	30,0a	22,4 (E-H)	22,3 (A-F)
7	OM6162	30,0a	24,9r-z (A)	23,6n-x
8	Swarna Sub1	30,0a	27,5d-g	27,2b-h
9	IR64Sub1	30,0a	22,3 (G-H)	21,0 (EF)
10	IRGA318-11-6-9-2B	30,0a	22,1 (H)	21,0 (EF)
11	IR78966-B-10-B-B-B-2	30,0a	25,3s-z (A)	22,4z (A-F)
12	IR78913-B-10-B-B-B	30,0a	25,8k-s	22,2v-z (A-E)
13	IR75499-73-1-B	30,0a	25,9l-v	24,9j-p
14	IR78913-B-19-B-B-B	30,0a	27,3e-j	25,4i-o
15	AZUCENA	30,0a	24,0 (B-F)	23,8o-z
16	IR78933-B-24-B-B-2	30,0a	25,8k-t	24,3k-t
17	IR78933-B-24-B-B-3	30,0a	26,6f-l	23,2r-z (AB)
18	IR78933-B-24-B-B-4	30,0a	25,8k-r	22,7u-z (A-E)
19	WAB326-B-B-7-H1	30,0a	27,9c-f	22,0 (A-F)
20	IR79008-B-11-B-B-1	30,0a	24,0 (B-E)	23,8l-w
21	IR75499-38-1-B	30,0a	25,9l-v	23,4t-z (A-D)
22	V3M-92-1	30,0a	25,8m-v	22,2 (A-F)
23	IR75499-21-1-B	30,0a	25,0q-z (A)	22,1x-z (A-F)
24	V3M-109-2	30,0a	24,9u-z (A)	24,7j-p
25	WAB272-B-B-8-H1	30,0a	24,2yz (AB)	23,6r-z (A-C)
26	WAB340-B-B-2-H2	30,0a	23,9 (B-F)	22,0 (C-F)



STT	Tên giống	Số ngày sống sót (ngày)		
		nồng độ mặn EC = 0dS/m	nồng độ mặn EC = 8dS/m	nồng độ mặn EC = 15dS/m
27	WAB176-42-HB	30,0a	29,0ab	27,7b-g
28	IR78937-B-20-B-B-1	30,0a	22,3 (G-H)	-
29	WAB880-1-38-18-20-P <sub>1</sub> -HB	30,0a	23,9 (B-F)	-
30	WAB881SG9	30,0a	24,4 (A-D)	-
31	IR78997-B-16-B-B-B-SB2	30,0a	25,8l-v	24,7k-t
32	IR78966-B-10-B-B-B-SB1	30,0a	26,3g-p	25,5f-l
33	IR78944-B-8-B-B-B	30,0a	27,0e-j	26,5d-j
34	IR78941-B-16-B-B-B	30,0a	26,1k-r	25,1j-r
35	IR78948-B-21-B-B-B	30,0a	25,3o-x	22,0yz (A-F)
36	IR78942-B-2-B-B-2	30,0a	23,7 (B-F)	-
37	IR78937-B-20-B-B-3	30,0a	27,5e-i	25,6i-o
38	IR78985-B-13-B-B-B	30,0a	23,1 (E-H)	-
39	IR78933-B-24-B-B-1	30,0a	23,3 (C-G)	-
40	WABC165	30,0a	27,1 (D-G)	26,3 (B-F)
41	IR80315-49-B-B-4-B-B-B	30,0a	24,2x-z (AB)	23,6o-y
42	IR78966-B-16-B-B-B	30,0a	25,7p-y	25,2j-p
43	IR78913-B-22-B-B-B	30,0a	24,3 (A-D)	23,8r-z (A-C)
44	OMCS 2000 (Đ/C)	30,0a	25,7o-x	25,1j-p
45	OM6162 đ/c	30,0a	26,4j-q	25,6j-p
46	OM10405	30,0a	22,8 (G-H)	22,3x-z (A-E)
47	HATRI144	30,0a	26,4f-m	25,6i-o
48	HATRI 1	30,0a	25,7o-w	25,3j-p
49	OM10408	30,0a	23,7 (B-F)	22,7v-z (A-E)
50	IR29	30,0a	23,9 (B-F)	22,8s-z (A-D)
51	HATRI60	30,0a	26,0h-p	23,6o-y
52	HATRI90	30,0a	28,5i-p	27,8n-x
53	OM10413	30,0a	27,5e-h	-
54	OM10414	30,0a	24,3z (A-C)	-
55	OM10415	30,0a	24,9v-z (A)	-

STT	Tên giống	Số ngày sống sót (ngày)		
		nồng độ mặn EC = 0dS/m	nồng độ mặn EC = 8dS/m	nồng độ mặn EC = 15dS/m
56	OM6614	30,0a	24,8w-z (A)	--
57	OM6843	30,0a	25,3o-x	-
58	OMCS2009	30,0a	29,1n-v	26,4p-z (A)
59	OM5703	30,0a	25,0s-z (A)	22,7u-z (A-E)
60	OM5704	30,0a	25,8m-v	23,7r-z (A-C)
61	HATRI62	30,0a	29,0ab	27,1b-f
62	OMCS2008	30,0a	26,0h-p	25,0j-q
63	HATRI31	30,0a	28,5b-e	28,1a-e
64	HATRI32	30,0a	28,6ab	28,3a-c
65	OM63L	30,0a	28,8ab	27,5a-d
66	Pokkali	30,0a	28,7ab	26,4e-k
67	OM71L	30,0a	28,5a-c	28,4ab
68	OM72L	30,0a	29,0ab	27,3a-e
69	OM5681	30,0a	27,5c-f	25,4i-o
70	OM6730	30,0a	22,9 (E-H)	22,4 (A-F)
71	OM6014	30,0a	23,7 (B-F)	23,2q-z (A-C)
72	OM6778	30,0a	22,7 (G-H)	22,1 (C-F)
73	OM6033	30,0a	22,5 (F-H)	21,5 (D-F)
74	OM6032	30,0a	26,1 (E-H)	24,2 (A-F)
75	OM6613	30,0a	25,9 (E-H)	24 (C-F)
76	OM6729	30,0a	26,5u-z (A)	24,3 (B-F)
77	OM62L	30,0a	29,3ab	28,9ac
78	OM10279	30,0a	22,8 (F-H)	-
79	OM10280	30,0a	24,2 (A-C)	-
80	OM10418-1	30,0a	28,4a-d	-
81	OM10704	30,0a	29,5a	-
82	OM3673	30,0a	28,9ab	-
83	OM4249	30,0a	26,3j-q	25,4f-l
84	OM4693	30,0a	27,0f-k	26,2f-m

STT	Tên giống	Số ngày sống sót (ngày)		
		nồng độ mặn EC = 0dS/m	nồng độ mặn EC = 8dS/m	nồng độ mặn EC = 15dS/m
85	OM4726	30,0a	26,0l-u	25,0i-o
86	OM4796	30,0a	26,7f-m	26,4e-k
87	OM6379	30,0a	26,0m-v	-
88	OM5629	30,0a	26,4g-p	25,2h-n
89	OM6387	30,0a	26,1k-r	25,7g-n
90	OM6426	30,0a	25,5p-z	24,8j-p
91	HATRI15	30,0a	27,0e-i	26,5c-i
92	HATRI16	30,0a	28,7ab	28,0a-c
93	HATRI33	30,0a	28,9ab	28,2a-c
94	HATRI20	30,0a	26,3j-q	25,4f-l
95	HATRI35	30,0a	27,0f-k	26,2f-m
96	HATRI28	30,0a	26,0l-u	25,0i-o
97	HATRI50	30,0a	26,7f-m	26,4e-k
98	HATRI192	30,0a	26,0m-v	24,6l-u
99	HATRI603	30,0a	26,4g-p	25,2h-n
100	HATRI608	30,0a	26,1k-r	25,7g-n

(Ghi Chú: - Những giống thanh lọc và chết)

Phân tích ngày sống sót của các giống sau khi thanh lọc mặn với nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m cho thấy ngày sống sót của các giống khác nhau có ý nghĩa thống kê mức 99 % (\*\*). Độ biến động giữa 3 lần lặp lại có ý nghĩa ở môi trường 8dS/m là 2,59 và ở môi trường mặn EC = 15dS/m là 4,37.

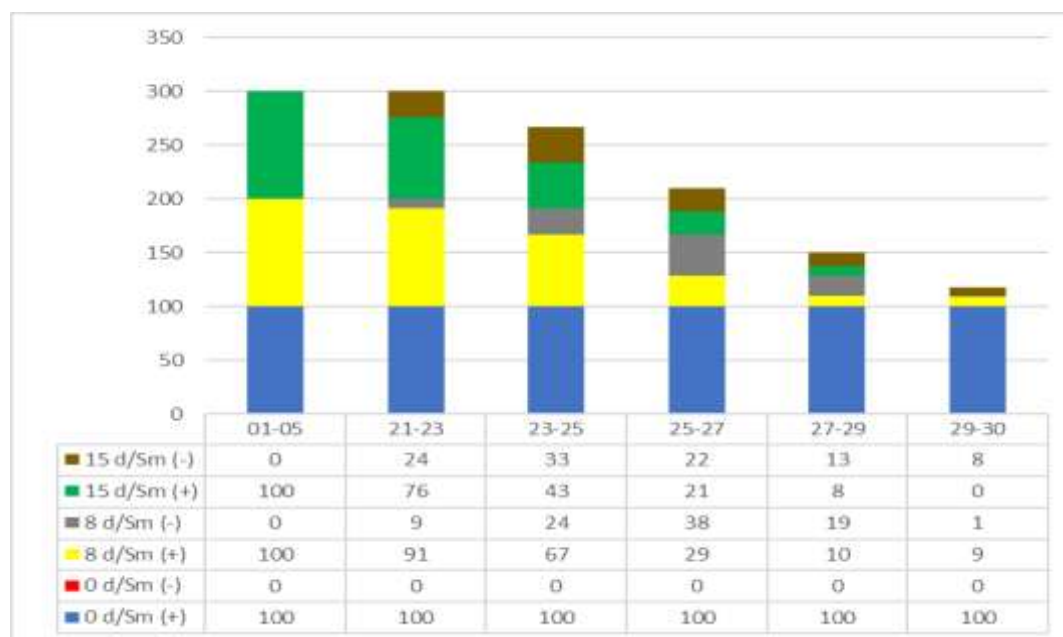
Qua kết quả thanh lọc của 100 giống lúa cao sản có sự khác nhau rõ rệt về thời gian sống sót ở môi trường mặn EC = 8dS/m và môi trường mặn có EC = 15 dS/m. Thời gian sống sót cao nhất ở môi trường 8 dS/m là 29,5 ngày còn ở môi trường mặn EC = 15dS/m là 28,8 ngày. Thời gian sống sót thấp nhất ở môi trường mặn có EC = 8dS/m là 22,1 ngày và ở môi trường EC = 15dS/m là 21 ngày.

Ở môi trường mặn có  $EC = 0dS/m$  tất cả các giống sống sót qua 30 ngày thanh lọc. Còn ở môi trường mặn có  $EC = 8dS/m$  và  $15dS/m$  có sự khác biệt về thời gian sống sót.

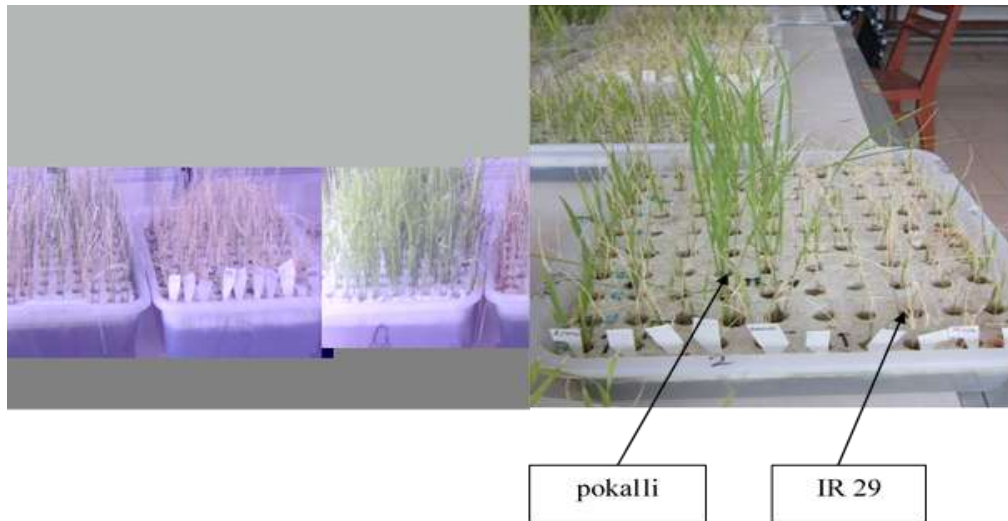
Môi trường mặn có  $EC = 8dS/m$  thời gian sống sót 21 - 23 ngày có 9 giống, 23 - 25 ngày có 24 giống, 25 - 27 ngày có 38 giống, 27 - 29 ngày có 19 giống, 29 - 30 ngày có 1 giống.

Môi trường mặn có  $EC = 15dS/m$  thời gian sống sót từ 21 - 23 ngày có 24 giống, 23 - 25 ngày có 33 giống, 25 - 27 ngày 22 giống, 27 - 29 ngày 13 giống.

Nhìn chung, các giống sống sót ở môi trường mặn có  $EC = 0dS/m$  nhiều hơn ở môi trường mặn có  $EC = 8dS/m$ , và ở môi trường mặn có  $EC = 15dS/m$  các giống chết hầu hết khi qua 30 ngày thanh lọc mặn trong môi trường dinh dưỡng.



**Hình 3.5. Đồ thị so sánh sự khác nhau về ngày sống sót giữa 3 nồng độ mặn  $EC = 0dS/m$ , nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  và nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$**



**Hình 3.6. Kết quả thanh lọc mặn ở các nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m**

### **Cấp độ chống chịu mặn giai đoạn mạ**

Môi trường mặn làm cho cây lúa sinh trưởng và phát triển không bình thường, những cá thể lúa chịu ảnh hưởng của stress mặn biểu hiện tình trạng cháy đọt lá, thân rễ kém phát triển hơn bình thường, nếu nghiêm trọng hơn có thể làm cây lúa bị vàng úa, thậm chí cháy khô và chết.

Ở môi trường mặn 8 dS/m, qua 30 ngày thanh lọc có rất nhiều cây lúa bị cháy khô, phần xanh của cây chỉ còn lại < 30 %, thậm chí nhiều giống bị chết 100 %. Đa số các giống qua 30 ngày thanh lọc trong môi trường mặn đều biểu hiện cấp độ khô lá ở cấp 9 (68 giống, chiếm tỷ lệ 73,91 %). Có 21 giống ở cấp khô lá cấp 7. Đặc biệt giống OM 10704 biểu hiện cấp khô lá là cấp 5, Pokkali (chuẩn kháng) biểu hiện cấp 3.

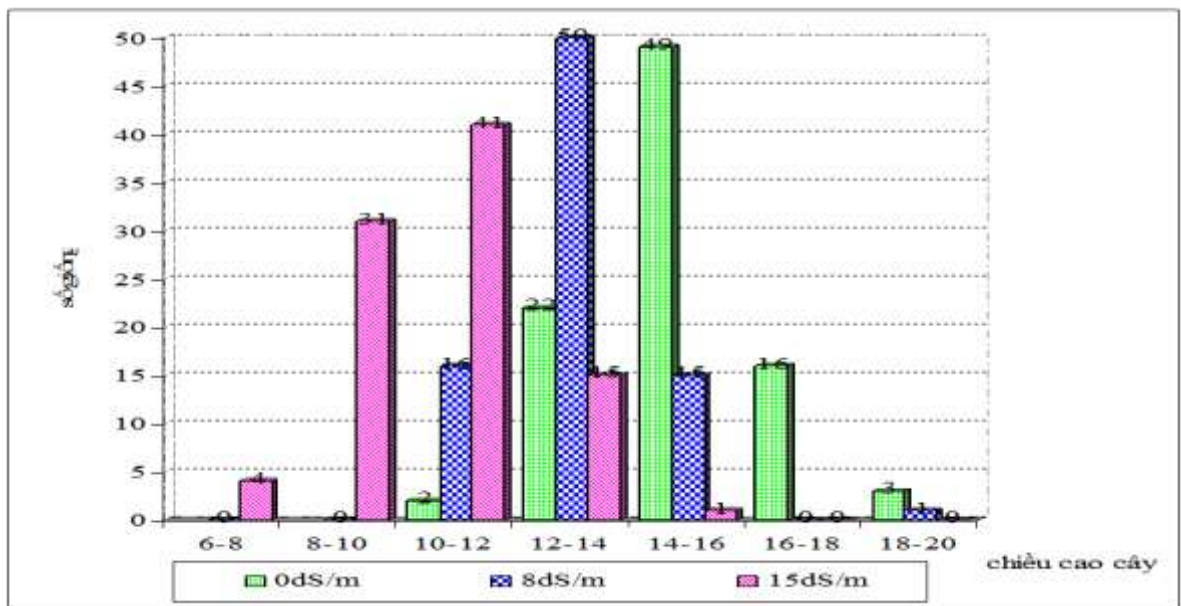
Ở môi trường mặn EC = 15dS/m, các giống bị cháy khô và chết rất nhiều so với môi trường 8 dS/m, chỉ có một vài giống sống sót, tuy nhiên chúng cũng bị cháy lá nhiều. Đa số các giống trong môi trường này đều biểu hiện cấp độ khô lá rất cao, cấp 9 với 78 giống, chiếm tỷ lệ 84,78 %. Ở cấp khô lá cấp 7 có 13 giống. Chỉ có giống Pokkali là biểu hiện chỉ ở cấp 3 (51 -70 % lá bị khô).

Qua đó, các giống chống chịu tốt được đề nghị bao gồm tiếp tục thanh lọc giai đoạn sinh thực và giai đoạn trổ hoa.

### *Chiều cao cây*

Phân tích chiều cao cây của các giống sau khi thanh lọc mặn ở các môi trường mặn  $EC = 0dS/m$ , nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$ , nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$  có sự khác nhau rõ rệt khá rõ rệt ở các nồng độ, biểu hiện khác biệt có ý thống kê ở mức 99 % (\*\*). Ở nồng độ muối càng cao thì chiều cao cây càng giảm, ở nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$  hầu hết các giống có chiều cao cây giảm so với ở nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$ , và ở nồng độ  $8dS/m$  hầu hết các giống có chiều cao cây giảm so với ở nồng độ  $0dS/m$ .

Ở môi trường mặn  $EC = 0dS/m$ , chiều cao cây đa số tập trung trong khoảng 14 - 16 cm, trong khi đó ở nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  là trong khoảng 12 - 14 cm, ở nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$  là 8 - 12 cm. Điều này cho thấy điều kiện mặn sẽ hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của cây lúa. Để thích nghi với điều kiện mặn, cây lúa chống chịu được stress sẽ có sự sinh trưởng rất nhanh để thoát ra khỏi giai đoạn



**Hình 3.7. Đồ thị so sánh sự khác nhau về chiều dài thân giữa 3 nồng độ mặn  $EC = 0dS/m$ , nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  và nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$**

mẫn cảm với mặn, thích nghi dần với môi trường khắc nghiệt. Còn những giống nhiễm mặn sẽ sinh trưởng kém, dần khô cháy và chết.

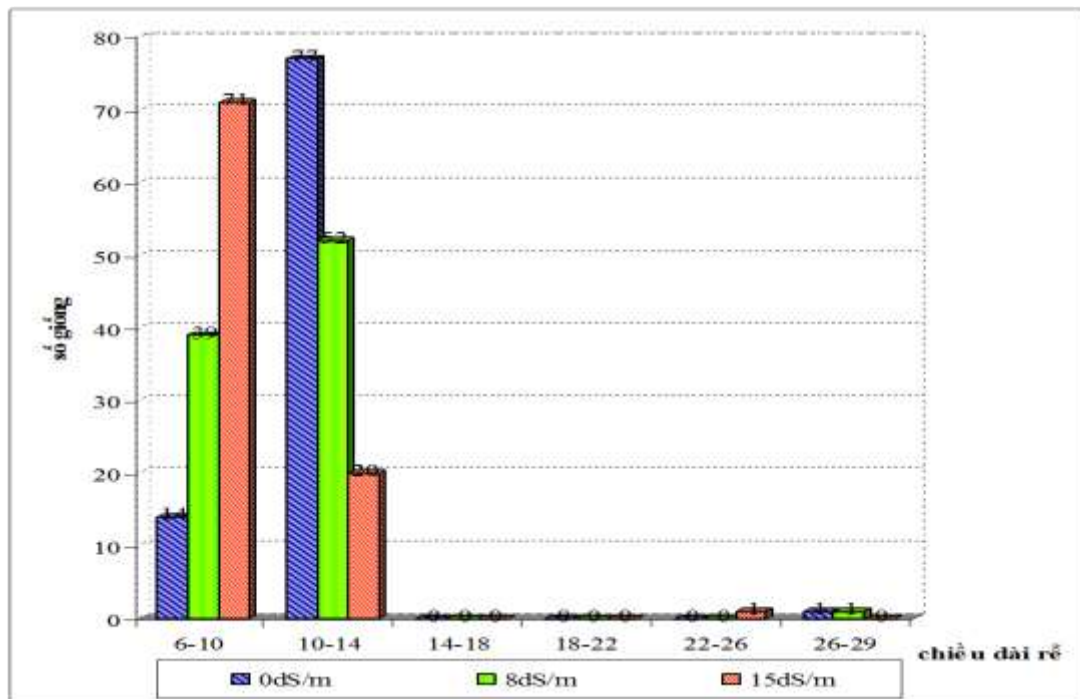
### *Chiều dài rễ*

Qua phân tích thống kê chiều dài rễ của các giống ở các nồng độ mặn  $EC = 0dS/m$  nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  và nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$  biểu hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê 99 % (\*\*). Các giống có chiều dài rễ khác nhau và khác nhau giữa các nồng độ. Ở nồng độ muối càng cao thì chiều dài rễ càng giảm. Chiều dài rễ rất mẫn cảm với mặn, do đó chúng biến động rất phức tạp, đặc biệt là thanh lọc trong môi trường dinh dưỡng.

Ở nồng độ mặn  $EC = 0dS/m$  chiều dài rễ từ 6 - 10cm có 14 giống, 10 - 14 cm có 77 giống, 26 - 29 cm có 1 giống.

Ở nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  chiều dài rễ từ 6 - 10 cm có 39 giống, 10 - 14cm có 52 giống, 26 -29 cm có 1 giống.

Ở nồng độ mặn  $EC = 15dS/m$  chiều dài rễ từ 6 - 10 cm có 71 giống, 10 - 14 cm có 20 giống, 22 - 26 cm có 1 giống.



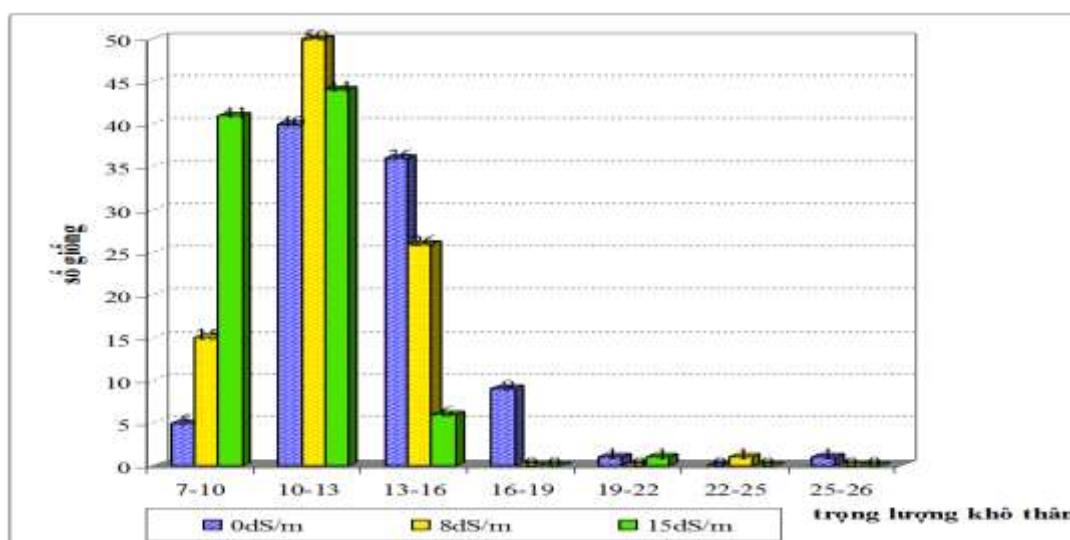
**Hình 3.8. Đồ thị so sánh sự khác nhau về chiều dài rễ giữa 3 nồng độ mặn  $EC = 0dS/m$ , nồng độ mặn  $EC = 8dS/m$  và nồng độ mặn  $EC=15 dS/m$**

### ***Trọng lượng khô của thân***

Phân tích trọng lượng khô của các giống ở các nồng độ khác nhau nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m có sự khác nhau, biểu hiện khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 99 % (\*\*). Trọng lượng khô ghi nhận của các giống ở nồng độ mặn EC = 15dS/m thấp hơn nồng độ mặn EC = 8dS/m, nồng độ mặn EC = 0dS/m và ở nồng độ mặn EC = 8dS/m thấp hơn ở nồng độ 0 dS/m. Cụ thể như sau: ở nồng độ mặn EC = 0dS/m trọng lượng khô thân từ 7 – 10 mg có 5 giống, 10 – 13 mg có 40 giống, 13 – 16 mg có 36 giống, 16-19 mg có 9 giống, 19 – 22 mg có 1 giống, 22 – 25 mg có 1 giống. Ở nồng độ mặn EC = 8dS/m trọng lượng khô thân từ 7 – 10 mg có 15 giống, 10 – 13 mg có 50 giống, 13 – 16 mg có 26 giống, 22-25mg có 1 giống. Ở nồng độ mặn EC = 15dS/m trọng lượng khô thân từ 7 – 10 mg có 41 giống, 10 – 13 mg có 44 giống, 13 – 16 mg có 6 giống, 19 – 22 mg có 1 giống.

Cũng giống như chiều cao cây và chiều dài rễ, trọng lượng khô thân chịu ảnh hưởng rất nhiều bởi môi trường mặn. Mặn làm cho khả năng tích lũy chất khô trong cây lúa giảm đi do quá trình dịch chuyển chất dinh dưỡng bị chậm lại, khả năng hình thành và tích lũy chất khô giảm dẫn đến trọng lượng khô của cây cũng giảm đi. Tuy nhiên đối với những giống chống chịu thì quá trình hình thành và tích lũy chất khô vẫn diễn ra bình thường nên có trọng lượng khô không bị giảm sút nhiều.





**Hình 3.9. Đồ thị so sánh sự khác nhau về trọng lượng khô thân giữa 3 nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m**

### *Trọng lượng khô của rễ*

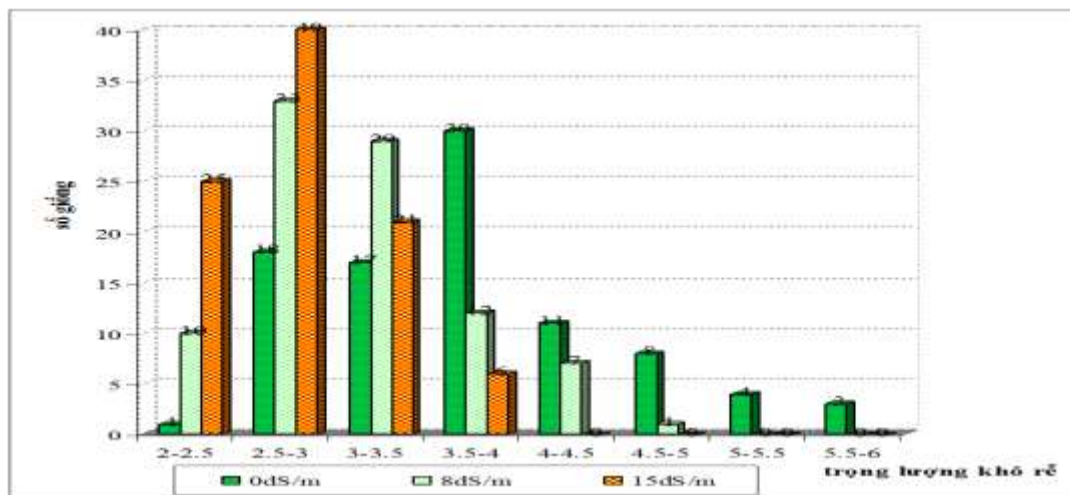
Qua phân tích trọng lượng khô rễ ở các nồng độ mặn EC = 0dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 99% (\*\*), trọng lượng khô của rễ khác nhau ở các giống và khác nhau ở các nồng độ muối khác nhau. Trọng lượng khô của rễ cũng ảnh hưởng đến khả năng chống chịu mặn, ở nồng độ mặn EC = 0dS/m trọng lượng khô của rễ lớn hơn trọng lượng khô của rễ ở nồng độ 8 dS/m và trọng lượng của rễ ở nồng độ mặn EC = 8dS/m lớn hơn trọng lượng khô của rễ ở nồng độ mặn EC = 15dS/m.

Qua phân tích trọng lượng khô rễ của 100 giống ta thấy sự khác biệt nhau giữa các giống và khác nhau ở các nồng độ mặn EC = 0 dS/m, nồng độ mặn EC = 8dS/m và nồng độ mặn EC = 15dS/m.

Ở 0 dS/M, trọng lượng khô rễ biến động trong khoảng 3,5 - 4,0 mg/cây, ở nồng độ mặn EC = 8dS/m là 2,5 - 3,5 mg/cây, và ở nồng độ EC = 15dS/m chỉ tiêu này biến động từ 2,5 - 3,0 mg/cây.

Trọng lượng khô cao nhất ở nồng độ EC = 0dS/m là 6,00mg /cây, nồng độ mặn EC = 8dS/m là 4,55 mg /cây, còn ở nồng độ mặn EC = 15dS/m là 3,87 mg /cây.

Trọng lượng khô thấp nhất ở nồng độ 0 dS/m là 2,50 mg /cây, ở nồng độ mặn EC = 8dS/m là 2,31 mg /cây, còn ở nồng độ mặn EC = 15dS/m là 2,08 mg /cây.



**Hình 3.10.** Đồ thị so sánh sự khác nhau về trọng lượng khô rễ giữa 3 nồng độ EC = 0dS/m, môi trường mặn EC = 8dS/m và môi trường mặn EC = 15dS/m

*3.1.3. Phân tích kiểu hình và đánh giá sự tương quan của các gen theo công thức và phần mềm IRRI Start*

**Đánh giá tương quan các chỉ tiêu ở ba môi trường mặn EC = 0dS/m, môi trường mặn EC = 8dS/m và môi trường mặn với EC = 15dS/m.**

Đối với stress mặn, cây lúa cho phản ứng rất khác nhau tùy vào đặc tính từng giống. Tuy nhiên, khi xét về mối tương quan của các đặc tính nông sinh học của các giống cũng cho thấy chúng có sự tương quan chặt chẽ với nhau (Bảng 3.2). Điều này phù hợp trên tổ hợp lai OM1490/Pokkali theo Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2017) [14].

**Bảng 3.2. Môi trường mặn với EC = 0dS/m**

	Ngày sống sót	Chiều dài thân (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Trọng lượng khô thân (mg)	Trọng lượng khô rễ (mg)
Ngày sống sót	1				
Chiều dài thân (cm)	-	1			
Chiều dài rễ (cm)	-	0.704**	1		
Trọng lượng khô thân (mg)	-	0.968**	0.839**	1	
Trọng lượng khô rễ (mg)	-	0.987**	0.701**	0.971**	1
<b>Môi trường mặn với EC= 8 dS/m</b>					
Ngày sống sót	1				
Chiều dài thân (cm)	0.960**	1			
Chiều dài rễ (cm)	0.681**	0.842**	1		
Trọng lượng khô thân (mg)	0.900**	0.977**	0.917**	1	
Trọng lượng khô rễ (mg)	0.973**	0.961**	0.727**	0.928**	1
<b>Môi trường mặn với với EC=15 dS/m</b>					
Ngày sống sót	1				
Chiều dài thân (cm)	0.953**	1			
Chiều dài rễ (cm)	0.708**	0.857**	1		
Trọng lượng khô thân (mg)	0.946**	0.981**	0.884**	1	
Trọng lượng khô rễ (mg)	0.995**	0.962**	0.734**	0.958**	1

(Ghi chú: \* Có ý nghĩa; \*\* Rất có ý nghĩa)

Sau khi đánh giá mối tương quan giữa các đặc tính cho thấy ở cả 3 môi trường mặn với EC = 0dS/m, EC = 8dS/m và EC = 15dS/m, đặc tính ngày sống sót, chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô thân, trọng lượng khô rễ đều tương quan chặt chẽ với nhau, và mối tương quan này là tương quan thuận. Điều này có nghĩa là nồng độ muối càng cao, ngày sống sót càng giảm, chiều dài thân và rễ cũng ngắn

hơn, trọng lượng khô thân và rễ cũng nhẹ hơn. Trong hai nồng độ khác nhau tỉ lệ sống sót của nồng độ mặn với EC = 8dS/m số giống sống sót đạt 75% trong khi nồng độ mặn với EC = 15dS/m tỉ lệ sống sót đạt 45%.

**Bảng 3.3. Đánh giá kiểu hình gen chống chịu mặn của 100 giống lúa giai đoạn trổ hoa**

STT	Tên giống	Thời gian sống sót sau khi stress mặn (ngày)	
		EC=8 dS/m	EC= 15 dS/m
1	OM4900	28,2	25,6
2	OM1490	Chết	
3	AS 996	27	25
4	M362	27	26
5	BASMATI	Chết	
6	Basmati ĐB	26	23
7	OM6162	27,8	Chết
8	Swarna Sub1	26,2	24
9	IR64Sub1	25,8	Chết
10	IRGA318-11-6-9-2B	24	Chết
11	IR78966-B-10-B-B-B-2	Chết	
12	IR78913-B-10-B-B-B	Chết	
13	IR75499-73-1-B	27	25
14	IR78913-B-19-B-B-B	25	22
15	AZUCENA	27	25
16	IR78933-B-24-B-B-2	26	Chết
17	IR78933-B-24-B-B-3	24,5	Chết
18	IR78933-B-24-B-B-4	28	26
19	WAB326-B-B-7-H1	24	20
20	IR79008-B-11-B-B-1	24,5	Chết
21	IR75499-38-1-B	27	Chết
22	V3M-92-1	27	25
23	IR75499-21-1-B	26	Chết
24	V3M-109-2	26	22
25	WAB272-B-B-8-H1	27	25

STT	Tên giống	Thời gian sống sót sau khi stress mặn (ngày)	
		EC=8 dS/m	EC= 15 dS/m
26	WAB340-B-B-2-H2	26,5	22
27	WAB176-42-HB	24	21
28	IR78937-B-20-B-B-1	25	Chết
29	WAB880-1-38-18-20-P <sub>1</sub> -HB	26	Chết
30	WAB881SG9	25	Chết
31	IR78997-B-16-B-B-B-SB2	Chết	
32	IR78966-B-10-B-B-B-SB1	Chết	
33	IR78944-B-8-B-B-B	25	Chết
34	IR78941-B-16-B-B-B	Chết	
35	IR78948-B-21-B-B-B	24	Chết
36	IR78942-B-2-B-B-2	26	Chết
37	IR78937-B-20-B-B-3	27	Chết
38	IR78985-B-13-B-B-B	25	Chết
39	IR78933-B-24-B-B-1	23	
40	WABC165	22	Chết
41	IR80315-49-B-B-4-B-B-B	22	Chết
42	IR78966-B-16-B-B-B	Chết	
43	IR78913-B-22-B-B-B	Chết	
44	OMCS 2000 (Đ/C)	Chết	
45	<i>OM6162 đ/c</i>	22	Chết
46	OM10405	Chết	
47	HATRI144	24	20
48	HATRI 1	23	Chết
49	OM10408	Chết	-
50	IR29	Chết	-
51	HATRI60	22	20
52	HATRI90	24	22
53	OM10413	23,5	Chết
54	OM10414	22	Chết
55	OM10415	23	Chết

STT	Tên giống	Thời gian sống sót sau khi stress mặn (ngày)	
		EC=8 dS/m	EC= 15 dS/m
56	OM6614	26	Chết
57	OM6843	26	Chết
58	OMCS2009	25	Chết
59	OM5703	26	Chết
60	OM5704	27	Chết
61	HATRI30	28	27
62	OMCS2008	28	26
63	HATRI31	28	25
64	HATRI32	25	23
65	OM63L	27	26
66	Pokkali	28	26
67	OM71L	27	Chết
68	OM72L	23	Chết
69	OM5681	28,5	Chết
70	OM6730	Chết	
71	OM6014	Chết	
72	OM6778	Chết	
73	OM6033	27	Chết
74	OM6032	25	Chết
75	OM6613	27	Chết
76	OM6729	26	Chết
77	OM62L	30	27
78	OM10279	28	Chết
79	OM10280	24	Chết
80	OM10418-1	Chết	
81	OM10704	27	26
82	OM3673	Chết	
83	OM4249	Chết	
84	OM4693	Chết	
85	OM4726	Chết	

STT	Tên giống	Thời gian sống sót sau khi stress mặn (ngày)	
		EC=8 dS/m	EC= 15 dS/m
86	OM4796	Chết	
87	OM6379/	Chết	
88	OM5629	27	26
89	OM6387	Chết	
90	OM6426	Chết	
91	HATRI15	23,5	20
92	HATRI16	25	20
93	HATRI33	22,5	20
94	HATRI20	24	21
95	HATRI35	26	22
96	HATRI28	27	26
97	HATRI50	25	24
98	HATRI192	22	20
99	HATRI603	22	20
100	HATRI608	24	22

(Ghi chú: - Các giống chết không thanh lọc)

Tóm lại: dựa trên sáu tính trạng kiểu hình (chiều dài thân, chiều dài rễ, trọng lượng thân tươi, trọng lượng rễ tươi, trọng lượng thân khô, trọng lượng rễ khô) của 100 giống lúa cao sản ở hai mức độ mặn EC = 8DS/m và EC = 15DS/m, trong giai đoạn mạ, trong phòng thí nghiệm đã xác định được các giống có khả năng chống chịu mặn tốt. Đồng thời đã phân nhóm kiểu hình của hai bộ giống. Kết quả phân nhóm kiểu hình cho những giống có khả năng chịu mặn. Các giống được đề xuất làm bố bao gồm: Pokkali, OM4900, OM5629, HATRI31, HATRI32, HATRI50, IR78933-B-24-B-B-4. Vì các giống này vừa chịu mặn và năng suất cao. Dạng hình đẹp.

### 3.2. Tạo các quần thể hồi giao chuyển gen chống chịu mặn trên cây lúa

#### 3.2.1. Tạo quần thể hồi giao

Tạo các quần thể hồi giao là công đoạn rất quan trọng, nhằm cung cấp nguồn vật liệu cho cả tiến trình nghiên cứu và chọn lọc dòng thuần mang gen mục tiêu cần chuyển theo định hướng ban đầu. Nghiên cứu của đề tài được sử dụng giống nhập nội Pokkali và giống này đã được xác định mang gen chống chịu mặn làm nguồn vật liệu cho gen (donor), giống OM1490, OM6162, OMCS2000 đã qua chọn lọc mang nhiều đặc điểm tốt nhưng khi nồng độ mặn tăng cao thì tỉ lệ lép cao được dùng làm giống tái tục (recurrents). Để tạo các quần thể hồi giao đến thế hệ BC<sub>3</sub> cho các tổ hợp lai đề tài đã tiến hành trong 07 vụ thí nghiệm, từ vụ Đông Xuân năm 2015-2016 đến vụ Đông Xuân 2018-2019.

Trong suốt quá trình thí nghiệm, yêu cầu luôn được đặt ra là phải chọn được các cây có khả năng chống chịu mặn trong các quần thể lai để tiếp tục tạo hạt hồi giao. Theo đó, trong mỗi vụ thí nghiệm đều phải bố trí gieo các quần thể hồi giao kèm với các giống đối chứng của bố mẹ, nhằm làm đối chứng cho chọn lọc đồng thời lấy phần trên các bố là Pokkali để tạo hạt hồi giao, các cá thể được chọn để tiếp tục hồi giao phải có các đặc điểm nông học và kinh tế tốt. Tóm tắt tạo các quần thể hồi giao được trình bày ở Bảng 3.4. và Phụ lục 4.

**Bảng 3.4. Tóm tắt quá trình tạo các quần thể hồi giao đến thế hệ BC<sub>3</sub> cho các giống lúa nghiên cứu**

Vụ	Quần thể OM1490/Pokkali (1)		Quần thể OM CS2000 /Pokkali (2)	
	Nội dung công việc	Kết quả	Nội dung công việc	Kết quả
Đông Xuân 2015-2016	- Trồng Bố mẹ	- Gieo được 30 cây bố mẹ tiến hành lai F <sub>1</sub> - Tạo được 100 hạt F <sub>1</sub>	- Trồng Bố mẹ	- Gieo được 30 cây bố mẹ cho lai để tạo thế hệ F <sub>1</sub> - Tạo được 70 hạt lai



Vụ	Quần thể OM1490/Pokkali (1)		Quần thể OM CS2000 /Pokkali (2)	
	Nội dung công việc	Kết quả	Nội dung công việc	Kết quả
Hè Thu 2016	- Thu nhận hạt lai F <sub>1</sub>  - Tạo quần thể hồi giao lần thứ nhất BC <sub>1</sub> -1	- Gieo được 30 cây F <sub>1</sub> và tiến hành hồi giao lần thứ nhất.  - Tạo được 91 hạt hồi giao lần 1	- Thu nhận hạt lai F <sub>1</sub> .  - Tạo quần thể hồi giao lần thứ nhất: BC <sub>1</sub> -2	- Gieo được 50 cây F <sub>1</sub> và tiến hành hồi giao lần thứ nhất.  - Tạo được 106 hạt hồi giao lần 1
Hè Thu 2017	- Tạo quần thể hồi giao lần hai: BC <sub>2</sub> -1	- Đã gieo 50 cây BC <sub>1</sub> -1, đánh giá và chọn được 3 cây đạt yêu cầu cho hồi giao lần 2.  - Tạo được 35 cây hồi giao lần 2.	- Tạo quần thể hồi giao lần hai: BC <sub>2</sub> -2	- Đã gieo 100 cây BC <sub>1</sub> -2, đánh giá và chọn được 5 cây đạt yêu cầu cho hồi giao lần 2.  - Tạo được 10 cây hồi giao lần 2.
Thu Đông 2017	- Tạo quần thể hồi giao lần ba: BC <sub>3</sub> -1 theo 3 cây chọn từ vụ trước	- Gieo toàn bộ hạt BC <sub>2</sub> -1 của 5 cây chọn từ vụ trước thành 3 dòng, đánh giá và chọn được 20 cây đạt yêu cầu để tiếp tục hồi giao lần 3.  Số hạt tạo được 200 hạt	- Tạo quần thể hồi giao lần 3: BC <sub>3</sub> -2 theo 2 cây chọn từ vụ trước.	- Đã gieo toàn bộ hạt BC <sub>2</sub> -2 của 2 cây chọn từ vụ trước thành 5 dòng; đánh giá và chọn được 6 cây đạt yêu cầu để tiếp tục hồi giao lần 3.  - Tạo được 50 hạt hồi giao.

Vụ	Quần thể OM1490/Pokkali (1)		Quần thể OM CS2000 /Pokkali (2)	
	Nội dung công việc	Kết quả	Nội dung công việc	Kết quả
Đông Xuân 2017-2018	- Phát triển quần thể BC3 F1 tự thụ thành: BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> theo 200 dòng chọn từ vụ trước.	- Đã gieo được 200 cây BC <sub>3</sub> --Tạo được BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	- Phát triển quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> tự thụ thành: BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> theo 100 dòng chọn từ vụ trước.	- Đã gieo được 150 cây

### 3.2.2. Tìm tính đa hình trên các giống lúa bố mẹ bằng chỉ thị phân tử

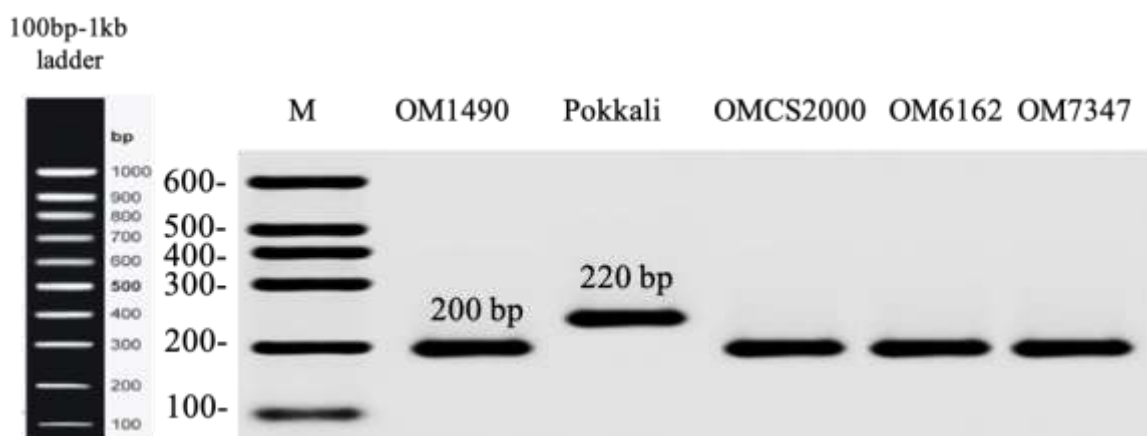
Việc chọn giống lúa ứng dụng MAS đã đem lại những thành công nhất định trong thời gian gần đây như: rút ngắn thời gian chọn tạo, chọn được các giống kháng với điều kiện bất lợi, giống kháng bệnh, giống phẩm chất. Do đó, các giống lúa bố mẹ OM được phân tích kiểu gen xem xét có mang gen quy định cho gen chống chịu mặn hay không, đồng thời, đánh dấu phân tử các gen liên quan đến các thành phần năng suất và năng suất. Phân tích bố mẹ trên các cặp lai bố mẹ và bộ lai đơn tổ hợp lai để tìm gen chống chịu trên các tổ hợp lai. Thông qua chỉ thị phân tử SSR đánh giá bố mẹ bao gồm: OM6162/Pokkali, M1490/Pokkali; OMCS2000/Pokkali, OM7347/Pokkali đánh giá với 4 chỉ thị ghi nhận vị trí kích thước phân tử.

**Bảng 3.5. Các primers được đánh giá trên 05 giống lúa dùng cho vật liệu lai**

TT	Tên giống	RM223	RM3252-S1-1	RM1324	RM3412	RM453
1	OM6162	200	220	300	200	230
2	Pokkali	220	230	220	300	250
3	OM1490	200	220	300	200	230
4	OM7347	200	220	220	200	230

5	OMCS2000	200	220	300	200-300	250
---	----------	-----	-----	-----	---------	-----

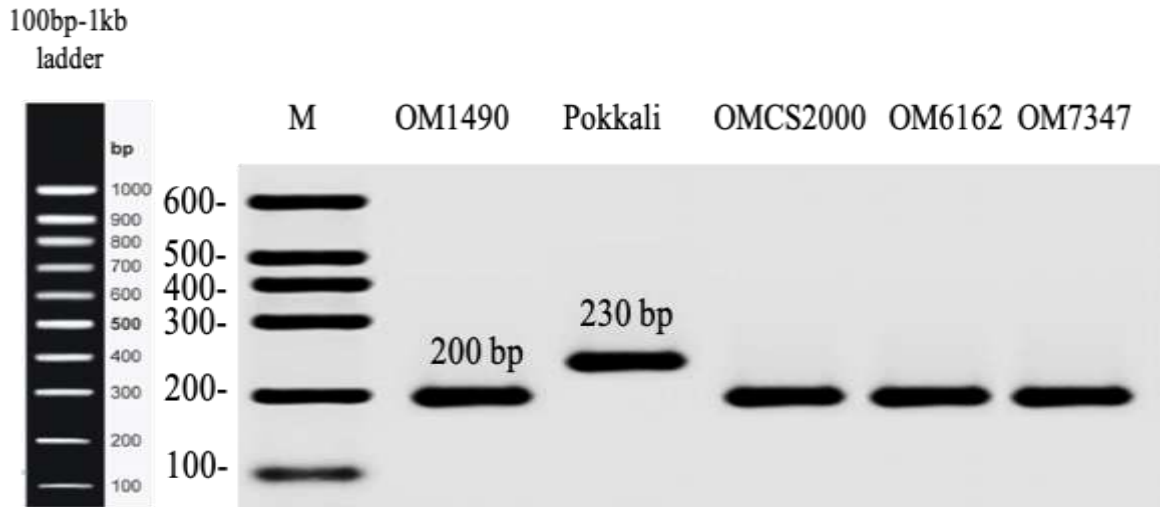
Kết quả ghi nhận, đối với primer RM223 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 100% tổng số. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình và khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng hình có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng ghi nhận cả hai alen, alen A (220bp) và alen B (200bp). Tóm lại với 5 giống lúa ghi nhận các cặp lai cho đa hình: OM1490/Pokkali, OMCS2000/Pokkali, OM6162/Pokkali và OM7347/Pokkali (Hình 3.11).



**Hình 3.11. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM223**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; OM1490-200bp, Pokkali-220bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

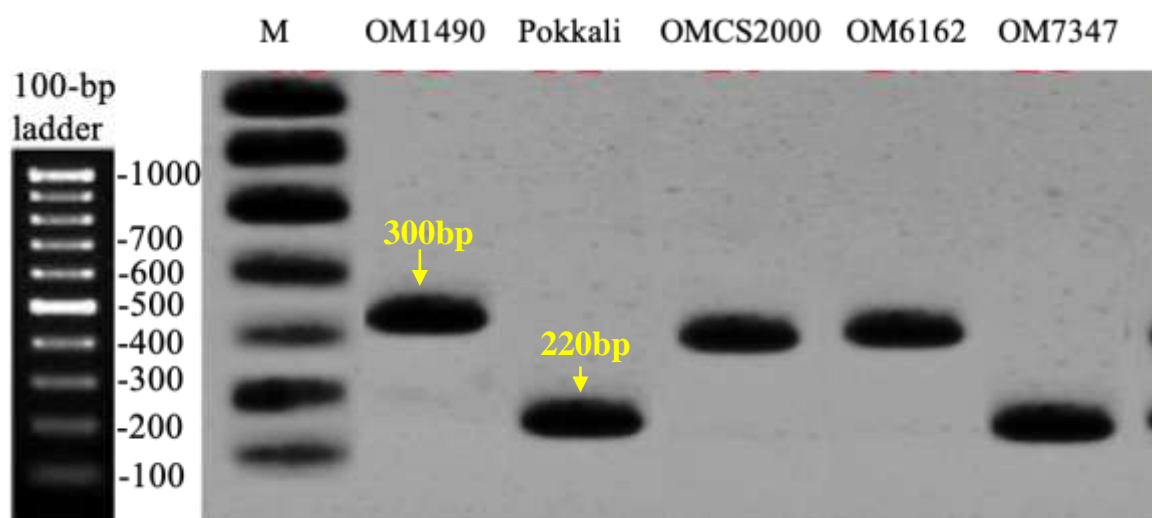
Đối với primer RM3252-S1-1 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 100% tổng số. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng hình có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng hình ghi nhận cả hai alen, alen A (230bp) và alen B (220bp). Dựa vào vị trí băng hình thì có các cặp lai đa hình: OM1490/Pokkali, OMCS2000/Pokkali và OM6162/Pokkali, OM7347/Pokkali (Hình 3.12).



**Hình 3.12. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM3252-S1-1**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; OM1490-200bp, Pokkali-230bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

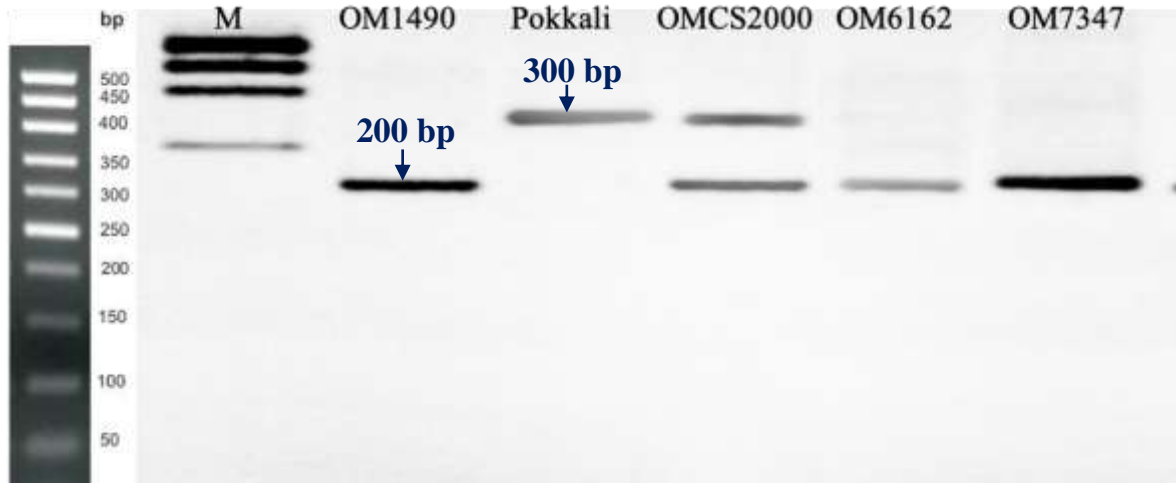
Đối với primer RM1324 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 100% tổng số. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng hình có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng hình ghi nhận cả hai alen, alen A (300bp) và alen B (220bp), Hình 3.13. Dựa vào vị trí băng hình thì có các cặp lai đa hình: OM1490/Pokkali, OMCS2000/Pokkali và OM6162/Pokkali còn lại OM7347/Pokkali cho đơn hình (Hình 3.13).



**Hình 3.13. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM1324**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, Pokkali-220bp, OM1490-300bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

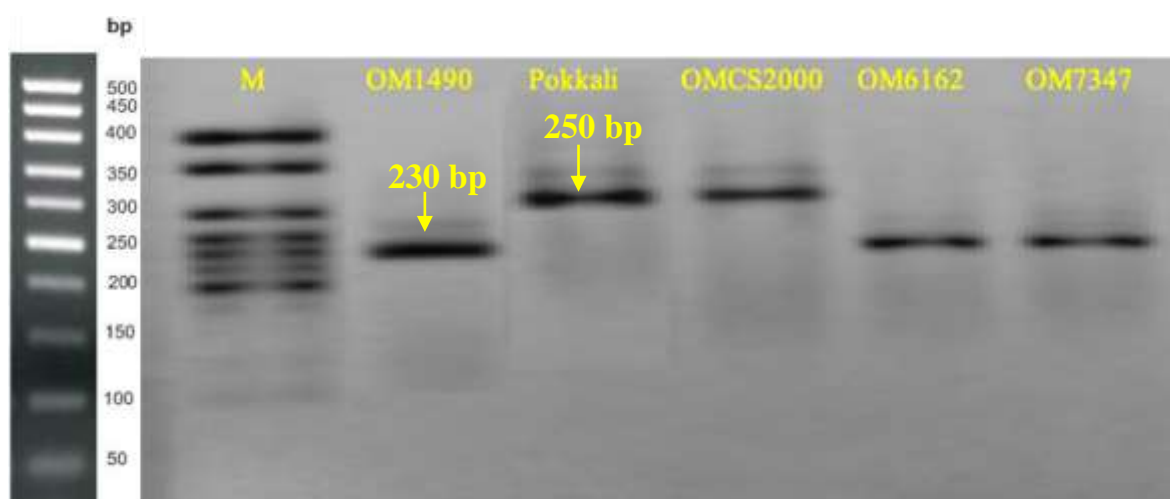
Khi phân tích chỉ thị marker RM3412. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng hình ghi nhận cả hai alen, alen A (300bp) và alen B (200bp). Ghi nhận chỉ có ba cặp lai cho đa hình: OM1490/Pokkali; OM6162/Pokkali; OM7347/Pokkali. Riêng OMCS2000/Pokkali thì cho đa hình và là dominant (Hình 3.14).



**Hình 3.14. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM3412**

*Ghi chú: M: 50 bp DNA ladder, Pokkali-300bp, OM1490-200bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

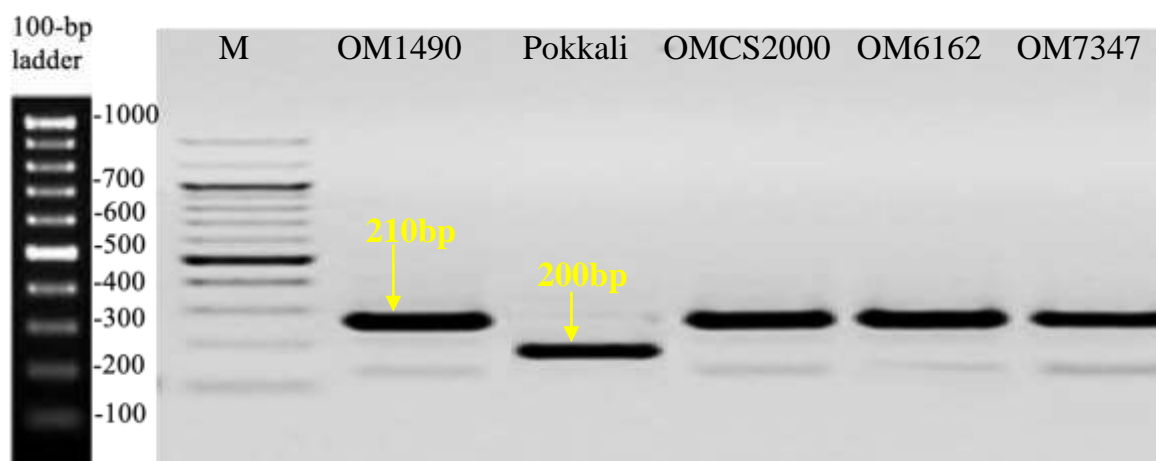
Đối với primer RM453 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 100% tổng số. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng hình có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng hình ghi nhận cả hai alen, alen A (250bp) và alen B (230bp). Xét về gốc độ phân tử các tần số alen. Ghi nhận chỉ có ba cặp lai cho đa hình: OM1490/pokkali; OM6162/Pokkali; OM7347/Pokkali (Hình 3.15).



**Hình 3.15. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM453**

*Ghi chú: M: 100 bp DNA ladder; Pokkali-250bp, OM1490-230bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

Đối với primer RM511 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 100% tổng số. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng hình khác nhau với hai alen thường rõ ở vị trí kích thước marker phân tử. Sự khác nhau về số lượng và vị trí của các băng hình có thể cho biết được sự khác nhau về trình tự DNA giữa các giống. Dựa trên băng hình ghi nhận cả hai alen, alen A (210bp) và alen B (200bp). Dựa vào vị trí băng hình ghi nhận các cặp lai đa hình: OM1490/Pokkali, OMCS2000/Pokkali và OM6162/Pokkali (Hình 3.16).



**Hình 3.16. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống bố mẹ với marker RM511**

*Ghi chú: M: 100 bp DNA ladder; Pokkali-200bp, OM1490-210bp, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

### **Thảo luận**

Thông qua chỉ thị phân tử SSR đánh giá bố mẹ của 4 cặp lai hồi giao bao gồm: OM1490/Pokkali; OM6162/Pokkali; OM7347/Pokkali. OMCS2000/Pokkali. Có ba primers cho đa hình trên 4 cặp lai này là RM223, RMRM3252-S1-1 và RM453. Tuy nhiên, đối với RM453 cho đa hình trên OMCS2000/Pokkali là dominant nên xét gốc độ di truyền thì khó chọn lựa quần thể này trên cặp lai này với chỉ thị RM453.

Có ba primers cho đa hình ba cặp lai là RM 511, RM1324 và RM3412. Trên RM511 cho ba cặp lai đa hình OMCS2000/Pokkali, OM1490/Pokkali; OM6162/Pokkali. Riêng cặp lai Pokkali/OM7347 cho đơn hình. Đối với RM1324 và RM3412 ghi nhận chỉ có ba cặp lai cho đa hình: OM1490/Pokkali; OM6162/Pokkali; OM7347/Pokkali. Riêng OMCS2000/Pokkali thì cho đơn hình với hai RM 1324 và RM 3412.

Dựa trên cơ sở vị trí gen chống chịu mặn gen chính nằm trên nhiễm sắc thể số 1 liên kết với chỉ thị RM3252-S1-1 và RM 223 nằm trên nhiễm sắc thể số 8 tiếp tục chọn lọc bốn tổ hợp lai phát triển tiếp trong quá trình lai hồi giao: OM1490/ Pokkali, OMCS2000/ Pokkali và OM6162/ Pokkali. OM7347/ Pokkali.



### 3.2.3. Chọn tạo quần thể lai hồi giao mang gen chịu mặn thông qua MAS

#### 3.2.3.1. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OM1490 và Pokkali

**Bảng 3.6. Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ  $F_1$  đến  $BC_3F_3$**

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể có gen mặn dị hợp tử được chọn	Số cá thể mang gen saltol được chọn lọc theo cá thể mẹ
$F_1$	210	130	-
$BC_1F_1$	130	90	25
$BC_2F_1$	90	25	9
$BC_3F_1$	53	35	2
$BC_3F_1$	100	25	10

*Trong thế hệ  $BC_1F_1$  trồng 130 cá thể chọn được 25 cá thể trồng tiếp để lai được 90 cá thể. Trồng và chọn tiếp 9 cây để lai thế hệ  $BC_3F_1$  và tiếp tục trồng phân ly cho thế hệ  $BC_3F_1$ . Chọn 2 cây lai tiếp để lai  $BC_3F_3$ .*

#### **Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR -SSR với marker RM 223**

Gene mục tiêu được chọn để thực hiện thí nghiệm này là gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8 (*saltol*). Gene liên kết chặt trên nhiễm sắc thể số 8 được đánh dấu bởi marker phân tử RM223. Gene này có liên kết với gen mùi thơm và với gen chống chịu mặn ở giai đoạn mạ và phát dục. Marker RM 223 được sử dụng làm marker đánh dấu, marker này có kích thước là (200-220bp) và được dùng làm khuôn DNA để thiết lập các cặp primer đặc hiệu. Các cặp primer này sẽ khuếch đại được các đoạn DNA nhỏ hơn nhờ phương pháp PCR. Các đoạn DNA nhỏ này được gọi là SSR. Và IRRI đã tìm thấy chỉ thị phân tử RM3252-S-1-1 liên kết với nhiễm sắc thể số 1.

#### **Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất ( $BC_1$ ) cho các quần thể**

Trong vụ Hè Thu 2016 chúng tôi tiến hành thu nhận hạt  $F_1$  được tạo ra trong vụ trước, gieo và tạo hạt hồi giao lần thứ nhất ( $BC_1$ ). Các con lai  $F_1$  đều thuần nhất về tính kháng, do đó trên mỗi quần thể lai chúng tôi chọn 30 cây để làm mẹ, lấy

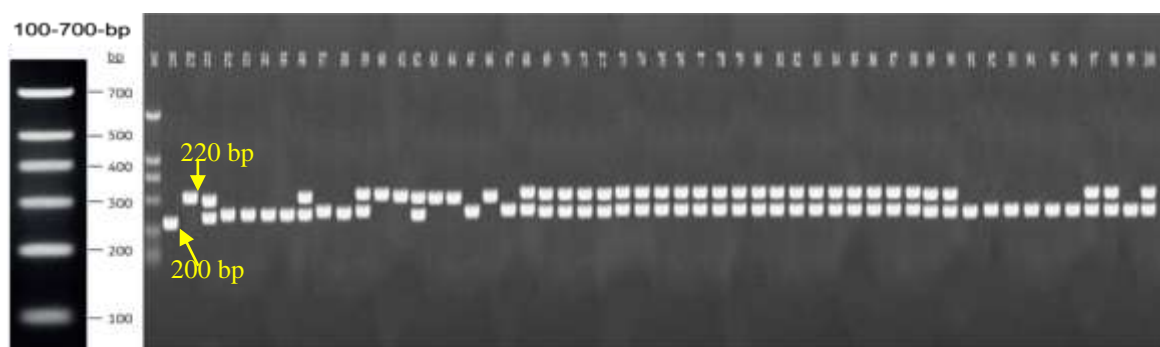
phân bố trên các giống bố OM1490 và Pokkali tương ứng để tạo hạt hồi giao, mỗi cây tiến hành lai từ 5 – 7 hạt. Kết quả đã tạo được cây hồi giao với giống OM1490 và Pokkali. Bên cạnh đó, trên các giống tái tục và giống cho gen kháng tiếp tục tiến hành tự thụ được từ 20-30 cây cung cấp cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2.3.2. Kết quả đánh giá các quần thể BC<sub>1</sub> trên OM1490/ Pokkali //OM1490

#### Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR - SSR với marker RM223

#### Quần thể lai OM1490/Pokkali//OM1490 được kiểm tra với chỉ thị RM223

Kết quả phân tích điện di trên chỉ thị RM223 trên 50 dòng BC<sub>1</sub> ghi nhận cho thấy các cá thể ở vị trí số: 60, 61, 63, 64, 66 có cùng kiểu kích thước với Pokkali mang gen kháng mặn. Dị hợp tử chiếm khá cao 30 dòng trên quần thể tương ứng với kích thước 220bp và 200bp (Hình 3.17).



**Hình 3.17. Sản phẩm PCR của các giống lúa cao sản tại locus RM223 liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí hai băng 220bp và 200bp, trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; 1: OM1490 - 200bp, 2: Pokkali - 220bp, 1-50 là cây lai BC<sub>1</sub>*

#### Khuếch đại DNA bằng phương pháp

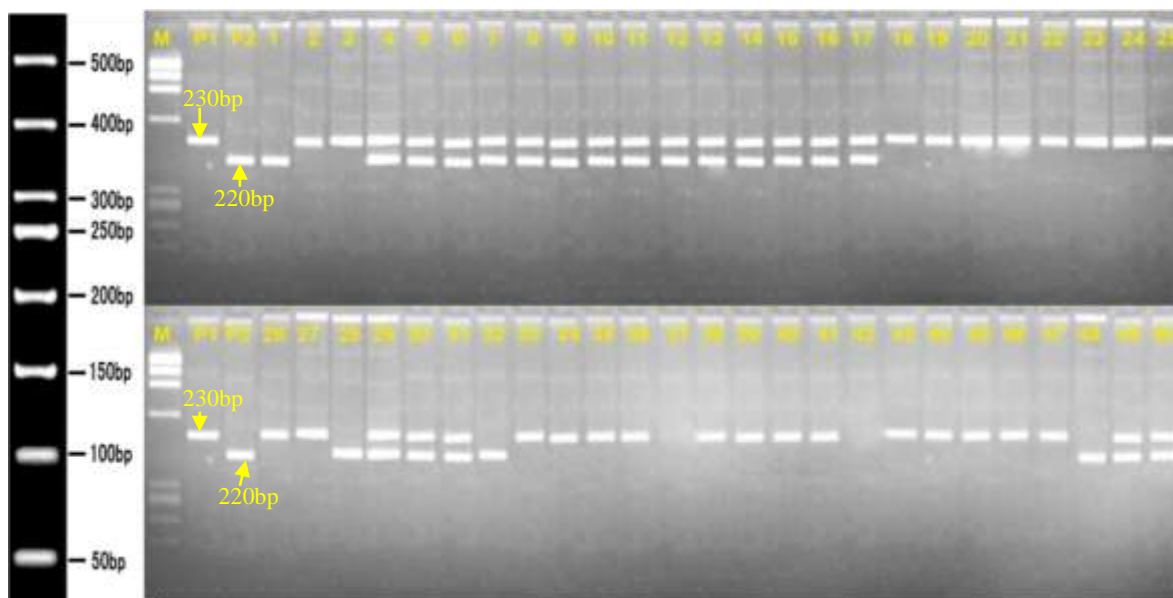
#### PCR - SSR với marker RM3252-S1-1

Đối với chỉ thị phân tử **RM3252-S-1-1**, kết quả ghi nhận trên hình của quần thể BC<sub>1</sub> có 4 cá thể có cùng kích thước với Pokkali mang gen kháng mặn tương ứng ở vị trí số 1, 28, 32, 48. Có cùng kích thước với OM1490 có 25 cá thể ở vị trí số 2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 46

và 47. Có 2 cá thể không xuất hiện băng hình tương ứng ở vị trí số 37 và 42. Các cá thể còn lại có kiểu gen dị hợp tử mang gen kháng mặn và không kháng mặn tương ứng vị trí số 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 29, 30, 31, 49 và 50. Như vậy tiếp tục chọn 25 cây này để cho lai tiếp cho thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>.

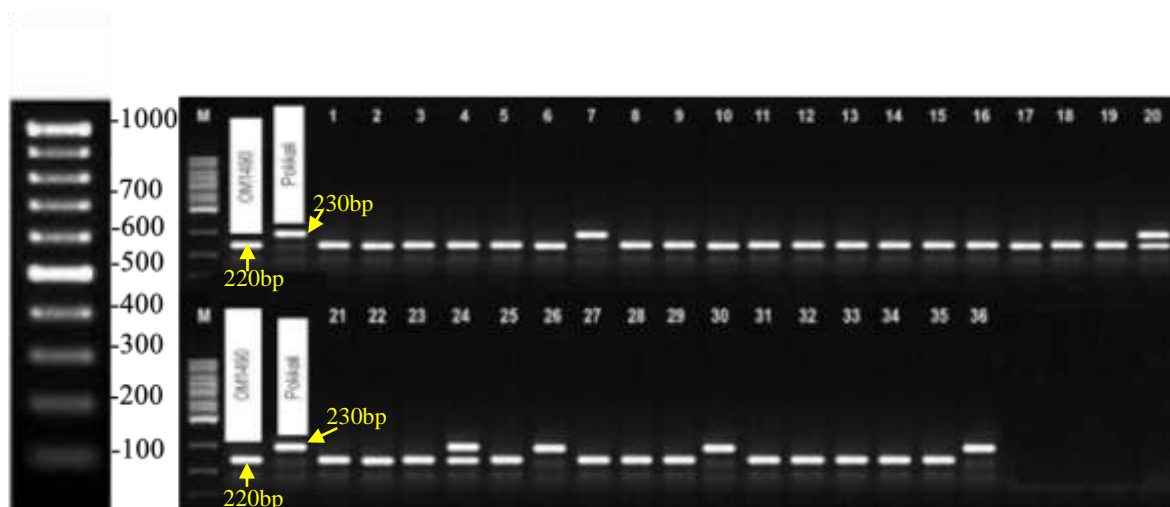
***Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất (BC<sub>2</sub>) cho các quần thể  
OM1490/Pokkali//OM1490***

Đối với các dòng BC<sub>2</sub> của tổ hợp lai OM1490/Pokkali//OM1490, ghi nhận có rất nhiều dòng BC<sub>2</sub> chứa gen chống chịu mặn được liên kết với marker RM3252-S1-1, một số dòng biểu hiện dị hợp tử (Hình 3.18). Một số dòng chứa gen chống chịu mặn liên kết với marker RM223, có 2 dòng trong tổng số biểu hiện dị hợp tử với marker RM223 (Hình 3.19).



**Hình 3.18. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3 %.**

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder; 1: Pokkali – 230bp, 2: OM1490 – 220bp; 1-50 là cây lai BC<sub>2</sub>*



**Hình 3.19. Sản phẩm PCR của 36 dòng hồi giao BC<sub>2</sub> của OM1490/Pokkali//OM1490 liên kết với marker RM223**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder. Sản phẩm được chạy điện di trên agarose 3% và gel này được nhuộm với ethidium bromide 0.5mg/ml và phân tích bằng thiết bị Alpha Imager 1220 (Alpha Innotech, CA, USA)*

### ***Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất (BC<sub>3</sub>) cho các quần thể***

#### ***OM1490/ Pokkali//OM1490***

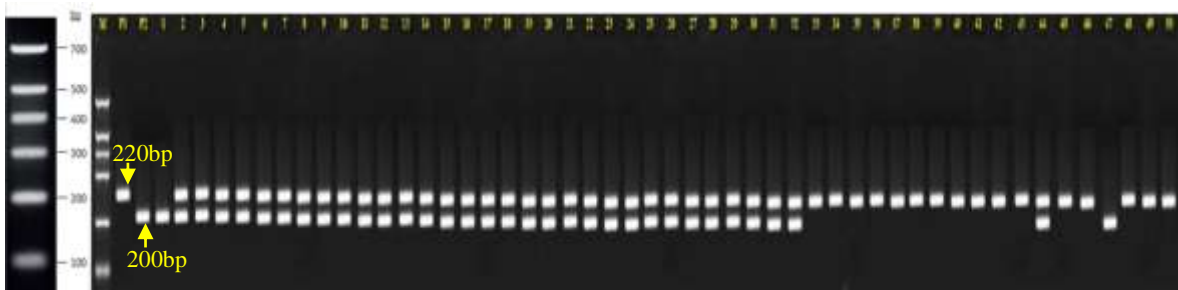
36 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 được khuếch đại gen mặn bằng phương pháp PCR với chỉ thị RM3252-S1-1 (liên kết với gen *Saltol* trên NST1) và RM223 (liên kết với gen mặn trên NST8). Với chỉ thị RM 3252-S1-1, các băng hình của các dòng được ghi nhận có sự đa hình trên gel agarose 3%. Pokkali, mang gen mặn, thể hiện băng có kích thước là 230bp và OM1490, không mang gen, thể hiện băng có kích thước 220bp. Qua đánh giá kiểu gen, 1 dòng mang gen chịu mặn bao gồm dòng số 1, cùng kích thước băng hình với Pokkali (Hình 3.20).



**Hình 3.20. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 36 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của quần thể OM1490/ Pokkali//OM1490 trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, 1: OM1490 – 220bp, 2: Pokkali – 230bp*

Đối với RM223, sản phẩm PCR thể hiện sự đa hình với các kích thước 200 và 220bp. Pokkali, mang gen mặn, thể hiện băng có kích thước là 220bp và OM1490, không mang gen, thể hiện băng có kích thước 200 bp. Các dòng mang gen mặn được đánh giá bao gồm: dòng số 33 – 43, 45, 46 và dòng số 48-50 mang cùng gen với giống Pokkali. Các dòng còn lại có băng hình dị hợp tử và đồng hợp với kích thước là 200bp, giống với vị trí băng hình của OM1490.



**Hình 3.21. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 53 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> trên quần thể OM1490/Pokkali//OM1490 trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: là marker chuẩn, 1: Pokkali – 220bp, 2: OM1490 – 200bp*

Qua đánh giá kiểu gen, các dòng thể hiện mang gen mặn khi đánh giá với cả hai chỉ thị RM3252-S1-1 và RM223. Các dòng tiềm năng mang gen mặn này được sử dụng cho các nghiên cứu cho sự phân ly tiếp theo.

Tóm lại: Trên tổ hợp OM1490/Pokkali//OM1490 hồi giao ghi nhận

Ở thế hệ  $F_1$ , 210 cá thể được thu hoạch. Kết quả đánh giá bằng chỉ thị phân tử RM233 có 70% cá thể mang gen *saltol* dị hợp tử. Kết hợp đánh giá kiểu hình những cá thể ưu thế sẽ được chọn để lai tạo cho thế hệ sau.

Ở thế hệ  $BC_1F_1$ , thu hoạch được 50 cá thể ưu tú nhất. Trong đó, 29 cá thể thể hiện gen *saltol* dị hợp tử, chỉ có 5 cá thể ( $BC_1F_1$ -10,  $BC_1F_1$ -11,  $BC_1F_1$ -13,  $BC_1F_1$ -14 và  $BC_1F_1$ -16, được chọn vì mang cả gen *saltol* trên nhiễm sắc thể số 8. Riêng trên nhiễm sắc thể số 1 ghi nhận có 4 dòng mang gen mặn ( $BC_1F_1$ -1,  $BC_1F_1$ -28,  $BC_1F_1$ -32  $BC_1F_1$ -48. Như vậy nếu chọn kết hợp hai chỉ thị chỉ chọn được 9 dòng cho gen mặn.

Ở thế hệ  $BC_2F_1$ , 124 cá thể được đánh giá kiểu gen với chỉ thị gen *saltol*, tuy nhiên chỉ có số 7, số 30 và dòng số 36, 47 cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (200-220bp). Các cá thể này được đánh giá tiếp tục với các chỉ thị tái tổ hợp. Hầu hết các cá thể đều mang gen chịu mặn. Do đó chọn ngẫu nhiên 3 dòng  $BC_2F_1$ -7,  $BC_2F_1$ -30,  $BC_2F_1$ -36 trồng tiếp để lai hồi giao tạo quần thể  $BC_3$ .

Ở thế hệ  $BC_3F_2$ , có 35 cá thể dị hợp tử gen trong tổng số 50 cá thể được thu hoạch. Qua đánh giá gen tái tổ hợp, chọn được cá thể ( $BC_3F_2$ -2 đến  $BC_3F_2$ -32) mang cả gen chống chịu mặn.

3.2.3.3. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OMCS2000 và Pokkali

**Bảng 3.7. Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F<sub>1</sub> đến BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>**

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể có gen mặn dị hợp tử được chọn	Số cá thể mang gen saltol được chọn lọc theo cá thể mẹ
F <sub>1</sub>	100	50	-
BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	120	52	10
BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	100	32	19
BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	100	50	7
BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	100	108	10

**Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR - SSR với marker RM223**

Kết quả ghi nhận trên Hình 3.22. Kết quả thí nghiệm cho thấy đa số các cột đều có dạng dị hợp, xuất hiện với hai băng có kích thước 200bp - 220bp tương ứng với bố mẹ cho gen kháng mặn và không mặn.

Ở vị trí band số 23, 24, 25, 41, 42, 43, 44, 45, 48 chỉ xuất hiện một băng tương ứng với vị trí P2 (Pokkali) mang gen kháng mặn. Trái lại, ở vị trí band số 40 và 50 xuất hiện 1 băng tương ứng với vị trí P1 (OMCS2000) không mang gen kháng mặn. Ngoài ra, ở vị trí band số 31 thì không xuất hiện băng nào. Như vậy đối với tổ hợp này 74% là dị hợp tử có 9 cây từ Pokkali chuyển sang thế hệ con lai, điều này cho thấy sẽ giúp cho lai tốt thế hệ BC<sub>2</sub>.



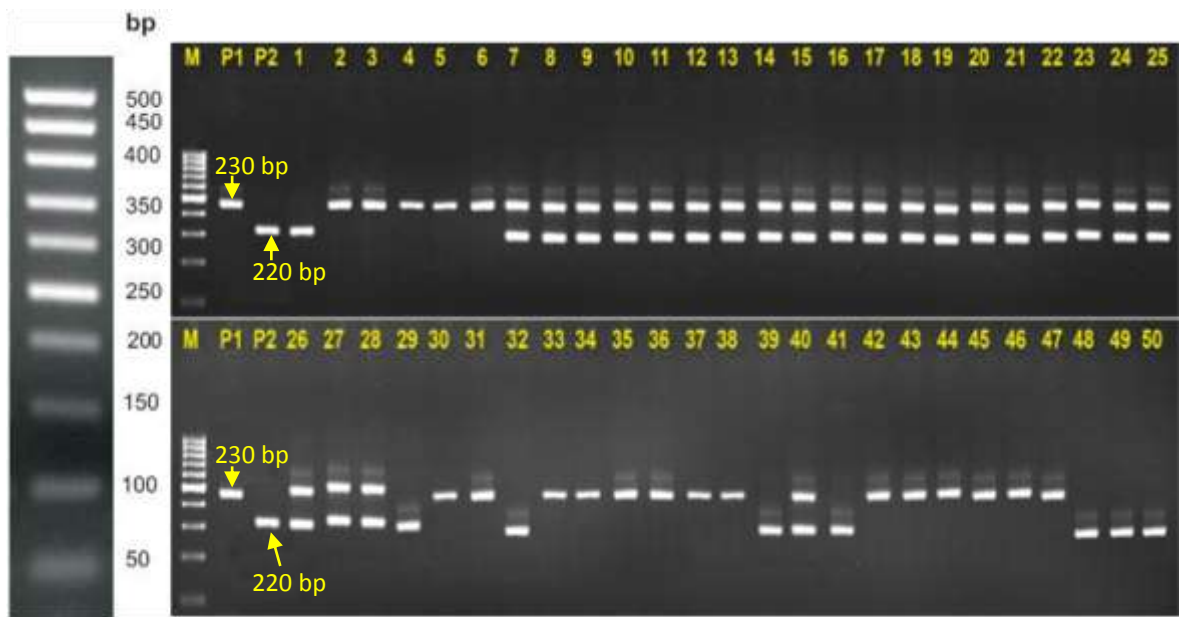
**Hình 3.22. Sản phẩm PCR của các giống lúa cao sản tại locus RM223 liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 8, vị trí hai băng 220bp và 200bp, trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; 1.OMCS2000 - 200 bp. 2: Pokkali -220 bp, 1-50 là cây lai BC<sub>1</sub>*

### **Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR - SSR với marker RM3252-S-1-1**

Tương tự phân tích kiểu alen của chỉ thị RM3252-S-1-1 cho quần thể hồi giao BC<sub>2</sub> của OMCS200/Pokkali. Kết quả sản phẩm PCR trên Hình 3.23, cho thấy có 18 cá thể có cùng kích thước với OMCS2000 không mang gen mặn tương ứng ở vị trí số 1, 29, 32, 39, 41, 48, 49 và 50. Có 19 cá thể có cùng kích thước với Pokkali tương ứng với vị trí số 2, 3, 4, 5, 6, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 42, 43, 44, 45, 46 và 47. Còn lại là các cá thể mang kiểu gen dị hợp tử mang cả hai gen kháng mặn và không kháng mặn.





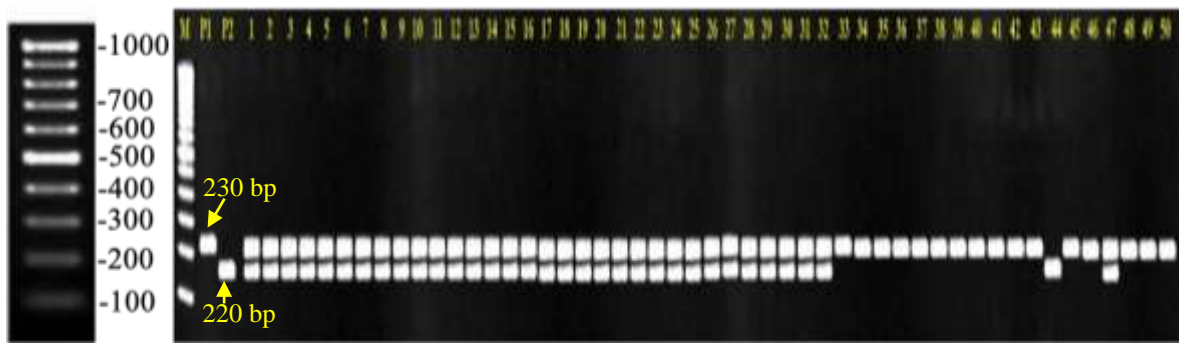
**Hình 3.23. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder; 1: Pokkali – 230bp, 2: OMCS2000 – 220bp, 1-50 là cây lai BC<sub>1</sub>*

### ***Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất (BC<sub>2</sub>) cho các quần thể***

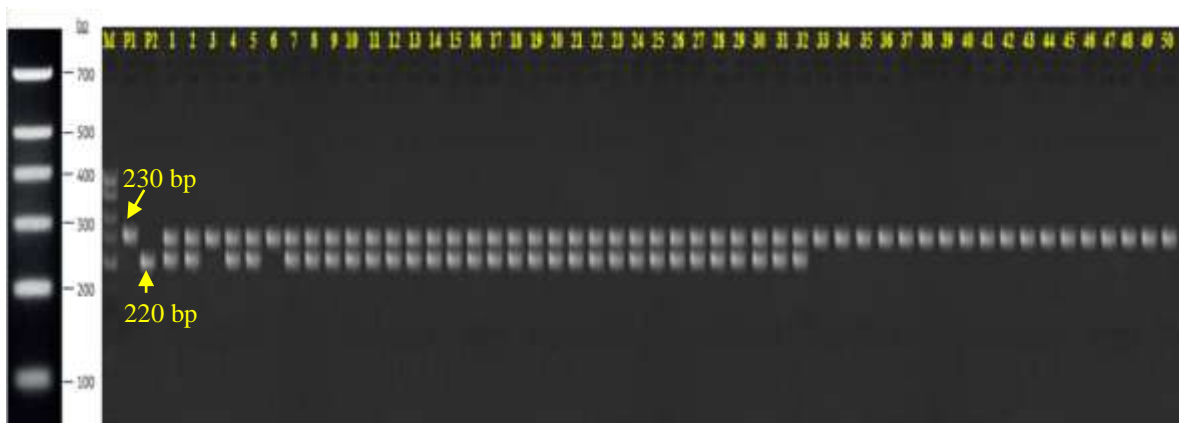
Như được thể hiện trong Hình 3.24 và 3.25, với hai chỉ thị phân tử RM223 và RM3252-S1-1 cho đa hình trong quần thể BC<sub>2</sub> của tổ hợp lai OMCS2000/pokkali//OMCS2000. Hầu hết dòng lai đều có biểu hiện dị hợp với hai chỉ thị được kiểm tra. Có 16 dòng mang gen mặn cùng băng hình với Pokkali như dòng 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 48, 49 và 50 đối với chỉ thị RM3252-S1-1. Riêng trên chỉ thị RM223 ghi nhận dòng mang gen mặn là dòng số 3 và số 6.

Do đó trong thế hệ BC<sub>1</sub> của tổ hợp lai OMCS2000/pokkali//OMCS2000 chọn 18 dòng: đó là dòng số 3, 6, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 48, 49 và dòng 50 để tiếp tục chọn lựa lại cho thế hệ tiếp theo.



**Hình 3.24. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; 1: Pokkali – 230bp, 2: OMCS2000 – 220bp, 1-50 là cây lai BC<sub>2</sub>*



**Hình 3.25. Sản phẩm PCR của 50 dòng hồi giao BC<sub>2</sub> của OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 liên kết với marker RM223**

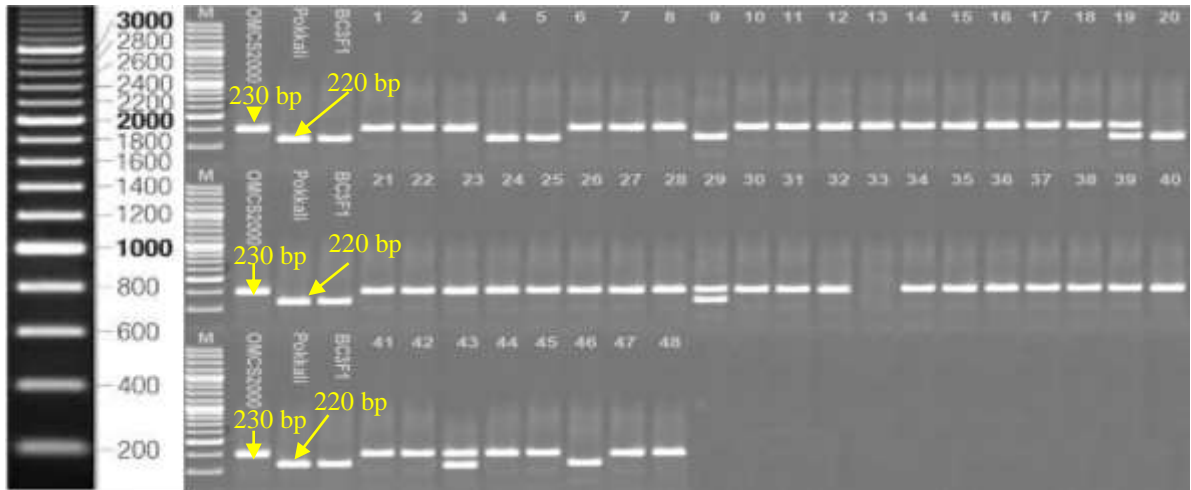
*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, 1: Pokkali, 2: OMCS2000, 1-50 là cây lai BC<sub>2</sub>, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

### ***Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất (BC<sub>3</sub>) cho các quần thể***

#### ***Tổ hợp hồi giao OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000***

Phân tích sản phẩm PCR của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> từ OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 ghi nhận có sự đa hình trên **RM 3252-S1-1** nằm trên nhiễm sắc thể số 1. Pokkali, mang gen mặn thể hiện băng có kích thước là 230bp và OMCS2000, không mang gen thể hiện băng có kích thước 220bp. Kết quả sản phẩm PCR ghi

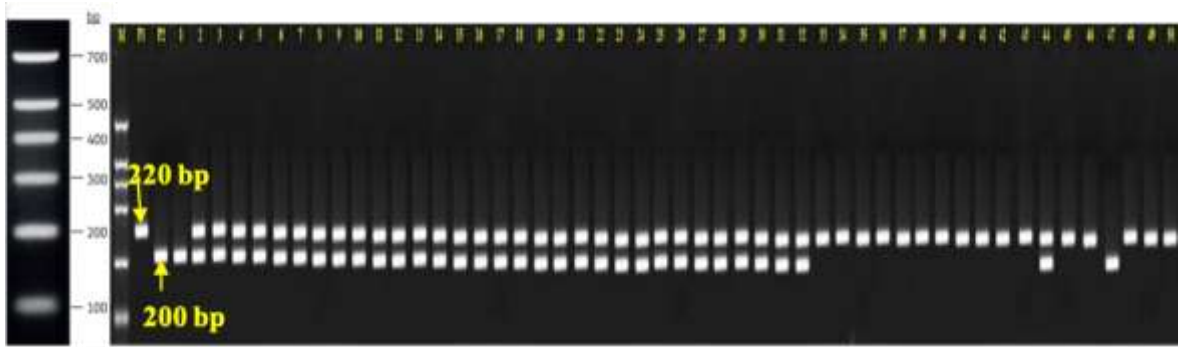
nhận trên Hình 3.26. Cho thấy (96% có xuất hiện băng hình), các dòng có băng hình ở vị trí kích thước 230bp giống với giống Pokkali bao gồm: dòng số 1, 2, 3, 6, 7, 8, 10-18, 21-28, 30-32, 34-40, các dòng còn lại có cùng kích thước với OMCS2000 (220bp). Trong quần thể này ghi nhận có 1 cây dị hợp ghi nhận dòng 36. Các dòng cần tiếp tục nghiên cứu.



**Hình 3.26. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 50 dòng  $BC_3F_2$  của quần thể OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000 trên gel agarose với nồng độ 3%.**

*Ghi chú: M: 200bp DNA ladder, giếng từ 1-50: các cá thể  $BC_3F_2$  của tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000; OMCS2000 – 220bp; Pokkali – 230bp*

Phân tích sản phẩm PCR của quần thể  $BC_3F_2$  từ OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 ghi nhận có sự đa hình trên RM223 nằm trên nhiễm sắc thể số 8. Pokkali, mang gen mặn, thể hiện băng có kích thước là 220bp và OMCS2000, không mang gen, thể hiện băng có kích thước 200bp. Phân tích 50 dòng  $BC_3F_2$  ghi nhận chỉ có các dòng mang gen chịu mặn như: dòng số 33-43, 45, 46, 48, 49, 50. Các dòng còn lại có kích thước phân tử là dị hợp tử kích thước 200-220bp. Chỉ có dòng số 1 và 47 là giống với OMCS2000.



**Hình 3.27. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 50 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của quần thể OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000 trên gel agarose 3%.**

Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, giếng từ 1-50: các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000. P1: Pokkali – 220bp, P2: OMCS2000 – 200bp

Qua đánh giá kiểu gen mặn của các cá thể từ quần thể OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000 với RM223 và RM3252-S1-1, các dòng số 34, 35, 36, 37, 38, 39 và 40 thể hiện bằng có gen mặn ở cả hai chỉ thị. Các dòng này được xác định là các dòng có tiềm năng chống chịu mặn rất tốt và có mang gen *Saltol*.

Tóm lại: Phân tích trên tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 hồi giao ghi nhận.

Ở thế hệ F<sub>1</sub>, 100 cá thể được thu hoạch. Kết quả đánh giá bằng chỉ thị phân tử RM233 có 70% cá thể mang gen *saltol* dị hợp tử. Kết hợp đánh giá kiểu hình những cá thể ưu thế sẽ được chọn để lai tạo cho thế hệ sau.

Ở thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, thu hoạch được 50 cá thể ưu tú nhất. Với 100 cá thể được đánh giá kiểu gen với chỉ thị gen *saltol*, tuy nhiên chỉ có 19 cá thể mang kiểu gen chịu mặn (BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-2, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-3, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-4, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-5, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-6, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-23, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-24, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-25, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-32, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-31, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-33, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-36, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-35, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-36, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-37, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-38, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-44 và BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-45). Các cá thể này được đánh giá tiếp tục với các chỉ thị tái tổ hợp. Hầu hết các cá thể đều mang gen chịu mặn. Do đó chọn ngẫu nhiên 19 dòng trồng tiếp để lai hồi giao tạo quần thể BC<sub>2</sub>.

Ở thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, 100 cá thể được đánh giá kiểu gen với chỉ thị gen *saltol*, trên chỉ thị RM223 có 16 dòng mang kiểu gen chịu mặn (BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-33, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-34, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-

35, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-36, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-37, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-38, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-39, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-40, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-41, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-42, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-43, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-45, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-46, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-48, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-49, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-50). Riêng trên nhiễm sắc thể số 1 chỉ ghi nhận hai dòng (BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-3, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-6). Do đó chọn 18 dòng trồng tiếp để lai hồi giao tạo quần thể BC<sub>3</sub>.

Ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>, có 35 cá thể dị hợp tử gen trong tổng số 53 cá thể được thu hoạch. Qua đánh giá gen tái tổ hợp, chọn được 7 cá thể (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-34, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-35, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-36, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-37, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-38, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-39, và BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-40) mang gen chống chịu mặn trên nhiễm sắc thể số 1 và nhiễm sắc thể số 8.

#### 3.2.3.4. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao tổ hợp lai OM6162 và Pokkali

**Bảng 3.8. Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F<sub>1</sub> đến BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể có gen mặn dị hợp tử được chọn	Số cá thể mang gen saltol di hợp được chọn lọc theo cá thể mẹ
F <sub>1</sub>	100	50	-
BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	110	52	7
BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	100	70	4
BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub>	100	50	6
BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	100	25	10

#### Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR - SSR với marker RM223

##### Quần thể lai OM6162/Pokkali//OM6162 được kiểm tra với chỉ thị RM223

Kết quả sản phẩm PCR ghi nhận trên Hình 3.28 cho thấy có 4 cá thể có cùng kích thước với OM6162 tương ứng ở vị trí số 28, 31, 32 và 48. Có 23 cá thể có cùng kích thước với Pokkali mang gen kháng mặn tương ứng ở vị trí band số 1, 2, 3, 4, 27, 29, 30, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 49 và 50. Các cá thể còn lại có kiểu gen dị hợp tử mang gen kháng mặn và không kháng mặn tương ứng ở vị trí số 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 và 26.



**Hình 3.28. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 200bp và 220bp, trên gel agarose 3%.**

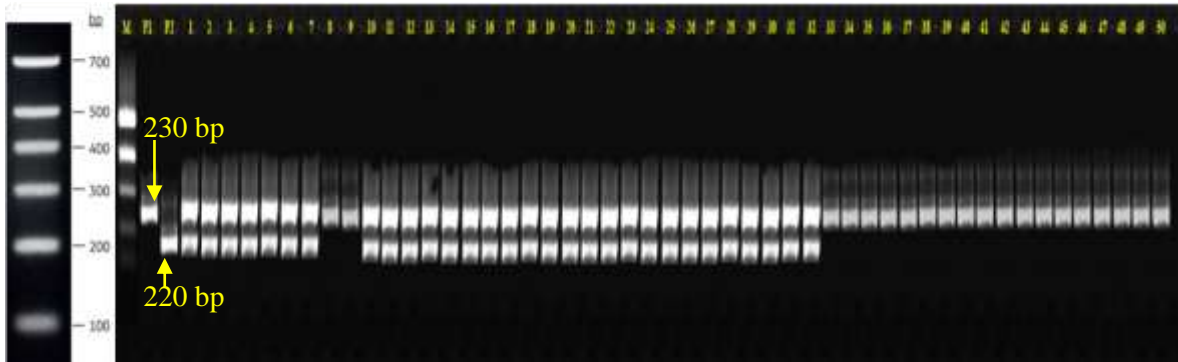
Ghi chú: M: 50 bp DNA ladder; 1: Pokkali – 220bp và 2: OM6162 – 200bp, 1-50 là cây lai BC<sub>1</sub>

### **Khuếch đại DNA bằng phương pháp PCR - SSR với marker *RM3252-S1-1***

Kết quả sản phẩm PCR ghi nhận trên Hình 3.29 cho thấy 20 cá thể có cùng kích thước với Pokkali tương ứng ở vị trí số 8, 9, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 và 50. Có 30 cá thể có kiểu gen dị hợp tử mang gen kháng mặn.

Phân tích các chỉ thị trên hầu hết các chỉ thị phân tích cho sự đa hình trên các quần thể trên. Số liệu này đối với primer RM3252-S1-1 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 98% tổng số trên quần thể OMCS2000/Pokkali. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng có sự khác biệt rõ.

Như vậy qua hai chỉ thị phân tử ghi nhận có 16 dòng chống chịu mặn liên kết với cả 2 marker RM223 và RM3252-S1-1 là các dòng 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 49 và 50 tiếp tục chọn lựa cho hồi giao BC<sub>2</sub>.

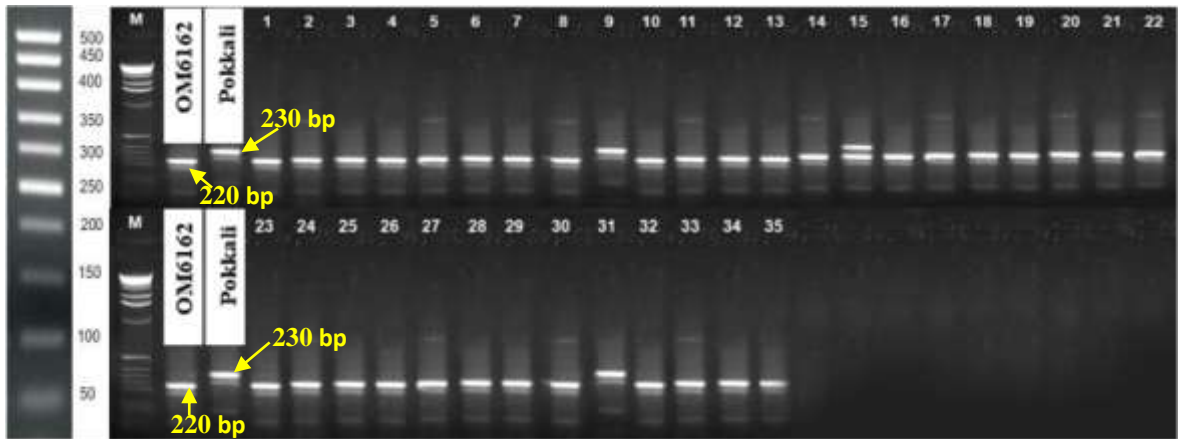


**Hình 3.29. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM3252-S1-1 trên 50 dòng liên kết với gene kháng mặn trên nhiễm sắc thể số 1, vị trí hai băng 220bp và 230bp, trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder; P1: Pokkali – 230bp và P2: OM6162 – 220bp, 1-50 là cây lai BC<sub>1</sub>*

#### *3.2.3.5. Kết quả tạo cá thể hồi giao BC<sub>2</sub> từ tổ hợp hồi giao OM 6162/ Pokkali// OM6162*

Đa hình dựa trên marker RM223 ghi nhận chống chịu mặn cũng được đánh giá trong 35 cây lai của tổ hợp lai OM6162/pokkali//OM6162. Chỉ có hai dòng dòng 9 và 31 mang gen chống chịu mặn (Hình 3.30). Đối với marker RM3252-S1-1, tất cả các cây lai đều cho kiểu gen đồng hợp tử với gen không mặn. Chỉ có hai dòng số 6 và 8 mang gen mặn giống với giống Pokkali.



**Hình 3.30. Sản phẩm PCR của 35 dòng hồi giao BC<sub>2</sub> của OM6162/pokkali//OM6162 liên kết với marker RM223.**

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder, 1-35 là cây lai BC<sub>2</sub>, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*



**Hình 3.31. Sản phẩm PCR của 35 dòng hồi giao BC<sub>2</sub> của OM6162/pokkali//OM6162 liên kết với marker RM3252-S1-1.**

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder, 1-35 là cây lai BC<sub>2</sub>, sản phẩm PCR được chạy trên 3% agarose gel*

Như vậy qua chọn lựa của tổ hợp lai OM6162/pokkali//OM6162 thế hệ BC<sub>2</sub> có 4 dòng: 6, 8, 9 và 31 cho chọn lọc và tiếp tục lai thế hệ tiếp theo.

***Kết quả tạo hạt hồi giao lần thứ nhất (BC<sub>3</sub>) cho các quần thể OM6162/Pokkali//OM6162***

Các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> từ tổ hợp hồi giao OM6162/Pokkali// OM6162 cho kết quả đa hình khi khuếch đại bằng chỉ thị RM3252-1-1 trên nhiễm sắc thể số



1. Chỉ thị RM3252-S1-1 cho kết quả đa hình thể hiện hai kích thước phân tử 220bp và 230bp. Trong đó, Pokkali, mang gen mặn, thể hiện băng có kích thước là 230 bp và OM6162, không mang gen, thể hiện băng có kích thước 220bp. Phân tích kết quả kiểu gen của 100 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> cho thấy có 34 dòng mang gen chịu mặn như: dòng số 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 57, 58, 62, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 và 100. Ngoài ra, các dòng còn phân ly, băng dị hợp tử, rất cao (chiếm 56 %). Điều này chứng tỏ rằng tổ hợp này các dòng con lai phân ly rất mạnh. Nguyên nhân của điều này có thể do giống Pokkali là giống lúa mùa nên có sự khác biệt về genome đã tạo ra sự biến dị khá phong phú. Giống lúa mùa (Pokkali) được du nhập từ Ấn Độ cũng được ghi nhận có xu hướng cho sự phân ly tính trội nhiều hơn đối với các gen liên quan đến tính chống chịu phi sinh học trong thế hệ con cháu.



**Hình 3.32. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 trên 100 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của quần thể OM6162/Pokkali//OM6162 trên gel agarose 3%.**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: Pokkali; P2: OM6162; 1-100: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OM6162/ Pokkali//OM6162*

Đối với chỉ thị RM223, kết quả sản phẩm PCR ghi nhận trên hình 3.34 cho thấy 100% mẫu có xuất hiện băng hình và sản phẩm thể hiện sự đa hình ở các kích thước phân tử 200bp và 220bp. Trong đó, Pokkali, mang gen mặn trên NST8, thể hiện băng có kích thước là 220 bp và OM6162, không mang gen, thể hiện băng có kích thước 200 bp. Có 6 dòng mang gen mặn, có cùng kích thước với Pokkali, bao gồm: dòng 1 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-1), dòng 60 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-60), dòng 61 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-61), dòng 63 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-

63), dòng 64 ( $BC_3F_2$ -64) và dòng 66 ( $BC_3F_2$ -66), các băng còn lại cho kết quả dị hợp tử (chiếm 57% tổng số cá thể) hoặc có cùng kích thước với OM6162 (200bp).



**Hình 3.33. Sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử RM223 trên 100 dòng trên 100 dòng  $BC_2F_2$  của quần thể OM6162/ Pokkali// OM6162 trên gel agarose 3%.**

Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: OM6162; P2: Pokkali; 1-100: các cá thể  $BC_3F_2$  của tổ hợp OM6162/ Pokkali// OM6162

### **Thảo luận**

Phân tích các chỉ thị trên hầu hết các chỉ thị phân tích cho sự đa hình trên các quần thể trên. Số liệu này đối với primer RM223 số mẫu cho sản phẩm khuếch đại chiếm 98% tổng số trên quần thể OMCS2000/Pokkali. Từ kết quả thu được cho thấy số mẫu tạo băng có sự khác biệt rõ. Đối với RM3252-S1-1 thì trên quần thể OM1490/ Pokkali là 96% vắng mặt các alen trên hai cá thể 37 và 42. Điều này giải thích đối với DNA thì sản phẩm tốt vì bằng chứng cho thấy rằng chỉ thị phân tử trên quần thể này cũng cho thấy đã thể hiện sự bắt cặp rất tốt giữa chúng với DNA của các cá thể trên RM223. Tuy nhiên sự đa hình của các đoạn DNA tạo ra bởi primer do alen bị đột biến do xuất hiện bên ngoài trong quá trình tạp giao. Qua phân tích sản phẩm PCR với 2 primer thì thấy phần lớn các dòng có trình tự DNA bắt cặp đối với những primer đã nghiên cứu. Số lượng sản phẩm PCR tạo ra đối với những primer thì còn phụ thuộc nhiều vào điều kiện phản ứng PCR (Ellsworth và *ctv*, 1993) cho nên chỉ có một số primer cho ra các băng đa hình.

Sự kết hợp của MAS vào thế hệ đầu nơi mà MAS có thể có ảnh hưởng lớn nhất, hầu hết các nhà lai tạo xử lý hàng trăm ngàn, thậm chí hàng triệu cây. Điều

này trình bày một trở ngại thực tế cho tách chiết DNA và phân tích marker. Đối với hầu hết những tính trạng, sàng lọc hóa học đơn giản hay trực quan nói chung là đủ. Sử dụng rộng rãi hơn của MAS trong thế hệ đầu sẽ yêu cầu cần thiết trong lai tạo giống lúa với tính trạng phức tạp

Qua đánh giá bằng chỉ thị phân tử với 50 cây BC<sub>1</sub> với 2 chỉ thị phân tử và trên bốn quần thể khác nhau. Cho thấy bốn quần thể cho đa hình các alen dị hợp tử và đồng hợp tử trên quần thể này. Dựa vào các cá thể trên sẽ cho tiếp tục lai ở thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>. Tiếp tục chuyển sang chọn lựa để đánh dấu các cây chọn lọc và cho lai tiếp BC<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub>.

### ***Tóm lại***

Chọn giống dựa trên marker là một trong những phương pháp hiệu quả để du nhập gen hoặc QTLs quy định các tính trạng phức tạp trong phương thức mang lại độ chính xác cao và trong thời gian ngắn. Kết quả trong nghiên cứu này chỉ ra rằng hai marker RM223 và RM3252-S1-1 rất có ích cho việc chọn lọc các con lai chứa alen đồng hợp với bố có chứa gen chịu mặn. Mặc dù vậy, trong bố quần thể được xem xét vẫn còn tồn tại một vài con lai chứa kiểu gen hoặc alen dị hợp tử. Các con này lai sẽ được chọn lọc cho lai hồi giao lần thứ 2 để tạo ra con lai BC<sub>3</sub>. Thanh lọc bằng marker sẽ được sử dụng để chọn tạo ra BC<sub>3</sub> chứa alen đồng hợp chống chịu mặn trước khi được thanh lọc trong điều kiện đồng ruộng ở các môi trường khác nhau.

Nhận dạng và du nhập QTL ảnh hưởng chủ yếu cho tính trạng chống chịu mặn vào giống lúa được trồng phổ biến sẽ mang lại cơ hội cho việc tạo ra các giống năng suất cao và có khả năng chống chịu mặn. Chọn lọc được hỗ trợ dựa trên marker là phương pháp khả thi nhất cho công việc này. Qua đánh giá bằng chỉ thị phân tử 35 - 40 cây BC<sub>2</sub> trong bốn quần thể khác nhau. Hầu hết quần thể cho đa hình các alen đồng hợp tử, và một vài cho đa hình alen dị hợp tử. Các cá thể trên sẽ tiếp tục cho lai hồi giao để tạo ra BC<sub>3</sub> chứa alen đồng hợp chống chịu mặn. Trong tổ hợp OM6162/ Pokkali cần khai thác các thế hệ lai tiếp tục.

### 3.3. Thanh lọc các dòng triển vọng ở hai mức độ mặn khác nhau ở giai đoạn mạ

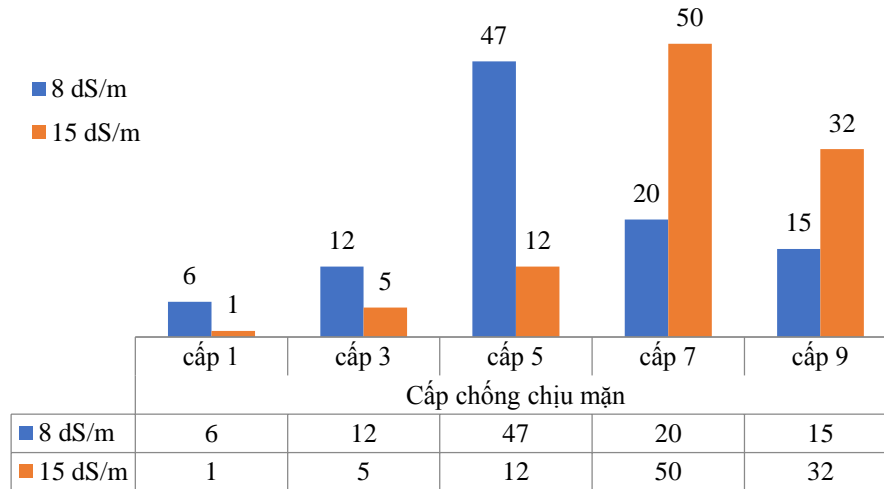
Mục tiêu này để khẳng định các quần thể chịu mặn ở thế hệ  $BC_3F_2$

#### 3.3.1. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 Quần thể $BC_3F_1$ được chọn và gieo cho tự thụ để có quần thể $BC_3F_2$

Tiến hành gieo toàn bộ hạt  $BC_3F_2$  của quần thể hồi giao OM6162/ Pokkali// OM6162, đánh giá và chọn những cây chống chịu trên hai nồng độ khác nhau EC = 8 và 15dS/m trong nhà lưới ở giai đoạn mạ.

Ở giai đoạn mạ, trong dung dịch mặn với EC = 8dS/m, đa số các dòng trong quần thể con lai có khả năng sống sót được ghi nhận từ 20-25 ngày. Tuy nhiên, có 18 dòng có thời gian sống sót từ 27-30 ngày, các dòng này có khả năng chống chịu mặn tốt. Trong đó, có 6 dòng chống chịu ở cấp 1, 12 dòng ở cấp 3, 47 dòng ở cấp 5, 20 dòng ở cấp 7 và 15 dòng ở cấp 9.

Tại EC = 15dS/m, 6 dòng còn sống sót sau thanh lọc, bao gồm:  $BC_3F_2-1$ ,  $BC_3F_2-60$ ,  $BC_3F_2-61$ ,  $BC_3F_2-63$ ,  $BC_3F_2-64$  và dòng  $BC_3F_2-66$ . Số ngày sống sót các dòng này trung bình từ 27-30 ngày ở giai đoạn mạ. Tuy nhiên, mức độ sống sót của các dòng này cũng khác nhau: dòng  $BC_3F_2-1$  sống sót với tỉ lệ 47%;  $BC_3F_2-60$  và  $BC_3F_2-61$  sống sót với tỉ lệ 54,0-57,6%; dòng  $BC_3F_2-63$  sống sót với tỉ lệ 50%; dòng số  $BC_2F_2-64$  sống sót với tỉ lệ 52,8% và dòng  $BC_2F_2-66$  sống sót với tỉ lệ 68%. Các dòng còn lại sống sót với tỉ lệ dưới 20% (**Hình 3.34**). Về cấp chống chịu mặn, có 1 dòng chống chịu ở cấp 1 ( $BC_3F_2-66$ ), 5 dòng ở cấp 3 ( $BC_3F_2-1$ ,  $BC_3F_2-60$ ,  $BC_3F_2-61$ ,  $BC_3F_2-63$ ,  $BC_3F_2-64$ ), 12 dòng ở cấp 5, 50 dòng ở cấp 7 và 32 dòng ở cấp 9.

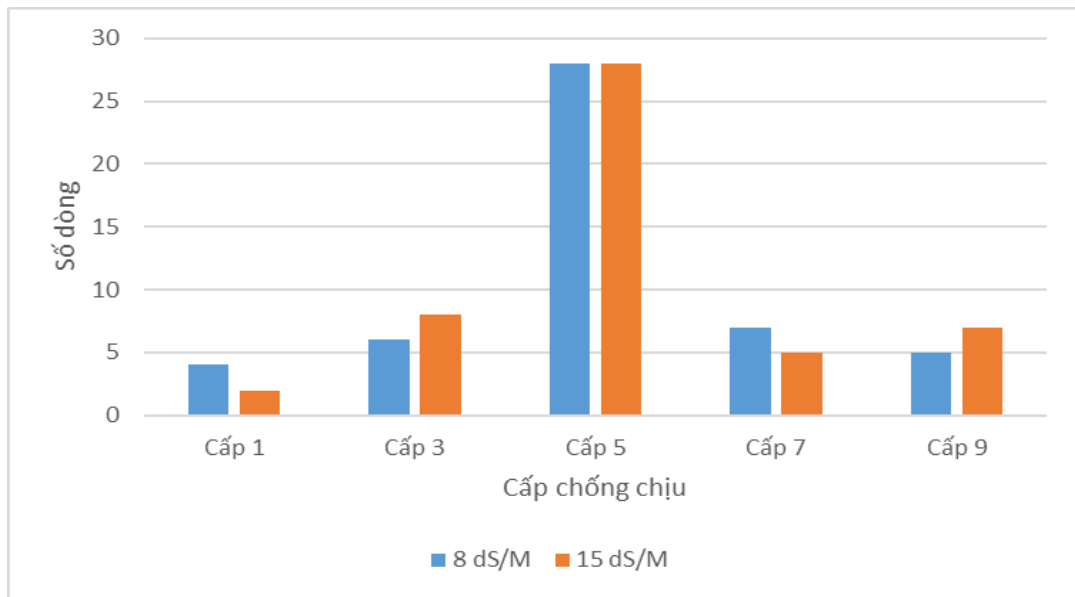


**Hình 3.34. Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.**

### 3.3.2. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000

Quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> từ OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 được đánh giá và chọn những cây chống chịu trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8 và 15dS/m trong nhà lưới ở giai đoạn mạ. Kết quả giai đoạn mạ ở nồng độ mặn với EC = 8dS/m cho thấy các dòng phản ứng rất khác nhau với stress mặn. Phản ứng ở cấp 1 có 4 dòng, cấp 3 có 6 dòng, cấp 5 có 28 dòng, cấp 7 có 7 dòng và cấp 9 có 5 dòng. Trong đó, 3 dòng chống chịu mặn tốt (cấp 1) và có thời gian sống sót từ 27-30 ngày, bao gồm: BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-4, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-9 và BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub>-12.

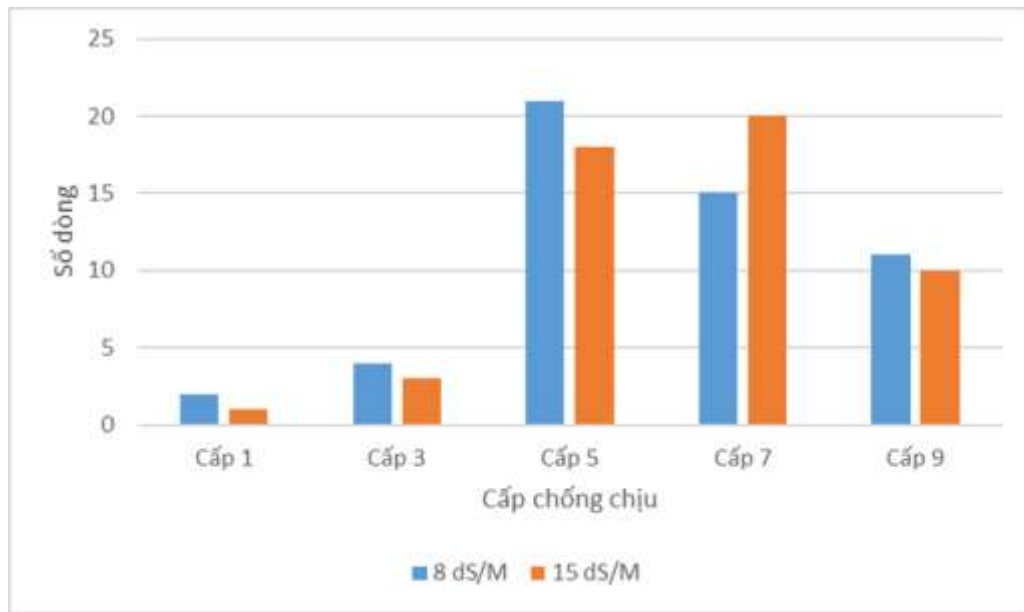
Ở môi trường mặn EC = 15dS/m, các dòng có mức độ sống sót cao bao gồm: dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-4 sống sót với tỉ lệ 78,6%; dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-9 sống sót với tỉ lệ 45% và dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-12 sống sót với tỉ lệ 33%. Trong đó có 1 dòng vừa có khả năng sống sót cao sau thanh lọc và phản ứng với mặn ở cấp 1 là dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-4.



**Hình 3.35. Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali// OMCS2000 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.**

### 3.3.3. Thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490

53 cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> từ tổ hợp OM1490/Pokkali//OM1490 được đánh giá và chọn những cá thể chống chịu trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8 và 15dS/m trong nhà lưới ở giai đoạn mạ. Tại EC = 8dS/m, đáp ứng với điều kiện ở cấp 1 có 2 dòng, cấp 3 có 4 dòng, cấp 5 có 21 dòng, cấp 7 có 15 dòng và cấp 9 có 11 dòng. Trong đó ghi nhận chỉ còn 2 dòng chống chịu mặn tốt (cấp 1) và đồng thời có thời gian sống sót cao từ 27-30 ngày và hầu như sống sót 100% sau khi thanh lọc ở giai đoạn mạ là dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-10, BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-37 và BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-40. Tại EC = 15dS/m, cũng ghi nhận các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-10 và BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-40 còn sống sót sau khi thanh lọc. Tuy nhiên mức độ sống sót của các dòng này cũng khác nhau: dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-10 sống sót với tỉ lệ 65%, dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-40 sống sót với tỉ lệ 41,9 %.



**Hình 3.36. Kết quả thanh lọc mặn trên quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên hai nồng độ mặn khác nhau, tại EC = 8dS/m và EC = 15dS/m.**

### **3.4. Đánh giá tính chống chịu mặn của các dòng thông qua đánh giá kết hợp kiểu gen và kiểu hình.**

Tính chống chịu mặn ở lúa rất phức tạp, kết quả thí nghiệm cho thấy kết quả đánh giá giữa kiểu gen và kiểu hình ở một số dòng không giống nhau. Một số dòng có kiểu hình chống chịu nhưng lại không mang gen mặn hoặc alen dị hợp, điều này được lý giải do các dòng này còn phân ly, sự ảnh hưởng của các yếu tố môi trường hoặc sai số trong thí nghiệm. Những dòng có kiểu hình chống chịu và mang gen mặn sẽ được tuyển chọn và phát triển trong các thế hệ tiếp theo.

Ở tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162, đa số các dòng đều nhiễm mặn, một số có kiểu hình chống chịu và có mang gen kháng mặn, nhưng dạng hình cao thấp do các dòng còn phân ly ở thế hệ  $BC_3F_2$ . Do đó cần được nghiên cứu ở các thế hệ sau.

**Bảng 3.9. Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OM6162/ Pokkali//OM6162**

Tên giống/dòng	Kiểu gen		Kiểu hình	Kết luận
	RM223	RM 3252-S1-1		
OM6162	200	230	Nhiễm	<i>Nhiễm</i>
Pokkali	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
1	220	220	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
2	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
3	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
4	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
5	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
6	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
7	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
8	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
9	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
10	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
11	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
12	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
13	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
14	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
15	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
16	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
17	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
18	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
19	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
20	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
21	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
22	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
23	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
24	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
25	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm



Tên giống/dòng	Kiểu gen		Kiểu hình	Kết luận
	RM223	RM 3252-S1-1		
26	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
27	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
28	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
29	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
30	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
31	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
32	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
33	200	230	Nhiễm	Nhiễm
34	200	230	Nhiễm	Nhiễm
35	200	230	Nhiễm	Nhiễm
36	200	230	Nhiễm	Nhiễm
37	200	230	Nhiễm	Nhiễm
38	200	230	Nhiễm	Nhiễm
39	200	230	Nhiễm	Nhiễm
40	200	230	Nhiễm	Nhiễm
41	200	230	Nhiễm	Nhiễm
42	200	230	Nhiễm	Nhiễm
43	200	230	Nhiễm	Nhiễm
44	200-220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
45	200	230	Nhiễm	Nhiễm
46	200	230	Nhiễm	Nhiễm
47	200-220	220	Chống chịu	-
48	200	230	Nhiễm	Nhiễm
49	220	230	Nhiễm	Nhiễm
50	200	230	Nhiễm	Nhiễm

Chú thích: -: có thể mang gen mẫn nhưng còn phân ly, tiếp tục nghiên cứu.

Ở tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000, đa số các dòng đều nhiễm mẫn, tuy nhiên, các dòng số 4 ( $BC_3F_2-2-4$ ), dòng số 9 ( $BC_3F_2-2-9$ ) và dòng số 12 ( $BC_3F_2-2-12$ ) có kiểu hình chống chịu và có mang gen kháng mẫn. Còn lại các dòng số 5, 7,

20 và 46 có kiểu gen không đồng nhất với hai marker, có thể các dòng này còn phân ly, cần được nghiên cứu ở các thế hệ sau.

**Bảng 3.10. Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000**

Tên giống/dòng	Kiểu gen		Kiểu hình	Kết luận
	RM223	RM 3252-S1-1		
OMCS2000	200	230	Nhiễm	<i>Nhiễm</i>
Pokkali	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
1	200	230	Nhiễm	Nhiễm
2	200	230	Nhiễm	Nhiễm
3	200	230	Nhiễm	Nhiễm
4	220	220	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
5	200	220	Nhiễm	-
6	200	230	Nhiễm	Nhiễm
7	220	230	Nhiễm	-
8	200	230	Nhiễm	Nhiễm
9	220	220	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
10	200	230	Nhiễm	Nhiễm
11	200	230	Nhiễm	Nhiễm
12	220	230	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
13	200	230	Nhiễm	Nhiễm
14	200	230	Nhiễm	Nhiễm
15	200	230	Nhiễm	Nhiễm
16	200	230	Nhiễm	Nhiễm
17	200	230	Nhiễm	Nhiễm
18	200	230	Nhiễm	Nhiễm
19	200	220-230	Nhiễm	Nhiễm
20	200	220	Nhiễm	-
21	200	230	Nhiễm	Nhiễm
22	200	230	Nhiễm	Nhiễm
23	200	230	Nhiễm	Nhiễm

Tên giống/dòng	Kiểu gen		Kiểu hình	Kết luận
	RM223	RM 3252-S1-1		
24	200	230	Nhiễm	Nhiễm
25	200	230	Nhiễm	Nhiễm
26	200	230	Nhiễm	Nhiễm
27	200	230	Nhiễm	Nhiễm
28	200	230	Nhiễm	Nhiễm
29	200	220-230	Nhiễm	Nhiễm
30	200	230	Nhiễm	Nhiễm
31	220	230	Nhiễm	Nhiễm
32	200	230	Nhiễm	Nhiễm
33	220	-	Nhiễm	Nhiễm
34	220	230	Nhiễm	Nhiễm
35	220	230	Nhiễm	Nhiễm
36	220	230	Nhiễm	Nhiễm
37	220	230	Nhiễm	Nhiễm
38	220	230	Nhiễm	Nhiễm
39	220	230	Nhiễm	Nhiễm
40	220	230	Nhiễm	Nhiễm
41	220	230	Nhiễm	Nhiễm
42	220	230	Nhiễm	Nhiễm
43	220	220-230	Nhiễm	Nhiễm
44	200	230	Nhiễm	Nhiễm
45	220	230	Nhiễm	Nhiễm
46	220	220	Nhiễm	-
47	200	230	Nhiễm	Nhiễm
48	220	230	Nhiễm	Nhiễm
49	220	-	Nhiễm	Nhiễm
50	220	-	Nhiễm	Nhiễm

*Chú thích: -: có thể mang gen mặn nhưng còn phân ly, tiếp tục nghiên cứu.*

Ở tổ hợp OMC1490/Pokkali//OM1490, đa số các dòng đều nhiễm mặn, tuy nhiên, các dòng số 10 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-3-10) và dòng số 40 (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>-3-40) có kiểu hình chống

chịu và có mang gen kháng mặn. Còn lại các dòng số 11, 20, 23, 30 và 53 có kiểu gen dị hợp hoặc không đồng nhất giữa hai marker, có thể các dòng này còn phân ly, cần được nghiên cứu ở các thế hệ sau. Riêng dòng số 37 biểu hiện gen mặn nhưng kiểu hình không chống chịu tốt ở 15 dS/m có thể do sai số thí nghiệm hoặc cơ chế nào đó làm im lặng gen, do đó, cần tiếp tục nghiên cứu ở các thí nghiệm sau.

**Bảng 3.11. Đánh giá tính chống chịu mặn dựa trên phân tích kết hợp kiểu hình và kiểu gen trên quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OM1490/ Pokkali//OM1490**

Tên giống/dòng	Kiểu gen		Kiểu hình	Kết luận
	RM223	RM 3252-S1-1		
OM1490	200	230	Nhiễm	<i>Nhiễm</i>
Pokkali	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub>	220	220	Chống chịu	<i>Chống chịu</i>
1	200	230	Nhiễm	Nhiễm
2	200	220	Nhiễm	Nhiễm
3	200	220	Nhiễm	Nhiễm
4	200	220	Chống chịu	Nhiễm
5	200	220	Nhiễm	Nhiễm
6	200	220	Nhiễm	Nhiễm
7	200	220	Nhiễm	Nhiễm
8	200	220	Nhiễm	Nhiễm
9	200	220	Nhiễm	Nhiễm
10	200	220-230	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
11	200	220	Nhiễm	-
12	200	220	Nhiễm	Nhiễm
13	200	220	Nhiễm	Nhiễm
14	200	220	Nhiễm	Nhiễm
15	200	220	Nhiễm	Nhiễm
16	200	220	Nhiễm	Nhiễm
17	200	220	Nhiễm	Nhiễm
18	200	220	Nhiễm	Nhiễm
19	200	220	Nhiễm	Nhiễm

20	220	220-230	Nhiệm	-
21	200	220	Nhiệm	Nhiệm
22	200	220	Nhiệm	Nhiệm
23	220	220	Nhiệm	-
24	200	220	Nhiệm	Nhiệm
25	200	220	Nhiệm	Nhiệm
26	200	220	Nhiệm	Nhiệm
27	200	220	Nhiệm	Nhiệm
28	200	220	Nhiệm	Nhiệm
29	200	220	Nhiệm	Nhiệm
30	200	220	Nhiệm	-
31	200	220	Nhiệm	Nhiệm
32	200	220	Nhiệm	Nhiệm
33	220	220	Nhiệm	Nhiệm
34	220	220	Nhiệm	Nhiệm
35	220	220	Nhiệm	Nhiệm
36	220	220	Nhiệm	Nhiệm
37	220	220	Nhiệm	-
38	220	220	Nhiệm	Nhiệm
39	220	220	Nhiệm	Nhiệm
40	220	220	Chống chịu	<b>Chống chịu</b>
41	220	220	Nhiệm	Nhiệm
42	220	220	Nhiệm	Nhiệm
43	220	220	Nhiệm	Nhiệm
44	200	220	Nhiệm	Nhiệm
45	220	220	Nhiệm	Nhiệm
46	220	220	Nhiệm	Nhiệm
47	200	220	Nhiệm	Nhiệm
48	220	220	Nhiệm	Nhiệm
49	220	220	Nhiệm	Nhiệm
50	220	220	Nhiệm	Nhiệm
51	200	220	Nhiệm	Nhiệm

52	200	220	Nhiễm	Nhiễm
53	200	220	Nhiễm	-

*Chú thích: -: có thể mang gen mặn nhưng còn phân ly, tiếp tục nghiên cứu.*

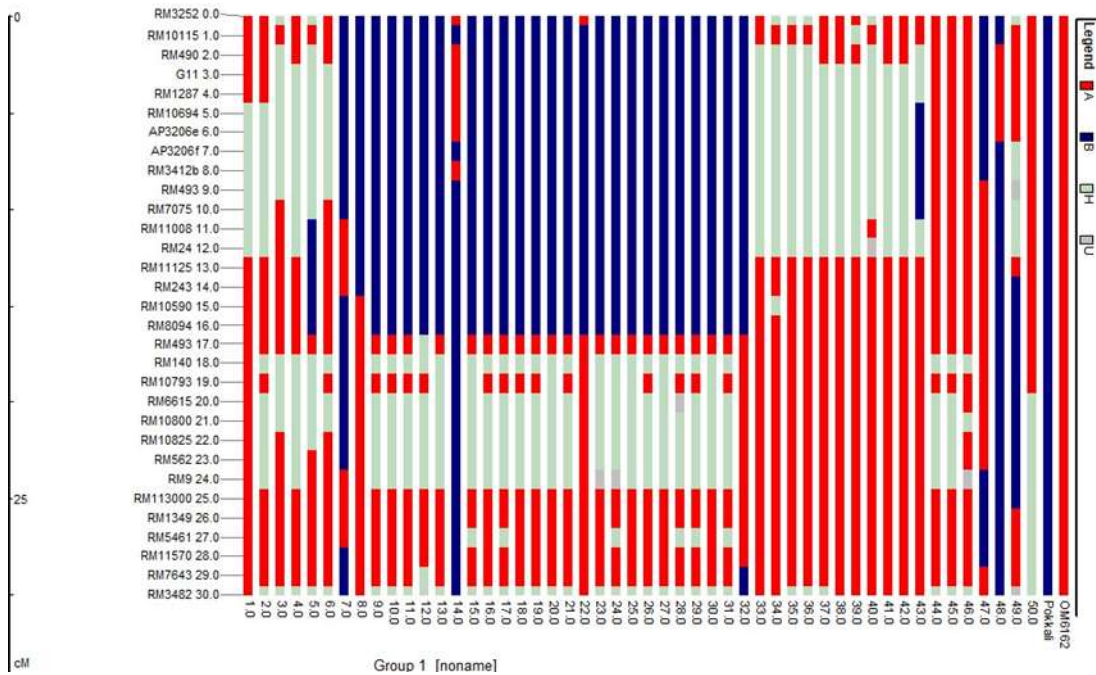
### **3.5. Chọn lọc các quần thể hồi giao $BC_3F_3$ thông qua lập bản đồ GGT**

Để đánh giá mức độ di truyền của quần thể con lai theo mục tiêu mang gen đích đồng thời di truyền theo tính trạng cây mẹ, phân tích GGT được sử dụng để đánh giá di truyền kiểu gen trên quần thể con lai. 31 chỉ thị phân tử định vị trên nhiễm sắc thể 1 và 21 chỉ thị định vị nhiễm sắc thể số 8 của cây lúa có sự đa hình trên bố mẹ và quần thể con lai đã được sử dụng trong đánh giá này (Phụ lục 4).

#### **3.5.1. Chọn lọc các cá thể $BC_3F_3$ của quần thể lai hồi giao**

##### ***OM6162/Pokkali//OM6162***

Mười dòng  $BC_3F_2$  của tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162 được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể  $BC_3F_3$ . Quần thể  $BC_3F_3$  được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen. Qua hình cho thấy trên 31 chỉ thị phân tử liên kết trên nhiễm sắc thể số 1. Tuy nhiên chưa ghi nhận các dòng chống chịu mặn trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162. Hầu hết các dòng này còn phân ly ở thế hệ  $BC_3F_3$ . Do đó các dòng trên cần phải lai tiếp thế hệ hồi giao cho  $BC_4$ . Có thể lựa chọn các dòng đang phân ly nghiên về tính chịu mặn cho tiếp tục tự thụ  $BC_3F_4$  như dòng số 44 tương ứng  $BC_3F_4$ .



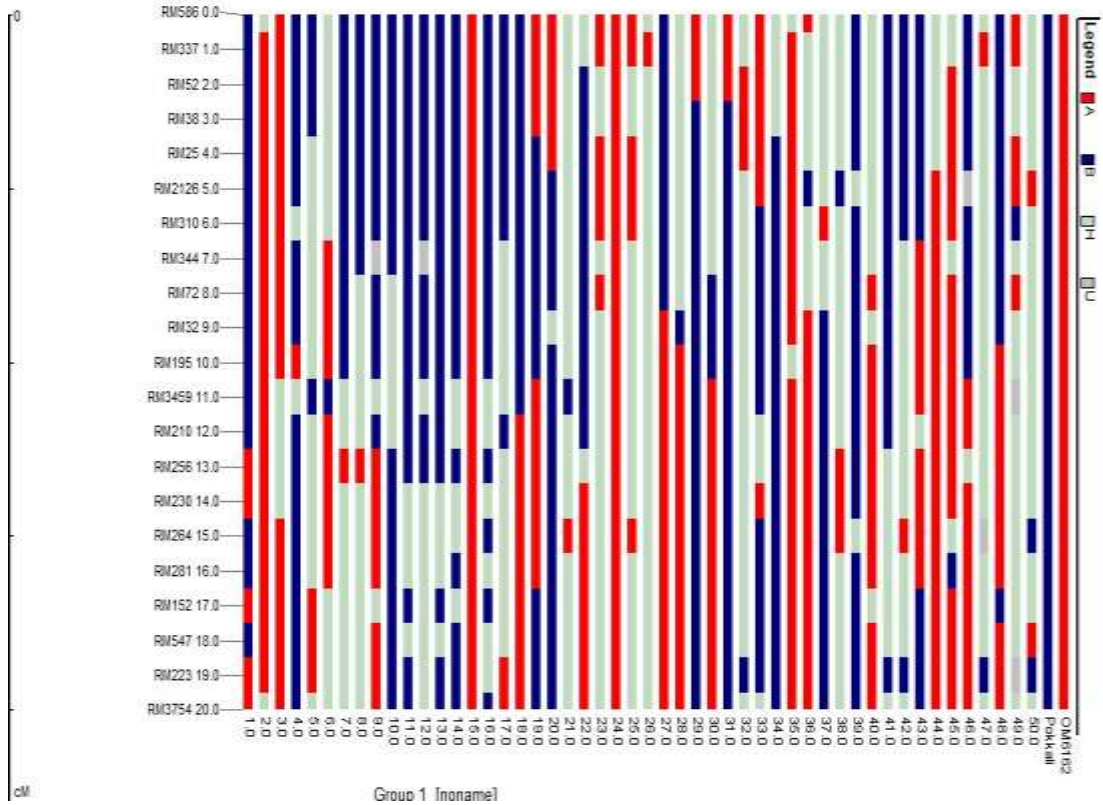
**Hình 3.37. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên nhiễm sắc thể số 1**

*Chú thích: Xanh dương – kiểu gen theo cây bố (Pokkali); đỏ - kiểu gen theo cây mẹ (OM6162); xám kiểu gen dị hợp tử*

Qua kết quả cho thấy, màu xanh dương thể hiện kiểu gen theo cây bố (Pokkali), gen kháng mặn, màu đỏ thể hiện kiểu gen theo cây mẹ (OM6162) gen nhiễm mặn, màu xám thể hiện thế hệ con lai mang gen dị hợp tử.

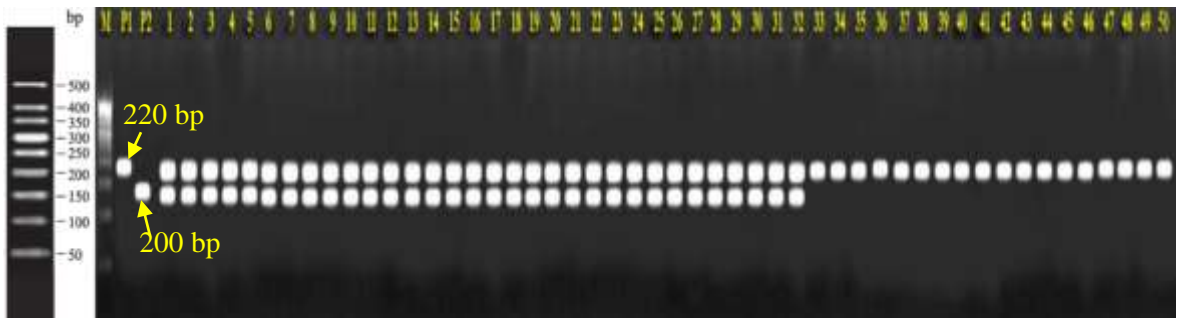
### **3.5.2. Chọn lọc các cá thể $BC_3F_3$ của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên nhiễm sắc thể số 8**

Mười dòng  $BC_3F_2$  của tổ hợp OM6162/Pokkali//OM6162 trên được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể  $BC_3F_3$ . Quần thể  $BC_3F_3$  được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen với 2 chỉ thị phân tử (RM223 và RM 344) (hình 3.39, hình 3.40). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, chưa ghi nhận các dòng cho gen chống chịu mặn. Giống như các dòng được phân tích trên nhiễm sắc thể số 1. Quần thể này cần khai thác tính mặn gen phụ trên nhiễm sắc thể số 8. Tuy nhiên các dòng thế hệ  $BC_3F_3$  đang còn phân ly khá mạnh trên tổ hợp này. Cần tiếp tục cho lai tiếp thế hệ  $BC_4F_1$  hoặc cho tự thụ tiếp thế hệ  $BC_3F_4$ .



**Hình 3.38. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 trên nhiễm sắc thể số 8**

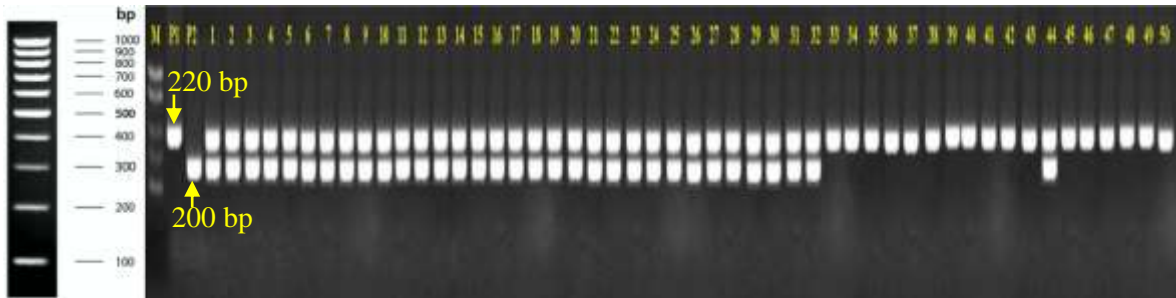
*Chú thích: Xanh dương - kiểu gen theo cây bố (Pokkali); đỏ - kiểu gen theo cây mẹ (OM6162); xám kiểu gen dị hợp tử*



**Hình 3.39: Sản Phẩm PCR của RM 223 trên nhiễm sắc thể số 8 trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162**

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder, P1: Pokkali; P2: OM6162; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OM6162/ Pokkali// OM6162*





**Hình 3.40: Sản Phẩm PCR của RM 344 trên nhiễm sắc thể số 8 trên quần thể OM6162/Pokkali//OM6162**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: Pokkali; P2: OM6162; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OM6162/ Pokkali// OM6162*

### 3.5.3. Chọn lọc các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của quần thể lai hồi giao

#### OM1490/Pokkali//OM1490 trên quần thể số 1

Mười dòng BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> của tổ hợp OM1490/Pokkali//OM1490 được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>. Quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM3252, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.41). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 1, các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-6, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40-10, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51-11 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52-13 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-102-14 của quần thể OM1490/Pokkali//OM1490 là các dòng triển vọng được tuyển chọn để tiếp tục phát triển các thế hệ kế tiếp cho đến dòng thuần chủng.



**Hình 3.41: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1. Với band hình của mẹ P1: 230 cha (P2) = 220 bp. Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: Pokkali; P2: OM1490; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OM1490/ Pokkali// OM1490*

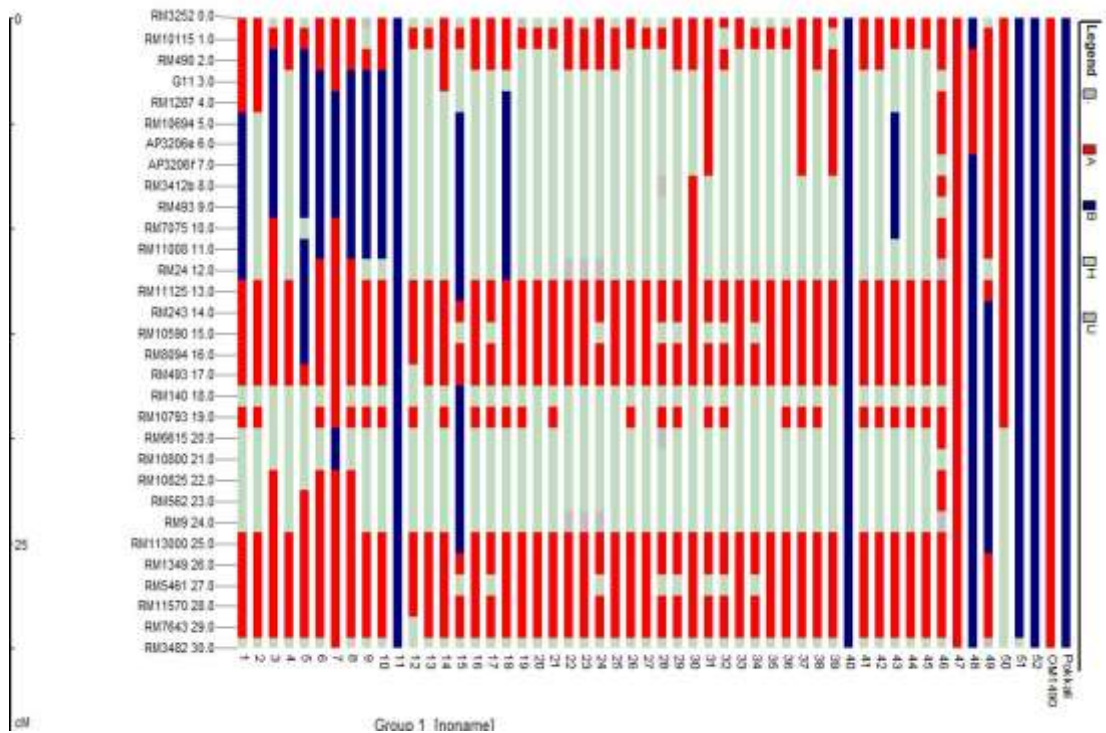
Đánh giá bằng chỉ thị phân tử RM24: Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM 24, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.42). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 1, các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-44.



**Hình 3.42: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 24 Với band hình của mẹ P1: 230 cha (P2) = 220 bp. Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: Pokkali; P2: OM1490; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OM1490/ Pokkali// OM1490*

Trên nhiễm sắc thể số 1 trên quần thể OM1490/Pokkali cho 6 dòng mang gen mẫn BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-6, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40-10, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52-13 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-102-14 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-44



**Hình 3.43. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 1**

*Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (Pokkali), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OM1490), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-52: các cá thể của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490.*

#### **3.5.4. Chọn lọc các cá thể $BC_3F_3$ của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 8**

Mười dòng  $BC_3F_2$  của tổ hợp OM1490/Pokkali//OM1490 được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể  $BC_3F_3$ . Quần thể  $BC_3F_3$  được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen. Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, Các dòng  $BC_3F_3$ -16,  $BC_3F_3$ -18,  $BC_3F_3$ -34,  $BC_3F_3$ -48 và  $BC_3F_3$ -51 của quần thể OM1490/Pokkali//OM1490 là các dòng triển vọng được tuyển chọn để tiếp tục phát triển các thế hệ kế tiếp cho đến dòng thuần chủng.

Trên Chi thị phân tử RM 223 ghi nhận

Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM 223, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.44). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, có 1 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-50 cho gen mẫn.



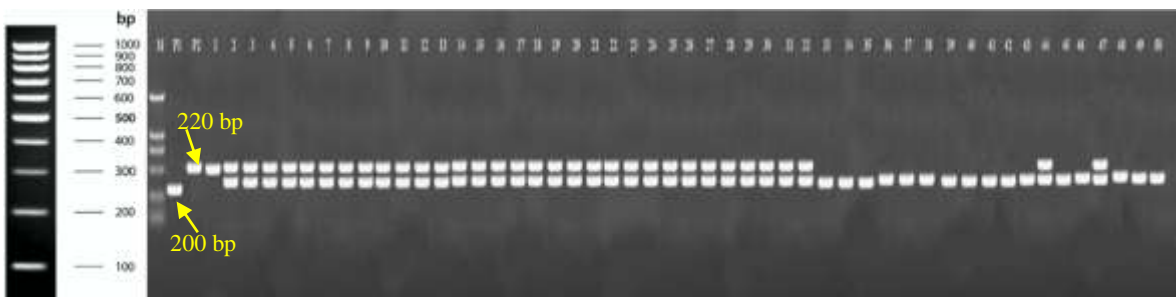
**Hình 3.44: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 223 Với band hình của mẹ P1(OM1490) = 200bp cha P2 (Pokkali )= 220 bp.**

**Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: OM1490; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OM1490/ Pokkali// OM1490*

Tương tự quần thể OM1490/Pokkali//OM1490 trên chỉ thị phân tử RM 344

Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM344, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.45). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, có 1 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11-1 cho gen mẫn.

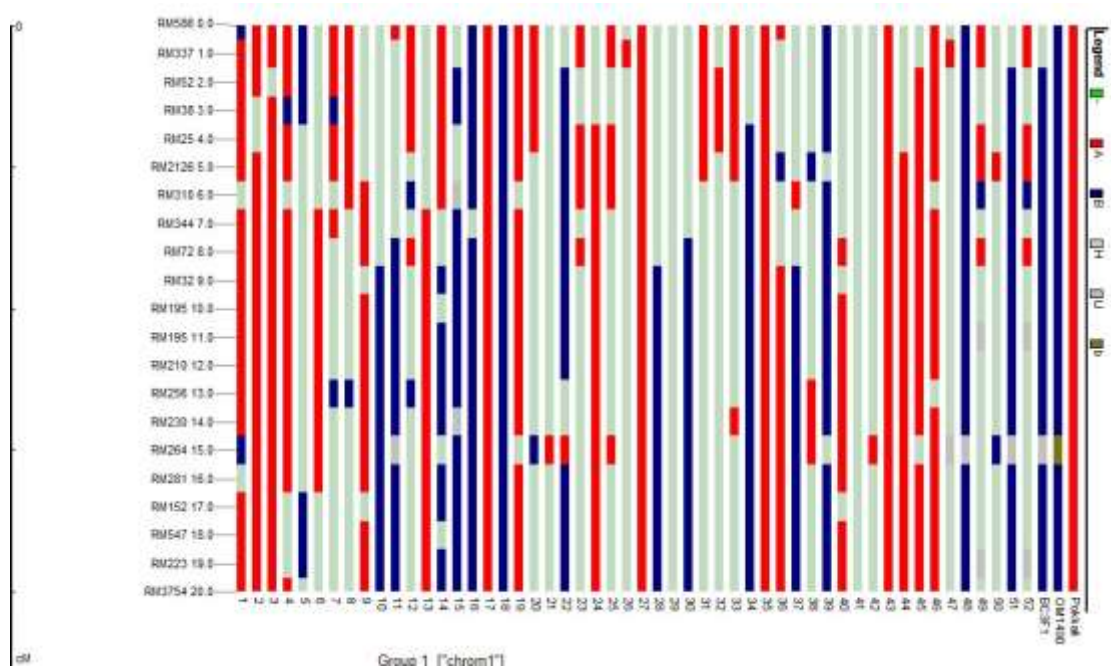


**Hình 3.45: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 344 Với band hình của mẹ P1(OM1490) = 200bp cha P2 (Pokkali ) = 220 bp.**

**Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: OM1490; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể  $BC_3F_3$  của tổ hợp OM1490/ Pokkali// OM1490

Như vậy qua đánh giá trên quần thể OM1490/ Pokkali//OM1490 ghi nhận hai dòng cho gen mẫn  $BC_3F_3$ -11-1 và  $BC_3F_3$ -11-50.



**Hình 3.46. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490 trên nhiễm sắc thể số 8**

Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (Pokkali), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OM1490), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-52: các cá thể của quần thể lai hồi giao OM1490/Pokkali//OM1490

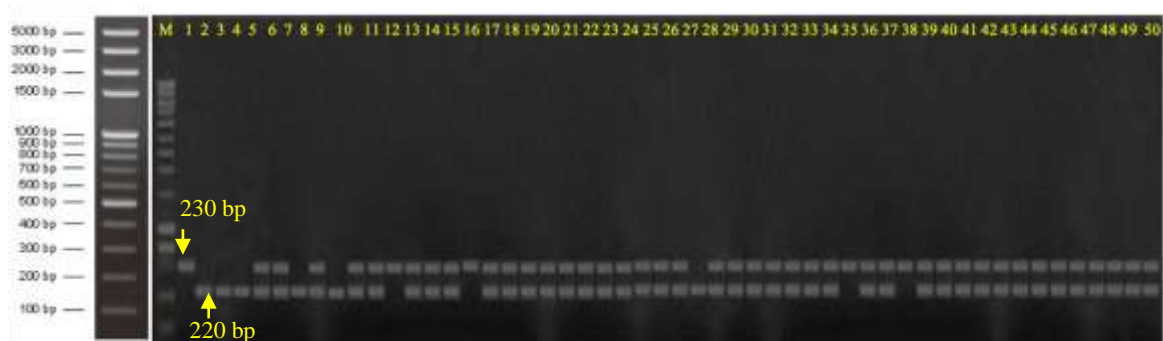
### 3.5.5. Chọn lọc các cá thể $BC_3F_3$ của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 1

Mười dòng  $BC_3F_2$  của tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể  $BC_3F_3$ . Quần thể  $BC_3F_3$  được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen. Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 1, chỉ có 1 dòng. Các dòng  $BC_3F_3$ -48-44 của quần thể OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 là các dòng triển vọng được tuyển

chọn để tiếp tục phát triển các thế hệ kế tiếp cho đến dòng thuần chủng mang gen chịu mặn.

Đánh giá bằng chỉ thị phân tử RM24 trên quần thể OMCS2000/Pokkali//OMCS2000

Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM 24, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.47). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 1, các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-1, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-2, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-5, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-7 và dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-26.

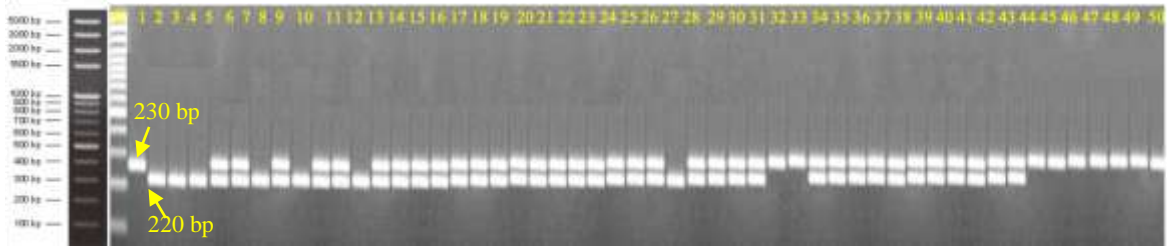


**Hình 3.47: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM24 Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000): 230 cha P2 (Pokkali) = 220 bp.**

### Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: OMCS2000; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000*

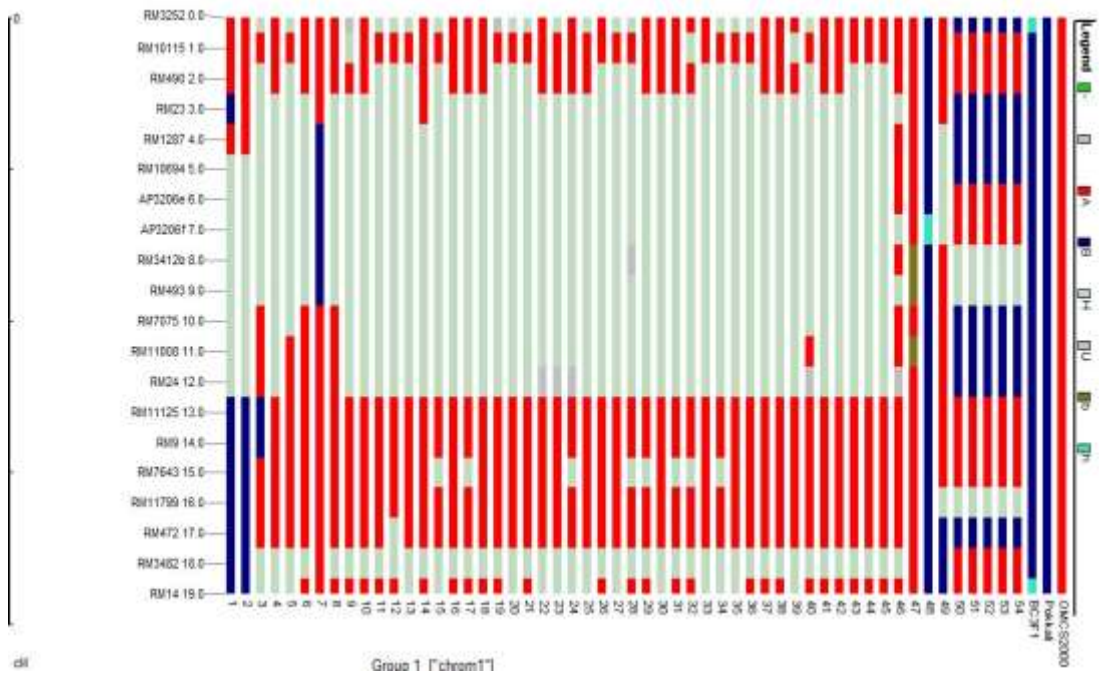
Tương tự quần thể OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1. Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.48). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 1, các dòng mang gen mặn như BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-1, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-2, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-5, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-7 và dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-10 và dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-26.



**Hình 3.48: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 3252-S1-1 Với band hình của mẹ P1 (OMCS200) = 230bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp.**

**Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>**

*Ghi chú: M: 100bp DNA ladder, P1: OMCS2000; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000*



**Hình 3.49. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 1**

*Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (Pokkali), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OMCS2000), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-55: các cá thể của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000. Đối với quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của quần thể OMCS2000/Pokkali //OMCS2000*

### 3.5.6. Chọn lọc các cá thể $BC_3F_3$ của quần thể lai hồi giao

#### ***OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 8***

Mười dòng  $BC_3F_2$  của tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 được chọn lọc và cho tự thụ tạo quần thể  $BC_3F_3$ . Quần thể  $BC_3F_3$  được trồng trên đồng ruộng trong vụ Hè Thu 2018. Năm mươi cá thể được đánh dấu, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen. Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8. Các dòng  $BC_3F_3$ -11,  $BC_3F_3$ -16,  $BC_3F_3$ -34,  $BC_3F_3$ -39, của quần thể OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 là các dòng triển vọng được tuyển chọn để tiếp tục phát triển các thế hệ kế tiếp cho đến dòng thuần chủng.

Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM 223, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.50). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, có 5 dòng  $BC_3F_3$ -10,  $BC_3F_3$ -11,  $BC_3F_3$ -13,  $BC_3F_3$ -14 và  $BC_3F_3$ -16 cho gen mẫn.



**Hình 3.50: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 223**  
**Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp.**

#### **Con lai $BC_3F_3$**

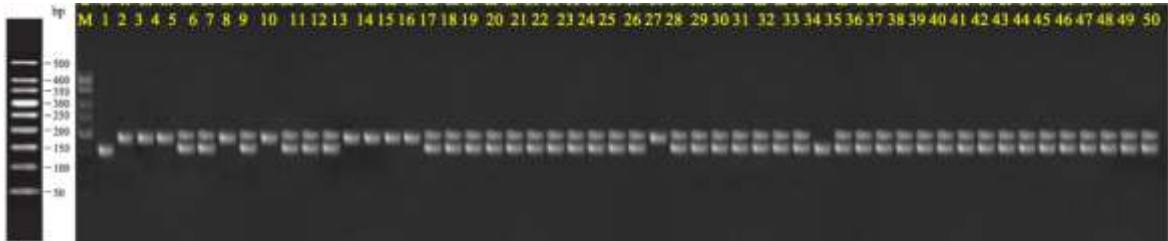
*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder, P1: OMCS2000; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể  $BC_3F_3$  của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000*

Tương tự quần thể OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên chỉ thị phân tử RM 344.

Năm mươi cá thể được đánh dấu bằng chỉ thị phân tử RM344, thu mẫu và kiểm tra kiểu gen (Hình 3.51). Qua hình cho thấy trên nhiễm sắc thể số 8, có 9 dòng



BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-1; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-2, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-5, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-7, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-12, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-13, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-14 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-26 cho gen mẫn.

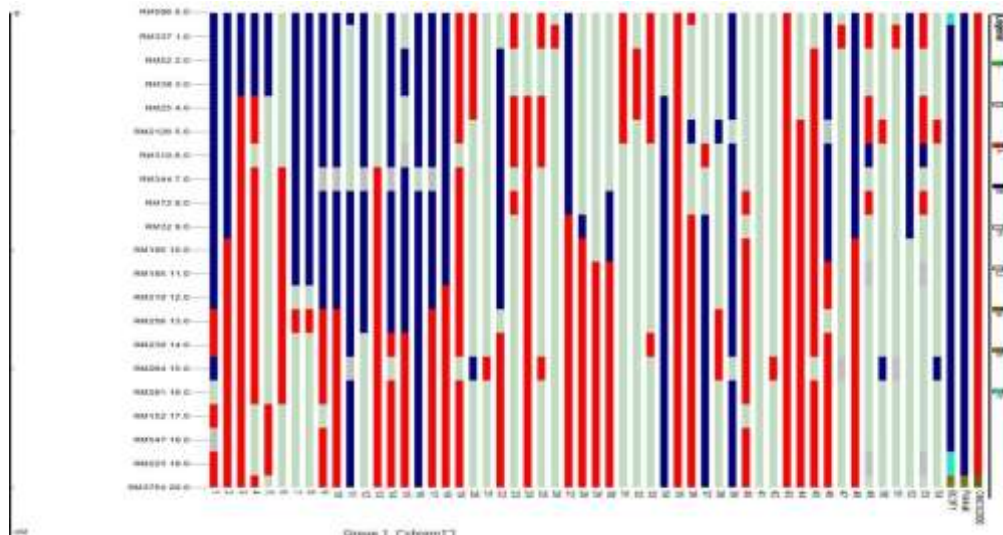


**Hình 3.51: Sản Phẩm PCR của quần thể phân ly với chỉ thị phân tử RM 344**  
**Với band hình của mẹ P1 (OMCS2000) = 200bp cha P2 (Pokkali) = 220 bp.**

### Con lai BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>

*Ghi chú: M: 50bp DNA ladder, P1:OMCS2000; P2: Pokkali; 1-50: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> của tổ hợp OMCS2000/ Pokkali// OMCS2000*

Khi kiểm tra trên quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> có sự liên kết 3 dòng đạt chịu mặn khi kiểm tra hai chỉ thị phân tử: **BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-13, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-14**. Như vậy chọn 3 dòng trên đưa vào khảo nghiệm tiếp các vụ tiếp theo.



**Hình 3.52. Sự đa dạng di truyền các gen từ bố mẹ của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 trên nhiễm sắc thể số 8**

*Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (Pokkali), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OMCS2000), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-54: các cá thể của quần thể lai hồi giao OMCS2000/Pokkali//OMCS2000*

### Tóm lại

Đánh giá quần thể  $BC_3F_3$  của tổ hợp lai hồi giao OM6162/Pokkali//OM6162 với 50 dòng đánh giá chưa có dòng chống chịu mặn tốt tại  $EC = 15dS/m$  và được phát hiện mang gen chống chịu mặn trên cả NST1 và NST8. Do đó cần nên theo dõi các thế hệ phân ly của tổ hợp này.

Trong khi đó, trên tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000 với 50 dòng được đánh giá đã ghi nhận có 3 dòng triển vọng mang gen chống chịu mặn ( **$BC_3F_3-11$** ,  **$BC_3F_3-13$** ,  **$BC_3F_3-14$** ). Tuy nhiên về kiểu hình thì chỉ có dòng  **$BC_3F_3-14$**  là chống chịu tốt ở  $EC = 15dS/m$ .

Tổ hợp OM1490/ Pokkali//OM1490 được đánh giá với 53 dòng. Trên nhiễm sắc thể số 1 trên quần thể OM1490/Pokkali cho 8 dòng mang gen mặn  $BC_3F_3-11-6$ ,  $BC_3F_3-40-10$ ,  $BC_3F_3-51-11$ ,  $BC_3F_3-52-13$  và  $BC_3F_3-102-14$ ,  $BC_3F_3-11-44$  và  $BC_3F_3-11-1$  và  $BC_3F_3-11-50$ .

Hai dòng,  $BC_3F_3-40-10$  và  $BC_3F_3-51-11$ , chống chịu mặn tốt tại  $EC = 15dS/m$  và mang gen mặn được phát hiện trên cả 2 nhiễm sắc thể 1 và 8.

### 3.6. Khảo nghiệm cơ bản

Tập trung hai tổ hợp để trồng và đánh giá các năng suất và thành phần năng suất của bộ giống trước khi đưa thử nghiệm diện rộng. Kết quả chọn 13 dòng lúa chống chịu mặn được ghi nhận như sau: dòng số 1  $BC_3F_3-11$ , 2:  $BC_3F_3-40$ , 3:  $BC_3F_3-51$ , 4:  $BC_3F_3-52$ , 5:  $BC_3F_3-16$ , 6:  $BC_3F_3-18$ , 7:  $BC_3F_3-34$ , 8:  $BC_3F_3-48$ , (của quần thể OM1490/Pokkali //OM1490) và các dòng 9:  $BC_3F_3-11$ , 10:  $BC_3F_3-16$ , 11:  $BC_3F_3-34$ , 12:  $BC_3F_3-39$  và 13:  $BC_3F_3-48$  (Từ tổ hợp lai OMCS2000/Pokkali//OMCS2000), 14: UC10 đối chứng.

**Bảng 3.12. Năng suất và thành phần năng suất của bộ so sánh vụ Đông Xuân 2018-2019**

Stt	Giống	Năng suất (tấn/ha)	Chắc/bông (hạt)	% lép	P 1000 (g)	Bông/m <sup>2</sup>
1	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11(P1)	7,66	142	14,10	26,40	390
2	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -40(P1)	8,30	137	12,80	28,00	363
3	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -51(P1)	8,30	122	9,80	26,20	338
4	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -52(P1)	8,10	180	11,80	28,70	357
5	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16(P1)	7,66	122	8,80	26,60	374
6	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -18(P1)	7,63	124	26,60	26,20	357
7	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34(P1)	7,60	112	13,00	24,10	360
8	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48(P1)	7,56	152	14,40	23,40	390
9	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11(P2)	7,50	130	18,00	23,50	338
10	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16(P2)	7,46	117	29,10	25,50	385
11	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34(P2)	7,40	126	15,60	24,50	387
12	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -39(P2)	8,10	180	11,80	28,70	357
13	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48(P2)	5,66	133	16,10	24,00	304
14	UC10(D/C)	7,60	124	13,00	26,15	360
	<b>LSD 5%</b>	<b>0,94</b>	<b>32,16</b>	<b>8,59</b>		<b>80</b>
	<b>CV%</b>	<b>7,80</b>	<b>16,60</b>	<b>27,50</b>		<b>13,70</b>

P1: Từ Quần thể (OM1490/Pokkali/OM1490), P2: Từ Quần thể (OMCS2000/ Pokkali//OMCS2000)

Trọng lượng 1000 hạt ở vụ Đông Xuân tương đối cao từ 23,0-28,7 gram, đa số trung bình nặng từ (25,0-26,0 gram). Một số giống có hạt to như BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39 (28,0 -28,8 gram).

Dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51 cho năng suất khá cao 8,30 tấn/ha, số bông/m<sup>2</sup> cao (390 bông), một số giống khác cũng cho năng suất cao như: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52.

### 3.7. Khảo nghiệm vùng sinh thái các dòng lúa chọn lọc trong vụ Đông Xuân 2019-2020

Kết quả đánh giá năng suất lúa với 14 dòng lúa gồm: Các dòng: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-18; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48; (của

quần thể OM1490/Pokkali//OM1490) và các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48 (Từ tổ hợp lai OMCS2000/Pokkali//OMCS2000); qua 6 địa điểm (Bạc Liêu, Bến Tre, Long An, Trà Vinh, Sóc Trăng và Cần Thơ.) của bộ giống lúa trong vụ Đông Xuân 2019-2020. Kết quả ghi nhận các diễn biến năng suất cho thấy: phép thử F có ý nghĩa thống kê ở mức 1% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống và giống tương tác với môi trường.

Xét về địa điểm khảo nghiệm, điểm có năng suất trung bình cao nhất là Sóc Trăng (7,96 tấn/ha), Cần Thơ (7,84 tấn/ha), Trà Vinh (7,83 tấn/ha), kế đến là Bến Tre (7,55 tấn/ha) và Long An (7,53 tấn/ha). Phân tích ANOVA năng suất 14 giống lúa qua 6 môi trường thì sự khác biệt về năng suất các giống rất có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 99%. Nếu kết quả so sánh về năng suất thì ghi nhận các giống trên cho năng suất trên 7 tấn so với yêu cầu đặt ra trong vụ Đông Xuân. Trong đó có giống BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16 (từ tổ hợp OMCS2000/Pokkali//OMCS2000) đạt trên 8 tấn/ha.

**Bảng 3.13. Năng suất (tấn/ha) của bộ dòng lúa triển vọng tại 6 điểm vụ Đông Xuân 2019-2020**

TT	Tên dòng	Năng suất (tấn/ha)						
		Cần Thơ	Bến Tre	Long An	Sóc Trăng	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung bình
1	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11(P1)</b>	7,56	8,00	7,45	7,99	7,16	7,63	<b>7,63 ef</b>
2	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-40(P1)</b>	7,70	6,59	7,84	8,37	7,43	8,00	<b>7,66 b</b>
3	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51(P1)</b>	8,65	7,55	7,86	7,35	7,46	8,04	<b>7,82 b</b>
4	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52(P1)</b>	7,91	7,79	7,08	7,54	7,67	7,29	<b>7,55 a</b>
5	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16(P1)</b>	8,50	7,38	8,68	9,11	7,28	7,87	<b>8,14 cd</b>
6	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-18(P1)</b>	7,29	8,18	6,42	7,92	6,03	7,17	<b>7,17 ef</b>
7	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34(P1)</b>	7,94	8,81	8,06	8,56	7,75	8,01	<b>8,19 a</b>
8	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48(P1)</b>	8,20	7,08	7,32	7,82	6,97	8,51	<b>7,65 f</b>
9	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11(P2)</b>	7,19	8,06	7,31	7,81	6,96	8,49	<b>7,64 fg</b>
10	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16(P2)</b>	7,56	7,44	7,69	8,19	7,34	7,87	<b>7,68 bc</b>
11	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34(P2)</b>	7,19	7,07	7,31	7,81	6,97	7,51	<b>7,31 fg</b>

TT	Tên dòng	Năng suất (tấn/ha)						
		Cần Thơ	Bến Tre	Long An	Sóc Trăng	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung bình
12	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -39(P2)	8,82	6,69	6,94	7,44	6,59	7,33	7,30 h
13	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48(P2)	7,87	7,75	8,00	7,50	8,65	8,18	7,99 g
14	UC10 (ĐC)	7,40	7,27	7,52	8,02	7,17	7,71	7,52 de
NSTB (tấn/ha)		7,84 d	7,55 d	7,53 c	7,96 a	7,25 e	7,83 b	
I <sub>j</sub>		-0,132	-0,181	-0,007	0,493	-0,353	0,180	

(Chú thích: I<sub>j</sub>: Chỉ số môi trường; NSTB: Năng suất trung bình)

Kết quả phân tích chỉ số ổn và thích nghi của các dòng lúa trồng trong vụ Đông Xuân 2019- 2020 và tại sáu địa điểm.

Phân tích chỉ số ổn định và chỉ số thích nghi của các dòng/giống được đánh giá là quan trọng trong việc đánh giá một dòng/giống tốt. Một dòng/giống được cho là thích nghi khi chỉ số thích nghi (b<sub>i</sub>) có xu hướng tiến đến 1. Nếu b<sub>i</sub> = 1, biểu thị một sự thích nghi rộng. Nếu b<sub>i</sub> < 1, biểu thị tính thích nghi theo điều kiện bất lợi. Nếu b<sub>i</sub> > 1, biểu thị tính thích nghi theo điều kiện thuận lợi của môi trường. Tương tự, một dòng/giống được cho là ổn định khi chỉ số ổn định (S<sub>di</sub><sup>2</sup>) có xu hướng tiến đến 0. Nếu S<sub>di</sub><sup>2</sup> > 0 có nghĩa là giống không có năng suất ổn định. Một dòng/giống chỉ khi đã ổn định thì mới được xét đến tính thích nghi theo Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2003) [5].

**Bảng 3.14. Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2019-2020**

TT	Tên dòng	NSTB (tấn/ha)	Chỉ số thích nghi (b <sub>i</sub> )	Chỉ số ổn định (S <sub>di</sub> <sup>2</sup> )	Hệ số tương tác (R <sup>2</sup> )
1	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11	7,45 ef	2,150	0,220	1
2	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -40	7,83 b	2,740	0,500	77
3	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -51	7,82 b	0,512	0,040	10
4	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -52	8,03 a	0,232	0,100	30
5	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16	7,62 cd	1,780	0,100	59

6	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-18</b>	7,42 ef	0,238	0,060	68
7	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34</b>	8,05 a	0,580	0,030	11
8	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48</b>	7,32 f	0,870	0,000	7
9	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11</b>	7,30 fg	0,982	0,140	48
10	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16</b>	7,68 bc	0,580	0,030	11
11	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34</b>	7,31 fg	0,970	0,000	2
12	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39</b>	7,16 g	0,170	0,000	4
13	<b>BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48</b>	6,16 h	0,890	0,000	5
14	<i>UC10</i>	7,52 de	0,910	0,000	3

(Chú thích: NSTB: Năng suất trung bình)

Kết quả phân tích chỉ số ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng cho thấy: hầu hết các dòng cho năng suất ổn định với chỉ số ổn định có xu hướng tiến về 0. Dòng: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11 và UC10 ổn định và thích nghi rộng nhất, chỉ số ổn định  $S_{di}^2 = 0,00$ ; chỉ số thích nghi  $b_i = 0,97$  và hệ số tương tác là 2%. Dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51 có năng suất cao nhất, tính ổn định khá cao ( $S_{di}^2 = 0,030$ ), thích nghi với điều kiện bất lợi ( $b_i = 0,580$ ) và hệ số tương tác là 11 %. Các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16 có chỉ số thích nghi vượt xa giá trị 1 nên các dòng lai này thích nghi với điều kiện môi trường thuận lợi ( $b_i > 1$ ). Đối với các dòng này, khi môi trường thuận lợi thì sẽ đạt năng suất cao, ngược lại, năng suất sẽ giảm đáng kể trong điều kiện bất lợi của môi trường. Các dòng lai còn lại thích nghi với điều kiện không thuận lợi của môi trường khi  $b_i < 1$ . Các dòng này có năng suất ổn định khi điều kiện canh tác trở nên bất lợi.

Về phân nhóm di truyền, các kiểu gen (dòng) và các môi trường canh tác được phân thành nhiều nhóm khác nhau. Các dòng có tính trạng gần giống nhau sẽ được xếp chung một nhóm, các môi trường canh tác có ảnh hưởng gần giống nhau đối với các dòng lúa cũng sẽ được xếp chung một nhóm. Kết quả này giúp nhà chọn giống dễ dàng hơn trong việc lựa chọn dòng/giống thích hợp và môi trường canh tác tương ứng để tăng hiệu quả sản xuất lúa gạo.

Phân nhóm kiểu gen của các dòng/giống lúa dựa trên năng suất trung bình trong vụ Đông Xuân năm 2019-2020 được thể hiện qua hình bên dưới. Qua giản đồ này thì các kiểu gen giống nhau thì xếp cùng nhóm và tại mức khác biệt khoảng 80%, chia ra làm hai nhóm chính:

+ Nhóm I: có 1 dòng/giống thuộc nhóm này, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39. Đây là nhóm có năng suất thấp hơn các dòng/giống khác. Năng suất dao động trong khoảng 6,5 tấn/ha.

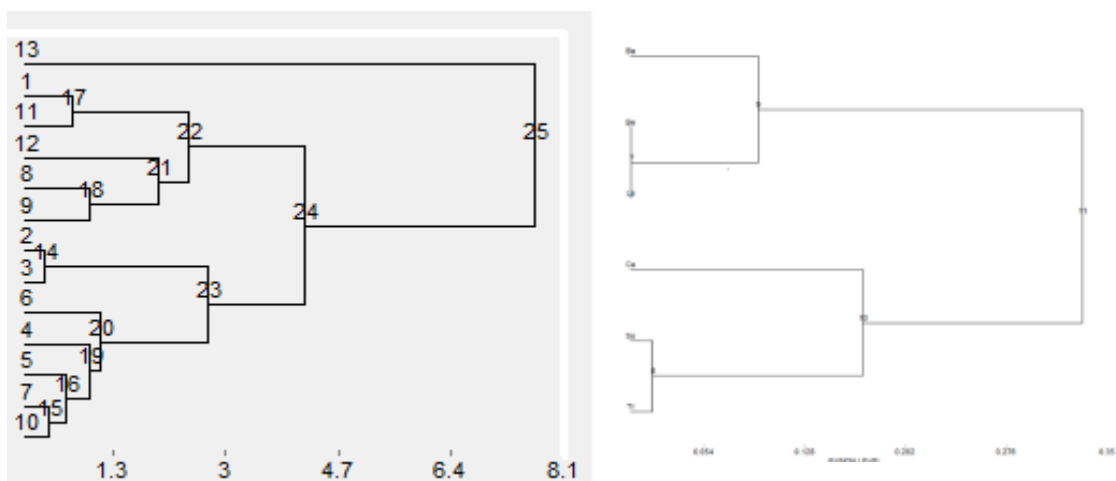
+ Nhóm II: 13 dòng/giống còn lại. Đây là nhóm có năng suất cao hơn nhóm I. Trong đó, có các giống cho năng suất cao nhất như: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-34, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-52. Nhóm này có năng suất dao động 7,5-8,0 tấn/ha.

Phân nhóm môi trường của các dòng/giống lúa dựa trên năng suất trung bình trong vụ Đông Xuân năm 2019- 2020 được thể hiện: môi trường giống nhau thì xếp cùng nhóm và tại mức khác biệt khoảng 80%, chia ra làm ba nhóm chính:

+ Nhóm I: Các điểm môi trường giống nhau như Bạc Liêu, Bến Tre và Long An.

+ Nhóm II: Nhóm vị trí Cần Thơ: Đây là vùng ngọt

+ Nhóm III: Sóc Trăng và Trà Vinh đây là vùng phù sa cát và mặn



**Hình 3.53. A : Phân nhóm kiểu gen trên 14 giống lúa;  
B: Phân nhóm theo môi trường**

**Ghi chú (A):** 1:  $BC_3F_3-11$ , 2:  $BC_3F_3-40$ , 3:  $BC_3F_3-51$ , 4:  $BC_3F_3-52$ , 5:  $BC_3F_3-16$ ; 6:  $BC_3F_3-18$ ; 7:  $BC_3F_3-34$ ; 8:  $BC_3F_3-48$ ; (của quần thể *OM1490/Pokkali* // *OM1490*) và các dòng 9:  $BC_3F_3-11$ , 10:  $BC_3F_3-16$ , 11:  $BC_3F_3-34$ , 12:  $BC_3F_3-39$  và 13:  $BC_3F_3-48$  (Từ tổ hợp lai *OMCS2000/Pokkali* // *OMCS2000*) 14: **UC10 đối chứng.**

**Ghi chú (B):** các chữ viết tắt, Ba: Bạc Liêu, Ca: Cần Thơ, So: Sóc Trăng, Tr: Trà Vinh, Be: Bến Tre, Lo: Long An.

### **Thảo luận**

Các thí nghiệm đánh giá tính thích nghi, tính ổn định thường được thực hiện trong điều kiện môi trường khác nhau về không gian (địa điểm) hoặc thời gian (mùa vụ) hoặc cả không gian và thời gian. Điều này cho phép ta áp dụng mô hình Eberhart và Russell (1966) để tìm hiểu quan hệ tương tác giữa kiểu gene (G) và môi trường (E). Thí nghiệm đánh giá tương tác kiểu gene và môi trường của các dòng lai triển vọng được tiến hành trên diện rộng. Thí nghiệm tại 6 địa điểm đại diện cho các vùng lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long: Cần Thơ, Bến Tre, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Trà Vinh, Long An.

Kết quả đánh giá năng suất lúa qua 6 địa điểm của bộ dòng lúa triển vọng trong vụ đông – xuân (ĐX) 2019– 2020 được trình bày. Kết quả ghi nhận các diễn biến năng suất cho thấy phép thử F có ý nghĩa thống kê ở mức 99% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường.

### **3.8. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2019**

Tương tự như phân tích trong vụ Đông Xuân 2019-2020, trong vụ Hè Thu 2020, 14 dòng lúa triển vọng cũng được tiếp tục khảo nghiệm năng suất lúa tại 6 vùng sinh thái khác nhau của Đồng bằng sông Cửu Long (Sóc Trăng, Bạc Liêu, Bến Tre, Long An, Cần Thơ). Kết quả ghi nhận các diễn biến năng suất có ý nghĩa thống kê ở mức 99% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường.



**Bảng 3.15. Năng suất (tấn/ha) của các dòng lúa triển vọng tại 6 điểm trong vụ Hè Thu 2019**

TT	Tên dòng/giống	Năng suất trung bình (tấn/ha)						
		Cần Thơ	Bến Tre	Long An	Sóc Trăng	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung bình
1	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11	6,16	5,77	6,20	6,14	6,78	6,92	<b>6,33 a</b>
2	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -40	5,96	5,57	6,00	5,95	6,58	5,73	<b>5,97 c</b>
3	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -51	5,95	5,56	5,91	6,90	6,57	6,76	<b>6,28 c</b>
4	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -52	5,72	6,42	5,85	6,79	5,43	5,57	<b>5,96 d</b>
5	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16	5,83	5,45	5,88	7,32	5,45	6,60	<b>6,09 d</b>
6	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -18	5,72	5,32	5,75	5,80	5,34	5,98	<b>5,65 e</b>
7	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34	6,08	5,80	6,15	6,24	5,58	5,62	<b>5,91 b</b>
8	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48	5,56	5,17	5,60	5,54	5,18	5,32	<b>5,40 f</b>
9	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11	5,90	5,21	5,64	5,59	5,22	5,37	<b>5,49 f</b>
10	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16	5,38	4,99	6,45	5,37	5,00	5,14	<b>5,39 g</b>
11	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34	5,63	5,24	5,67	5,62	5,25	6,39	<b>5,63 f</b>
12	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -39	6,84	4,45	6,88	6,83	4,46	5,62	<b>5,85 h</b>
13	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48	6,10	6,71	6,14	6,09	5,72	5,87	<b>6,11ab</b>
14	UC10	5,99	5,60	6,03	5,60	5,61	5,76	<b>5,11 ab</b>
NSTB (tấn/ha)		<b>5,92 ab</b>	<b>5,52 d</b>	<b>6,01 a</b>	<b>6,13 b</b>	<b>5,58 d</b>	<b>5,90 c</b>	
I <sub>j</sub>		0,131	-0,210	0,350	0,120	-0,026	-0,092	

Chú thích: I<sub>j</sub>: Chỉ số môi trường; NSTB: Năng suất trung bình

Xét về năng suất của các dòng/giống lúa khảo nghiệm, trong vụ HT 2019, năng suất lúa có thấp hơn so với vụ đông – xuân năm 2018 – 2019, đối chứng UC10 đạt năng suất 5,77 tấn/ha. Các dòng khảo nghiệm có năng suất khá cao, dao động từ 5 – 6 tấn/ha, trong đó, các dòng tương đương hoặc cao hơn đối chứng bao gồm: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-16; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11.

Xét về môi trường canh tác, nền canh tác ở Sóc Trăng có năng suất trung bình tốt nhất (6,13 tấn/ha), kế đến là Long An (6,01 tấn/ha), Cần Thơ (5,92 tấn/ha), và

nơi mà các dòng cho năng suất trung bình thấp nhất là Bến Tre (5,52 tấn/ha). Nhìn chung trong vụ này, các vùng sinh thái ảnh hưởng không khác biệt nhiều đến năng suất của các dòng lúa.

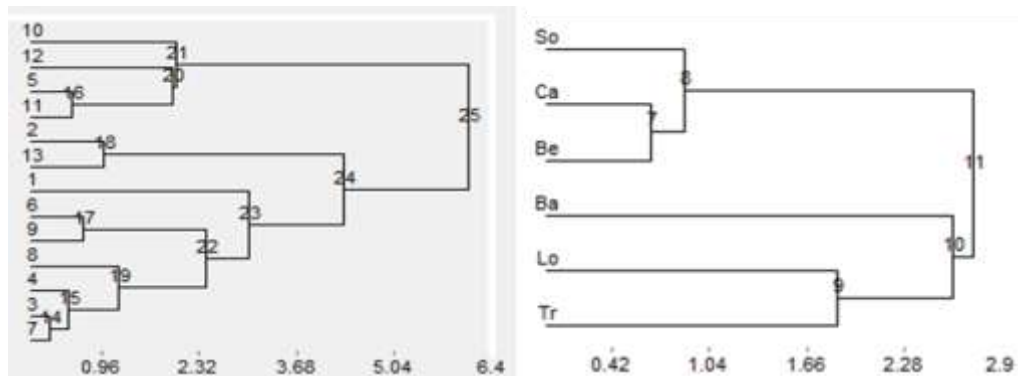
**Bảng 3.16. Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2019**

TT	Tên dòng/giống	Năng suất (tấn/ha)	Chỉ số thích nghi (bi)	Chỉ số ổn định ( $S_{di}^2$ )	Hệ số tương tác ( $R^2$ )
1	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11	6,33 a	0,782	0,02	2
2	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -40	5,97 c	0,798	0,01	7
3	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -51	6,28 c	1,135	0,01	1
4	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -52	5,96 d	0,002	0,32	5
5	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16	6,09 d	0,614	0,05	15
6	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -18	5,65 e	1,441	0,06	14
7	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34	5,91 b	0,714	0,03	4
8	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48	5,40 f	1,893	0,25	42
9	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -11	5,49 f	1,621	0,12	19
10	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -16	5,39 g	0,621	0,12	9
11	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -34	5,63 f	0,893	0,25	2
12	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -39	5,85 h	0,914	0,03	1
13	BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> -48	6,11 c	0,814	0,00	3
14	UC10	5,77 ab	0,80	0,07	10

Bên cạnh chỉ số năng suất lúa, các chỉ số liên quan đến tính ổn định và thích nghi của các dòng cũng cần được chú ý. Trong vụ HT 2019, các dòng lúa khảo nghiệm cho kết quả khá ổn định. Các dòng có năng suất ổn định nhất (có ( $S_{di}^2$ ) ~0) là: BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-48, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>- 40; BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> -51, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>- 34

Phân nhóm di truyền dựa trên năng suất của các dòng lúa cũng như các địa điểm canh tác được thực hiện trong vụ này nhằm phân loại kiểu gen và môi trường tương ứng với từng kiểu gen mà nó mang lại hiệu quả canh tác tốt nhất. Kết quả

phân nhóm di truyền được thể hiện. Về kiểu gen (dòng/giống lúa ở mức khác biệt khoảng 30%, các dòng/giống phân thành 4 nhóm chính: Nhóm I bao gồm 4 dòng là  $BC_3F_3$ -16,  $BC_3F_3$ -48;  $BC_3F_3$ -16;  $BC_3F_3$ -34 (nhóm có năng suất, khá); Nhóm II có 2 dòng nhóm dòng có năng suất thấp hơn các dòng khác; Nhóm III có 1 dòng/ ( $BC_3F_3$ -11), đây là nhóm có năng suất cao nhất; Nhóm IV bao gồm 6 dòng/giống còn lại, nhóm năng suất khá cao. Về môi trường canh tác, ở mức khác biệt khoảng 50%, có năm nhóm môi trường khác nhau. Nhóm I bao gồm 3 địa điểm (Sóc Trăng, cần Thơ, Bến Tre). Nhóm II là Bạc Liêu. Nhóm III bao gồm Long An và Trà Vinh (Hình 3.44).

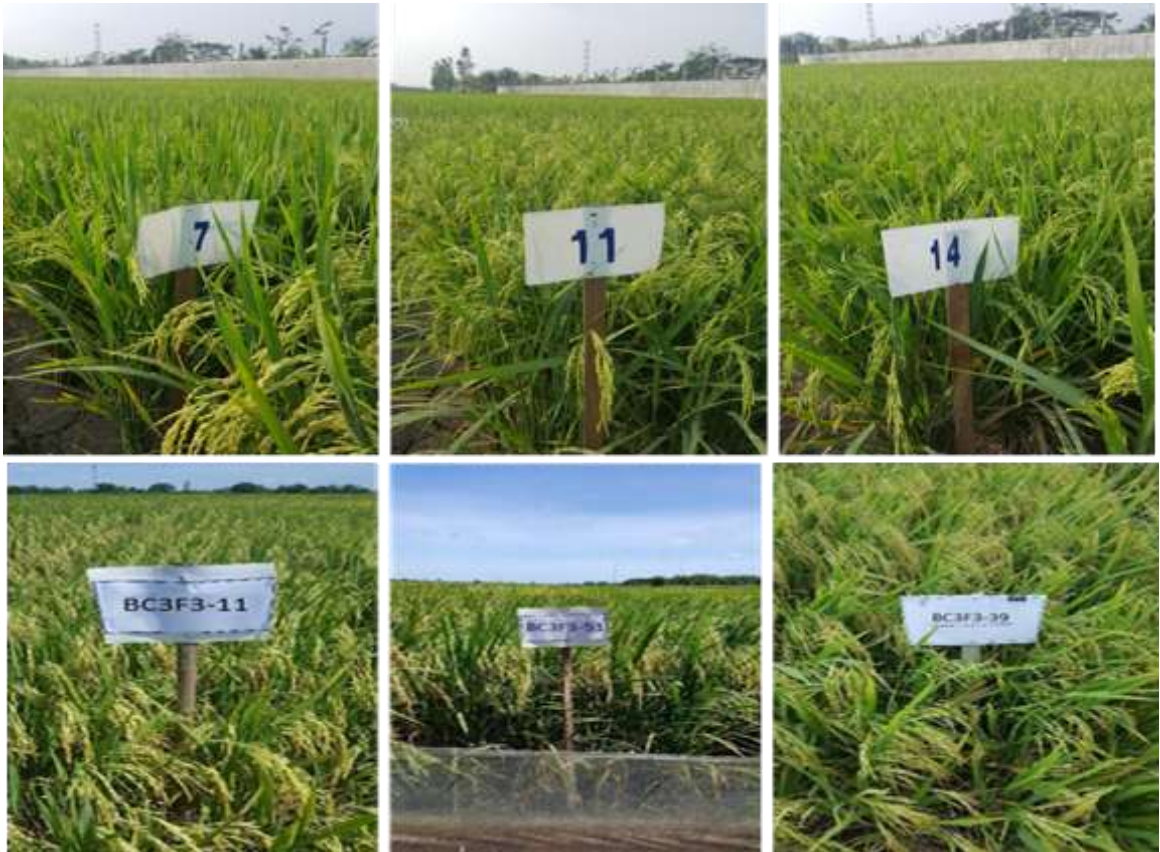


**Hình 3.54. A: Phân nhóm kiểu gen trên 14 giống lúa; B: Phân nhóm theo môi trường**

**Ghi chú (A):** 1:  $BC_3F_3$ -11, 2:  $BC_3F_3$ -40, 3:  $BC_3F_3$ -51, 4:  $BC_3F_3$ -52, 5:  $BC_3F_3$ -16; 6:  $BC_3F_3$ -18; 7:  $BC_3F_3$ -34; 8:  $BC_3F_3$ -48; (của quần thể OM1490/Pokkali //OM1490) và các dòng 9:  $BC_3F_3$ -11, 10:  $BC_3F_3$ -16, 11:  $BC_3F_3$ -34, 12:  $BC_3F_3$ -39 và 13:  $BC_3F_3$ -48 (Từ tổ hợp lai OMCS2000/Pokkali//OMCs2000), 14: UC10 đối chứng. **Ghi chú (B):** Các chữ viết tắt: Ba: Bạc Liêu, Ca: Cần Thơ; So: Sóc Trăng; Tr: Trà Vinh; Be: Bến Tre; Lo: Long An.

Tóm lại, 13 dòng triển vọng cho kết quả khác nhau về năng suất khi phân tích tương tác kiểu gen và môi trường trong hai vụ canh tác liên tiếp trong môi trường mặn của các tỉnh có khác nhau (Phụ lục 6), thông qua sơ đồ chọn tạo các quần thể lai hồi giao phục vụ đánh giá chống chịu mặn (Phụ lục 5). Một số dòng cho kết quả

tốt nhất ở vụ Đông Xuân 2019-2020 nhưng không phải là tốt nhất trong vụ Hè Thu 2019. Vì vậy, tùy vào đặc tính từng giống mà sự chọn lọc cũng thay đổi theo từng đặc điểm môi trường. Qua hai vụ canh tác, dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-11 được đánh giá là thích hợp nhất cho vụ Đông Xuân và dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-51 và BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>-39 là dòng ưu tú nhất cho vụ Hè Thu về năng suất cao.



**Hình 3.55. Hình ảnh dòng lúa lai triển vọng vụ Hè Thu 2020 trồng tại Trại giống Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL (HATRI)**

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 1. Kết luận

Đề tài nghiên cứu “*Ứng dụng chỉ thị phân tử để nghiên cứu chọn giống chống chịu mặn trên quần thể lúa tại Đồng bằng sông Cửu Long*” được thực hiện trong bốn năm, với kết quả như sau:

1. Vật liệu lai bao gồm 101 mẫu giống lúa bản địa và 100 mẫu giống lúa cao sản đã được thanh lọc mặn ở giai đoạn mạ. Nguồn vật liệu cao sản làm bố mẹ được chọn là OMCS2000, OM1490, OM6162, OM7347. Nguồn vật liệu cho gen đích *SalTol* là Pokkali.
2. Kết quả ứng dụng chọn dòng lúa chịu mặn bằng chỉ thị phân tử trên quần thể hồi giao cho thấy: hai chỉ thị RM223 và RM3252-1 thực sự có hiệu quả; dòng con lai  $BC_3F_1$  của 3 tổ hợp lai hồi giao mang gen đích *SalTol* biểu hiện bằng hình dị hợp; chỉ có 4 dòng biểu hiện bằng hình đồng hợp theo alen của bố (donor). Đây là tiền đề để chọn dòng con lai triển vọng ở thí nghiệm tiếp theo.
3. Quần thể con lai  $BC_3F_3$  được chạy trên bản đồ GGT hỗ trợ quyết định chọn dòng hồi giao ưu việt có alen của giống cho gen đích *SalTol* vượt trội là:  $BC_3F_3$ -11,  $BC_3F_3$ -40,  $BC_3F_3$ -51,  $BC_3F_3$ -52,  $BC_3F_3$ -16;  $BC_3F_3$ -18;  $BC_3F_3$ -34;  $BC_3F_3$ -48; (tổ hợp lai OM1490/Pokkali) và các dòng  $BC_3F_3$ -11,  $BC_3F_3$ -16,  $BC_3F_3$ -34,  $BC_3F_3$ -39 và  $BC_3F_3$ -48 (tổ hợp lai OMCS2000/Pokkali). Tổ hợp OM6162/Pokkali cần được hồi giao tiếp ở thế hệ  $BC_4$ ,  $BC_5$ .
4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của 13 dòng lúa cao sản triển vọng được thực hiện tại 6 địa điểm, trong hai vụ canh tác (Đông Xuân 2019-2020 và Hè Thu 2019). Kết quả 13 dòng này so với dòng đối chứng UC10 có năng suất cao hơn rất ý nghĩa về thống kê. Dòng triển vọng có năng suất ổn định và thích nghi rộng với môi trường được ghi nhận là  $BC_3F_3$ -11 thích hợp cho vụ Đông Xuân; dòng  $BC_3F_3$ -51 và  $BC_3F_3$ -39 thích hợp cho vụ Hè Thu.

## **2. Đề nghị**

- Tiếp tục phát triển các dòng lúa triển vọng để chọn ra giống lúa phục vụ cho các tỉnh.

- Tiếp tục khai thác cặp lai OM6162/Pokkali ở giai đoạn con lai đồng hợp tử RILs hoặc BC<sub>4</sub> trở đi, phục vụ nghiên cứu dữ liệu LD (linkage disequilibrium), nhằm bổ sung cho kết quả phân tích “association” theo kỹ thuật NGS.

### CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Nguyễn Trọng Phước**, Nguyễn Thị Lang, Trần Thị Thanh Xà, Nguyễn Công Trứ, Bùi Chí Bửu (2016), “Chọn dòng và đánh giá các dòng lúa ưu tú theo mục tiêu chịu mặn và hàm lượng amylose thấp”, *Tạp Chí Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, số , tr 280 - 284.
2. **Nguyễn Trọng Phước**, Trần Bảo Toàn, Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2016), “Sàng lọc bộ giống lúa mùa chịu mặn giai đoạn mạ và trổ hoa”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 6 (67), tr 13-19. ISSN 1859-1558.
3. **Phuoc NT**, Lang NT, Thuan NH, Buu BC (2019), “Selection of Elite Rice Varieties from BCF<sub>3:4</sub> Population from OM10252/ Pokkali//OM10252 for Salinity Tolerance in Rice”, *J Adv Plant Sci*, 2: 105.
4. **Nguyễn Trọng Phước**, Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2021), “Ứng dụng chỉ thị phân tử trọng chọn giống lúa chống chịu mặn (*Oryza sativa. L*)”, *Tạp Chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 5, tr 3 - 9. ISSN 1859-4581.
5. Nguyễn Thị Lang, Bùi Phước Tâm, Phạm Thị Chúc Loan, **Nguyễn Trọng Phước**, Trần Bảo Toàn, Bùi chí Bửu, Abdelbagi M.Smail. Glenn Gregorio, russell Reinke, Reiner Wassmann (2014), “Sàng lọc gen chống chịu mặn trên bộ giống ngắn ngày ở giai đoạn mạ”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, T.4, tr 19 - 29.
6. Nguyễn Thị Lang, **Nguyễn Trọng Phước**, Trần Bảo Toàn, Trần Minh Tài, Bùi Chí Bửu (2016), “Bản đồ di truyền QTL chống chịu mặn cây lúa giai đoạn mạ thông qua phân tích quần thể phân ly hồi giao bằng kỹ thuật SSR marker”, *Hội thảo quốc tế về Khoa học khoa học cây trồng lần thứ hai 8/2016*, tr 344-350.
7. Nguyễn Thị Lang, Phạm Công Trứ, **Nguyễn Trọng Phước**, Trần Minh Tài, Bùi Chí Bửu (2016), “Nghiên cứu chông gen mặn và hạn trên tổ hợp lai hồi giao phục vụ ĐBSCL”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 6 (67), tr 19-24.
8. Nguyễn Thị Lang, Biện Anh Khoa, **Nguyễn Trọng Phước**, Bùi Chí Bửu (2018), “Sàng lọc gen kháng mặn trên 100 giống lúa dùng làm nguồn vật liệu lai”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 12, tr 3-10. ISSN 1859-4581

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

- 1 Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007), *Chọn giống cây trồng - phương pháp truyền thống và phân tử*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM.
- 2 Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (1995), *Ứng dụng công nghệ sinh học trong cải tiến giống lúa*, Giáo trình cao học nông nghiệp, Viện KHKTNNVN. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội 167 trang.
- 3 Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2000), *Di truyền phân tử - Những nguyên tắc cơ bản trong chọn giống cây trồng*, Quyển II, Chuyển nạp gen, Nhà xuất bản nông nghiệp, tr 40-69.
- 4 Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2000), *Một số vấn đề cần biết về gạo xuất khẩu*, NXB Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh, 78 trang.
- 5 Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2003), *Giáo trình Di Truyền Số Lượng*, Nhà xuất bản Nông Nghiệp, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam.
- 6 Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2004), *Di truyền phân tử*, NXB Nông nghiệp, Tp Hồ Chí Minh.
- 7 Lê Hùng Lĩnh, Lê Huy Hàm, Nguyễn Thúy Kiều Tiên, Lê Hà Minh, Chu Đức Hà, Khuất Thị Mai Lương. (2020). Kết Quả Chọn Tạo Giống Lúa Chịu Mặn Shpt15 Bằng Phương Pháp Chọn Dòng Cá Thể Sử Dụng Chỉ Thị Phân Tử. *TNU Journal of Science and Technology*; T. 225, (08): 11-16
- 8 Lê Xuân Thái, Trần Nhân Dũng, 2013. Chọn Lọc Giống Lúa Chống Chịu Mặn Ở Đồng Bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 28: 79-85
- 9 Nguyễn Thị Lang (2002), *Phương pháp cơ bản trong nghiên cứu công nghệ sinh học*, NXB Nông Nghiệp, TP. Hồ Chí Minh.
- 10 Nguyễn Thị Lang (2004), *Nghiên cứu chọn giống lúa phẩm chất cao phục vụ Đồng bằng sông Cửu Long*, Báo cáo khoa học, hội nghị quốc gia chọn tạo giống lúa, Cần Thơ, tháng 7/2004.



- 11 Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2018), Công nghệ tiên tiến chọn tạo giống lúa thuần chống chịu mặn - hạn, NXB Giáo dục, TP. Cần Thơ.
- 12 Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2004), “Nghiên cứu di truyền cho gen kháng mặn trên quần thể trồng đôn của cây lúa”, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, số 6, tr 824-826.
- 13 Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2017), Nghiên Cứu chọn tạo giống lúa chịu mặn, Nhà xuất bản Giáo Dục
- 14 Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2017), “Nghiên cứu, chọn tạo giống lúa chịu mặn, phẩm chất tốt: OM341”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, tháng 12/2017, tr 5 - 12.
- 15 Nguyễn Thị Lang, Hoàng Thị Ngọc Minh (2006), “Đánh giá khả năng chống chịu mặn của các giống lúa ngắn ngày”, Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn, số 24, tr 32-36.
- 16 Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Trọng Phước, Trần Bảo Toàn, Trần Minh Tài, Bùi Chí Bửu (2016), *Bản đồ di truyền QTL chống chịu mặn cây lúa giai đoạn mạ thông qua phân tích quần thể phân ly hồi giao bằng kỹ thuật SSR marker*, Hội thảo quốc tế về Khoa học cây trồng lần thứ hai, 8/2016, tr 344-350.
- 17 Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Vũ Anh Pháp và Trần Thị Cúc Hòa, (2019). Lai tạo và tuyển chọn các dòng lúa chịu mặn từ tổ hợp lai hồi giao OM238/Pokkali. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 160-167.
- 18 Nguyễn Thị Pha (2003), *Ứng dụng đánh dấu phân tử trong chọn giống lúa kháng bệnh bạc lá (Xanthomonas oryzae)*, Luận văn thạc sĩ, Viện NC và PT CNSH, Đại học Cần Thơ, Cần Thơ.
- 19 Trần, T. P. T., Võ , C. T., Quan , T. Ái L., Đái , P. M., Đặng, T. N. N., Huỳnh, V. T., Trần, N. S., Nguyễn , H. T., Phạm, V. K. D., & Phan, T. A. T. (2019). Tuyển chọn giống lúa (*Oryza sativa* L.) chịu mặn sodic cho vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Bản B của Tạp Chí Khoa học Và Công nghệ Việt Nam, 61(2).

- 20 Trung tâm Dự báo khí tượng thủy văn quốc gia (2020), <https://nchmf.gov.vn/Kttvsite/vi-VN/1/han-man-2072-15.html>

## TÀI LIỆU TIẾNG ANH

- 21 Acquah, G. (2012), *Principles of plant genetics and breeding*, Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- 22 Ashraf, M. (2009), “Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers”, *Biotech Adv*, 27, pp 84 – 93.
- 23 Aslam, M. N. Suleman, Asia Riaz, Abdul Rehman and Qamar Zia (2000), “Insect Pests found on *Helianthus annuus* Linnaeus (Compositae) in the Potohar Region of Pakistan”, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3(6), pp 963-964. ISSN 1028-8880.
- 24 Bao, J.S., X.W. Zheng, Y.W. Xia, P. He, Q.J. Shu, X. Lu, Y. Chen, and L.H. Shu (2002), “QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza Sativa* L.)”, *Theor appl genet*, 100, pp 280 - 284.
- 25 Blanco J. B., M. E. Vázquez, J. Martinez-Costas, L. Castedo, J. L. Mascareñas (2003), “A synthetic miniprotein that binds specific DNA sequences by contacting both the major and the minor groove”, *Chem Biol*, 10(8), pp 713 - 722.
- 26 Brady and Weil (2002), *The Nature and Properties of Soil*.
- 27 Bres-Patry, C., M. Lureux, G. Clement, M. Banggratz and A. Fhesquiere (2001), “Heredity and genetic mapping of domestication-related traits in a temperate japonica weedy rice”, *Theor Appl Genet*, 102, pp 118 - 126.
- 28 Buckler, E.S., J.B. Holland, P.J. Bradbury, C.B. Acharya, P.J. Brown, and C. Browne (2009), “The genetic architecture of maize flowering time”, *Science*, 325, pp 714 - 718.
- 29 Calapit-Palao, C. D., C. B.Vina, G. B. Gregorio and Singh R. K. (2013), “A new phenotyping technique for salinity tolerance at thereproductive stage in rice”, *ORYZA*, 50(3), pp 199 – 207.

- 30 Chaaou, Abdelwahed, Mohamed Chikhaoui, Mustapha Naimi, Aissa Kerkour El Miad, and Marieme Seif-Ennasr (2022), "Mapping Soil Salinity Risk by Using an Index Approach" *Environmental Sciences Proceedings* 16, no. 1: 24. <https://doi.org/10.3390/envirosciproc2022016024>
- 31 Chahal, G.S. and S.S. Gosal (2002), *Principles and Procedures of Plant Breeding. Biotechnological and Conventional Approaches*. Alpha Science International Ltd. Pangbourne, UK. 604 p.
- 32 Chen, S., C. Xu, X. Lin and Q. Zhang (2001), "Improving bacterial blight resistance of '6078', an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection", *Plant Breed*, 120, pp. 133-137.
- 33 Chen, S., X.H. Lin, C.G. Xu and Q.F. Zhang (2000), "Improvement of bacterial blight resistance of 'Minghui 63', an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection", *Crop Sci.*, 40, pp 239 - 244.
- 34 Cho, Y.G, T. Ishii, S. Temnykh, X. Chen, L. Lipovich, W.D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour and S.R. McCouch (2000), "Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and Genbank sequences in rice (*Oryza sativa* L.)", *Theor Appl Genet*, 100, pp 713 - 722.
- 35 Eberhart, S.A. and W.A. Russell (1966), "Stability Parameters for Comparing Varieties", *Crop Science*, 6, pp 36 - 40.
- 36 FAO (2010), FAO Statistics Division  
[http://beta.irri.org/solutions/images/stories/wrs/wrs\\_nov08\\_table02\\_area.xls](http://beta.irri.org/solutions/images/stories/wrs/wrs_nov08_table02_area.xls).  
Retrieved 2010-06-22.
- 37 Finlay, K.W. and G.N. Wilkinson (1963), "The Analysis of Adaptation in a Plant-Breeding Programme", *Australian Journal of Agricultural Research*, 14, pp 742 - 754.
- 38 Francia, E., G. Tacconi, C. Crosatti, D. Barabaschi, D. Bulgarelli, E. Dall'Aglio, G. Vale (2005), "Marker assisted selection in crop plants", *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 82, pp 317 - 342.

- 39 Freeman, G.H. and Perkin J.M. (1971), Environmental and genotype environments of variability, VIII, Relations between genotypes grown in different environments and measurement of these environments. *Heredity*, 27, pp 15 - 23.
- 40 Frisch, M., Bohn M. and Melchinger A.E. (1999a), "Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of gene", *Crop science*, (39), pp 1295 - 1301.
- 41 Giora, B.A. and U. Lavi (2012), "Marker-assisted selection in plant breeding", *Breeding biotechnologies*, pp 163 - 177.
- 42 Gunter, K. (2001), "The dictionary of gene technology", *Weinheim: Wiley-Vch Verlag Gmbh*.
- 43 Haque, Md Azadul, Mohd Y. Rafii, Martini Mohammad Yusoff, Nusaibah Syd Ali, Oladosu Yusuff, Debi Rani Datta, Mohammad Anisuzzaman, and Mohammad Ferdous Ikbal. (2021). "Advanced Breeding Strategies and Future Perspectives of Salinity Tolerance in Rice". *Agronomy* 11, No. 8: 1631. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081631>
- 44 Harlan, H.V. and Pope M.N. (1992), "The use and value of back-crosses in small-grain breeding", *J Hered*, 13, pp 319 - 322.
- 45 Harrington, S. (2000), *A survey of genetic diversity of eight AA genome of species of Oryza using microsatellite markers*, Ms Thesis, Cornell University, Ithaca, New York.
- 46 Hasan, M.M., M.Y. Rafii, M.R. Ismail, M. Mahmood, H.A. Rahim, M.A. Alam, S. Ashkani, M.A. Malek and M.A. Latif (2015), "Review: agriculture and environmental biotechnology". *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29 (2), pp 237 - 254.
- 47 Hossain, H., M. A. Rahman, M. S. Alam and R. K. Singh (2015), Mapping of quantitative trait loci associated with reproductive-stage salt tolerance in rice. *Journal of Agronomy and CropScience*, 201(1), pp 17 - 31.
- 48 Huyen, L. T. N., L. M. Cuc, A. M. Ismail, L. H. Ham (2012), "Introgression the

- salinity tolerance QTLs Saltol into AS996, the elite rice variety of Vietnam”, *Am J. Plant Sci*, 3, pp 981 - 987.
- 49 IRRI (2011), *Laboratory Handbook on Molecular Marker Application for Rice Breeding*, Philippines pp. 1-2
- 50 James, J. Camberato, Stacy B. Martin (2001), Salinity Slows Germination of Rough Bluegrass.
- 51 Joseph, M., S. Gopalakrishnan, R.K. Sharma, V.P. Singh, A.K. Singh and T. Mohapatra (2004), “Combining bacterial blight resistance and Basmati quality characteristics by phenotypic and molecular marker-assisted selection in rice”, *Mol Breed*, 13, pp 377 - 387.
- 52 Kawasaki, S., C. Bochert, M. Deyholos, H. Wang, S. Brazille, K. Kawai, D. Galbraith and H.J. Bohnert (2001), “Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice”, *The Plant Cell*, 13, pp 889 – 905.
- 53 Khan, W.U.D., T. Aziz, M.A. Maqsood *et al.* (2016), *Silicon: A beneficial nutrient under salt stress, its uptake mechanism and mode of action*, In: Hakeem K.R., J. Akhtar, M. Sabir (ed.): *Soil Science: Agricultural and Environmental Prospective*, pp. 287-301, Springer, Cham.
- 54 Lang, N.T. and B.C. Buu (2004), “Molecular genetic analysis and marker-assisted selection for restorer line and bacterial blight resistance in hybrid rice. *SABRAO*, 36(2), pp 83 - 93.
- 55 Lang, N.T. and B.C. Buu (2007), “DNA marker for durable resistance to blast disease in rice (*Oryza sativa* L.)”, *4th International Blast conference* (Sept,10-13/2007), China.
- 56 Lang, N.T., B.C. Buu, N.V. Viet and A.M. Ismail (2010), *Strategies for improving and stabilizing rice productivity in the coastal zones of the Mekong delta Vietnam*, In: CAB International 2010. *Tropical Deltas and Coastal Zones: Food production, Communities and Environment at the Land-Water Interface* (eds C.T. Hoanh và *ctv*).

- 57 Lang, N.T., Seji Yanagihara and B.C. Buu (2001), “QTL analysis of salt tolerance in rice”, *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 33(1), pp 11 - 22.
- 58 Lang, N.T., T.T. Luy, P.T. Thu Ha and B.C. Buu (2009) “To monogenic lines resistance to blast disease in rice (*Oryza sativa* L.) in Vietnam”, *Int. J. of Genetics and Molecular Biology*, 1(6), pp105 - 114.
- 59 Liu, Q. (2005), *Understanding starches and their role in foods*, In Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications (ed. S. W. Cui), pp 309 - 355. CRC Press, Boca Raton, USA.
- 60 Lobell, D. B., and M. B. Burke (2008), “Why are agricultural impacts of climate change so uncertain the importance of temperature relative to precipitation”, *Environmental Research Letters*, 3, 034007. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/3/3/034007>
- 61 Maas, E.V. and G.J. Hoffman (1977), “Crop salt tolerance current assessment”, *ASCE J Irrig and Drainage Div*, 103, pp 115 – 134.
- 62 Milne I., P. Shaw, G. Stephen, M. Bayer, L. Cardle, W. T. B. Thomas, A. J. Flavell, and D. Marshall (2010), “Flapjack - graphical genotype visualization”, *Bioinformatics*, 26, pp 3133 - 3134.
- 63 Munns, R. and M. Tester (2008), “Mechanisms of salinity tolerance”, *Annual Review of Plant Biology*, 59, pp 651 - 681.
- 64 Neelam Bishwas, Mala Sharma, Adria Hasan, Salman Akhtar, Neha Sharma. (2016), “Improvement of rice crop by Marker-assisted Backcross method”, *International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)*, Vol 03, Issue: 06.
- 65 Nguyen, C. T., Ha, H. N., & Tran, T. T. (2020). Climate change adaptation policies of Vietnam in the Mekong Delta. *The Russian Journal Of Vietnamese Studies*, 4(3), 36-45. doi: 10.24411/2618-9453-2020-10023

- 66 Nirmala Bandumula (2017), “Rice Production in Asia: Key to Global Food Security”, *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* DOI 10.1007/s40011-017-0867.
- 67 Paik, S., Le, D., Nhu, L. T., & Mills, B. F. (2020). Salt-tolerant rice variety adoption in the Mekong River Delta: Farmer adaptation to sea-level rise. *PLoS one*, 15(3), e0229464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229464>
- 68 Quesada, V., S. Garcia-Martinez, P. Piqueras, M. R. Ponce and J. L. Micol (2002), “Genetic architecture of NaCl tolerance in *Arabidopsis*”, *Plant Physiol*, 130, pp 951 - 963.
- 69 Ren, Z. H., J. P. Gao, L. G. Li, X. L. Cai, W. Huang, and D. Y. Chao (2005), “A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter”, *Nature Genetics*, 37, 1141–1146.
- 70 Robert Koebner (2003), “Marker assisted selection in the cereals: the dream and the reality”, *Biomedical and Science*, pp 317 - 329.
- 71 Sa´nchez-Blanco, M.J., A´lvarez S, Navarro A, Ban˜o’n S. (2009), “Changes in leaf water relations, gas exchange, growth and flowering quality in potted geranium plants irrigated with different water regimes”, *J Plant Physiol*, 166, pp 467 - 476.
- 72 Sarkar, R., Hazra B., Mandal S., Biswas S., Mandal N. (2009), “Assessment of in Vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Cajanus cajan*”, *J Complement Integrat Med*; 6(1), pp 876 - 883.
- 73 Schneider, Pia; Asch, Folkard (2020). Rice production and food security in Asian Mega deltas: A review on characteristics, vulnerabilities and agricultural adaptation options to cope with climate change. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(4), 491–503. doi:10.1111/jac.12415

- 74 Septiningsih, E.M., A.M. Pamplona, D.L. Sanchez, C.N. Neeraja, G.V. Vergara, S. Heuer, A.M. Ismail and D.S. Mackill (2009), “Development of Submergen tolearant rice Cultivars: The Sub1 locus and beyond”, *Annals of Botany*, 103, pp 151 - 160.
- 75 Shrivastava, P., & Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- 76 Singh, A. (2022), Soil salinity: A global threat to sustainable development. *Soil Use and Management*, 38, 39-67. <https://doi.org/10.1111/sum.12772>
- 77 Singh, S., J.S. Sidhu, N. Huang, Y. Vikal, Z. Li, D.S. Brar, H.S. Dhaliwal and G.S. Khush (2001), “Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106”, *Theor. Appl. Genet.*, 102, pp 1011 - 1015.
- 78 Sorensen, N.A. and A. Robertson (1961), “The association between blood groups and several production characteristics in three danish cattle breeds”, *Acta Agriculturae Scandinavica*, 11, pp 163 - 196.
- 79 Temnykh, S., W. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch (2000), “Mapping and genome organization of microsatellite in rice (*Oryza sativa* L.)”, *Theor Appl Genet*, 100, pp 697 - 712.
- 80 Thomson, M.J., A.M. Ismail, S.R. McCouch and M.J. Mackill (2010), “Marker assisted breeding”. In: Pareek A, Sopory SK, Bohnert HJ, Govindjee, editors. *Abiotic stress adaptation in plants: physiological, molecular and genomic foundation*, New York: Springer: pp 451 - 469.
- 81 Toojinda, T., S. Tragoonrung, A. Vanavichit, J.L. Siangliw, N. Pa-In, J. Jantaboon, M. Siangliw and S. Fukai (2005), “Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region”, *Plant Prod Sci*, 8, pp 330 - 333.



- 82 Vu, H. T. T., D. D. Le, A. M. Ismail, H. H. Le (2012), "Marker-assisted backcrossing (MABC) for improved salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to cope with climate change in Vietnam", *Aust J Crop Sci*, 6(12), pp 1649 - 1654.
- 83 Wang, F., C. Wang, P. Liu, C. Lei, W. Hao, Y. Gao, Y.G. Liu and K. Zhao (2016), "Enhanced Rice Blast Resistance by CRISPR/Cas9-Targeted Mutagenesis of the ERF Transcription Factor Gene OsERF922", *PlosOne* 11 (4): e0154027. doi: 10.1371/journal.pone.0154027.
- 84 Xiao J., J. Li, S. Grandillo, S.N. Ahn, L. Yuan, S.D. Tanksley and S.R. McCouch (1998), "Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative *Oryza rufipogon*", *Genetic*, 150, pp 1053 - 1068.
- 85 Xiao, C., J. Hu, Y.T. Ao, M.X. Cheng, G.J. Gao, Q.L. Zhang, G.C. He and Y.Q. He (2016), "Development and evaluation of near-isogenic lines for brown planthopper resistance in rice cv. 9311", *Sci. Rep.*, 6, pp 38159
- 86 Yeo, A.R., T.J. Flowers (1984), *Mechanism of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding*. In: Salinity tolerance in plants. Wiley-Interscience, New York, pp 151 - 170.
- 87 Yeo, K.T. (1990), Risks, Classification of Estimates and Contingency, *Journal of Management in Engineering*, 6, pp 458 - 470.
- 88 Zhao, K., C.W. Tung, G.C. Eizenga, M.H. Wright, M.L. Ali, A.H. Price, G.J. Norton, M.R. Islam, A. Reynolds, J. Mezey, A.M. McClung, C.D. Bustamante and S.R. McCouch (2016), "Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*", *Nat. Commun*, 2, pp 467.
- 89 Zhang, Z.H. and Peng, 1996. "Inheritance of gus A and neo genes in transgenic rice", *Plant Mol. Biol*, 27, pp 99 - 104.

- 90 Zhao, K., M. Wright, J. Kimball, G. Eizenga, A. McClung, M. Kovach, W. Tyagi, M.D. Ali, C.W. Tung, A. Reynolds, C.D. Bustamante and S.R. McCouch (2010), “Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome”, *PLoS ONE*, 5(5) e10780, pp. 1-11.