

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT**

**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**



**DOÃN THỊ HƯƠNG GIANG**

**NGHIÊN CỨU CẢI TIẾN TÍNH CHỊU NGẬP CỦA  
GIỐNG LÚA AS996 BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**HÀ NỘI - 2022**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT**

**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**



**DOÃN THỊ HƯƠNG GIANG**

**NGHIÊN CỨU CẢI TIẾN TÍNH CHỊU NGẬP CỦA  
GIỐNG LÚA AS996 BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ**

**Chuyên ngành : Di truyền và Chọn giống cây trồng**

**Mã số : 96.20.111**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC**

**1. GS.TS Lê Huy Hàm**

**2. PGS. TS. Lưu Minh Cúc**

**HÀ NỘI - 2022**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Toàn bộ số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận án này là trung thực và chưa từng được sử dụng để công bố trong các công trình nghiên cứu để nhận học vị, các thông tin trích dẫn trong luận án này đều được chỉ rõ nguồn gốc.

*Hà Nội, ngày .... tháng ..... năm 2022*

**Tác giả luận án**

**Doãn Thị Hương Giang**

## LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến GS.TS. Lê Huy Hàm (Nguyên Viện trưởng - Viện Di truyền Nông nghiệp), PGS.TS. Lưu Minh Cúc (Trưởng Phòng Giám định Sinh vật và Sản phẩm Biến đổi gen - Viện Di truyền Nông nghiệp) đã tận tình, hướng dẫn, giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, tập thể Lãnh đạo và Cán bộ Ban đào tạo Sau Đại học đã tạo mọi điều kiện thuận lợi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Tập thể cán bộ Bộ môn Sinh học Phân tử, Phòng Giám định Sinh vật và Sản phẩm Biến đổi gen (Viện Di truyền Nông nghiệp) và Bộ môn Chọn tạo Giống lúa (Viện Lúa Đồng bằng Sông Cửu Long) – những nơi tôi thực hiện các nội dung chính trong đề tài luận án, đã giúp đỡ tôi và đóng góp nhiều ý kiến quý báu trong quá trình thực hiện và hoàn thành luận án.

Hoàn thành luận án còn có sự động viên, khuyến khích giúp đỡ của các bạn bè, đồng nghiệp và gia đình. Tất cả những sự giúp đỡ và tình cảm quý báu này là nguồn động lực lớn giúp tôi hoàn thành công trình nghiên cứu.

Mặc dù bản thân đã cố gắng hoàn thành luận án trong phạm vi và khả năng cho phép nhưng chắc chắn sẽ không tránh khỏi những thiếu sót. Kính mong nhận được sự cảm thông và tận tình chỉ bảo của quý Thầy Cô và các bạn.

Tôi xin chân thành cảm ơn./.

*Hà Nội, ngày ..... tháng ..... năm 2022*

**Tác giả luận án**

**Doãn Thị Hương Giang**



## MỤC LỤC

MỞ ĐẦU .....	1
1. Tính cấp thiết của đề tài.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu của đề tài.....	2
2.1. Mục tiêu chung.....	2
2.2. Mục tiêu cụ thể.....	2
3. Những đóng góp mới của luận án.....	3
4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn.....	3
4.1. Ý nghĩa khoa học.....	3
4.2. Ý nghĩa thực tiễn.....	4
5. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu của đề tài.....	4
5.1. Đối tượng nghiên cứu.....	4
5.2. Phạm vi nghiên cứu.....	4
Chương 1 .....	5
TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI.....	5
1.1. ẢNH HƯỞNG CỦA BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU ĐẾN SẢN XUẤT NÔNG NGHIỆP ...	5
1.1.1. Ảnh hưởng của BĐKH đến sản xuất nông nghiệp trên thế giới.....	5
1.1.2. Ảnh hưởng của BĐKH đến sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam.....	9
1.1.3. Ảnh hưởng của ngập lụt đến sản xuất lúa gạo ở Việt Nam.....	11
1.2. NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ TÍNH CHỊU NGẬP CỦA CÂY LÚA .....	14
1.2.1. Một số đặc điểm hình thái, sinh lý, hóa sinh và giải phẫu liên quan đến tính chịu ngập của cây lúa.....	15
1.2.1.1. Đặc điểm về hình thái .....	15
1.2.1.2. Đặc điểm về sinh lý, sinh hóa.....	16
1.2.1.3. Đặc điểm về giải phẫu.....	19
1.2.2. Cơ chế di truyền ở các giai đoạn ngập.....	20
1.2.2.1. Ngập hoàn toàn (ngập lũ).....	20
1.2.2.2. Ngập úng trung bình .....	25
1.2.2.3. Ngập úng sâu.....	25
1.2.2.4. Ngập xen kẽ .....	27
1.3. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ KẾT HỢP LAI TRỞ LẠI (MABC) VÀ ỨNG DỤNG TRONG CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG .....	27
1.3.1. Chỉ thị phân tử (CTPT).....	27
1.3.2. Phương pháp chọn giống MABC.....	28
1.3.3. Ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống cây trồng trên thế giới.....	31

1.3.4. Ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống cây trồng ở Việt Nam.....	32
1.4. NHỮNG NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP .....	36
1.4.1. Những nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống chịu ngập trên thế giới.....	36
1.4.2. Những nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống lúa chịu ngập ở Việt Nam.....	37
1.5. KẾT LUẬN RÚT RA TỪ PHẦN TỔNG QUAN .....	39
Chương 2 .....	41
VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	41
2.1. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU.....	41
2.1.1. Vật liệu khởi đầu.....	41
2.1.2. Các vật liệu khác.....	42
2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU .....	42
2.3. THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU .....	42
2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	43
2.4.1. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu phục vụ công tác cải tiến giống lúa chịu ngập.....	43
2.4.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu .....	43
2.4.1.2. Đánh giá vật liệu bố mẹ trong chọn tạo giống lúa chịu ngập .....	45
2.4.1.3. Đánh giá xác định CTPT trên 12 nhiễm sắc thể cho đa hình giữa hai giống IR64-Sub1 và AS996 làm bố mẹ trong quần thể lai .....	45
2.4.2. Lai tạo và chọn lọc các cá thể con lai mang locut gen chịu ngập Sub1 và mang nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng phương pháp chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC).....	48
2.4.2.1. Phương pháp lai hữu tính, lai trở lại.....	48
2.4.2.2. Chọn lọc các cá thể con lai mang locut gen chịu ngập Sub1 và mang nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng chỉ thị phân tử SSR .....	49
2.4.3. Đánh giá khả năng chịu ngập, đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa triển vọng trong các thế hệ chọn giống.....	49
2.4.3.1. Đánh giá khả năng chịu ngập của một số dòng/giống lúa trong thế hệ chọn giống BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	49
2.4.3.2. Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa triển vọng từ thế hệ BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> đến BC <sub>3</sub> F <sub>5</sub> .....	50
2.4.3.3. Đánh giá tính chịu ngập, so sánh các giống lúa trong điều kiện thường và điều kiện ngập.....	52

2.4.4. Khảo nghiệm sản xuất và khảo nghiệm tác giả của giống OM351 (AS996-Sub1).....	54
2.4.4.1. Khảo nghiệm sản xuất trong hệ thống khảo kiểm nghiệm giống sản phẩm cây trồng quốc gia.....	54
2.4.4.2. Khảo nghiệm tác giả giống lúa OM351.....	55
2.4.5. Phương pháp phân tích số liệu.....	56
2.4.6. Tóm tắt quá trình chọn tạo giống lúa AS996 chịu ngập (OM351).....	57
Chương 3 .....	60
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	60
3.1. ĐÁNH GIÁ NGUỒN VẬT LIỆU, CHỌN GIỐNG LÀM BỐ MẸ VÀ XÁC ĐỊNH CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐA HÌNH TRÊN 12 NHIỄM SẮC THỂ .....	60
3.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu, chọn giống làm bố mẹ trong lai tạo quần thể.....	60
3.1.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu .....	60
3.1.1.2. Kết quả đánh giá vật liệu bố mẹ trong chọn tạo giống lúa mang QTL Sub1.....	64
3.1.2. Kết quả xác định CTPT trên 12 nhiễm sắc thể cho đa hình giữa hai giống IR64-Sub1 và AS996 làm bố mẹ trong quần thể lai.....	68
3.2. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH KIỂU GEN, CHỌN LỌC CÁ THỂ MANG LOCUT GEN <i>SUB1</i> CHỊU NGẬP VÀ MANG NỀN DI TRUYỀN GIỐNG AS996 Ở CÁC THỂ HỆ LAI TRỞ LẠI.....	81
3.2.1. Kết quả phân tích kiểu gen và chọn lọc cá thể mang locut gen chịu ngập Sub1 và nền di truyền giống AS996 trong thế hệ F1 và quần thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> .....	81
3.2.2. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen Sub1 chịu ngập và nền di truyền giống AS996 trong quần thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> .....	86
3.2.3. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen Sub1 chịu ngập và nền di truyền giống AS996 trong quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> .....	91
3.2.4. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen Sub1 chịu ngập đồng hợp tử.....	95
3.3. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP, ĐẶC ĐIỂM NÔNG SINH HỌC VÀ NĂNG SUẤT CỦA MỘT SỐ DÒNG/ GIỐNG LÚA TRONG CÁC THỂ HỆ CHỌN GIỐNG .....	97
3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập của một số dòng/giống lúa trong thế hệ chọn giống BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> .....	97
3.3.2. Đánh giá đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa trong các thế hệ chọn giống.....	100
3.3.3. Kết quả đánh giá tính chịu ngập và so sánh giống lúa AS996-Sub1 với giống AS996 trong điều kiện bình thường và điều kiện ngập nhân tạo.....	106

3.4. KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM SẢN XUẤT VÀ KHẢO NGHIỆM TÁC GIẢ CỦA GIỐNG OM351 .....	113
3.4.1. Kết quả khảo nghiệm giống OM351 trong hệ thống khảo nghiệm quốc gia phía Nam.....	113
3.4.2. Kết quả khảo nghiệm giống OM351 của tác giả trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long.....	119
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....	132
Kết luận .....	132
Đề nghị .....	133
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN...	134
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	135
A. Tài liệu tiếng Việt.....	135
B. Tài liệu tiếng Anh .....	138
PHỤ LỤC 1. Danh sách chỉ thị phân tử SSR được sử dụng trong nghiên cứu.....	156
PHỤ LỤC 2. Một số hình ảnh trong quá trình thực hiện đề tài .....	162
PHỤ LỤC 3. Kết quả xử lý số liệu.....	169

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Chữ viết tắt</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Nghĩa của chữ viết tắt</b>
ADN	Acid Deoxyribo Nucleic	Acid Deoxyribo Nucleic
ANP	Anaerobic protein	Anaerobic protein
BĐKH		Biến đổi khí hậu
bp	Base pair	Cặp bazơ
Chr	Chromosome	Nhiễm sắc thể
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide	Cetyltrimethylammonium bromide
CTPT	Molecular marker	Chỉ thị phân tử
Cs; et al.	et al.	Cộng sự
CV%	Coefficient of Variation	Hệ số biến động
CMF	Cellulose microfibrils	Vi sợi cellulose
Đ/c		Đối chứng
ĐBSCL		Đồng bằng sông Cửu Long
ĐBSH		Đồng bằng sông Hồng
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hiệp Quốc
GDP	Gross Domestic Product	Tổng sản phẩm quốc nội
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change	Ủy ban liên Chính phủ về biến đổi khí hậu
KL		Khối lượng
KHNN		Khoa học Nông nghiệp
LSD	Least Significant Difference	Sự sai khác có ý nghĩa
MABC	Marker Assisted Backcrossing	Chọn giống bằng chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại
MAS	Marker-assisted selection	Chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử
MONRE	Ministry of Natural Resources and Environment	Bộ Tài nguyên và Môi trường
NST		Nhiễm sắc thể

NS		Năng suất
NSLT		Năng suất lý thuyết
NSTT		Năng suất thực thu
KL1000		Khối lượng 1000 hạt
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi trùng hợp
PTNT		Phát triển nông thôn
QTL	Quantitative Trait Locus	Locus tính trạng số lượng
SSR	Simple Sequence Repeat	Trình tự lặp lại đơn giản
RPG	Recurrent parent genotype	Kiểu gen bố mẹ phục hồi
TB		Trung bình
TGST		Thời gian sinh trưởng
QCVN		Quy chuẩn Việt nam
BNNPTNT		Bộ nông nghiệp phát triển nông thôn
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Chỉ thị đa hình chiều dài mảnh phân cắt giới hạn
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic ADNs	Đa hình các đoạn ADN khuếch đại ngẫu nhiên
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	Đa hình chiều dài các đoạn ADN nhân bản chọn lọc
STS	Sequence Tagged Site	Xác định vị trí trình tự đã được đánh dấu
RGA	Resistance Gene Analog	Vùng tương đồng gen kháng
SNPs	Single nucleotide polymorphism	Đa hình của các nucleotit đơn
Đvt		Đơn vị tính

## DANH MỤC BẢNG

<b>STT</b>	<b>Tên bảng biểu</b>	<b>Trang</b>
Bảng 2.1	Danh sách các giống lúa dùng làm vật liệu khởi đầu.....	41
Bảng 2.2	Thang điểm đánh giá tính chịu ngập căn cứ trên chỉ số CS%.....	45
Bảng 2.3	Thành phần phản ứng PCR.....	46
Bảng 2.4	Đánh giá chất lượng cơm theo 10 TCN 590- 2004.....	52
Bảng 3.1	Đặc tính nông học của các dòng/giống vật liệu Vụ Thu Đông 2010 tại viện lúa ĐBSCL.....	61
Bảng 3.2	Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các dòng/giống vật liệu vụ Thu Đông 2010 tại viện lúa ĐBSCL.....	61
Bảng 3.3	Kết quả thanh lọc ngập các dòng/giống lúa thí nghiệm vụ Thu Đông 2010 tại viện Lúa ĐBSCL.....	63
Bảng 3.4	Đặc điểm nông học và hình thái của các giống sử dụng làm vật liệu bố mẹ trong nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010-2011 tại viện Lúa ĐBSCL.....	65
Bảng 3.5	Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các giống sử dụng làm vật liệu nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010-2011 tại viện Lúa ĐBSCL.....	65
Bảng 3.6	Bảng đánh giá chất lượng gạo và cơm của các giống sử dụng làm vật liệu nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010-2011 tại viện Lúa ĐBSCL.....	67
Bảng 3.7	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST1	68
Bảng 3.8	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST2	69
Bảng 3.9	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST3	70
Bảng 3.10	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST4	70
Bảng 3.11	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST5	71
Bảng 3.12	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST6	72
Bảng 3.13	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST7	72
Bảng 3.14	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST8	73
Bảng 3.15	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST9	75
Bảng 3.16	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST10	77
Bảng 3.17	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST11	77

Bảng 3.18	Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST12	78
Bảng 3.19	Tỉ lệ chỉ thị đa hình trên 12 nhiễm sắc thể.....	80
Bảng 3.20	Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng thí nghiệm mang locut gen <i>Sub1</i> .....	99
Bảng 3.21	Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen <i>Sub1</i> tại thế hệ BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> trong vụ Thu-Đông 2013 tại Viện Lúa ĐBSCL.....	100
Bảng 3.22	Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen <i>Sub1</i> tại thế hệ BC <sub>3</sub> F <sub>4</sub> trong vụ Đông Xuân 2013-2014 tại Viện Lúa ĐBSCL.....	102
Bảng 3.23	Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen <i>Sub1</i> tại thế hệ BC <sub>3</sub> F <sub>5</sub> trong vụ Hè Thu 2014 tại Viện Lúa ĐBSCL.....	104
Bảng 3.24	Một số đặc điểm nông sinh học của các giống trong điều kiện canh tác bình thường qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL.....	107
Bảng 3.25	Đặc điểm sinh trưởng của các giống trong điều kiện ngập.....	108
Bảng 3.26	Một số yếu tố cấu thành năng suất của giống AS996-Sub1 trong điều kiện bình thường và điều kiện ngập qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL.....	109
Bảng 3.27	Năng suất của một số giống thí nghiệm trong điều kiện thường và điều kiện ngập nhân tạo qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL.....	110
Bảng 3.28	Đặc điểm nông sinh học và mức độ nhiễm sâu bệnh hại của giống OM351 tại các tỉnh ĐBSCL và Đông Nam Bộ.....	113
Bảng 3.29	Đánh giá độ thuần đồng ruộng và các yếu tố cấu thành năng suất của giống OM351 trong khảo nghiệm.....	114
Bảng 3.30	Năng suất thực thu của giống OM351 qua 3 vụ tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long và Đông Nam Bộ.....	115
Bảng 3.31	Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của giống OM351.....	118
Bảng 3.32	Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long Vụ Hè Thu 2016.....	119
Bảng 3.33	Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long vụ Đông Xuân 2016-2017 .....	121
Bảng 3.34	Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long vụ Hè Thu 2017.....	123



Bảng 3.35	Mức độ nhiễm sâu bệnh của các giống tham giá thí nghiệm tại 6 tỉnh ĐBSCL vụ vụ Đông Xuân 2016-2017.....	125
Bảng 3.36	Mức độ nhiễm sâu bệnh của các giống tham giá thí nghiệm tại 6 tỉnh ĐBSCL vụ Hè Thu 2017.....	127
Bảng 3.37	Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo và cơm của giống OM351 và giống AS996 trong vụ Hè Thu 2017.....	128

## DANH MỤC HÌNH

STT	Tên hình	Trang
Hình 1.1	Kịch bản BĐKH qua các giai đoạn (1950-2300).....	8
Hình 1.2	Bản đồ nguy cơ các vùng bị ngập lụt ở ĐBSCL theo kịch bản nước biển dâng 100cm.....	14
Hình 1.3	Cơ chế giải phẫu của cây lúa trong điều kiện ngập: Sự hình thành tế bào aerenchyma và hàng rào ROL.....	20
Hình 1.4	Sơ đồ cho chọn giống bằng phương pháp MABC.....	29
Hình 2.1	Các bước thí nghiệm trong chọn tạo giống lúa chịu ngập chìm bằng phương pháp MABC.....	59
Hình 3.1	Kết quả điện di sản phẩm PCR của hai giống lúa AS996 và IR64-Sub1 với hai chỉ thị ART5 và SC3 liên kết chặt với QTL Sub1 trên NST 9.....	74
Hình 3.2	Bản đồ locus gen <i>Sub1</i> và các CTPT đa hình trên NST9.....	75
Hình 3.3	Kết quả kiểm tra chỉ thị phân tử SSR để tìm chỉ thị đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64- <i>Sub1</i> .....	79
Hình 3.4	Sàng lọc các cá thể F <sub>1</sub> (AS996/IR64Sub1) bằng chỉ thị ART5.....	81
Hình 3.5	Sàng lọc các cá thể F <sub>1</sub> (AS996/IR64Sub1) bằng chỉ thị SC3.....	81
Hình 3.6	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5.....	82
Hình 3.7	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3.....	82
Hình 3.8	Kết quả phân tích nền di truyền 56 cá thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v.2.0.....	83
Hình 3.9	Tỉ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỉ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> (hình A) và cá thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> số 16 (hình B).....	84
Hình 3.10	Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> số 16 bằng phần mềm GGT v. 2.0.....	85
Hình 3.11	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5.....	87
Hình 3.12	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3.....	87
Hình 3.13	Kết quả phân tích nền di truyền 62 cá thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v.2.0.....	88
Hình 3.14	Tỉ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỉ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> (hình A) và cá thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> số 5 (hình B).....	89
Hình 3.15	Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> số 5 bằng phần mềm	

	GGT v.2.0.....	90
Hình 3.16	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5.....	91
Hình 3.17	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3.....	91
Hình 3.18	Kết quả phân tích nền di truyền 58 cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v.2.0.	92
Hình 3.19	Tỉ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỉ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (hình A) và cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> số 56 (hình B).....	93
Hình 3.20	Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub> số 56 bằng phần mềm GGT v. 2.0.....	94
Hình 3.21	Kết quả kiểm tra các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> với chỉ thị SC3 liên kết chặt với locut gen <i>Sub1</i> .....	95
Hình 3.22	Kết quả kiểm tra các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> với chỉ thị ART5 liên kết chặt với locut gen <i>Sub1</i> .....	95
Hình 3.23	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5.....	96
Hình 3.24	Sàng lọc các cá thể của quần thể BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3.....	96
Hình 3.25	Các dòng BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> trước khi được cho vào đánh giá tính chịu ngập ở 14 ngày...	98
Hình 3.26	Các dòng BC <sub>3</sub> F <sub>3</sub> khi được đánh giá ngập hoàn toàn trong thời gian 14 ngày...	98
Hình 3.27	Hình ảnh hạt lúa - gạo của giống lúa OM351.....	117

## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của đề tài

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng nhất của Việt Nam. Với vị trí địa lý gần biển, có hệ thống sông ngòi dày đặc và đất phù sa màu mỡ, nông nghiệp lúa nước là ngành nghề chính, mang lại hiệu quả kinh tế vượt trội. Cây lúa nước đóng vai trò quan trọng trong cơ cấu sản xuất nông nghiệp và giữ vai trò chủ đạo trong đảm bảo an ninh lương thực, đưa Việt Nam trở thành một trong những nước xuất khẩu gạo lớn nhất thế giới.

Gần đây, do tác động của biến đổi khí hậu (BĐKH), đã gây ra sự thay đổi một số yếu tố sinh học và phi sinh học theo hướng bất lợi, ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng phát triển của cây lúa, làm giảm sản lượng lúa gạo trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Một trong các yếu tố gây ảnh hưởng nhất, đó là hiện tượng ngập úng xảy ra ở hầu hết tất cả các vùng trồng lúa, nhưng vùng bị ảnh hưởng nhiều nhất là vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nơi có diện tích và sản lượng lúa lớn nhất của Việt Nam (Wassmann *et al*, 2004; Hoanh *et al*, 2004). Nguyên nhân là do mực nước biển dâng cao làm giảm lưu lượng dòng chảy của các con sông, gây ra ngập úng khi có hiện tượng mưa lớn kéo dài. Vì thế, việc nghiên cứu chọn tạo, phát triển nguồn giống đã được cải tiến khả năng chịu ngập chìm, cho năng suất cao là hết sức cần thiết và có ý nghĩa trong việc đảm bảo an toàn lương thực và tăng thu nhập của nông dân.

Nghiên cứu về cơ chế sinh lý, sinh hóa tính chống chịu ngập và lập bản đồ gen liên quan đến tính chịu ngập đã được các nhà khoa học tại Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI) tiến hành. Việc phát hiện locut *Sub1* là QTL chính (Quantitative trait loci) kiểm soát tính trạng số lượng liên quan đến cơ chế chống chịu ngập ở lúa, đã được các nhà khoa học lập bản đồ gen chi tiết (Xu and Mackill, 1996). Đó là cơ sở cơ bản để ứng dụng trong chọn tạo giống lúa chịu ngập. Đã có một số các nghiên cứu ứng dụng phương pháp chọn giống nhờ chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC), kết hợp giữa các kỹ thuật công nghệ sinh học

hiện đại với phương pháp chọn giống truyền thống nhằm nâng cao tính chống chịu ngập ở cây lúa.

Cho đến nay, phương pháp MABC đã được áp dụng khá thành công trong việc quy tụ locut gen/QTL vào giống mới, nhưng các giống tạo ra chưa được ghi nhận nhiều, hoặc mới chỉ dừng lại ở dòng chọn giống.

Trước tình hình đó, trên cơ sở khảo sát cơ cấu giống các tỉnh ĐBSCL cho thấy, giống lúa AS996 là một trong những giống lúa chất lượng cao được trồng phổ biến tại các tỉnh ĐBSCL và Đông Nam Bộ từ năm 2003 đến nay. Đây là một giống lúa thuần được các nhà khoa học Viện Lúa ĐBSCL chọn tạo và công nhận chính thức năm 2002, ngắn ngày, năng suất cao và phù hợp với cơ cấu canh tác tại các tỉnh phía Nam. Tuy nhiên, giống AS996 lại rất mẫn cảm với điều kiện ngập úng nên thời gian gần đây bị ảnh hưởng lớn về năng suất khi điều kiện ngập úng gia tăng trên đồng ruộng. Chính vì thế, việc cải tiến tính chống chịu ngập úng của giống lúa AS996 là một trong những vấn đề cấp thiết đặt ra cho ĐBSCL.

Xuất phát từ yêu cầu của thực tiễn sản xuất, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: ***“Nghiên cứu cải tiến tính chịu ngập của giống lúa AS996 bằng chỉ thị phân tử”***, để tạo giống lúa mới AS996-Sub1 có khả năng chịu ngập thích ứng cho vùng ĐBSCL.

## **2. Mục tiêu nghiên cứu của đề tài**

### ***2.1. Mục tiêu chung***

Cải tiến giống lúa AS996 sử dụng phương pháp chọn giống bằng chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC), để tạo giống lúa mới AS996-Sub1 có khả năng chịu ngập, thích ứng cho vùng ĐBSCL.

### ***2.2. Mục tiêu cụ thể***

- Chọn vật liệu khởi đầu và xác định các chỉ thị phân tử cho đa hình giữa hai giống bố mẹ để sử dụng trong các thế hệ chọn giống.

- Cải tiến được giống lúa AS996 bằng phương pháp chọn giống nhờ chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC), để tạo giống lúa mới AS996-Sub1 có khả năng chịu ngập.

- Đánh giá khả năng chịu ngập và so sánh, khảo nghiệm giống lúa chịu ngập AS996-Sub1 (OM351) tại một số tỉnh phía Nam.

### **3. Những đóng góp mới của luận án**

- Phân tích đa hình giữa giống AS996 và IR64-Sub1 đã xác định được 71 chỉ thị phân tử đa hình. Trong số đó, 69 chỉ thị dùng để sàng lọc nền di truyền của giống AS996, 2 chỉ thị ART5 và SC3 nằm trong vùng locut gen *Sub1* để chọn lọc cá thể mang locut gen *Sub1* trong các quần thể lai trở lại.

- Ứng dụng phương pháp chọn giống bằng chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC) đã cải tiến, chọn tạo thành công giống lúa AS996-Sub1 chịu ngập (được đặt tên mới là OM351). Giống OM351 có đặc điểm nông sinh học, chất lượng và khả năng chống chịu sâu bệnh hại tương tự giống AS996, năng suất cao hơn giống AS996, đặc biệt có khả năng chịu ngập hoàn toàn trong 14 ngày giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng.

### **4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn**

#### **4.1. Ý nghĩa khoa học**

- Luận án đã ứng dụng thành công bản đồ di truyền tính trạng chịu ngập ở lúa để xác định các chỉ thị phân tử đa hình dùng cho cải tiến tính chịu ngập của giống lúa AS996. Kết quả của đề tài luận án sẽ cung cấp những dẫn liệu khoa học trong việc quy tụ QTL/gen mục tiêu *Sub1* bằng phương pháp MABC, ứng dụng để chọn tạo giống lúa chịu ngập.

- Kết quả nghiên cứu của đề tài luận án còn là tài liệu tham khảo phục vụ cho công tác giảng dạy, học tập, nghiên cứu khoa học, góp phần bổ sung, hoàn thiện phương pháp đánh giá chính xác sự có mặt của gen mục tiêu về khả năng biểu hiện tính chịu ngập đối với giống lúa mới được cải tiến tính chịu ngập bằng phương pháp MABC.

## **4.2. Ý nghĩa thực tiễn**

- Chọn tạo thành công giống lúa OM351 chịu ngập bằng phương pháp MABC đã mở ra khả năng ứng dụng rộng rãi trong việc cải tiến giống lúa để nâng cao khả năng chống chịu với các yếu tố bất lợi sinh học và phi sinh học của các giống lúa đang sản xuất đại trà.

- Giống OM351 có các đặc tính nông sinh học tương đương AS996 nhưng năng suất cao hơn giống AS996, đặc biệt có khả năng chịu ngập sẽ góp phần đa dạng bộ giống lúa gieo cấy cho những vùng đất trũng, ngập úng ở các tỉnh ĐBSCL.

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

### **5.1. Đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu là giống lúa AS996 được trồng phổ biến trong sản xuất tại các tỉnh phía Nam. Giống lúa IR64-Sub1 mang locus gen chịu ngập *Sub1* được nhập nội từ Viện nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI).

### **5.2. Phạm vi nghiên cứu**

- Đề tài tập trung lai tạo và sử dụng chỉ thị phân tử xác định các cá thể mang locus gen *Sub1* và nền di truyền của giống AS996 trong các thế hệ chọn giống.

- Đánh giá khả năng chịu ngập, đặc điểm nông sinh học, tiềm năng năng suất và khả năng thích ứng, phát triển của giống mới tại một số tỉnh đại diện cho các vùng sinh thái phía Nam.

- Thời gian nghiên cứu: từ năm 2010 đến 2017.

## Chương 1

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

#### 1.1. ẢNH HƯỞNG CỦA BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU ĐẾN SẢN XUẤT NÔNG NGHIỆP

##### *1.1.1. Ảnh hưởng của BĐKH đến sản xuất nông nghiệp trên thế giới*

Biến đổi khí hậu (BĐKH) là sự biến động trạng thái trung bình của khí quyển toàn cầu hay khu vực theo thời gian từ vài thập kỷ đến hàng triệu năm. Những biến đổi này diễn ra do động lực của trái đất, bức xạ mặt trời, và gần đây có thêm hoạt động của con người (IPCC, 2021). Các hoạt động của con người phần lớn là đốt nhiên liệu hóa thạch, nồng độ khí nhà kính trong khí quyển tạo ra cacbon, góp phần làm tăng khí CO<sub>2</sub> và nhiệt độ môi trường đã tăng cao hơn bất cứ thời kỳ nào trong hai triệu năm qua (IPCC, 2021). Theo quan sát của Savo *et al*, (2016), nhiệt độ tăng và loại hình mưa thay đổi ở 2.230 địa phương trên 137 quốc gia khác nhau. Do vậy thuật ngữ BĐKH (hoặc còn được gọi là sự ấm lên toàn cầu - global warming) được coi là đồng nghĩa với BĐKH hiện đại (DaMatta *et al*, 2010).

BĐKH ngày nay không còn là vấn đề của một quốc gia hay của một khu vực mà là vấn đề toàn cầu. BĐKH tác động nghiêm trọng đến sản xuất, đời sống và môi trường trên phạm vi toàn thế giới. Nhiệt độ trái đất có thể tăng đạt ngưỡng 1,5<sup>0</sup>C so với thời kỳ tiền công nghiệp vào giữa những năm 2030 (IPCC, 2021). Nhiệt độ tăng, mực nước biển dâng cao gây ngập lụt, gây nhiễm mặn nguồn nước, ảnh hưởng đến nông nghiệp, gây rủi ro lớn đối với công nghiệp và các hệ thống kinh tế - xã hội trong tương lai. Dự đoán, năm 2050 sẽ có hơn một nửa dân số thế giới bị thiếu nước sinh hoạt trong một vài năm, đặc biệt khi mà mức sống ở một số vùng như Trung Á, Nam Á, Đông Á, Đông Nam Á tăng lên thì tình trạng thiếu nước càng trở nên trầm trọng (Boreti and Rosa, 2019). Dự kiến đến năm 2080, hàng triệu cư dân trái đất sẽ chịu ảnh hưởng bởi mực nước



biển dâng lên, nhất là vùng đảo nhỏ và các vùng châu thổ lớn ở Châu Á và Châu Phi, sẽ có khoảng 200 - 600 triệu người bị nạn đói đe dọa (Foulds *et al*, 2014; Hurlbert and Gupta, 2016). Hàng năm, sẽ có từ 2 - 7 triệu người sẽ là nạn nhân của tình trạng nước biển dâng và lụt lội (Rubaiyath and Jianhua, 2016).

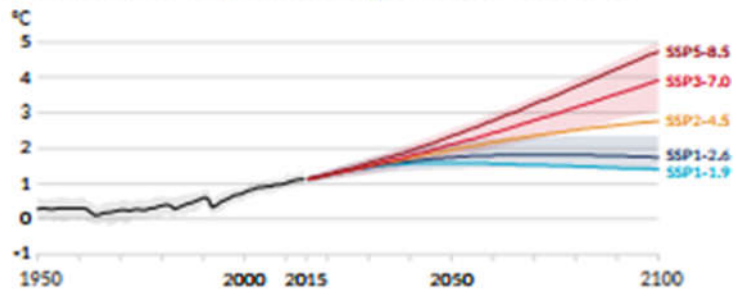
Những thách thức của BĐKH đối với sản xuất lúa gạo là vô cùng nghiêm trọng. Phần lớn lúa gạo mà thế giới sử dụng được trồng ở các vùng đất thấp hoặc vùng đồng bằng ở các quốc gia như Việt Nam, Bangladesh, Ấn Độ... Những khu vực này có nguy cơ bị nước biển xâm nhập khi mực nước biển dâng cao, cho thấy sự cần thiết của các giống lúa có khả năng chịu đựng được cả tình trạng ngập nước lẫn độ mặn cao. Lâu nay, châu Á là nơi sản xuất và tiêu thụ gạo cao nhất trên thế giới. Ngoài ra, châu Á còn là nơi xuất khẩu gạo chủ yếu. Trong đó, Thái Lan là nước xuất khẩu gạo thứ hai toàn cầu sau Ấn Độ, lượng xuất khẩu hàng năm lên tới 9,3 triệu tấn cũng có thể giảm tới 50% sản lượng gạo do tình trạng thiếu nước và nước biển dâng (Hoang *et al*, 2018; Huong and Pathirana, 2013; Wassmann *et al*, 2004). Mỗi năm, lũ lụt đã làm mất hàng triệu tấn lúa, chiếm khoảng 25% sản lượng lúa gạo gây thất thoát hàng tỷ đô la (USD). Xét tới những thiệt hại trực tiếp trong lĩnh vực nông nghiệp cũng như tính thời vụ của sản xuất lương thực của các nước khu vực này, các chuyên gia cho rằng, ngoài một số nước khu vực Đông Nam Á có thể phải đối mặt với việc khan hiếm gạo, lượng cung cầu gạo trên thị trường thế giới cũng sẽ bị thu hẹp ở mức độ nhất định, giá gạo chắc chắn sẽ tăng cao. Ủy ban Liên chính phủ về biến đổi khí hậu (IPCC) đưa ra cảnh báo là đến giữa thế kỷ này năng suất các loại ngũ cốc tại Châu Á sẽ giảm 30% (Hoang *et al*, 2018). Mỗi năm lũ lụt đã làm mất hàng triệu tấn lúa - chiếm khoảng 25% sản lượng lúa gạo, gây thất thoát hàng tỷ USD. Trong đó, phổ biến nhất là ở châu Á, nơi sản xuất hơn 90% lúa gạo thế giới. Theo thống kê mới nhất của Tổ chức Nông lương thế giới (FAO) hàng loạt hoa màu bao gồm lúa gạo bị tàn phá mang tính hủy hoại, trong đó diện tích lúa bị mất trắng ở các nước như Thái Lan khoảng 12,5%, Philippines khoảng 6%,

Campuchia khoảng 12%, Lào khoảng 7,5% và Việt Nam khoảng 0,4 %. Ở châu Á, lũ lụt đã gây thiệt hại lớn, ước tính thiệt hại 10 - 11 tỷ USD mỗi năm trong giai đoạn 2008 - 2018 (FAO, 2021). Điều này dẫn tới giá gạo tăng không chỉ ở Việt Nam mà còn trên thế giới (Le, 2016). Ở Châu Á, nếu nước biển dâng lên 1m, khoảng 25.000 km<sup>2</sup> rừng được sẽ bị ngập, 10.000 km<sup>2</sup> đất canh tác và diện tích nuôi trồng thủy sản trở thành đầm lầy ngập mặn. Ở hạ lưu Ai Cập, 6 triệu người phải di dời và 4.500 km<sup>2</sup> đất nông nghiệp bị ngập chìm trong nước. Ở Bangladesh, 18% diện tích đất nông nghiệp bị ngập ảnh hưởng đến 11% dân số. Theo ước tính của Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI), mỗi năm nông dân Ấn Độ và Bangladesh bị thiệt hại tới 4 triệu tấn thóc do lũ lụt, do nhiều giống lúa chỉ chịu ngập trong vòng chưa đầy một tuần. Còn ở Maldives hơn 80% diện tích đất thấp hơn mực nước biển và có thể bị ngập khi nước biển dâng cao.

Theo kịch bản nước biển dâng trung bình ở vùng ven biển Việt Nam có khả năng cao hơn mực nước biển trung bình toàn cầu. Khu vực giữa Biển Đông có mực nước biển dâng cao hơn so với các khu vực khác. So với khu vực phía Bắc, các tỉnh ven biển phía Nam có mực nước biển dâng cao hơn. Vào cuối thế kỷ 21, lượng mưa năm có thể tăng khoảng 7 - 8% ở Tây Bắc, Đông Bắc, Đồng bằng Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ và từ 2 - 3% ở Nam Trung Bộ, Tây Nguyên, Nam Bộ so với trung bình thời kỳ 1980 - 1999. Lượng mưa thời kỳ từ tháng ba đến tháng năm sẽ giảm từ 4 - 7% ở Tây Bắc, Đông Bắc và đồng bằng Bắc Bộ, khoảng 10% ở Bắc Trung Bộ, lượng mưa vào giữa mùa khô ở các vùng khí hậu phía Nam có thể giảm tới 10 - 15% so với thời kỳ 1980 - 1999. Lượng mưa các tháng cao điểm của mùa mưa sẽ tăng từ 10 đến 15% ở cả bốn vùng khí hậu phía Bắc và Nam Trung Bộ, còn ở Tây Nguyên và Nam Bộ chỉ tăng trên dưới 1% (Lê Thị Phụng và cs, 2017).

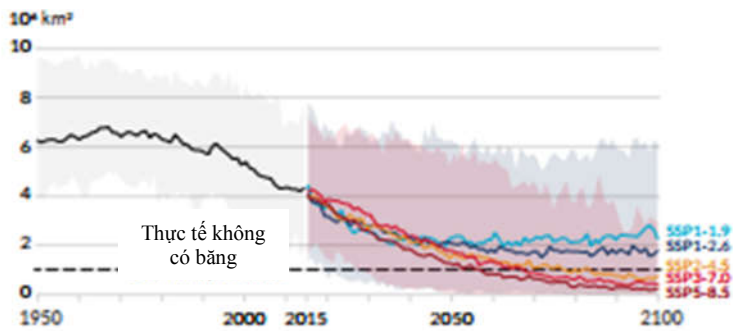
Sự thay đổi mực nước biển trung bình toàn cầu vào năm 2300 tương đối với năm 1900

a. Thay đổi nhiệt độ bề mặt toàn cầu từ năm 1850 - 1900

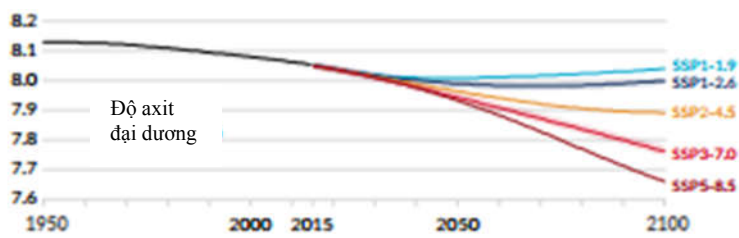


Sự thay đổi mực nước biển dâng cao hơn 15cm không thể bị loại trừ với lượng khí thải cao.

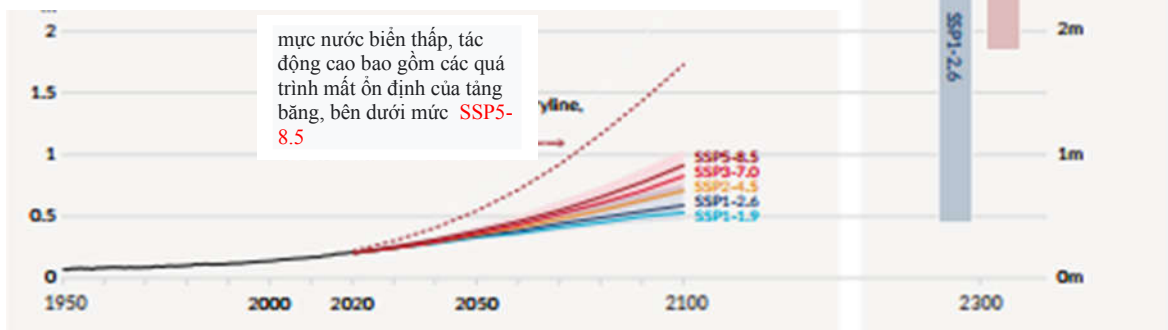
b. Băng Bắc cực vào tháng 9 từ năm 1950 đến năm 2100



c. Độ pH bề mặt đại dương toàn cầu



d. Mực thay đổi mực nước biển trung bình toàn cầu từ năm 1900



Nguồn IPCC6 (2021)

**Hình 1 1. Kịch bản BĐKH qua các giai đoạn (1950 - 2300)**

### ***1.1.2. Ảnh hưởng của BĐKH đến sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam***

Theo đánh giá của Ủy ban Liên Chính phủ về BĐKH (IPCC), Việt Nam là một trong 5 nước bị ảnh hưởng nhiều nhất bởi BĐKH. Do chúng ta có bờ biển dài hơn 3.200 km, 28 tỉnh, thành phố giáp biển nên các khu vực này đối diện với nhiều rủi ro hơn khi nước biển dâng. Cụ thể là chịu ảnh hưởng nặng nề do mực nước biển dâng, kéo theo phần lớn đất màu mỡ nhất của Việt Nam sẽ bị ngập. Theo đó, sản lượng lúa có thể giảm đáng kể do mực nước biển dâng cao và sự thay đổi lượng mưa làm thay đổi thủy học ở các vùng đồng bằng (Wassmann *et al*, 2004). Các dự báo gần đây khẳng định rằng, mực nước biển của nước ta có thể tăng thêm 22 cm vào năm 2050 và khoảng 73 cm vào năm 2100. Nếu kịch bản này xảy ra, rất nhiều vùng ven biển và vùng đất trũng sẽ bị chìm trong nước, thậm chí, có khu vực sẽ bị ngập sâu vĩnh viễn. Khoảng 10 % dân số Việt Nam sẽ bị ảnh hưởng trực tiếp khi nước biển dâng, diện tích bị ảnh hưởng vùng ĐBSCL là 38,9 % và Đồng Bằng Sông Hồng (ĐBSH) là 16,8 % (Hens *et al*, 2018).

BĐKH ngoài nước biển dâng gây ngập lụt thì hạn hán, xâm nhập mặn ngày càng gia tăng, đặc biệt ở các vùng ven biển. Việc nhiễm mặn cũng đe dọa đến nguồn nước sinh hoạt. Tình trạng nhiễm mặn hiện nay đang là vấn đề nghiêm trọng đối với vùng ĐBSCL và Cà Mau (Nguyen and Savenije, 2006). Nhiễm mặn đạt tối đa vào mùa khô khi nước rút và khi nước sông cạn. Với kịch bản biến đổi khí hậu, mực nước biển tiếp tục dâng 50 cm vào năm 2070 ở phía Nam Việt Nam, khả năng nhiễm mặn ảnh hưởng đến năng suất cây trồng và cả các cây ăn quả, thậm chí là mất mùa hoàn toàn (IMHEN, 2011). Bản đồ độ mặn ở Cà Mau vào tháng 4 năm 2016 cho thấy mức độ nhiễm mặn nghiêm trọng (6 - 24‰) là kết quả của sự tích lũy từ hàng trăm năm (SIWRR, 2016) và dự báo đến năm 2050 toàn tỉnh Cà Mau sẽ bị nhiễm mặn ở mức rủi ro. Ở ĐBSH, tình trạng xâm nhập mặn cũng đã diễn ra từ khá lâu đối với vùng xa từ vùng cửa biển. Sông Trà Lý là ví dụ điển hình bị nhiễm mặn dưới điều kiện dòng chảy thấp với khoảng cách 33,7 km tính từ biển trở vào đất liền. Tình hình càng xấu hơn khi

nước biển dâng và ảnh hưởng tới nguồn nước tưới tiêu và nước sinh hoạt ở khu vực ven biển (Nguyễn Văn Hoàng, 2017).

Sự hiện hữu của BĐKH ở Việt Nam đã và đang trở nên rõ ràng hơn bao giờ hết: cụ thể, trong giai đoạn từ 2016 - 2035, nhiệt độ trung bình trên toàn cầu có xu hướng tăng từ 0,3 - 0,7 °C và nhiệt độ ở Việt Nam cũng tăng tương đương như vậy. Nhiệt độ trong đất liền có xu hướng tăng nhanh hơn so với ở biển và nhiệt độ ở các vùng cực cũng tăng nhanh hơn so với vùng nhiệt đới (Tran Thuc *et al*, 2016). Lượng mưa/năm tăng trên hầu khắp lãnh thổ. Mức tăng phổ biến từ 10 - 20 %, riêng Tây Nguyên, Nam Trung bộ từ tăng 5 - 10 %. Lượng mưa mùa khô giảm (có nơi giảm đến 30%) và lượng mưa mùa mưa tăng (có nơi tăng từ 20 - 30 %). Ở các khu vực khác nhau lại có thể xuất hiện những ngày mưa dị thường với lượng mưa gấp đôi so với kỷ lục hiện nay. Mực nước biển cao nhất ở vùng từ Cà Mau đến Kiên Giang (82 cm), thấp nhất ở vùng Móng Cái (64 cm). Trung bình toàn Việt Nam là 72,6 cm (Bộ Tài nguyên Môi trường, 2016). Nếu mực nước biển dâng 1,0 m, khoảng 40 nghìn km<sup>2</sup> đồng bằng ven biển Việt Nam sẽ bị ngập hàng năm, trong đó có các đồng bằng nhỏ hẹp ven biển vùng Nam Trung Bộ, Việt Nam sẽ bị mất khoảng 5 % diện tích, 45 % diện tích đất nông nghiệp ở vùng ĐBSCL, 11 % diện tích ĐBSH và 3 % diện tích của các tỉnh khác thuộc vùng ven biển, 10 % GDP, 7 % sản lượng nông sản; 10,8 % dân số khoảng 22 triệu dân Việt Nam phải di tản (Lê Thị Phụng và cs, 2017).

BĐKH đe dọa nghiêm trọng đến an ninh lương thực và phát triển nông nghiệp: thu hẹp diện tích đất nông nghiệp, đặc biệt là một phần đáng kể ở vùng đất thấp đồng bằng ven biển, ĐBSH, ĐBSCL bị ngập mặn do nước biển dâng; tác động lớn đến sinh trưởng, năng suất cây trồng, thời vụ gieo trồng, làm tăng nguy cơ lây lan sâu bệnh hại cây trồng... Do tác động của BĐKH, tài nguyên nước có nguy cơ suy giảm do hạn hán ngày một tăng ở một số vùng, mùa vụ, ảnh hưởng trực tiếp đến sản xuất nông nghiệp, cung cấp nước cho sinh hoạt ở nông thôn, thành thị và thủy điện. Chế độ mưa thay đổi có thể gây lũ lụt nghiêm

trọng vào mùa mưa, và hạn hán vào mùa khô, tăng mâu thuẫn trong khai thác và sử dụng tài nguyên nước. Năm 2018, nhiều thảm họa đã liên tiếp xảy ra như bão và áp thấp nhiệt đới, lốc xoáy, lũ lụt... đã làm 218 người chết và mất tích, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng, ước tính 20 nghìn tỷ đồng (Nhat *et al*, 2019). Những trận bão mạnh còn làm hỏng các công trình thủy lợi, hệ thống đê điều và mùa màng bị tàn phá. Thời tiết lạnh sâu cũng gây thiệt hại nghiêm trọng tới cây lúa và lúa non.

Do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu, yêu cầu nguồn nước cho ngành nông nghiệp tăng lên, trong khi khả năng cung cấp nước của các công trình thủy lợi không đáp ứng đủ nguồn nước tưới, điều này càng trở nên tồi tệ đối với cây lúa. Sự thay đổi về lượng mưa và phân bố không đồng đều cũng ảnh hưởng đến sản xuất lúa và các cây trồng khác (Thanh and Viet, 2014).

### ***1.1.3. Ảnh hưởng của ngập lụt đến sản xuất lúa gạo ở Việt Nam***

Việt Nam hiện nay có khoảng hơn 98 triệu người, mật độ dân số cao ở các vùng tập trung nguồn nước như các châu thổ sông Hồng, sông Cửu Long và các cửa sông, cửa biển dọc theo miền Trung. Hoạt động sản xuất chính ở Việt Nam là nông nghiệp, thủy hải sản và diễn ra chủ yếu ở vùng nông thôn, vùng núi và vùng ven biển. Hầu hết các thiên tai gây thiệt hại cho sản xuất và đời sống ở Việt Nam đều có liên quan với sự bất thường của khí hậu và nguồn nước (Lê Anh Tuấn, 2020).

#### **➤ Vùng trồng lúa có khả năng bị ngập ở Đồng bằng Sông Hồng (ĐBSH)**

ĐBSH rộng gần 1,18 triệu ha, chiếm 3,8 % diện tích toàn quốc với một vùng biển bao quanh ở phía Đông và Đông Nam. Dân số là 22 triệu người (năm 2021), chiếm 22,2 % số dân của cả nước. ĐBSH là một trong hai vựa lúa chính của cả nước, chiếm 15 % diện tích gieo trồng và 17 % sản lượng lúa. ĐBSH và các tỉnh tại phía Bắc cũng hứng chịu nhiều thiệt hại do ngập lụt gây ra. Với cấu trúc địa hình phức tạp, hệ thống thủy lợi chưa hoàn chỉnh (Bac and Hien, 2009; Taylor and Wright, 2001), tình trạng ngập lụt cục bộ có thể diễn ra trên nhiều

vùng sản xuất lúa, gây thiệt hại nặng nề đến bà con nông dân. Gần đây nhất, tình trạng ngập úng được dự báo có thể xảy ra trên diện rộng với chiều hướng rất đáng lo ngại. Cụ thể, tổng lượng mưa phổ biến đo được tại khu vực Bắc Bộ trong giai đoạn tháng 4 - 5 năm 2018 cao hơn trung bình nhiều năm, từ 20 - 70 %, đồng thời kèm theo các đợt lũ nhỏ với biên độ lũ từ 1 - 3 m trên thượng lưu hệ thống sông Hồng. Hiện tượng nước sông dâng cao tràn vào các hệ thống tưới tiêu, ảnh hưởng đến mùa màng cũng được ghi nhận trong các năm trở lại đây, đặc biệt là Hải Dương, Vĩnh Phúc, Nghệ An, Thanh Hóa và Thái Bình (Bac and Hien, 2009; Nguyen Hoang *et al*, 2017; Taylor and Wright, 2001; Nguyễn Phương Anh và cs, 2022). Cụ thể, theo số liệu báo cáo năm 2015, mùa lũ trùng với mùa bão, làm lũ trên hệ thống sông Thái Bình chịu ảnh hưởng trực tiếp từ lũ sông Hồng. Hiện tượng sóng triều cường cộng với sóng lũ làm lũ lên nhanh và cao hơn, rút chậm hơn, đã làm ảnh hưởng của lũ đến sản xuất lúa gạo càng nghiêm trọng hơn (Bộ NN&PTNT, 2015), hơn nữa một số khu vực có nước dâng cao do bão có xu hướng dịch chuyển xuống phía Nam, ven biển các tỉnh Thanh Hóa, Hà Tĩnh sẽ là nơi mức nước dâng lớn nhất có thể lên tới 4 m (Nguyễn Phương Anh và cs, 2022)

Diện tích lúa vùng ĐBSH năm 2020 là 485 nghìn ha, dự kiến đến năm 2030 là 385 nghìn ha, giảm 100 nghìn héc ta trong vòng 10 năm. Sản lượng lúa bị mất dự kiến hơn 7,3 triệu tấn. Nhiều vùng trong ĐBSH tiếp giáp với hơn 400 km bờ biển. Nếu mực nước biển dâng cao 1 m và không có các giải pháp ứng phó, sẽ có khoảng 11 % diện tích vùng đồng bằng này có nguy cơ bị ngập và khoảng 35 % dân số bị ảnh hưởng trực tiếp. Chủ yếu thuộc các tỉnh: Hải Phòng, Nam Định, Thái Bình, Ninh Bình, Hải Dương. Hải Phòng bị ngập nặng nề nhất chủ yếu tập trung tại các huyện như: Kiến Thụy, Tiên Lãng, Thủy Nguyên, Vĩnh Bảo, Đồ Sơn....tỉnh Thái Bình ngập chủ yếu ở các huyện Thái Thụy, Tiền Hải, Kiến Xương.... tỉnh Nam Định ngập chủ yếu ở các huyện Nghĩa Hưng, Xuân Trường, Giao Thủy (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2020).

➤ **Vùng trồng lúa có khả năng bị ngập ở Đồng bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL)**

ĐBSCL là một trong ba đồng bằng trên thế giới dễ bị tổn thương nhất bởi BĐKH và nước biển dâng, bên cạnh đồng bằng sông Nile (Ai Cập) và đồng bằng sông Ganges (Bangladesh) (Hoang *et al*, 2018). Vùng ĐBSCL chiếm 52 % diện tích gieo trồng và 53% sản lượng lúa. Theo kịch bản BĐKH đến năm 2030, khi nước biển dâng 12 cm thì diện tích đất trồng lúa bị ảnh hưởng khoảng 555,7 ha, chiếm 28,8% tổng diện tích đất lúa của vùng. Diện tích gieo trồng lúa mất 574,7 nghìn ha và sản lượng lúa giảm 3,1 triệu tấn. Theo kịch bản năm 2030, nước biển dâng 17 cm, diện tích đất lúa bị ảnh hưởng khoảng 640,4 ha, chiếm 33,2% tổng diện tích đất lúa toàn vùng, tăng 0,2 lần so với kịch bản BĐKH năm 2020. Khoảng 45% diện tích của ĐBSCL đối mặt với nguy cơ nhiễm mặn. Theo đó diện tích gieo trồng lúa bị mất 690,7 ha; tương ứng sản lượng lúa bị mất 3,7 triệu tấn. Trong kịch bản BĐKH đến năm 2100; có 1,8 triệu ha diện tích đất lúa bị ảnh hưởng do BĐKH; chiếm 91,8% tổng diện tích đất lúa toàn vùng; tăng 1,8 lần so với kịch bản BĐKH năm 2030; tăng 2,2 lần so với năm 2020 (Hình 1.2). Theo đó diện tích gieo trồng lúa bị mất 2,2 triệu ha và sản lượng lúa bị thiệt hại tương ứng 55,6% tổng sản lượng lúa của vùng. Đất canh tác lúa bị ảnh hưởng nhiều nhất là các tỉnh vùng trọng điểm lúa gạo thuộc vùng Đồng Tháp Mười, tứ giác Long Xuyên như: Kiên Giang, Long An, An Giang, Đồng Tháp. Các tỉnh mất sản lượng lúa nhiều nhất là Kiên Giang, Sóc Trăng, Trà Vinh (Huong and Pathirana, 2013).

Đối với các tỉnh ven biển miền Trung, khoảng 3% tổng diện tích của khu vực có nguy cơ bị ngập, ảnh hưởng trực tiếp đến khoảng 10% số dân. Nếu nước biển dâng lên 1 m, tỉnh Quảng Trị có tới 37 km<sup>2</sup> đất bị ngập, gây hậu quả nghiêm trọng đến sản xuất nông nghiệp và sinh kế của người dân (Lê Anh Tuấn, 2020). Tổng sản lượng lương thực cả nước có thể giảm mất 30 - 35 %.





**Hình 1 2. Bản đồ nguy cơ các vùng bị ngập lụt ở ĐBSCL theo kịch bản nước biển dâng 100 cm (Tran Thuc, 2016)**

Đất nông nghiệp bị giảm và năng suất cây trồng giảm sẽ đặt ra những thách thức to lớn cho ngành nông nghiệp trong việc đảm bảo an ninh lương thực cho khoảng 98 triệu người và đóng góp cho phát triển kinh tế xã hội quốc gia, đặc biệt nông nghiệp lại đóng vai trò vô cùng quan trọng đối với nền kinh tế quốc gia như Việt Nam (Trần Thọ Đạt và cs, 2019).

Việc đưa ra các chiến lược thích nghi với BĐKH và mực nước biển dâng cho hai vùng ĐBSH và ĐBSCL có tính chất quyết định đối với nền kinh tế và an ninh lương thực của Việt Nam, góp phần đảm bảo an ninh lương thực thế giới.

## **1.2. NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ TÍNH CHỊU NGẬP CỦA CÂY LÚA**

Ngập lụt là thuật ngữ được dùng để chỉ một vùng (nơi) thường khô ráo nay bị bao phủ bởi nước và những hệ sinh thái thường xuyên bị ảnh hưởng bởi ngập lụt được gọi là vùng đất ngập nước (Muis *et al*, 2015). Các dạng ngập lụt về cơ bản có thể chia thành 4 nhóm (Panda *et al*, 2021):

- Ngập hoàn toàn (ngập lũ): xảy ra trong thời gian ngắn (10 - 14 ngày), kiểu ngập này gây ra bởi lũ quét và bị ngập bất ngờ. Ngập hoàn toàn có thể xảy ra ở bất kỳ giai đoạn nào trong thời vụ trồng lúa. Thời gian ngập lụt từ 1 đến 2 tuần và sự ngập lụt có thể xảy ra sớm ngay từ khi hạt nảy mầm trong điều kiện ruộng lúa gieo thẳng. Nhóm lúa có khả năng thích nghi với hình thức ngập này gọi là nhóm lúa chống chịu ngập hoàn toàn.

- Ngập úng trung bình: là kiểu ngập mà mực nước ngập nằm trong khoảng từ 20 - 50 cm, xảy ra trong thời gian dài từ vài tuần đến vài tháng. Loại hình ngập này được gọi với thuật ngữ quốc tế là “Stagnant flood”, nước dâng chậm, kéo dài nhiều ngày, tháng. Nhóm lúa thích nghi được trong điều kiện như vậy gọi là nhóm lúa có “khả năng vươn lóng” (elongation ability).

- Ngập úng sâu: là kiểu ngập ở mực nước ngập từ 50 - 400 cm. Nhóm lúa thích nghi trong điều kiện này được gọi là lúa nước sâu “deep water rice”, không có khả năng vượt nước, có tính cảm quang, thời gian trổ thường xảy ra sau khi nước rút.

- Ngập xen kẽ: bao gồm cả ngập hoàn toàn và ngập úng, kiểu ngập này thường hay xảy ra ở vùng đầm lầy ven biển, nơi đó thủy triều lên xuống trong ngày làm cây lúa bị ngập hoàn toàn lúc triều cường. Nhóm lúa thích nghi với điều kiện ngập này thường có chiều cao cây cao hơn các nhóm lúa không thích nghi. Vì vậy chúng có khả năng chịu nước sâu và khả năng thích ứng với lũ quét trong giai đoạn sinh trưởng.

### ***1.2.1. Một số đặc điểm hình thái, sinh lý, hóa sinh và giải phẫu liên quan đến tính chịu ngập của cây lúa***

#### ***1.2.1.1. Đặc điểm về hình thái***

Thông thường, trong điều kiện ngập cây bị biến đổi hình thái ở rễ và chồi, như sự tạo thành rễ phụ, rễ khí sinh có độ rỗng cao, nhằm tăng cường khả năng vận chuyển oxi xuống những phần bị ngập nước; tăng cường khả năng thành lập mô dẫn khí (*aerenchyma*). Trong điều kiện ngập, sự sinh trưởng của chồi có thể

bị ức chế hoặc tăng cường. Nghiên cứu trên cây lúa mì ở điều kiện ngập cho thấy, sinh khối khô của chồi và rễ giảm, tỉ lệ rễ/chồi của cây cũng giảm đáng kể so với cây đối chứng, chứng tỏ rằng sự sinh trưởng của rễ bị ảnh hưởng nghiêm trọng hơn so với chồi (Haque *et al*, 2011; Malik *et al*, 2011). Chồi thứ phát tạo thành, có khả năng hỗ trợ hấp thu nước và dinh dưỡng cũng như vận chuyển khí hiệu quả hơn (Striker, 2012). Rễ thứ phát có thể phát triển từ mô không phải mô rễ trong quá trình phát triển bình thường, hoặc dưới tác động của các điều kiện ngoại cảnh, bao gồm điều kiện ngập lụt. Đối với lúa nước sâu, sự kéo dài của rễ thứ phát được bắt đầu sau 8 đến 10 giờ khi bị ngập hoàn toàn và ethylene được cho là kích thích sự tạo thành rễ thứ phát thông qua thúc đẩy quá trình chết của các tế bào biểu bì bao phủ chóp rễ (Lorbiecke and Sauter, 1999; Mergemann and Sauter, 2000; Ichsan *et al*, 2021).

Hầu hết các giống lúa phản ứng khi bị ngập lụt bằng cách kéo dài lóng. Sự thay đổi này được coi là “thoát lũ”, làm cho cây lúa phục hồi trao đổi chất hiếu khí và cố định quang hợp bằng cách nâng cao các chồi ở trên mặt nước (Ram *et al*, 2002; Jackson and Ram, 2003). Trong nghiên cứu của tác giả Ichsan và cs, (2021) về các thay đổi hình thái và sinh lý của cây lúa trong điều kiện ngập, cho thấy ở giai đoạn sinh trưởng các yếu tố tham gia vào quá trình sinh trưởng của cây đều bị ảnh hưởng, như số nhánh, chiều cao cây, tốc độ sinh trưởng tương đối, độ dài lóng, *Chlorophyll a,b*.

#### 1.2.1.2. Đặc điểm về sinh lý, sinh hóa

Cơ chế sinh lý giải thích hiện tượng đáp ứng của cây trồng đối với điều kiện bất lợi và nhằm mục đích cải tiến cấu trúc, hoạt động sinh lý, sinh hóa của cây, giúp cây thoát khỏi, hoặc né tránh, hoặc chống chịu sự thiệt hại do điều kiện bất lợi gây ra.

Khi bị ngập hàm lượng oxi trong nước giảm xuống dưới mức thích hợp cho cây trồng sinh trưởng được gọi là điều kiện yếm khí một phần (*hypoxia*). Hiện tượng này xảy ra khi bộ rễ của cây trồng bị ngập trong một thời gian ngắn

nhưng thân của chúng vẫn còn ở trên mặt nước. Khi oxi không còn hiện diện ở trong nước thì được gọi là yếm khí toàn phần (*anoxia*) (Ahmed *et al*, 2013; Voesenek and Bailey - Serres, 2013). Sau khi đất bị ngập nước hàm lượng oxi giảm nhanh tới mức chỉ trong vòng một ngày là có thể không phát hiện được oxi. Trong khi đó hàm lượng các tác nhân gây độc cho cây trồng và gây tổn thương vùng rễ như  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Mn}_2^+$ ,  $\text{Mn}_4^+$ ,  $\text{Fe}_2^+$ ,  $\text{CO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{S}^-$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2$ , ethanol, các sản phẩm biến dưỡng của vi sinh vật,... lại gia tăng nhanh chóng khi đất bị ngập nước (Fukao and Xiong, 2013; Nishiuchi *et al*, 2012). Nhiều tác giả nghiên cứu biến dưỡng trên cây trồng khi bị ngập cho thấy (i) hô hấp: chuyển từ hiếu khí sang yếm khí gây ra sự khủng hoảng về mặt năng lượng vì chỉ tạo được 2ATP từ một glucose so với 36ATP trong điều kiện hiếu khí (Nishiuchi *et al*, 2012; Voesenek and Bailey - Serres, 2013). Chính sự lên men yếm khí đã dẫn tới sự tích lũy các hợp chất gây độc cho tế bào như ethanol và lactic; (ii) quang hợp: giảm rất nhanh ở những loài mẫn cảm, khí khổng đóng làm giảm sự bốc thoát hơi nước, thay đổi sự phân bố các sản phẩm quang hợp dẫn đến hiện tượng “đói carbohydrate” ở rễ; (iii) dinh dưỡng: giảm vận chuyển các nguyên tố dinh dưỡng đến lá, hàm lượng ATP thấp làm giảm quá trình hấp thu dinh dưỡng chủ động, điều kiện yếm khí trong đất dẫn đến sự thay đổi độ hữu dụng của các nguyên tố đa lượng; (iv) các chất điều hòa sinh trưởng: giảm sự vận chuyển cytokinin và gibberellin từ rễ đến lá nhưng đối với ABA và ethylene thì ngược lại, hàm lượng auxin gia tăng ở chồi nhưng giảm ở rễ (Fukao and Xiong, 2013; Nishiuchi *et al*, 2012; Steffens *et al*, 2013).

Trong điều kiện ngập hoàn toàn, các cơ quan của cây giảm đột ngột tốc độ khuếch tán khí, hạn chế dẫn oxi vào và do vậy quá trình quang hợp cũng bị giảm, quá trình hô hấp tăng nhanh lấy hết nguồn carbohydrate dự trữ, dẫn đến cây bị chết (Das *et al*, 2009). Điều này là do sự trao đổi khí bị giảm trong điều kiện ngập. Hơn nữa, nguồn nước bị ngập đục làm ánh sáng không thể xuyên qua cũng là nguyên nhân quá trình quang hợp bị giảm (Yang *et al*, 2017). Theo tác

giả Panda và cs (2008), khi không được tiếp xúc với không khí, *Chlorophyll* bị phân hủy, khí khổng đóng lại, lipid phân hóa và nồng độ CO<sub>2</sub> nội bào giảm đi cũng là nguyên nhân dẫn tới quang hợp của cây bị giảm. Việc giảm tốc độ quang hợp tới đa 95% quan sát được ở giống lúa IR42 miễn cảm với điều kiện ngập và giảm thấp nhất 74,8% ở giống lúa chịu ngập FR13A khi so sánh với các cây đối chứng không ngập sau 8 ngày ở điều kiện ngập hoàn toàn (Panda *et al*, 2008). Khả năng quang hợp cao hơn ở các giống chống chịu ngập là do sự bảo vệ của các cơ quan quang hợp, như hàm lượng *Chlorophyll* cao hơn, độ dẫn khí của khí khổng tốt hơn sau khi ngập so với giống miễn cảm với điều kiện ngập IR42 (Panda and Sarkar, 2017).

Cơ chế chịu ngập tốt còn liên quan tới sự tích lũy của carbohydrate phi cấu trúc. Thành phần phi cấu trúc carbohydrate là cần thiết cho sự sống sót của cây trong các điều kiện bất lợi. Nồng độ carbohydrate trong thân trước khi ngập được xem là một tính trạng chính cho khả năng sống sót trong điều kiện ngập (Panda and Sarkar, 2014). Nguồn carbohydrate dự trữ trong cây được sử dụng để cung cấp năng lượng cần thiết cho duy trì sự tồn tại của cây trong khi ngập. Các nhóm nghiên cứu cho thấy các giống chịu ngập chứa 30 - 50 % nguồn carbohydrate dự trữ (Sarkar, 2006; Afrin *et al*, 2018; Perata, 2018; Xuan and Khang, 2018).

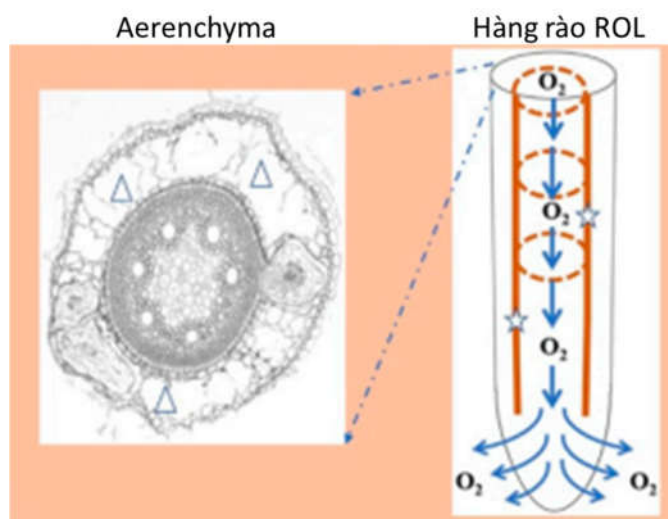
Các thành phần hoóc môn của cây như khí *ethylene*, axit gibberellic, axit abscisic được xem là đóng vai trò quan trọng thông qua hoạt động hợp lực và đối kháng cho sự tồn tại của cây trong điều kiện ngập (Huang *et al*, 2019). Hoạt động của *ethylene* và axit gibberellic kích thích cây sinh trưởng kéo dài trong điều kiện ngập (Voeselek *et al*, 2013; Goswami *et al*, 2017). Ethylene làm tăng sự đáp ứng của mô sinh trưởng đối với axit gibberellic bằng cách giảm axit abscisic, chất đối kháng mạnh của axit gibberellic, giúp cây tăng cường khả năng chịu ngập (Du *et al*, 2014; Locke *et al*, 2018). Việc thử nghiệm ức chế sinh

tổng hợp gibberellin trước khi ngập giúp làm tăng tỉ lệ sống của cây bị ngập nhiều lần.

Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) của cây giữ một vai trò then chốt trong điều kiện ngập, là một phân tử truyền tín hiệu, điều hòa các quá trình sinh lý khác nhau (Fukao *et al*, 2019). Phân tử này làm giảm mức độ ức chế trong điều kiện thiếu sáng, và có thể thay đổi mức độ biểu hiện của hàng trăm gen trong cây trồng (Yun *et al*, 2010). Hoạt động của peroxidase ở bẹ lá lúa gia tăng từ trước khi bị ngập cho đến sau khi bị ngập trong tất cả các giống thử nghiệm. Sự gia tăng này càng mạnh trong giống chống chịu. Nhưng hoạt động peroxidase trong lá và rễ của giống không chống chịu tỏ ra suy giảm trong quá trình bị ngập, trong khi đó, peroxidase gia tăng một ít trong giống chống chịu (Fukao *et al*, 2019).

#### 1.2.1.3. Đặc điểm về giải phẫu

Trong điều kiện ngập lụt, oxi trong đất và trong rễ cây bị giảm, dẫn đến các hoạt động trao đổi chất bị hạn chế đáng kể để giúp cây tồn tại và phát triển. Do vậy, lượng mô dẫn khí *Aerenchyma* và hàng rào ROL (radial oxygen loss) ở rễ cây được hình thành giúp ngăn chặn oxi bị giảm từ gốc cây (hình 1.3). Mô dẫn khí là một dạng tế bào đặc biệt của rễ thường hiện diện ở những loài thực vật sống ở vùng đất ngập nước và một số ít loài trên cạn khi bị ngập nước (Evans, 2003). Ở thực vật có hai cơ chế để hình thành mô dẫn khí (a) lysogenic aerenchyma: tế bào vùng biểu bì rễ sinh trưởng lớn đến một mức độ nào đó rồi chết đi để lại một khoảng trống, các khoảng trống này nối lại với nhau thành ống dẫn khí (b) schizogenic aerenchyma: được tạo ra khi các tế bào trong vùng biểu bì rễ tách rời nhau ra mà không thành lập thêm các tế bào mới, hiện tượng này gia tăng “độ rỗng” hay “độ xốp” của rễ làm cho sự khuếch tán khí xuống rễ một cách hữu hiệu hơn (Marschner, 1995).



**Hình 1 3. Cơ chế giải phẫu của cây lúa trong điều kiện ngập: sự hình thành tế bào aerenchyma và hàng rào ROL (Jia et al, 2021)**

Cùng với *Aerenchyma*, sự hình thành hàng rào ROL cũng góp phần tăng hiệu quả vận chuyển oxi từ chồi tới rễ. Hàng rào ROL thường hình thành ở rễ của các cây chịu ngập và có thể làm giảm oxi bị mất trong quá trình vận chuyển từ chồi tới chóp rễ, đồng thời ngăn cản sự xâm nhập của các độc tố từ đất vào cây. Cây lúa sinh trưởng trong môi trường ngập úng không có oxi làm tăng sự phát triển của hàng rào ROL ở rễ phụ (Colmer, 2003). Rễ phụ dài thúc đẩy sự tạo thành hàng rào ROL và phát triển nhanh chóng trong vòng 24 giờ dưới điều kiện không khí bị giảm, rễ ngắn tuy nhiên cũng hình thành các hàng rào bảo vệ nhưng chậm hơn, thường sau 48 giờ. Các axit hữu cơ trong đất tạo bởi các vi sinh vật yếm khí trong điều kiện ngập cũng góp phần thúc đẩy sự hình thành hàng rào ROL ở rễ lúa.

### **1.2.2. Cơ chế di truyền ở các giai đoạn ngập**

#### **1.2.2.1. Ngập hoàn toàn (ngập lũ)**

Trong giai đoạn này mầm là khả năng của hạt lúa có thể chịu ngập ở giai đoạn gieo sạ. Hạt lúa có thể nảy mầm dưới điều kiện kỵ khí ở một mức độ nhất định, nhưng quá trình này không còn được diễn ra ở đất bị ngập sau khi hạt đã nảy mầm. Nảy mầm kỵ khí là khả năng của hạt có thể nảy mầm trong điều kiện

thiếu oxi, sử dụng năng lượng bằng trao đổi chất hiếm khí. Kiểu chịu ngập này thích nghi với các điều kiện ngập khác nhau, tuy nhiên nhiều giống lúa rất mẫn cảm với điều kiện yếm khí trong quá trình nảy mầm và sinh trưởng sớm của phôi (Ray *et al*, 2016). Kéo dài lá mầm giữ vai trò quan trọng để hạt tiếp xúc với không khí, rễ phát triển vào thời điểm lá mầm nhô lên không khí. Kiểu chịu ngập này dựa trên sự kéo dài lá mầm nhanh, tốc độ nảy mầm nhanh, ức chế “gen phân hủy thành tế bào”, tăng hoạt động amylase và hô hấp kỵ khí (Barik *et al*, 2019; Mondal *et al*, 2020; Panda *et al*, 2017). Các kiểu gen chịu ngập dạng này có khả năng thủy phân tinh bột để chuyển hóa đường thành năng lượng thông qua quá trình đường phân và lên men. Hai QTL *AG1* và *AG2* liên kết với tính chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm được chuyển vào cây lúa, kết hợp với tiền xử lý hạt bằng cách ngâm ủ trước sẽ làm tăng khả năng nảy mầm và sinh trưởng của cây con (Mondal *et al*, 2020).

Chọn giống để làm tăng khả năng chịu ngập ở giai đoạn nảy mầm và cây con đã được các nhà khoa học nghiên cứu trong khoảng ba thập kỷ qua (Barik *et al*, 2019). Tuy nhiên, thành công của hướng nghiên cứu này vẫn còn hạn chế do nền di truyền phức tạp và phương pháp sàng lọc hiệu quả vẫn chưa có sẵn. Một số QTLs đã được xác định, là *qAG1.2* trên nhiễm sắc thể số 1, *qAG3.1* trên nhiễm sắc thể số 3, *qAG7.2* trên nhiễm sắc thể số 7 và hai QTLs *qAG9.1* và *qAG9.2* trên nhiễm sắc thể số 9. Các QTLs trên có thể mang lại 17,9% đến 33,5% sự khác biệt về kiểu hình. QTL *qAG9.2* cho đa hình lớn nhất, việc nhân dòng và xác định chức năng của gen (*OsTPP*) mã hóa cho QTL cũng đã được thực hiện (Kretzschmar *et al*, 2015), gen này liên quan tới quá trình trao đổi chất của trehalose-6-phosphate giúp chuyển hóa tinh bột và kéo dài chồi nhanh trong điều kiện yếm khí, dẫn đến khả năng chịu ngập của cây trong giai đoạn nảy mầm được tăng cường (Singh *et al*, 2017). QTL này cũng đã được chuyển vào các giống lúa có năng suất cao (Toledo *et al*, 2015). Một số nghiên cứu khác về lập bản đồ QTL này chú trọng vào khả năng chịu ngập trong giai đoạn nảy mầm



của lúa. QTL trong giai đoạn nảy mầm *qSub8.1*, có nguồn gốc từ Ciherang-Sub1, được xác định từ lập bản đồ quần thể con lai giữa Ciherang-Sub1 và IR10F365. Ciherang-Sub1 được hình thành từ cặp của Ciherang và IR64-Sub1. Bảng phân tích thông tin trình tự của Ciherang-Sub1 với 2 cây bố mẹ và so sánh toàn bộ hệ gen của các giống này với hệ gen tham chiếu Nipponbare và Minghui 63, kết quả cho thấy vùng *qSub8.1* có nguồn gốc chủ yếu từ Ciherang, kèm theo đoạn được chèn vào từ IR64-Sub1 và nguồn không xác định được (Liang *et al*, 2021).

Ngập hoàn toàn (ngập lũ), nghĩa là cây bị ngập hoàn toàn trong thời gian ngắn, khoảng từ một đến hai tuần, sau đó chúng có thể phục hồi sau khi nước rút, là kiểu ngập phổ biến nhất và gây thiệt hại lớn nhất trong giai đoạn sinh trưởng của lúa (Sasidharan *et al*, 2018 ; Biswajit *et al*, 2017). Dạng ngập này cũng thường được coi là “ngập lũ” và xảy ra ở vùng đất trũng có mura, bị lũ quét, hay vùng bị ngập bất ngờ. Hầu hết các giống lúa không có khả năng chịu ngập hoàn toàn và bị thiệt hại nghiêm trọng nếu bị ngập hoàn toàn từ 3 ngày trở lên do độ đục của nước ngập (Afrin *et al*, 2018 ; Azarin *et al*, 2017).

Cơ chế thích nghi với hình thức ngập này là cây trồng sẽ hạn chế tích lũy các chất gây độc đối với chúng và chịu đựng với các độc tố này. Cây lúa chống chịu được với ngập hoàn toàn là do bảo tồn được năng lượng nhờ hạn chế sự kéo dài của rễ, thân và lá để cây tiếp tục tăng trưởng sau khi giảm mức nước (Ahmed *et al*, 2013 ; Pradhan *et al*, 2015). Những giống lúa như vậy có khả năng chịu được ngập úng từ 10 - 14 ngày.

Cơ chế phân tử của “ngập lũ” được kiểm soát bằng gen *Sub1A*, hình thành để đáp ứng hàm lượng ethylene tăng cao, tích tụ trong quá trình bị ngập, để kìm hãm cả quá trình sản xuất ethylene và khả năng đáp ứng gibberellic acid (GA), dẫn đến sự ức chế kéo dài lóng trong quá trình bị ngập chìm. Khả năng đáp ứng GA giảm là do sự tích lũy protein Della chẳng hạn như slender rice1 (SLR1), thành phần kìm hãm sự đáp ứng của GA (Fukao and Bailey-Serres, 2008). Gen

*Sub1A-1* làm tăng hàm lượng brassinosteroid (BR) sau khi bị ngập bằng cách điều hòa phiên mã của gen tổng hợp BR, và điều này gây nên sự ức chế GA do chuyển hóa enzyme bất hoạt GA OsGA2ox7 (Schmitz *et al*, 2013). Hơn nữa, nghiên cứu gần đây cho thấy *Sub1A* ngăn chặn quá trình chuyển hóa carbohydrat và nitơ và kiểm soát phản ứng đối với các hóc môn điều hòa sinh trưởng ở lá trong điều kiện stress ngập (Alpuerto *et al*, 2022).

Khả năng chịu ngập hoàn toàn là một tính trạng di truyền giúp cây lúa phục hồi sau khi bị ngập hoàn toàn trong nước (10 - 14 ngày). Cây có thể sống mà không cần phải vươn lóng. Rất ít giống lúa cổ truyền Việt Nam được ghi nhận có khả năng này. Một trong những nguồn gen lúa chịu ngập nổi tiếng là giống lúa bản địa của Ấn Độ với tên gọi FR13A (Septiningsih *et al*, 2013; Singh *et al*, 2017). Giống này được các nhà chọn giống trên thế giới sử dụng từ những năm 1970. Tuy nhiên, cơ sở di truyền của tính chống chịu ngập vẫn chưa được khám phá (Ahmed *et al*, 2013; Singh *et al*, 2017a). Hai nhóm tác giả nghiên cứu độc lập sử dụng các dòng tự thụ tái tổ hợp từ giống FR13A để lập bản đồ di truyền tính chịu ngập. Kết quả các tác giả đã tìm ra được QTL *Sub1*, xuất phát từ giống FR13A, nằm trên nhiễm sắc thể số 9 là QTL chính liên quan đến khả năng chống chịu ngập hoàn toàn 2 - 3 tuần ở cây lúa (Perata, 2018; Singh *et al*, 2017a). QTL này có ngưỡng phát hiện (LOD) có ý nghĩa khoảng 36 % và đóng góp 69 % sự khác biệt kiểu hình tính trạng chịu ngập (Septiningsih *et al*, 2009; Bin *et al*, 2016; Dixit *et al*, 2017). Một số nghiên cứu sau này cũng khẳng định rằng QTL *Sub1* đóng góp lớn cho khả năng chịu ngập và các QTLs khác đóng góp dưới 30 % vào tính trạng chịu ngập (Gonzaga *et al*, 2016). QTL *Sub1* đã được lập bản đồ một khoảng dài 0,16 cM trên nhiễm sắc thể số 9 bằng 3000 con lai thuộc thế hệ F2 (Xu *et al*, 2000). Trong hầu hết các trường hợp, chỉ thị indel ART5 là đủ để lựa chọn cá thể mang QTL *Sub1* (Septiningsih *et al*, 2009; Iftekharruddaula *et al*, 2011). Sự có mặt của các chỉ thị SC3 hoặc ART5 ở gần như tất cả các giống có QTL *Sub1* với một số khác biệt cụ thể về alen. Sau đó,

vùng QTL *Sub1* đã được các tác giả tách dòng (clone) và chia thành ba gen theo yếu tố đáp ứng ethylene gồm: *Sub1A*, *Sub1B*, và *Sub1C* (Perata, 2018; Septiningsih *et al*, 2012; Sharma *et al*, 2018). Trong đó, *Sub1A* được chứng minh là gen chủ đạo giúp cây lúa chống chịu ngập hoàn toàn (Locke *et al*, 2018; Perata, 2018). Ngoài ra, gen *Sub1A* còn có tác dụng làm tăng sự biểu hiện của gen *SLRI* và *SLRL1* gây ức chế sự tổng hợp GA3 ở cây lúa dẫn đến giảm khả năng vươn lóng và kéo dài của chồi trong điều kiện ngập (Fukao and Bailey-Serres, 2008). Cho đến nay SC3 là một trong những chỉ thị SSR theo chiều xuôi của gen *Sub1A* thường được sử dụng (Iftekharruddaula *et al*, 2011). Khảo sát sự có mặt của gen chịu ngập ở các giống lúa khác nhau các nhà nghiên cứu thấy rằng, gen *Sub1B*, *Sub1C* có ở tất cả các giống lúa trồng *O. sativa*, còn gen *Sub1A* chỉ có ở một số giống lúa địa phương chịu ngập và lúa hoang *O. nivara* và *O. rufipogon* (Fukao *et al*, 2009). Phân tích tiến hóa sâu dựa trên gen *Sub1A-1* và tính trạng chịu ngập hoàn toàn của lúa hoang đã được thực hiện bằng giải trình tự các gen liên quan đến *Sub1A*. Các alen *Sub1A-1* có mặt trong một số các loài lúa *O. nivara* và *O. rufipogon*, thuộc nhóm gen AA, cùng với lúa *O. sativa* (Zhao *et al*, 2018). Dựa vào sự phân bố địa lý của các nguồn chứa gen *Sub1A-1*, cho thấy *Sub1A-1* có lẽ xuất phát từ Ganges Basin và sau đó liên tiếp lan ra các vùng khác của Nam Á (Pucciariello and Perata, 2013). Trong khi đó, *Sub1A-1* không phát hiện trong các loài lúa đại chịu ngập với hệ gen CC (*O. Rhizomatis* và *O. eichingeri*) và hệ gen CCDD (*O. grandiglumis*) (Okishio *et al*, 2015), chứng tỏ rằng sự có mặt của *Sub1A* không phụ thuộc vào cơ chế của *Sub1A* trong các giống lúa. Cơ chế độc lập của *Sub1A* góp phần vào chọn giống lúa với khả năng chịu ngập tốt.

Nghiên cứu để quy tụ QTL/gen *Sub1* chịu ngập vào các dòng chịu hạn (có chứa các QTL chịu hạn) nhằm đánh giá ảnh hưởng của sự kết hợp các QTL trong việc nâng cao tính trạng hình thái - sinh lý và sự sống sót của cây trong điều kiện ngập. Nghiên cứu này được thực hiện trên giống IR64-Sub1 có QTL

*Sub1* và *UKM5* và *UKM91* có các QTL chịu hạn (*qDTYs*). Kết quả các dòng chọn tạo ra cho thấy có tỷ lệ sống sót cao hơn từ 90 – 100 %, phần trăm kéo dài lóng thấp hơn và phần trăm của chlorophyll ít hơn so với *IR64-Sub1*. Điều này chứng tỏ sự kết hợp các QTL cho hiệu quả phù hợp với cả sức sống sót và các tính trạng hình thái - sinh lý (Mohd Ikmal *et al*, 2021).

#### 1.2.2.2. Ngập úng trung bình

Ngập úng đã từng là một vấn đề chính cho việc sản xuất lúa và đặc biệt ở các vùng trũng, nơi mà nước úng ở các cánh đồng trong suốt cả vụ sản xuất và cạn nước trước khi thu hoạch (Singh *et al*, 2017; Zhu *et al*, 2019).

Ngập úng trung bình là khi mực nước trong khoảng từ 20 đến 50 cm và thời gian ngập kéo dài trong khoảng từ vài tuần đến vài tháng (Kuanar *et al*, 2017; Oladosu *et al*, 2020). Không giống như ngập hoàn toàn, ít nhất 5% của cây lúa luôn luôn được duy trì ở trên mặt nước. Khả năng sống sót và sinh trưởng của cây khi bị ngập trong điều kiện này là trung bình, nên các nghiên cứu chưa tập trung nhiều vào hình thức ngập này so với các hình thức ngập khác (Kuanar *et al*, 2017; Panda *et al*, 2019).

#### 1.2.2.3. Ngập úng sâu

Ngập sâu là khi mực nước tích tụ trong thời gian lâu hơn và mực nước ngập từ 0,5 mét đến 4 mét. Lúa bị ngập sâu có khả năng thích nghi với điều kiện ngập bằng cách kéo dài lóng và lá nhanh để vượt lên trên mặt nước trong thời gian ngắn, để cây có thể quang hợp và trao đổi khí. Lúa trồng trong các khu vực ngập sâu như vậy được coi là lúa nước nổi và với mực nước tăng, cây cũng có thể tăng 25 cm mỗi ngày (Azarin *et al*, 2017; Singh *et al*, 2017) và có thể đạt độ cao tối đa 5 mét để tránh bị ngập hoàn toàn.

Cơ chế thích ứng của cây trong hình thức ngập úng trung bình hoạt động tương tự như ngập úng sâu, gọi là cơ chế “thoát lũ” hay “vượt lũ” (escape strategy). Trong cơ chế này cây lúa sẽ tránh tác động tiêu cực của ngập lũ bằng

cách vận chuyển oxi từ thân xuống rễ nhờ các khoang không khí kết nối theo chiều dọc hoặc các mô dẫn khí (*aerenchyma*) (Iftekharruddaula *et al*, 2015, Singh *et al*, 2017). Oxi khuếch tán qua các mô dẫn khí tới mô phân sinh đỉnh của rễ để sử dụng trong quá trình hô hấp. Để ngăn ngừa sự khuếch tán oxi xuyên tâm tới các vùng rễ, một hàng rào dày đặc các lớp tế bào ngoại biên được hình thành bên ngoài các mô dẫn khí. Theo một số các nhà nghiên cứu cho rằng, các lớp tế bào này còn có tác dụng ngăn cản các chất độc hại thâm nhập vào rễ từ môi trường đất yếm khí (Voeselek and Bailey-Serres, 2013).

Các giống lúa AC39416A, AC85, AC34280, Sabita, AC736 và AC443 là các giống có năng suất ổn định trong điều kiện ngập úng (Kuanar *et al*, 2017). Hai gen *SNORKEL1* và *SNORKEL2* có chức năng thúc đẩy kéo dài lóng bằng cách tăng cường sinh tổng hợp gibberellic acid, đã được tách dòng (Loreti and Perata, 2020; Minami *et al*, 2018). Một số giống lúa có gen *Sub1* được xác định là có khả năng chịu ngập úng (Kato *et al*, 2020). Một số nghiên cứu tại NRRI (Natural resources research Institute - Viện nghiên cứu Tài nguyên thiên nhiên) đã sàng lọc 1005 bộ gen dưới điều kiện ngập úng và đã xác định được 35 bộ có trên 75 % độ ổn định năng suất, 48 giống có khả năng chống chịu ngập trung bình với sự ổn định năng suất trong khoảng từ 50 – 75 %, và số còn lại là các giống mẫn cảm với điều kiện ngập úng (Sarkar *et al*, 2017).

Các gen có khả năng nhân đôi được phân loại là nhân tố kéo dài (*ef1* và *ef2*), kích thích kéo dài lóng. Gần đây, Kuroha và cs, (2017) đã sử dụng phương pháp lập bản đồ eQTL (expression QTL) toàn bộ hệ gen dựa trên 85 cá thể RIL của cặp lai giữa “Taichung 65” và “Bhadua”, xác định được 10.047 eQTL, chủ yếu ở NST số 1, 4 và 12. Một số QTL liên kết với tính trạng năng suất và các tính trạng nông học quan trọng khác trong điều kiện ngập úng sẽ được đánh giá

thêm như là mục tiêu cho các nghiên cứu phân tử và chọn giống phân tử (Singh *et al*, 2017).

#### *1.2.2.4. Ngập xen kẽ*

Một số giống lúa có khả năng thích ứng được cả lũ quét trong giai đoạn sinh trưởng của cây và ngập úng lên đến 80 cm vào cuối vụ, chẳng hạn như giống Khao Tah Haeng 17 và Leuang Pratew 123. Vùng bị ngập cả hai hình thức trên gọi là ngập xen kẽ, như vùng đầm lầy ven biển, nơi đó thủy triều lên xuống trong ngày làm cây lúa bị ngập lúc triều cường. Đặc điểm chính giúp cây lúa chịu ngập loại này là do cây có chiều cao lớn (150 - 180 cm), chịu được độ sâu của nước lên đến 80 cm. Tuy nhiên, nhóm giống này lại không có đặc tính kéo dài lông, tính trạng này là quan trọng đối với cây trồng ở vùng trũng nhưng bất lợi khi cây bị ngập lũ trong thời gian ngắn (Puckridge, 2001).

### **1.3. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ KẾT HỢP LAI TRỞ LẠI (MABC) VÀ ỨNG DỤNG TRONG CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG**

#### *1.3.1. Chỉ thị phân tử (CTPT)*

Để phân biệt các cá thể khác nhau của cùng một loài, người ta thường dùng chỉ thị di truyền. Chỉ thị di truyền là bất kỳ tính trạng, đặc điểm hay thuộc tính nào, nếu chúng hội đủ hai điều kiện: 1) Có thể di truyền lại cho các thế hệ sau; 2) Có thể sử dụng được để đánh giá, so sánh, phân biệt các cá thể, quần thể hay nhóm các quần thể. Chỉ thị di truyền rất hữu ích trong việc nghiên cứu sự thừa kế những dấu hiệu di truyền và sự biến đổi của chúng trong quần thể. Vì thế chúng được sử dụng trong nhận dạng cá thể, đa dạng di truyền, phân loại học, bản đồ di truyền... Đặc biệt những chỉ thị liên quan đến tính trạng nông sinh học có lợi cho con người được sử dụng như phương tiện trợ giúp đắc lực cho công tác chọn giống cây trồng.

Chỉ thị di truyền phân loại thành 3 nhóm: chỉ thị hình thái, chỉ thị sinh hóa và chỉ thị phân tử (CTPT) ADN. CTPT ADN là những chỉ thị có bản chất

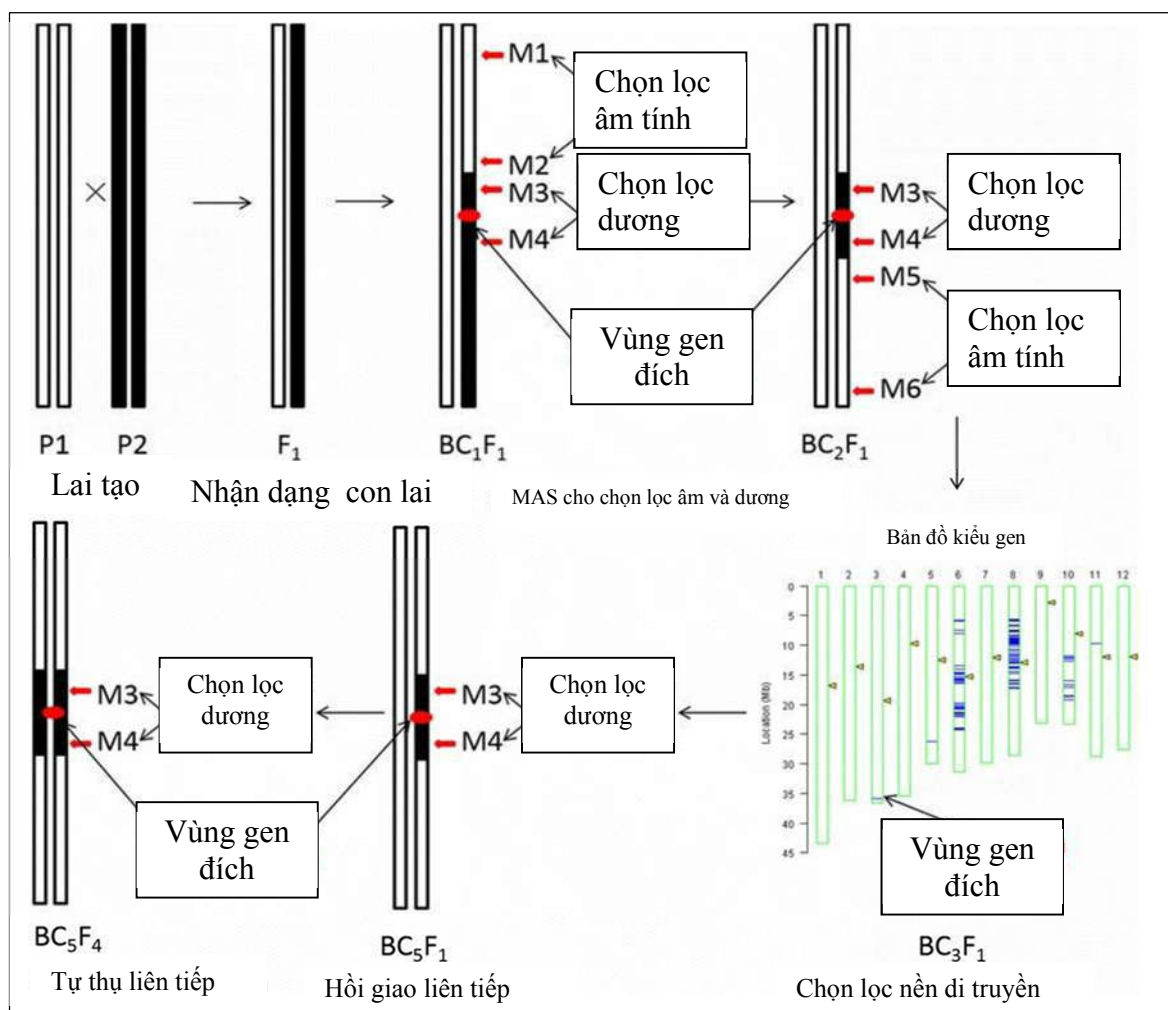
là đa hình. Các loại CTPT hiện nay gồm có: chỉ thị RFLP (Restriction fragment length polymorphism - Đa hình chiều dài mảnh phân cắt giới hạn); chỉ thị RAPD (Randomly Amplified Polymorphic ADNs - Đa hình các đoạn ADN khuếch đại ngẫu nhiên); chỉ thị AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism - Đa hình chiều dài các đoạn ADN nhân bản chọn lọc); chỉ thị STS (Sequence Tagged Site - Xác định vị trí trình tự đã được đánh dấu); chỉ thị RGA (Resistance Gene Analog - Vùng tương đồng gen kháng); chỉ thị SNPs (Single nucleotide polymorphism - Đa hình của các nucleotit đơn) và chỉ thị SSR (Simple Sequence Repeats - Sự lặp lại của trình tự đơn giản).

SSR là chỉ thị khuếch đại các đoạn lặp lại đơn giản hay còn gọi là vi vệ tinh (Microsatellites). Vi vệ tinh là những đoạn ADN lặp lại một cách có trật tự, gồm những đơn vị lặp lại từ 2 - 6 nucleotide, theo kiểu lặp lại ngắn và vài chục lần. Ưu điểm của chỉ thị SSR là dễ thực hiện, ít tốn kém. SSR là chỉ thị đồng trội có khả năng phát hiện đa hình rất cao và đặc trưng cho loài. Chỉ thị SSR chính xác và hữu hiệu trong nghiên cứu đa dạng di truyền, phân loại các giống vật nuôi, cây trồng khác nhau trong cùng một loài động vật hay thực vật. Người ta sử dụng chỉ thị SSR trong phân tích hệ gen để chọn giống, xây dựng bản đồ liên kết gen, chọn lọc tính kháng bệnh, nghiên cứu một số tính trạng liên quan đến năng suất cây trồng, các bệnh hại và sử dụng trong việc phân định sự sai khác giữa các giống trong cùng một loài phụ do khả năng cho phép đánh giá mức độ alen thuộc một locut.

### ***1.3.2. Phương pháp chọn giống MABC***

MABC, phương pháp chọn giống nhờ chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại được sử dụng rộng rãi trong những năm gần đây và đã mang lại nhiều thành công trong chọn tạo giống cây trồng. Mục đích của MABC là chuyển một hoặc một vài gen/QTL quan tâm từ một nguồn vật liệu di truyền vào các dòng/giống cây trồng ưu tú để cải tiến tính trạng mục tiêu (Neeraja *et al*, 2007). Không giống phương pháp lai trở lại truyền thống, MABC được dựa trên các chỉ thị

ADN có mối quan hệ hoặc liên kết với gen/QTL quan tâm thay vì chỉ đánh giá kiểu hình tính trạng mục tiêu như phương pháp lai trở lại truyền thống. Hiệu quả của MABC phụ thuộc vào một số yếu tố như kích thước quần thể của mỗi thế hệ lai trở lại, mối liên quan giữa gen - chỉ thị hoặc khoảng cách giữa chỉ thị với locus mục tiêu, số lượng chỉ thị được sử dụng đối với tính trạng nghiên cứu và nền di truyền cây nhận gen và liên kết theo chiều hướng không mong muốn (Wang *et al*, 2005).



**Hình 1 4. Sơ đồ cho chọn giống bằng phương pháp MABC**

*Chú thích: M3 và M4 là các chỉ thị cho chọn lọc dương (positive selection), còn gọi là chọn lọc gen đích. M1, M2, M5 và M6 là các chỉ thị liên kết cho chọn lọc âm tính (negative selection), dùng để chọn lọc vùng liên kề trên NST, những vùng liên kết với gen đích.*



Dựa trên nghiên cứu mô phỏng của 1.000 lần nhắc lại, một nghiên cứu MABC điển hình trong đó các cá thể dị hợp tử được chọn lọc cho gen mục tiêu ở mỗi thế hệ, hai chỉ thị cận biên trên NST mục tiêu cho chọn lọc tái tổ hợp, mỗi chỉ thị định vị khoảng cách 2 cM từ locus mục tiêu và ba chỉ thị trên mỗi NST cho chọn lọc nền di truyền (Hospital, 2003).

Hệ gen cây nhận gen có thể nhanh chóng kết hợp chọn lọc gen mục tiêu và chọn lọc nền di truyền kết hợp bằng phương pháp lai trở lại truyền thống (Hasan *et al*, 2015). Do vậy, sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống có thể tiết kiệm được thời gian, công sức hơn so với phương pháp chọn giống truyền thống (Collard and Mackill, 2008; Collard *et al*, 2005).

Việc ứng dụng phương pháp MABC trong nghiên cứu chọn tạo giống là rất hiệu quả và ngày càng được ứng dụng rộng rãi với những ưu điểm sau: tăng hiệu quả sàng lọc trong các chương trình chọn giống khi chọn lọc ngay từ giai đoạn cây non, thậm chí cả trong giai đoạn nảy mầm; tăng khả năng sàng lọc những tính trạng mà việc đánh giá chúng thường khó khăn, đắt tiền, tốn thời gian khi sàng lọc bằng hình thái; có khả năng phân biệt trạng thái đồng hợp tử hay dị hợp tử của nhiều locus trong cùng một thế hệ; có khả năng chọn lọc đồng thời vài đặc tính trong cùng một thời gian; có thể chọn lọc ngay ở thời kỳ cây non, trước khi gieo trồng, chọn ngay ở thế hệ phân ly  $F_2$  hoặc  $F_3$  do đó tiết kiệm thời gian và nguồn lực trong quá trình chọn lọc. MABC phát triển tiềm năng của lai trở lại trong nghiên cứu và ứng dụng việc đưa gen quý từ các loài hoang dại vào cây trồng, hay trong việc chuyển locus gen quy định tính trạng di truyền số lượng (QTL) hay gen vào giống mới và rút ngắn quá trình chọn lọc (Collard *et al*, 2005; Hasan *et al*, 2015; Toojinda *et al*, 2005). Phương pháp chọn giống MABC là hết sức quan trọng, hỗ trợ cho chọn giống truyền thống và quyết định sự thành công trong quá trình chọn tạo giống (Collard *et al*, 2005).

### 1.3.3. Ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống cây trồng trên thế giới

Xác định CTPT liên kết QTL/gen và lập bản đồ QTL/gen là một trong những ứng dụng quan trọng của CTPT. Sự ra đời của hàng loạt các kỹ thuật CTPT đã cho phép xác định những QTL liên kết đến các tính trạng nông sinh học, yếu tố cấu thành năng suất...

Gen *OsPPKL1*, quy định chiều dài hạt được lai chuyển và ứng dụng MAS vào dòng 93 - 11. Trong điều kiện đồng ruộng, dòng NIL mang alen *qgl3* biểu hiện năng suất cao hơn 16,20 %, trong đó phần chênh từ chiều dài hạt là 19,68 %, độ rộng hạt là 1,15 % và chiều dài bông là 11,7 % (Zhang *et al*, 2012). Ando và cộng sự, (2008) đã phát triển được dòng lúa mang 2 QTL chính, *qSBN1* (phát triển số nhánh sơ cấp trên NST số 1) và *qPBN6* (phát triển nhánh chính trên NST số 6). Dòng mang QTL này có số hạt tăng đáng kể so với đối chứng. Dòng quy tụ gen, NIL (*qHD8+ GS3*), cho năng suất tiềm năng, hạt dài hơn, thời gian sinh trưởng sớm hơn so với giống Zhengshan 97. Dòng NIL (*qHD7+ GS3+qHD 6.1*) tăng năng suất và kích thước, nhưng giảm thời gian sinh trưởng (Ando *et al*, 2008). Phương pháp chọn giống dựa vào chỉ thị phân tử và lai trở lại MABC hiện đang được sử dụng rộng rãi trong các chương trình chọn giống thực vật để phát triển các dòng giống mới, đặc biệt là ở cây lúa. Phương pháp kết hợp một gen mong muốn vào giống lúa ưu tú có khả năng thích ứng cao, giảm đáng kể thời gian chọn giống (Hasan *et al*, 2015; Steele *et al*, 2006). Nhiều giống lúa thơm, chất lượng, kháng tác nhân sinh học và phi sinh học, năng suất cao đã được phát triển ở các quốc gia trồng lúa thông qua phương pháp MABC (Cheng *et al*, 2017; Dokku *et al*, 2013; Hasan *et al*, 2016; Iftekharuddaula *et al*, 2012; Neeraja *et al*, 2007; Tanweer *et al*, 2015; Vu Thi Thu Hien, 2012).

Đối với tính trạng chịu hạn, ba QTL liên quan đến tính chịu hạn từ dòng lúa nương *japonica* CT9993 đẳng gen (NIL) được chuyển vào giống *indica* IR20 bằng MABC (Suji *et al*, 2012). Tính chịu hạn và năng suất hạt của các dòng đẳng gen được đánh giá trong điều kiện tưới tiêu và điều kiện nước trời so

với giống IR20. Kết quả đã chọn được hai dòng NIL 3 và 2 QTL, có độ dày, chiều dài và khối lượng rễ lớn hơn giống đối chứng gốc IR20 (Dixit *et al*, 2017; Lata and Prasad, 2011). Bằng phương pháp MABC, ba QTL quy định tính trạng chịu hạn ở rễ cũng được chuyển thành công vào giống KMDL105 của Thái Lan.

Gần đây, bằng phương pháp MABC, QTL/gen quy định tính trạng tăng chiều dài rễ (DR01, DR02) đã được phân lập và nhân bản thành công từ giống Kinandang Patong nguồn gốc Ấn Độ và được lai chuyển vào giống lúa IR64, cho năng suất ổn định trong điều kiện khô hạn (Uga *et al*, 2013).

Thông qua MABC, gen *Pup1* chịu phosphorus đã chuyển vào 2 giống lúa canh tác và 3 giống lúa nương ở Indonesia. Bước đầu đánh giá kiểu hình của dòng lai chuyển cho thấy *Pup1* hoạt động hiệu quả trong nền di truyền và môi trường khác nhau và có tiềm năng tăng năng suất đáng kể trong điều kiện đồng ruộng (Chin *et al*, 2011; Theivanayagam *et al*, 2018).

Phương pháp MABC đã được sử dụng để chọn lọc lúa thơm. Chỉ thị STS RG28 liên kết chặt với locus quy định tính trạng thơm được nhận biết trên NST số 8 ở khoảng cách di truyền 4,5 cM. STS RG28 đã được phát triển và sử dụng như một chỉ thị để sàng lọc và nhận biết các giống lúa thơm và không thơm mang lại nhiều thành công, chuyển được gen thơm vào một số ưu tú bằng MABC (Bradbury *et al*, 2005).

#### **1.3.4. Ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống cây trồng ở Việt Nam**

Trong những năm gần đây, đã có nhiều nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống cây trồng được áp dụng thành công tại Việt Nam.

*Ứng dụng trong chọn giống kháng bệnh bạc lá:* bệnh bạc lá là một trong những bệnh hại phổ biến, gây thiệt hại năng suất nặng nề nhất ở nước ta. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Giang (2015) đã chọn tạo thành công 03 giống lúa nếp kháng bệnh bạc lá NV2, NV3, NV4 có chất lượng cao bằng công nghệ chọn giống nhờ CTPT và nhiều giống lúa triển vọng khác đang được khảo nghiệm quốc gia và thử nghiệm tại các vùng sinh thái. Tác giả Võ Thị Minh Tuyền đã

thành công trong việc chuyển đồng thời 2 - 3 gen kháng bạc lá (*Xa4*, *Xa7* và *Xa21*) vào giống lúa Bắc thơm số 7 và một số giống lúa chủ lực khác. Các dòng/giống triển vọng DT66, DT82, DT86 mang từ 1 - 3 gen kháng bạc lá chính hiện đang được trồng thử nghiệm tại Hà Nam, Hải Dương, Thái Bình và Hà Nội... Dựa trên các bản đồ gen đã công bố, các tác giả đã sử dụng các chi thị liên kết với các gen kháng bệnh bạc lá *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *Xa21* phục vụ cho các chương trình chọn giống trong nước (Võ Thị Minh Tuyền và cs, 2015, 2019).

*Ứng dụng trong chọn giống kháng rầy nâu:* nghiên cứu đầu tiên của Viện nghiên cứu lúa ĐBSCL và Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam về phân tích di truyền tính kháng rầy nâu của giống lúa hoang nhờ CTPT đã xác định được hai gen mới kháng rầy nâu ở một loài lúa dại (*O. officinalis*) định vị trên NST số 3 và số 7 liên kết với 2 chi thị tương ứng là RM168 và RM18. Tác giả Lưu Thị Ngọc Huyền (2003), đã lập bản đồ chi tiết gen kháng rầy nâu *BphZ* và ứng dụng các CTPT liên kết gen kháng trong chọn tạo các dòng lúa kháng rầy nâu triển vọng, mang 02 gen kháng rầy nâu *Bph3* và *BphZ*, trong số đó có giống OM6701 kháng hiệu quả rầy nâu, thích hợp cho ĐBSCL và giống KR1 thể hiện kháng với nhiều biotype rầy nâu độc tính cao và thích hợp cho ĐBSH. Ngoài ra, tác giả Nguyễn Thị Lang và các nhà khoa học IRRI đã thành công trong việc lập bản đồ gen kháng *Bph10 - 1* kháng cao đối với quần thể rầy nâu ở ĐBSCL (Nguyễn Thị Lang, 2002).

*Ứng dụng trong chọn giống kháng bệnh đạo ôn:* nghiên cứu xác định gen kiểm soát tính trạng kháng đạo ôn ở lúa bằng kỹ thuật AFLP, SSR đã được nhiều nhà khoa học trong nước quan tâm và nghiên cứu. Tác giả Phạm Văn Dur và cs (2014) đã xác định được các chi thị phân tử liên kết với các gen kháng đạo ôn *Pi1*, *Pi5(t)*, *Piz* và *Pik-m*, ứng dụng thành công trong chọn tạo giống lúa kháng bệnh, tạo ra 3 giống lúa kháng bệnh đạo ôn NB01, OM 10503-1 và OM 10511. Tác giả Nguyễn Thị Thanh Nga cũng đã chọn tạo thành công ba giống

lúa NBT1, NBK và NBF mang gen kháng đạo ôn *Pi-k* cho ĐBSH bằng CTPT. Các dòng/giống lúa đang được khảo nghiệm sản xuất ở các địa phương trên cả nước (Lê Huy Hàm, 2015). Chi thị SSR cũng đã được tác giả Lã Tuấn Nghĩa và cs (2011) ứng dụng để tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn, năng suất, chất lượng cao.

*Ứng dụng trong chọn giống tăng năng suất và cải tiến chất lượng gạo:* QTL/gen tăng số hạt trên bông đã được lai chuyển thành công vào các giống lúa phổ biến ở Việt Nam như: KD18, NPT1 bằng MAS và MABC, nhờ đó năng suất tăng được từ 15 – 20 % so với giống gốc (Nguyễn Thị Thúy Anh và cs, 2017). Tác giả Dương Xuân Tú đã xây dựng thành công quy trình chọn tạo giống lúa thơm bằng chỉ thị phân tử, xác định chỉ thị ADBH2 liên kết chặt với gen *fgr* nằm trên NST số 8 qui định tổng hợp chất 2Aps là chất tạo mùi thơm ở hầu hết các giống lúa thơm hiện nay. Tác giả đã ứng dụng CTPT liên kết trong chọn tạo được 02 giống lúa thơm có chất lượng cao, năng suất và có khả năng chống chịu phát triển tốt trên đồng ruộng, trong đó giống HDT10 đã được triển khai sản xuất thử nghiệm thành công ở nhiều tỉnh thành trong cả nước (Dương Xuân Tú và cs, 2018).

*Ứng dụng trong cải tiến tính chịu mặn ở lúa:* Lã Tuấn Nghĩa và cs đã lập bản đồ QTL kháng mặn cũng được xây dựng thành công với tổng chiều dài 1.797,6 cM; khoảng cách giữa 02 chỉ thị là 9,4 cM và xác định được 03 chỉ thị RM127, RM10825 và RM8094 liên kết chặt với gen/QTL, quy định tính chịu mặn với khoảng cách < 5 cM. Dựa vào chỉ thị liên kết gen đó, tác giả đã chọn tạo được 02 giống lúa M4 và M15 có khả năng chịu mặn cao đạt mức điểm 1, năng suất trung bình đạt 6,5 tấn/ha. Tác giả Bùi Chí Bửu đã sử dụng 30 SSR marker để lập bản đồ gen cho tính chống chịu mặn của quần thể F<sub>3</sub> gồm 257 cá thể phân ly, phát triển từ tổ hợp lai IR28/Độc Phụng. Các tác giả đã xác định chỉ

thị RM223 liên kết với gen chống chịu mặn với khoảng cách 6,3 cM trên NST số 8 (Bùi Chí Bửu và cs, 2000). Tác giả Nguyễn Thị Lang đã báo cáo chỉ thị OSR1 và RM315 liên kết với QTL chịu mặn ở lúa, định vị trên NST số 1, chỉ thị RM223 liên kết với gen chống chịu mặn với khoảng cách di truyền là 6,3 cM trên NST số 8 (Nguyễn Thị Lang và cs, 2001). Dựa trên bản đồ QTL *Saltol* quy định tính chịu mặn trên lúa, Đồng Thị Kim Cúc và cộng sự (2013) đã sử dụng chỉ thị liên kết QTL chịu mặn *Saltol* từ nguồn vật liệu cho gen là FL478 vào giống lúa Bắc thơm 7. Ứng dụng CTPT, Đồng Thị Kim Cúc đã xác định được hai cá thể IL30 và IL32 có nền di truyền của giống mẹ cao nhất đạt 99,3% và 100% ở thế hệ BC3F1. Dòng Bắc thơm 7-*Saltol* được tạo ra ở thế hệ BC3F4 có khả năng chịu mặn tương đương với giống bố FL478.

*Ứng dụng trong chọn tạo giống lúa chịu hạn, chịu nóng:* tác giả Nguyễn Thị Lang đã tạo được 18 dòng/giống lúa chịu hạn, có năng suất cao bằng phương pháp chọn giống nhờ CTPT. Bản đồ QTL với các CTPT trải đều trên 12 NST với độ dài 2.553,70 cM, khoảng cách trung bình giữa 2 chỉ thị. Dự án đã tạo được 02 giống OM6162 và OM7347 đã được công nhận là giống chính thức, đạt năng suất cao 6 - 7 tấn trong điều kiện khô hạn. Tác giả Hoàng Bá Tiến đã xây dựng thành công bản đồ QTL tính chịu hạn ở lúa với chiều dài tổng số 1.515,5 cM, khoảng cách giữa 2 chỉ thị 9,92 cM. Tác giả cũng đã xác định được 02 chỉ thị liên kết với gen chịu hạn với khoảng cách liên kết 2,5 - 5,0 cM và ứng dụng CTPT đã chọn tạo được 02 dòng lúa chịu hạn cho các tỉnh phía Bắc có năng suất trung bình đạt 4,5 - 5,0 tấn/ha; Tác giả Bùi Chí Bửu đã xây dựng được bản đồ QTL với chiều dài trên 1.500 cM và ứng dụng chọn tạo thành công 01 giống lúa chịu nóng và phát triển 04 dòng lúa chịu hạn (Bùi Chí Bửu và cs, 2015).

## 1.4. NHỮNG NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP

### 1.4.1. Những nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống chịu ngập trên thế giới

Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng, để nâng cao hiệu quả của chương trình chọn giống chịu ngập bằng CTPT, chúng ta cần phải kiểm soát tốt sự hiện diện của locus *Sub1* thông qua việc xác định ADN đa hình của giống muốn cải tiến và giống cho gen ngay tại chính vị trí locut *Sub1* và vùng xung quanh nó (Singh *et al*, 2009; Xu *et al*, 2006; Xu *et al*, 2000). Việc sử dụng CTPT để quy tụ gen *Sub1A* vào các giống phổ biến giúp các nhà chọn giống rút ngắn thời gian cải tiến tính chịu ngập của giống mà không làm ảnh hưởng tới năng suất và chất lượng của giống (Pradhan *et al*, 2015; Septiningsih *et al*, 2009; Singh *et al*, 2010; Tran Dang Khanh, 2013).

IRRI đã lập bản đồ QTL liên kết với tính trạng chịu ngập (*Sub1*) nằm trên nhiễm sắc thể số 9 và đã thành công đưa vào 6 giống lúa cho vùng ngập bằng phương pháp chọn giống MABC. Từ vật liệu cho gen là FR13A, IR40931 và IR49830, sáu giống lúa được chuyển gen *Sub1* là những giống phổ biến được nông dân trồng ở Nam và Đông Nam châu Á: Swarna, Sambha Mahsuri, IR64, BR11, TDK1 và CR1009, những giống này đã được trồng với diện tích trên triệu ha, đạt năng suất từ 1 - 3,5 tấn/ha trong điều kiện ngập hoàn toàn trong giai đoạn lúa con gái (Dar *et al*, 2013; Iftekharruddaula *et al*, 2016; Neeraja *et al*, 2007; Afrin *et al*, 2018; Hasan *et al*, 2016).

Neeraja và cộng sự (2007) đã thành công trong việc chuyển gen *Sub1* vào giống lúa trồng đại trà Swarna (giống không có gen chịu ngập), kết quả cho thấy ở thế hệ con lai BC3F2, dòng này đã biểu hiện khả năng chịu ngập hoàn toàn từ 1 - 2 tuần ở giai đoạn lúa con gái. Tương tự, cũng theo Septiningsih và cộng sự (2009) gen chịu ngập *Sub1* đã tăng đáng kể khả năng chịu ngập ở phần lớn các giống lúa siêu nhạy cảm.

Gần đây, thêm các giống mới có quy tụ được gen *Sub1* để nâng cao khả năng chịu ngập của cây lúa. Các giống mới tạo được là: Cr1009-*Sub1*, Gayatri-*Sub1*, Sarala-*Sub1*, Varshadhan-*Sub1*, Pooja-*Sub1*, Pratikshya-*Sub1* (Toojinda *et al*, 2005; Sarkar *et al*, 2017). Các dòng mang gen *Sub1* Ciherang và PSB Rc 18-*Sub1* lại tiếp tục trở thành nguồn cho gen, tạo ra các nguồn mang gen chịu ngập *Sub1* ở thế hệ thứ 2. Cây mang QTL/gen *Sub1* hoạt động hiệu quả trong các môi trường và các nền di truyền khác nhau, điển hình như giống lúa mới Swarna-*Sub1* đã được thử nghiệm thành công trên đồng ruộng với năng suất trung bình đạt 5 - 6 tấn trong điều kiện không bị ảnh hưởng ngập. Tuy nhiên, trong điều kiện ngập, tùy thuộc vào điều kiện dòng chảy và thời gian ngập với mức cây sống sót và phục hồi khoảng 80 %, thì chỉ cho năng suất khoảng từ 1 - 3 tấn/ha (Das *et al*, 2009; Xu *et al*, 2014). Nhóm nghiên cứu tại IRRI đã chọn tạo và phóng thích một số giống mang QTL/gen *Sub1* ở 6 quốc gia gồm 4 giống ở Indonesia, 2 giống ở Nepal, 1 giống ở Miền Điện, 2 giống ở Ấn độ và 2 giống ở Bangladesh và 2 giống ở Philipine. Tại Indonexia, trong hai năm người ta đã chuyển thành công gen *Sub1* vào hai giống lúa Ceherang và PSB RC18 bằng phương pháp MABC (Septiningsih *et al*, 2015).

#### ***1.4.2. Những nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống lúa chịu ngập ở Việt Nam***

Kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác cũng đã khẳng định tính ưu việt và tiềm năng của phương pháp chọn giống MABC trong chọn tạo giống lúa ở Việt Nam. Những hiểu biết về cơ chế chống chịu cho từng đối tượng còn quá hạn chế. Chính vì vậy, đến khoảng đầu những năm 1990, chưa có giống lúa nào thực sự chống chịu ngập hoàn toàn, ngoại trừ một số giống lúa nội vốn là những giống lúa cổ truyền của Việt Nam là giống Móng Chim và Nếp Vần. Hai giống này được thu thập tại Thuận Hải và Đồng Nai trên vùng canh tác lúa nước trời, thường bị ngập đột ngột trong mùa lũ, thời gian ngập từ 7 - 10 ngày. Năm 2011, Nguyễn Thị Lang và cộng sự nhờ sử dụng CTPT và phương pháp lai trở lại



(MABC) đã tạo ra được các dòng triển vọng trong quần thể phân ly của tổ hợp lai OM1490/IR64-Sub1 (nhờ chỉ thị phân tử RM23850 liên kết chặt với gen *Sub1*). Đa hình được ghi nhận với kích thước phân tử của đoạn băng vạch ADN giống nhiễm OM1490 và đoạn băng vạch ADN giống chống chịu IR64-Sub1 là 240 bp và 230 bp. Có 10 dòng (được đánh số 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, và 19) bước đầu thử nghiệm cho tỷ lệ sống sót cao (90 – 99 %) sau 2 tuần ngập.

Tác giả Tạ Hồng Lĩnh và cộng sự (2013) đã bước đầu thành công trong việc quy tụ gen *Sub1* vào giống lúa Bắc thom 7 (BT7) và OM6976 khi sử dụng nguồn vật liệu cho gen là giống lúa IR64-Sub1. Các thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> được sàng lọc bằng CTPT liên kết gen *Sub1* và các chỉ thị đa hình trên toàn hệ gen, qua đó xác định được các cá thể mang gen *Sub1* và có nền di truyền của giống mẹ cao nhất làm vật liệu chọn tạo giống, ở thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> BT7-Sub1 đạt 89,8% và OM6976-Sub1 đạt 82 %.

Tác giả Luu Minh Cuc *et al*, (2012) đã bước đầu quy tụ gen *Sub1* vào giống lúa AS996, sử dụng nguồn vật liệu cho gen là giống lúa IR64-Sub1. Kết quả là sau khi chọn lọc bằng 53 chỉ thị phân tử trong 3 thế hệ lai trở lại BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, đã chọn được cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> là P422-14-177 mang xấp xỉ 100% nền di truyền của giống nhận gen kháng là AS996, ngoại trừ đoạn gen *Sub1* dài 0,3 cM (Cuc *et al*, 2012) có thể dùng làm vật liệu trong chọn giống.

Tác giả Lưu Thị Ngọc Huyền và cộng sự (2014) đã đánh giá một số dòng AS996 chịu ngập tại Bạc Liêu vụ Hè Thu và Thu Đông năm 2013. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất, đã chọn được 3 dòng C7, C10, C13 ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>6</sub> có triển vọng phát triển tốt trên vùng đất nhiễm mặn tại Bạc Liêu. Nghiên cứu thanh lọc 80 dòng trong 10 ngày ngập hoàn toàn đã chọn được 23 dòng có khả năng chịu ngập tương đương giống IR64-Sub1 làm vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo (Lưu Thị Ngọc Huyền và cs, 2014).

Tác giả Đào Văn Khởi (2019) đã tiến hành lai tạo giữa giống lúa PSB-Rc68-Sub1 và giống KD18 (nhận gen), thực hiện và chọn lọc bằng phương pháp MABC. Kết quả ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> đã xác định được cá thể số 42 mang 99,5% nền di truyền của giống lúa nhận gen KD18 và mang gen *Sub1*. Cá thể này tiếp tục được sử dụng để phát triển quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> và chọn dòng KD18-Sub1 mang gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử, cuối cùng đã tạo ra giống lúa Khang Dân 18 chịu ngập (được đặt tên mới là SHPT2) bằng phương pháp MABC. Giống SHPT2 có đặc điểm nông sinh học, năng suất, chất lượng và khả năng chống chịu sâu bệnh hại tương tự giống Khang Dân 18, đặc biệt có khả năng chịu ngập 10 ngày trong điều kiện ngập hoàn toàn, đã được khảo nghiệm và công nhận sản xuất thử năm 2017. Kết quả trên chứng tỏ, QTL/gen lai được chuyển đã hoạt động hiệu quả trong điều kiện ức chế để tăng cường khả năng chống chịu với điều kiện ngoại cảnh (Đào Văn Khởi và cs, 2019).

### **1.5. KẾT LUẬN RÚT RA TỪ PHẦN TỔNG QUAN**

Kết quả nghiên cứu ứng dụng CTPT trong chọn tạo giống lúa chịu ngập trên thế giới và Việt Nam cho thấy, phương pháp chọn giống MABC đã được ứng dụng thành công ở Viện nghiên cứu lúa quốc tế IRRI và một số nước. Các giống mang gen *Sub1* do IRRI tạo ra tiếp tục làm vật liệu cho gen *Sub1* trong các nghiên cứu chọn tạo giống thế hệ thứ 2 của các chương trình chọn giống MABC ở Indonesia và Việt Nam. Tuy nhiên, các kết quả đạt được là tạo ra các dòng vật liệu/giống chịu ngập ở các mức độ khác nhau. Cho đến nay, mới chỉ có giống SHPT2 chịu ngập mang gen *Sub1*, chọn tạo từ giống lúa Khang dân 18, được công nhận đưa vào sản xuất ở Việt Nam (Đào Văn Khởi, 2019). Hầu hết các kết quả khác mới chỉ ghi nhận ở mức thành công ban đầu trong việc lai chuyển và kiểm tra sự có mặt của locut gen *Sub1* trong các dòng, tạo nguồn vật liệu chọn giống hay các dòng triển vọng (Septiningsih *et al*, 2015; Tạ Hồng Lĩnh, 2012; Cuc *et al*, 2012, Lưu Thị Ngọc Huyền và cs, 2014). Đặc biệt, giống AS996 cũng đã được nhóm tác giả Cuc *et al*, (2012), sử dụng làm vật liệu nhận

gen *Sub1* trong nghiên cứu lai chuyển locut gen chịu ngập *Sub1* từ giống lúa IR64-Sub1 sang giống lúa AS996. Tuy nhiên nhóm tác giả chỉ sử dụng 53 chỉ thị phân tử để sàng lọc nền gen AS996 và gen *Sub1*, các công bố, kết quả mới dừng lại ở mức chọn ra được các dòng vật liệu phục vụ cho chọn giống.

Như vậy, các công trình trên thế giới cũng đã chỉ ra rằng, phương pháp chọn giống MABC hiện nay đang là một trong những phương pháp hiệu quả nhất trong việc cải tiến giống với tính trạng mong muốn thông qua tích hợp gen mục tiêu từ giống cho gen. Việc phát triển các giống lúa thích ứng rộng, đáp ứng với những thay đổi về các điều kiện bất lợi sinh học và phi sinh học gia tăng do biến đổi khí hậu là cần thiết. Các nghiên cứu về cải tiến giống lúa trên thế giới cũng như trong nước luôn hướng đến điều đó. Thực tế những năm gần đây cho thấy, ngập úng đang là một trong những thách thức hàng đầu và nghiêm trọng nhất hiện nay đối với ngành sản xuất lúa ở Việt Nam. Do vậy, cải tiến và nâng cao tính chịu ngập của các giống lúa phổ biến ngoài sản xuất tại các tỉnh phía Nam là một trong các vấn đề cần được ưu tiên hàng đầu hiện nay.

Chính vì vậy, chúng tôi đã nghiên cứu và triển khai thực hiện đề tài ***“Nghiên cứu cải tiến tính chịu ngập của giống lúa AS996 bằng chỉ thị phân tử”*** nhằm ứng dụng phương pháp chọn giống bằng chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC) để cải tiến nâng cao khả năng chịu ngập của giống lúa AS996. Đề tài luận án đã có kết quả thành công trong việc chọn tạo được giống lúa AS996 chịu ngập (OM351), có thể thích ứng với điều kiện thường xuyên ngập úng đang diễn ra với tần suất ngày càng tăng tại ĐBSCL hiện nay do BĐKH.

## Chương 2

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

#### 2.1. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

##### 2.1.1. Vật liệu khởi đầu

- Vật liệu khởi đầu sử dụng để chọn ra giống cho gen là 7 giống lúa thuần mang locut gen và không mang locut gen chịu ngập *Sub1*, đã được nhập nội từ IRRI.

- Giống lúa nhận gen kháng là AS996: đang được trồng phổ biến tại nhiều tỉnh thuộc ĐBSCL, được lai tạo từ IR64/*O. rufipugon* và được công nhận chính thức vào năm 2002.

**Bảng 2.1: Danh sách các giống lúa dùng làm vật liệu khởi đầu**

TT	Tên giống	Lôcut gen	Nguồn gốc giống	Cơ quan/ Tổ chức chọn tạo
1	IR64-Sub1	<i>Sub1</i>	Philippines	IRRI
2	Samba Mahsuri -Sub1	<i>Sub1</i>	Ấn độ	IRRI
3	IR5S713-2B-8-2B-1-2-Sub1	<i>Sub1</i>	IRRI	IRRI
4	BR11-Sub1	<i>Sub1</i>	Bangladesh	IRRI
5	PSB Rc68-Sub1	<i>Sub1</i>	Philippines	IRRI
6	INPARA3-Sub1	<i>Sub1</i>	Indonesia	IRRI
7	IR42 (giống miễn cảm ngập)	Không	IRRI	IRRI
8	AS996	Không	Việt Nam	Việt Nam

- Vật liệu sử dụng trong thí nghiệm đánh giá chịu ngập nhân tạo là giống lúa IR42 miễn cảm với ngập và giống IR64 - Sub1 làm đối chứng chịu ngập.

- Vật liệu sử dụng trong thí nghiệm khảo nghiệm quốc gia là giống mới được tạo ra OM351 (AS996 - Sub1) và giống đối chứng là OMCS2000.

- Vật liệu sử dụng cho thí nghiệm so sánh giống và khảo nghiệm tác giả là giống OM351 (AS996 - Sub1) và giống đối chứng là AS996.

### 2.1.2. Các vật liệu khác

- Tổng số 400 chỉ thị phân tử SSR chọn lọc ngẫu nhiên từ 12 NST của hệ gen lúa. Trong đó, hai chỉ thị liên kết locut gen kháng *Sub1* là ART5 và SC3 (Xu *et al*, 2006; Septiningsih *et al*, 2009; Iftekharuddaula *et al*, 2011) được sử dụng để đánh giá đa hình bố mẹ và sẽ sử dụng trong các thế hệ chọn giống. Thông tin các chỉ thị phân tử được lấy từ trang web chuyên ngành GRAMENE (Phụ lục 1). Các chỉ thị phân tử do công ty IDT - Mỹ cung cấp.

Các hóa chất sinh học phân tử chuyên dụng.

- Các loại vật tư tiêu hao dùng trong thí nghiệm sinh học phân tử.
- Các loại phân bón dùng trong các thí nghiệm khảo nghiệm cơ bản, khảo nghiệm tác giả giống lúa.

## 2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Đề tài được triển khai theo 4 nội dung chính sau:

**Nội dung 1.** Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu phục vụ công tác cải tiến giống lúa chịu ngập.

**Nội dung 2.** Lai tạo và chọn lọc các cá thể con lai mang locut gen chịu ngập *Sub1* và mang nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng phương pháp chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC).

**Nội dung 3.** Đánh giá khả năng chịu ngập, đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa triển vọng trong các thế hệ chọn giống.

**Nội dung 4.** Khảo nghiệm sản xuất và khảo nghiệm tác giả giống lúa chịu ngập AS996 - *Sub1* (OM351) tại một số tỉnh phía Nam.

## 2.3. THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

- Thời gian nghiên cứu: từ 2010 - 2017

- Địa điểm nghiên cứu:

+ Các thí nghiệm xác định locut gen chịu ngập *Sub1* và sàng lọc nền di truyền bằng CTPT được thực hiện tại Phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Sinh học Phân tử - Viện Di truyền Nông nghiệp (*Cổ Nhuế 1, Bắc Từ Liêm, Hà Nội*).

+ Đánh giá nguồn vật liệu, khả năng chịu ngập nhân tạo, đặc điểm nông sinh học của các dòng/giống lúa chịu ngập trong hệ thống nhà lưới, đồng ruộng thuộc Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long (*Tân Thạnh, Thới Lai, Cần Thơ*).

+ Khảo nghiệm giống lúa chịu ngập trong hệ thống khảo nghiệm Quốc gia tại các tỉnh đại diện cho 2 vùng sinh thái: ĐBSCL (Tiền Giang, An Giang, Cờ Đỏ, Thới Lai, Kiên Giang, Bình Thuận) và Đông Nam Bộ (Bình Thuận, Tây Ninh).

+ Khảo nghiệm tác giả giống lúa chịu ngập AS996 - Sub1 (OM351) được thử nghiệm trong sản xuất tại các tỉnh Đồng Tháp, An Giang, Trà Vinh, Bạc Liêu, Long An, Bến Tre.

## **2.4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### ***2.4.1. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu phục vụ công tác cải tiến giống lúa chịu ngập***

#### *2.4.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu*

\* Thí nghiệm đánh giá nguồn vật liệu được tiến hành với 8 giống lúa trong bảng 2.1.

#### a. Bố trí thí nghiệm:

- Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) với 3 lần nhắc lại. Diện tích mỗi ô thí nghiệm: (5 m x 2 m) = 10 m<sup>2</sup>. Tổng diện tích thí nghiệm: 10 m<sup>2</sup>/ô x số ô thí nghiệm x 3 lần nhắc (chưa tính dải bảo vệ).

- Thời gian thực hiện: vụ Thu Đông 2010.

#### b. Chỉ tiêu theo dõi:

- Thời gian sinh trưởng;
- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây, chiều dài bông);
- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/khóm, số hạt chắc/bông, khối lượng 1000 hạt, tỷ lệ lép, năng suất thực thu).

\* Thí nghiệm đánh giá tính chịu ngập của vật liệu được tiến hành với 8 giống lúa trong bảng 2.1, theo phương pháp Pamplona et al, 2007.

a. Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm 1 nhân tố hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại, 24 hạt/lần lặp.

Các bước tiến hành: lựa chọn các hạt lúa nảy mầm tốt và gieo 20 - 24 hạt/hàng/ô, hạt được gieo vào khay với độ sâu không quá 1 cm dưới bề mặt lớp đất và đánh dấu mẫu thí nghiệm. Thí nghiệm 3 lần nhắc lại/1 công thức. Sau khi gieo được một hàng, phủ đất đã được đập nhỏ lên cây mạ. Mạ được gieo trong khay ở độ tuổi từ 14 đến 21 ngày tương đương với chiều cao cây 25 - 30 cm, tưới nước thường xuyên, không bón phân cho mạ, bắt đầu cho ngập. Giám sát nhiệt độ nước ngập trong bể và các điều kiện liên quan đến nước ngập khác (như phân rã khí O<sub>2</sub>, độ đục của nước, pH và ánh sáng). Làm ngập hoàn toàn (tối đa 1100 - 1400 mm, đây là mức nước cho phép cây có khả năng quang hợp). Kiểm tra độ sâu của nước hàng ngày, cho thêm nước để duy trì cây được ngập hoàn toàn. Theo dõi mạ IR42 (giống mẫn cảm): bắt đầu cho ngập từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 8 bằng cách lấy cây mạ IR42 ra khỏi bể và kiểm tra cây có biểu hiện héo ở phần nối giữa thân và rễ. Tháo nước khi IR42 biểu hiện bị tổn thương ở mức 70 - 80 %. Sau giờ trưa và kết thúc lúc xế chiều tại thời điểm cường độ ánh sáng thấp vào khoảng 1700 lux để hạn chế tổn thương cây sau ngập, tiến hành rút nước từ từ. Tiến hành đánh giá khi cây đã phát triển ra một lá mới sau khi rút ngập 15 - 21 ngày thì đếm số cây sống.

b. Cách đánh giá tính chịu ngập theo thang điểm của IRRI (2013)

Các giống lúa tham gia thí nghiệm được đánh giá theo công thức sau:

$$CS\% = (S1\%/S2\%)*100$$

Trong đó: CS % - tỷ lệ sống sót

S1 % - tỷ lệ sống sót của giống cần đánh giá

S2 % - tỷ lệ sống sót của giống đối chứng mang gen *Sub1*

**Bảng 2. 2: Thang điểm đánh giá tính chịu ngập căn cứ trên chỉ số CS %**

Điểm	Tính chống chịu ngập (cây sống)
1	100 % hoặc hơn
3	95 - 99 %
5	75 - 94 %
7	50 - 74 %
9	0 - 49 %

*2.4.1.2. Đánh giá vật liệu bố mẹ trong chọn tạo giống lúa chịu ngập*

a. Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) với 3 lần nhắc lại. Diện tích mỗi ô thí nghiệm: (5 m x 2 m) = 10 m<sup>2</sup>. Tổng diện tích thí nghiệm: 10m<sup>2</sup>/ô x số ô thí nghiệm x 3 lần nhắc (chưa tính dải bảo vệ). Thời gian thực hiện là vụ Đông Xuân 2010 - 2011.

b. Chỉ tiêu theo dõi

- Thời gian sinh trưởng;
- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây, chiều dài bông);
- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/m<sup>2</sup>, số hạt chắc/bông, khối lượng 1000 hạt, năng suất thực thu).

*2.4.1.3. Đánh giá xác định CTPT trên 12 nhiễm sắc thể cho đa hình giữa hai giống IR64-Sub1 và AS996 làm bố mẹ trong quần thể lai*

**a. Kỹ thuật tách chiết và tinh sạch ADN**

ADN cây lúa được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB (của Phòng thí nghiệm Di truyền học, Trường Đại học Ghent, Vương Quốc Bỉ).

Các bước tiến hành: nghiền lá lúa trong nitor lỏng thành dạng bột mịn. Chuyển 200 mg bột vào eppendorf 2 ml. Thêm 1 ml đệm tách chiết và 50 µl SDS 10%. Trộn đều nhẹ nhàng. Ủ và lắc nhẹ 30 phút ở 65<sup>0</sup>C. Li tâm 20 phút, tốc độ 12.500 v/p ở 4<sup>0</sup>C. Chuyển dịch phía trên sang ống eppendorf mới.



Thêm 1 ml isopropanol, ủ 30 phút ở  $-20^{\circ}\text{C}$ . Li tâm 15 phút, tốc độ 12.500 v/p ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Loại bỏ dịch phía trên, giữ lại kết tủa. Để khô tự nhiên. Hòa tan tủa trong 400  $\mu\text{l}$  TE (10 mM Tris-HCl (pH 8,0); 1 mM EDTA (pH8,0)). Thêm 1  $\mu\text{l}$  RNase (10 mg/ml). Ủ ở nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$  trong 2 giờ. Thêm 400  $\mu\text{l}$  đệm CTAB (0,2M Tris-HCl (pH 7,5): 2M NaCl: 0,05M EDTA (pH 8,0): 2% CTAB (w/v)). Đảo đều, ủ và lắc nhẹ 15 phút ở  $65^{\circ}\text{C}$ . Thêm 800  $\mu\text{l}$  hỗn hợp chloroform: isoamyl-alcohol (tỷ lệ 24 : 1). Đảo đều. Ly tâm 15 phút, tốc độ 12.5000 v/p. Chuyển dịch ở pha trên sang ống eppendorf mới. Thêm 1,2 ml ethanol, ủ trong đá 1 giờ.

Li tâm 10 phút, tốc độ 12.500 v/p ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Loại bỏ dịch trên, giữ lại kết tủa. Thêm 300  $\mu\text{l}$  ethanol 70 %. Li tâm 10 phút, tốc độ 12.500 v/p ở  $4^{\circ}\text{C}$ . Loại bỏ dịch, để khô tủa. Hòa tan tủa với 100 - 200  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O cất khử trùng.

- Kiểm tra chất lượng ADN bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%, đệm TAE 1X (4,84 g Tris Base: 1,142 ml Glacial Acetic Acid: 2 ml EDTA 0,5M (pH 8,0) trong 1 lít dung dịch), đo nồng độ ADN bằng máy nanodrop 2000.

### **b. Khảo sát đa hình giữa hai giống bố mẹ**

Tổng số 400 chỉ thị SSR trên 12 nhiễm sắc thể đã được khảo sát.

#### **\* Phương pháp PCR với mỗi SSR được thực hiện như sau:**

- Phản ứng PCR được chuẩn bị trong eppendorf 0,2 ml hoặc trên PCR plate 96 vị trí và thực hiện trên máy Eppendorf Master Cycle Pro S.

- Thành phần của mỗi phản ứng thể hiện trong bảng sau:

**Bảng 2. 3: Thành phần phản ứng PCR**

STT	Thành phần và nồng độ gốc	Thể tích ( $\mu\text{l}$ )
1	H <sub>2</sub> O cất khử trùng	15,24
2	PCR buffer 10X	2,0
3	MgCl <sub>2</sub> (50mM)	0,16
4	dNTPs (2,0mM)	0,4
5	Mồi Forward (25ng/ $\mu\text{l}$ )	0,4

6	Mồi Revert (25ng/ $\mu$ l)	0,4
7	Taq (5U)	0,4
8	ADN (30ng/ $\mu$ l)	1,0
<b>Tổng thể tích</b>		20,0

\* **Chương trình PCR:** biến tính ADN ở 94<sup>0</sup>C: 5 phút. Tiếp theo là 30 chu kỳ: 94<sup>0</sup>C trong 30 giây; gắn mồi ở 55<sup>0</sup>C - 60<sup>0</sup>C trong 1 phút, kéo dài sản phẩm ở 72<sup>0</sup>C trong 1 phút. Kết thúc ở 72<sup>0</sup>C trong 10 phút và lưu giữ sản phẩm PCR ở 4<sup>0</sup>C. Nhiệt độ gắn mồi có thể thay đổi tùy theo từng cặp mồi SSR cụ thể.

\* **Điện di phân tích kết quả PCR trên gel polyacrylamide:**

+ **Chuẩn bị gel polyacrylamide:** lau kính 3 lần bằng nước cất, 2 lần bằng ethanol 95% với giấy mềm. Chuẩn bị dung dịch gắn (Binding solution): 3 $\mu$ l Bind Silane + 1 ml acetic axit 0,5% trong 95% ethanol. Lau đều dung dịch gắn lên tấm kính bằng giấy mềm. Để khô 5 phút. Tránh làm dính dung dịch này lên tấm kính 2. Cho 3 ml Sigmacote lên bề mặt tấm kính 2. Phủ đều Sigmacote lên tấm kính bằng giấy mềm khô. Để khô 5 phút. Lắp ráp kính để đổ gel. Thêm 100  $\mu$ l TEMED (N,N,N',N'-Tetraethyl - ethylenediamine) và 0,5 ml APS 20% vào dung dịch acrylamide 4,5% (gồm 50,4g Urea; 12 ml TBE 10X; 13,5 ml acrylamide/bis-acrylamide 40% (19 : 1) trong 120ml dung dịch). Trộn nhanh. Bơm dung dịch vào giữa hai tấm kính bằng xylanh 140cc, tránh không để tạo bọt khí. Cài lược vào gel (6 - 8 mm). Để gel đông tự nhiên ít nhất 2 giờ.

+ **Điện di sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide:** rút lược ra khỏi gel. Lau sạch gel dính phía trên khuôn gel bằng nước cất. Đặt gel lên giá chạy. Đổ 2 lít TBE 1X (10,8 g Tris base: 0,92 g EDTA: 5,52 g Boric acid trong 1 lít dung dịch) vào phía trên và dưới của khoang đệm. Chạy gel ở 90W để bề mặt gel đạt tới 50<sup>0</sup>C. Chuẩn bị mẫu: thêm STR 3X với tỷ lệ thể tích là 1 STR: 2 mẫu. Biến tính mẫu và marker 5 phút ở 94<sup>0</sup>C. Đưa ngay vào đá. Dùng xylanh đuổi hết

bọt khí ở bề mặt phía trên của khuôn gel. Cài lược. Tra 8 $\mu$ l từng mẫu vào giếng. Chạy gel trong thời gian 2 giờ ở điều kiện 60W, 50<sup>0</sup>C.

+ *Nhuộm bạc*: sau khi hoàn thành quá trình chạy điện di, tháo gel khỏi giá chạy, rút lược ra khỏi gel. Gỡ kính ra một cách nhẹ nhàng. Gel được giữ trên tấm kính. Làm sạch phần kính xung quanh gel bằng nước cất. Đặt gel vào khay. Nhuộm bạc theo các bước như sau: hãm gel trong dung dịch hãm (Glacial acetic acid 10%) 30 phút. Rửa 3 lần bằng nước cất, mỗi lần 2 phút. Nhuộm trong dung dịch nhuộm (2 g Silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>): 3 ml Formadehyde 37% trong 2 lít dung dịch) trong 30 phút. Rửa gel bằng nước cất không quá 10 giây. Đưa gel vào 2 lít dung dịch hiện (4 - 10<sup>0</sup>C) (60 g Sodium carbonate: 3 ml Formaldehy (H<sub>2</sub>CO) 37%; 400 $\mu$ l Sodium thiosulfate (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O.5H<sub>2</sub>O) (10 mg/ml) từ 2 - 5 phút đến khi các băng ADN hiện rõ. Hãm gel trong dung dịch hãm 3 - 6 phút. Rửa bằng nước cất 2 - 3 phút. Tất cả các bước trên đều thực hiện trên máy lắc. Để gel khô tự nhiên qua đêm hoặc sấy gel ở 50<sup>0</sup>C trong 5 giờ.

+ *Ghi nhận kết quả*: với mỗi chỉ thị SSR, nếu kích thước băng ADN khác nhau đối với 2 giống khảo sát, sẽ được ghi nhận là có đa hình và sử dụng được cho bước sàng lọc gen kháng hay nền di truyền ở các bước tiếp theo.

#### **2.4.2. Lai tạo và chọn lọc các cá thể con lai mang locut gen chịu ngập *Sub1* và mang nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng phương pháp chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC)**

##### **2.4.2.1. Phương pháp lai hữu tính, lai trở lại**

Tiến hành lai giữa giống AS996 (làm mẹ) với giống mang gen chịu ngập *Sub1* là IR64-Sub1 (làm bố). Sử dụng các thế hệ lai F<sub>1</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> lai trở lại với giống AS996 để tạo quần thể lai trở lại thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> tương ứng. Tính toán thời gian từ gieo đến trổ của các giống bố mẹ để gieo sao cho thời gian trổ bông, nở hoa trùng nhau. Khi lúa trổ, chọn những cá thể sinh trưởng phát triển tốt, sạch sâu bệnh, đúng giống để khử đục. Mỗi bông chọn 15 -

25 hoa ở giữa bông, không chọn hoa ở đầu bông và cuối bông. Khử đực được thực hiện bằng tay. Tiến hành khử đực khi vách bao phấn chưa mở. Khi khử đực, cắt vát vỏ phần nửa trên của hoa, sau đó dùng panh nhỏ để loại bỏ hết nhị đực trong hoa lúa. Sau khi khử đực xong, cách ly các hoa để tránh giao phấn từ những cây khác trong quần thể bằng bao giấy bóng mờ. Tiến hành khử đực chiều hôm trước và cho thụ phấn vào 10 - 12 giờ sáng ngày hôm sau. Chuẩn bị lượng phấn đủ để thụ phấn cho hoa của những cây mẹ đã khử đực. Sau thụ phấn, chăm sóc cây lai và có biện pháp phòng chống côn trùng và chuột phá hoại. Hạt lai sau 20 - 25 ngày có thể thu được.

#### *2.4.2.2. Chọn lọc các cá thể con lai mang locut gen chịu ngập *Sub1* và mang nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng chỉ thị phân tử SSR*

Tiến hành gieo các hạt lai F1 của các thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>. Các hạt lai F<sub>1</sub> được trồng đến khi được 20 ngày tuổi thì tiến hành tách chiết ADN, kiểm tra sự có mặt của gen chịu ngập *Sub1* và nền di truyền giống nhận gen AS996 bằng các chỉ thị phân tử cho đa hình đã được khảo sát ở bước trước. Chọn lọc các cá thể gen chịu ngập *Sub1* và nền di truyền của giống nhận gen lớn nhất trong mỗi thế hệ để lai trở lại tạo quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>.

Các bước thí nghiệm được tiến hành như mục **2.4.1.3**.

Số liệu được ghi nhận và xử lý trên phần mềm Graphical genotypes 2 (GGT2.0) và các phương pháp phân tích thống kê khác. Quy định băng ADN trùng với kích thước băng của giống IR64-Sub1 là A, băng giống AS996 là B, mang cả hai băng ở trạng thái dị hợp là H.

#### ***2.4.3. Đánh giá khả năng chịu ngập, đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa triển vọng trong các thế hệ chọn giống***

##### *2.4.3.1. Đánh giá khả năng chịu ngập của một số dòng/giống lúa trong thế hệ chọn giống BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>*

- Sử dụng phương pháp của Pamplona *et al*, 2007 (nêu ở phần 2.4.1.1) để đánh giá. Lựa chọn các hạt lúa nảy mầm tốt và gieo 12 hạt/ô, mỗi dòng gieo 6 ô

tương ứng với 3 lần nhắc lại theo phương pháp đã nêu để đánh giá khả năng chịu ngập cho 10 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (C1; C2; C3; C4, C6; C7; C10, C13, C18, C19). Hạt được gieo vào khay với độ sâu không quá 1cm dưới bề mặt lớp đất. Bố trí thí nghiệm: trong mỗi khay thí nghiệm đều có đối chứng là giống nhận gen AS996, giống cho QTL/gen IR64Sub1 - đồng thời là chuẩn kháng, riêng giống IR42 sử dụng là giống đối chứng miễn cảm được gieo vào mỗi khay 2 hàng (hàng số 1 và số 9) để kiểm tra thời gian tháo nước và tiện cho việc theo dõi, đánh giá. Sau khi cây mạ được 15 ngày tuổi, tiến hành làm ngập hoàn toàn trong bể ngập nhân tạo (điều kiện nước trong) với ba lần lặp lại, kiểm soát sự đồng đều về nhiệt độ, độ ngập sâu hoàn toàn của cây lúa, độ đục của nước, độ đồng đều về sự nảy mầm, tiến hành quan sát tỉ lệ cây sống sót. Sau 14 ngày ngập hoàn toàn, khi giống IR42 có tỷ lệ thương tổn 80%, tiến hành tháo nước và để cây phục hồi. Khi cây ra được thêm 1 lá trong thời gian hồi phục sau 15 ngày, đến ngày thứ 21, tiến hành đánh giá kết quả bằng cách đếm số cây sống và tính tỉ lệ cây sống theo công thức như phần 2.4.1.1.

#### *2.4.3.2. Đánh giá một số đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa triển vọng từ thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> đến BC<sub>3</sub>F<sub>5</sub>*

a. Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) với 3 lần nhắc lại theo phương pháp của Phạm Chí Thành (1986). Diện tích mỗi ô thí nghiệm: (5 m x 2 m) = 10 m<sup>2</sup>. Tổng diện tích thí nghiệm: 10 m<sup>2</sup>/ô x số ô thí nghiệm x 3 lần nhắc (chưa tính dải bảo vệ). Thời gian thực hiện: vụ Thu Đông 2013; Đông Xuân 2013 - 2014 và Hè Thu 2014.

b. Chỉ tiêu theo dõi

- Thời gian sinh trưởng;
- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây, chiều dài bông);
- Mức độ nhiễm sâu bệnh hại;

- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/khóm, số hạt/bông, số hạt chắc/bông, tỷ lệ lép, khối lượng 1000 hạt, năng suất lý thuyết, năng suất thực thu).

c. Kỹ thuật canh tác

- Đất được làm kỹ bằng máy, nhặt sạch cỏ dại, san phẳng, đảm bảo không có chỗ đọng nước, tạo các rãnh xung quanh để thoát nước.

- Kỹ thuật gieo cấy: mật độ cấy 50 khóm/m<sup>2</sup>

- Phương pháp bón phân: bón Lót: 100% phân hữu cơ + 100% lân + 25% urê. Bón Thúc đợt 1: sau sạ 7 - 10 ngày, bón 40% urê. Đợt 2: sau đợt 1 10 ngày, bón 20% urê + 40% kali. Đợt 3: bón khi lúa có đòng 1 - 2 cm bón 15% urê + 60% kali.

- Phòng trừ sâu bệnh hại: theo dõi sự xuất hiện của sâu bệnh trong suốt quá trình sinh trưởng của cây. Phun thuốc hóa học khi sâu bệnh đến ngưỡng cần phòng trừ và sau khi đánh giá khả năng chống chịu của cây theo thang điểm của quy chuẩn kỹ thuật QCVN01-55: 2011/BNNPTNT (*Quy chuẩn quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa*).

d. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu

- Quan sát và đánh giá dựa theo “*Quy chuẩn kỹ thuật Quốc Gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa*” (QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT)” và “*Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lúa QCVN 01-65: 2011/BNNPTNT*”.

Đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm theo tiêu chuẩn TCVN8373: 2010. Ném mỗi mẫu theo các chỉ tiêu mùi thơm, độ mềm, độ dính, độ trắng, độ bóng, vị ngon cho điểm theo thang điểm đánh giá.

**Bảng 2. 4: Đánh giá chất lượng cơm theo tiêu chuẩn TCVN8373: 2010**

Điểm	Mùi thơm (1)*	Độ mềm (1)*	Độ dính (1)*	Độ trắng (1)*	Độ bóng (1)*	Vị ngon (1,5)*
5	Rất thơm	Rất mềm	Dính tốt	Trắng	Rất bóng	Rất ngon
4	Thơm	Mềm	Dính	Trắng ngà	Bóng	Ngon
3	Thơm vừa	Hơi mềm	Hơi dính	Trắng hơi xám	Hơi bóng	Ngon vừa
2	Hơi thơm	Cứng	Rời	Trắng ngà nâu	Hơi mờ	Hơi ngon
1	Không thơm	Rất cứng	Rất rời	Nâu	Rất mờ, xỉn	Không ngon

Ghi chú: \* Số trong ngoặc: hệ số nhân của từng chỉ tiêu nhân với điểm đánh giá

Mùi: nhận biết bằng ngửi.

Độ trắng, độ bóng: quan sát bằng mắt qua bề ngoài của cơm sau khi nấu.

Độ mềm, độ dính: nhận biết khi miết tay và trong khi nhai.

Vị ngon: đây là những cảm giác tổng hợp của từng người nhận được trong khi ăn.

2.4.3.3. Đánh giá tính chịu ngập, so sánh các giống lúa trong điều kiện thường và điều kiện ngập

❖ Trong điều kiện thường:

a. Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) với 3 lần nhắc lại. Diện tích mỗi ô thí nghiệm: (5 m x 2 m) = 10 m<sup>2</sup>. Tổng diện tích thí nghiệm: 10 m<sup>2</sup>/ô x số ô thí nghiệm x 3 lần nhắc (chưa tính dải bảo vệ). Thời gian thực hiện: Đông Xuân 2014 - 2015; Hè Thu 2015 và Đông Xuân 2015 - 2016.

b. Chỉ tiêu theo dõi

- Thời gian sinh trưởng;

- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây, chiều dài bông, độ thoát cỏ bông, độ cứng cây, độ tàn lá);

- Mức độ nhiễm sâu bệnh hại;

- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/khóm, số hạt/bông, số hạt chắc/bông, tỷ lệ lép, khối lượng 1000 hạt).

- Năng suất lý thuyết (NSLT) (tạ/ha)

$$NSLT = A * B * C * D * 10^{-4}$$

+ A: Số bông/m<sup>2</sup>

+ B: Số hạt/bông

+ C: Tỷ lệ hạt chắc (%)

+ D: Khối lượng 1000 hạt (gam)

- Năng suất thực thu (tạ/ha): là năng suất thu hoạch của các công thức thí nghiệm sau khi đã phơi khô, quạt sạch. Từ đó tính ra năng suất tạ/ha.

❖ Trong điều kiện ngập nhân tạo:

a. Bố trí thí nghiệm

Chọn địa điểm ngay cạnh với thí nghiệm điều kiện bình thường. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) với 3 lần nhắc lại và bố trí như đối với thí nghiệm trong điều kiện canh tác bình thường. Mật độ cấy 50 khóm/m<sup>2</sup>, cấy 2 danh/khóm. Thời gian các giống tham gia thí nghiệm bị ngập là 10 ngày tại giai đoạn sau cấy (giai đoạn sinh trưởng). Các giống bị ngập hoàn toàn ở độ sâu 50 cm. Sau khi rút nước 15 ngày cây lúa đẻ nhánh và xuất hiện lá mới khi đó tính tỷ lệ cây sống sau ngập theo công thức như trong phần 2.4.1.1 đã nêu.

b. Các chỉ tiêu theo dõi

- Thời gian sinh trưởng;

- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây);

- Tỷ lệ cây sống sót;

- Thời gian phục hồi sau ngập;

- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/khóm, số hạt/bông, số hạt chắc/bông, tỷ lệ lép, khối lượng 1000 hạt).

- Năng suất lý thuyết (NSLT) (tạ/ha)

$$NSLT = A * B * C * D * 10^{-4}$$

+ A: Số bông/m<sup>2</sup>



- + B: Số hạt/bông
- + C: Tỷ lệ hạt chắc (%)
- + D: Khối lượng 1000 hạt (gam)
- Năng suất thực thu (tạ/ha): là năng suất thu hoạch của các công thức thí nghiệm sau khi đã phơi khô, quạt sạch. Từ đó tính ra năng suất tạ/ha.c. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu
  - Đánh giá đặc điểm nông sinh học, đặc điểm hình thái, mức độ nhiễm sâu bệnh, năng suất theo IRRI (2002);
  - Đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng giống theo phương pháp của Pamplona *et al*, 2007 (nêu ở phần 2.4.1.1);
  - Chống đổ: đếm số cây đổ trên ô trước khi thu hoạch. Đánh giá theo thang điểm từ 1 - 5. Điểm 1: không đổ (hầu hết các cây đều đứng thẳng). Điểm 2: nhẹ (dưới 25% số cây bị đổ rạp). Điểm 3: trung bình (25% - 50% số cây bị đổ rạp, các cây khác nghiêng  $\geq 45\%$ ). Điểm 4: nặng (51-75% số cây bị đổ rạp). Điểm 5: rất nặng ( $> 75\%$  số cây bị đổ rạp).
  - Đánh giá **Chỉ số ngập** (Flooding tolerance index - **FTI**): được xác định theo từng chỉ tiêu theo dõi, là tỷ lệ giữa giá trị của cùng một chỉ tiêu ở công thức xử lý ngập so với chính nó ở công thức đối chứng. Chỉ số chịu ngập (FTI) = Giá trị NSTT trong điều kiện ngập/Giá trị NSTT trong điều kiện bình thường. Trong thí nghiệm này, chỉ tiêu theo dõi tính FTI là: năng suất thực thu (NSTT).

#### **2.4.4. Khảo nghiệm sản xuất và khảo nghiệm tác giả giống lúa chịu ngập AS996-Sub1 (OM351) tại một số tỉnh phía Nam**

##### *2.4.4.1. Khảo nghiệm sản xuất trong hệ thống khảo kiểm nghiệm giống sản phẩm cây trồng quốc gia*

- a. Bố trí thí nghiệm: khảo nghiệm tại 7 điểm (Tiền Giang, An Giang, Cờ Đỏ, Thới Lai, Kiên Giang, Bình Thuận và Tây Ninh). Thí nghiệm bố trí theo

phương pháp khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD) với 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 10 m<sup>2</sup> (Gomez & Gomez, 1984). Thời gian thực hiện: Đông Xuân 2014 - 2015; Hè Thu 2015.

b. Các chỉ tiêu theo dõi: tương tự như thí nghiệm ở mục 2.4.3.3

c. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu:

+ Đánh giá đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu sâu bệnh trên đồng ruộng, năng suất theo hệ thống tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa (IRRI, 2002).

+ Đánh giá chất lượng gạo, cơm: phân tích tỷ lệ gạo lật, tỷ lệ gạo nguyên, kích thước hạt gạo theo TCVN1643: 2008; phân tích nhiệt độ hóa hồ theo TCVN5715: 1993; đánh giá chất lượng cơm theo tiêu chuẩn TCVN8373: 2010.

#### 2.4.4.2. Khảo nghiệm tác giả giống lúa OM351

a. Địa điểm: tại 06 tỉnh vùng ĐBSCL (Đồng Tháp, An Giang, Long An, Trà Vinh, Bạc Liêu, Bến Tre)

b. Thời gian thực hiện: Hè Thu 2016; Đông Xuân 2016 - 2017 và Hè Thu 2017

c. Bố trí thí nghiệm:

- Thí nghiệm được bố trí trong cả điều kiện thường và điều kiện ngập.

Giống lúa chịu ngập OM351 được gieo cấy bên cạnh ruộng của giống đối chứng AS996, diện tích từ 1500 m<sup>2</sup>.

- Mật độ cấy là 50 khóm/m<sup>2</sup>, cấy 2 dảnh/khóm.

- Phân bón cho 1 ha gồm 8 tấn phân hữu cơ + 110 N + 90 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + 90 K<sub>2</sub>O. Bón lót toàn bộ phân hữu cơ và phân lân cùng với 50% N, 30% K<sub>2</sub>O. Bón thúc lần 1 khi lúa bén rễ hồi xanh với lượng 40% N + 40% K<sub>2</sub>O. Lượng còn lại bón vào giai đoạn trước trổ khoảng 20 ngày.

- Phòng trừ sâu bệnh và sử dụng thuốc BVTV theo hướng dẫn của ngành BVTV tại từng địa phương nơi khảo nghiệm.

d. Các chỉ tiêu theo dõi:

- Thời gian sinh trưởng;
- Đặc điểm nông sinh học (chiều cao cây, chiều dài bông, độ thoát cỏ bông, độ cứng cây, độ tàn lá);
- Mức độ nhiễm sâu bệnh hại;
- Các yếu tố cấu thành năng suất (số bông/khóm, số hạt/bông, số hạt chắc/bông, tỷ lệ lép, khối lượng 1000 hạt, năng suất lý thuyết, năng suất thực thu).

e. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu

- Đánh giá đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu sâu bệnh trên đồng ruộng, các yếu tố cấu thành năng suất theo hệ thống tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa (IRRI, 2002).

- Năng suất thực thu được tính theo phương pháp gặt 5 điểm theo đường chéo góc, mỗi điểm gặt 50 m<sup>2</sup>. Tính năng suất tươi, lấy mẫu 3 kg phơi khô, đo độ ẩm đạt 13%, tính tỷ lệ, qui đổi năng suất tươi ra năng suất khô. Số liệu xử lý thống kê theo phương pháp so sánh cặp đôi ( $T_{Test}$ ) trong Excel.

#### **2.4.5. Phương pháp phân tích số liệu**

- Thí nghiệm đồng ruộng (khảo sát, đánh giá, chọn dòng): số liệu được xử lý bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA), sử dụng chương trình thống kê sinh học IRRISTAT Ver 5.0; chọn lọc dòng bằng chương trình chỉ số di truyền Ver 1.0 Nguyễn Đình Hiền; Statistix 8.2 và phần mềm Excel.

- Số liệu kiểu gen của các chỉ thị phân tử với các dòng trong quần thể chọn giống được ghi nhận, thu thập và phân tích theo phần mềm Graphical genotypes 2 (GGTv.2.0).

- Đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng, giống theo phương pháp của Pamplona *et al*, 2007 và tính điểm theo thang điểm của IRRI (2013).

#### **2.4.6. Tóm tắt quá trình chọn tạo giống lúa AS996 chịu ngập (OM351)**

##### **Bước 1: Xác định nguồn vật liệu bố mẹ, xác định chỉ thị đa hình (năm 2010)**

Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu để chọn giống sử dụng làm bố mẹ trong quá trình chọn tạo giống lúa có khả năng chịu ngập.

Phân tích tìm chỉ thị đa hình giữa giống nhận gen (AS996) và giống cho QTL/gen *Sub1* (IR64-Sub1) bằng các chỉ thị SSR trên 12NST. Những chỉ thị này sẽ được sử dụng để xác định gen chịu ngập trong các cá thể con lai và chọn lọc nền di truyền ở các quần thể lai trở lại ở thế hệ  $F_1$ ,  $BC_1F_1$ ,  $BC_2F_1$  và  $BC_3F_1$ .

##### **Bước 2: Tạo thế hệ $F_1$ , chọn cá thể mang gen và lai tạo quần thể $BC_1F_1$ (vụ Hè Thu 2011, Đông Xuân 2012)**

Lai tạo thế hệ  $F_1$  giữa AS996 và IR64-Sub1. Lai tạo quần thể  $BC_1F_1$ , sử dụng CTPT đa hình để chọn lọc các cá thể mang locut gen *Sub1* trong quần thể  $BC_1F_1$ . Chọn lọc cá thể mang locut gen *Sub1* và mang nền di truyền tương đồng của giống nhận gen AS996.

##### **Bước 3: Lai tạo và đánh giá kiểu gen quần thể $BC_2F_1$ (vụ Hè Thu 2012)**

Để tạo ra thế hệ  $BC_2F_1$ , cây  $BC_1F_1$  đã chọn được lai trở lại với AS996 và chu trình đánh giá kiểu gen được lặp lại như trên. Lựa chọn ít nhất 1 cá thể  $BC_2F_1$  dị hợp tử đối với gen đích, mang nền di truyền tương đồng nhất của giống lúa AS996.

##### **Bước 4: Lai tạo và đánh giá kiểu gen quần thể $BC_3F_1$ (vụ Đông Xuân 2013)**

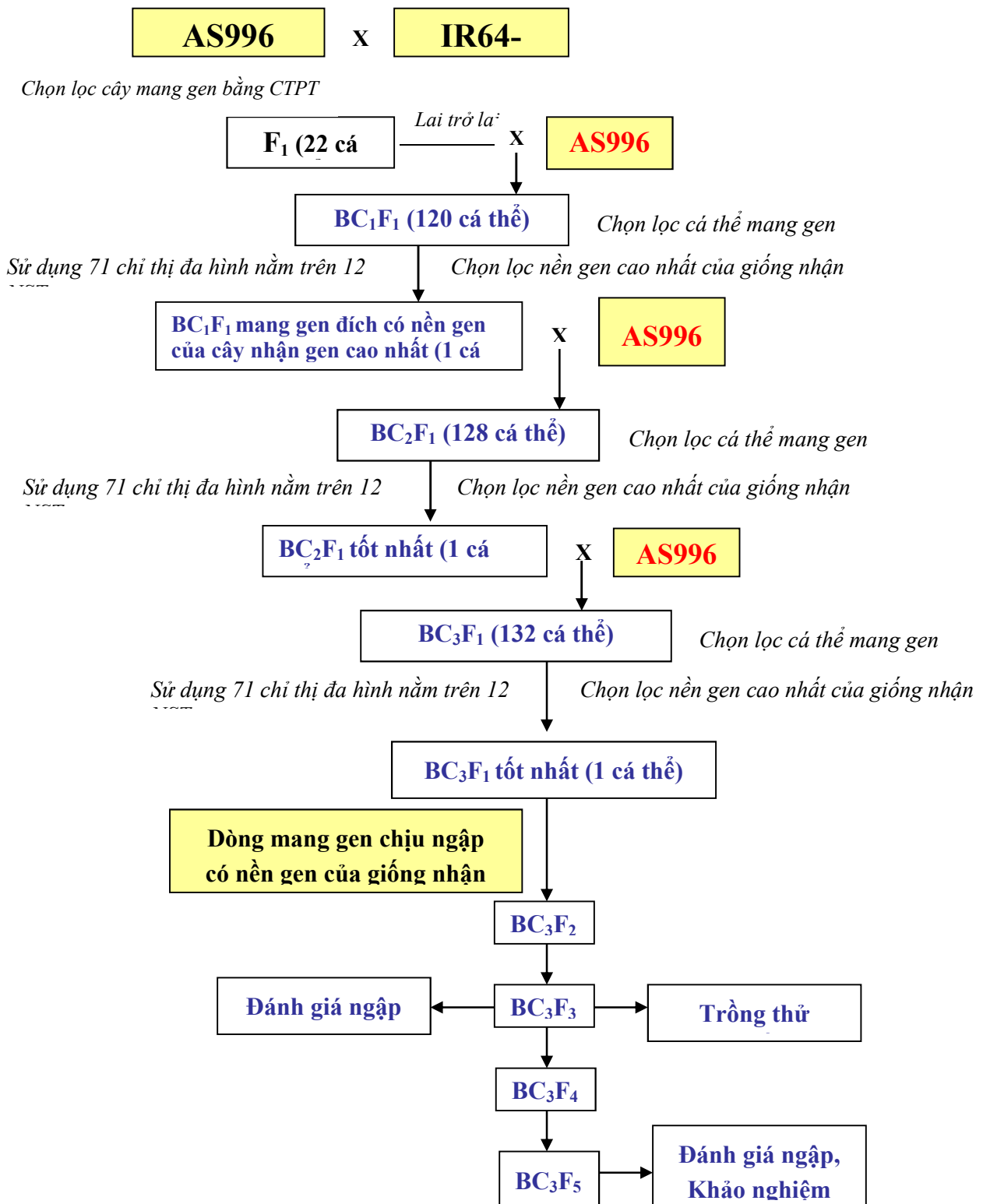
- Cá thể  $BC_2F_1$  mang gen đích đồng thời mang nền di truyền tương đồng nhất với giống lúa AS996 sẽ được lai với giống nhận gen để tạo quần thể  $BC_3F_1$ . Tiếp tục sử dụng chỉ thị phân tử để xác định cây  $BC_3F_1$  mang gen chịu ngập. Sau đó chọn lựa cá thể  $BC_3F_1$  có nền di truyền tương đồng với giống nhận gen AS996.

##### **Bước 5: Tự thụ cá thể $BC_3F_1$ đã chọn để tạo quần thể $BC_3F_2$ , $BC_3F_3$ , $BC_3F_4$ , $BC_3F_5$ (vụ Hè Thu 2013, Thu Đông 2013, Đông Xuân 2013 - 2014, Hè Thu 2014)**

Tiếp tục phát triển quần thể thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>,... BC<sub>3</sub>F<sub>5</sub> mang gen chịu ngập và mang nền di truyền tương đồng với giống nhận gen AS996.

**Bước 6:** Đánh giá khả năng chịu ngập (trong điều kiện ngập nhân tạo và điều kiện bình thường) của các dòng triển vọng đã được chọn lọc ( vụ Đông Xuân 2014 - 2015, Hè Thu 2015, Đông Xuân 2015 - 2016)

**Bước 7:** Khảo nghiệm dòng/giống lúa mới mang locut gen chịu ngập *Sub1* (từ năm 2014 - 2017)



Hình 2 1. Các bước thí nghiệm trong chọn tạo giống lúa chịu ngập chìm bằng phương pháp MABC

## **Chương 3**

### **KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

#### **3.1. ĐÁNH GIÁ NGUỒN VẬT LIỆU KHỞI ĐẦU PHỤC VỤ CÔNG TÁC CẢI TIẾN GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP**

##### ***3.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu, chọn giống làm bố mẹ trong lai tạo quần thể***

###### ***3.1.1.1. Đánh giá nguồn vật liệu***

Trong khuôn khổ của đề tài luận án, với mục đích chọn tạo các dòng/giống lúa có khả năng chịu ngập đáp ứng nhu cầu giống chịu ngập cho ĐBSCL, nơi chịu tác động lớn của biến đổi khí hậu gây ngập lụt trong những năm gần đây, chúng tôi sử dụng phương pháp chọn giống MABC nhằm mục đích quy tụ gen chịu ngập vào giống lúa AS996 trồng phổ biến ở ĐBSCL nhưng vẫn giữ được những đặc tính tốt của giống. Do đó, việc nghiên cứu xác định chính xác vật liệu bố mẹ tham gia thí nghiệm là việc làm cần thiết, quyết định sự thành công trong công tác chọn tạo giống lúa.

Viện Di truyền Nông nghiệp (thuộc Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam) là đơn vị chủ trì - nơi triển khai dự án, đã tiến hành nhập nội các giống lúa để sử dụng làm vật liệu nghiên cứu từ Viện nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI), trong đó có 6 giống mang QTL/gen *Sub1* (có khả năng chịu ngập), được đưa vào Viện Lúa ĐBSCL để khảo nghiệm vật liệu, đánh giá tính chịu ngập trong điều kiện nhân tạo phục vụ cho công tác nghiên cứu từ vụ Thu Đông 2010.

Kết quả trình bày ở Bảng 3.1 cho thấy: các dòng có thời gian sinh trưởng biến động từ 103 đến 129 ngày; dòng có thời gian sinh trưởng ngắn nhất là BR11-Sub1, IR64-Sub1 (103 ngày); dòng có thời gian sinh trưởng dài nhất là Samba Mahsuri-Sub1 (129 ngày). Chiều cao cây: các dòng tham gia thí nghiệm có chiều cao cây biến động từ 84,6 cm (Samba Mahsuri-Sub1) đến 109 cm (IR5S713-2B-8-2B-1-2). Chiều dài bông: các dòng có chiều dài bông biến động

từ 19,6 cm (Samba Mahsuri-Sub1) đến 24,6 cm (PSB-Rc 68).

**Bảng 3. 1: Đặc tính nông học của các dòng/giống vật liệu vụ Thu Đông 2010 tại viện lúa ĐBSCL**

TT	Tên giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài bông (cm)
1	INPARA3	114	96,5	22,8
2	IR5S713-2B-8-2B-1-2	109	109,0	23,2
3	IR64-Sub1	103	95,0	20,5
4	PSB-Rc 68	111	102,0	24,6
5	Samba Mahsuri-Sub1	129	84,6	19,6
6	BR11-Sub1	103	86,0	21,4
7	AS996	110	104,0	22,5
8	IR42	143	105,0	23,0
<i>CV (%)</i>			<b>7,8</b>	<b>8,5</b>
<i>LSD<sub>0,05</sub></i>			<b>13,3</b>	<b>3,6</b>

Năng suất được kết hợp chặt chẽ giữa các yếu tố cấu thành năng suất. Các yếu tố chính đóng vai trò quan trọng trong việc quyết định năng suất lúa bao gồm: số bông/khóm, số hạt/bông, tỷ lệ hạt chắc, khối lượng 1000 hạt.

**Bảng 3. 2: Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các dòng/giống vật liệu vụ Thu Đông 2010 tại viện lúa ĐBSCL**

TT	Tên giống	Bông/ Khóm (bông)	Hạt chắc/ bông (bông)	P.1000 Hạt (g)	Tỷ lệ lép (%)	NSTT (tấn/ha)
1	INPARA3	6,4	137,1	23,1	27,3	5,2
2	IR5S713-2B-8-2B-1-2	5,1	119,7	23,6	31,6	4,3
3	IR64-Sub1	6,6	116,6	26,4	11,3	5,7
4	BR11-Sub1	6,3	123,7	24,2	18,9	5,6



5	PSB-Rc68	6,2	121,7	22,5	26,3	5,1
6	Samba Mahsuri-Sub1	7,6	147,7	20,3	18,5	5,2
7	AS996 (Đ/C)	6,3	119,5	27,2	12,3	5,8
8	IR42	4,9	97,4	23,1	18,9	4,6
<b>CV %</b>		<b>9,2</b>	<b>9,4</b>	<b>9,9</b>	<b>1,7</b>	<b>12,5</b>
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>		<b>1,0</b>	<b>1,1</b>	<b>21,2</b>	<b>0,7</b>	<b>0,45</b>

Kết quả Bảng 3.2 cho thấy: chỉ tiêu số bông/khóm: dao động từ 4,9 (IR5S713-2B-8-2B-1-2) đến 7,6 bông (Samba Mahsuri-Sub1). Với mật độ cấy như nhau đối với mỗi giống là 60 khóm/m<sup>2</sup>, dòng có số bông/khóm cao nhất là Samba Mahsuri-Sub1 (7,6 bông), dòng có số bông thấp nhất là dòng IR42 (4,9 bông).

Chỉ tiêu số hạt chắc/bông: dao động từ 97,4 đến 147,7 hạt, dòng có số hạt chắc/bông cao nhất là dòng Samba Mahsuri-Sub1 (147,7 hạt), dòng có số hạt chắc/bông thấp nhất là dòng IR42 (97,4 hạt).

Chỉ tiêu khối lượng 1000 hạt: các giống trong thí nghiệm có khối lượng 1000 hạt biến động từ 20,3 gam (Samba Mahsuri-Sub1) đến 27,2 gam (AS996).

Năng suất thực tế: giống cho năng suất cao nhất là AS996 (5,8 tấn/ha). Giống cho năng suất thấp nhất là IR42 (4,6 tấn/ha).

Kết quả thanh lọc ngập các dòng/giống lúa được thể hiện ở Bảng 3.3 cho thấy: thí nghiệm thanh lọc ngập nhân tạo 14 ngày, rút nước qua 15 ngày sau xử lý ngập, để khi cây đã hồi phục đến ngày thứ 21, khi cây bắt đầu có phát triển lá mới thì đếm số cây sống. Kết quả cho thấy giống AS996 không mang QTL/gen *Sub1* được sử dụng trong thí nghiệm bị chết hoàn toàn. Ba giống IR42; BR11-Sub1 và IR5S713-2B-8-2B-1-2 không có khả năng chịu ngập (điểm 9) với tỷ lệ cây sống lần lượt là 25,5%; 37,8% và 28,9%. Giống IR42 không mang gen chịu ngập *Sub1*. Các giống BR11-Sub1 và IR5S713-2B-8-2B-1-2 có mang locus gen *Sub1*, nhưng trong thí nghiệm này không thể hiện tính chịu ngập, điều này chứng tỏ locus gen *Sub1* trong các giống đó hoạt động rất kém, không thể hiện vai trò

chịu ngập của mình. Điều này cũng đã được tác giả Septiningsih và cộng sự ghi nhận tương tự khi so sánh hoạt động của gen *Sub1* trong các giống BR11-Sub1 và IR64-Sub1, với kết quả tỉ lệ cây sống của IR64-Sub1 cao hơn nhiều so với BR11-Sub1 (Septiningsih et al, 2008). Giống có khả năng chịu ngập tốt nhất là IR64-Sub1 với tỷ lệ cây sống là 78,9% so với chính nó và đạt 100% khi sử dụng nó làm chuẩn chịu ngập trong thí nghiệm. Nhóm giống chịu ngập trung bình (điểm 7) bao gồm: PSB-Re68; Samba Mahsuri-Sub1 với tỷ lệ cây sống trung bình lần lượt là 51,1% và 52,2%. Giống chịu ngập kém nhất là giống INPARA 3 với tỷ lệ cây sống là 49,3%.

**Bảng 3. 3: Kết quả thanh lọc ngập các dòng/giống lúa thí nghiệm vụ Thu Đông 2010 tại viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên giống	Tỷ lệ sống của giống sau 21 ngày (S1%)	Tỷ lệ sống so với giống đối chứng (CS%)	Điểm chịu ngập (1 - 9)	Đánh giá tính chống chịu ngập
1	INPARA3	49,3	62,5	7	Chịu ngập TB
2	IR5S713-2B-8-2B-1-2	28,9	36,6	9	Không chịu ngập
3	IR64-Sub1 (Đ/C chịu ngập)	78,9	100,0	1	Chịu ngập tốt
4	BR11-Sub1	37,8	47,9	9	Không chịu ngập
5	PSB-Re68-Sub1	51,1	64,8	7	Chịu ngập TB
6	Samba Mahsuri-Sub1	52,2	66,2	7	Chịu ngập TB
7	AS996 (Đối chứng)	0	0	9	Không chịu ngập
8	IR42 (Đ/c miễn cảm ngập)	25,5	32,3	9	Không chịu ngập

Như vậy, qua kết quả thí nghiệm đánh giá một số dòng/giống lúa tại Viện Lúa ĐBSCL cho thấy: giống có thời gian sinh trưởng ngắn ngày (phù hợp với cơ cấu mùa vụ) và cho năng suất cao trong nhóm giống nhập nội, có tính chịu ngập cao nhất trong các dòng/giống được thử nghiệm là giống IR64-Sub1 (năng suất đạt 5,7 tấn/ha). Kết hợp với kết quả đánh giá tính chịu ngập, giống IR64-Sub1 có tính chịu ngập cao nhất trong các dòng/giống lúa thí nghiệm (điểm 1) với tỉ lệ cây sống sót sau thí nghiệm ở mức 100% ở vai trò chuẩn chịu ngập và ở mức 78,9% khi so với chính nó. Bản chất IR64-Sub1 là giống IR64 đã mang QTL/gen chịu ngập (*Sub1*) hiện đang được trồng khá phổ biến tại một số nước Nam và Đông Nam châu Á, trong đó có Việt Nam. Giống IR64-Sub1 có nền di truyền tốt, khả năng thích ứng rộng đồng thời đạt năng suất ổn định qua các năm, đặc biệt có khả năng chịu ngập tốt nhất so với bộ giống nhập nội đã được thử nghiệm trong điều kiện nhân tạo.

Qua thí nghiệm đánh giá các chỉ tiêu về đặc điểm nông sinh học, hình thái, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu trong vụ Thu Đông 2010, kết hợp đánh giá tính chịu ngập của tập đoàn các giống lúa nhập nội mang gen *Sub1* cho thấy, giống IR64-Sub1 phù hợp nhất để sử dụng làm giống cho gen chịu ngập *Sub1* trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu ngập.

Trong thí nghiệm trên cho thấy, giống lúa AS996 không có tính chịu ngập, nhưng thích hợp trong vùng ĐBSCL, cho năng suất cao nhất (5,8 tấn/ha) trong những giống được khảo sát, thích hợp dùng làm giống nhận gen chịu ngập *Sub1* trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu ngập.

### *3.1.1.2. Kết quả đánh giá vật liệu bố mẹ trong chọn tạo giống lúa mang QTL *Sub1**

Sau khi đã xác định nguồn vật liệu sử dụng làm giống cho gen chịu ngập (IR64-Sub1), giống nhận gen chịu ngập (AS996), tiến hành đánh giá và khảo sát cả hai giống về đặc điểm nông sinh học và các yếu tố cấu thành năng suất.

**Bảng 3. 4: Đặc điểm nông học và hình thái của các giống sử dụng làm vật liệu bố mẹ trong nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010 - 2011 tại viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên Giống	TGST (ngày)		Cao cây Tb (cm)	Dài bông Tb (c m)
		Vụ Thu Đông	Vụ Đông Xuân		
1	AS996	110	103	105,3	21,7
2	IR64-Sub1	102	98	98,5	20,9

Dựa trên các kết quả khảo sát, đánh giá qua bảng 3.4 cho thấy: TGST 2 giống bố và mẹ đều thuộc nhóm A1 (ngắn ngày), biến động từ 102 - 110 ngày trong vụ Thu Đông và 98 - 103 ngày trong vụ Đông Xuân. Chiều cao cây: giống IR64-Sub1 có chiều cao cây (98,5cm) thấp hơn chiều cao cây của AS996 (105,3cm). Về chiều dài bông: giống IR64-Sub1 có chiều dài bông (20,9cm) ngắn hơn giống AS996 (21,7cm).

**Bảng 3. 5: Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các giống sử dụng làm vật liệu nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010-2011 tại viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên giống	Bông/ m <sup>2</sup> (Tb bông)	Hạt chắc/ bông (Tb hạt)	KL 1000 hạt Tb (g)	NSLT (tấn/ha)		NSTT (tấn/ha)	
					Vụ Thu Đông	Vụ Thu Đông	Vụ Thu Đông	Vụ Đông Xuân
1	AS996	364,2	103,8	26,2	9,4	9,8	5,5	5,7
2	IR64-Sub1	360,5	98,7	27,1	8,7	8,6	5,2	4,9

Số liệu Bảng 3.5 cho thấy:

- Giống lúa AS996 có số hạt chắc/bông trung bình 2 vụ là (103,8 hạt) lớn hơn giống IR64-Sub1 (98,7 hạt). Số bông/m<sup>2</sup> trung bình của 2 giống tương

đương nhau. Khối lượng 1000 hạt của giống AS996 là 26,2 gram; giống IR64-Sub1 là 27,1 gram.

- NSLT và NSTT ở cả 2 vụ Thu Đông 2010 và Đông Xuân 2010 – 2011 của giống AS996 đều cao hơn giống IR64-Sub1.

- Sau năng suất hạt, chất lượng cơm gạo là chỉ tiêu quan trọng nhất. Nếu một giống lúa có mẫu mã xấu, có tỷ lệ gạo nguyên thấp, chất lượng cơm không ngon, giống đó sẽ không được chọn làm nguồn vật liệu bố mẹ lai tạo.

Số liệu Bảng 3.6 cho thấy:

+ Chất lượng gạo: cả 2 giống lúa AS996 và IR64-Sub1 có độ bạc bụng thấp tương đương nhau (cấp 1); tỉ lệ % gạo lức, gạo nguyên và gạo trắng của giống lúa AS996 cao hơn giống IR64-Sub1 lần lượt là 3,0%, 4,7% và 12,8%.

+ Đánh giá cảm quang về chất lượng cơm của 2 giống thí nghiệm: điểm khác biệt rõ nhất giữa 2 giống AS996 và IR64-Sub1 là mùi thơm, độ mềm và độ dính, giống AS996 có mùi thơm nhẹ, khá đặc trưng, hạt cơm ngon mềm dẻo, dính. Trong khi đó giống IR64-Sub1 không có mùi đặc trưng, hạt cơm cứng và rời cơm, cơm ngon trung bình.

Như vậy, từ bước khảo sát đánh giá kết quả trên, một lần nữa khẳng định, giống AS996 được quyết định sử dụng làm giống nhận gen chịu ngập và giống IR64-Sub1 được sử dụng làm giống cho gen chịu ngập *Sub1* trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu ngập là phù hợp trong nghiên cứu này.

**Bảng 3. 6: Bảng đánh giá chất lượng gạo và cơm của các giống sử dụng làm vật liệu nghiên cứu vụ Thu Đông 2010, Đông Xuân 2010 - 2011 tại viện Lúa ĐBSCL**

STT	Tên giống	Chất lượng gạo			Chất lượng cơm ( điểm)							Kích thước hạt (mm)		Nhận xét
		Tỷ lệ gạo lúc (%)	Tỷ lệ gạo nguyên (%)	Tỷ lệ gạo trắng (%)	Bạc bụng (cấp)	Mùi thơm	Độ mềm	Độ dính	Độ trắng	Độ bóng	Độ ngon	Chiều dài hạt gạo (mm)	Chiều rộng hạt gạo (cm)	
1	AS996	78,8	50,6	68,4	1	3	4	4	5	4	3	7,2	2,1	Gạo và cơm đẹp, ngon, hạt thon dài, trong, ít bạc bụng, mùi thơm nhẹ
2	IR64-Sub1	75,8	45,9	55,6	1	1	2	2	5	4	2	5,9	2,0	Gạo và cơm đẹp, hạt thon dài, trong, ít bạc bụng, cơm trung bình

**Điểm đánh giá:**

- Mùi: 1. Không thơm; 2. Hơi thơm, kém đặc trưng; 3. Thơm vừa; 4. Thơm; 5. Rất thơm - Độ mềm: 1. Rất cứng; 2. Cứng; 3. Hơi mềm; 4. Mềm; 5. Rất mềm  
 - Độ dính: 1. Rất rời; 2. Rời; 3. Hơi dính; 4. Dính; 5. Rất dính - Độ trắng: 1. Nâu; 2. Trắng ngả nâu; 3. Trắng hơi xám; 4. Trắng ngà; 5. Trắng  
 - Độ bóng: 1. Rất mờ, xỉn; 2. Hơi mờ, xỉn; 3. Hơi bóng; 4. Bóng; 5. Rất bóng - Độ ngon: 1. Không ngon; 2. Hơi ngon; 3. Ngon vừa; 4. Ngon; 5. Rất ngon

**3.1.2. Kết quả xác định CTPT trên 12 nhiễm sắc thể cho đa hình giữa hai giống IR64-Sub1 và AS996 làm bố mẹ trong quần thể lai**

Tổng số 400 chi thị trên 12 nhiễm sắc thể đã được khảo sát để tìm chi thị đa hình giữa hai giống AS996 và IR64-Sub1 sử dụng làm bố mẹ trong các quần thể lai tạo chọn giống. Riêng trên NST số 9 (NST9) có chứa vùng gen kháng *Sub1*, đã sử dụng 67 chi thị, còn lại 333 chi thị trên 11 NST còn lại.

Trên NST số 1 (NST1), kết quả khảo sát 32 CTPT đã xác định được 6 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 2,2 - 46,3 Mb và lần lượt ở vị trí: RM10115 (2,2 Mb); RM562 (14,6 Mb); RM10894 (17,3 Mb); RM1349 (25,1 Mb); S01132a (32 Mb); RM3412 (46,3 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.7.

**Bảng 3.7: Chi thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST1**

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM10115	2,2	ACAGACGAGGTTAACACGCAAGA GCGAAGGATCAACGATGATATGG	235	247	55
2	RM562	14,6	GCGTTGCAGCGGAATTTGTAGG CCCTGCTTCTCTCGTGCAGTCG	125	130	55
3	RM10894	17,3	TGTGAAGCACATCCAGTGATCC GGGATGAGTGACACTTGTTAATGG	250	210	55
4	RM1349	25,1	CGTTCCAATATTCAGACACAG TTCCATCTCGAGAAGCTC	120	150	55
5	S01132a	32	CAATGACGACGCATGTATGT TGCTTGAATGTTTTTCGAGG	190	175	55
6	RM3412	46,3	IGATGGATCTCTGAGGTGTAAGAGC TGACTAATCTTTCTGCCACAGC	110	95	60

Trên NST2 kết quả khảo sát 31 CTPT đã xác định được 9 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 0,1 - 39,7 Mb và lần lượt ở vị trí: RM109 (0,1 Mb); RM485 (0,9 Mb); RM154 (1,1 Mb); RM300 (13,2 Mb); RM341 (20,7 Mb); RM6318 (24,2 Mb); RM6 (29,6 Mb); RM425 (32,3 Mb); RM262 (39,7 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.8.

**Bảng 3.8:** Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST2

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM109	0,1	GCCGCCGGAGAGGGAGAGAGAG CCCCGACGGGATCTCCATCGTC	135	100	55
2	RM485	0,9	CACACTTTCAGTCCTCTCC CATCTTCTCTTCGGCAC	130	155	55
3	RM154	1,1	GACGGTGACGCACTTTATGAACC CGATCTGCGAGAAACCTCTCC	240	275	58
4	PM300	13,2	GCTTAAGGACTTCTGCGAACC CAACAGCGATCCACATCATC	170	120	55
5	RM341	20,7	CAAGAAACCTCAATCCGAGC CTCCTCCCGATCCCAATC	150	180	55
6	RM6318	24,4	TGCTGCTTCTGTCCAGTGAG GGATCATAACAAGTGCCCTCG	175	200	55
7	RM6	29,6	GTCCCCTCCACCCAATTC TCGTCTACTGTTGGCTGCAC	170	155	55
8	RM425	32,3	ACCACAGCAGGTGGAACAGG GCTAGCTAAGCCAACCAACG	168	190	55
9	RM262	39,7	CATTCCGTCTCGGCTCAACT CAGAGCAAGGTGGCTTGC	150	190	55

Trên NST3 kết quả khảo sát 40 CTPT đã xác định được 4 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 5,8 - 26,7 Mb và lần lượt ở vị trí: RM3864 (5,8 Mb); RM3297 (13,4 Mb); RM3291 (13,6 Mb); RM7097 (26,7 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.9.



**Bảng 3. 9: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST3**

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM3864	5,8	TTCCTTCCGCCGGAGTCAACC AGAACCGCAAGACGAAATCACAGC	165	150	55
2	RM3297	13,4	TGCACGTGATCTCTTGTAACCTAGC GGAGAGGGCCTTGTTCTTGAGG	300	350	55
3	RM3291	13,6	TCCTATACTTGTCTGTCCATCGATCC GTTCTGCACAACAACAACAACC	200	180	55
4	RM7097	26,7	GGCCATTATGTGCATCTCTCAGC GGATCGATCGACATCAATCTTGG	205	170	55

Trên NST4, kết quả khảo sát trên 33 CTPT đã xác định được 6 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 6,5 - 13,3 Mb và lần lượt ở vị trí: RM6659 (6,5 Mb); R4M13 (7,9 Mb); RM3635 (11,1 Mb); R4M17 (11,5 Mb), RM307 (12,9 Mb); RM7102 (13,3 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.10.

**Bảng 3. 10: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST4**

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM6659	6,5	TGTGGAGGCTTAGGAAATTCTGG TGTGGAGGCTTAGGAAATTCTGG	250	265	55
2	R4M13	7,9	TACACGGTAGACATCCAACA ATGATTAAACCGTAGATTGG	160	170	55

3	RM3635	11,1	GGGTGAGTGCGACAGAGATG CATGTCCCCCTCACCTC	120	125	55
4	R4M17	11,5	AGTGCTCGGTTTTGTTTTC GTCAGATATAATTGATGGATGTA	170	155	55
5	RM307	12,9	GTACTACCGACCTACCGTTCAC CTGCTATGCATGAACTGCTC	175	185	55
6	RM7102	13,3	GGGCGTTCGGTTTACTTGGTTACTCG GGCGGCATAGGAGTGTTTAGAGTGC	215	200	55

Trên NST5, kết quả khảo sát 27 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 2,2 - 23,5 Mb và lần lượt ở vị trí: RM413 (2,2 Mb); R5M20 (13,7 Mb); RM3838 (16,4 Mb); RM3327 (22,3 Mb), RM18877 (23,5 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.11.

**Bảng 3.11: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST5**

T T	Tên môi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM413	2,2	CCAATCTTGTCTTCCGGATCTTGC AGATAGCCATGGGCGATTCTTGG	100	125	55
2	R5M20	13,7	CTCGCTGTTTACTGACTGG TTTGATGTACTGCCTGCTCT	175	206	55
3	RM3838	16,4	GTTGGTAGTGTCTTTGTGCAAGC GCAACACCTCTTTCAATCTTCC	245	230	55
4	RM3327	22,3	GGGCAACAGCAGACACGTACC CGCATCACTATCTTCCCAATCTCG	200	225	55
5	RM18877	23,5	ACCACTGCTGCAAAGAACATTGG GCGAGAATAAGATGAGACACAAGAGG	195	218	60

Trên NST6, kết quả khảo sát 23 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 0,4 - 32 Mb và lần lượt ở vị trí: RM508 (0,4 Mb); RM276 (6,2 Mb); SO6065 (16,4 Mb); RM3628 (23,4 Mb), RM204 (32 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.12 sau đây.

**Bảng 3. 12: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST6**

T T	Tên môi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM508	0,4	AGAAGCCGGTTCATAGTTCATGC ACCCGTGAACCACAAAGAACG	185	160	55
2	RM276	6,2	GTCCTCCATCGAGCAGTATCAGC CTAGCAAGACATGGACCTCAACG	140	160	55
3	S06065A	16,4	CCCCTTCATCATTGCAACTT AGTCTCCATCACCGTCT	165	200	55
4	RM3628	23,4	GCCCTAGACACACCCGTACC TGCCAGATCAGAAATCATGC	100	125	55
5	RM204	32	CTAGCTAGCCATGCTCTCGTACC CTGTGACTGACTTGGTCATAGGG	175	208	55

Trên NST7, kết quả khảo sát 31 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 10,4 - 25,7 Mb và lần lượt ở vị trí: RM7571

**Bảng 3. 13: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST7**

T T	Tên môi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM7571	10,4	GGTCCTAGAGATCCGTCCTAGTGG ACACACCAGCTCACATTCTTATCC	195	176	55

2	RM7338	15,3	CGCATGGATCAATCAATAGTGG CAAGTGCTGCTACTCTGTCTCTTGG	195	200	55
3	S07053	15,3	CGAAACTTTGGGACGAAATG CGTCCACCATTCACTGTCCAC	225	200	55
4	RM3753	23,6	GCACAGTGAATGAGCTAAGAACACG TCCAATACGATAAGTGGCTGATGG	168	135	55
5	RM18	25,7	TTCCCTCTCATGAGCTCCAT GAGTGCCTGGCGCTGTAC	180	165	55

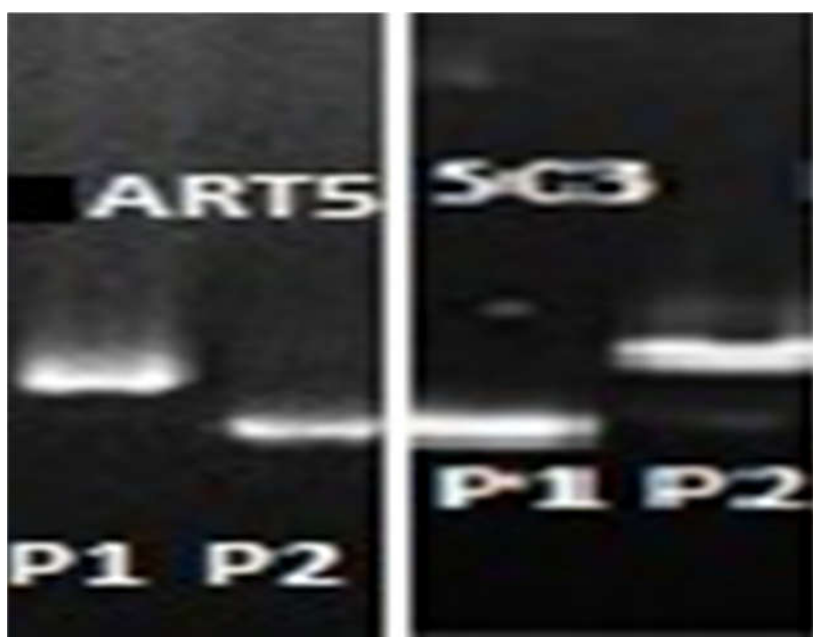
(10,4 Mb); RM7338 (15,3 Mb); S07053 (15,3 Mb); RM3753 (23,6 Mb), RM18 (25,7 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.13.

Trên NST8, kết quả khảo sát 23 CTPT đã xác định được 4 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 5,1 - 24,5 Mb và lần lượt ở vị trí: RM310 (5,1 Mb); RM6193 (17,6 Mb); RM5485 (24,1 Mb); RM149 (24,5 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.14 sau đây.

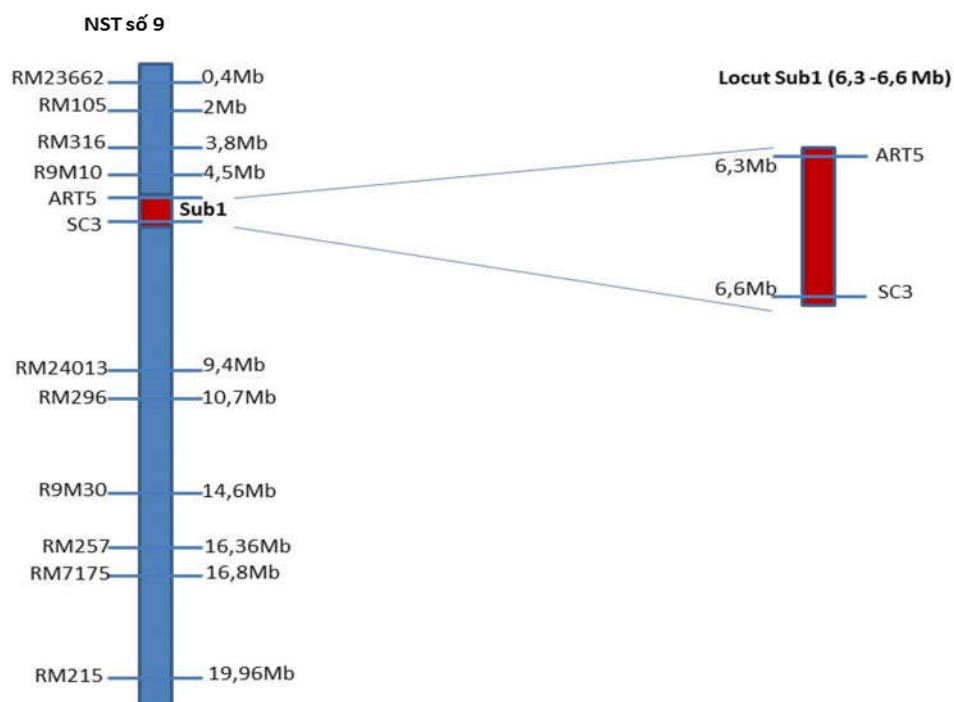
**Bảng 3. 14: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST8**

T	Tên môi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn môi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM310	5,1	GACTTGTGGTTGTTGCTTGTGG ACTGCCATATGCATTTCCCTAGC	175	205	55
2	RM6193	17,6	ACAGCTTCACGATGTTCTTGTGC GTCAAGAAGCTCTGGGCTAACG	135	150	55
3	RM5485	24,1	ATGATTGCATCTGCATCACTGC ATACCTGTTTCCAATGCGTAGCC	380	280	55
4	RM149	24,5	GGAAGCCTTTCCTCGTAACACG GAACCTAGGCCGTGTTCTTTGC	255	220	55

Trong nghiên cứu này, 67 CTPT trên NST số 9 đã được khảo sát nhằm xác định CTPT đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1. Dựa vào kết quả bản đồ chi tiết locut gen *Sub1* (Xu *et al*, 2006), các CTPT liên kết với *Sub1* là hai chỉ thị ART5 và SC3 đã được sử dụng khảo sát CTPT đa hình (Hình 3.1). Kết quả khảo sát đã xác định được 12 chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống AS996 và IR64-Sub1. Trong đó có 2 chỉ thị liên kết với vùng QTL/gen *Sub1* và nằm hai phía với locut gen *Sub1* là chỉ thị ART5 (6,3Mb) và SC3 (6,6Mb) (Xu *et al*, 2006; Septiningsih *et al*, 2009; Iftekharuddaula *et al*, 2011) (Hình 3.2). Cả hai chỉ thị này đều cho đa hình giữa hai giống IR64-Sub1 và AS996. Với các thông tin chi tiết được thể hiện ở Bảng 3.15 và Hình 3.1, 3.2; Hai CTPT ART5 và SC3 sẽ được sử dụng để lựa chọn cá thể mang locut gen mục tiêu *Sub1* trong các quần thể lai trở lại và trong các thế hệ chọn tạo giống.



**Hình 3. 1.** Kết quả điện di sản phẩm PCR của hai giống lúa AS996 và IR64-*Sub1* với hai chỉ thị ART5 và SC3 liên kết chặt với QTL *Sub1* trên NST 9  
*Làn gel 1. P1. AS996; Làn gel 2. P2. IR64-Sub1*



**Hình 3.2. Bản đồ locus gen *Sub1* và các CTPT đa hình trên NST9**

Ghi chú: Thứ tự CTPT được thể hiện bên trái NST, vị trí của chỉ thị được thể hiện phía bên phải NST theo [www.gramene.org](http://www.gramene.org) và [atsliver.plbr.cornell.edu/SSR/](http://atsliver.plbr.cornell.edu/SSR/). Vùng đỏ biểu thị locus gen *Sub1* (Xu et al, 2006; Septiningsih et al, 2009; Iftexharuddaula et al, 2011)

**Bảng 3. 15: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST9**

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi /ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM23662	0,4	GAGAGGACGATGGCACTATTGG CGAGGAACCTTGATTTCGCATGG	155	145	55
2	RM105	2	GTCGTCGACCCATCGGAGCCAC TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	140	110	55
3	RM316	3,8	CTAGTTGGGCATACGATGGC	150	175	55

4	R9M10	4,5	ACGCTTATATGTTACGTCAAC CTTTGGATTCAGGGGGA AACTTGAAACGGAGGCAG	145	130	55
5	ART5	6,3	CAGGGAAAGAGATGGTGGA TTGGCCCTAGGTTGTTTCAG	180	160	55
6	SC3	6,6	GCTAGTGCAGGGTTGACACA CTCTGGCCGTTTCATGGTAT	115	130	55
7	RM24013	9,4	TCCATCTTCCTCTCCTAGAGCTTCC CTCCCTGTCCCGAGTTAGTGC	140	160	55
8	RM296	10,7	CACATGGCACCAACCTC GCCAAGTCATTCACTACTCTGG	120	145	55
9	R9M30	14,6	CTCACCTACCTAAAACCCAAC CCACCCAAATCTGATACTG	150	135	55
10	RM257	16,36	CAGTTCCGAGCAAGAGTACTC GGATCGGACGTGGCATATG	150	136	55
11	RM7175	16,8	ACAGTAAACGTGGTGCTCC AGAAGTAGCCTCGAGGACCC	150	175	55
12	RM215	19,96	CAAAATGGAGCAGCAAGAGC TGAGCACCTCCTTCTCTGTAG	160	175	55

Bên cạnh hai chỉ thị ART5 và SC3 nằm trong vùng locut gen *Sub1*, các CTPT cho đa hình trên nhiễm sắc thể số 9 được thể hiện trên Bảng 3.14, gồm có 10 chỉ thị: RM23662 (0,4Mb); RM105 (2Mb); RM316 (3,8Mb); R9M10 (4,5Mb); RM24013 (9,4Mb), RM296 (10,7Mb); R9M30 (14,6Mb); RM257 (16,36Mb); RM7175 (16,8Mb) và RM215 (19,96Mb). Các chỉ thị này được sử dụng để sàng lọc nền di truyền các thế hệ con lai trong các quần thể lai trở lại sau này.

Trên NST10, kết quả khảo sát 33 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 8,4 - 21,8 Mb và lần lượt ở vị trí: RM25181 (8,4 Mb); RM311 (9,7 Mb); RM25271 (10,7 Mb); RM25763 (20 Mb), RM228 (20 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua ảnh 3.16.

**Bảng 3. 16: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST10**

T T	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi/ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM25181	8,4	AAAGAGCTTCCCTAATGGCTTCG GAGAGAATGACCTCTCCCAAGACC	130	165	55
2	RM311	9,7	TGGTAGTATAGGTACTAAACAT TCCTATACACATACAAACATAC	180	165	55
3	RM271	10,7	AGACGCTACTCCCACCTGTAACC ATATCATTGCCGCAACACAAGC	120	175	55
4	RM25763	20	TTGGAGTCGTCTCCGACTATGC AATTCAGGTGCGAACAGAATGC	245	270	55
5	RM228	21,8	CTGGCCATTAGTCCTTGG GCTTGCGGCTCTGCTTAC	155	175	55

Trên NST11, kết quả khảo sát 30 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 9,1 - 29,5 Mb và lần lượt ở vị trí: S11049 (9,1 Mb); RM287 (16,8 Mb); RM209 (17,7 Mb); RM206 (21,8 Mb), S11117C (29,5 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.17.

**Bảng 3. 17: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST11**

TT	Tên mồi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi/ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn mồi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	S11049	9,1	GAGCTGCGGTTACCAATGTT GGCCATAAGCCCACTAAAAT	200	220	55
2	RM287	16,8	TTCCCTGTTAAGAGAGAAATC GTGTATTTGGTGAAAGCAAC	120	145	55



3	RM209	17,7	ATATGAGTTGCTGTCGTGCG CAACTTGCATCCTCCCCTCC	135	115	55
4	RM206	21,8	ATCGATCCGTATGGGTTCTAGC GTCCATGTAGCCAATCTTATGT	150	135	55
5	S11117C	29,5	CAACCATGTCTATGATCGATGT GGCTGTCTCCATGTTGAGGT	205	185	55

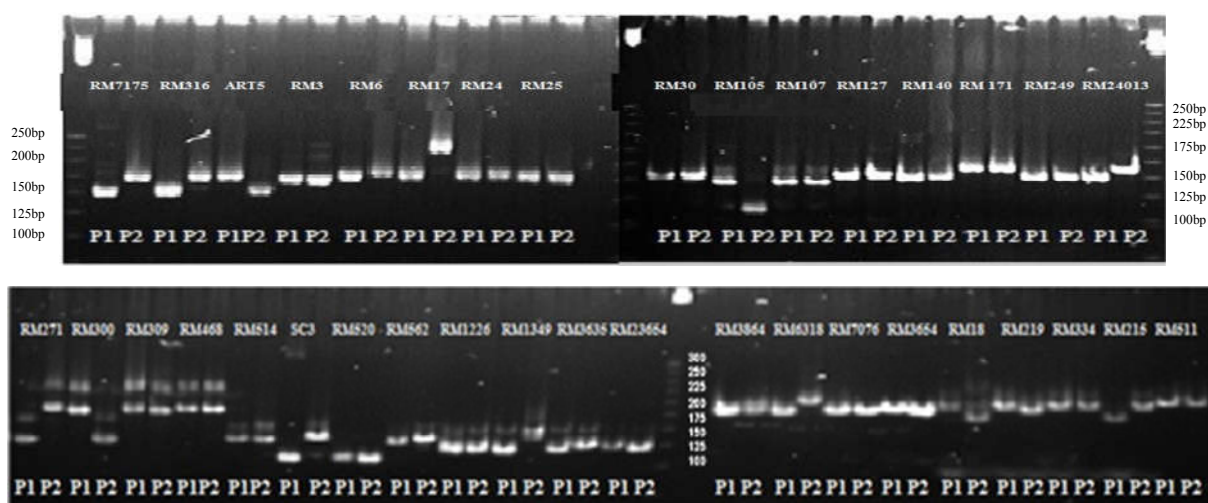
Trên NST12, kết quả khảo sát 30 CTPT đã xác định được 5 CTPT đa hình. Các CTPT được phân bố ở vị trí từ 3,4 - 27,1 Mb và lần lượt ở vị trí: RM27593 (3,4 Mb); RM511 (17,4 Mb); RM17 (26,9 Mb); RM7558 (27,1 Mb), RM224 (27,1 Mb). Thông tin chi tiết được thể hiện qua Bảng 3.18.

**Bảng 3. 18: Chỉ thị cho kết quả đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1 trên NST12**

T	Tên môi	Vị trí (Mb)	Trình tự xuôi/ngược 5' - 3'	Kích thước sản phẩm PCR (bp)		Nhiệt độ gắn môi
				AS 996	IR64 Sub1	
1	RM27593	3,4	CGTGCTGTCTCGGTCTCTCTCC CAGTTACAGGAGGGAATGGATGC	110	135	55
2	RM511	17,4	AACGAAAGCGAAGCTGTCTCC ATTTGTTCCCTTCCTTCGATCC	145	165	55
3	RM17	26,9	TGCCCTGTTATTTTCTTCTCTC GGTGATCCTTCCCATTCA	170	220	55
4	RM7558	27,1	CAGTAGCAGGCTCCCTTTTG ATCAGGAACACCAGAGACGG	150	132	55
5	RM224	27,1	ATCGATCGATCTTCACGAGG TGCTATAAAAGGCATTCGGG	157	125	55

Như vậy, sau khi khảo sát 400 chỉ thị SSR trên 12 NST, kết quả xác định được 71 chỉ thị đa hình giữa hai giống lúa AS996 và IR64-Sub1, chiếm 17,75% so với tổng số các chỉ thị phân tử SSR đã dùng trong việc khảo sát. Trong đó,

gồm 12 chỉ thị nằm trên nhiễm sắc thể số 9, chỉ thị ART5 và SC3 nằm trong vùng gen kháng, 10 chỉ thị nằm ngoài vùng gen kháng, 59 chỉ thị còn lại rải rác tại các vị trí khác nhau trên 11 nhiễm sắc thể. Các chỉ thị này sẽ được dùng trong các bước phân tích trên các quần thể lai trở lại trong quá trình chọn giống. Hình 3.3 thể hiện kết quả kiểm tra chỉ thị phân tử SSR để tìm chỉ thị đa hình giữa hai giống lúa sử dụng làm bố mẹ trong quần thể chọn giống.



**Hình 3. 3. Kết quả kiểm tra một số chỉ thị phân tử SSR để tìm chỉ thị đa hình giữa giống lúa AS996 và IR64-Sub1**

*Ghi chú: hàng chữ phía trên là tên các chỉ thị SSR được sử dụng, hàng chữ phía dưới kí hiệu P1: AS996, P2: IR64-Sub1, thang chuẩn 25 bp ladder*

Tỉ lệ chỉ thị phân tử cho đa hình được tổng kết trên Bảng 3.19 cho thấy: Tổng số 71/400 chỉ thị cho đa hình, chiếm 17,75% chỉ thị đã sàng lọc. Trên NST số 1 đã sàng lọc 32 chỉ thị, chỉ có 6 chỉ thị cho đa hình, chiếm 18,75%. Trên NST số 2, sàng lọc 31 chỉ thị đã tìm được 9 chỉ thị cho đa hình, chiếm 19,03%. Trên NST số 3, sàng lọc 40 chỉ thị đã tìm được 4 chỉ thị cho đa hình, chiếm 10%. Trên NST số 4, sàng lọc 33 chỉ thị đã tìm được 6 chỉ thị cho đa hình, chiếm 18,18%. Trên NST số 5, sàng lọc 27 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa

hình, chiếm 18,52%. Trên NST số 6, sàng lọc 23 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa hình, chiếm 21,74%. Trên NST số 7, sàng lọc 31 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa hình, chiếm 16,13%. Trên NST số 8, sàng lọc 23 chỉ thị đã tìm được 4 chỉ thị cho đa hình, chiếm 17,39%. Trên NST số 9, sàng lọc 67 chỉ thị đã tìm được 12 chỉ thị cho đa hình, chiếm 17,91%. Trên NST số 10, sàng lọc 33 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa hình, chiếm 15,15%. Trên NST số 11, sàng lọc 30 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa hình, chiếm 16,67%. Trên NST số 12, sàng lọc 30 chỉ thị đã tìm được 5 chỉ thị cho đa hình, chiếm 16,67%. Tính chung trên các NST, tỉ lệ chỉ thị cho đa hình cao nhất trên NST số 2, tỉ lệ đa hình thấp nhất trên NST số 3.

**Bảng 3. 19: Tỉ lệ chỉ thị đa hình trên 12 nhiễm sắc thể**

NST	Số chỉ thị khảo sát	Số chỉ thị cho đa hình	Tỷ lệ đa hình (%)
1	32	6	18,75
2	31	9	29,03
3	40	4	10,00
4	33	6	18,18
5	27	5	18,52
6	23	5	21,74
7	31	5	16,13
8	23	4	17,39
9	67	12	17,91
10	33	5	15,15
11	30	5	16,67
12	30	5	16,67
<b>Tổng số</b>	<b>400</b>	<b>71</b>	<b>17,75</b>

Các chỉ thị phân tử cho đa hình giữa hai giống AS996 và IR64-Sub1 làm bố mẹ trong quần thể lai tạo và chọn giống được sử dụng để sàng lọc nền di truyền các thế hệ con lai trong các quần thể lai trở lại sau này.

## 3.2. KẾT QUẢ LAI TẠO VÀ CHỌN LỌC CÁC CÁ THỂ CON LAI MANG LOCUT GEN CHỊU NGẬP *SUB1* VÀ MANG NỀN DI TRUYỀN GIỐNG NHẬN GEN AS996 BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHỈ THỊ PHÂN TỬ VÀ LAI TRỞ LẠI

### 3.2.1. Kết quả phân tích kiểu gen và chọn lọc cá thể mang locut gen chịu ngập *Sub1* và nền di truyền giống AS996 trong thế hệ $F_1$ và quần thể $BC_1F_1$

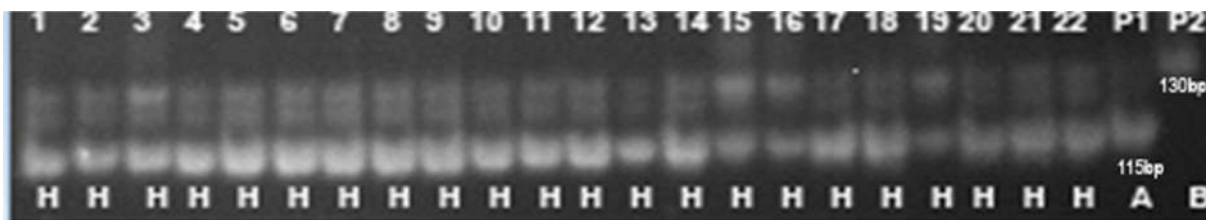
Tiến hành lai giữa giống lúa AS996 và IR64- *Sub1*, thu được 22 hạt lai  $F_1$ . Các hạt lai  $F_1$  được gieo trồng để tạo quần thể lai  $BC_1F_1$ . Trên cơ sở kết quả đánh giá đa hình giữa hai giống bố mẹ trong quần thể chọn giống, ngay từ thế hệ  $F_1$  đã dùng hai chỉ thị liên kết chặt với locut gen mục tiêu *Sub1* là chỉ thị ART5 và SC3 để xác định con lai.



**Hình 3. 4.** Sàng lọc các cá thể  $F_1$ (AS996/IR64-*Sub1*) bằng chỉ thị ART5.

Làn gel 1-22: các cá thể  $F_1$  mang băng dị hợp tử H, Làn gel 23: IR64-*Sub1*;

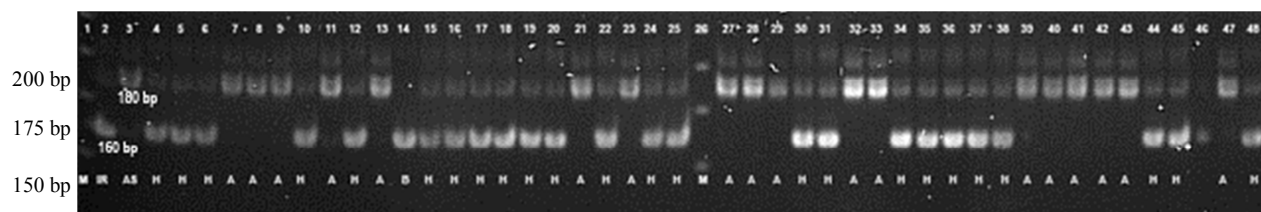
Làn gel 24:AS996, Làn gel 25: thang chuẩn 50bp



**Hình 3. 5.** Sàng lọc các cá thể  $F_1$ (AS996/IR64-*Sub1*) bằng chỉ thị SC3.

Làn gel 1-22: các cá thể  $BC_1F_1$  mang băng dị hợp tử H,

Làn gel 23: AS996 (P1), Làn gel 24: IR64-*Sub1* (P2).

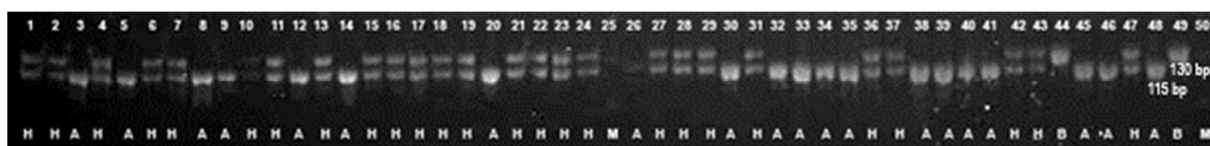


**Hình 3. 6. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5**

*Làn gel 1, 26: thang chuẩn 50bp (M),*

*Làn gel 2: IR64-Sub1, Làn gel 3: AS996;*

*Làn gel 4-25 và 27-48: các cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> (A hoặc H)*



**Hình 3. 7. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>(AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3**

*Làn gel 1-24 và 26-47: các cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>(A hoặc H),*

*Làn gel 48: AS996 (A),*

*Làn gel 49: IR64-Sub1(B),*

*Làn gel 50: thang chuẩn 25bp (M)*



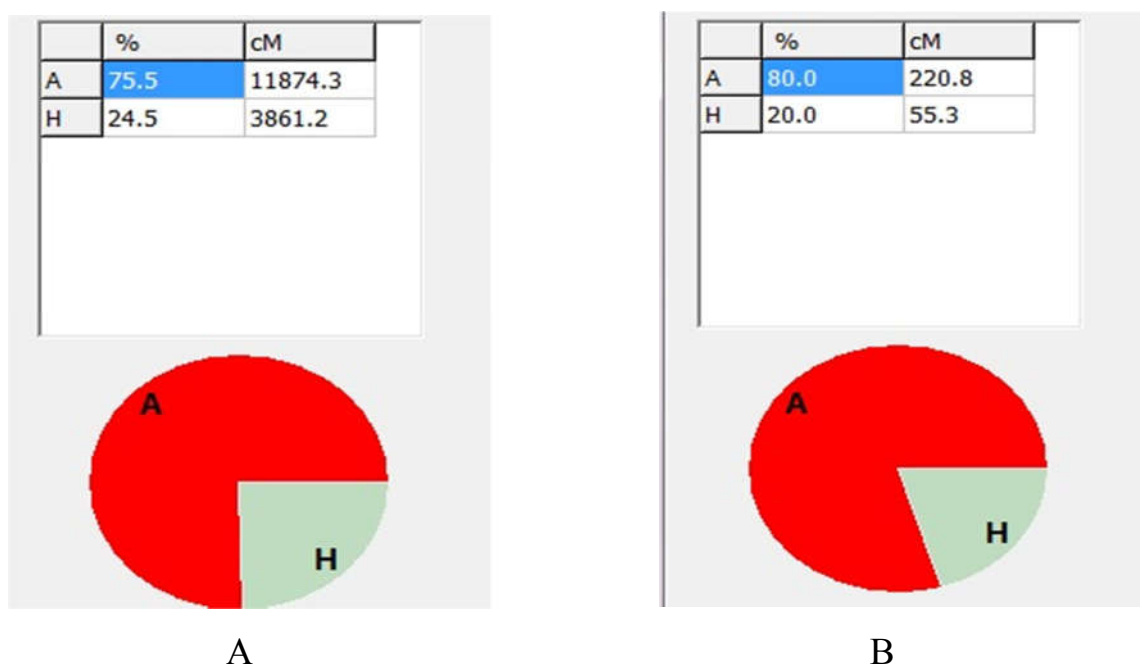
**Hình 3. 8. Kết quả phân tích nền di truyền 56 cá thể  $BC_1F_1$  bằng phần mềm GGT v.2.0**

*Ghi chú: Phía trên là số thứ tự nhiễm sắc thể; số phía bên trái là số thứ tự cá thể  $BC_1F_1$  kiểm tra nền di truyền. Phần biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phần xanh là dị hợp tử. Đơn vị bản đồ: cM.*

Kết quả Hình 3.4 và 3.5 cho thấy: cả 22 cá thể  $F_1$  được kiểm tra đều là cây lai mang locus gen *Sub1*. Tiến hành lai trở lại các cá thể  $F_1$  với AS996 để tạo quần thể  $BC_1F_1$ , thu được 120 cá thể thế hệ  $BC_1F_1$ .

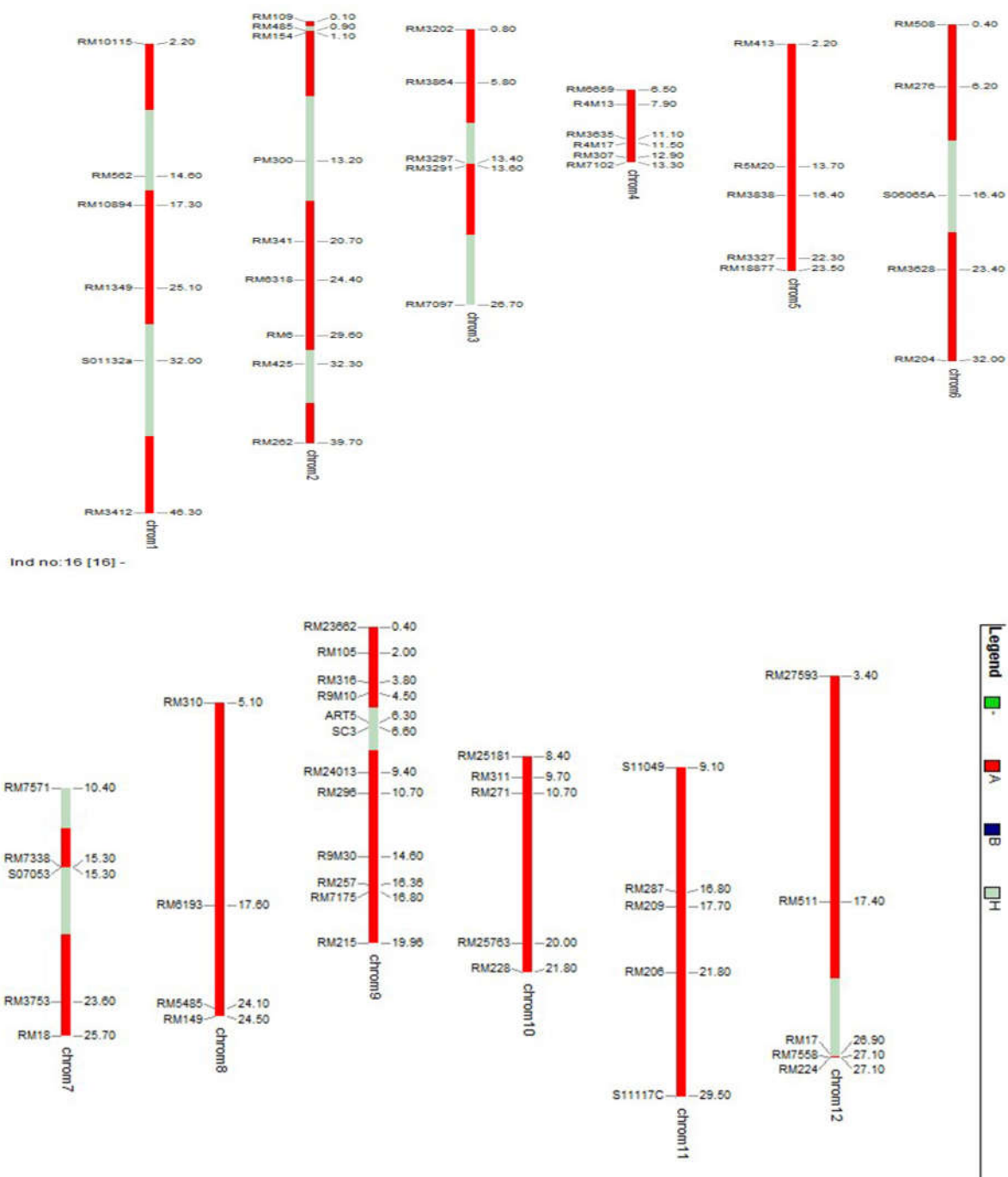
Để xác định những cá thể mang locus gen mục tiêu *Sub1* trong quần thể lai trở lại  $BC_1F_1$ , tiếp tục sử dụng 2 CTPT là SC3 và ART5, có liên kết chặt với locus gen mục tiêu *Sub1*. Kết quả trong tổng số 120 cá thể của quần thể  $BC_1F_1$ , đã xác định được 56 cá thể mang locus gen *Sub1*, có kiểu gen dị hợp tử (H) với hai chỉ thị dùng để sàng lọc là ART5 và SC3 (Hình 3.6 và 3.7).

Các cá thể mang locus gen *Sub1* trong quần thể  $BC_1F_1$  tiếp tục được phân tích kiểu gen với 69 CTPT đa hình trên 12 nhiễm sắc thể để đánh giá nền di truyền của từng cá thể ở thế hệ  $BC_1F_1$ . Kết quả phân tích kiểu gen của 56 cá thể  $BC_1F_1$  mang locus gen *Sub1* với chỉ thị đa hình trên 12 nhiễm sắc thể được đọc và nhập vào phần mềm Excel. Số liệu được phân tích qua phần mềm Graphical Genotypes 2.0 (GGT v.2.0) nhằm tìm kiếm cá thể mang nền di truyền tương đồng với giống nhận gen AS996 (Hình 3.8).



**Hình 3. 9. Tỷ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỷ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể  $BC_1F_1$  (hình A) và cá thể  $BC_1F_1$  số 16 (hình B)**





**Hình 3. 10. Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> số 16 bằng phần mềm GGT v.2.0.**

*Ghi chú:* Bản đồ vị trí và kiểu gen của 71 chỉ thị SSR trên 12 nhiễm sắc thể của cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> số 16. Phần biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phần xanh là dị hợp tử (H). Đơn vị bản đồ: cM.



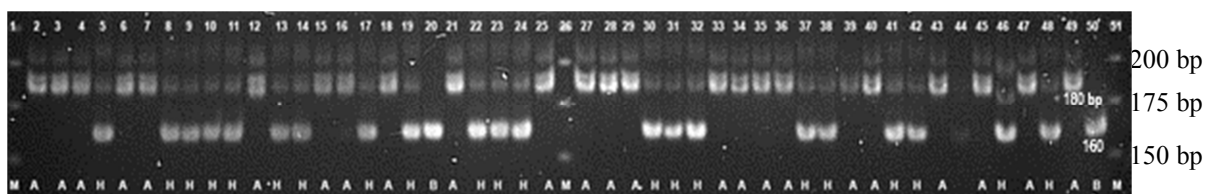
Trên quần thể  $BC_1F_1$ , khi đưa số liệu vào phân tích trong phần mềm GGT v.2.0 cho thấy, phần mềm đã tính toán giá trị nền gen của giống AS996 trên cả quần thể trung bình là 75,5% (mang alen A) và số cá thể mang gen dị hợp tử trung bình đạt tỉ lệ 24,5% (mang alen H).

Trong số các cá thể  $BC_1F_1$ , đã chọn được cá thể số 16 mang tỉ lệ nền gen của giống AS996 là 80% (alen A) và mang tỉ lệ kiểu gen dị hợp tử là 20% (alen H) để phát triển tiếp quần thể lai trở lại trong việc tạo thế hệ  $BC_2F_1$  cho chọn giống. Hình 3.9 và Hình 3.10 là những kết quả được phân tích trên phần mềm GGT.v.2.0. Cá thể số 16 được chọn để lai trở lại với giống AS996 phát triển thành quần thể  $BC_2F_1$ .

### ***3.2.2. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen *Sub1* chịu ngập và nền di truyền giống AS996 trong quần thể $BC_2F_1$***

Thế hệ  $BC_2F_1$  được tạo ra gồm có 128 cá thể. Tách chiết ADN của các cá thể  $BC_2F_1$  và tiến hành xác định kiểu gen của các cá thể ở giai đoạn đẻ nhánh. Phân tích kiểu gen các cá thể của quần thể với hai CTPT liên kết chặt với locut gen *Sub1* là ART5 và SC3.

Kết quả phân tích 128 cá thể  $BC_2F_1$  với ART5 và SC3 thu được 62 cá thể mang locut gen *Sub1*, thể hiện bằng kiểu gen dị hợp tử với cả hai chỉ thị này. Tiếp tục chọn lọc các cá thể vừa mang locut gen mục tiêu *Sub1*, vừa mang nền di truyền gần nhất với giống lúa AS996. Tất cả 62 cá thể  $BC_2F_1$  mang locut gen mục tiêu *Sub1* được tiếp tục phân tích kiểu gen với 69 CTPT đa hình trên 12 nhiễm sắc thể. Kết quả đánh giá nền di truyền được xử lý trên phần mềm GGT v.2.0 để chọn lọc cá thể mang nền di truyền gần nhất với giống AS996.



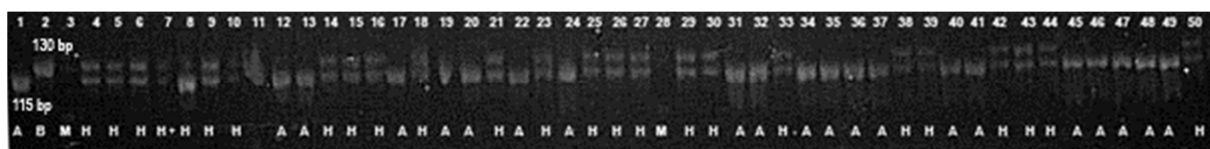
**Hình 3. 11. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5**

*Làn gel 1, 51: thang chuẩn 25bp (M)*

*Làn gel 2-25 và 27-48: các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (A hoặc H),*

*Làn gel 49: AS996 (A);*

*Làn gel 50: IR64-Sub1(B);*



**Hình 3. 12. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3**

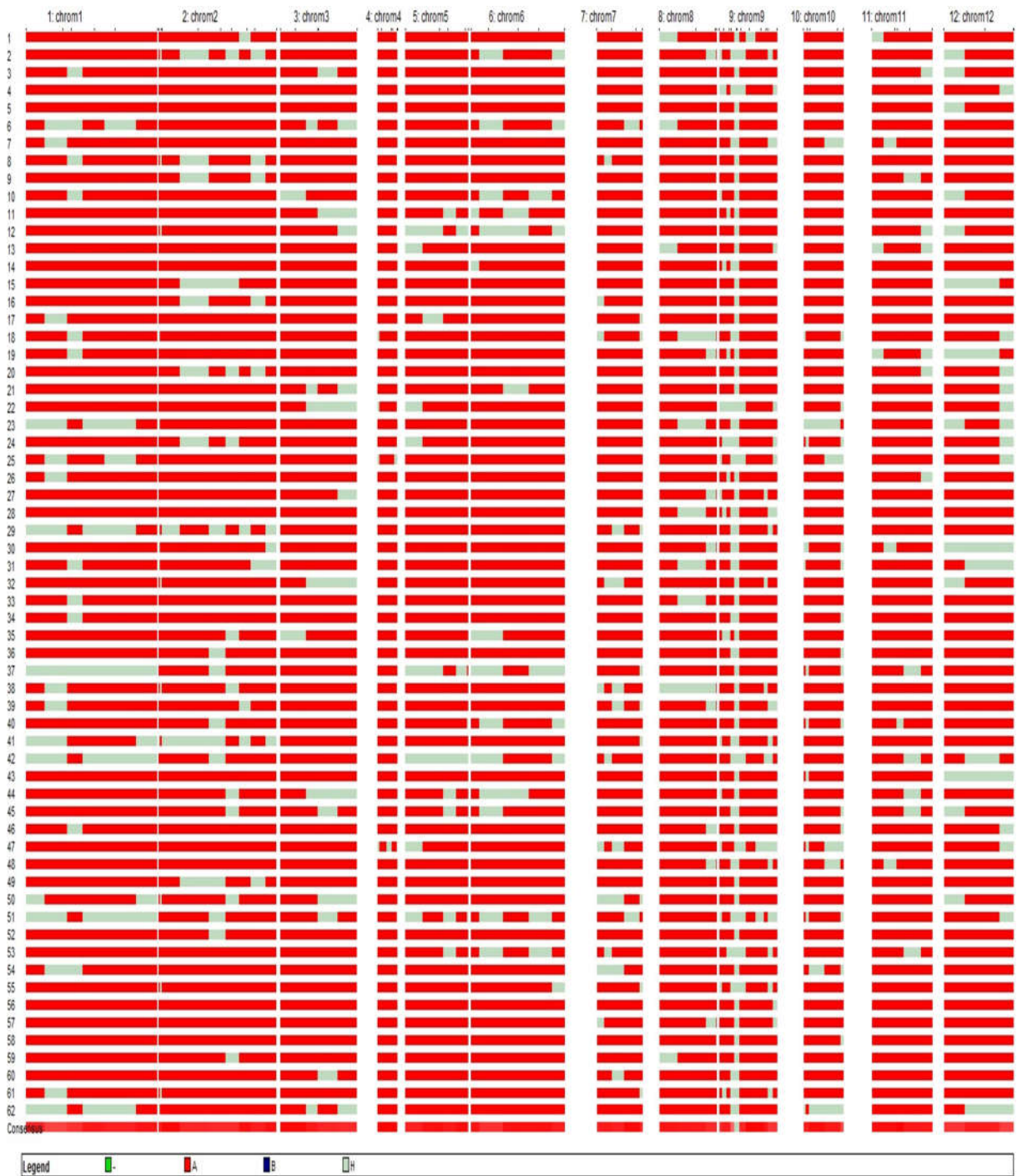
*Làn gel 1. AS996 (A),*

*Làn gel 2. IR64-Sub1 (B),*

*Làn gel 3, 28: thang chuẩn 25bp (M),*

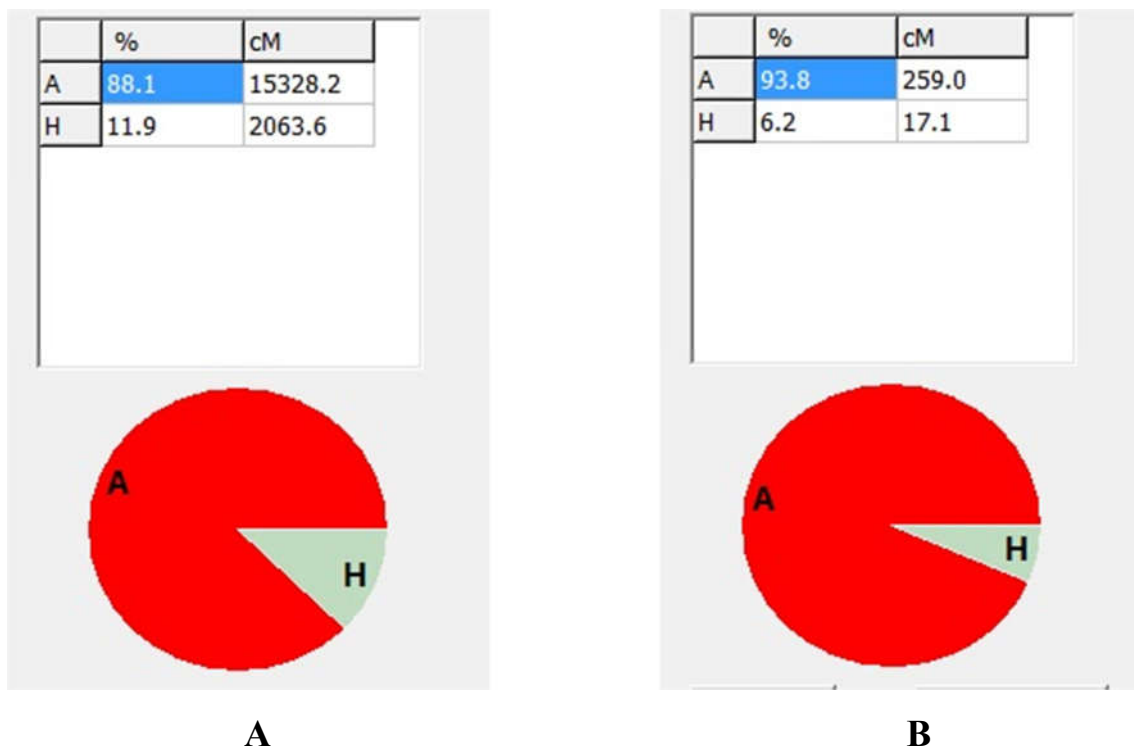
*Làn gel 4-27 và 29-50 : các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (A hoặc H).*

Kết quả phân tích nền di truyền 62 cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v.2.0 được thể hiện qua Hình 3.13.



**Hình 3. 13. Kết quả phân tích nền di truyền 62 cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v.2.0**

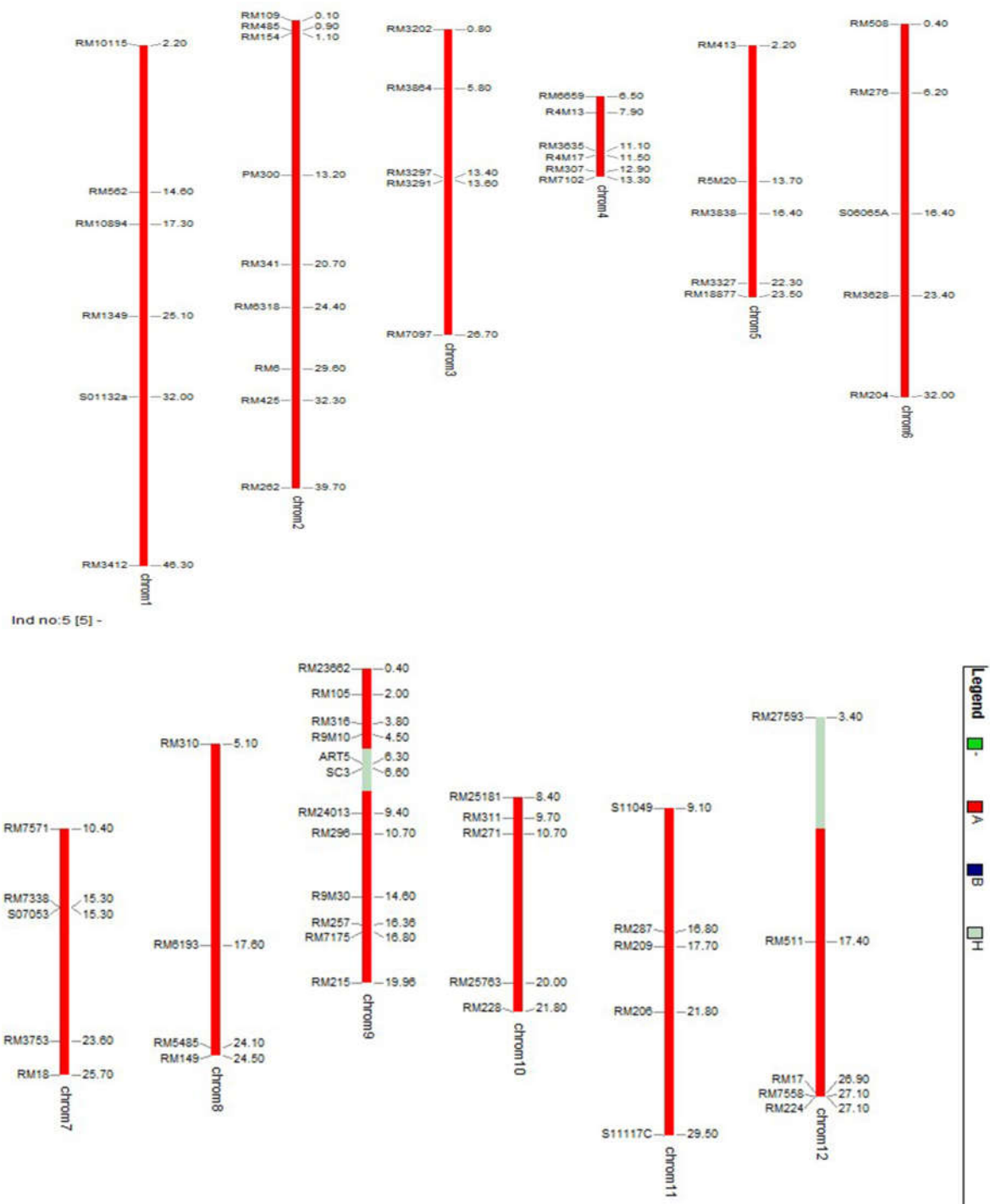
*Ghi chú: Phía trên là số thứ tự nhiễm sắc thể; số phía bên trái là số thứ tự cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> kiểm tra nền di truyền. Phần biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phần xanh là dị hợp tử. Đơn vị bản đồ: cM*



**Hình 3. 14. Tỷ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỷ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể  $BC_2F_1$  (hình A) và cá thể  $BC_2F_1$  số 5 (hình B)**

Hình 3.14 A, khi đưa số liệu vào phân tích trong phần mềm GGT v.2.0 cho thấy: phần mềm đã tính toán giá trị nền gen của giống AS996 trên cả quần thể trung bình là 88,1% (mang alen A) và số cá thể mang gen dị hợp tử trung bình đạt tỷ lệ 11,9% (mang alen H).

Trong số các cá thể  $BC_2F_1$ , đã chọn được cá thể số 5 mang nền gen của giống AS996 là 93,8% (alen A) và mang kiểu gen dị hợp tử đạt tỷ lệ 6,2% (alen H) để phát triển tiếp quần thể lai trở lại trong việc tạo thế hệ  $BC_3F_1$  cho chọn giống. Hình 3.14 B và Hình 3.15 là những kết quả được phân tích trên phần mềm GGT phân tích nền di truyền cá thể  $BC_2F_1$  số 5.



**Hình 3. 15. Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> số 5 bằng phần mềm GGT v.2.0**

*Ghi chú: Bản đồ vị trí và kiểu gen của 71 chỉ thị SSR trên 12 nhiễm sắc thể của cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> số 5. Phân biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phân xanh là dị hợp tử (H). Đơn vị bản đồ: cM.*

### 3.2.3. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen *Sub1* chịu ngập và nền di truyền giống AS996 trong quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>

Từ cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> số 5, lai trở lại với giống lúa AS996 để tạo ra 132 cá thể của quần thể thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>. Tiến hành xác định kiểu gen của các cá thể ở giai đoạn đẻ nhánh của cây, phân tích kiểu gen của các cá thể trong quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> với hai CTPT liên kết locut gen *Sub1* là ART5 và SC3. Kết quả thu được 58 cá thể mang locut gen *Sub1*, thể hiện bằng kiểu gen dị hợp tử với cả hai chỉ thị này.



**Hình 3. 16. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5.**

*Làn gel 1-24 và 25-46: các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (A hoặc H),*

*Làn gel 47: AS996 (A);*

*Làn gel 48: IR64-Sub1(B)*

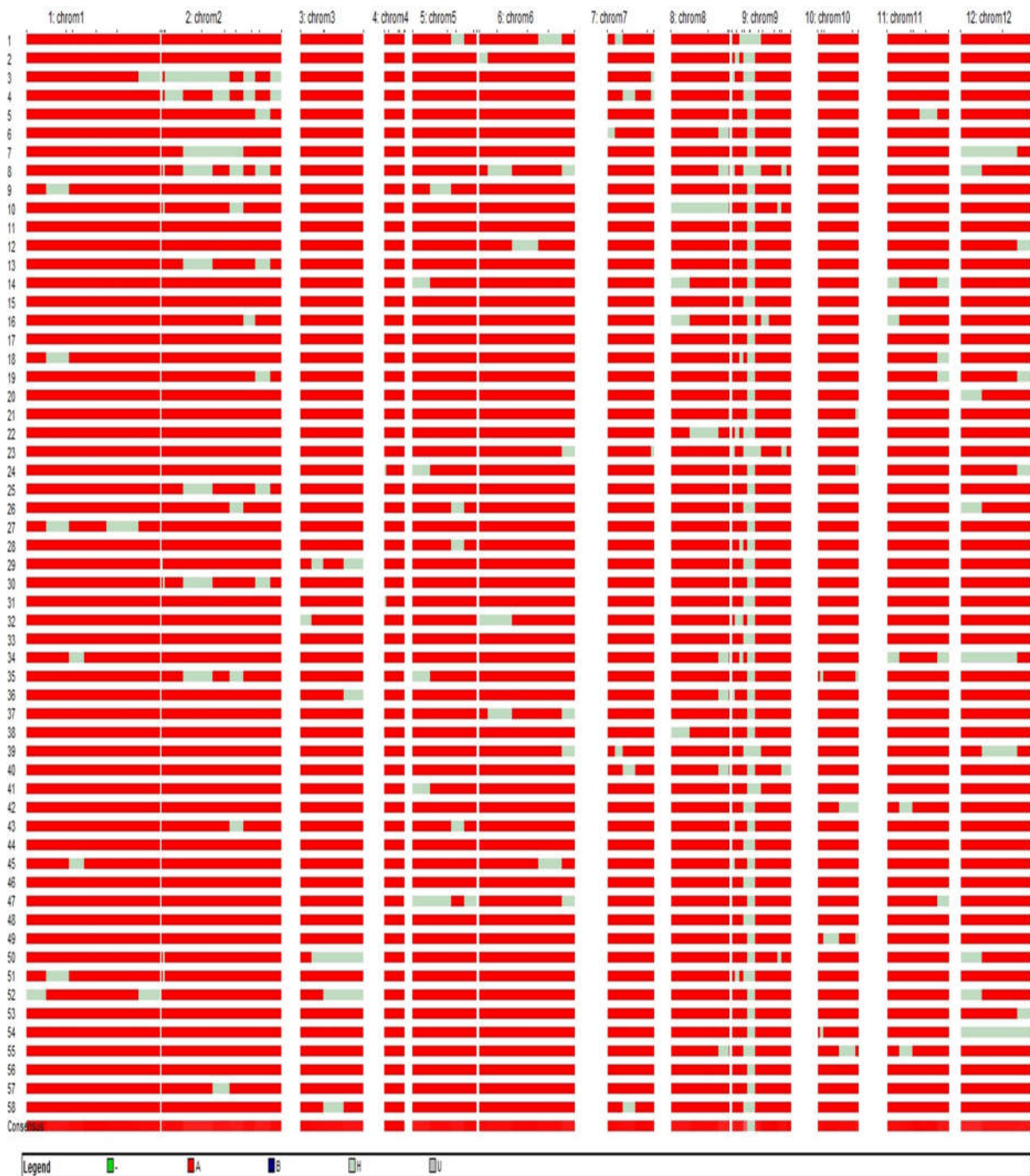


**Hình 3. 17. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3.**

*Làn gel 1-25 và 26-47 : các cá thể BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (A hoặc H).*

*Làn gel 48. AS996 (A),*

*Làn gel 49. IR64-Sub1 (B).*



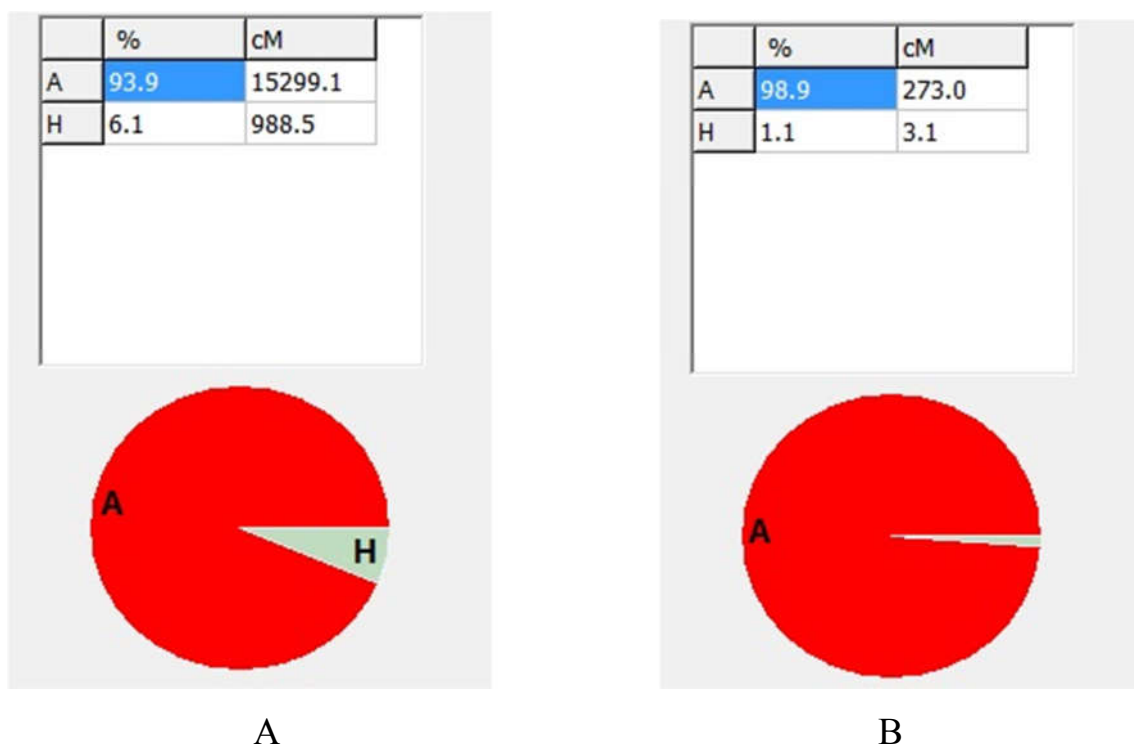
**Hình 3. 18. Kết quả phân tích nền di truyền 58 cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> bằng phần mềm GGT v. 2.0**

*Ghi chú: Phía trên là số thứ tự nhiễm sắc thể; số phía bên trái là số thứ tự cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> kiểm tra nền di truyền. Phân biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phân xanh (H) là dị hợp tử. Đơn vị bản đồ: cM.*



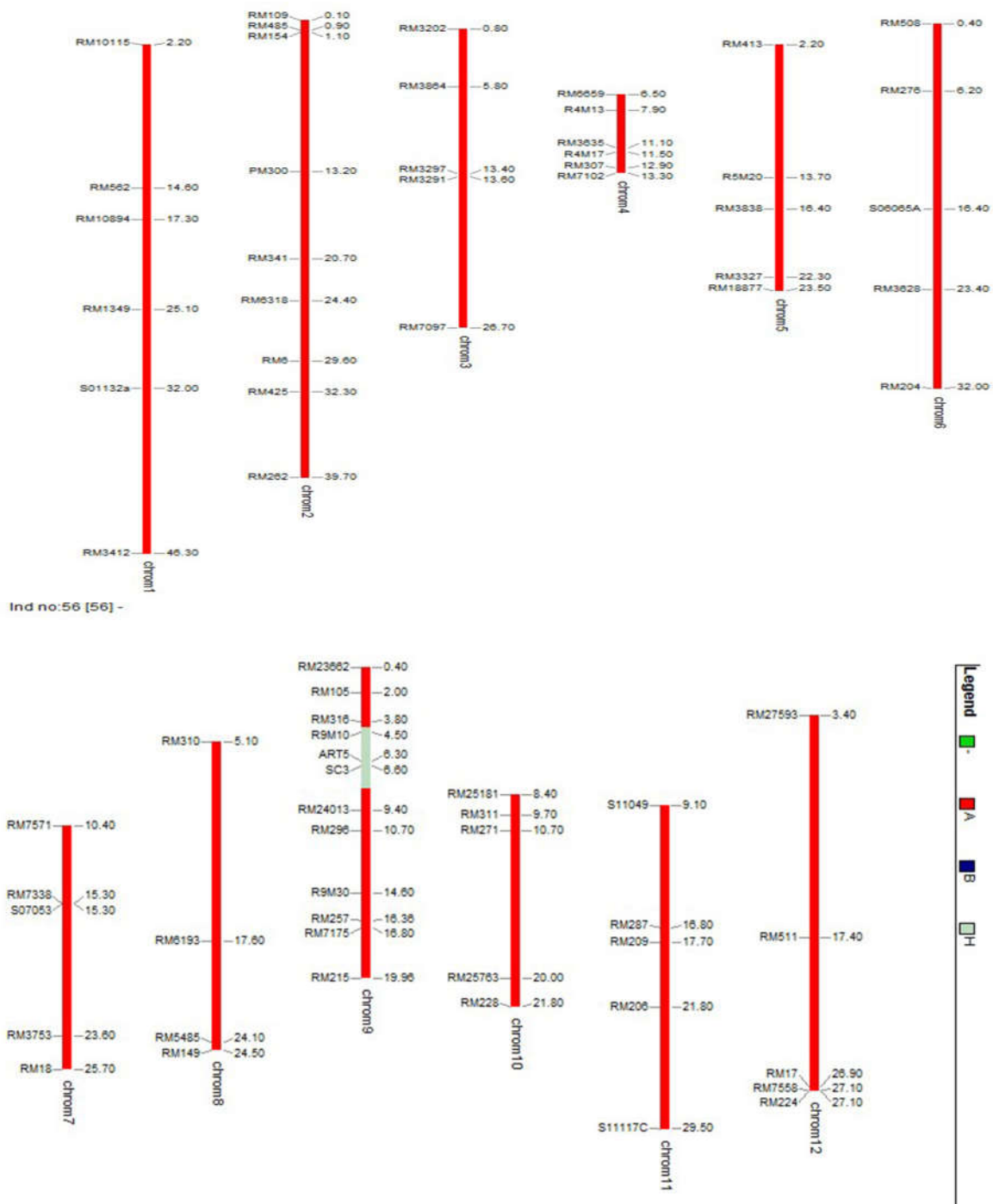
Tương tự như với quần thể  $BC_1F_1$  và  $BC_2F_1$ , tiếp tục chọn lọc các cá thể vừa mang locut gen mục tiêu *Sub1*, vừa mang nền di truyền tương đồng nhất với giống lúa AS996. Tất cả 58 cá thể trong quần thể  $BC_3F_1$  mang locut gen *Sub1* tiếp tục được phân tích kiểu gen với 69 CTPT đa hình trên 12 nhiễm sắc thể. Kết quả đánh giá nền di truyền được xử lý trên phần mềm GGT v. 2.0 để chọn lọc cá thể mang nền di truyền tương đồng nhất với giống AS996.

Trên quần thể  $BC_3F_1$ , khi đưa số liệu vào phân tích trong phần mềm GGT v. 2.0 cho thấy, phần mềm đã tính toán giá trị nền gen của giống AS996 trên cả quần thể là 93,9% (mang alen A), và số cá thể mang gen dị hợp tử (mang alen H) đạt tỉ lệ 6,1%, kết quả thể hiện trên hình 3.19 A.



**Hình 3.19. Tỉ lệ nền di truyền của giống nhận gen AS996 (A) và tỉ lệ cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (H) tính trên cả quần thể  $BC_3F_1$  (hình A) và cá thể  $BC_3F_1$  số 56 (hình B)**





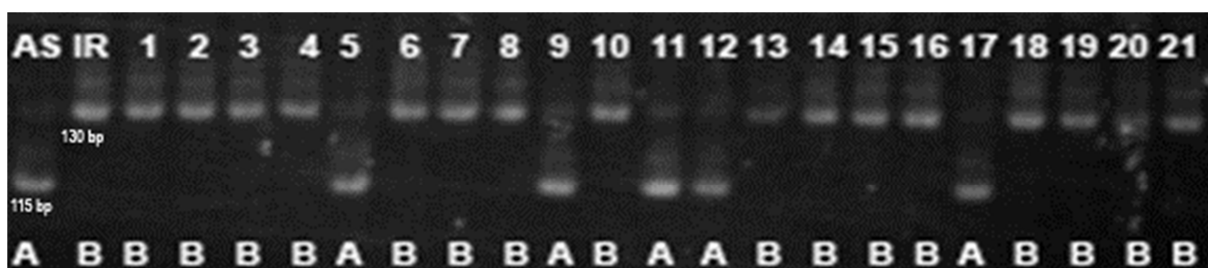
**Hình 3. 20. Kết quả phân tích nền di truyền cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> số 56 bằng phần mềm GGT v.2.0**

*Ghi chú:* Bản đồ vị trí và kiểu gen của 71 chỉ thị SSR trên 12 nhiễm sắc thể của cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> số 56. Phân biểu thị màu đỏ (A) là nền di truyền AS996, phân biểu thị màu xanh (H) là dị hợp tử. Đơn vị bản đồ: cM.

Trong quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, đã chọn được cá thể số 56 mang nền gen tương đồng nhất với giống AS996 là 98,9% (alen A) và mang kiểu gen dị hợp tử (alen H) đạt tỉ lệ 1,1% để phát triển tiếp quần thể chọn giống. Hình 3.19 B và Hình 3.20 là những kết quả được phân tích trên phần mềm GGT.

### 3.2.4. Kết quả chọn lọc cá thể mang locut gen *Sub1* chịu ngập đồng hợp tử

Từ cá thể số 56 trong quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, tiến hành tự thụ để tạo các quần thể tiếp theo. Tại thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>, hai CTPT liên kết locut gen *Sub1* là ART5 và SC3 tiếp tục được sử dụng để xác định cá thể mang locut gen *Sub1* đồng hợp tử.



**Hình 3. 21. Kết quả kiểm tra các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> với chỉ thị SC3 liên kết chặt với locut gen *Sub1***

Làn gel 1: AS996 (A), Làn gel 2: IR64-*Sub1* (B), Từ 1-21: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>;



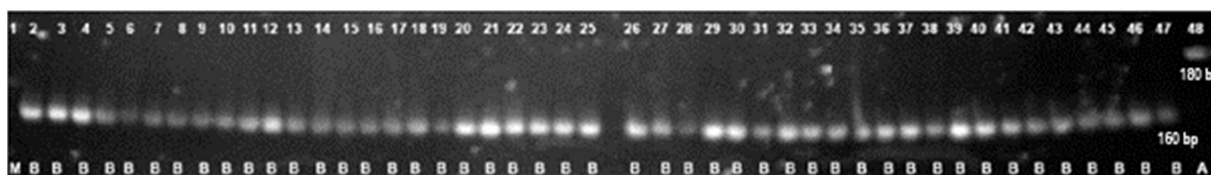
**Hình 3. 22. Kết quả kiểm tra các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> với chỉ thị ART5 liên kết chặt với locut gen *Sub1***

Làn gel M: thang chuẩn 25bp; Làn gel AS: AS996 (A), Làn gel IR: IR64-*Sub1* (B), Từ 1-21: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>

Kết quả phân tích trên Hình 3.21 cho thấy các cá thể 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 13, 18, 19 mang locut gen *Sub1* đồng hợp tử tại vị trí của chỉ thị SC3.

Tiếp tục sàng lọc sự có mặt của locut ART5 đồng hợp với các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>. Kết quả phân tích trên Hình 3.22 cho thấy các cá thể 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 mang locut gen *Sub1* đồng hợp tử tại vị trí của ART5. Kết hợp kết quả phân tích kiểu gen đồng hợp tử của cả hai chỉ thị ART5 và SC3, chọn ra được các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> số 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 13, 18, 19 mang locut gen *Sub1* đồng hợp tử đối với cả hai chỉ thị sàng lọc.

Các cá thể đồng hợp tử thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> được sử dụng để phát triển quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>. Tiếp tục kiểm tra sự có mặt của locut gen *Sub1* bằng hai CTPT là SC3 và ART5 trong quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (Hình 3.23, Hình 3.24). Kết quả phân tích cho thấy các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> đều mang locut gen *Sub1* đồng hợp tử.



**Hình 3. 23. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị ART5**

*Làn gel 1: thang chuẩn 25bp (M); Làn gel 2-25 và 26-46: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (B),  
Làn gel 47: IR64-Sub1(B); Làn gel 48: AS996 (A)*



**Hình 3. 24. Sàng lọc các cá thể của quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (AS996/IR64-Sub1) bằng chỉ thị SC3**

*Làn gel 2 - 25 và 27 - 48: các cá thể BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> (B),  
Làn gel 49: IR64-Sub1(B); Làn gel 50: AS996 (A);*

Qua quá trình lai tạo và chọn lọc, phân tích các thế hệ lai trở lại, kết quả cho thấy quá trình lai tạo giữa giống lúa IR64-Sub1 (giống cho gen *Sub1*) với giống AS996 (giống nhận gen) và quá trình chọn lọc đã thành công khi áp dụng phương pháp MABC. Kết quả ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> đã xác định được cá thể số 56 mang 98,9% nền di truyền của giống lúa nhận gen AS996 và mang locut gen *Sub1*. Cá thể này tiếp tục được sử dụng để phát triển quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> và chọn dòng AS996-Sub1 mang locut gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử. Quá trình chọn lọc thành công khi kiểm tra bằng chỉ thị ART5 và SC3 cho thấy tất cả các dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> đều mang locut gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử. Kết quả này thể hiện trên Hình 3.23 và 3.24.

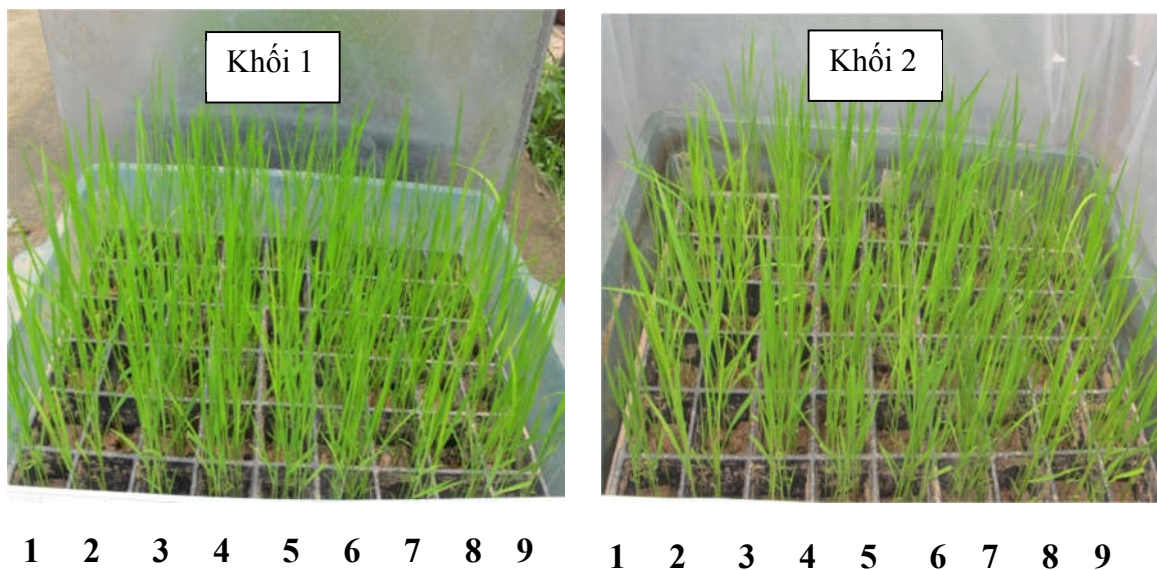
Như vậy, việc tích hợp thành công locut gen chịu ngập *Sub1* vào giống lúa AS996 của nghiên cứu này đã góp phần minh chứng cho việc ứng dụng thành công công nghệ MABC trong chọn tạo giống cây trồng tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu này cùng với các kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác cũng đã khẳng định tính ưu việt và tiềm năng của phương pháp chọn giống MABC trong chọn tạo giống lúa ở Việt Nam để ứng phó với BĐKH đang diễn ra hiện nay.

### **3.3. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỊU NGẬP, ĐẶC ĐIỂM NÔNG SINH HỌC VÀ TIỀM NĂNG NĂNG SUẤT CỦA MỘT SỐ DÒNG/ GIỐNG LÚA TRIỂN VỌNG TRONG CÁC THẾ HỆ CHỌN GIỐNG**

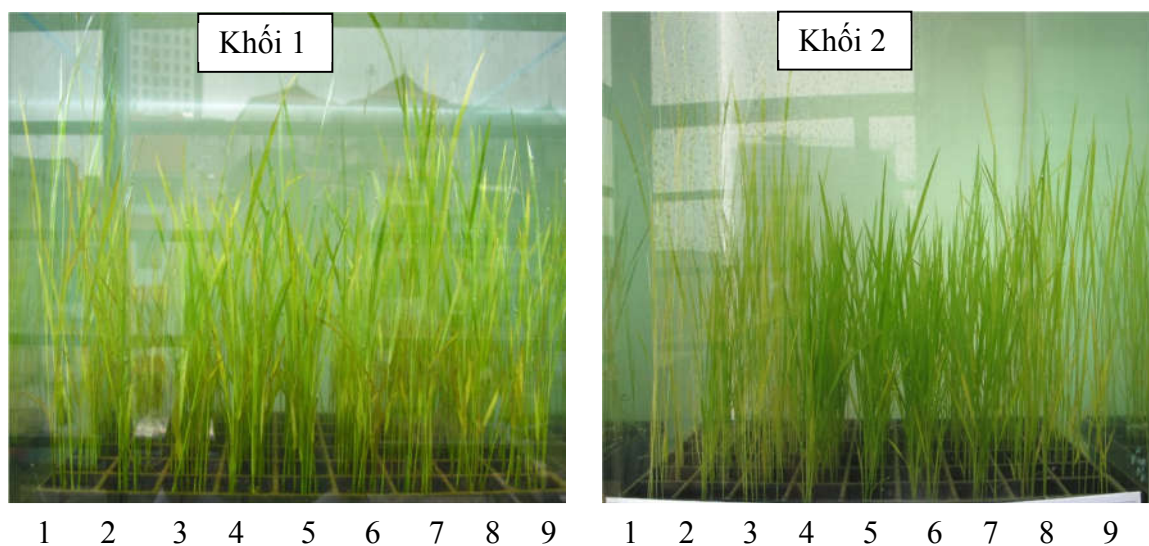
#### ***3.3.1. Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập của một số dòng/giống lúa trong thế hệ chọn giống BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>***

Cùng với thí nghiệm đánh giá một số đặc điểm nông sinh học, các dòng C1, C2, C3, C4, C6, C7, C10, C13, C18 và C19 mang locus gen *Sub1* đồng hợp tử ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> được đánh giá khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo.

Kết quả được thể hiện trong Hình 3.25; Hình 3.26 và Bảng 3.20 .



**Hình 3. 25. Các dòng  $BC_3F_3$  trước khi được cho vào đánh giá tính chịu ngập, ở 14 ngày tuổi**



**Hình 3. 26. Các dòng  $BC_3F_3$  khi được đánh giá ngập hoàn toàn trong thời gian 14 ngày**

**Bảng 3. 20: Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập của các dòng thí nghiệm mang locut gen *Sub1***

TT	Tên dòng/giống	Mang gen <i>Sub1</i>	Tỉ lệ cây sống (%)	Thang điểm	Đánh giá
1	C1	+	68,3	7	Chịu ngập trung bình
2	<b>C2</b>	+	<b>88,3</b>	<b>1</b>	<b>Chịu ngập tốt</b>
3	C3	+	73,3	7	Chịu ngập trung bình
4	C4	+	73,3	7	Chịu ngập trung bình
5	C6	+	76,7	7	Chịu ngập trung bình
6	<b>C7</b>	+	<b>88,3</b>	<b>1</b>	<b>Chịu ngập tốt</b>
7	<b>C10</b>	+	<b>86,3</b>	<b>1</b>	<b>Chịu ngập tốt</b>
8	<b>C13</b>	+	<b>91,7</b>	<b>1</b>	<b>Chịu ngập tốt</b>
9	C18	+	65,0	7	Chịu ngập trung bình
10	C19	+	61,7	7	Chịu ngập trung bình
11	<b>AS996</b>	-	16,7	9	Không chịu ngập
12	<b>IR64-Sub1</b>	+	86,7	1	Chịu ngập tốt
13	<b>IR42 (Đ/c)</b>	-	0,0	9	Không chịu ngập

*Ghi chú:* (+): Mang gen *Sub1*; (-): không mang gen *Sub1*; Đ/c: giống chuẩn miễn cảm ngập IR42

Kết quả Bảng 3.20 cho thấy: nhóm dòng/ giống có khả năng chịu ngập tốt (điểm 1) gồm C2, C7, C10, C13 và IR64-Sub1 với tỷ lệ cây sống sót sau 14 ngày ngập hoàn toàn lần lượt là 88,3%, 86,3%, 91,7% và 86,7%. Các dòng này đều có khả năng chịu ngập (điểm 1) tương đương với giống cho gen chịu ngập IR64-Sub1, đồng thời là đối chứng chịu ngập. Giống IR42 là giống đối chứng miễn cảm không có khả năng chịu ngập, sau 14 ngày ngập có 100% số cây thí

thí nghiệm đều bị chết hoàn toàn (điểm 9). Các dòng còn lại đều chịu ngập ở mức độ trung bình (điểm 7).

### 3.3.2. Đánh giá đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất của một số dòng/giống lúa trong các thế hệ chọn giống

Song song với việc đánh giá khả năng chịu ngập, TGST và một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất, vụ Thu Đông 2013, 10 dòng BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> mang locut gen *Sub1* được tiếp tục đánh giá để chọn ra những dòng ưu tú. Kết quả trình bày tại Bảng 3.21 cho thấy: thời gian sinh trưởng của các dòng/giống trong vụ Thu Đông 2013 dao động từ 101 - 109 ngày. Trong 10 dòng thí nghiệm từ thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> khi so sánh với giống đối chứng AS996 thì chỉ có 3 dòng C7, C10 và C13 có thời gian sinh trưởng tương đương giống đối chứng; 5 dòng còn lại là C1, C2, C3, C4, C6, C18 và C19 có thời gian sinh trưởng, khác biệt với giống đối chứng AS996. Vì vậy 7 dòng này không được tiếp tục đánh giá ở các thí nghiệm phát triển dòng tiếp theo.

**Bảng 3. 21: Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen *Sub1* tại thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> trong vụ Thu Đông 2013 tại Viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên dòng/ giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông /m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/bông (hạt)	P.1000 hạt (gam)	NSTT (tấn/ ha)	Tăng/giảm so với giống Đ/c (%)
1	C1	106	101,0	285,2	98,9	26,6	4,7	4,4
2	C2	109	111,3	253,8	100,9	26,1	4,9	8,9
3	C3	107	103,7	281,4	108,6	25,9	4,9	8,9
4	C4	107	114,7	282,6	98,2	25,9	4,9	8,9
5	C6	108	102,3	288,3	105,2	25,8	5,0	11,1
6	<b>C7</b>	<b>102</b>	<b>105,0</b>	<b>262,2</b>	<b>82,9</b>	<b>26,4</b>	<b>5,1</b>	<b>13,3</b>
7	<b>C10</b>	<b>103</b>	<b>103,0</b>	<b>273,6</b>	<b>94,9</b>	<b>25,7</b>	<b>5,1</b>	<b>13,3</b>
8	<b>C13</b>	<b>102</b>	<b>104,3</b>	<b>299,6</b>	<b>114,0</b>	<b>26,8</b>	<b>5,5</b>	<b>22,2</b>
9	C18	107	114,0	261,3	98,0	23,3	4,2	-6,7

10	C19	109	113,0	264,7	118,3	21,5	4,3	-4,4
11	<b>AS996 (Đ/c)</b>	<b>103</b>	<b>105,0</b>	<b>267,3</b>	<b>87,4</b>	<b>25,6</b>	<b>4,5</b>	-
12	IR64-Sub1	106	103,0	321,6	80,9	26,5	4,2	-6,7
13	IR42	105	91,7	303,0	73,0	25,4	3,5	-22,2
<b>CV%</b>			<b>6,6</b>	<b>7,5</b>	<b>13,0</b>	<b>1,7</b>	<b>7,9</b>	
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>			<b>11,8</b>	<b>35,5</b>	<b>21,3</b>	<b>0,7</b>	<b>0,6</b>	

Chiều cao cây của các dòng thí nghiệm dao động từ 91,7 - 114,7 cm; các dòng có chiều cao cây tương đương với giống đối chứng AS996 (105,0 cm) lần lượt là C7, C10, C13 và IR64-Sub1; các dòng còn lại là C1, C2, C3, C4; C6, C18 và C19 có chiều cao cây cao hơn giống đối chứng; chỉ có giống IR42 là có chiều cao cây thấp nhất trong các dòng/giống thí nghiệm.

Số bông/m<sup>2</sup>: giống IR64-Sub1 cho số bông/m<sup>2</sup> cao nhất (321,6 bông); các dòng có số bông/m<sup>2</sup> lớn hơn giống đối chứng AS996 lần lượt là C1, C3, C4, C6, C10, C13 và IR42. Bốn dòng còn lại có số bông/m<sup>2</sup> ít hơn giống đối chứng AS996.

Tương tự, đối với chỉ tiêu khối lượng 1000 hạt: các dòng/ giống tham gia thí nghiệm dao động từ 21,5 gram (C19) đến 26,8 gram (C13). Chỉ có 2 dòng C18 và C19 là có khối lượng 1000 hạt nhỏ hơn giống đối chứng AS996. Các dòng còn lại có khối lượng 1000 hạt ổn định và tương đương giống đối chứng AS996.

Năng suất thực thu (NSTT) của các dòng/ giống thí nghiệm dao động từ 3,5 - 5,5 tấn. Có 8/10 dòng có NSTT cao hơn giống đối chứng AS996 là dòng C1, C2, C3, C4, C6, C7, C10 và C13. Trong số đó có 3 dòng có năng suất vượt so với giống đối chứng cao nhất là 13,3% (C7 và C10) và 22,2% (C13).

Như vậy qua kết quả đánh giá một số đặc điểm nông sinh học, năng suất và khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo của các dòng giống thí nghiệm cho thấy: các dòng C7, C10 và C13 có thời gian sinh trưởng tương đương với đối chứng AS996, mặt khác 3 dòng này có khả năng chịu ngập tốt (điểm 1), cho



năng suất cao hơn đối chứng từ 13,3% đến 22,2%. Vì vậy, ba dòng C7, C10 và C13 được lựa chọn để phát triển thể hệ BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub>.

Tạo quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub> từ ba dòng C7, C10 và C13. Tiếp tục đánh giá các đặc điểm nông sinh học của quần thể này và chọn ra được 8 dòng triển vọng. Kết quả thể hiện qua Bảng 3.22.

**Bảng 3. 22: Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen Sub1 tại thể hệ BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub> trong vụ Đông Xuân 2013 - 2014 tại Viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên dòng /giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông /m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/ bông (hạt)	Tỷ lệ P.1000 lép (%)	hạt (gam)	NSLT (tấn/ha)	NSTT* (tấn/ha)	Tăng/ giảm so với giống Đ/c (%)
1	C7-1	101	108,0	364,3	117,2	10,5	27,2	8,2	5,9 <sup>b</sup>	4,6
2	C10-1	101	109,3	398,7	120,4	11,1	27	8,2	6,0 <sup>b</sup>	5,1
<b>3</b>	<b>C13-1</b>	<b>99</b>	<b>101,7</b>	<b>457,6</b>	<b>130,6</b>	<b>8,9</b>	<b>27,4</b>	9,0	<b>6,8<sup>a</sup></b>	<b>19,4</b>
4	C13-4	101	110,3	410,7	111,3	10,6	27,2	8,0	5,9 <sup>b</sup>	3,5
5	C13-3	98	112,7	366	108,2	9,3	27,2	8,0	5,7 <sup>b</sup>	1,4
6	C13-2	104	114,7	386,7	114,2	12,6	27,5	8,1	5,8 <sup>b</sup>	2,5
7	C13-5	99	109,3	377,3	119,5	12,2	27,5	8,1	5,8 <sup>b</sup>	2,8
8	C13-6	101	103,3	384,3	105,3	9,6	27,6	8,3	5,9 <sup>b</sup>	4,8
9	AS996 (Đ/c)	101	100,7	402,3	103,7	11,9	27,3	7,9	5,7 <sup>b</sup>	0,0
10	IR64-Sub1	98	90	394,7	99,6	12	26,5	7,7	5,6 <sup>b</sup>	-0,3
	<b>CV%</b>	-	<b>4,7</b>	<b>8,7</b>	<b>11,9</b>	<b>8,5</b>	<b>1,5</b>	<b>7,1</b>	<b>6,5</b>	
	<b>LSD<sub>0,05</sub></b>	-	<b>8,5</b>	<b>58,6</b>	<b>23,1</b>	<b>1,6</b>	<b>0,7</b>	<b>0,9</b>	<b>0,7</b>	

\*Ghi chú: các chữ giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa, các chữ khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa.

Số liệu Bảng 3.22 cho thấy:

Thời gian sinh trưởng các dòng dao động từ 98 - 104 ngày, trong đó giống IR64-Sub1 có TGST ngắn nhất (98 ngày) và TGST dài nhất là dòng C13-2. Khi so sánh với giống đối chứng AS996 cho thấy chỉ duy nhất dòng C13-2 có TGST

dài hơn giống đối chứng 3 ngày, các dòng còn lại có TGST ngắn hơn 2 - 3 ngày hoặc tương đương giống đối chứng AS996.

Chiều cao cây các dòng dao động từ 90,0 - 114,7 cm. Trong đó các dòng C7-1, C13-1 và C13-6 có chiều cao cây tương đương với giống đối chứng AS996, các dòng còn lại có chiều cao cây cao hơn giống đối chứng từ 8,6 - 14,0 cm ở mức độ tin cậy 95%.

Các dòng/giống thí nghiệm cho số bông/m<sup>2</sup> tương đương nhau và dao động từ 364,3 - 457,6 bông/m<sup>2</sup>. Số hạt chắc/bông của các dòng/giống biến động từ 99,6 - 130,6 hạt, trong đó dòng có số hạt chắc/bông thấp nhất là IR64-Sub1 và cao nhất là dòng C13-1. Tuy nhiên, khi so sánh với chỉ số LSD<sub>0,05</sub> cho thấy chỉ duy nhất dòng C13-1 cho số hạt chắc/bông cao hơn chắc chắn so với giống đối chứng là 26,9 hạt chắc/bông, các dòng còn lại cho số hạt chắc/bông tương đương với giống đối chứng AS996.

Theo dõi tỷ lệ lép của các dòng/giống trong vụ Đông Xuân 2013 - 2014 cho thấy các dòng/giống có tỷ lệ lép tương đối thấp, dao động từ 8,9 - 12,6%. Trong đó, dòng C13-1 có tỷ lệ lép thấp nhất và dòng C13-2 có tỷ lệ lép cao nhất. Nhưng khi so sánh với chỉ số LSD<sub>0,05</sub> cho thấy, có ba dòng C13-1, C13-3 và C13-6 cho tỷ lệ lép thấp hơn chắc chắn so với giống đối chứng từ 2,3 - 3,0% ở mức độ tin cậy 95%.

Khối lượng 1000 hạt của các dòng đều tương đương với giống đối chứng AS996, dao động từ 26,5 - 27,6 gram.

Năng suất lý thuyết của các dòng/giống dao động từ 7,7 - 9,0 tấn/ha. Trong đó dòng IR64-Sub1 cho NSLT đạt thấp nhất và cao nhất là dòng C13-1 (9,0 tấn/ha). Các dòng/giống cho năng suất lý thuyết tương đương với giống đối chứng, duy nhất có dòng C13-1 cao hơn chắc chắn đối chứng AS996 1,16 tấn/ha ở mức độ tin cậy 95%. Năng suất thực thu của các dòng/ giống dao động từ 5,6 - 6,8 tấn/ha. Trong đó dòng C13-1 cho NSTT cao hơn chắc chắn so với giống đối

chứng AS996 (5,7 tấn/ha) là 1,1 tấn/ha vượt 19,4%, các dòng còn lại cho năng suất thực thu tương đương với giống đối chứng AS996.

Như vậy, qua thí nghiệm đánh giá thời gian sinh trưởng và năng suất của các dòng thí nghiệm, chọn được dòng triển vọng C13-1 có thời gian sinh trưởng ngắn nhất và năng suất cao nhất. Dòng C13-1 tiếp tục được đánh giá và chọn lọc trong vụ Hè Thu 2014 khi tạo thành quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>5</sub>.

**Bảng 3. 23: Kết quả đánh giá các dòng mang locut gen *Sub1* tại thế hệ BC<sub>3</sub>-F<sub>5</sub> trong vụ Hè Thu 2014 tại Viện Lúa ĐBSCL**

TT	Tên dòng/ giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông/ m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/ Bông (hạt)	Tỷ lệ lếp (%)	P.1000 hạt (gam)	NSLT (tấn/ ha)	Tăng/ NSTT (tấn/ ha)	giảm% so với giống Đ/C
1	C13-1-1	100	102	291,9	98,2	11	27,2	8,5	5,9 <sup>b</sup>	5,7
2	C13-1-3	96	110	268,9	85,5	9,9	27	8,4	6,0 <sup>b</sup>	6,2
<b>3</b>	<b>C13-1-4</b>	<b>101</b>	<b>105,3</b>	<b>344,3</b>	<b>108,3</b>	<b>6,6</b>	<b>27,4</b>	<b>9,3</b>	<b>6,6<sup>a</sup></b>	<b>17,6</b>
4	C13-1-5	105	115,7	289,3	93,7	10,6	26,5	8,3	5,8 <sup>b</sup>	3,6
5	C13-1-6	100	103,3	295	102,8	9,8	26,4	8,2	5,7 <sup>b</sup>	2,5
6	C13-1-7	105	112,3	260,5	98,5	11,1	26,7	8,3	5,8 <sup>b</sup>	3,6
7	C13-1-8	105	104,7	288,1	102,4	11	26,5	8,3	5,8 <sup>b</sup>	3,9
8	C13-1-9	102	114	280,3	92,5	9,5	26,3	8,4	5,9 <sup>b</sup>	5,9
9	AS996(Đ/c)	102	106	305,0	90,9	10,4	27,5	7,9	5,6 <sup>b</sup>	0,0
10	IR64- <i>Sub1</i>	105	104	328,3	92,6	10,5	26,7	8,1	5,6 <sup>b</sup>	0,7
<b>CV %</b>			<b>6,8</b>	<b>8,9</b>	<b>8,8</b>	<b>11,3</b>	<b>1,7</b>	<b>6,0</b>	<b>5,7</b>	
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>			<b>12,5</b>	<b>45,0</b>	<b>14,6</b>	<b>1,9</b>	<b>0,8</b>	<b>0,86</b>	<b>0,6</b>	

\*Ghi chú: các chữ giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa, các chữ khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa.

Từ dòng C13-1 tiếp tục phát triển thành quần thể BC<sub>3</sub>F<sub>5</sub>. Trải qua quá trình đánh giá về kiểu hình và các đặc tính nông sinh học cùng tiềm năng năng

suất đã chọn ra được 8 dòng triển vọng. Kết quả được đánh giá qua Bảng 3.23 cho thấy:

Thời gian sinh trưởng của các dòng dao động từ 96 - 105 ngày, trong đó dòng C13-1-3 có TGST ngắn nhất (96 ngày). Các dòng có TGST tương đương giống AS996 (đối chứng) là C13-1-4; C13-1-9. Các dòng còn lại đều có TGST dài hơn đối chứng AS996 từ 2 - 3 ngày.

Chiều cao cây của các dòng dao động từ 102,0 - 115,7 cm. Trong đó các dòng C13-1-4 có chiều cao cây tương đương giống AS996 (Đ/c). Bốn dòng/giống có chiều cao cây thấp hơn giống AS996 (Đ/C) lần lượt là C13-1-1; C13-1-6; C13-1-6 và IR64-Sub1. Các dòng còn lại có chiều cao cây cao hơn giống đối chứng từ 6 - 9 cm ở mức độ tin cậy 95%.

Các dòng/giống khác nhau cho số bông/m<sup>2</sup> khác nhau và dao động từ 260,5 - 344,3 bông/m<sup>2</sup>. Số hạt chắc/bông của các dòng/giống biến động từ 85,5 - 108,3 hạt, trong đó dòng có số hạt chắc/bông thấp nhất là C13-1-3 và cao nhất là dòng C13-1-4. Tuy nhiên, khi kiểm định mức sai khác LSD<sub>0,05</sub> chỉ thấy duy nhất dòng C13-1 cho số hạt chắc/bông cao hơn chắc chắn so với giống đối chứng AS996 là 39,3 hạt chắc/bông, các dòng còn lại cho số hạt chắc/bông tương đương với giống đối chứng AS996.

Theo dõi tỷ lệ lép của các dòng/giống trong vụ Hè Thu 2014 cho thấy các dòng/giống có tỷ lệ lép tương đối thấp, dao động từ 6,6 - 11,1%. Trong đó, dòng C13-1-4 cho tỷ lệ lép thấp nhất và dòng C13-1-7 cho tỷ lệ lép cao nhất. Kết quả kiểm định mức sai khác LSD<sub>0,05</sub> cho thấy dòng C13-1-4 cho tỷ lệ lép thấp hơn chắc chắn so với giống đối chứng từ 3,8%. Số liệu Bảng 3.23 cho thấy khối lượng 1000 hạt của các dòng đều tương đương so với giống đối chứng AS996, dao động từ 26,3 - 27,4 gram.

Năng suất lý thuyết của các dòng/giống trong vụ Hè Thu 2014 dao động từ 7,9 - 9,3 tấn/ha. Trong đó cao nhất là dòng C13-1-4 đạt 9,3 tấn/ha, cao hơn

chắc chắn so với giống đối chứng AS996 1,4 tấn/ha ở mức tin cậy 95%. Các dòng/giống khác cho năng suất lý thuyết tương đương với giống đối chứng. Năng suất thực thu được trình bày ở bảng 3.23 cho thấy: năng suất thực thu của các dòng/giống dao động từ 5,6 - 6,6 tấn/ha. Trong đó có dòng C13-1-4 cho năng suất thực thu cao hơn chắc chắn so với giống đối chứng AS996 (5,6 tấn/ha) là 1,0 tấn/ha, vượt 17,65%; các dòng còn lại cho năng suất thực thu tương đương so với giống đối chứng AS996.

Tiến hành chọn lọc trong 8 dòng triển vọng C13-1-1, C13-1-3, C13-1-4, C13-1-5, C13-1-6, C13-1-7, C13-1-8 và C13-1-9 tại thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>5</sub> với 4 mục tiêu chọn dòng đó là: thời gian sinh trưởng ngắn (ngắn hơn 100 ngày), số bông/m<sup>2</sup> cao, tỷ lệ hạt lép thấp và năng suất thực thu trên 60 tạ/ha). Trong đó TGST ưu tiên với hệ số 5 và NSTT ưu tiên hệ số 10. Kết quả chọn lọc dòng theo phần mềm chọn dòng Ver 1.0 của Nguyễn Đình Hiền (Phụ lục 3) đã chọn được dòng số 3 (C13-1-4) đáp ứng đủ các tiêu chí nêu trên. Dòng C13-1-4 mang các đặc điểm sau: TGST (100 ngày); chiều cao cây (105,3) cm; số bông/m<sup>2</sup> (344,3 bông); số hạt chắc/bông (108,3 hạt); Tỷ lệ hạt lép thấp (6,6%); P.1000 hạt (27,4 gam) và NSTT/ha đạt 66,0 tạ/ha. Như vậy dòng C13-1-4 được lựa chọn để phát triển thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>6</sub> trong vụ Thu Đông 2014 và được đặt tên là giống lúa AS996-Sub1.

### ***3.3.3. Kết quả đánh giá tính chịu ngập và so sánh giống lúa AS996-Sub1 với giống AS996 trong điều kiện bình thường và điều kiện ngập nhân tạo***

Để đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển của giống, đặc biệt là khả năng chịu ngập, giống lúa AS996-Sub1 được tiến hành thí nghiệm so sánh trong điều kiện canh tác bình thường và điều kiện có xử lý ngập úng giai đoạn sau cấy

14 ngày trong 3 vụ liên tiếp là vụ Đông Xuân 2014 - 2015, vụ Hè Thu 2015 và vụ Đông Xuân 2015 - 2016 tại khu thí nghiệm đồng ruộng Viện Lúa ĐBSCL. Bảng 3.24 và 3.25 số liệu được tính trung bình ở cả 3 vụ đánh giá.

**Bảng 3. 24: Một số đặc điểm nông sinh học của các giống trong điều kiện canh tác bình thường qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL**

<b>Chỉ tiêu</b> <b>Giống</b>	<b>TGST TB 3 vụ (ngày)</b>	<b>Chiều cao cây TB 3 vụ (cm)</b>	<b>Chiều dài bông TB 3 vụ (cm)</b>	<b>Độ thoát cổ bông TB 3 vụ (điểm)</b>	<b>Độ cứng cây TB 3 vụ (điểm)</b>	<b>Độ tàn lá TB 3 vụ (điểm)</b>
AS996-Sub1	95 - 110	100 - 110	22,8	1	1	3
AS996 (Đ/c)	95 - 112	105 - 110	22,5	1	1	3
IR64-Sub1	95 - 110	98 - 115	22,4	1	1	3

Số liệu Bảng 3.24 cho thấy:

Trong điều kiện canh tác bình thường, giống AS996-Sub1 có đặc điểm nông sinh học tương tự giống đối chứng AS996 và giống IR64-Sub1. Thời gian sinh trưởng ngắn; chiều cao cây và độ dài bông tương đương nhau, quần thể đồng đều; trổ thoát cổ bông và tập trung, độ tàn lá mức trung bình, độ cứng cây đều ở điểm 1 chứng tỏ khả năng chống đổ của giống rất tốt.

Cùng thí nghiệm trong điều kiện bình thường, tiến hành thí nghiệm trong điều kiện ngập nhân tạo sau 14 ngày cấy ở mức nước ngập 50,0 cm. Giống AS996-Sub1, IR64-Sub1 và giống AS996 được gây ngập trong thời gian 14 ngày, sau đó tháo nước để đánh giá khả năng phục hồi của các giống sau ngập.

Kết quả đánh giá trong Bảng 3.25 cho thấy trong điều kiện xử lý ngập, giống lúa AS996-Sub1 có khả năng chịu ngập rất cao. Tỷ lệ cây sống sau xử lý ngập của giống AS996-Sub1 đạt 86,7%, giống IR64-Sub1 đạt 87,5%, trong khi đó giống AS996 chỉ đạt 15%. Khả năng phục hồi sau ngập của giống mang gen

*Sub1* từ 5-7 ngày, nhanh hơn so với giống không mang gen *Sub1* (AS996) từ 3-5 ngày. Điều này chứng tỏ QTL/gen *Sub1* đã chuyển thành công vào giống AS996-*Sub1* và tính trạng chịu ngập đã được thể hiện trong giống mang gen chuyển.

**Bảng 3. 25: Đặc điểm sinh trưởng của các giống trong điều kiện ngập**

<b>Chỉ tiêu</b> <b>Giống</b>	<b>TGST</b> <b>(ngày)</b>	<b>Chiều cao</b> <b>cây (cm)</b>	<b>Tỷ lệ</b> <b>cây sống</b> <b>(%)</b>	<b>Thời gian</b> <b>phục</b> <b>hồi (ngày)</b>
AS996- <i>Sub1</i>	100 - 115	115 - 120	86,7	6 - 7
AS996 (Đ/c)	105 - 120	115 - 123	15,0	9 - 10
IR64- <i>Sub1</i>	105 - 115	112 - 118	87,5	5 - 7

Vì thời gian phục hồi của giống đối chứng AS996 dài hơn giống AS996-*Sub1* nên có thời gian sinh trưởng dài hơn so với giống AS996-*Sub1*. Chiều cao cây của giống AS996-*Sub1* không sai khác nhiều so với chiều cao cây của giống đối chứng AS996.

So sánh chi tiết đặc điểm nông sinh học, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của giống AS996-*Sub1* trong khảo nghiệm so sánh ở điều kiện canh tác bình thường và điều kiện ngập liên tiếp ở 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL được thể hiện qua Bảng 3.26 và Bảng 3.27.

Nhận xét về kết quả thu được sau khi khảo sát 3 vụ cho thấy:

Kết quả vụ Đông - Xuân 2014 - 2015, trong điều kiện canh tác bình thường các chỉ tiêu về yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của giống AS996-*Sub1* tương đương giống đối chứng AS996 và giống IR64-*Sub1*: số bông/m<sup>2</sup> đạt 310,9 - 379,6 bông, số hạt chắc/bông dao động 83,5 - 95,6 hạt; tỷ lệ hạt lép thấp 13,2 - 17,7%, khối lượng 1000 hạt trung bình 27 gam. Năng suất giống AS996-*Sub1* đạt 5,7 tấn/ha, tương đương giống AS996 (5,3 tấn/ha), cao hơn giống IR64-*Sub1* (4,4 tấn/ha).

**Bảng 3. 26: Một số yếu tố cấu thành năng suất của giống AS996-Sub1 trong điều kiện bình thường và điều kiện ngập qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL**

Giống	Số bông/m <sup>2</sup>		Số hạt chắc/bông		Tỷ lệ lép (%)		P1000 hạt (gam)		NSTT (tấn/ha)		Chỉ số ngập (FTI)
	Điều kiện thường	Điều kiện ngập	Điều kiện thường	Điều kiện ngập	Điều kiện thường	Điều kiện ngập	Điều kiện thường	Điều kiện ngập	Điều kiện thường	Điều kiện ngập	
<b>Vụ Đông - Xuân 2014 - 2015</b>											
AS996-Sub1	<b>379,6</b>	<b>319,3</b>	<b>95,6</b>	<b>90,9</b>	<b>13,2</b>	<b>5,7</b>	<b>27,1</b>	<b>26,8</b>	5,7	<b>4,9</b>	<b>0,9</b>
AS996 (Đ/c)	328,9	82,2	90,2	80,5	15,7	18,2	26,9	26,6	5,3	1,4	0,3
IR64-Sub1	310,9	227	83,5	81,8	17,7	20,2	27,2	26,9	4,4	3,6	0,8
<b>Hè - Thu 2015</b>											
AS996-Sub1	<b>366,5</b>	<b>304,2</b>	<b>92,7</b>	<b>88,2</b>	<b>15,1</b>	<b>15,7</b>	<b>27,2</b>	<b>27</b>	<b>5,5</b>	<b>4,6</b>	<b>0,8</b>
AS996 (Đ/c)	321,8	70,8	85,6	82,6	18,9	19,5	26,9	6,8	5	1,1	0,2
IR64-Sub	305,3	259,5	79,4	76,5	19,6	20,2	26,5	26,5	4,3	3,7	0,9
<b>Vụ Đông - Xuân 2015 - 2016</b>											
AS996-Sub1	<b>387,2</b>	<b>309,7</b>	<b>98,6</b>	<b>95,3</b>	<b>11,4</b>	<b>12,2</b>	<b>27,1</b>	<b>27</b>	<b>6,3</b>	<b>4,8</b>	<b>0,8</b>
AS996 (Đ/c)	351,6	56,3	90,4	85,8	14,6	15,3	26,9	26,9	5,7	1,2	0,2
IR64-Sub1	322,3	251,4	86,3	84,3	16,9	17,7	26,6	26,6	4,8	3,8	0,8



**Bảng 3. 27: Năng suất của một số giống thí nghiệm trong điều kiện thường và điều kiện ngập nhân tạo qua 3 vụ tại Viện Lúa ĐBSCL**

Tên giống	Trong điều kiện thường*				Trong điều kiện ngập nhân tạo*			
	NSTT (tấn/ha)			NSTB (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)			NSTB (tấn/ha)
	Vụ ĐX 2014 - 2015	Vụ HT 2015	Vụ ĐX 2015 - 2016		Vụ ĐX 2014 - 2015	Vụ HT 2015	Vụ ĐX 2015 - 2016	
AS996-Sub1	5,7 <sup>ab</sup>	5,5 <sup>abc</sup>	6,3 <sup>a</sup>	5,8 <sup>a</sup>	4,9 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>	4,8 <sup>a</sup>	4,8 <sup>a</sup>
AS996 (Đ/c)	5,3 <sup>bc</sup>	5,0 <sup>bcd</sup>	5,7 <sup>ab</sup>	5,3 <sup>b</sup>	1,4 <sup>c</sup>	1,1 <sup>c</sup>	1,2 <sup>c</sup>	1,2 <sup>c</sup>
IR64-Sub1	4,4 <sup>de</sup>	4,3 <sup>e</sup>	4,8 <sup>cde</sup>	4,5 <sup>c</sup>	3,6 <sup>b</sup>	3,7 <sup>b</sup>	3,8 <sup>b</sup>	3,7 <sup>b</sup>
<b>CV</b>				<b>6,5</b>				<b>7,8</b>
<b>LSD<sub>0,05</sub></b>				<b>0,17</b>				<b>0,16</b>

\*Ghi chú: các chữ giống nhau trong cùng một cột biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa, các chữ khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa.

Các chỉ tiêu về yếu tố cấu thành năng suất có sự khác nhau rõ rệt giữa giống mang gen *Sub1* và giống không mang gen *Sub1* trong điều kiện ngập: số bông/m<sup>2</sup> của giống AS996-Sub1 trong điều kiện ngập (82,2 bông) giảm 60,3 bông so với điều kiện bình thường, trong khi đó số bông/m<sup>2</sup> giống AS996 giảm 246,7 bông ở điều kiện ngập (82,2 bông) và giống IR64-Sub1 giảm 83,9 bông trong điều kiện ngập; các chỉ tiêu khác về yếu tố cấu thành năng suất chênh nhau không lớn. Đối với năng suất trong điều kiện bình thường hai giống chỉ chênh lệch nhau khoảng 0,47 tấn/ha; tuy nhiên trong điều kiện ngập nước, giống AS996-Sub1 (4,9 tấn/ha) do có khả năng chịu ngập nên năng suất cao hơn giống AS996 (1,4 tấn/ha) là 3,5 tấn/ha.

Vụ Hè Thu 2015: kết quả so sánh các yếu tố cấu thành năng suất của giống thí nghiệm trong điều kiện bình thường và điều kiện có xử lý ngập úng cho thấy. Trong các chỉ tiêu cấu thành năng suất thì chỉ tiêu ảnh hưởng nhất tới năng suất của giống là số bông/m<sup>2</sup>. Ở cùng điều kiện bình thường số bông/m<sup>2</sup> của 2 giống AS996-Sub1 và AS996 chỉ chênh nhau 44,7 bông. Tuy nhiên, trong điều kiện ngập nước số bông/m<sup>2</sup> của giống AS996-Sub1 cao hơn nhiều so với giống AS996 là 233,4 bông; điều đó cho thấy có sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% giữa hai điều kiện khác nhau về các chỉ tiêu so sánh.

Vụ Đông Xuân 2015 - 2016: cũng giống như 2 vụ trên, trong các chỉ tiêu liên quan đến năng suất thì chỉ tiêu số bông/m<sup>2</sup> bị ảnh hưởng rõ nhất khi triển khai trong điều kiện ngập, làm giảm năng suất thực thu của giống. Trong cùng điều kiện bình thường số bông/m<sup>2</sup> của 2 giống chênh lệch nhau 35,6 bông; trong điều kiện ngập nước số bông/m<sup>2</sup> giữa 2 giống chênh nhau 253,4 bông, điều đó cho thấy có sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95% giữa hai điều kiện khác nhau; các chỉ tiêu khác về yếu tố cấu thành năng suất chênh nhau không lớn. Về năng suất trong điều kiện bình thường hai giống chỉ chênh lệch nhau khoảng

0,52 tấn/ha. Tuy nhiên, trong điều kiện ngập nước, giống AS996-Sub1 do có khả năng chịu ngập tốt nên năng suất cao hơn hẳn giống AS996 khoảng 3,6 tấn/ ha.

Phân tích chỉ số ngập FTI đối với năng suất thực thu qua 3 vụ thí nghiệm đối với giống AS996-Sub1 và IR64-Sub1 trong điều kiện ngập và điều kiện đối chứng không ngập cho thấy, hai giống có mang gen chịu ngập Sub1 nên đạt chỉ số FTI khá cao (FTI= 0,8 - 0,9), cao hơn nhiều so với giống đối chứng AS996 không mang gen chịu ngập (FTI= 0,2 - 0,3). Điều đó góp phần khẳng định vai trò và sự hoạt động của gen chịu ngập *Sub1* trong giống AS996-Sub1 và IR64-Sub1 khi trồng trong điều kiện ngập sẽ cho năng suất suy giảm ít hơn đáng kể so với giống không mang gen Sub1.

Để đánh giá tính ổn định của giống trong 3 vụ thí nghiệm ở từng điều kiện (điều kiện thường và điều kiện ngập nhân tạo), số liệu đã được phân tích Anova theo mô hình phân tích phương sai thí nghiệm nhiều năm (nhiều vụ). Kết quả cho thấy qua 3 vụ NSTT của giống AS996-Sub1 không khác nhau có ý nghĩa.

Như vậy, qua kết quả đánh giá đặc điểm hình thái, đặc điểm nông sinh học, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất qua ba vụ liên tiếp tại điểm khảo nghiệm của tác giả cho thấy ở điều kiện canh tác bình thường, giống AS996-Sub1 không có sự sai khác về mặt thống kê so với giống gốc AS996 về đặc điểm nông sinh học cũng như các yếu tố cấu thành năng suất. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu cho thấy, giống AS996-Sub1 có các đặc điểm nông sinh học, năng suất, mức độ nhiễm sâu bệnh hại trên đồng ruộng tương tự như giống AS996. Tuy nhiên, khi ở trong điều kiện ngập nhân tạo tại Viện Lúa ĐBSCL giống AS996-Sub1 có khả năng chịu ngập hơn so với giống AS996 nhờ mang gen *Sub1* và cho năng suất cao vượt trội hơn hẳn giống AS996 trong điều kiện ngập. Giống AS996-Sub1 có tính ổn định và khảo nghiệm giống quốc gia đã được đặt tên là giống lúa OM351.

### 3.4. KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM SẢN XUẤT VÀ KHẢO NGHIỆM TÁC GIẢ GIỐNG LÚA CHỊU NGẬP AS996-SUB1 (OM351) TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA NAM

#### 3.4.1. Kết quả khảo nghiệm giống OM351 trong hệ thống khảo nghiệm quốc gia phía Nam

Cùng với quá trình đánh giá giống tại các điểm khảo nghiệm của tác giả thì việc đánh giá, khảo nghiệm tại các vùng sinh thái khác nhau là một phần rất quan trọng để khẳng định lại khả năng thích ứng của giống. Vì vậy, giống OM351 đã được đưa vào đánh giá trong hệ thống khảo nghiệm quốc gia năm 2014 và 2015 tại một số tỉnh đại diện cho vùng sinh thái phía Nam.

Kết quả khảo nghiệm đánh giá một số đặc điểm nông sinh học của giống OM351 qua các vụ được ghi lại tại Bảng 3.28 cho thấy: giống lúa OM351 thuộc nhóm ngắn ngày A1 (bộ 2), giống có TGST ngắn phù hợp với cơ cấu trồng 3 vụ tại các tỉnh phía Nam. TGST của giống OM351 là 100 - 105 ngày (cả vụ Đông Xuân và Hè Thu). Chiều cao cây dao động từ 100 – 115 cm. Giống sinh trưởng và phát triển khá, độ thuần đồng ruộng khá tốt, cứng cây nên khả năng chống đổ của giống tốt (điểm 1).

**Bảng 3. 28: Đặc điểm nông sinh học và mức độ nhiễm sâu bệnh hại của giống OM351 tại các tỉnh ĐBSCL và Đông Nam Bộ**

Tên giống	TGST (ngày)	Cao cây (cm)	Độ cứng cây (điểm 1 - 9)	Sâu bệnh hại (điểm)	
				Rầy nâu	Đạo ôn
<b>Đông - Xuân 2014 - 2015</b>					
OM351	100 - 105	100 - 110	1	5,7	3
OMCS2000	97 - 102	97 - 102	1	-	-
<b>Hè - Thu 2015</b>					
OM351	100 - 105	105 - 115	1	5,7	4
OMCS2000	97 - 102	95 - 105	1	-	-

*Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, SPCT Quốc gia*

Mức độ phản ứng của giống với sâu bệnh hại (rầy nâu, bệnh đạo ôn) trong điều kiện nhân tạo trong khảo nghiệm: giống lúa OM351 có phản ứng từ kháng đến nhiễm nhẹ đối với bệnh đạo ôn (điểm 1 - 2) và có phản ứng cấp hại 5,67 với rầy nâu.

Kết quả đánh giá độ thuần đồng ruộng và các yếu tố cấu thành năng suất thực thu của giống OM351 tại các tỉnh đại diện cho vùng sinh thái phía Nam trong khảo nghiệm được thể hiện ở Bảng 3.29.

**Bảng 3. 29: Đánh giá độ thuần đồng ruộng và các yếu tố cấu thành năng suất của giống OM351 trong khảo nghiệm**

Giống	Chỉ tiêu	Độ thuần (điểm)	Số bông/ m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/ bông (hạt)	P.1000 hạt (gram)
<b>Đông - Xuân 2014 - 2015</b>					
	OM351	1	290 - 320	70 - 80	28 - 29
	OMCS 2000 (Đ/c)	1	280 - 310	80 - 90	25 - 26
<b>Hè - Thu 2015</b>					
	OM351	1	310 - 340	60 - 70	28 - 29
	OMCS 2000 (Đ/c)	1	270 - 300	70 - 80	24 - 25

*Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm GSPCT Quốc gia*

Kết quả tổng hợp số liệu tại Bảng 3.29 cho thấy: độ thuần đồng ruộng của giống OM351 được đánh giá trong các vụ khảo nghiệm đều cao (điểm 1), tương đương giống đối chứng OMCS2000; đây là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá độ thuần của giống và đưa giống phát triển nhanh ra sản xuất. Tổng số hạt/bông của giống OM351 dao động từ 290 - 340 hạt; số hạt/bông của giống trong vụ Đông Xuân 2014 - 2015 thấp hơn so với vụ Hè Thu 2015 (310 - 340 hạt); Hạt chắc/bông dao động từ 60 - 80 hạt. Khối lượng 1000 hạt của giống OM351 ổn định trong khoảng 28 - 29 gam.

Năng suất cao, ổn định là mục tiêu mà các nhà chọn giống luôn quan tâm. Năng suất có mối tương quan thuận với các yếu tố cấu thành năng suất, vì vậy để đạt năng suất cao cần chọn tạo các giống có các yếu tố cấu thành năng suất cao.

Năng suất thực thu của giống lúa OM351 tại các tỉnh đại diện cho vùng sinh thái phía Nam được trình bày trong Bảng 3.30.

**Bảng 3. 30: Năng suất thực thu của giống OM351 qua 3 vụ tại vùng Đồng bằng sông Cửu Long và Đông Nam Bộ**

*Đvt: tấn/ha*

Giống	Đồng bằng sông Cửu Long					Trung bình	Đông Nam Bộ		Trung bình
	Tiền Giang	An Giang	Cờ Đỏ	Thới Lai	Kiên Giang		Bình Thuận	Tây Ninh	
<b>Đông - Xuân 2014 - 2015</b>									
OM351	7,0	6,4	6,8	5,8	4,8	<b>6,2</b>	5,7	5,5	<b>5,6</b>
OMCS 2000 (Đ/c)	7,6	7,9	7,2	6,0	5,3	<b>6,8</b>	5,1	6,5	<b>5,8</b>
CV%	4,2	4,3	5,3	9,5	9,7		12,3		
LSD <sub>0,05</sub>	0,53	0,58	0,67	0,92	0,94		1,01		
<b>Hè - Thu 2015</b>									
OM351	3,0	3,7	6,2	4,26	5,5	<b>4,5</b>	6,6	6,2	<b>6,4</b>
OMCS 2000 (Đ/c)	3,2	4,6	4,3	2,3	5,1	<b>3,9</b>	5,0	5,5	<b>5,2</b>
CV%	5,9	4,8	7,8	19,6	10,9		14,0	10,9	
LSD <sub>0,05</sub>	0,31	0,43	0,67	0,98	1,03		1,37	1,09	

*Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm GSPCT Quốc gia*

Kết quả khảo nghiệm quốc gia tại 7 điểm khảo nghiệm Tiền Giang, An Giang, Cà Đò, Thới Lai, Kiên Giang, Bình Thuận và Tây Ninh cho thấy: giống OM351 cho năng suất trung bình qua 5 điểm khảo nghiệm tại ĐBSCL đạt 6,2 tấn/ha (vụ Đông Xuân), giống đối chứng OMCS 2000 cho năng suất 6,8 tấn/ha và ở vụ Hè Thu giống OM351 cho năng suất 4,5 tấn/ha cao hơn giống đối chứng OMCS 2000 (3,9 tấn/ha) là 0,6 tấn/ha; tại hai điểm khảo nghiệm của Đông Nam Bộ, năng suất của giống OM351 đạt 5,6 tấn/ha (Vụ Đông Xuân) và 6,4 tấn/ha (Vụ Hè Thu 2015), trong khi đó giống đối chứng OMCS 2000 cho năng suất lần lượt là 5,8 tấn/ha (vụ Đông Xuân) và 5,2 tấn/ha (vụ Hè Thu 2015).

Để đưa một giống mới ra sản xuất thì giống đó không chỉ đáp ứng mục tiêu tăng năng suất mà còn phải có chất lượng tốt. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của giống lúa OM351 được tổng hợp ở Bảng 3.31.

Số liệu Bảng 3.31 cho thấy:

Tỷ lệ gạo xát là một chỉ tiêu hết sức quan trọng vì nó liên quan đến hiệu quả kinh tế, tỷ lệ gạo xát càng cao thì giá trị kinh tế càng cao. Tỷ lệ gạo xát phụ thuộc vào tỷ lệ gạo lật và cấu trúc hạt gạo. Khi có vỏ lụa dày thì tỷ lệ cám tăng, tỷ lệ gạo xát giảm và ngược lại. Kết quả phân tích chất lượng gạo xát của giống OM351 cho thấy: giống có chất lượng xay xát ở mức trung bình, tỉ lệ gạo nguyên đạt 40,5% vì thực tế tỷ lệ gạo nguyên biến động rất lớn và chịu ảnh hưởng rất mạnh mẽ của môi trường, đặc biệt là nhiệt độ và độ ẩm trong suốt thời gian chín, kéo dài đến lúc sau thu hoạch cũng như điều kiện phơi sấy và bảo quản; giống có độ trắng khá (39,4%); độ bạc bụng thấp (điểm 1-3) và có dạng hạt thon dài (tỷ lệ D/R >3).

Như vậy qua kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của giống lúa OM351 qua 2 vụ cho thấy giống có hình dạng hạt đẹp, thon dài, trong và ít bạc bụng.



**Hình 3. 27. Hình ảnh hạt lúa- gạo của giống lúa OM351**



**Bảng 3. 31: Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của giống OM351**

Giống	Thời vụ	Tỷ lệ xay xát (%)				Kích thước hạt			Bạc bụng (điểm)	Độ trắng (%)	Nhận xét
		Gạo lức	Gạo trắng	Gạo nguyên tăm	Gạo tám	Dài (mm)	Rộng (mm)	D/R			
OM 351	Đông Xuân 2014-2015	79,1	68,9	40,5	28,4	7,4	2,1	3,5	1	39,4	Đẹp, thon dài, trong, ít bạc bụng
	Hè Thu 2015	78,9	68,6	40,5	28,1	7,3	2,1	3,5	3	39,4	Đẹp, thon dài, trong, ít bạc bụng

*Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm GSPCT Quốc gia*

*Ghi chú: Chiều dài hạt: D- Dài (6,0 - 7,0 mm); TB- Trung bình (5,0 - 6,0mm). Hình dạng hạt: TD- Thon dài (D/R > 3,0); TB- Trung bình (D/R: 2,1 - 3,0)*

### 3.4.2. Kết quả khảo nghiệm giống OM351 của tác giả trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long

Song song với đánh giá giống OM351 trong điều kiện bị ngập ngoài sản xuất, giống lúa OM351 cũng được đưa vào khảo nghiệm sản xuất trong điều kiện bình thường để đánh giá khả năng thích ứng và mở rộng vào sản xuất. Giống OM351 được bố trí tại các tỉnh đại diện cho vùng sinh thái của Đồng bằng Sông Cửu Long gồm: vùng cao ở phía Tây (Đồng Tháp, An Giang); phía Tây (Long An); vùng thấp ở duyên hải phía Đông (Trà Vinh, Bạc Liêu, Bến Tre). Đây là vùng thường bị ngập vào mùa mưa bởi nước sông Cửu Long dâng lên. Kết quả được đánh giá qua Bảng 3.32.

**Bảng 3. 32: Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long Vụ Hè Thu 2016**

Tên giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông/m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/ bông (hạt)	Tỷ lệ lép (%)	P1000 hạt (g)	NSTT (tấn/ha)
<b>Đồng Tháp</b>							
OM351	98	103,0	349,3	93,8	12,6	27,0	6,4
AS996 Đ/c	105	105,3	327,7	88,3	15,2	26,9	5,7
<i>T<sub>m</sub></i>							<b>9,6</b>
<b>An Giang</b>							
OM351	98	101,9	382,8	93,8	10,0	27,0	6,77
AS996 Đ/c	105	102,2	333,3	88,3	12,5	26,9	6,15
<i>T<sub>m</sub></i>							<b>5,3</b>
<b>Trà Vinh</b>							
OM351	98	103,8	355,3	91,6	16,3	26,5	6,55
AS996 Đ/c	105	101,3	324,9	88,8	21,0	26,4	5,76
<i>T<sub>m</sub></i>							<b>10,0</b>
<b>Bạc Liêu</b>							
OM351	98	103,0	339,7	93,1	17,0	27,0	6,25
AS996 Đ/c	105	103,9	325,0	93,8	18,6	27,5	5,48
<i>T<sub>m</sub></i>							<b>6,6</b>
<b>Long An</b>							
OM351	98	101,9	335,3	92,6	15,7	26,7	5,96

AS996 Đ/c	105	106,0	327,7	83,9	20,8	26,3	5,59
<b><math>T_m</math></b>							<b>2,8</b>
<b>Bến Tre</b>							
OM351	98	103,3	349,8	97,6	14,9	26,9	6,05
AS996 Đ/c	105	106,7	319,4	81,7	21,7	26,2	5,26
<b><math>T_m</math></b>							<b>9,9</b>

$$T_{\alpha(2\text{ phía})} = 2,14; \alpha = 0,05$$

Kết quả ở Bảng 3.32 cho thấy:

Thời gian sinh trưởng của giống OM351 tại 6 tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long dao động từ 98 - 106 ngày và chín sớm hơn giống đối chứng AS996 từ 1 - 5 ngày. Trong đó giống OM351 có thời gian sinh trưởng ngắn nhất là tại Đồng Tháp (98 ngày) và dài nhất là tại Bạc Liêu và Long An đạt 104 ngày.

Hai giống OM351 và AS996 đều thuộc nhóm thấp cây với chiều cao cây giống OM351 dao động từ 101,9 - 103,8 cm và chiều cao cây giống AS996 biến động từ 101,3 - 106,7 cm.

Số bông/m<sup>2</sup> thể hiện khả năng đẻ nhánh của giống và là yếu tố quan trọng quyết định đến năng suất thực thu của giống. Qua đánh giá trong vụ Hè Thu 2016 cho thấy: giống OM351 có số bông/m<sup>2</sup> tại sáu điểm nghiên cứu dao động khá lớn, từ 335,3 - 382,2 bông/m<sup>2</sup> và đều cao hơn giống đối chứng từ 7,7 - 49,5 bông.

Số hạt chắc/bông là đặc điểm di truyền của giống, tuy nhiên nó còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác tác động. Số hạt chắc/bông thể hiện khả năng tổng hợp và tích lũy chất khô của giống vào hạt. Kết quả theo dõi trong vụ Hè Thu 2016 cho thấy tại cả sáu điểm khảo nghiệm giống OM351 cho số hạt chắc/bông dao động từ 91,6 - 97,6 hạt.

Tỷ lệ lép của giống OM351 có sự dao động lớn giữa các điểm thực nghiệm, đạt 10,0 - 17,0% và luôn thấp hơn so với giống đối chứng AS996 từ 1,6 - 6,7%.

Khối lượng 1000 hạt là đặc điểm di truyền của giống và ít phụ thuộc vào điều kiện ngoại cảnh. Khối lượng 1000 hạt của giống OM351 tương đối ổn định, dao động nhẹ từ 26,5 - 27,0 gam và giống AS996 là từ 26,2 - 27,5 gam.

Năng suất thực thu của một giống cao hay thấp phụ thuộc vào một số chỉ tiêu như: số bông/m<sup>2</sup>, số hạt chắc/bông và khối lượng 1000 hạt. Các yếu tố này được hình thành trong các thời gian khác nhau, có những quy luật và chịu tác động bởi những điều kiện khác nhau, song chúng lại có mối quan hệ ảnh hưởng lẫn nhau. Kết quả ghi nhận từ Bảng 3.32 cho thấy: giá trị  $T_m$  tại tất cả các điểm thí nghiệm đều lớn hơn giá trị  $T_\alpha$  (2,14), điều này chứng tỏ năng suất thực thu của giống OM351 tại tất cả các điểm đều có sự sai khác có ý nghĩa ở mức ý nghĩa 95% so với giống đối chứng AS996.

Vụ Đông Xuân 2016 - 2017, giống OM351 được khảo nghiệm tiếp tục để đánh giá, so sánh với giống đối chứng AS996.

Sô liệu Bảng 3.33 cho thấy:

TGST của giống OM351 trong vụ Đông Xuân 2016 - 2017 dao động từ 99 - 103 ngày và chín sớm hơn giống đối chứng AS996 từ 2 - 4 ngày. Riêng tại điểm An Giang giống OM351 chín muộn hơn giống đối chứng AS996 một ngày. Trong đó giống OM351 có TGST ngắn nhất tại Trà Vinh (99 ngày) và dài nhất tại Bạc Liêu và Bến Tre (103 ngày).

**Bảng 3. 33: Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long vụ Đông Xuân 2016 - 2017**

Tên giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông/m <sup>2</sup> (bông)	Số hạt chắc/bông (hạt)	Tỷ lệ hạt lép (%)	P1000 hạt (g)	NSTT (tấn/ha)
<b>Đồng Tháp</b>							
OM351	102	104,0	354,3	94,0	12,7	27,1	6,15
AS996 Đ/c	104	106,2	326,0	86,3	15,4	26,9	5,67
$T_m$							<b>5,4</b>

<b>An Giang</b>							
OM351	103	105,2	377,5	93,8	10,6	26,7	6,28
AS996 Đ/c	102	102,2	337,8	88,3	12,5	26,9	5,71
<b><math>T_m</math></b>							<b>5,0</b>
<b>Trà Vinh</b>							
OM351	99	101,0	365,1	91,6	15,3	26,5	6,53
AS996 Đ/c	101	100,0	329,8	88,0	19,6	26,4	5,71
<b><math>T_m</math></b>							<b>5,2</b>
<b>Bạc Liêu</b>							
OM351	103	103,0	343,3	95,9	15,3	27,0	5,89
AS996 Đ/c	105	102,6	323,0	91,8	16,4	27,5	5,85
<b><math>T_m</math></b>							<b>0,2</b>
<b>Long An</b>							
OM351	101	101,9	367,8	92,6	14,3	26,7	6,37
AS996 Đ/c	105	106,0	335,7	83,9	19,4	26,8	5,82
<b><math>T_m</math></b>							<b>9,9</b>
<b>Bến Tre</b>							
OM351	103	103,3	351,6	93,7	13,7	26,9	5,85
AS996 Đ/c	106	106,7	314,7	84,2	18,1	25,9	5,31
<b><math>T_m</math></b>							<b>5,2</b>

$$T_{\alpha(2\text{ phía})} = 2,14; \alpha = 0,05$$

Hai giống OM351 và AS996 đều thuộc nhóm thấp cây với chiều cao cây giống OM351 dao động từ 101,0 - 105,2 cm và chiều cao cây giống AS996 biến động từ 100,0 - 106,7 cm.

Số bông/m<sup>2</sup> tại sáu điểm nghiên cứu của giống OM351 dao động khá lớn, từ 343,3 - 382,2 bông/m<sup>2</sup> và đều cao hơn giống đối chứng AS996 từ 20,3 - 39,6 bông. Số hạt chắc/bông giống OM351 cho số hạt chắc/bông dao động từ 91,6 - 95,9 hạt; giống đối chứng AS996 đạt 83,9 - 91,8 hạt.

Tỷ lệ lép của giống OM351 dao động lớn giữa các điểm thực nghiệm, đạt 10,6 - 15,3% và luôn thấp hơn so với giống đối chứng AS996 từ 1,1 - 5,1%.

Khối lượng 1000 hạt là đặc điểm di truyền giống và ít phụ thuộc vào điều kiện ngoại cảnh. Qua theo dõi cho thấy khối lượng 1000 hạt của giống OM351 ổn định từ 26,5 - 27,1 gam và tương đương với giống AS996.

Kết quả ghi nhận từ Bảng 3.33, cho thấy giá trị  $T_{tn}$  tại 5 điểm thí nghiệm (Đồng Tháp, An Giang, Bạc Liêu, Trà Vinh, Long An, Bến Tre) đều lớn hơn giá trị  $T_{\alpha}$  (2,14), điều này chứng tỏ năng suất thực thu của giống OM351 tại tất cả các điểm đều có sự sai khác có ý nghĩa ở mức tin cậy 95% so với giống đối chứng AS996. Duy nhất tại điểm Bạc Liêu giá trị  $T_{tn}$  (0,2) nhỏ hơn giá trị  $T_{\alpha}$  (2,14), chứng tỏ 2 giống này không có sự sai nhau ở mức tin cậy 95%.

Như vậy có thể thấy giống OM351 không có sự khác biệt đáng kể về thời gian sinh trưởng và có tính ổn định ở cả sáu điểm thực nghiệm.

Giống triển vọng OM351 được trồng và đánh giá các chỉ tiêu năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất tại sáu điểm nghiên cứu đại diện vùng đồng bằng Sông Cửu Long vụ Hè Thu 2017 cho thấy:

Các tính trạng số hạt chắc/bông, khối lượng 1000 hạt của giống OM351 và so với giống AS996 không có ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này chứng tỏ rằng giống OM351 đều cho giá trị độ thuần về di truyền cao và vẫn giữ được các đặc điểm quý của dòng mẹ AS996. Riêng số bông/m<sup>2</sup>, năng suất thực thu và tỷ lệ lép có ý nghĩa thống kê. Điều này chứng tỏ rằng điều kiện canh tác, chăm sóc và phân bón để cho sự phát triển đầy đủ của giống là điều rất quan trọng.

Bảng 3.34 là kết quả khảo nghiệm vụ Hè Thu 2017 cho thấy, giống OM351 có thời gian sinh trưởng ngắn hơn giống đối chứng từ 2 - 4 ngày.

**Bảng 3. 34: Kết quả đánh giá giống OM351 trong điều kiện sản xuất bình thường các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long vụ Hè Thu 2017**

Tên giống	TGST (ngày)	Cao cây (cm)	Bông/m <sup>2</sup> (bông)	Hạt chắc/bông (hạt)	Tỷ lệ lép (%)	P1000 hạt (g)	NST T (tấn/ha)
<b>Đồng Tháp</b>							
OM351	98	104,7	362,2	96,7	11,7	26,7	6,62
AS996 Đ/c	105	104,1	327,7	90,9	14,3	26,8	5,93
$T_{tn}$							<b>4,5</b>

<b>An Giang</b>							
OM351	98	103,9	373,0	91,1	13,7	26,8	6,43
AS996 Đ/c	105	101,4	323,5	88,8	16,2	26,8	5,61
<b><math>T_{tn}</math></b>							<b>10,1</b>
<b>Trà Vinh</b>							
OM351	98	101,6	365,8	93,9	14,0	26,8	6,95
AS996 Đ/c	105	99,0	344,2	91,0	18,7	26,7	6,10
<b><math>T_{tn}</math></b>							<b>12,1</b>
<b>Bạc Liêu</b>							
OM351	98	99,7	343,9	91,1	18,4	27,0	6,06
AS996 Đ/c	105	100,3	319,5	91,9	19,3	26,9	5,45
<b><math>T_{tn}</math></b>							<b>7,5</b>
<b>Long An</b>							
OM351	98	101,9	345,4	93,9	13,9	27,0	6,24
AS996 Đ/c	105	101,9	327,7	85,5	19,0	27,1	5,83
<b><math>T_{tn}</math></b>							<b>2,4</b>
<b>Bến Tre</b>							
OM351	98	102,2	352,0	95,5	13,3	27,1	6,45
AS996 Đ/c	105	101,1	323,0	83,3	20,1	26,7	5,66
<b><math>T_{tn}</math></b>							<b>9,8</b>

$$T_{\alpha(2\text{ phía})} = 2,14; \alpha = 0,05$$

Các chỉ tiêu chiều cao cây, số hạt chắc/bông và khối lượng 1000 hạt của giống OM351 đều tương đương với giống đối chứng AS996, với chiều cao cây dao động từ 99,0 - 104,7cm, số hạt chắc/bông dao động từ 83,3 - 96,7 hạt và khối lượng 1000 hạt dao động từ 26,7 - 27,1 gam. Hai giống đẻ nhánh khá tốt (319,5 - 373,0 bông/m<sup>2</sup>), tuy nhiên chỉ duy nhất tại điểm An Giang số bông/m<sup>2</sup> của giống OM351 cao hơn giống đối chứng AS996 là 49,5 bông chắc chắn ở mức tin cậy 95%; tại năm điểm Đồng Tháp, Trà Vinh, Bạc Liêu, Long An và Trà Vinh số bông/m<sup>2</sup> của hai giống không có sự sai khác. Tại các điểm Đồng Tháp, An Giang, Trà Vinh và Bến Tre tỷ lệ lép/bông của hai giống sai ở mức ý nghĩa 5%, tỷ lệ lép của giống OM351 dao động từ 11,7 - 14,0%, cao hơn chắc chắn giống AS996 từ 2,5 - 6,7%.

Về năng suất qua khảo nghiệm ghi nhận thấy tại điểm An Giang và Trà Vinh giống OM351 có năng suất khá cao đạt từ 6,43 - 6,95 tấn/ha, cao hơn hẳn hẳn giống đối chứng AS996 từ 0,82 - 0,85 tấn/ha, tương đương với mức vượt từ 13,9 - 14,6% ở mức độ tin cậy 95%. Tại các điểm Đồng Tháp, Bạc Liêu, Bến Tre và Long An năng suất của giống OM351 tương đương với giống AS996 và dao động từ 5,45 - 6,62 tấn/ha.

Như vậy qua đánh giá so sánh giống OM351 với giống đối chứng AS996 tại sáu điểm thử nghiệm đồng bằng Sông Cửu Long trong ba vụ Hè Thu 2016, Đông Xuân 2016 - 2017 và Hè Thu 2017 trong điều kiện bình thường cho thấy hai giống có tính đồng nhất cao về thời gian sinh trưởng, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu. Điều đó khẳng định giống OM351 mang gen chịu ngập và vẫn giữ được các đặc điểm di truyền từ giống mẹ AS996.

**❖ Đánh giá mức độ sâu bệnh hại chính của giống OM351 và AS996**

Song song với việc đánh giá các chỉ tiêu nông sinh học, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu của các giống trong thí nghiệm tại 6 tỉnh vùng ĐBSCL chúng tôi cũng tiến hành đánh giá một số sâu bệnh hại chính trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây lúa trong hai vụ Đông Xuân 2016 - 2017 và Hè Thu 2017. Kết quả được thể hiện qua Bảng 3.35 và Bảng 3.36.

**Bảng 3. 35: Mức độ nhiễm sâu bệnh của các giống thí nghiệm tại 6 tỉnh ĐBSCL vụ Đông Xuân 2016 - 2017**

*Dvt: điểm*

<b>Chỉ tiêu</b> <b>Giống</b>	<b>Bệnh bạc lá</b>	<b>Bệnh khô vằn</b>	<b>Sâu đục thân</b>	<b>Sâu cuốn lá</b>	<b>Đạo ôn</b>	<b>Rầy nâu</b>	<b>Cứng cây</b>
<b>Đồng Tháp</b>							
OM351	1-3	0-1	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	1-3	0-1	3	5	1



<b>An Giang</b>							
OM351	0-1	1-3	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
<b>Trà Vinh</b>							
OM351	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	4	5	1
<b>Bạc Liêu</b>							
OM351	1-3	0-1	0-1	0-1	4	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	1-3	0-1	4	5	1
<b>Long An</b>							
OM351	0-1	0-1	0-1	0-1	4	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
<b>Bến Tre</b>							
OM351	0-1	1-3	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1

Số liệu Bảng 3.36 cho thấy:

Tại cả 6 điểm thí nghiệm Đồng Tháp, An Giang, Trà Vinh, Bạc Liêu, Long An, Bến Tre cho thấy giống OM351 và giống đối chứng AS996 có mức độ nhiễm sâu bệnh tương tự nhau, cả 2 giống đều nhiễm nhẹ các loại sâu bệnh hại chính như bệnh bạc lá, khô vằn, sâu cuốn lá, rầy nâu, đạo ôn. Độ cứng cây của cả hai giống đều được đánh giá mức độ tốt (điểm 1), điều đó chứng tỏ giống có khả năng chống đổ rất tốt khi gặp điều kiện bất lợi.

Cũng như vụ Đông Xuân 2016 - 2017, vụ Hè Thu 2017 (Bảng 3.35) cũng cho thấy giống OM351 và giống đối chứng AS996 đều có mức độ nhiễm sâu bệnh tương tự nhau, cả 2 giống đều nhiễm nhẹ các loại sâu bệnh hại chính như bệnh bạc lá, khô vằn, sâu cuốn lá, rầy nâu, đạo ôn trong vụ này. Độ cứng cây của 2 giống đều được đánh giá khá tốt.

**Bảng 3. 36: Mức độ nhiễm sâu bệnh của các giống tham giá tại 6 tỉnh  
ĐBSCL vụ Hè Thu 2017**

*Đvt: điểm*

<b>Chỉ tiêu Giống</b>	<b>Bệnh bạc lá</b>	<b>Bệnh khô vằn</b>	<b>Sâu đục thân</b>	<b>Sâu cuốn lá</b>	<b>Đạo ôn</b>	<b>Rầy nâu</b>	<b>Cứng cây</b>
<b>Đồng Tháp</b>							
OM351	0-1	0-1	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	1-3	0-1	3	5	1
<b>An Giang</b>							
OM351	0-1	1-3	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
<b>Trà Vinh</b>							
OM351	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	4	5	1
<b>Bạc Liêu</b>							
OM351	1-3	0-1	0-1	0-1	4	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	1-3	0-1	4	5	1
<b>Long An</b>							
OM351	0-1	0-1	0-1	0-1	4	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	3	5	1
<b>Bến Tre</b>							
OM351	0-1	0-1	0-1	0-1	4	5	1
AS996 (Đ/c)	1-3	1-3	0-1	0-1	4	5	1

- ❖ Đánh giá một số chỉ tiêu về gạo và chất lượng cơm của giống OM351 và AS996 vụ Hè Thu 2017, kết quả thể hiện trong Bảng 3.37.

**Bảng 3.37: Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo và cơm của giống OM351 và giống AS996 trong vụ Hè Thu 2017**

Giống	Chất lượng cơm (điểm)				Kích thước hạt			Bạc bụng (điểm)	Độ trắng (%)	Nhận xét
	Độ dính	Độ mềm	Độ bóng	Độ ngon	Dài (mm)	Rộng (mm)	D/R			
OM351	4	4	4	3	7,4	2,0	3,7	3	37,4	Đẹp, thon dài, trong, ít bạc bụng
AS996	4	4	4	3	7,2	2,1	3,4	3	39,4	Đẹp, thon dài, trong, ít bạc bụng

*Ghi chú: Chiều dài hạt: D- Dài (6,0-7,0 mm); TB- Trung bình (5,0 – 6,0mm). Hình dạng hạt: TD- Thon dài (D/R>3,0); TB- Trung bình (D/R: 2,1 -3,0)*

Sau năng suất hạt, chất lượng cơm- gạo là chỉ tiêu quan trọng nhất. Nếu một giống lúa có chất lượng không được người tiêu thụ chấp nhận, giống đó sẽ không được phát triển và tồn tại trong sản xuất. Với sự đa dạng trong việc sử dụng gạo đòi hỏi chúng ta đánh giá cụ thể về chất lượng gạo và cơm. Gạo được chấp nhận bởi tiêu chuẩn chất lượng, mẫu mã và được đánh giá chủ yếu dựa vào mục đích của người tiêu dùng. Số liệu bảng 3.37 cho thấy: giống lúa OM351 và AS996 có chất lượng cơm tương đương nhau (về độ dính, độ mềm, độ bóng, độ trắng, độ ngon); riêng độ bạc bụng của giống AS996 cao hơn giống OM351 là 1,6%; cả hai giống OM351 và AS996 đều có dạng hạt thon dài ( $D/R > 3$ ), hạt gạo trong, bạc bụng ít (điểm 3), độ trắng cao. Như vậy, qua đánh giá cảm quan về một số chỉ tiêu chất lượng cơm và gạo của 2 giống thí nghiệm cho thấy giống OM351 có chất lượng cơm và gạo tương đương với giống AS996.

Tóm lại, kết quả đánh giá, theo dõi giống OM351 ngoài sản xuất của tác giả tại các tỉnh đại diện cho vùng sinh thái phía Nam đã cho thấy, trong điều kiện bình thường, giống OM351 vẫn giữ được các đặc điểm nông sinh học của giống đối chứng AS996 và mức độ nhiễm sâu bệnh hại từ kháng đến nhiễm nhẹ. Đặc biệt giống OM351 còn mang locut gen chịu ngập *Sub1* và cho năng suất tương đương so với giống gốc ban đầu là AS996, trong khi về kiểu hình vẫn tương đương với AS996. Đây chính là thành công của đề tài đã đạt được so với mục tiêu ban đầu đặt ra, là chọn tạo được giống lúa chịu ngập mang gen *Sub1* và có kiểu hình tương tự như giống gốc ban đầu. Kết quả cũng là thành công của phương pháp MABC đã ứng dụng trong cả quá trình chọn giống.

So sánh với các công trình trước đây trong cùng lĩnh vực và hướng nghiên cứu, chúng tôi thấy được những phát hiện mới, những đóng góp khoa học từ kết quả nghiên cứu trong luận án này. Việc ứng dụng phương pháp MABC trong chọn tạo giống lúa tại Việt Nam đã được một số tác giả áp dụng thành công tại Việt Nam và một số nước trên thế giới. Tuy nhiên, hiệu quả của mỗi nghiên cứu đạt được là khác nhau. Một số kết quả mới chỉ ghi nhận thành công ở mức ban

đầu trong việc lai chuyển và kiểm tra sự có mặt của locut gen *Sub1* trong các dòng chọn giống bằng chỉ thị phân tử, tạo nguồn vật liệu chọn giống (Tạ Hồng Lĩnh, 2012; Cuc *et al*, 2012, Lưu Thị Ngọc Huyền và cs, 2014). Giống lúa IR64-Sub1 đã được các tác giả trên sử dụng, nhưng mức độ thành công là khác nhau. Cùng sử dụng giống IR64-Sub1 làm giống cho gen chịu ngập, nhưng khác ở vật liệu nhận gen là Bắc Thơm số 7 và OM6976, tác giả Tạ Hồng Lĩnh (2012) đã chọn được một số dòng BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>; BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> có nền di truyền của giống nhận gen là 82 - 89% để làm vật liệu cho chọn giống. Đặc biệt, tác giả Cuc *et al* (2012) cũng sử dụng giống IR64-Sub1 làm giống cho gen chịu ngập, giống AS996 là giống nhận gen chịu ngập trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu ngập. Kết quả của tác giả Cuc *et al* (2012), Lưu Thị Ngọc Huyền và cs (2014) đã công bố sử dụng 53 chỉ thị phân tử để sàng lọc nền gen AS996 và gen *Sub1* trong các quần thể lai trở lại với quy mô quần thể khác với luận án này, các kết quả mới dừng lại ở mức chọn ra được các dòng vật liệu phục vụ cho chọn giống. Cùng sử dụng giống IR64-Sub1 làm giống cho gen chịu ngập, giống nhận gen chịu ngập là Khang dân 18, Đào Văn Khởi (2018) đã thành công trong việc tạo ra SHPT2 chịu ngập (Khang dân-Sub1) mang gen *Sub1* được công nhận đưa vào sản xuất ở Việt Nam (Đào Văn Khởi, 2019). Như vậy, có thể thấy rằng, trong thời gian ngắn 2 - 3 năm, có thể áp dụng phương pháp chọn giống MABC để tìm được các cá thể dòng triển vọng mang gen kháng. Tuy nhiên, để chọn được thành giống lúa, thì thời gian và công sức được đầu tư chú trọng, kiên trì bền bỉ thì mới có thể đi đến được kết quả cuối cùng.

Trong luận án này, chúng tôi đã thực hiện công việc đánh giá nền gen để tìm ra các dòng có nền di truyền cao nhất trong mỗi thế hệ của quần thể chọn giống, và chỉ sử dụng một cá thể đó để tiếp tục lai tạo quần thể lai trở lại cho thế hệ tiếp theo. Việc khẳng định sự có mặt của gen chịu ngập *Sub1* được tiến hành bài bản từ thế hệ F1 đến thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>, sau đó là áp dụng đánh giá khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo kết hợp với phương pháp chọn giống truyền thống

nhằm mục đích chọn ra được giống lúa chịu ngập thích hợp cho ĐBSCL. Luận án đã thành công trong việc chọn tạo giống lúa chịu ngập AS996-Sub1 (OM351) vừa mang gen chịu ngập *Sub1*, hoạt động hiệu quả tương đương với giống cho gen IR64-Sub1 khi được đánh giá trong điều kiện ngập ở 3 vụ, vừa có các đặc điểm nông sinh học và tiềm năng năng suất tương đương với giống lúa AS996 - một giống lúa thích hợp với ĐBSCL trong điều kiện biến đổi khí hậu. Với kết quả này, có thể thấy rằng, tuy việc chọn lọc gen kháng/chống chịu mất ít thời gian do đã áp dụng phương pháp chọn giống bằng chỉ thị phân tử, nhưng việc kết hợp với phương pháp, kinh nghiệm chọn giống truyền thống là vô cùng quan trọng, góp phần đáng kể vào sự thành công trong nghiên cứu này.

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### KẾT LUẬN

1. Nghiên cứu đánh giá vật liệu khởi đầu đã chọn được giống lúa IR64-Sub1 thích hợp nhất làm giống cho gen chịu ngập và giống AS996 là giống nhận gen chịu ngập.
2. Đánh giá khảo sát 400 chỉ thị trên 12 NST, đã xác định được 71 chỉ thị đa hình giữa hai giống lúa IR64-Sub1 và AS996, chiếm 17,75% tổng số chỉ thị phân tử dùng khảo sát. Các chỉ thị phân tử này được sử dụng để phân tích nền di truyền của các cá thể con lai so với giống cần cải tiến, trong số đó, chỉ thị ART5 và SC3 dùng để sàng lọc sự có mặt của gen chịu ngập *Sub1*, các chỉ thị còn lại để sàng lọc nền di truyền của giống nhận gen kháng qua các thế hệ.
3. Qua ba thế hệ chọn lọc từ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> đến BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> bằng 71 chỉ thị phân tử, đã chọn được dòng BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> số 56 mang gen chịu ngập *Sub1* và có tới 98,9% nền gen của giống nhận gen (AS996) và để phát triển thế hệ quần thể trong các bước chọn giống tiếp theo.
4. Kết hợp đánh giá tính chịu ngập của các dòng chọn giống với phương pháp chọn giống truyền thống, đã chọn được giống lúa AS996-Sub1 (hay OM351) mang gen chịu ngập *Sub1*, đạt tới 98,9% nền di truyền của giống AS996, có tính chịu ngập tương đương với giống cho gen kháng IR64-Sub1.
5. Kết quả đánh giá giống OM351 ngoài sản xuất của tác giả tại các tỉnh đại diện cho vùng sinh thái phía Nam đã cho thấy, trong điều kiện bình thường, giống OM351 vẫn giữ được các đặc điểm nông sinh học, năng suất tương đương giống đối chứng AS996. Đặc biệt giống OM351 do mang locut gen chịu ngập *Sub1* nên có năng suất cao hơn đến 3,6 tấn/ha trong điều kiện ngập so với giống gốc ban đầu là AS996.

## **ĐỀ NGHỊ**

Giống lúa OM351 (AS996-Sub1) mang gen chịu ngập *Sub1*, đạt tới 98,9% nền di truyền của giống AS996, có các đặc điểm nông học và chống chịu sâu bệnh tương đương giống AS996, có tính chịu ngập tương đương với giống cho gen kháng IR64-Sub1, có tính thích ứng ngoài sản xuất tương đương giống AS996, có năng suất cao hơn đến 3,6 tấn/ha trong điều kiện ngập so với giống gốc ban đầu là AS996. Khuyến cáo phát triển giống OM351 ra ngoài sản xuất, đặc biệt tại các vùng đất bị ngập úng thuộc ĐBSCL.



**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Doãn Thị Hương Giang**, Lưu Minh Cúc (2017). Đánh giá đặc tính nông sinh học và năng suất của một số dòng/giống lúa chịu ngập, mặn tại Bạc Liêu. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 8 (81), tr.16 - 20.
2. **Doãn Thị Hương Giang**, Lưu Minh Cúc, Lê Huy Hàm, Phạm Xuân Hội (2018). Kết quả chọn tạo và khảo nghiệm giống lúa chịu ngập OM351. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 11 (96), tr.7 - 13.
3. **Doãn Thị Hương Giang**, Lưu Minh Cúc, Lê Huy Hàm (2021). Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa ngập AS996- Sub1. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 11 (132), tr. 3 - 8.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### A. Tài liệu tiếng Việt

1. Nguyễn Phương Anh, Nguyễn Bá Thủy, Phạm Khánh Ngọc, Sooyoul Kim. (2022), “Đánh giá bão trên biển Đông và nước biển dâng do bão tại ven biển Bắc Bộ trong bối cảnh biến đổi khí hậu”. *Tạp chí Khí tượng Thủy văn*, 737, 75-87; doi:10.36335/VNJHM (737), Tr 75-87.

2. Nguyễn Thị Thúy Anh, Trần Trung , Khuất Hữu Trung , Lê Hùng Lĩnh , Trần Đăng Khánh (2017), “Chọn lọc cá thể mang QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông ở quần thể BC2 F1 để cải tiến năng suất dòng NPT1 nhờ ứng dụng chỉ thị phân tử”. *Tạp chí khoa học và công nghệ nông nghiệp Việt Nam*, số 23 (12), Tr 37-40.

3. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2015), “*Dự thảo 3, Kế hoạch hành động ứng phó với biến đổi khí hậu của ngành nông nghiệp, nông thôn giai đoạn 2016-2020, tầm nhìn đến 2050*”.

4. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2020), “Chương trình mục tiêu quốc gia ứng phó với biến đổi khí hậu, kịch bản biến đổi khí hậu, nước biển dâng cho Việt Nam”, *Hà Nội năm 2020*.

5. Bùi Chí Bửu, Nguyễn Duy Bảy, Phùng Bá Tạo, Đỗ Xuân Trường và Nguyễn Thị Lang (2000), “Chọn tạo giống lúa cho vùng bị nhiễm mặn ở đồng bằng sông Cửu Long”. *Omon Rice*, 8, Tr 16-26.

6. Đồng Thị Kim Cúc (2013), “Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa Bắc Thơm 7 chịu mặn”. *Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội*.

7. Lưu Minh Cúc, Nguyễn Thị Kim Liên, Vũ Thị Thu Hằng, Nguyễn Quang Đàm, Phạm Thị Minh Hiền, Lưu Thị Ngọc Huyền, Vũ Đức Quang (2010), “Khảo sát đa dạng di truyền một số giống lúa nếp bằng chỉ thị phân tử SSR”, *Tạp chí khoa học và công nghệ nông nghiệp Việt Nam*, số 6 (19), Tr 2-6.

8. Trần Thọ Đạt, Đinh Đức Trường (2019), “Chỉ số hiệu quả môi trường (EPI): thực trạng và giải pháp từ góc nhìn kinh tế tại Việt Nam”. *Tạp chí Khí tượng Thủy văn*, số 707 tháng 11, Tr 28-36.

9. Trần Văn Đạt (2002), “Tiến trình phát triển sản xuất lúa gạo tại Việt Nam từ thời nguyên thủy đến hiện đại”. *Nhà xuất bản Nông nghiệp TP HCM*.

10. Nguyễn Văn Giang và cs (2015), “Nghiên cứu chọn tạo giống lúa nếp kháng bệnh bạc lá bằng chỉ thị phân tử cho các tỉnh phía Bắc”. *Đề tài nhiệm vụ KHCN. Báo cáo kết quả thực hiện nhiệm vụ KHCN*.

11. Lê Huy Hàm và cs (2014), “Tạo giống lúa chịu ngập chìm và mặn thích nghi với điều kiện nước biển dâng cho các vùng đồng bằng ven biển Việt nam. Áp dụng công nghệ chỉ thị phân tử trong chọn tạo, cải thiện giống cây trồng trong nông nghiệp, thực trạng và định hướng”, *Báo cáo kết quả thực hiện nhiệm vụ KHCN*, 134 trang.

12. Lê Huy Hàm (2015), “Áp dụng công nghệ chỉ thị phân tử trong chọn tạo, cải thiện giống cây trồng trong nông nghiệp, thực trạng và định hướng”. *Báo cáo Hội nghị Phát triển nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và PTNT, T6- 2015*, 19 trang.

13. Nguyễn Thị Lan Hoa và cộng sự, (2009), “Phân tích và xác định các chỉ thị phân tử đa hình phức vụ lập bản đồ các nhóm liên kết genome và xác định vị trí gen kháng bệnh xanh lùn ở cây bông cỏ (*Gossypium arboreum* L.)”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học Việt Nam*, 8 (1), tr.69-74.

14. Lưu Thị Ngọc Huyền (2003), “Nghiên cứu lập bản đồ gen kháng rầy nâu ở giống lúa CR203 và ứng dụng trong chọn giống”, *Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*.

15. Lưu Thị Ngọc Huyền, Lưu Minh Cúc, Doãn Thị Hương Giang, Nguyễn Thị Trang, Phạm Thị Mùi, Lê Huy Hàm (2014), “Kết quả nghiên cứu đánh giá một số dòng AS996 chịu ngập được chọn tạo bằng phương pháp

MABC”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, chuyên đề Giống cây trồng, vật nuôi* – Tập 1, tháng 6, 2014, tr: 60-67.

16. Đào Văn Khởi (2019), “Nghiên cứu và phát triển giống lúa Khang dân 18 chịu ngập ứng phó với biến đổi khí hậu tại các tỉnh phía Bắc”. *Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội*.

17. Nguyễn Thị Lang (2002), “Phương pháp cơ bản trong nghiên cứu công nghệ sinh học”, *Nxb Nông nghiệp- TP HCM*.

18. Nguyễn Thị Lang và cs (2017), “Chọn tạo giống lúa chống chịu nóng bằng phương pháp hồi giao cải tiến nhờ chỉ thị phân tử”. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 13 (2)2, Tr 34-38*.

19. Tạ Hồng Lĩnh (2013), “Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử và phương pháp lai trở lại trong cải tiến tính chịu ngập của giống lúa Bắc Thơm 7 và OM6976”. *Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội*.

20. Lã Tuấn Nghĩa (2011), “Chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn có năng suất chất lượng cao bằng chỉ thị phân tử”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Tr 2+3*.

21. Lê Thị Phụng, Nguyễn Kỳ Phùng, Bùi Chí Nam, Trần Xuân Hoàng và Lê Ngọc Tuấn (2017), “Ảnh hưởng của biến đổi khí hậu đến xâm nhập mặn ở tỉnh Vĩnh Long”, *Tạp chí Khí tượng Thủy văn, 674, trang 8-15*.

22. Phạm Chí Thành (1986), “*Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng*”, Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội

23. Lê Anh Tuấn (2020), “Phân tích diễn biến lũ lụt và khô hạn ở Đồng Bằng Sông Cửu Long trong 20 năm gần đây”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 62, Tr 22-77*.

24. Võ Thị Minh Tuyền và cs (2015), “Kết quả đánh giá và khảo nghiệm giống lúa triển vọng kháng bệnh bạc lá DT82”. *Tạp chí khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, Số 7, 2015: 30-35.

25. Võ Thị Minh Tuyền và cs (2019), “Kết quả chọn tạo và khảo nghiệm giống lúa DT88”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Số 21, Tr29-34.

## **B. Tài liệu tiếng Anh**

26. Ahmed, F., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Juraimi, A. S., Rahim, H. A., Asfaliza, R., Latif, M. A., (2013), "Waterlogging Tolerance of Crops: Breeding, Mechanism of Tolerance, Molecular Approaches and Future Prospects", *BioMed Research International*, Volume 2013, Article ID 963525, 10 pages.

27. Afrin, W.; Nafis, M.H.; Hossain, M.A.; Islam, M.M.; Hossain, M.A., (2018), “Responses of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to different levels of submergence”, *C. R. Biol.*, 2018, 341(2), 85-96.

28. Alpuerto, JB., Fukuda M., Li S., Husain RMF., Sakane K., Fukao T. (2022) The submergence tolerance regulator SUB1A differentially coordinates molecular adaptation to submergence in mature and growing leaves of rice (*Oryza sativa* L.). *The Plant Journal*, 110; 71-87.

29. Ando, T., Yamamoto, T., Shimizu, T., Ma, X. F., Shomura, A., Takeuchi, Y., Lin, S. Y., Yano, M., (2008), "Genetic dissection and pyramiding of quantitative traits for panicle architecture by using chromosomal segment substitution lines in rice", *TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik*, 116(6): 881-890.

30. Azarin, K.V.; Usatov, A.V.; Kostylev, P.I., (2017), “Molecular breeding of submergence-tolerant rice”, *Annu. Res. Rev. Biol.*, 2017, 1-10. <http://dx.doi.org/10.9734/ARRB/2017/35616>.

31. Bac, V. T., Hien, P. D., (2009), "Regional and local emissions in red river delta, Northern Vietnam". *Air quality, atmosphere, & health*, 2(3): 157-167.
32. Barik, J.; Kumar, V.; Lenka, S.K.; Panda, D., (2019), "Genetic potentiality of lowland indigenous indica rice (*Oryza sativa* L.) landraces to anaerobic germination potential". *Plant Physiol Rep*, 24(2), 249-261
33. Bin Rahman, A.R.; Zhang, J., (2016), "Flood and drought tolerance in rice: opposite but may coexist", *Food Energy Secur.*, 5(2), 76-88. <http://dx.doi.org/10.1002/fes3.79>.
34. Biswajit, P.; Sritama, K.; Anindya, S.; Moushree, S.; Sabyasachi, K., (2017), "Breeding for submergence tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) and its management for flash flood in rainfed low land area: a review", *Agric. Rev. (Karnal)*, 38(3), 167-179. <http://dx.doi.org/10.18805/ag.v38i02.7938>.
35. Boretti, A., Rosa, L., (2019), "Reassessing the projections of the World Water Development Report", *Npj Clean Water* 2, 15. <https://doi.org/10.1038/s41545-019-0039-9>.
36. Bradbury, L. M. T., Fitzgerald, T. L., Henry, R. J., Jin, Q., & Waters, D. L. E., (2005), "The gene for fragrance in rice", *Plant Biotechnology Journal*, 3(3), 363–370. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x>
37. Cheng, A., Ismail, I., Osman, M., Hashim, H., Mohd Zainual, N. S., (2017), "Rapid and targeted introgression of *fgr* gene through marker-assisted backcrossing in rice (*Oryza sativa* L.)". *Genome*, 60(12): 1045-1050.
38. Chin, J. H., Gamuyao, R., Dalid, C., Bustamam, M., Prasetyono, J., Moeljopawiro, S., Wissuwa, M., Heuer, S., (2011), "Developing rice with high yield under phosphorus deficiency: *Pup1* sequence to application". *Plant physiology*, 156(3): 1202-1216.

39. Colmer, T.D., (2003), “Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.)”. *Ann. Bot.*, 91, 301–309.
40. Colmer, T.D.; Kotula, L.; Malik, A.; Takahashi, H.; Konnerup, D.; Nakazono, M., (2019), “Rice acclimation to soil flooding: Low concentrations of organic acids can trigger a barrier to radial oxygen loss in roots”. *Plant Cell Environ.*, 42, 2183–2197.
41. Collard BCY and Mackill DJ., (2008), “Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century” *Phil Trans Roy Soc Lond B Biol Sci* 363: 557-572.
42. Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., Pang, E. C. K., (2005), "An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts". *Euphytica*, 142(1-2): 169-196.
43. DaMatta, F. M., Grandis, A., Arenque, B. C., Buckeridge, M. S., (2010), "Impacts of climate changes on crop physiology and food quality". *Food Research International*, 43(7): 1814-1823.
44. Dar, M.H.; de Janvry, A.; Emerick, K.; Raitzer, D.; Sadoulet, E., (2013), “Flood-tolerant rice reduces yield variability and raises expected yield, differentially benefitting socially disadvantaged groups”. *Sci. Rep.*, 3, 3315.
45. Das K K, Panda D, Sarkar R K, Reddy J N, Ismail A M., (2009), “Submergence tolerance in relation to variable floodwater conditions in Rice”. *Environ Exp Bot*, 66(3): 425–434.
46. Dixit, S.; Singh, A.; Sandhu, N.; Bhandari, A.; Vikram, P.; Kumar., (2017), “A. Combining drought and submergence tolerance in rice: marker-assisted breeding and QTL combination effects”. *Mol. Breed.*, , 37(12), 143.

47. Dokku, P., Das, K. M., Rao, G. J., (2013), "Genetic enhancement of host plant-resistance of the Lalat cultivar of rice against bacterial blight employing marker-assisted selection". *Biotechnol Lett*, 35(8): 1339-1348.
48. Du, H., Wu, N., Cui, F., You, L., Li, X., Xiong, L., (2014), "A homolog of ethylene overproducer, osetol1, differentially modulates drought and submergence tolerance in rice". *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 78(5): 834-849.
49. Evans, D.E., (2003), "Aerenchyma formation". *New Phytol.*, 161, 35–49.
50. FAO (2021), "The impact of disasters and crises on agriculture and food security", *Rome*. <https://doi.org/10.4060/cb3673en>.
51. Foulds, S. A., Brewer, P. A., Macklin, M. G., Haresign, W., Betson, R. E., Rassner, S. M., (2014), "Flood-related contamination in catchments affected by historical metal mining: an unexpected and emerging hazard of climate change". *The Science of the total environment*, 476-477(165-180).
52. Fukao, T., Bailey-Serres, J., (2008), "Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(43): 16814-16819.
53. Fukao, T., Harris, T., Bailey-Serres, J. (2009), "Evolutionary analysis of the Sub1 gene cluster that confers submergence tolerance to domesticated rice". *Annals of botany*, 103(2): 143-150.
54. Fukao, T., Xiong, L., (2013), "Genetic mechanisms conferring adaptation to submergence and drought in rice: simple or complex". *Current opinion in plant biology*, 16(2): 196-204.
55. Fukao T, Barrera-Figueroa B E, Juntawong P, Pena-Castro J M., (2019), "Submergence and waterlogging stress in plants: A review highlighting research opportunities and understudied aspects", *Front Plant Sci*, 10: 340.



56. Gonzaga, Z.J.C.; Carandang, J.; Sanchez, D.L.; Mackill, D.J.; Septiningsih, E.M., (2016), "Mapping additional QTLs from FR13A to increase submergence tolerance in rice beyond SUB1", *Euphytica*, 209(3), 627-636.
57. Goswami S, Kar R K, Paul A, Dey N., (2017), "Genetic potentiality of indigenous rice genotypes from eastern India with reference to submergence tolerance and deepwater traits". *Curr Plant Biol*, 11/12: 23–32.
58. Haque, M.E.; Kawaguchi, K.; Komatsu, S. (2011), "Analysis of proteins in aerenchymatous seminal roots of wheat grown in hypoxic soils under waterlogged conditions". *Protein Pept. Lett.* 18, 912–924.
59. Hasan, M. M., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Mahmood, M., Rahim, H. "A., Alam, M. A., Ashkani, S., Malek, M. A., Latif, M. A., (2015), "Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement". *Biotechnol Biotechnol Equip*, 29(2): 237-254.
60. Hasan, M. M., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Mahmood, M., Alam, M. A., Abdul Rahim, H., Malek, M. A., Latif, M. A., (2016), "Introgression of blast resistance genes into the elite rice variety MR263 through marker-assisted backcrossing". *Journal of the science of food and agriculture*, 96(4): 1297-1305.
61. Hens, L., Thinh, N. A., Hanh, T. H., Cuong, N. S., Lan, T. D., Thanh, N. V., & Le, D. T., (2018), "Sea-level rise and resilience in Vietnam and the Asia-Pacific: A synthesis". *Vietnam Journal of Earth Sciences*, 40(2), 126–152. <https://doi.org/10.15625/0866-7187/40/2/11107>.
62. Hoang, L. P., Biesbroek, R., Tri, V. P. D., Kumm, M., van Vliet, M. T. H., Leemans, R., Kabat, P., Ludwig, F., (2018), "Managing flood risks in the Mekong Delta: How to address emerging challenges under climate change and socioeconomic developments". *Ambio*, Volume 47, Issue 6, pp 635–649.
63. Hospital (2003), "Marker-assisted breeding. Plant molecular breeding", *Blackwell Publishing and CRC Press, Oxford and Boca Raton*.

64. Huang Y C, Yeh T H, Yang C Y., (2019), "Ethylene signalling involves in seeds germination upon submergence and antioxidant response elicited confers submergence tolerance to rice seedlings". *Rice*, 12(1): 23.
65. Huong, H. T. L., Pathirana, A., (2013), "Urbanization and climate change impacts on future urban flooding in Can Tho city, Vietnam". *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 17, 379-394.
66. Hurlbert, M., Gupta, J., (2016), "Adaptive Governance, Uncertainty, and Risk: Policy Framing and Responses to Climate Change, Drought, and Flood". *Risk analysis: an official publication of the Society for Risk Analysis*, 36(2): 339-356.
67. Ichsan, C. N., Bakhtiar, Efendi, Sabaruddin., (2021), "IOP Conf". *Series: Earth and Environmental Science 644*.
68. Iftekharuddaula, K. M., Salam, M. A., Newaz, M. A., Ahmed, H. U., Collard, B. C., Septiningsih, E. M., Sanchez, D. L., Pamplona, A. M., Mackill, D. J., (2012), "Comparison of phenotypic versus marker-assisted background selection for the SUB1 QTL during backcrossing in rice". *Breeding science*, 62(3): 216-222.
69. Iftekharuddaula, K. M., Ahmed, H. U., Ghosal, S., Moni, Z. R., Amin, A., Ali, M. S., (2015), "Development of New Submergence Tolerant Rice Variety for Bangladesh Using Marker-Assisted Backcrossing". *Rice Science*, 22(1): 16-26.
70. Iftekharuddaula, K.M.; Ghosal, S.; Gonzaga, Z.J., (2016), "Allelic diversity of newly characterized submergence-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) germplasm from Bangladesh", *Genet. Resour. Crop Evol.*, , 63(5), 859-867.
71. IMHEN-Vietnam Institute of Meteorology, Hydrology and Environment, Ca Mau PPC, (2011), "Climate change impact and adaptation study in The Mekong Delta –Part". *A: Ca Mau Atlas. Hanoi, Vietnam: Institute of Meteorology, Hydrology and Environment (IMHEN)*, 48p.

72. Jackson MB, Ram PC.(2003), “Physiological and molecular basis of susceptibility and tolerance of rice plants to complete submergence”. *Annals of Botany* 91: 227–241.
73. Jia, W.; Ma, M.; Chen, J.; Wu, S., (2021), “Plant Morphological, Physiological and Anatomical Adaption to Flooding Stress and the Underlying Molecular Mechanisms”. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 1088.
74. Kato, Y.; Collard, B.C.Y.; Septiningsih, E.M.; Ismail, A.M., (2020), “Increasing flooding tolerance in rice: combining tolerance of submergence and of stagnant flooding”. *Ann. Bot.*, 124(7), 1199-1210.
75. Kuanar, S.R.; Ray, A.; Sethi, S.K.; Chattopadhyay, K.; Sarkar, R.K., (2017), “Physiological basis of stagnant flooding tolerance in rice”. *Rice Sci*, 24(2), 73-84.
76. Kuroha, T.; Nagai, K.; Kurokawa, Y.; Nagamura, Y.; Kusano, M.; Yasui, H.; Ashikari, M.; Fukushima., (2017), “A. eQTLs regulating transcript variations associated with rapid internode elongation in deepwater rice”. *Front. Plant Sci*, 8, 1753.
77. Kretzschmar, T.; Pelayo, M.A.F.; Trijatmiko, K.R.; Gabunada, L.F.; Alam, R.; Jimenez, R.; Mendioro, M.S.; Slamet-Loedin, I.H.; Sreenivasulu, N.; Bailey-Serres, J.; Ismail, A.M.; Mackill, D.J.; Septiningsih, E.M., (2015), “A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice”. *Nat. Plants*, 1(9), 15124.
78. Lata, C., Prasad, M., (2011), "Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants". *Journal of experimental botany*, 62(14): 4731-4748.
79. Luu M. Cuc, Luu T. N. Huyen, Pham T. M. Hien, Vu T. T. Hang, Nguyen Q. Dam, Pham T. Mui, Vu D. Quang, Abdelbahi M. Ismail, Le H. Ham (2012). Application of Marker Assisted Backcrossing to Introgress the Submergence Tolerance QTL SUB1 into the Vietnam Elite Rice Variety – AS996. *American Journal of Plant Sciences*, Vol 3. 528-536. Doi:

80. Le, T., (2016), "Effects of climate change on rice yield and rice market in Vietnam". *Journal of Agricultural and Applied Economics*, 48(4), 366-382. doi:10.1017/aae.2016.21.

81. Liang, Y.; Wang, S.; Harper, C.L.; Subramanian, N.K.; Tabien, R.E.; Johnson, C.D.; Bailey-Serres, J.; Septiningsih, E.M., (2021), "Reference-Guided De Novo Genome Assembly to Dissect a QTL Region for Submergence Tolerance Derived from Ciherang-Sub1", *Plants* 2021, 10, 2740.

82. Locke, A. M., Barding, G. A., Jr., Sathnur, S., Larive, C. K., Bailey-Serres, J., (2018), "Rice SUB1A constrains remodelling of the transcriptome and metabolome during submergence to facilitate post-submergence recovery". *Plant, cell & environment*, 41(4): 721-736.

83. Loreti, E.; Perata, P., (2020), "The many facets of hypoxia in plants". *Plants(Basel)*, 9(6), 745.

84. Malik, A.I.; Islam, A.K.M.R.; Colmer, T.D., (2011). "Transfer of the barrier to radial oxygen loss in roots of *Hordeum marinum* to wheat (*Triticum aestivum*): Evaluation of four *H. marinum*-wheat amphiploids". *New Phytol.* 190, 499–508.

85. Mergemann, H.; Sauter, M., (2000). "Ethylene induces epidermal cell death at the site of adventitious root emergence in rice". *Plant Physiol.* 124, 609–614.

86. Minami, A.; Yano, K.; Gamuyao, R.; Nagai, K.; Kuroha, T.; Ayano, M.; Nakamori, M.; Koike, M.; Kondo, Y.; Niimi, Y.; Kuwata, K.; Suzuki, T.; Higashiyama, T.; Takebayashi, Y.; Kojima, M.; Sakakibara, H.; Toyoda, A.; Fujiyama, A.; Kurata, N.; Ashikari, M.; Reuscher, S., (2018), "Time-course transcriptomics analysis reveals key responses of submerged deepwater rice to flooding". *Plant Physiol*, 176(4), 3081-3102.

87. Mohd Ikmal, A., Noraziyah, A. A. S., Wickneswari, R., Amira, I., & Puteri Dinie Ellina, Z., (2021), “Interéaction of submergence tolerance and drought yield QTLs (Sub1 and qDTYs) enhances morpho-physiological traits and survival of rice (*Oryza sativa* L.) under submergence”. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 355–366. <https://doi.org/10.1111/aab.12664>.

88. Mondal, S.; Khan, M.I.R.; Entila, F.; Dixit, S.; Sta Cruz, P.C.; Panna Ali, M.; Pittendrigh, B.; Septiningsih, E.M.; Ismail, A.M., (2020), “Responses of AG1 and AG2 QTL introgression lines and seed pretreatment on growth and physiological processes during anaerobic germination of rice under flooding”, *Sci. Rep.*, 2020, 10(1), 10214. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-67240-x> PMID: 32576897.

89. Muis, S., Guneralp, B., Jongman, B., Aerts, J. C., Ward, P. J., (2015), "Flood risk and adaptation strategies under climate change and urban expansion: A probabilistic analysis using global data". *The Science of the total environment*, 538(445-457).

90. Neeraja, C.N.; Maghirang-Rodriguez, R.; Pamplona, A.; Heuer, S.; Collard, B.C.; Septiningsih, E.M.; Vergara, G.; Sanchez, D.; Xu, K.; Ismail, A.M.; Mackill, D.J., (2007), “A marker-assisted backcross approach for developing submergence-tolerant rice cultivars”. *The or. Appl. Genet.*, 2007, 115(6), 767-776.

91. Nguyen Van Hoang, (2017), “Potential for desalinization of brackish groundwater aquifer under a background of rising sea level via salt-intrusion prevention river gates in the coastal area of the Red River delta, Vietnam”, *Environment, Development and Sustaina-bility*.

92. Nguyen A. Duoc, Savenije H. H., (2006), “Salt intrusion in multi-channel estuaries: a case study in the Mekong Delta, Vietnam”. *Hydrology and Earth System Sci-ences Discussions, European Geosciences Union*, 10, 743-754. Doi: 10.5194/hess-10-743-2006.

93. Nhat, L.M., (2019), "Agriculture adapts to climate change". *Weekend Nhan dan newspaper*.
94. Nishiuchi, S., Yamauchi, T., Takahashi, H., Kotula, L., Nakazono, M., (2012), "Mechanisms for coping with submergence and waterlogging in rice". *Rice (N Y)*. 2012; 5(1): 2.
95. Okishio T, Sasayama D, Hirano T, Akimoto M, Itoh K, Azuma T., (2015), "Ethylene is not involved in adaptive responses to flooding in the Amazonian wild rice species *Oryza grandiglumis*". *J Plant Physiol*, 174:49–54. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.09.012>.
96. Oladosu, Y.; Rafii, M.Y.; Arolu, F., (2020), "Submergence tolerance in rice: review of mechanism, breeding and, future prospects". *Sustainability*, 12(4), 1632.
97. Panda D, Sharma S G, Sarkar R K., (2008), "Chlorophyll fluorescence parameters, CO<sub>2</sub> photosynthetic rate and regeneration capacity as a result of complete submergence and subsequent re-emergence in rice (*Oryza sativa* L.)". *Aquat Bot*, 88(2): 127–133.
98. Panda D, Sarkar R K., (2014), "Mechanism associated with nonstructural carbohydrate accumulation in submergence tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J*". *Plant Interact*, 9(1): 62–68.
99. Panda D, Sarkar R K., (2017), "Characterization of leaf gas exchange and anti-oxidant defense of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in submergence tolerance owing to complete submergence and consequent re-aeration". *Agric Res*, 2(4): 301–308.
100. Panda, D.; Ray, A.; Sarkar, R., (2019), "Yield and photochemical activity of selected rice cultivars from Eastern India under medium depth stagnant flooding". *Photosynthetica*, 57(4), 1084-1093. <http://dx.doi.org/10.32615/ps.2019.126>.

101. Panda, D., Barik, J., & Sarkar, R. K., (2021), "Recent Advances of Genetic Resources, Genes and Genetic Approaches for Flooding Tolerance in Rice". *Current Genomics*, 22(1), 41–58. <https://doi.org/10.2174/1389202922666210114104140>.
102. Perata, P., (2018), "The rice SUB1A gene: Making adaptation to submergence and post-submergence possible". *Plant, cell & environment*, 41(4): 717-720.
103. Pradhan, S. K., Barik, S. R., Sahoo, J., Pandit, E., Nayak, D. K., Pani, D. R., Anandan, A., (2015), "Comparison of *Sub1* markers and their combinations for submergence tolerance and analysis of adaptation strategies of rice in rainfed lowland ecology". *Comptes rendus biologiques*, 338(10): 650-659.
104. Pucciariello C, Perata P., (2013), "Quiescence in rice submergence tolerance: an evolutionary hypothesis", *Trends Plant Sci* 18(7): 377–381. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.04.007>.
105. Puckridge D.W. Kupkanchanakul T. Palaklang W. Kupkanchanakul K., (2001), "Production of rice and associated crops in deeply flooded areas of Chao Phraya Delta. In Proceedings of the 2000 International Conference: The Chao Phraya Delta: Historical Development, Dynamics and Challenges of Thailand Rice Bowl". December 12–15. *Kasetsart University, Bangkok, Thailand*. pp. 51–85
106. Ray, S.; Vijayan, J.; Sarkar, R.K., (2016), "Germination stage oxygen deficiency (GSOD): an emerging stress in the era of changing trends in climate and rice cultivation practice" , *Front. Plant Sci*, 7, 671.
107. Rubaiyath, B. R. A. N. M., Jianhua, Z., (2016), "Flood and drought tolerance in rice: opposite but may coexist". *Food and Energy Security*, 5(2): 76-88.

108. Sarkar R K, Reddy J N, Sharma S, Ismail A M., (2006), "Physiological basis of submergence tolerance in rice and implications for crop improvement". *Curr Sci*, 91(7): 899–906.
109. Sarkar, R.; Reddy, J.; Patnaik, S.; Gautam, P.; Lal, B., (2017), "Submergence tolerance", *ICAR-NRRI*.
110. Sasidharan, R.; Hartman, S.; Liu, Z.; Martopawiro, S.; Sajeev, N.; van Veen, H.; Yeung, E.; Voeselek, L.A.C.J., (2018), "Signal dynamics and interactions during flooding stress". *Plant Physiol*, 176(2), 1106-1117.
111. Savo, D. Lepofsky, J. P. Benner, K. E. Kohfeld, J. Bailey, and K. Lertzman., (2016), "Observations of climate change among subsistence-oriented communities around the world". *Nature Climate Change* 6, p.462–473.
112. Schmitz AJ, Folsom JJ, Jikamaru Y, Ronald P, Walia H., (2013), "SUB1A-mediated submergence tolerance response in rice involves differential regulation of the brassinosteroid pathway", *New Phytol* , 198(4):1060–1070.
113. Septiningsih, E.M.; Pamplona, A.M.; Sanchez, D.L.; Neeraja, C.N.; Vergara, G.V.; Heuer, S.; Ismail, A.M.; Mackill, D.J., (2009), "Development of submergence-tolerant rice cultivars: the Sub1 locus and beyond", *Ann. Bot.*, 2009, 103(2), 151-160. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcn206> PMID: 18974101.
114. Septiningsih, E. M., Sanchez, D. L., Singh, N., Sendon, P. M., Pamplona, A. M., Heuer, S., Mackill, D. J., (2012), "Identifying novel QTLs for submergence tolerance in rice cultivars IR72 and Madabaru". *TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik*, 124(5): 867-874.
115. Singh S, Mackill DJ, Ismail AM., (2009), "Responses of SUB1 rice introgression lines to submergence in the field: Yield and grain quality", *Field Crops Res* 113: 12–23.
116. Singh K., McClean C.J., Buker P., Hartley S.E. & Hill J.K., (2017). "Mapping regional risks from climate change for rainfed rice cultivation in India". *Agricultural systems*. 156. 76-84.



117. Singh, A., Septiningsih, E. M., Balyan, H. S., Singh, N. K., Rai, V., (2017), "Genetics, Physiological Mechanisms and Breeding of Flood-Tolerant Rice (*Oryza sativa* L.)". *Plant & cell physiology*, 58(2): 185-197.
118. Singh, N.; Dang, T.T.; Vergara, G.V.; Pandey, D.M.; Sanchez, D.; Neeraja, C.N.; Septiningsih, E.M.; Mendiolo, M.; Tecson-Mendoza, E.M.; Ismail, A.M.; Mackill, D.J.; Heuer, S., (2010), "Molecular marker survey and expression analyses of the rice submergencetolerance gene SUB1A", *Theor. Appl. Genet*, 121(8), 1441-1453.
119. Steffens, B., Steffen-Heins, A., Sauter, M., (2013), "Reactive oxygen species mediate growth and death in submerged plants". *Frontiers in plant science*, 4(179).
120. Steele, K. A., Price, A. H., Shashidhar, H. E., Witcombe, J. R., (2006), "Marker-assisted selection to introgress rice QTLs controlling root traits into an Indian upland rice variety". *TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik*, 112(2): 208-221.
121. Suji, K. K., Prince, K. S. J., Mankhar, P. S., Kanagaraj, P., (2012), "Evaluation of rice (*Oryza sativa* L.) near iso-genic lines with root QTLs for plant production and root traits in rainfed target populations of environment". *Field Crops Research*, 89-96.
122. SIWRR-Southern Institute of Water Resources Re-search. *Annual Report* (2016). Ministry of Agriculture and Rural Development, Ho Chi Minh City, 1-19.
123. Tanweer, F. A., Rafii, M. Y., Sijam, K., Rahim, H. A., Ahmed, F., Ashkani, S., Latif, M. A., (2015), "Introgression of Blast Resistance Genes (Putative *Pi-b* and *Pi-kh*) into Elite Rice Cultivar MR219 through Marker-Assisted Selection". *Frontiers in plant science*, 6(1002).
124. Taylor, P., Wright, G., (2001), "Establishing river basin organisations in Vietnam: Red River, Dong Nai River and Lower Mekong

Delta”, *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 43(9): 273-281.

125. Thanh, D.V. and Viet, N.V., (2014), “Climate change impacts on agriculture and coping solutions”, *Agricultural Publisher*.

126. Theivanayagam, M., Antony, C. S., Palayullaparambil, A. k. T., Muthusamy, R., Veeramuthu, D., Al-Dhabi, N. A., Savarimuthu, I., (2018), "Utilization of molecular markers for improving the phosphorus efficiency in crop plants". *Plant Breeding*, 137(1): 10-26.

127. Toledo, A.M.U.; Ignacio, J.C.I.; Casal, C., (2015), “Development of improved Ciherang-Sub1 having tolerance to anaerobic germination conditions”, *Plant Breed. Biotechnol.*, 2015, 3(2), 77-87. <http://dx.doi.org/10.9787/PBB.2015.3.2.077>.

128. Toojinda, T.; Tragoonrung, S.; Vanavichit, A., (2005), “Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region”, *Plant Prod. Sci*, 8(3), 330-333.

129. Tran Dang Khanh, L. H. L., Ta Hong Linh, Le Huy Ham, Tran Dang Xuan., (2013), "Rapid and high-precision marker assisted backcrossing to introgress the SUB1 QTL into the Vietnamese elite rice variety". *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 5(2), 26-33.

130. Tran Thuc, Nguyen Van Thang, Huynh Thi Lan Huong, Mai Van Khiem, Nguyen XuanHien, Doan Ha Phong., (2016), “Climate change and sea level rise scenarios for Vietnam”, *Ministry of Natural resources and Environment. Hanoi, Vietnam*.

131. Uga, Y., Sugimoto, K., Ogawa, S., Rane, J., Ishitani, M., Hara, N., Kitomi, Y., Inukai, Y., Ono, K., Kanno, N., Inoue, H., Takehisa, H., Motoyama, R., Nagamura, Y., Wu, J., Matsumoto, T., Takai, T., Okuno, K., Yano, M., (2013), "Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions". *Nature genetics*, 45(9): 1097-1102.

132. Van Berloo R, (2008), "GGT 2.0: versatile software for visualization and analysis of genetic data", *J Hered* 99:232–236
133. Voesenek, L. A., Bailey-Serres, J., (2013), "Flooding tolerance: O<sub>2</sub> sensing and survival strategies". *Current opinion in plant biology*, 16(5): 647-653.
134. Vu Thi Thu Hien, L. D. D., Abdelbagi M. Ismail, Le Huy Ham., (2015), "Marker-assisted backcrossing (MABC) for improved salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to cope with climate change in Vietnam". *Australian Journal of Crop Science*, 6(12): 1649-1654.
135. Wang, Y. H., Liu, S. J., Ji, S. L., Zhang, W. W., Wang, C. M., Jiang, L., Wan, J. M., (2005), "Fine mapping and marker-assisted selection (MAS) of a low glutelin content gene in rice", *Cell research*, 15(8): 622-630.
136. Wassmann, R., Hien, N. X., Hoanh, C. T., Tuong, T. P., (2004), "Sea Level Rise Affecting the Vietnamese Mekong Delta: Water Elevation in the Flood Season and Implications for Rice Production". *Climatic Change* 66(1): 89-107.
137. Xu K, DJ Mackill (1996), "RADP and RFLP mapping of a submergence tolerance locus in rice", *Rice Genetics Newsletter* 12: 244-245.
138. Xu K, Xu X, Fukao T, Canlas P, Maghirang-Rodriguez R, Heuer S, Ismail AM, Bailey-Serres J, Ronald RC, Mackill DJ., (2014), "*Sub1A* is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice". *Nature* 442:705-708.
139. Xu K, Xu X, Ronald PC, Mackill DJ (2000), "A high-resolution linkage map in the vicinity of the rice submergence tolerance locus *Sub1*", *Molecule Genetic Genet* (263), pp.681–689.
140. Xu K, X.X., Fukao T, Canlas P, Maghirang-Rodriguez R, Heuer S, Ismail AI, Bailey-Serres J, Ronald PC, Mackill DJ (2006), "Sub1A is an

ethylene response factor-like gene that confers submergence tolerance to rice", *Nature* (442), pp.705–708.

141. Xuan, T. D., Khang, D. T., (2018), "Effects of Exogenous Application of Protocatechuic Acid and Vanillic Acid to Chlorophylls, Phenolics and Antioxidant Enzymes of Rice (*Oryza sativa* L.) in Submergence", *Molecules*, 23(3).

142. Yang S Y, Wu Y S, Chen C T, Lai M H, Yen H M, Yang C Y., (2017), "Physiological and molecular responses of seedlings of an upland rice ('Tung Lu 3') to total submergence compared to those of a submergence-tolerant lowland rice ('FR13A')", *Rice*, 10: 42.

143. Yun K Y, Park M R, Mohanty B, Herath V, Xu F Y, Mauleon R, Wijaya E, Bajic V B, Bruskiewich R, de Los Reyes B G., (2010), "Transcriptional regulatory network triggered by oxidative signals configures the early response mechanisms of *japonica* rice to chilling stress", *BMC Plant Biol*, 10: 16

144. Zhang, X., Wang, J., Huang, J., Lan, H., Wang, C., Yin, C., Wu, Y., Tang, H., Qian, Q., Li, J., Zhang, H., (2012), "Rare allele of OsPPKL1 associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(52): 21534-21539.

145. Zhao Q, Feng Q, Lu H, Li Y, Wang A, Tian Q, Zhan Q, Lu Y, Zhang L, Huang T, Wang Y, Fan D, Zhao Y, Wang Z, Zhou C, Chen J, Zhu C, Li W, Weng Q, Xu Q, Wang ZX, Wei X, Han B, Huang X., (2018), "Pan-genome analysis highlights the extent of genomic variation in cultivated and wild rice", *Nat Genet* 50(2):278–284

146. Zhu, G.; Chen, Y.; Ella, E.S.; Ismail, A.M., (2019), "Mechanisms associated with tiller suppression under stagnant flooding in rice". *J. Agron. Crop Sci.*, 2019, 205(2), 235-247. <http://dx.doi.org/10.1111/jac.12316>

147. <http://www.gramene.org>
148. <http://www.nature.com>.
149. <http://www.ricegenetics.com>
150. <https://nongnghiep.vn/67-dan-so-toan-cau-co-the-song-trong-tinh-trang-thieu-nuoc-vao-nam-2050-d285227.html>
151. <http://www.ippc.com>.

**PHỤ LỤC 1**  
**DANH SÁCH CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR ĐƯỢC SỬ DỤNG TRONG**  
**NGHIÊN CỨU**  
**NHIỆM SẮC THỂ SỐ 1**

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
1	RM10694	12	RM6613	23	RM3412
2	RM10701	13	RM562	24	RM140
3	RM10852	14	RM7250	25	RM8115
4	RM10927	15	RM3252	26	RM5461
5	RM10984	16	RM10115	27	RM11504
6	RM11745	17	RM10287	28	RM11874
7	RM1313	18	RM6613	29	RM3482
8	RM1349	19	RM1287	30	S01132a
9	RM3252	20	RM10696	31	S01091
10	RM493	21	RM8094	32	S01140
11	RM529	22	RM10720		

**NHIỆM SẮC THỂ SỐ 2**

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
1	RM106	12	RM341	23	RM6318
2	RM109	13	RM3421	24	RM6611
3	RM13628	14	RM3828	25	RM6654
4	RM145	15	RM3858	26	RM6
5	RM154	16	RM423	27	RM7355
6	RM207	17	RM425	28	S02013
7	RM208	18	RM485	29	S02026
8	RM221	19	RM492	30	S02054
9	RM233	20	RM5356	31	S02057B

10	RM262	21	RM5404
11	RM300	22	RM5789

### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 3

STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	RM1164	15	RM3864	29	S03010b
2	RM1332	16	RM3867	30	S03020
3	RM1334	17	RM468	31	S03048
4	RM14565	18	RM514	32	RM14560
5	RM148	19	RM520	33	RM14828
6	RM14820	20	RM5480	34	RM1500
7	RM16236	21	RM5548	35	RM15254
8	RM227	22	RM5626	36	S03065
9	RM231	23	RM5639	37	S03099
10	RM282	24	RM6329	38	S03115
11	RM3202	25	RM6883	39	S03120
12	RM3291	26	RM7076	40	S03136
13	RM3297	27	RM7097		
14	RM3654	28	RM7431		

### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 4

STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	R4M13	12	RM307	23	RM6365
2	RM131	13	RM335	24	RM6487
3	RM16589	14	RM344	25	RM6659
4	RM16612	15	RM349	26	RM7102
5	RM16842	16	RM3635	27	RM7187

6	RM17391	17	RM3916	28	S04058
7	RM17411	18	RM471	29	S04060
8	RM241	19	RM518	30	S04077b
9	RM252	20	RM537	31	S04097b
10	R4M17	21	RM551	32	S04128
11	RM280	22	RM567	33	S04129b

### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 5

STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	R5M13	10	RM18161	19	RM3327
2	R5M20	11	RM18877	20	RM334
3	R5M30	12	RM19122	21	RM3809
4	RM1024	13	RM194	22	RM3838
5	RM122	14	RM249	23	RM413
6	RM161	15	RM27877	24	RM437
7	RM163	16	RM31	25	RM5796
8	RM169	17	RM32	26	RM6317
9	RM178	18	RM3215	27	S05009

### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 6

STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	R6M30	9	RM276	17	RM510
2	R6M44	10	RM3	18	RM527
3	RM133	11	RM30	19	RM528
4	RM193	12	RM3307	20	RM564
5	RM19778	13	RM345	21	RM585
6	RM19840	14	RM3628	22	RM6359
7	RM20224	15	RM494	23	S06065a



8 RM204 16 RM508

---

**NHIỆM SẮC THẺ SỐ 7**

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
1	R7M20	12	RM21539	23	RM560
2	R7M30	13	RM21868	24	RM5606
3	R7M37	14	RM21906	25	RM7338
4	RM11	15	RM248	26	RM7571
5	RM125	16	RM3753	27	S07011
6	RM172	17	RM418	28	S07024
7	RM18	18	RM432	29	S07048
8	RM180	19	RM445	30	S07053
9	RM20783	20	RM478	31	S07101
10	RM21471	21	RM51		
11	RM21478	22	RM5436		

---

**NHIỆM SẮC THẺ SỐ 8**

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
1	R8M33	9	RM433	17	S08052b
2	R8M46	10	RM447	18	S08052c
3	RM149	11	RM547	19	S08059
4	RM152	12	RM5485	20	S08090
5	RM210	13	RM6193	21	S08106
6	RM22786	14	RM80	22	S08107
7	RM25	15	S08035	23	S08121a
8	RM310	16	S08049		

---

---

**NHIỆM SẮC THẺ SỐ 9**

---

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
1	ART5	24	RM5661	47	RM23928
2	R9M10	25	RM5688	48	RM23958
3	R9M20	26	RM6051	49	RM23957
4	R9M42	27	RM6491	50	RM24005
5	R9M30	28	RM7175	51	RM24011
6	RM1026	29	RM7481	52	RM24046
7	RM105	30	S09000a	53	RM24070
8	RM107	31	S09003b	54	RM23788
9	RM215	32	S09006	55	RM5899
10	RM219	33	S09026b	56	RM23831
11	RM23654	34	S09040b	57	RM23833
12	RM23662	35	S09073	58	RM23835
13	RM23759	36	S09093A	59	RM296
14	RM23877	37	SC3	60	RM23852
15	RM24013	38	RM23805	61	RM23865
16	RM24161	39	RM23887	62	RM23869
17	RM242	40	RM23778	63	RM8300
18	RM257	41	RM23668	64	RM6920
19	RM278	42	RM23679	65	RM23911
20	RM285	43	RM8303	66	RM23915
21	RM288	44	RM23770	67	RM23916
22	RM316	45	RM23772		
23	RM464A	46	RM23922		

---

**NHIỆM SẮC THẺ SỐ 10**

<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>	<b>STT</b>	<b>Tên chỉ thị</b>
------------	--------------------	------------	--------------------	------------	--------------------

---

1	RM25361	12	RM222	23	RM6142
2	RM25407	13	RM228	24	RM6691
3	RM5620	14	RM25022	25	S10001
4	RM25763	15	RM25181	26	S10013a
5	R10M10	16	RM25271	27	S10015
6	R10M17	17	RM271	28	S10016
7	R10M30	18	RM304	29	S10026c
8	R10M40	19	RM311	30	S10053
9	RM1126	20	RM333	31	S10058a
10	RM171	21	RM496	32	S10058b
11	RM216	22	RM5806	33	S10072

#### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 11

STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	R11M17	11	RM26652	21	S11055A
2	R11M23	12	RM26877	22	S11055B
3	R11M40	13	RM287	23	S11115
4	RM202	14	RM3137	24	S11117c
5	RM1124	15	RM536	25	RM224
6	RM1126	16	RM552	26	RM1295
7	RM206	17	RM5824	27	RM2812
8	RM209	18	S11004a	28	RM1761
9	RM21	19	S11045A	29	RM2020
10	RM2634	20	S11049	30	RM2136

#### NHIỆM SẮC THẺ SỐ 12

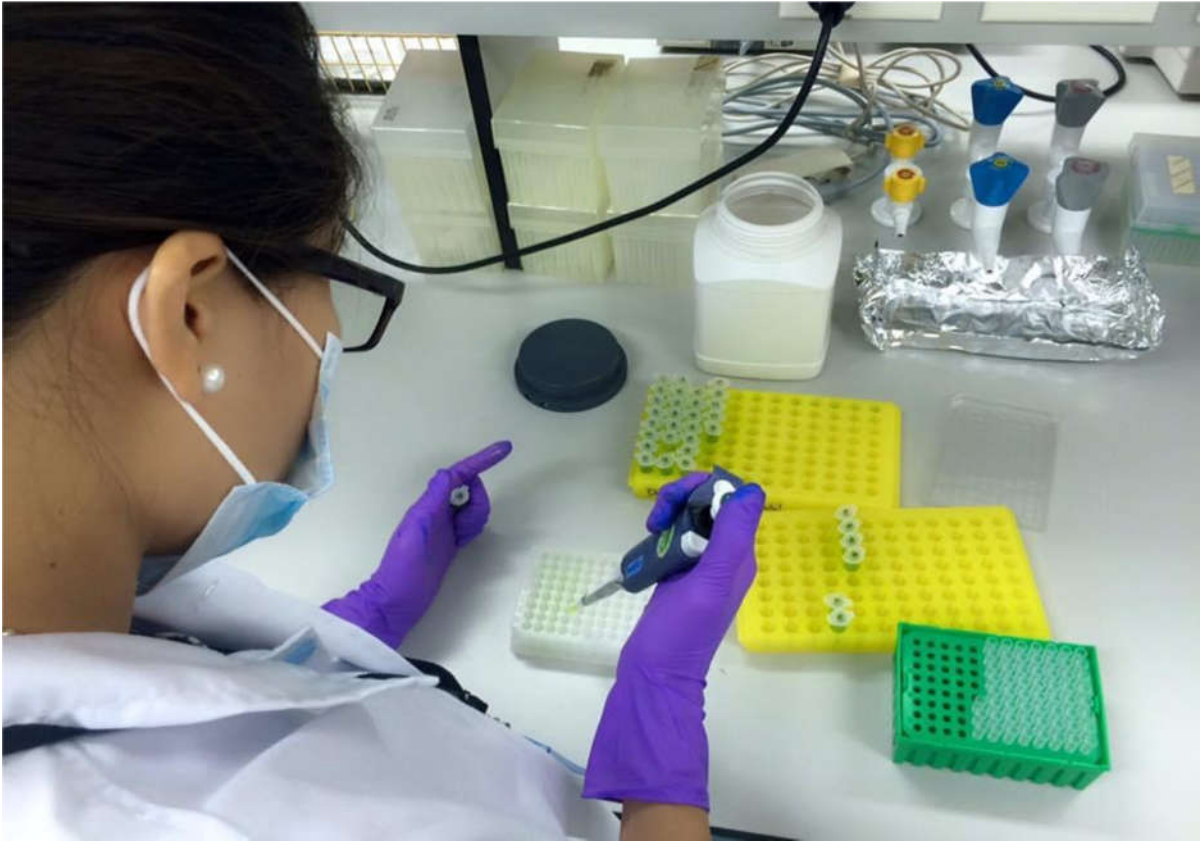
STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị	STT	Tên chỉ thị
1	RM27593	11	S01160	21	RM1208

<b>2</b>	S12029	<b>12</b>	RM1194	<b>22</b>	RM223
<b>3</b>	R12M10	<b>13</b>	RM179	<b>23</b>	RM224
<b>4</b>	RM7102	<b>14</b>	RM19	<b>24</b>	RM1015
<b>5</b>	S12055	<b>15</b>	RM28746	<b>25</b>	RM1226
<b>6</b>	RM309	<b>16</b>	RM511	<b>26</b>	RM1246
<b>7</b>	RM5338	<b>17</b>	RM5746	<b>27</b>	RM1337
<b>8</b>	R12M43	<b>18</b>	RM7003	<b>28</b>	RM28706
<b>9</b>	RM28748	<b>19</b>	RM7315	<b>29</b>	RM28463
<b>10</b>	RM17	<b>20</b>	S12055	<b>30</b>	RM7558

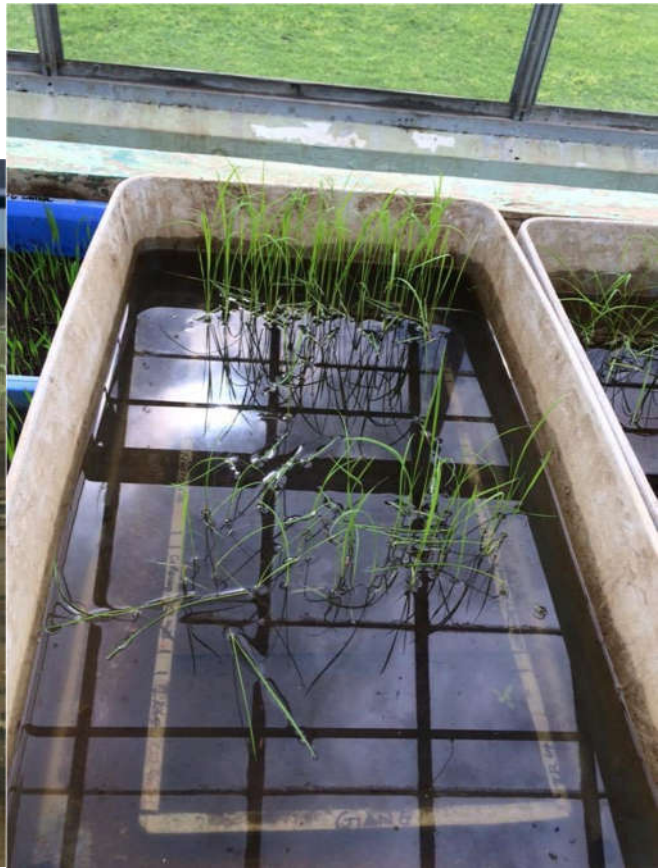
---

**PHỤ LỤC 2. MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRONG QUÁ TRÌNH  
THỰC HIỆN ĐỀ TÀI**

























# PHỤ LỤC 3

## KẾT QUẢ XỬ LÝ SỐ LIỆU

### 1. Các dòng mang gen Sub1 BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub> trong vụ Đông Xuân 2013-2014

BALANCED ANOVA FOR VARIATE CC FILE GIANG 20/04/2014 20:39							
----- :PAGE 1							
VARIATE V003 CC							
LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
=====							
1	NL	2	3.80000	1.90000	0.08	0.926	3
2	DONG\$	9	1424.67	158.296	6.37	0.000	3
*	RESIDUAL	18	447.533	24.8629			
-----							
*	TOTAL (CORRECTED)	29	1876.00	64.6897			
-----							
BALANCED ANOVA FOR VARIATE BONG/M2 FILE GIANG 20/04/2014 20:39							
----- :PAGE 2							
VARIATE V004 BONG/M2							
LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
=====							
1	NL	2	4533.49	2266.75	1.94	0.171	3
2	DONG\$	9	19512.3	2168.03	1.86	0.126	3
*	RESIDUAL	18	21028.5	1168.25			
-----							
*	TOTAL (CORRECTED)	29	45074.3	1554.29			
-----							
BALANCED ANOVA FOR VARIATE HCHAC FILE GIANG 20/04/2014 20:39							
----- :PAGE 3							
VARIATE V005 HCHAC							
LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
=====							
1	NL	2	149.801	74.9003	0.41	0.673	3
2	DONG\$	9	2335.76	259.528	1.43	0.248	3
*	RESIDUAL	18	3272.29	181.794			
-----							
*	TOTAL (CORRECTED)	29	5757.85	198.547			
-----							
BALANCED ANOVA FOR VARIATE TL LEP FILE GIANG 20/04/2014 20:39							
----- :PAGE 4							
VARIATE V006 TL LEP							
LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
=====							
1	NL	2	3.26775	1.63388	1.90	0.177	3
2	DONG\$	9	45.3088	5.03431	5.86	0.001	3
*	RESIDUAL	18	15.4731	.859615			
-----							
*	TOTAL (CORRECTED)	29	64.0497	2.20861			
-----							
BALANCED ANOVA FOR VARIATE P1000 FILE GIANG 20/04/2014 20:39							
----- :PAGE 5							
VARIATE V007 P1000							
LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
=====							
1	NL	2	.274667	.137333	0.87	0.438	3
2	DONG\$	9	2.74800	.305334	1.94	0.110	3
*	RESIDUAL	18	2.83200	.157333			
-----							
*	TOTAL (CORRECTED)	29	5.85467	.201885			
-----							

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	.242667	.121333	0.81	0.464	3
2	DONG\$	9	2.71467	.301630	2.01	0.099	3
*	RESIDUAL	18	2.69733	.149852			
* TOTAL (CORRECTED)		29	5.65467	.194988			

MEANS FOR EFFECT NL

	NL	NOS	CC	BONG/M2	HCHAC	TL LEP
1		10	105.700	411.590	114.760	10.4674
2		10	105.800	384.400	109.850	11.2756
3		10	106.500	386.790	114.400	10.8520
SE (N=	10)		1.57680	10.8086	4.26373	0.293192
5%LSD	18DF		4.68490	32.1138	12.6682	0.871116
	NL	NOS	P1000	NSTT		
1		10	27.0800	5.86000		
2		10	27.2600	6.04000		
3		10	27.3000	5.84000		
SE (N=	10)		0.125433	0.122414		
5%LSD	18DF		0.372678	0.363710		

MEANS FOR EFFECT DONG\$

	DONG\$	NOS	CC	BONG/M2	HCHAC	TL LEP
C7-1		3	108.000	364.333	117.233	10.5333
C10-1		3	109.333	398.667	120.400	11.0778
C13-1		3	101.667	457.600	130.633	8.90000
C13-4		3	110.333	410.667	111.267	10.5796
C13-3		3	112.667	366.000	108.200	9.30296
C13-2		3	114.667	386.733	114.200	12.5852
C13-5		3	109.333	377.267	119.500	12.1956
C13-6		3	103.333	384.333	105.267	9.61481
AS996	D/C	3	100.667	402.333	103.733	11.8941
IR64-Sub1		3	90.0000	394.667	99.6000	11.9667
SE (N=	3)		2.87883	19.7336	7.78447	0.535293
5%LSD	18DF		8.55342	58.6315	23.1288	1.59043
	DONG\$	NOS	P1000	NSTT		
C7-1		3	27.1667	5.93333		
C10-1		3	26.9667	5.93333		
C13-1		3	27.3667	6.76667		
C13-4		3	27.1667	5.86667		
C13-3		3	27.1667	5.73333		
C13-2		3	27.4667	5.80000		
C13-5		3	27.4667	5.83333		
C13-6		3	27.5667	5.93333		
AS996	D/C	3	27.3333	5.66667		
IR64-Sub1		3	26.4667	5.66667		
SE (N=	3)		0.229007	0.223496		
5%LSD	18DF		0.680415	0.664040		

F-PROBABILITY VALUES FOR EACH EFFECT IN THE MODEL. SECTION - 1

VARIATE	GRAND MEAN	STANDARD DEVIATION	C OF V	NL	DONG\$
---------	------------	--------------------	--------	----	--------

	(N= 30)	----- SD/MEAN					
NO.		BASED ON	BASED ON	%			
OBS.		TOTAL SS	RESID SS				
CC	30 106.00	8.0430	4.9863	4.7	0.9262	0.0005	
BONG/M2	30 394.26	39.424	34.180	8.7	0.1710	0.1261	
HCHAC	30 113.00	14.091	13.483	11.9	0.6731	0.2479	
TL LEP	30 10.865	1.4861	0.92715	8.5	0.1768	0.0008	
P1000	30 27.213	0.44932	0.39665	1.5	0.4375	0.1103	
NSTT	30 5.9133	0.44157	0.38711	6.5	0.4639	0.0985	

## 2. Thí nghiệm 8 dòng triển vọng BC3F5 Hè thu 2014

BALANCED ANOVA FOR VARIATE CC FILE GIANG 18/8/2014 22:18  
----- :PAGE 1  
VARIATE V003 CC

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	76.0667	38.0333	0.71	0.507	3
2	DONG\$	9	638.533	70.9481	1.33	0.288	3
*	RESIDUAL	18	959.267	53.2926			
* TOTAL (CORRECTED)		29	1673.87	57.7195			

BALANCED ANOVA FOR VARIATE BONG/M2 FILE GIANG 18/8/2014 22:18  
----- :PAGE 2  
VARIATE V004 BONG/M2

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	984.024	492.012	0.71	0.507	3
2	DONG\$	9	17471.7	1941.31	2.82	0.029	3
*	RESIDUAL	18	12393.1	688.506			
* TOTAL (CORRECTED)		29	30848.9	1063.75			

BALANCED ANOVA FOR VARIATE HCHAC FILE GIANG 18/8/2014 22:18  
----- :PAGE 3  
VARIATE V005 HCHAC

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	209.337	104.668	1.45	0.261	3
2	DONG\$	9	1231.72	136.858	1.89	0.119	3
*	RESIDUAL	18	1301.04	72.2802			
* TOTAL (CORRECTED)		29	2742.10	94.5552			

BALANCED ANOVA FOR VARIATE TL LEP FILE GIANG 18/8/2014 22:18  
----- :PAGE 4  
VARIATE V006 TL LEP

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	7.24951	3.62475	2.80	0.086	3
2	DONG\$	9	46.3688	5.15209	3.98	0.006	3
*	RESIDUAL	18	23.2863	1.29368			
* TOTAL (CORRECTED)		29	76.9047	2.65188			

BALANCED ANOVA FOR VARIATE P1000 FILE GIANG 18/8/2014 22:18  
----- :PAGE 5  
VARIATE V007 P1000

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1	NL	2	7.24951	3.62475	2.80	0.086	3
2	DONG\$	9	46.3688	5.15209	3.98	0.006	3
*	RESIDUAL	18	23.2863	1.29368			
* TOTAL (CORRECTED)		29	76.9047	2.65188			

1 NL	2	.164667	.823333E-01	0.40	0.680	3
2 DONG\$	9	4.60133	.511259	2.49	0.047	3
* RESIDUAL	18	3.68867	.204926			

-----

* TOTAL (CORRECTED)	29	8.45467	.291540			
---------------------	----	---------	---------	--	--	--

-----

BALANCED ANOVA FOR VARIATE NSTT FILE GIANG 18/8/2014 22:18 :PAGE 6

VARIATE V008 NSTT

LN	SOURCE OF VARIATION	DF	SUMS OF SQUARES	MEAN SQUARES	F RATIO	PROB	ER LN
1 NL		2	.461547	.230773	2.05	0.156	3
2 DONG\$		9	2.06148	.229053	2.04	0.095	3
* RESIDUAL		18	2.02232	.112351			
-----							
* TOTAL (CORRECTED)		29	4.54535	.156736			

TABLE OF MEANS FOR FACTORIAL EFFECTS FILE GIANG 18/8/2014 22:18 :PAGE 7

MEANS FOR EFFECT NL

	NL	NOS	CC	BONG/M2	HCHAC	TL LEP
1		10	107.700	296.880	92.8133	9.41356
2		10	105.800	301.160	98.7300	10.6149
3		10	109.700	287.450	98.0400	10.0851
SE (N= 10)			2.30852	8.29762	2.68850	0.359678
5%LSD 18DF			6.85895	24.6535	7.98792	1.06866

	NL	NOS	P1000	NSTT
1		10	26.7300	5.81200
2		10	26.8000	5.78400
3		10	26.9100	6.06000
SE (N= 10)			0.143152	0.105996
5%LSD 18DF			0.425327	0.314929

MEANS FOR EFFECT DONG\$

	DONG\$	NOS	CC	BONG/M2	HCHAC	TL LEP
C13-1-1		3	102.000	291.867	98.1556	10.9956
C13-1-3		3	110.000	268.867	85.4667	9.91111
C13-1-4		3	105.333	344.333	108.256	6.63333
C13-1-5		3	115.667	289.333	93.6889	10.5741
C13-1-6		3	103.333	295.033	102.767	9.79259
C13-1-7		3	112.333	260.500	98.5333	11.0852
C13-1-8		3	104.667	288.067	102.367	10.9963
C13-1-9		3	114.000	280.300	92.5000	9.52963
AS996 D/c		3	106.000	305.000	90.9111	10.3941
IR64-Sub1		3	104.000	328.333	92.6333	10.4667
SE (N= 3)			4.21476	15.1493	4.90850	0.656679
5%LSD 18DF			12.5227	45.0108	14.5839	1.95109

	DONG\$	NOS	P1000	NSTT
C13-1-1		3	27.1667	5.93333
C13-1-3		3	26.9667	5.94667
C13-1-4		3	27.3667	6.60000
C13-1-5		3	26.5000	5.80000
C13-1-6		3	26.4333	5.73333
C13-1-7		3	26.7333	5.80000
C13-1-8		3	26.5000	5.83333
C13-1-9		3	26.2667	5.93667
AS996 D/c		3	27.4667	5.60333
IR64-Sub1		3	26.7333	5.66667
SE (N= 3)			0.261359	0.193521
5%LSD 18DF			0.776537	0.574979







NAM	2	2.0553	1.02763	2.24	0.1872
Error NAM*LAP	6	2.7477	0.45796		
Giong	2	8.2236	4.11181	254.69	0.0001
Error NAM*Giong	4	0.0646	0.01614		
Error NAM*LAP*Giong	12	1.3697	0.11414		
Total	26	14.4609			

Grand Mean 5.2256  
CV(NAM\*LAP) 12.95  
CV(NAM\*Giong) 2.43  
CV(NAM\*LAP\*Giong) 6.47

Statistix 8.2  
PM

4/20/2017,11:36:29

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for NAM\*Giong**

NAM	Giong	Mean	Homogeneous Groups
DX1516	OM351	6.2667	A
DX1415	OM351	5.7333	AB
DX1516	AS996 D/C	5.7333	AB
HT15	OM351	5.5233	ABC
DX1415	AS996 D/C	5.2667	BC
HT15	AS996 D/C	5.0000	BCD
DX1516	IR64-Sub1	4.8000	CDE
DX1415	IR64-Sub1	4.4000	DE
HT15	IR64-Sub1	4.3067	E

Comparisons of means for the same level of NAM

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2758  
Critical T Value 2.179 Critical Value for Comparison 0.6010  
Error term used: NAM\*LAP\*Giong, 12 DF

Comparisons of means for different levels of NAM

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3905  
Critical T Value 2.358 Critical Value for Comparison 0.9207  
Error terms used: NAM\*LAP and NAM\*LAP\*Giong

There are 5 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.2

4/20/2017 11:35:51PM

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for NAM**

NAM	Mean	Homogeneous Groups
DX1516	5.6000	A
DX1415	5.1333	A
HT15	4.9433	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.3190  
Critical T Value 2.447 Critical Value for Comparison 0.7806  
Error term used: NAM\*LAP, 6 DF  
There are no significant pairwise differences among the means.

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for Giong**

Giong	Mean	Homogeneous Groups
OM351	5.8411	A
AS996 D/C	5.3333	B
IR64-Sub1	4.5022	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0599

Critical T Value 2.776 Critical Value for Comparison 0.1663  
 Error term used: NAM\*Giong, 4 DF  
 All 3 means are significantly different from one another.

Thí nghiệm Ngập ANOVA  
 Statistix 8.2

4/20/2017, 11:39:14 PM

**Analysis of Variance Table for NSUAT**

Source	DF	SS	MS	F	P
NAM	2	0.2060	0.1030	2.84	0.1353
Error NAM*LAP	6	0.2173	0.0362		
Giong	2	59.8081	29.9040	1777.65	0.0000
Error NAM*Giong	4	0.0673	0.0168		
Error NAM*LAP*Giong	12	0.7732	0.0644		
Total	26	61.0719			

Grand Mean 3.2489  
 CV(NAM\*LAP) 5.86  
 CV(NAM\*Giong) 3.99  
 CV(NAM\*LAP\*Giong) 7.81

Statistix 8.2

4/20/2022, 11:40:30 PM

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for NAM\*Giong**

NAM	Giong	Mean	Homogeneous Groups
DX1415	OM351	4.8667	A
DX1516	OM351	4.7800	A
HT15	OM351	4.6333	A
DX1516	IR64-Sub1	3.8200	B
DX1415	IR64-Sub1	3.7667	B
HT15	IR64-Sub1	3.7000	B
DX1415	AS996 D/C	1.4000	C
DX1516	AS996 D/C	1.2067	C
HT15	AS996 D/C	1.0667	C

Comparisons of means for the same level of NAM  
 Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2073  
 Critical T Value 2.179 Critical Value for Comparison 0.4516  
 Error term used: NAM\*LAP\*Giong, 12 DF

Comparisons of means for different levels of NAM  
 Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1915  
 Critical T Value 2.238 Critical Value for Comparison 0.4286  
 Error terms used: NAM\*LAP and NAM\*LAP\*Giong

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Statistix 8.2

4/20/2017, 11:39:53 PM

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for NAM**

NAM	Mean	Homogeneous Groups
DX1415	3.3444	A
DX1516	3.2689	A
HT15	3.1333	A

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0897  
 Critical T Value 2.447 Critical Value for Comparison 0.2195

Error term used: NAM\*LAP, 6 DF

There are no significant pairwise differences among the means.

**LSD All-Pairwise Comparisons Test of NSUAT for Giong**

Giong	Mean	Homogeneous Groups
OM351	4.7600	A
IR64-Sub1	3.7622	B
AS996 D/C	1.2244	C

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0611  
 Critical T Value 2.776 Critical Value for Comparison 0.1698  
 Error term used: NAM\*Giong, 4 DF  
 All 3 means are significantly different from one another.

**KHẢO NGHIỆM TÁC GIẢ**

**Hè Thu 2016**

**ĐỒNG THÁP**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6.41733333	5.72666667
Variance	0.37982095	0.688395238
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.96879749	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	9.61180054	
P(T<=t) one-tail	7.6101E-08	
t Critical one-tail	1.76131014	
P(T<=t) two-tail	1.522E-07	
t Critical two-tail	2.14478669	

**AN GIANG**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6.768667	6.154667
Variance	0.060955	0.237412
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.402569	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	

t Stat	5.297417
P(T<=t) one-tail	5.63E-05
t Critical one-tail	1.76131
P(T<=t) two-tail	0.000113
t Critical two-tail	2.144787

### TRÀ VINH

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6.54733	5.756
Variance	0.06018	0.1843
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.72115	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	10.0725	
P(T<=t) one-tail	4.3E-08	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	8.5E-08	
t Critical two-tail	2.14479	

### BẠC LIÊU

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6.25	5.485333333
Variance	0.10498571	0.193198095
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.34144833	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	6.60691925	
P(T<=t) one-tail	5.88E-06	
t Critical one-tail	1.76131014	
P(T<=t) two-tail	1.176E-05	
t Critical two-tail	2.14478669	

## LONG AN

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	5.960667	5.586
Variance	0.010564	0.308126
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.389416	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	2.770851	
P(T<=t) one-tail	0.007509	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.015017	
t Critical two-tail	2.144787	

## BẾN TRE

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.048	5.25667
Variance	0.05782	0.18395
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.70924	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	9.91837	
P(T<=t) one-tail	5.2E-08	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	1E-07	
t Critical two-tail	2.14479	

## ĐÔNG XUÂN 2016-2017

### ĐỒNG THÁP

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.146667	5.665333
Variance	0.15041	0.362827
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.84735	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	5.442103	
P(T<=t) one-tail	4.34E-05	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	8.68E-05	
t Critical two-tail	2.144787	

### AN GIANG

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.28	5.708667
Variance	0.063157	0.08967
Observations	15	15
Pearson Correlation	-0.26301	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	5.044506	
P(T<=t) one-tail	8.96E-05	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.000179	
t Critical two-tail	2.144787	

### TRÀ VINH

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.532667	5.706667
Variance	0.027578	0.244438
Observations	15	15
Pearson Correlation	-0.64514	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	5.203626	
P(T<=t) one-tail	6.68E-05	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.000134	
t Critical two-tail	2.144787	

**BẠC LIÊU****LONG AN**

t-Test: Paired Two Sample for Means

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i>	<i>Variable 2</i>
	<i>1</i>	<i>2</i>
Mean	5.889333	5.854
Variance	0.219678	0.060083
Observations	15	15
Pearson Correlation	-0.00109	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	0.258608	
P(T<=t) one-tail	0.399851	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.799701	
t Critical two-tail	2.144787	

	<i>Variable</i>	<i>Variable</i>
	<i>1</i>	<i>2</i>
Mean	6.374667	5.824667
Variance	0.150441	0.085941
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.837294	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	9.934919	
P(T<=t) one-tail	5.06E-08	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	1.01E-07	
t Critical two-tail	2.144787	

**BẾN TRE**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i>	<i>Variable</i>
	<i>1</i>	<i>2</i>
Mean	5.849333	5.31
Variance	0.20395	0.067629
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.464056	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	5.180502	
P(T<=t) one-tail	6.97E-05	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.000139	
t Critical two-tail	2.144787	



HÈ THU 2017

**ĐỒNG THÁP**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.616	5.93
Variance	0.013854	0.298314
Observations	15	15
Pearson Correlation	-0.25788	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	4.521216	
P(T<=t) one-tail	0.00024	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.000479	
t Critical two-tail	2.144787	

**AN GIANG**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.428	5.607333
Variance	0.061874	0.119092
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.480637	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	10.12991	
P(T<=t) one-tail	3.98E-08	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	7.96E-08	
t Critical two-tail	2.144787	

**TRÀ VINH**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.946667	6.096
Variance	0.06181	0.187811
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.817488	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	12.15537	
P(T<=t) one-tail	3.96E-09	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	7.93E-09	
t Critical two-tail	2.144787	

**BẾN TRE**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.444667	5.655333
Variance	0.060327	0.183955
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.698612	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	9.811005	
P(T<=t) one-tail	5.91E-08	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	1.18E-07	
t Critical two-tail	2.144787	

**BẠC LIÊU**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.061333	5.451333
Variance	0.042727	0.124998
Observations	15	15
Pearson Correlation	0.473034	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	7.524341	
P(T<=t) one-tail	1.39E-06	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	2.77E-06	
t Critical two-tail	2.144787	

**LONG AN**

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	6.241333	5.824667
Variance	0.090441	0.182755
Observations	15	15
Pearson Correlation	-0.6422	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	2.437456	
P(T<=t) one-tail	0.014364	
t Critical one-tail	1.76131	
P(T<=t) two-tail	0.028728	
t Critical two-tail	2.144787	