

PHỤC TRÁNG GIỐNG LÚA MỘT BỤI LÙN CHO TỈNH CÀ MAU

Nguyễn Thị Lang, Trịnh Thị Lũy,
Trần Ánh Nguyệt, Nguyễn Hoàng Thái Bình,
Bùi Phước Tâm, Bùi Chí Bửu

SUMMARY

Pure line selection of Mot Bui Lun at Ca Mau province

225 rice sample of Mot Bui Lun variety were collected at Tran Van Thoi district, Thoi Binh district and Ca Mau city. Then, those were classified according to collected areas and evaluation based on distributable level of traits in fields. Screening the best individuals. 225 distinct lines of Mot Bui Lun variety selecting in the first crop and continuing to evaluate agronomic traits, yield and yield components in the second crop (G1) and the third crop (G2). Results of the morphological observation of Mot Bui Lun variety showed that most of those fluctuated significantly between individuals, excepting stems height and auricle color of leaves of some individuals with purple stripes instead slight purple. Due to be not uniform in shape, a lot of individuals with different morphological characteristics as description be removed. Coordinating phenotype and genotype (molecular marker) using microsatellite in order to analysis genotypes on the rice lines of Mot Bui Lun variety showed highly genetic diversity. Although the same variety, but PCR products produced many alleles on the same line.

Through analysis of 4 polymorphism primers RM13, RM223, RM106, RM3252-S1-1 produced polymorphism and chose a inbred line. Mot Bui Lun (12), the lines had well shape, outstanding and together with good traits. Particularly, using SSD-PAGE protein method may appear the bands but discrimination of inbred lines is unclear. Mot Bui Lun variety after revigorating and transferred to Ca Mau province.

Keywords: Microsatellite, molecular marker Pure line selection, SSD-PAGE.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong quá trình sản xuất trồng cấy nhiều năm, các giống lúa mùa thường hay bị thoái hóa làm thay đổi các đặc tính, tính trạng tốt ban đầu như năng suất cao, thời gian sinh trưởng, chống chịu sâu bệnh, phẩm chất hạt cũng như cơm. Có rất nhiều nguyên nhân gây ra hiện tượng trên như: Do sự lẫn lộn giữa các giống lúa với nhau một cách ngẫu nhiên hoặc do sự đột biến, suy giảm đặc tính giống. Lẫn trên ruộng: Có thể do một vài bụi lúa khác giống còn sót lại từ những vụ trước khi làm đất chưa đạt yêu cầu và khi nông dân cấy lúa ở vụ sau, số giống còn sót lại cũng nảy mầm và ảnh hưởng đến giống lúa mới. Lẫn do máy móc, những dụng cụ dùng để chứa lúa giống cũng có khả năng dẫn đến việc thoái hóa giống. Sự thoái hóa giống do đột biến xảy ra với tỷ lệ rất thấp. Tuy nhiên,

việc này qua thời gian cũng dẫn đến sự ảnh hưởng lớn dần và dần dần giống không còn hiệu quả trong sản xuất. Mục tiêu của nghiên cứu này là phục tráng giống bằng phương pháp phân tử SSR và protein cũng như Phân tích chọn lọc dựa vào hình thái để tìm ra giống thuần tốt nhất phục vụ cho sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Thu thập 225 mẫu lúa Một Bụi Lùn tại tỉnh Cà Mau.

2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá kiểu hình dựa vào các đặc tính năng suất và thành phần năng suất theo Viện Lúa Quốc tế (IRRI).

Đánh giá kiểu gen DNA và Phân tích protein theo Lang 2002.

Quy trình phục tráng giống lúa Tài Nguyên Đục và Một Bụi Lùn từ trong sản xuất IRRI 1996. *Các chỉ tiêu tính năng suất và TP năng suất theo tiêu chuẩn của IRRI 1996.*

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Vụ thứ nhất G_0

Các mẫu lúa Một Bụi Lùn được thu thập tại các huyện Trần Văn Thời, huyện Thới Bình và thành Phố Cà Mau. Sau đó được phân loại theo vùng thu thập và đánh giá dựa trên mức phân bố về các tính trạng ngoài đồng. Quan sát 1.000 cá thể của mỗi dòng đã thu thập ở các địa điểm khác nhau, tiến hành đánh giá các tính trạng để chọn lọc các cá thể tốt nhất.

Kết quả quan sát hình thái của 500 cá thể của mỗi dòng được thu thập ngẫu nhiên ở các địa điểm, vùng sinh thái khác nhau của Cà Mau. Các đặc tính hình thái của các cá thể đều giống như miêu tả của nông dân địa phương. Số lượng cá thể được thu mẫu để đánh giá các chỉ tiêu nông học và các thành phần năng suất 225 dòng đối với giống lúa Một Bụi Lùn.

Trong vụ này tiến hành đánh giá song song: Năng suất và thành phần năng suất, phẩm chất gạo, đa dạng di truyền kiểu gen, phân nhóm di truyền kiểu gen.

2. Vụ thứ hai (G_1)

Giống lúa Một Bụi Lùn

225 dòng khác nhau của giống Một Bụi Lùn chọn lọc trong vụ thứ nhất được tiếp tục đánh giá các tính trạng nông học, năng suất và thành phần năng suất trong vụ thứ hai (G_1). Kết quả quan sát hình thái của các dòng giống Một Bụi Lùn cho thấy hầu hết đều có biến động rất lớn giữa các cá thể, ngoại trừ chiều cao thân và màu sắc thìa lia lá của một số cá thể có sọc tím thay vì màu tím nhạt.

Kết quả ghi nhận chỉ tiêu về nông học và thành phần năng suất cho thấy các cá thể lúa Một Bụi Lùn có chiều cao cây trung bình là 115cm, với 16 bông/bụi, chiều dài bông là 26,1cm với 108 hạt chắc/bông và khối lượng 1.000 hạt là 26,06g. Số lượng cá thể quan sát có giá trị các chỉ tiêu định lượng nằm trong khoảng giá trị trung bình (\bar{X}) \pm độ lệch chuẩn (s) biến động từ 53,0 đến 77,4% Trong các chỉ tiêu này, chiều dài bông của các cá thể là ít biến động nhất, tiếp đến là chỉ tiêu về số bông/ bụi và sau cùng là số hạt chắc/bông.

Mặc dù, với từng chỉ tiêu riêng biệt, số lượng cá thể nằm trong khoảng giá trị cho phép là tương đối cao. Tuy nhiên chỉ có 225 cá thể trong tổng số 500 cá thể quan sát, đạt tỷ lệ 45%, có tất cả giá trị về các chỉ tiêu của đặc tính nông học và thành phần năng suất nằm trong khoảng giá trị trung bình (\bar{X}) \pm độ lệch chuẩn (s). Trong 225 cá thể được chọn lọc trong vụ thứ nhất - G_0 , trong vụ thứ hai chọn lọc được 100 dòng có các tính trạng vượt trội, loại bỏ 125 dòng. Tỷ lệ các dòng được chọn đạt 44,44%.

3. Vụ thứ ba (G_2)

Giống lúa Một Bụi Lùn

Kết quả ghi nhận các chỉ tiêu về nông học và thành phần năng suất cho thấy số lượng dòng quan sát có giá trị trung bình của 7 chỉ tiêu quan trọng nằm trong khoảng giá trị cho phép biến động. Như vậy, qua đánh giá các chỉ tiêu về đo đếm kết hợp đánh giá kiểu hình 100 dòng đã xác định được 53 dòng, đạt 53% đủ tiêu chuẩn để tạo quần thể lúa siêu nguyên chủng, chỉ loại bỏ 47 dòng không đạt chuẩn về năng suất, nhiễm sâu bệnh hoặc dạng hình không đồng nhất,... Sau khi loại bỏ các dòng không đạt, sự biến động của các chỉ tiêu về quan sát đã giảm đi rất nhiều.

Kết quả ghi nhận cho thấy các dòng của quần thể phục tráng có số bông, chiều dài bông, hạt chắc/bông và khối lượng 1.000

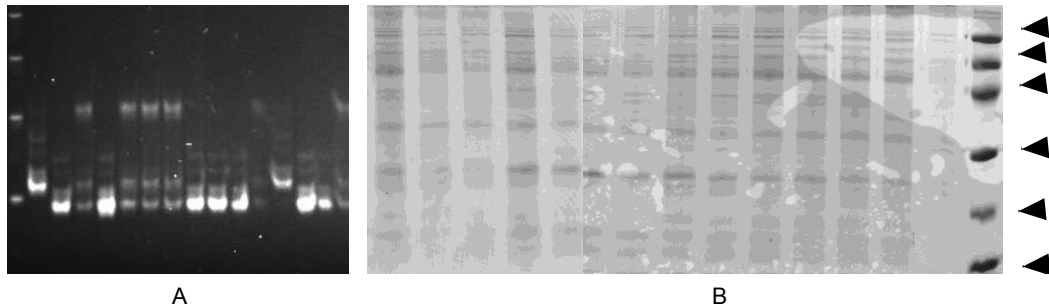
hạt lần lượt là 16,2 bông, 22,3cm, 94,2 hạt và 26,8g cao hơn so với giống chưa phục tráng, năng suất của giống phục tráng cao hơn so với chưa phục tráng, trong khi đó tính trạng về chiều cao cây, tỷ lệ hạt lép tương đương với mẫu giống ban đầu chưa phục tráng. Năng suất thực tế của quần thể lúa phục tráng đạt 4,30 tấn/ha so với 3,64 tấn/ha của mẫu giống chưa phục tráng, tăng 15,3%. Qua quá trình phục tráng nhận thấy từ giống lúa ban đầu thu thập còn có quá nhiều sự đa dạng về dạng hình và nhiều đặc tính khác (chẳng hạn: mẫu trước phục tráng có lẫn gạo đỏ). Nhưng qua quá trình chọn lọc kết hợp giữa phương pháp truyền thống và phương pháp công nghệ sinh học, đã phục tráng lại thành công giống Một Bụi Lùn có kiểu hình đồng đều và ổn định, cây dạng hình khác dạng, hạt khác màu và lúa có là không có.



Hình 1: Giống Một Bụi Lùn trước và sau phục tráng (trước phục tráng có lẫn gạo đỏ và hạt gạo đồng đều sau khi phục tráng)

Chỉ tiêu về tỷ lệ đục đặc trung của giống cũng được cải thiện lên đến 91,3% so

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



với 90,2% của mẫu giống đối chứng. Các chỉ tiêu phẩm chất gạo khác của quần thể lúa Một Bụi Lùn sau phục tráng cũng được cải thiện đáng kể đặc biệt là độ bền thể gel và hàm lượng amylose) Chỉ tiêu về hàm lượng amylose, độ trở hồ, độ bền thể gel, tỷ lệ gạo nguyên cao hơn của mẫu giống đối chứng. Các chỉ tiêu phẩm chất gạo khác của quần thể lúa Một Bụi Lùn sau phục tráng cũng được cải thiện đáng kể, đặc biệt là hàm lượng amylose.

4. Nghiên cứu phục tráng giống lúa Một Bụi Lùn bằng phương pháp protein (SDS-PAGE)

Các hạt từ các cá thể (225 cá thể Một Bụi Lùn) thu được từ các huyện trong tỉnh Cà Mau được tiến hành ly trích protein tổng số. Sau đó, chạy điện di protein nhằm xác định hạt của các cá thể có hàm lượng amylose thấp. Những cá thể được xác định nhờ vào sự biểu hiện các băng protein trong phổ điện di dựa vào mức độ đậm nhạt của băng Waxy gen khoảng 60 kDa. Các cá thể có hàm lượng amylose thấp sẽ bắt màu nhạt.

Từ kết quả điện di protein tổng số của 225 cá thể Một Bụi Lùn ban đầu, chọn được 100 cá thể của từng giống trong vụ thứ hai, và tiếp tục vụ thứ ba là 53 dòng Một Bụi Lùn. Các dòng tuyển chọn được trong vụ thứ ba được ly trích protein và đánh giá bằng phương pháp protein SDS-PAGE.

Hình 2: A. Sản phẩm khếch đại kiểu gen các dòng lúa Một Bụi Lùn bằng phương pháp PCR-SSR với primer RM3252-S1-1.

B. Hình chạy điện di protein tổng số của các dòng Một Bụi Lùn

Những cá thể bắt màu với thuốc nhuộm Coomassie Brilliant Blue 0,2% ở các băng Waxy 60 KDa nhạt và băng α - Glutelin 37-39 KDa đậm sẽ được chọn (giếng số 2, 3, 5, 7, 14), tương ứng với các dòng 24, 66, 173, 59, 12.

Kỹ thuật điện di protein cho phép thanh lọc được các dòng bị thoái hóa giống, đồng thời kỹ thuật này cũng xác định được những dòng ưu tú có chất lượng gạo đáp ứng yêu cầu. Dựa vào băng Waxy quy định hàm lượng amylose có kích thước protein kích thước khoảng 60 kDa, và dựa vào độ bắt màu đậm nhạt ở các băng, chúng ta có thể sàng lọc được những cá thể có hàm lượng amylose thấp như giếng (1, 2, 8, 14), tương ứng với các dòng 1, 95, 2, 135.

Tuy nhiên, đây chỉ là bước mang tính chất định tính nên các cá thể trên tiếp tục được trồng sang vụ sau để khảo sát các đặc tính nông học, năng suất, thành phần năng suất và định lượng hàm lượng amylose, độ bền gel và độ trở hồ. Tuy nhiên khi phân tích protein sản phẩm bằng hình không rõ nên các mẫu giống này cũng được đánh giá bằng phương pháp SSR phân tử. Với 4 chỉ thị phân tử RM223, RM13, RM106 và RM3586 đã chọn được các dòng có nhiều đặc tính ưu việt để trồng tiếp vụ sau.

5. Các dòng triển vọng của giống lúa Một Bụi Lùn được tuyển chọn thông qua đánh giá kiểu hình kết hợp kiểm tra kiểu gen

Tương tự, 225 dòng Một Bụi Lùn phục tráng trong vụ thứ hai, qua đánh giá kiểu hình chọn được 100 dòng ưu tú về kiểu hình. Tuy nhiên, khi kết hợp khảo sát trên kiểu gen với các primer RM13, RM223, RM106, RM3252-S1-1 chỉ tuyển chọn

được 14 dòng triển vọng. Giống lúa Một Bụi Lùn cũng được phân tích các tính trạng nông học, kết quả cũng cho thấy: Quần thể đều cho giá trị độ thuần về di truyền cao trên giống Một Bụi Lùn. Riêng các tính trạng năng suất, hạt chắc trên bông của các cá thể đều có ý nghĩa thống kê, do đó điều kiện canh tác và điều kiện chăm sóc, phân bón để cho sự phát triển đầy đủ của xa giống là điều rất quan trọng.

Phân tích chiều dài bông của các mẫu thu được tại huyện Trần Văn Thời được ghi nhận dao động trong khoảng 22,05 - 23,61 cm.

Các dòng nở bụi khá tốt, số hạt/ bụi đạt trung bình, tỷ lệ lép thấp.

Xét về năng suất của các giống được ghi nhận biến động từ 4,52 tấn đến 5,62 tấn/ha, các dòng Một Bụi Lùn có năng suất tương đương nhau và cao hơn đối chứng, đạt năng suất cao nhất là dòng số 12 (5,62 tấn/ha), các dòng còn lại đều có năng suất trên 5,0 tấn/ha, trong khi đó năng suất đối chứng chỉ đạt 4,52 tấn/ha.

Phân tích tiếp tục chất lượng xay xát và phẩm chất cơm của các dòng Một Bụi Lùn ghi nhận như sau:

Chất lượng xay xát: Tỷ lệ gạo nguyên cao nhất được ghi nhận là các dòng: 12, 24, 37, 59, 130, 140, 173. Các dòng này có tỷ lệ gạo nguyên cao hơn 50%.

Hàm lượng amylose: Biến động rất khác nhau, dao động trong khoảng 22,6-26,8%, trong đó dòng số 12 có hàm lượng amylose thấp nhất (22,6%).

Độ trở hồ của các dòng đều ở cấp 3.

Độ bền gel: Biến động từ 55,4-70,1 mm, qua đánh giá ghi nhận các dòng biểu hiện thể gel dài bao gồm dòng 12

(70,1mm), dòng 66 (69,8mm), dòng 59 (68,5mm),...

Hàm lượng protein: Biến động rất khác nhau, cao nhất là các dòng 24, 66, 37, 130, 140, 173, 24, có hàm lượng protein cao hơn 8%.

Các đặc tính cơ bản của giống lúa Một Bụi Lùn sau phục tráng trong vụ thứ ba (G2)

Bảng 1. Đặc tính chính của giống Một Bụi Lùn (Lang và ctv 2013)

STT	Đặc tính	
1	Ngày gieo	5/7/2010
2	Ngày cấy	6/8/2010
3	Ngày thu hoạch	12/12/2010
4	Thời gian sinh trưởng	130
5	Gieo đến trở 50%	90
6	Nhóm giống	Indica
7	Cao mạ (cm)	40
8	Dài lá (cm)	35
9	Rộng lá (cm)	0,9
10	Độ phủ lông	Trơn
11	Màu phiến lá	Xanh
12	Màu gốc bẹ lá	Xanh
13	Góc lá	Đứng
14	Góc lá đồng	Đứng
15	Dài thìa lia (cm)	1,5
16	Màu thìa lia	Trắng
17	Dạng thìa lia	Nhọn đến hơi nhọn
18	Màu cổ lá	Xanh
19	Màu tai lá	Xanh nhạt
20	Độ tàn lá	TB
21	Cao cây (cm)	120
22	Độ dài thân (cm)	100
23	Số dảnh	12
24	Góc thân	Xòe >60%
25	Đường kính ống rạ (cm)	0,5
26	Màu sắc ống rạ	Vàng nhạt
27	Độ cứng cây	Cứng
28	Dài bông (cm)	24,1
29	Dạng bông	Chụm
30	Phân nhánh TC	Nhẹ
31	Độ thoát cổ bông	Tốt
32	Trục bông	Uốn xuống

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

Phối hợp kiểu hình và kiểu gen (chỉ thị phân tử) dùng SSR để phân tích kiểu gen trên các dòng lúa của giống lúa Một Bụi Lùn cho thấy sự đa dạng di truyền rất cao. Tuy cùng một giống nhưng sản phẩm PCR cho ra nhiều alen trên cùng một dòng.

Kết hợp đánh giá kiểu hình, kiểu gen, qua phân tích 4 primer đa hình RM13, RM223, RM106, RM3252-S1-1 cho đa hình và chọn dòng thuần đã chọn ra dòng Một Bụi Lùn (12). Dòng này có dạng hình tốt, nổi trội và kèm theo các tính trạng tốt. Riêng dùng phương pháp protein SSD-PAGE có thể hiện băng hình nhưng phân biệt các dòng thuần chưa rõ.

Giống Một Bụi Lùn sau khi phục tráng đã được chuyển giao cho tỉnh Cà Mau.

2. Đề nghị

- Có biện pháp bảo tồn quỹ gen lúa Một Bụi Lùn.
- Đăng ký xuất xứ địa lý dựa vào các tiêu chí đặc điểm của giống gốc lúa Một Bụi Lùn cho vùng Cà Mau.
- Triển khai rộng rãi và ứng dụng giống này cho vùng nuôi tôm ven biển tại ĐBSCL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. IRRI (1996). *Standar evaluated for germplasm in rice*. Note book, Phillipine.
2. Nguyễn Thị Lang (2002), *Những phương pháp cơ bản trong công nghệ sinh học*. NXB Nông nghiệp, TP.HCM.
3. Nguyễn Thị Lang, Trần Ánh nguyệt, Nguyễn Hoàng Thái Bình, Bùi Thị Dương Khuyề, Võ Thị Trà My, Trịnh Thị Lũy, Phạm Thị Thu Hà, Nguyễn Văn Mịch, Bùi Phước Tâm (2013), *Ứng dụng công nghệ sinh học thanh lọc và phục tráng hai giống lúa Một Bụi Lùn và Tài Nguyên Đục tại Cà Mau báo cáo tổng kết đề tài 157 trang*. Sở Khoa học và Công nghệ Cà Mau.

Ngày nhận bài: 28/3/2014

ngày 8/4/2014

Người phản biện: GS. TSKH. Trần Duy Quý, Ngày duyệt đăng: 18/6/2014