ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO TỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT NÔNG NGHIỆP Ở VIỆT NAM

Lã Tuấn Nghĩa, Hoàng Thị Huệ

SUMMARY

Application of Biotechnology in Conservation of Agricultural Plant Genetic Resources in Vietnam

In Vietnam, agricultural plant genetic resources (APGR) are conserved in the national conservation network of for which Plant Resources Center is coordinator of the network. The main activities of APGR conservation are: surveying, collection, maintaining characterization, evaluation, documentation and utilization of genetic resources. There are 28,000 germplasms which are maintained in *ex situ* conservation; among them approximately 80%, 10% and 5% of the accessions have been characterized and evaluated at the phenotype and genotype levels, respectively. Annually; about 1,000 genetic accessions have been provided for utilization. At present, 400 genetic accessions have been maintained in the *invitro* genebank in Plant Resources Center. The protocols for slow growth culture have been developed for *invitro* conservation. Analysis genetic diversity of luffa, rice, rice bean... was conducted. Gene mapping has been carried out on rice in order to identify the genes resistance to biotic and abiotic factors. In the future, application of biotechnology in APGR conservation will focus on: using of *invitro* conservation for lager number of APGR; developing standard procedures for slow growth culture in *invitro* conservation of APGR; using of cryopreservation for some crops; using of molecular techniques to analyze: genetic diversity, genomic function, gene mapping and gene cloning of APGR; particularly for local varieties.

Keywords: Agricultural plant genetic resources, conservation, application of biotechnology in the conservation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tài nguyên di truyền thực vật (TNDTTV) nông nghiệp đóng vai trò rất quan trọng đối với đời sống con người trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Tài nguyên sinh học nói chung và thực vật nói riêng là nguồn cung cấp thực phẩm, vật liệu cho con người và sản xuất nông nghiệp, công nghiệp đồng thời cũng là nhân tố quan trọng trong hệ sinh thái (Lã Tuấn Nghĩa và cs. 2011).

Việt Nam nằm trong số 16 quốc gia trên thế giới có mức độ đa dạng thực vật cao. Theo thống kê về đa dạng sinh học, Việt Nam có khoảng 13.000 loài thực vật, trong đó 10% là các loài bản địa có giá trị cao. Tuy nhiên, sự đa dạng sinh học ở Việt Nam đang bị tác động mạnh bởi các yếu sinh học và phi sinh học. Do nhu cầu, con người hiện đang khai thác quá mức tài nguyên thực vật, đất nông nghiệp phục vụ cho phát triển công nghiệp và xây dựng dẫn tới mức độ xói mòn nguồn gen thực vật rất cao. Theo thống kê trong 50 năm qua cho thấy đã có khoảng 2.070 loài được tạo ra nhưng chỉ có 150 loài được sử dụng trong sản xuất; khoảng 7.640 giống ngô đã bị mất; tình trạng xói mòn nguồn gen này cũng xảy ra tương tự đối với các loại cây trồng khác. Chính vì vậy, bảo tồn và sử dụng tài nguyên thực vật nông nghiệp hơn bao giờ hết rất cần được sự quan tâm trên

mức độ toàn cầu cũng như ở Việt Nam. Hiện đã có nhiều phương pháp tiếp cận được sử dụng trong việc bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật ở Việt Nam, trong đó việc ứng dụng công nghệ sinh học được xem là một trong những quan tâm hàng đầu.

Ứng dụng công nghệ sinh học tiên tiến như sử dụng công nghệ nuôi cấy mô tế bào, sinh học phân tử đang được xem là một trong những công cụ chính của bảo tồn tài nguyên thực vật. Thông qua việc ứng dụng công nghệ sinh học, các loài cây trồng sinh sản vô tính, cây trồng có hạt dạng "khó tính" (recalcitrant) được lưu giữ hiệu quả hơn trong điều kiện *invitro*. Ngoài ra, công nghệ sinh học đã giúp đỡ đắc lực trong việc sàng lọc nguồn gen, nghiên cứu đa dạng di truyền và giải quyết các vấn đề liên quan đến phân loại thực vật. Mặt khác, công nghệ sinh học còn mở rộng phạm vi nghiên cứu chức năng gen và sử dụng tài nguyên di truyền thực vật.

Nhận thức vai trò quan trọng của TNDTTV và công nghệ sinh học trong bảo tồn và quản lý TNDTTV nêu trên, trong bài viết này đề cập đến tầm quan trọng của ứng dụng công nghệ sinh học trong bảo tồn TNDTTV nông nghiệp ở Việt Nam.

II. BẢO TỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT NÔNG NGHIỆP Ở VIỆT NAM

Ở Việt Nam, TNDTTV nông nghiệp được tổ chức lưu giữ trong hệ thống màng lưới quốc gia bao gồm hơn 25 đơn vị thành viên tham gia trên cả nước và Trung tâm Tài nguyên Thực vật là cơ quan đầu mối của hệ thống có chức năng điều phối các hoạt động bảo tồn tài nguyên thực vật nông nghiệp quốc gia. Các hoạt động chính trong bảo tồn TNDTV nông nghiệp bao gồm: Điều tra, thu thập, bảo tồn, mô tả, đánh giá; tư liệu hóa và khai thác sử dụng nguồn gen (Lã Tuấn Nghĩa và cs. 2011).

1. Điều tra và thu thập tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Điều tra và thu thập TNDTTV nông nghiệp được tiến hành thường xuyên hàng năm. Mục đích của công tác điều tra để xác định độ đa dạng, phân bố của tài nguyên đồng thời xác định nguồn tài nguyên thực vật có nguy cơ bị xói mòn. Dựa vào kết quả điều tra để lập kế hoạch thu thập theo các ưu tiên như: Nguy cơ xói mòn nguồn gen cao, nguồn gen có giá trị hoặc nguồn gen bản địa. Hàng năm có khoảng 500 - 1.000 nguồn gen thực vật nông nghiệp được thu thập và được lưu giữ tại ngân hàng gen hạt, ngân hàng gen đồng ruộng hoặc ngân hàng gen *invitro*.

2. Bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Hiện tại có trên 28.000 mẫu nguồn gen cây trồng được bảo quản *ex situ*, trong đó trên 20.000 mẫu nguồn gen được lưu giữ trong Ngân hàng Gen tại Trung tâm Tài nguyên Thực vật và trên 8.000 mẫu nguồn gen được lưu giữ trong ở các đơn vị tham gia trong hệ thống các cơ quan mạng lưới.

Trên 18.000 nguồn gen của trên 90 loại hạt orthodox được lưu giữ trong kho lạnh ở các điều kiện khác nhau như ngắn hạn, trung hạn và dài hạn.

Trên 10.000 nguồn gen của hơn 30 loại cây trồng sinh sản vô tính, cây ăn quả, cây công nghiệp v.v... được lưu giữ ở ngân hàng gen đồng ruộng.

Khoảng trên 400 nguồn gen cây trồng sinh sản vô tính được lưu giữ ngắn hạn trong ngân hàng gen *invitro*.

Hình 1: TNDTTV nông nghiệp được bảo tồn trong ngân hàng gen.

A. Ngân hàng Gen hạt (kho lạnh), B. Ngân hàng Gen đồng ruộng, C. Ngân hàng Gen *invitro*

3. Mô tả, đánh giá tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Hiện nay có khoảng trên 80% lượng nguồn gen đang bảo tồn được mô tả sơ bộ, khoảng trên 10% được đánh giá chỉ tiêu nông sinh học và khoảng 5% nguồn gen được đánh giá chi tiết về mặt phân tử. Hiện có 65 biểu mẫu mô tả đánh giá song ngữ được xây dựng cho nhiều loại cây trồng khác nhau.

Hình 2. Mô tả đánh giá tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

A: Mô tả trên đồng ruộng, B: Đánh giá chất lượng nguồn gen, C: Đánh giá đa dạng di truyền

4. Tư liệu hóa và thông tin tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Phần mềm ứng dụng song ngữ Việt Anh được xây dựng để quản lý nguồn gen; hiện tại có khoảng 28.000 mẫu nguồn gen của 370 loài cây trồng đã được tư liệu hóa về lai lịch nguồn gen, mô tả đánh giá nguồn gen. Bên cạnh đó, website về TNDTTV nông nghiệp ở Việt Nam đã được xây dựng http://www.pgrvietnam.org.vn. với mục đích quản lý và thông tin về nguồn gen.

Trung tâm Tài nguyên Thực vật đã xây dựng bản đồ phân bố của TNDTTV nông nghiệp ở các vùng sinh thái khác nhau dựa vào ứng dụng công nghệ GIS. Trong những năm qua, Trung tâm Tài nguyên Thực vật đã xây dựng được nhiều chương trình truyền hình về bảo tồn TNDTTV nông nghiệp. Ngoài ra, rất nhiều ấn phẩm khoa học như tài liệu, tờ rơi, sách v.v... được xuất bản nhằm xúc tiến khai thác sử dụng TNDTTV nông nghiệp.

5. Khai thác sử dụng tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Hàng năm, khoảng 1.000 lượt mẫu nguồn gen và thông tin được cung cấp cho mục đích nghiên cứu, chọn giống và sản xuất. Một số nguồn gen được khai thác sử dụng như khoai môn KM - 1, khoai lang (KLR1, KLR3, KLR5), hoa đuôi chồn đỏ, khoai sọ KS4, vừng VDD11, lạc trắng, đậu tương sông Mã, đậu Sơn La, cải bắp Lạng Sơn...

II. ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO TỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT NÔNG NGHIỆP

1. Ứng dụng công nghệ tế bào trong bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Công nghệ nuôi cấy mô tế bào được sử dụng để bảo tồn nhiều loại cây trồng sinh sản vô tính khác nhau như: Khoai môn sọ, sắn, hoa, chuối, cỏ ngọt... (Ashmore S.,1997; Banerjee N., De Langhe E., 1985; Bunn và cs., 2007; Keller và cs., 2006; Razdan và cs., 2008; Roca và cs., 1984). Hiện nay tại ngân hàng gen *invitro* ở Trung tâm Tài nguyên Thực vật đang lưu giữ trên 400 mẫu nguồn gen, trong đó khoai môn sọ là tập đoàn chính với khoảng 300 mẫu giống.

Ngoài việc bảo tồn *invitro*, các nghiên cứu về bảo tồn cũng được tiến hành như xây dựng quy trình lưu giữ sinh trưởng chậm trong ngân hàng gen *invitro.*

Hình 3. Bảo tồn invitro nguồn gen hoa

2. Ứng dụng công nghệ gen trong bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật nông nghiệp

Ứng dụng công nghệ gen, một trong những công nghệ quan trọng trong bảo tồn TNDTTV nông nghiệp với mục tiêu nhằm đánh giá đa dạng di truyền; lập bản đồ gen và phân lập gen (Cai H., Morishima H., 2002; Garris và cs., 2005).

- Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen

Thông qua việc sử dụng các chỉ thị phân tử như RFLP, SSR, AFLP v.v... (Guarino và cs., 2009; Jalaluddin và cs., 2007; Mohammadi và cs., 2003) để phân tích đa dạng di truyền của các loại cây trồng khác nhau trong ngân hàng gen như nhóm cây ngũ cốc, rau, đậu, cây ăn quả, cây công nghiệp... Dưới đây là một số kết quả nghiên cứu điển hình đã thực hiện tại Trung tâm Tài nguyên Thực vật:

Kết quả ban đầu về đa dạng di truyền của các giống mướp (*Luffa* sp.) ở Việt Nam

sử dụng 16 mồi ngẫu nhiên để xác định đa dạng của 25 giống mướp nghiên cứu; kết quả cho thấy 25 giống mướp được phân loại thành 2 nhóm chính là: *Luffa acutangula* và L.*cylindrica.*

Chỉ thị phân tử SSR cũng được ứng dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền của 45 giống lúa nếp địa phương Việt Nam. Kết quả nghiên cứu các giống lúa có sự đa dạng di truyền cao, nghiên cứu còn cho thấy 43 giống lúa có kiểu gen thuộc nhóm lúa *Japonica* và chỉ có 2 thuộc nhóm *Indica*.

Đa dạng di truyền của 45 nguồn gen đậu nho nhe (*Vigna umbellata*) nguồn gốc ở 12 tỉnh khác nhau của Việt Nam đã được phân tích sử dụng 40 mồi RAPD. Kết quả nghiên cứu cho thấy các giống đậu nho nhe địa phương khá đa dạng với chỉ số tương đồng từ 0,60 đến 0,90. Tại mức chỉ số tương đồng 0.60; 45 giống đậu nho nhe nghiên cứu chia thành 3 nhóm chính.

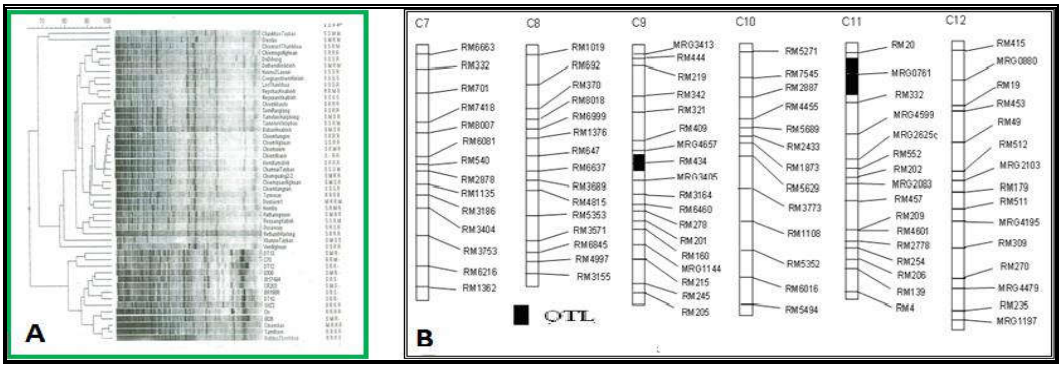
- Lập bản đồ gen

Những gen thực vật có giá trị cần được đánh giá và lập bản đồ để phục vụ mục đích sử dụng dễ dàng hơn. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sử dụng mồi STS để phát hiện các gen kháng bệnh bạc lá gồm: *Xa - 4, xa - 5, Xa - 7, Xa - 21* đã phát hiện 4 mẫu nguồn gen lúa mang gen kháng bạc lá trên tổng số 22 mẫu nguồn gen lúa nếp được nghiên cứu (McCouch và cs., 2002).

Một nghiên cứu khác chỉ ra rằng 4 QTL được phát hiện liên quan với tính kháng bạc lá ở lúa. Những QTL này nằm trên các nhiễm sắc thể số: 3, 9 và 11 có tên là: qBLASTl - 3a - TXC; qBLASTl - 3b - TXC; qBLASTl - 9 - TXC; qBLASTl - 11 - TXC. QTL qBLASTl - 11 - TXC có chỉ số LOD lớn nhất liên quan đến thay đổi kiểu hình.

Nghiên cứu về lập bản đồ gen lúa chịu hạn được tiến hành sử dụng quần thể F2 có nguồn gốc từ tổ hợp lai giữa giống lúa LC93 - 1 và Khang dân 18. 12 QTL đã được phát hiện, trong số đó 5 QTL liên kết với LDS được phát hiện trên các nhiễm sắc thể số: 1, 3, 8, 9, 10.

Qua phân tích tính chịu mặn của các giống lúa địa phương ở Việt Nam cho thấy giống Chành chụi mang alen chịu mặn tương tự với gen Saltol I đã được phát hiện trên giống lúa Pokkali.

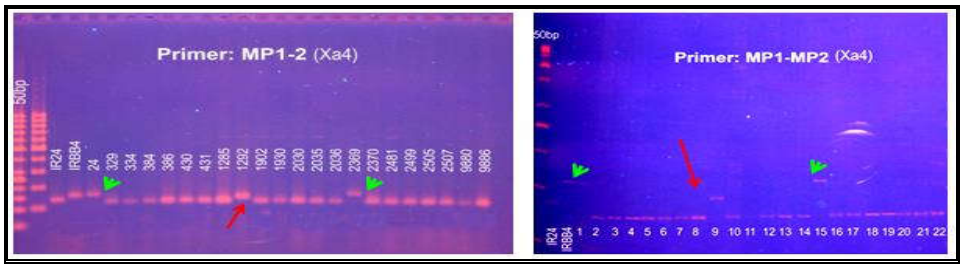


Hình 4: Phân tích đa dạng di truyền và lập bản đồ gen.

A: Phân tích đa dạng di truyền, B: Lập bản đồ gen

- Phân lập gen

Nghiên cứu tại Trung tâm Tài nguyên Thực vật chỉ ra rằng một số gen có giá trị cần được phân lập như gen kháng bệnh bạc lá, các gen này đang tiếp tục được nghiên cứu phân lập để sử dụng trong công tác khai thác và chọn tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá.



Hình 5. Phân lập gen lúa

III. HƯỚNG NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO TỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT NÔNG NGHIỆP

Công nghệ sinh học vẫn sẽ là công cụ tiềm năng và hiệu quả trong bảo tồn TNDTTV nông nghiệp. Trong tương lai, việc nghiên cứu và dụng công nghệ sinh học trong bảo tồn quỹ gen sẽ tập trung vào:

Mở rộng ứng dụng công nghệ bảo tồn *invitro* cho nhiều loài cây trồng khác nhau;

Xây dựng quy trình chuẩn cho bảo tồn *invitro* từng loài cây trồng trong điều kiện sinh trưởng chậm đảm bảo ổn định về mặt di truyền;

Bảo quản siêu lạnh (cryopreservation) cho một số loài cây trồng sinh sản vô tính;

Ứng dụng sinh học phân tử trong phân tích đa dạng di truyền của nhiều loài cây trồng nông nghiệp khác;

Nghiên cứu chức năng gen, lập bản đồ gen đặc biệt ưu tiên cây trồng địa phương và bản địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashmore S. (1997), *Status report on the development and application of invitro techniques for the conservation and use of plant genetic resources*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
2. Banerjee N.; De Langhe E. (1985*), A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of Musa (banana and plantain)*. Plant Cell Rep 4: 351 - 354.
3. Bunn E.; Turner S. R.; Panaia M.; Dixon K. W. (2007), *The contribution of invitro technology and cryogenic storage to conservation of indigenous plants*. Aust J Bot 55: 345 - 355.
4. Cai H. and Morishima H. (2002), *"QTL clusters reflect character associations in wild and cultivated rice"*, Theor Appl Genet. 104(8) 1270 - 1277.
5. Guarino L.; Rao R.; Reid R. (2009), *Collecting plant genetic diversity, technical guidelines*. CAB International, Wallingford; 1995. Hamilton K. N.; Ashmore S. E.; Pritchard H. W. Thermal analysis and cryopreservation

of seeds of Australian wild Citrus species (Rutaceae): Citrus australasica, C. inodora and C. garrawayi. CryoLetters 30: 268 - 279.

Ngày nhận bài: 22/7/2013
Người phản biện: GS. TSKH. Trần Duy Quý, ngày 26/7/2013
Ngày duyệt đăng: 10/8/2013

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AMYLOZA VÀ PHÂN LOẠI CÁC GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG THU THẬP TỪ CÁC TỈNH MIỀN TRUNG VIỆT NAM

Trần Danh Sửu, Trần Thị Thu Hoài, Đinh Bạch Yến, Hà Minh Loan, Nguyễn Thị Lan Hoa

SUMMARY

Determination of amylose content and classification of local rice cultivars collected from central provinces of Vietnam

Ninety eight local rice cultivars collected from mountainous districts of some provinces in Central Vietnam were used for determination of amylose content and subspecies classification. Sixty four out of 98 studied rice cultivars had low amylose content (below 6%) and they were glutinous rice. The rest 34 rice cultivars were non - glutinous rice, among them 3 cultivars had very low amylose content, 16 cultivars with low, 6 cultivars with medium and 9 cultivars with high amylose content, respectively. Glutinous rice or non - glutinous rice with low amylose content were mainly cultivated and used by the ethnic minority groups from mountainous areas. Almost (81 rice cultivars, occupied 82.7%) of studied rice cultivars belonged to *Japonica* subspecies while other (17 cultivars, 17.3%) were *Indica* subspecies.

Keywords: Amylose content, classification, local rice cultivars, minority groups, subspecies

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng trên thế giới, được trồng phổ biến ở 112 nước. Lúa là nguồn cung cấp lương thực cho hơn 50% dân số thế giới và là lương thực chính cho phần lớn các quốc gia ở châu Á, một số nước ở châu Phi và Mỹ La Tinh (Chang, 2000).

Ở Việt Nam, cây lúa là cây trồng bản địa có khả năng thích nghi rộng với các điều kiện sinh thái khác nhau. Lúa vừa cung cấp nguồn lương thực chính, vừa là nông sản xuất khẩu có kim ngạch lớn (Trần Văn Đạt, 2008). Năng suất và sản lượng lúa của nước ta không ngừng tăng lên, năm 1990 năng suất lúa đạt 31,8 tạ/ha; năm 2000 là 42,4 tạ/ha và năm 2010 là 53 tạ/ha. Sản lượng lúa năm 1990 đạt 19,2 triệu tấn; năm 2000 là 32,5 triệu tấn và năm 2010 là 39,9 triệu tấn (Bui Ba Bong, 2010).

Mặc dù đã đạt được nhiều thành tựu quan trọng về tăng năng suất lúa nhưng hiện nay việc sản xuất và tiêu thụ đang phải đương đầu với nhiều khó khăn và thách thức do cạnh tranh thị trường, nhu cầu về chất lượng gạo ngày càng tăng. Chất lượng lúa gạo được xác định thông qua các thành phần như chất lượng xay xát (milling quality), chất lượng ăn và chất lượng nấu nướng (eating and cooking quality), chất lượng dinh dưỡng (nutrition quality). Mặt khác, chất lượng ăn và chất lượng nấu nướng được quyết định bởi hàm lượng amyloza, nhiệt độ hóa hồ và độ bền thể gel. Trong đó, amyloza được xem như tiền tố quan trọng nhất của chất lượng gạo (Larkin et al 2003).