

## KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ VÀ CHỌN LỌC THỂ HỆ G<sub>1</sub> CỦA CÁC GIỐNG LÚA NƯƠNG ĐỊA PHƯƠNG

Trần Danh Sửu, Hà Minh Loan,  
Trần Thị Thu Hoài, Nguyễn Thị Lan Hoa,  
Đình Bạch Yến, Lưu Quang Huy,  
Ngô Kim Hoài, Nguyễn Trọng Khanh

### SUMMARY

#### Evaluation and selection of generation G<sub>1</sub> of local upland rice cultivars

Two hundreds forty nine purelines G<sub>1</sub> of four local upland rice varieties (including 93 lines of Khau tan nuong, 53 lines of Khau mang, 50 lines of Khau nam pua, 53 lines of Khau Ky) were chosen for evaluation and selection. The main morphological traits, including days to heading, days to ripening, culm length, panicle length, number of panicles per plant, weight of 1000 seeds and yield were used to evaluate. 41 out of 249 purelines G<sub>1</sub> with high uniformity were selected by evaluating of morphological traits. On the other hand, these 41 selected purelines were used to investigate the genetic homogeneity by 20 SSR markers. Total 49 alleles were observed among 41 rice purelines. All 10 purelines of Khau tan nuong cultivars as well as 10 purelines of Khau mang had the same alleles at all 20 SSR loci. Two purelines had the alleles different from other 8 lines of Khau nam pua cultivar at the loci RM44 and RM447. One out of 11 purelines of Khau Ky cultivar had the heterozygous allele at locus RM154. 38 rice purelines G<sub>1</sub> (including 10 lines of Khau tan nuong, 10 lines of Khau mang, 8 lines of Khau nam pua and 10 lines of Khau Ky cultivars) were chosen for the future study.

**Keywords:** Evaluation, generation G<sub>1</sub>, local upland rice cultivars, homogeneity, SSR markers

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gạo lúa nương có chất lượng cao thường được ưa chuộng và có giá gấp 1,5 đến 3 lần giá bình quân gạo thường. Các giống lúa nương chất lượng cao đã được nhân dân gieo trồng từ lâu, nhưng nay đã bị thoái hóa nên diện tích gieo trồng ngày càng bị thu hẹp. Lâu nay công tác phục tráng giống thông qua các tính trạng hình thái nông học đã đạt được nhiều thành công, tuy nhiên nhiều giống sau đó tiếp tục thoái hóa nhanh do chọn lọc chưa triệt để. Việc sử dụng chỉ thị ADN vào chọn dòng thuần có nhiều ưu điểm nổi bật như chọn được sự đồng đều cao về kiểu gen và loại bỏ được các dòng tạp giao tự nhiên, nâng cao độ thuần của giống.

Các chỉ thị ADN đã được áp dụng rộng rãi để nhận dạng và phân biệt giống ở hơn 30 loại cây trồng khác nhau như cam, chanh

(*Citrus* spp.), chuối (*Musa* spp.), lúa mì (*Triticum* spp.), dâu tây... (Bhat, 2006), ứng dụng trong chọn tạo giống, xác định kiểu gen và bảo vệ giống cây trồng (Yang et al., 1994). Trong số các chỉ thị ADN thì chỉ thị SSR được áp dụng rộng rãi nhất do sự chính xác, tính ổn định cao và dễ sử dụng. Chỉ thị SSR được áp dụng cho các nghiên cứu của nhiều loài cây trồng (Temnykh et al., 2000). Tác giả Trần Danh Sửu và ctv (2010) đã sử dụng phương pháp SSR để nghiên cứu đa dạng di truyền và lập tiêu bản ADN của 45 nguồn gen lúa nếp thuộc các tỉnh đồng bằng miền Bắc Việt Nam. Hiện nay, hơn 15.000 chỉ thị SSR đã được thiết lập ([www.gramene.org](http://www.gramene.org)), phủ kín trên bản đồ liên kết di truyền của lúa (Giarrocco et al., 2007). Bài viết này là kết quả của sự kết hợp phương pháp truyền thống và phân tử để đánh giá và chọn lọc thể hệ G<sub>1</sub> của 4 giống lúa nương địa phương.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Vật liệu nghiên cứu

- Gồm 93 dòng  $G_1$  của giống Khẩu tan nương, 53 dòng  $G_1$  Khẩu mang, 50 dòng  $G_1$  của giống Khẩu nậm pua và 53 dòng  $G_1$  của giống Khẩu Ký.

- 20 chỉ thị SSR phù hợp cho nhân bản ADN của cây lúa.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Phương pháp đánh giá và chọn lọc thể hệ $G_1$ bằng các tính trạng hình thái

Phương pháp đánh giá và chọn lọc thể hệ  $G_1$  được tiến hành theo Quy trình phục tráng giống của Bộ Nông nghiệp và PTNT (Tiêu chuẩn ngành 10TCN 395 - 2006).

Hạt giống của các dòng  $G_0$  chọn ở vụ mùa năm 2011 được gieo và cấy mỗi dòng thành một ô với diện tích  $5 \text{ m}^2/\text{ô}$  ở vụ mùa năm 2012. Trong quá trình chăm sóc, theo dõi tiến hành loại bỏ dòng có cây khác dạng, dòng sinh trưởng, phát triển kém do nhiễm sâu bệnh. Mỗi dòng thu 10 cây mẫu để đánh giá các tính trạng trong phòng và thu hoạch toàn bộ để đánh giá năng suất.

Tính giá trị trung bình ( $\bar{X}$ ), độ lệch chuẩn so với giá trị trung bình (s) theo các công thức:

$$\text{- Giá trị trung bình: } \bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$\text{- Độ lệch chuẩn so với giá trị trung bình: } s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n}} \quad (n \geq 25)$$

Trong đó: s là độ lệch chuẩn so với giá trị trung bình;  $x_i$  là giá trị đo đếm được của cá thể (hoặc dòng) thứ i (i từ 1... n); n là tổng số cá thể hoặc dòng được đánh giá;

$\bar{X}$  là giá trị trung bình. Chọn các cá thể (các dòng) có giá trị nằm trong khoảng  $\bar{X} \pm s$ .

#### 2.2. Phương pháp đánh giá độ thuần của các dòng $G_1$ bằng chỉ thị SSR

ADN được tách chiết từ lá non của các dòng lúa và tinh sạch theo phương pháp CTAB của Doyle, JJ. và ctv (1987). Phản ứng PCR được tiến hành như sau: Biến tính ở  $95^\circ\text{C}$  trong 5 phút và 35 chu trình:  $94^\circ\text{C}$  trong 30 giây,  $55^\circ\text{C}$  trong 40 giây,  $72^\circ\text{C}$  trong 1 phút; kéo dài tổng hợp ở  $72^\circ\text{C}$  trong 7 phút, bảo quản tại  $4^\circ\text{C}$ .

Hệ số đa dạng gen hay giá trị lượng thông tin đa hình (PIC = Polymorphism Information Content) được tính theo công thức của Nei (1972):

$$\text{PIC} = 1 - \sum h_k^2 \quad (h_k: \text{tần số xuất hiện của alen thứ } k).$$

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Kết quả đánh giá và chọn lọc thể hệ $G_1$ bằng các tính trạng hình thái

#### 1.1. Kết quả đánh giá và chọn lọc thể hệ $G_1$ của giống lúa Khẩu tan nương

93 dòng  $G_1$  của giống lúa Khẩu tan nương được gieo trồng tại xã Tân Lập, Mộc Châu, Sơn La. Trong quá trình theo dõi, các dòng khác dạng, bị sâu bệnh hoặc phát triển kém được đánh dấu để loại bỏ. Kết quả đánh giá và tham số thống kê một số tính trạng chính của 93 dòng  $G_1$  của giống lúa Khẩu tan nương được trình bày ở Bảng 1. Kết quả cho thấy các dòng  $G_1$  giống lúa Khẩu tan nương có thời gian sinh trưởng là 136 ngày, năng suất trung bình đạt  $0,56 \text{ kg/m}^2$  ( $56 \text{ tạ/ha}$ ). Trên cơ sở các số liệu theo dõi và đánh giá một số tính trạng chính của 93 dòng  $G_1$  đã chọn được 10 dòng của giống lúa Khẩu tan nương để phục vụ cho đánh giá thể hệ tiếp theo.

Bảng 1. Tham số thống kê một số tính trạng chính của 93 dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu tan nương vụ Mùa năm 2012

Tính trạng	Tham số					
	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Phạm vi chọn	
Thời gian trổ (ngày)	105	105	105	0		
Thời gian chín (ngày)	136	136	136	0		
Chiều cao thân (cm)	99,8	107,3	102,67	1,31	101,35	103,98
Chiều dài trục chính bông (cm)	23,8	28,5	26,11	1,02	25,09	27,12
Số bông /cây	4,0	6,4	5,19	0,54	4,65	5,73
Số hạt chắc/cây	524,6	915,2	707	82,8	624,2	789,8
Khối lượng 1000 hạt (g)	25,1	26,2	25,55	0,27	25,27	25,82
Năng suất (kg/m <sup>2</sup> )	0,41	0,69	0,56	0,06	0,49	0,62

**1.2. Kết quả đánh giá và chọn lọc thế hệ G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu mang**

Các dòng G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu mang được gieo trồng và đánh giá tại thị xã Đồng Văn, Hà Giang. Bảng 2 là tham số thống kê các tính trạng chính của 53 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu mang. Phần lớn các dòng G<sub>1</sub> (49

dòng) có thời gian chín là 162 ngày và chỉ có 4 dòng có thời gian chín là 165 ngày. Năng suất trung bình của các dòng đạt 0,56 kg/m<sup>2</sup> (56 tạ/ha). Trên cơ sở thời gian chín (chọn các dòng có thời gian chín 162 ngày) và số liệu đánh giá một số tính trạng chính của 53 dòng G<sub>1</sub> đã chọn được 10 dòng để tiếp tục cho vụ sau.

Bảng 2. Tham số thống kê một số tính trạng chính của 53 dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu mang vụ Mùa năm 2012

Tính trạng	Tham số					
	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Phạm vi chọn	
Thời gian trổ (ngày)	131	131	131	0		
Thời gian chín (ngày)	162	165	162	0	162	162
Chiều cao thân (cm)	95	98	96,75	0,96	95,80	97,71
Chiều dài trục chính bông (cm)	23,5	24,5	23,94	0,42	23,52	24,36
Số bông /cây	3	5	4,51	0,56	3,95	5
Số hạt chắc/cây	408	695	617,86	72,29	545,56	690,15
Khối lượng 1000 hạt (g)	24,9	26	25,24	0,22	25,02	25,46
Năng suất (kg/m <sup>2</sup> )	0,37	0,63	0,56	0,07	0,50	0,63

**1.3. Kết quả đánh giá và chọn lọc thế hệ G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu nậm pua**

Tham số thống kê các tính trạng chính của 50 dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu nậm pua được trình bày ở Bảng 3. Các dòng G<sub>1</sub> của giống Khẩu nậm pua có thời gian sinh

trưởng là 133 ngày, chiều cao thân trung bình là 138,2cm và năng suất đạt 0,36 kg/m<sup>2</sup> (36 tạ/ha). Sau khi loại bỏ các dòng phát triển kém và dựa trên số liệu đánh giá một số tính trạng chính của 50 dòng G<sub>1</sub> đã chọn được 10 dòng để dùng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3. Tham số thống kê một số tính trạng chính của 50 dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu nậm pua vụ Mùa năm 2012

Tính trạng	Tham số	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Phạm vi chọn	
Thời gian trổ (ngày)		106	106	106			
Thời gian chín (ngày)		133	133	133			
Chiều cao thân (cm)		129,6	144,8	138,2	4,02	134,19	142,22
Chiều dài trục chính bông (cm)		21,4	25,0	23,78	0,90	22,88	24,68
Số bông /cây		7,2	11,6	9,03	1,11	7,92	10,14
Số hạt chắc/cây		346	1.216	731,3	211,7	519,7	943
Khối lượng 1000 hạt (g)		25,22	28,60	26,62	0,98	25,64	27,60
Năng suất (kg/m <sup>2</sup> )		0,25	0,52	0,36	0,06	0,29	0,42

**1.4. Kết quả đánh giá và chọn lọc thế hệ G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu Kỳ**

Bảng 4 là tham số thống kê một số tính trạng chính của 53 dòng G<sub>1</sub> lúa Khẩu Kỳ. Các dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu Kỳ có

thời gian chín là 140 ngày, chiều cao thân trung bình 116,6cm và năng suất trung bình đạt 0,34 kg/m<sup>2</sup>. Trong số 53 dòng G<sub>1</sub> nghiên cứu đã chọn được 11 dòng đáp ứng tiêu chuẩn để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 4. Tham số thống kê một số tính trạng chính của 53 dòng G<sub>1</sub> giống lúa Khẩu Kỳ vụ Mùa năm 2012

Tính trạng	Tham số	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Phạm vi chọn	
Thời gian trổ (ngày)		112	112	112	-		
Thời gian chín (ngày)		140	140	140	-		
Chiều cao thân (cm)		109	121,2	116,6	2,76	113,81	119,34
Chiều dài trục chính bông (cm)		24,2	27,3	25,8	0,95	24,88	26,78
Số bông /cây		4,8	9,2	7,3	1,20	6,10	8,50
Số hạt chắc/cây		259	768	453,3	103,49	349,76	556,74
Khối lượng 1000 hạt (g)		28,20	36,40	31,7	2,52	29,22	34,26
Năng suất (kg/m <sup>2</sup> )		0,24	0,48	0,34	0,06	0,28	0,40

**2. Kết quả đánh giá độ thuần của các dòng G<sub>1</sub> bằng chỉ thị SSR**

Từ kết quả đánh giá và chọn lọc thông qua các tính trạng hình thái đã chọn được 41 dòng G<sub>1</sub> của 4 giống lúa nương, trong đó giống lúa Khẩu Tan nương có 10 dòng, Khẩu mang (10 dòng), Khẩu nậm pua (10 dòng), Khẩu Kỳ (11 dòng). 41 dòng G<sub>1</sub> được sử dụng

để kiểm tra độ thuần bằng 20 chỉ thị SSR phù hợp cho cây lúa. Kết quả cho thấy tất cả 20 chỉ thị SSR đều có các băng ADN rõ nét và dễ dàng để phân tích. Các chỉ thị SSR cho từ 1 alen (RM 338) đến 5 alen (RM44, RM447), tổng số các alen phát hiện giữa 41 dòng lúa nghiên cứu là 49 (bảng 5). Hệ số đa dạng gen dao động từ 0 (RM338) đến 0,80 (RM 152).

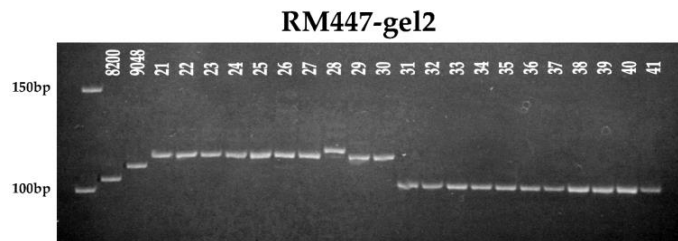
Bảng 5. Số alen và hệ số đa dạng gen của 20 chỉ thị SSR ở 41 dòng lúa nghiên cứu

STT	Tên chỉ thị	Nhiễm sắc thể	Số alen phát hiện ở 41 dòng lúa	Hệ số đa dạng gen (PIC)
1	RM495	1	3	0,47
2	RM283	1	2	0,52
3	RM237	1	3	0,64
4	RM154	2	3	0,22
5	OSR13	3	2	0,70
6	RM338	3	1	0,00
7	RM413	5	3	0,65
8	RM161	5	2	0,39
9	RM162	6	2	0,63
10	RM125	7	2	0,39
11	RM455	7	2	0,38
12	RM408	8	2	0,41
13	RM152	8	3	0,80
14	RM44	8	4	0,69
15	RM447	8	3	0,65
16	RM316	9	3	0,63
17	RM215	9	2	0,36
18	RM271	10	3	0,65
19	RM536	11	2	0,39
20	RM277	12	2	0,39
Tổng số			49	

Tất cả 10 dòng (số 1 - 10 trên các bản gel) của giống lúa Khẩu tan nướng và 10 dòng (số 11 - 20) của giống lúa Khẩu mang đều cho cùng loại alen như nhau ở tất cả 20 chỉ thị SSR nghiên cứu.

Tuy nhiên ở giống lúa Khẩu nậm pua, trong số 20 chỉ thị SSR thì 18 chỉ thị cho các alen giống nhau ở tất cả 10 dòng (21 -

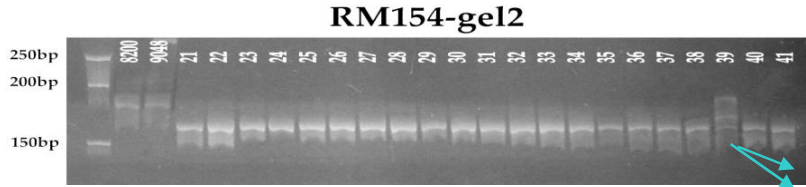
30), 2 chỉ thị SSR (RM44 và RM447) cho 2 loại alen khác nhau. Tại chỉ thị RM44, dòng số 24 (ký hiệu LS23) và dòng số 28 (ký hiệu LS126) có alen khác loại với 8 dòng còn lại. Còn ở chỉ thị RM447 (hình 1) thì dòng số 28 (ký hiệu LS126) có alen khác loại với 9 dòng còn lại.



Hình 1: Các alen của 2 giống đối chứng và các dòng  $G_1$  của 4 giống lúa nướng được phát hiện bằng chỉ thị RM477 (\*).

Số lượng dòng G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu Ký trong nghiên cứu là 11 dòng (31 - 41). Trong số 20 chỉ thị SSR thì 19 chỉ thị cho các alen giống nhau ở tất cả 11 dòng, riêng

chỉ thị RM154 đã phát hiện alen dị hợp tử của dòng số 39 (ký hiệu dòng LC158) (hình 2). Dòng lúa này có thể đã bị tạp giao trong quá trình sản xuất.



Hình 2: Alen dị hợp tử phát hiện ở dòng LC158 (số 39) của giống lúa Khẩu Ký bằng chỉ thị RM154 (\*).

(\*). Ghi chú: Số 21 - 30 các dòng G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu nằm pua (LS17, LS21, LS31, LS23, LS47, LS57, LS98, LS126, LS141, LS147); số 31 - 41 các dòng G<sub>1</sub> của giống lúa Khẩu Ký (LC12, LC52, LC53, LC68, LC98, LC124, LC135, LC139, LC158, LC167, LC191).

#### IV. KẾT LUẬN

Từ kết quả đánh giá 249 dòng G<sub>1</sub> của 4 giống lúa nung thông qua các tính trạng hình thái đã chọn được 41 dòng G<sub>1</sub> có sự đồng đều cao (trong đó gồm 10 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu tan nung, 10 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu mang, 10 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu nằm pua và 11 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu Ký). Kết quả đánh giá độ thuần của 41 dòng G<sub>1</sub> bằng 20 chỉ thị SSR cho thấy tất cả 10 dòng G<sub>1</sub> của giống Khẩu tan nung và 10 dòng G<sub>1</sub> của giống Khẩu mang đều không có các alen khác loại. Trong số 10 dòng G<sub>1</sub> của giống Khẩu nằm pua có 2 dòng với alen khác loại. Trong 11 dòng G<sub>1</sub> giống Khẩu ký có 1 dòng với alen dị hợp tử.

Từ kết quả đánh giá và chọn lọc thể hệ G<sub>1</sub> thông qua các tính trạng hình thái chỉ thị phân tử của 4 giống lúa nung đã chọn được 38 dòng G<sub>1</sub> có sự đồng đều và độ thuần cao, trong đó gồm 10 dòng giống lúa Khẩu tan nung, 10 dòng giống lúa Khẩu mang, 8 dòng giống Khẩu nằm pua và 10 dòng giống lúa Khẩu Ký.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1 Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2006). *Lúa thuần - Quy trình sản*

*suất hạt giống. Tiêu chuẩn ngành - 10TCN 395: 2006.*

- 2 Trần Danh Sử, Nguyễn Thị Lan Hoa, Hà Minh Loan, Ngô Kim Hoài, Nguyễn Thị Vân Anh, Vũ Mạnh Hải (2010), "Nghiên cứu đa dạng di truyền lúa nếp địa phương ở các tỉnh đồng bằng Bắc Bộ bằng chỉ thị SSR", *Kết quả nghiên cứu Khoa học và Công nghệ 2006 - 2010*, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, tr. 527 - 532.
- 3 Bhat KV (2006). DNA fingerprinting and cultivar identification, publish online: [http://www.iasri.res.in/ebook/EBADAT\\_102 - 109](http://www.iasri.res.in/ebook/EBADAT_102-109).
- 4 Doyle, JJ. and JL. Doyle (1987). *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull.* 19: 11 - 15.
- 5 Giarrocco LE, Marassib MA and Salerno GL (2007). *Assessment of the Genetic Diversity in Argentine Rice Cultivars with SSR Markers, Crop Sci* 47:853 - 858.

Ngày nhận bài: 22/7/2013

Người phản biện: PGS. TS. Lê Huy Hàm,  
ngày 30/7/2013

Ngày duyệt đăng: 10/8/2013