

XÁC ĐỊNH VỊ TRÍ CÁC TÍNH TRẠNG SỐ LƯỢNG KIỂM SOÁT KHẢ NĂNG CHỊU MẶN Ở LÚA (*Oryza sativa* L.)

TS. Hồ Việt Thế

Đại học Công nghiệp Thực Phẩm TP HCM.

TÓM TẮT:

Nghiên cứu để tìm ra những gene hay vùng nhiễm sắc thể quy định tính trạng chịu mặn là thật sự cần thiết để phục vụ công tác lai tạo giống lúa có khả năng sinh trưởng tốt trong những vùng đất thấp ven biển. Trong nghiên cứu này bản đồ liên kết gene được thiết lập bao gồm 100 chỉ thị phân tử với tổng khoảng cách di truyền là 1,405 cM. Qua sàng lọc ở khả năng kháng mặn của cây lúa sau 2 tuần ở độ mặn 6 ‰, 12 QTL được phát hiện có khả năng điều khiển các tính trạng số lượng kiểm soát khả năng sinh trưởng của cây lúa ở điều kiện mặn, bao gồm khả năng sống sót, khả năng phát triển sinh khối thân, sinh khối rễ và khả năng duy trì hàm lượng diệp lục cao ở lá. Những QTL này có thể sử dụng trực tiếp trong công tác lai tạo giống hoặc được dùng để tiếp tục xác định chi tiết các gene và cơ chế liên quan đến khả năng kháng mặn của lúa.

Từ khóa: Chịu mặn; chỉ thị phân tử; Quantitative Trait Loci-QTL (QTL); tính trạng số lượng; lúa.

ABSTRACT

Saline contamination is hindering rice production worldwide, thus identify genes or Quantitative Trait Loci (QTL) responsible for salinity tolerance would be necessary for rice breeding to overcome this abiotic stress. A genetic linkage map was constructed using 100 microsatellite markers, with a total length of 1,405 cM. Important QTLs associated with salinity tolerance at rice seedling stage were detected such as survival rate, shoot biomass, root biomass and ability to maintain high chlorophyll b in leaves. The QTLs detected in this study will be useful for molecular breeding and for identifying useful genes or mechanism relating to salinity tolerance of rice.

Keywords: Salinity tolerance; molecular markers; Quantitative Trait Loci; rice seedling.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa là cây trồng được canh tác nhiều ở những vùng đồng bằng ven biển, tuy nhiên lúa chịu mặn kém đặc biệt là ở giai đoạn mạ (Ismail *et al.*, 2007). Việc xác định vị trí các tính trạng số lượng (QTL) điều khiển khả năng kháng mặn của cây lúa cũng như xác định được các chỉ thị phân tử chuyên biệt cho từng QTL sẽ tạo điều kiện cho việc chọn tạo giống lúa kháng mặn thuận lợi hơn thông qua kỹ thuật chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử (Ammar *et al.*, 2009). Trong nghiên cứu này chúng tôi xác định được vị trí của các QTL liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ. Các QTL này có thể sử dụng làm nguyên liệu để lai tạo các giống lúa chịu mặn hoặc làm đối tượng để nghiên cứu sâu hơn về cơ chế phân tử của khả năng chịu mặn ở cây lúa.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

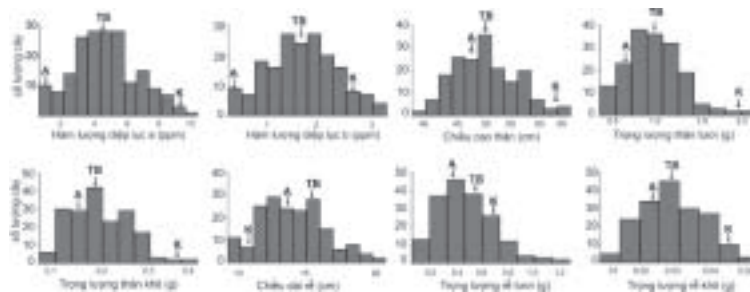
Tổng cộng 400 cây lúa từ tổ hợp lai Kalarata/Azucena được sử dụng đánh giá độ kháng mặn theo quy trình của viện nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI, 1996). Sau khi hạt lúa nảy mầm được 14 ngày, cây lúa được chuyển sang dung dịch dinh dưỡng có bổ sung NaCl với độ mặn 3 ‰ trong 7 ngày, sau đó tăng độ mặn lên 6 ‰ và duy trì đến khi lấy mẫu phân tích. Dung dịch dinh dưỡng được duy trì pH ở 5,5. Thí nghiệm được tiến hành trong nhà kính với nhiệt độ được duy trì ở 29 °C/21 °C ngày/đêm, độ ẩm 70%.

Sau hai tuần ở độ mặn 6 ‰, mẫu lúa được thu hoạch để phân tích các chỉ tiêu về nồng độ diệp lục A (DLA), diệp lục B (DLB), chiều dài rễ (CDR), chiều cao thân (CCT), trọng lượng rễ tươi (TLRT), trọng lượng thân tươi (TLTT), trọng lượng rễ khô (TLRK), trọng lượng thân khô (TLTK) theo quy trình của IRRI. Quy trình ly trích DNA, thực hiện phản ứng PCR và phân tích QTL được thực hiện theo Thomson *et al.* (2010)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự biến động của các tính trạng nghiên cứu trong điều kiện mặn

Sự sinh trưởng và hình thái của lúa bị ảnh hưởng mạnh trong điều kiện bị mặn, đối với hầu hết các tính trạng nghiên cứu, giá trị trung bình của các cây F₃ nằm ở giữa giá trị của cây bố mẹ (Hình 1). Tuy nhiên, đa số tính trạng có xu hướng lệch về phía giá trị thấp hơn, và ngoài trừ tính trạng trọng lượng rễ khô thì tần số của các tính trạng trọng lượng thân tươi, trọng lượng thân khô, trọng lượng rễ tươi không theo phân phối chuẩn một cách chặt chẽ và hầu hết các tính trạng này có xu hướng lệch về phía lúa mẹ nhiễm là Azucena. Điều này phù hợp kết quả nghiên cứu của Haq *et al.* (2008) khi từ kết quả nghiên cứu khả năng chịu mặn trên tổ hợp lai Co39/Moroberekan nhóm nghiên cứu cho rằng những allele từ cây mẹ mặn cảm sẽ làm giảm trọng lượng tươi của thân cũng như làm giảm tỉ lệ thân/rễ khô.



Hình 1. Tần số phân phối của các tính trạng ở cây lúa trong điều kiện nhiễm mặn sau 2 tuần ở độ mặn 6 ‰ (A=Azucena, K= Kalarata).

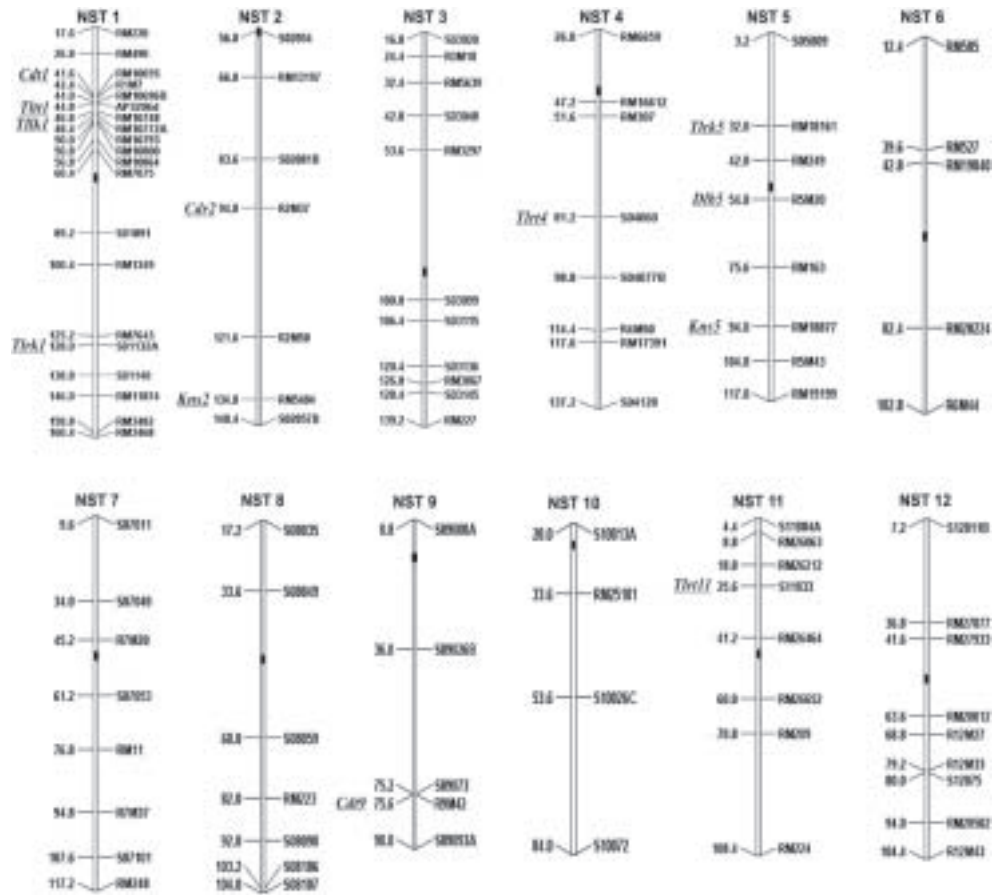
3.2. Lập bản đồ liên kết gene

Thông qua việc khảo sát 200 chỉ thị phân tử, chúng tôi phát hiện 100 chỉ thị phân tử có sự đa hình giữa 2 giống lúa bố mẹ. Sản phẩm PCR khuếch đại từ những chỉ thị đa hình này sau khi đi điện di có kích thước từ 80 đến 350 bp (Hình 2).



Hình 2: Sản phẩm PCR sử dụng chỉ thị SSR R12M33. (Hai band DNA đầu tiên từ bên phải lần lượt thể hiện kiểu gene của lúa Kalarata (K) và Azucena (A), các band tiếp theo là kiểu gene của cá thể F₃).

Kiểu gene từ các cá thể F₃ và lúa bố mẹ được phân tích bằng phần mềm QGENE để xây dựng bản đồ liên kết dựa trên dữ liệu của các chỉ thị phân tử đa hình SSR. Chúng tôi thu được bản đồ liên kết gene với sự phân bố của các chỉ thị phân tử trên bộ gene cây lúa như hình 3. Từ kết quả của 100 chỉ thị phân tử đa hình, bản đồ thiết lập được có độ bao phủ 1.405 cM và khoảng cách trung bình giữa các chỉ thị phân tử là 14,05 cM.



Hình 3. Bản đồ liên kết và vị trí của các QTL từ thế hệ F_3 của tổ hợp lai Kalarata/Azucena. (Thông số bên phải nhiễm sắc thể là tên của chi thị SSR và thông số bên trái là vị trí của chi thị trên nhiễm sắc thể. Thông số in nghiêng có gạch chân là QTL được phát hiện. NST: nhiễm sắc thể).

3.3. Phân tích QTL

Tổng cộng 12 QTL liên quan đến các tính trạng khảo sát đã được phát hiện. Trong đó QTL quy định khả năng tăng trưởng của thân và rễ nằm ở các nhiễm sắc thể khác nhau, điều này chứng tỏ những tính trạng về khả năng sinh trưởng của cây dưới điều kiện mặn được điều khiển bởi nhiều gene khác nhau. Một trong những cơ chế quan trọng liên quan đến khả năng kháng mặn của lúa đã được biết đến là khả năng phát triển mạnh sinh khối, điều này sẽ làm giảm nồng độ muối trong thân cây (Yeo *et al.*, 1990). Như vậy việc phát hiện ra các QTL đảm nhận việc phát triển nhanh sinh khối của cây lúa ở giai đoạn sớm sẽ có tiềm năng lớn cho các nhà chọn tạo giống để tăng cường khả năng kháng mặn của cây, và đây cũng là một tiêu chí để có thể chọn lựa những giống lúa có khả năng kháng mặn mạnh ở giai đoạn sớm, bởi vì giai đoạn này cây lúa rất nhạy cảm với mặn (Ismail *et al.*, 2007). Khả năng sinh trưởng mạnh của cây lúa ở giai đoạn sớm là tính trạng quan trọng để cho cây lúa có khả năng vượt qua những đợt mặn thường xảy ra vào đầu mùa mưa giúp cây có thể phục hồi nhanh hơn sau khi bị mặn.

Chúng tôi phát hiện 2 QTL liên quan đến sinh khối rễ tươi và hai QTL liên quan đến sinh khối rễ khô, điều thú vị là tất cả các QTL đều nằm trên các nhiễm sắc thể khác nhau (nhiễm sắc thể 1; 4; 5; và 11). Những QTL liên quan đến sức sống của cây lúa được phát hiện ra trong

ngiên cứu này có thể được sử dụng hiệu quả để phát triển những giống lúa chịu mặn, ngoài ra những QTL này còn có thể là nguyên liệu để tạo những giống lúa có khả năng phát triển mạnh để giúp cây lúa có thể phát triển tốt với sự cạnh tranh của cỏ dại.

4. KẾT LUẬN

Qua phân tích phép lai giữa giống lúa Kalara và Azucen, chúng tôi xây dựng được bản đồ liên kết gene với 100 chỉ thị SSR với tổng chiều dài là 1,405 cM. Chúng tôi phát hiện ra 12 QTL liên quan đến khả năng sinh trưởng mạnh của cây lúa ở giai đoạn sớm trong điều kiện nhiễm mặn. Những QTL phát hiện được trong nghiên cứu này có thể được sử dụng để lai tạo những giống lúa kháng mặn ở giai đoạn mạ bằng các chỉ thị phân tử. Ngoài ra những QTL này cũng có thể được sử dụng để lập bản đồ gene chi tiết hơn nhằm xác định vị trí chính xác và tìm ra cơ chế hoạt động của những gene liên quan đến cơ chế kháng mặn của lúa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Akbar et al. 1985. Genetics of salt tolerance in rice. *In: Rice Genetics. Proceeding of International Rice Genetic Symposium*, Manila, Philippines: IRRI: 399-409.
- [2]. Ammar et al. 2009. *Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology* 18: 139-150.
- [3]. Haq et al. 2008. Genetic mapping of QTLs, controlling shoot fresh and dry weight under salt stress in rice (*Oryza sativa* L.) cross between Co39 x Moroberekan. *Pakistan Journal of Botany*, 40(6):2369-2381.
- [4]. IRRI. 1996. Standard Evaluation System Manual. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- [5]. Ismail et al. 2007. Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. *Plant Molecular Biology* 65:547-570.
- [6]. Lee et al. 2007. Mapping QTLs related to salinity tolerance of rice at seedling stage. *Plant breeding* 126: 43-46.
- [7]. Long-zhi et al. 2006. Genetic and QTL analysis of Low-temperature vigor of germination rice. *Acta Genetica Sinica* 33(11):998-1006.
- [8]. Masood et al. 2004. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for salt tolerance in rice (*Oryza sativa*) using RFLPs. *Pakistan Journal of Botany* 36(4):825-834.
- [9]. Nelson J. C. 1997. QGENE. Software for mapping based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding* 3:239-245.
- [10]. Thomson et al. 2010. Characterizing the *Saltol* Quantitative Trait Locus. *Rice*: 3:148-160
- [11]. Yeo et al. 1990. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance. *Theoretical and Applied Genetics* 79: 377-384.