

ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG CHỐNG CHỊU NGẬP VÀ MẶN Ở MỘT SỐ GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG

Hồ Viết Thế, Ngô Thị Kim Anh

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

Ngày gửi bài: 21/8/2015

Ngày chấp nhận đăng: 21/9/2015

TÓM TẮT

Khai thác tính chống chịu của các giống lúa địa phương là công việc cần thiết để phục vụ công tác lai tạo giống lúa có khả năng thích nghi với thay đổi khí hậu. Trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát mức độ chống chịu ngập và mặn của 15 giống lúa địa phương. Chúng tôi phát hiện giống Tiêu Phát có khả năng chịu cả mặn và ngập tốt, ngoài ra các giống Nàng Quýt, Đốc Phụng cho thấy khả năng chịu mặn cao, và giống lúa Nước Mặn có khả năng chịu ngập tốt. Các giống lúa này có nhiều tiềm năng trong công tác giống để tạo ra các giống mới có khả năng cho năng suất cao ở những vùng ngập và nhiễm mặn ven biển.

Từ khóa: Kháng mặn, Kháng ngập, Lúa địa phương, Saltol, Sub1a

EVALUATING SALINITY AND SUBMERGENCE TOLERANCE IN DIFFERENT LOCAL RICE VARIETIES

ABSTRACT

Investigating abiotic stress tolerance from local rice varieties is necessary in order to obtain breeding materials which could be used for rice breeding to cope with climate change. In present study, 15 local rice varieties were examined for submergence and salinity tolerance. We identified Tieu Phat is highly tolerant to both stresses. Furthermore, we also found that Nang Quot and Doc Phung are salinity tolerance and Lua Nuoc Man is submerged tolerance. These varieties have large potential in rice breeding to expand rice production areas to coastal regions.

Key word: Salinity tolerance, Submergence tolerance, Local rice variety, Saltol, Sub1a

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, dưới tác động của biến đổi khí hậu, hiện tượng nước biển dâng và ngập lụt xuất hiện có tần suất dày đặc hơn đang đặt ra nhiều thách thức cho ngành sản xuất lúa gạo để đảm bảo an ninh lương thực cũng như duy trì và nâng cao sản lượng xuất khẩu của mặt hàng nông sản chủ lực này. Hiện nay, viện nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI) trụ sở đặt tại Philippines đã xác định được những gen liên quan đến khả năng chống chịu điều kiện bất lợi của lúa, đặc biệt là khả năng chịu mặn *Saltol* và chịu ngập *Sub1a* (Gregorio, 1997; Xu et al., 1996).

Bước đầu, vùng chứa gen *Sub1a* được đưa vào nhiều giống mới như Swarna, Samba Mahsuri, IR64, Thadokkam, CR1009 và BR11 đã tạo ra những giống lúa có năng khả năng chống chịu đối ngập úng mạnh hơn hẳn so với giống không chứa gen này (Septiningsih et al., 2009). Những giống lúa cải tiến có chứa gen *Sub1* đã được đưa ra trồng đại trà ở nhiều nước như Ấn Độ, Indonesia, Bangladesh, Philippines và đã cho thấy khả năng chịu ngập hơn hẳn cây đối chứng (Singh et al., 2010). Tại viện lúa IRRI, gen *Saltol* từ FL478 cũng đã được lai thành công vào giống lúa IR64 và cho thấy khả năng chịu mặn cao hơn hẳn so với giống mẹ IR64, hiện giống này đang được khảo nghiệm để đưa ra sản xuất đại trà (Ho et al., 2010).

Hiện nay ở nước ta, các nguồn gen *Saltol* và *Sub1a* dùng cho lai tạo giống đều phải nhập từ viện lúa IRRI (Nguyễn Thị Lang và ctv., 2011). Điều này làm cho các đơn vị nghiên cứu nhỏ và người nông dân khó tiếp cận với những nguồn giống này do việc xin nhập vật liệu nghiên cứu lai tạo đòi hỏi nhiều thời gian và thủ tục hải quan phức tạp. Vì vậy khảo sát sự hiện diện của hai gen này ở cây lúa của Việt Nam cũng như tìm ra những giống lúa có khả

năng chịu cao có nguồn gốc trong nước để làm phong phú thêm nguồn nguyên liệu lai tạo giống là việc làm cần thiết.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát hiện có nhiều giống lúa có khả năng chống chịu mặn và ngập, đặc biệt các giống lúa chịu mặn có kiểu gen tương đồng với giống FL478 có chứa gen *Saltol*. Kết quả của nghiên cứu này chỉ ra tầm quan trọng của công tác bảo tồn những giống lúa địa phương có những đặc tính nông học quý và tiến tới là sử dụng các giống này trong công tác lai tạo những giống lúa có khả năng phát triển tốt ở những khu vực ven biển thường bị mặn và ngập.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng cộng 13 giống lúa địa phương có nguồn gốc tại Việt Nam, hiện tại đang được lưu giữ tại viện lúa quốc tế (IRRI) có trụ sở tại Philippines, được sử dụng trong nghiên cứu này. Ngoài ra các giống FL478 và Pokkali được sử dụng làm giống đối chứng chuẩn chịu mặn, giống FR13R được sử dụng làm giống đối chứng chuẩn chịu ngập, giống IR29 được sử dụng làm đối chứng mẫn cảm đối với cả mặn và ngập. Tất cả các giống sử dụng làm chuẩn đều được viện nghiên cứu lúa quốc tế cung cấp.

2.2. Quy trình đánh giá khả năng chịu mặn

Sau khi hạt lúa nảy mầm được 14 ngày, cây mạ được chuyển qua dung dịch dinh dưỡng có bổ sung NaCl với độ mặn 6‰ và duy trì trong 3 tuần. Khả năng chống chịu của lúa được xác định theo tiêu chuẩn của viện lúa quốc tế IRRI ở Bảng 1 (IRRI, 1996).

Bảng 1. Thang điểm đánh giá khả năng chịu mặn của lúa dựa trên biểu hiện hình thái

Chỉ số	Quan sát biểu hiện sinh trưởng	Mức chống chịu
1	Cây phát triển bình thường, không có biểu hiện lạ ở lá	Rất cao
3	Cây phát triển gần như bình thường nhưng có một số lá có hiện tượng bạc và quăn	Cao
5	Cây bị giảm sinh trưởng, hầu hết các lá bị quăn và kém phát triển	Trung bình
7	Ngừng sinh trưởng hoàn toàn, hầu hết các lá bị khô, một số cây bị chết	Yếu
9	Hầu hết các cây bị chết	Rất yếu

2.3. Quy trình đánh giá khả năng chịu ngập của lúa

Cây mạ 14 ngày tuổi được ngập chìm hoàn toàn trong nước trong 14 ngày tiếp theo, quy trình được thực hiện theo Singh et al. (2010). Tỷ lệ cây sống được ghi nhận ở 7 ngày sau khi cây được lấy ra khỏi môi trường ngập nước. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại và xử lý thống kê với phần mềm Statgraphics Centurion XV version 15.1.02.

2.4. Ly trích DNA và thực hiện phản ứng PCR

DNA từ lá lúa được ly trích theo quy trình có sử dụng CTAB, số lượng và chất lượng DNA được xác định bằng máy quang phổ, sau đó DNA được pha loãng với nước cất khử ion tới nồng độ 35 ng/μl và giữ lạnh ở -40⁰C tới khi sử dụng. Phản ứng PCR được thực hiện theo quy trình của Xu et al. (2006). Sản phẩm PCR sau đó được phân tích trên gel agarose 2,5% có bổ sung ethidium bromide 0,5μg/ml và quan sát dưới tia UV.

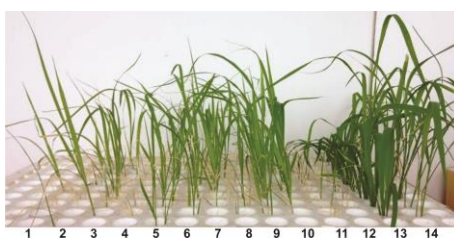
Bảng 2. Các primer sử dụng trong phản ứng PCR

Primer	Trình tự	Mục đích
RM493	FW-5'-GTACGTAAACGCGGAAGGTGACG-3'	Xác định gen chịu mặn <i>Saltol</i>
	RV-5'-CGACGTACGAGATGCCGATCC-3'	
<i>Sub1a203</i>	FW-5'-CTTCTTGCTCAACGACAACG-3'	Xác định gen chịu ngập <i>Sub1a</i>
	RV-5'-AGGCTCCAGATGTCCATGTC-3'	

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

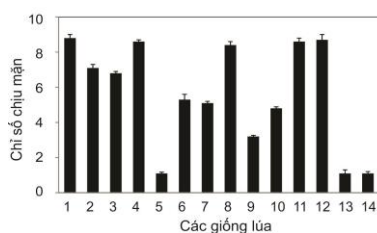
3.1. Khả năng chịu mặn của các giống lúa

Khả năng chịu mặn của lúa ở giai đoạn mạ được xác định dựa trên triệu chứng biểu hiện qua lá và khả năng sống sót trên môi trường mặn nhân tạo. Qua theo dõi chúng tôi nhận thấy sự sinh trưởng và hình thái của nhiều giống lúa bị ảnh hưởng mạnh trong điều kiện bị mặn, triệu chứng tiêu biểu dễ nhận thấy là lá bị quăn và chêm hình thành lá mới, đầu lá có vết cháy màu trắng, sinh trưởng kém, một số cây bị chết. Trong đó các giống Tiêu Phát, lúa Nước Mặn, Nàng Quót và Đốc Phụng có biểu hiện sinh trưởng tốt tương đương với giống FL478 và Pokkali (Hình 1), đây là hai giống lúa chịu mặn cao nhất đã được biết đến hiện nay. Kết quả này có thể bổ sung thêm vào danh sách các giống lúa địa phương chịu mặn đã được khảo sát trước đây (Lê Xuân Thái và Trần Nhân Dũng, 2013).



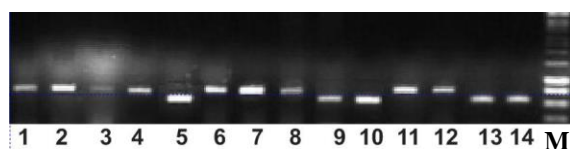
Hình 1. Khả năng sinh trưởng của các giống lúa sau 3 tuần ở độ mặn 6‰. (1: Trắng Lùn, 2: Nàng Tây Đùm, 3: Nàng Nguót, 4: Nàng Som, 5: Tiêu Phát, 6: Lúa Nước Mặn, 7: Đốc Phụng Lùn AR16, 8: Nàng Thơm, 9: Nàng Quót, 10: Đốc Phụng, 11: Lúa Thước, 12: IR29, 13: FL478, 14: Pokkali.

Kết quả theo dõi biểu hiện triệu chứng ngộ độc mặn chúng tôi thấy rằng cùng với 2 giống chuẩn chịu mặn là FL478 và Pokkali, các giống Tiêu Phát, Nàng Quót và Đốc Phụng có khả năng chịu mặn tốt nhất, đặc trưng là chỉ số nhiễm bệnh thấp hơn 5 (hình 2).



Hình 2. Khả năng chịu mặn của các giống lúa sau 2 tuần ở độ mặn 6‰ (giá trị trung bình \pm sai số chuẩn). (1: Trắng Lùn, 2: Nàng Tây Đùm, 3: Nàng Ngươi, 4: Nàng Som, 5: Tiêu Phát, 6: Lúa Nước Mặn, 7: Đốc Phụng Lùn AR16, 8: Nàng Thom, 9: Nàng Quớt, 10: Đốc Phụng, 11: Lúa Thước, 12: IR29, 13: FL478, 14: Pokkali).

Sử dụng primer chuyên biệt, chúng tôi phát hiện rằng ở 3 giống chịu mặn tốt Tiêu Phát, Nàng Quớt và Đốc Phụng có sự hiện diện của sản phẩm PCR có kích thước tương đồng với sản phẩm khuếch đại từ cây đối chứng dương chịu mặn và có chứa *Saltol* là FL478 (hình 3). Vì vậy chúng tôi bước đầu đưa ra giả thuyết 3 giống lúa này có khả năng chịu mặn theo cơ chế của gen *Saltol* như đã được báo cáo trước đây (Gregorio 1997; Thomson et al., 2010).

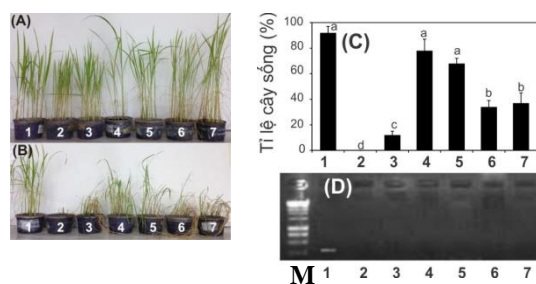


Hình 3. Sàng lọc gen chịu mặn *Saltol* với primer RM493 (1: Trắng Lùn, 2: Nàng Tây Đùm, 3: Nàng Ngươi, 4: Nàng Som, 5: Tiêu Phát, 6: Lúa Nước Mặn, 7: Đốc Phụng Lùn AR16, 8: Nàng Thom, 9: Nàng Quớt, 10: Đốc Phụng, 11: Lúa Thước, 12: IR29, 13: FL478, 14: Pokkali, M: thang chuẩn DNA).

Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu trước đây của Lê Xuân Thái và Trần Nhân Dũng (2013). Hai tác giả này đã phát hiện khoảng 17% giống lúa địa phương có khả năng chịu mặn cao. Nhóm tác giả cũng chỉ ra rằng sàng lọc giống chịu mặn bằng chỉ thị phân tử mang lại hiệu quả cao vì khi đưa những giống này ra ngoài điều kiện đồng ruộng cho thấy năng suất từ 4,3 đến 6,1 tấn/ha ở độ mặn 4‰.

3.2. Khả năng chịu ngập của các giống lúa

Các giống lúa sống ở môi trường không ngập phát triển bình thường sau 14 ngày (hình 4A), trong khi đó ở điều kiện ngập hoàn toàn các giống thể hiện khả năng chống chịu rất khác nhau (hình 4B). Ở các giống Nàng Tây Đùm, Oc Nam Dinh, và Trắng Tép phần lớn các cây chết khi bị ngập, tuy nhiên vẫn tốt hơn giống đối chứng miễn cảm ngập IR 29. Chúng tôi phát hiện các giống Tiêu Phát, lúa nước mặn có khả năng chịu ngập tốt và có khả năng chịu ngập gần bằng giống chuẩn chịu ngập FR13A (hình 4C).



Hình 4. Các giống lúa sau 2 tuần ở điều kiện không ngập (A), ngập hoàn toàn (B), tỉ lệ sống của các giống lúa sau 2 tuần ngập hoàn toàn (C), giá trị trung bình \pm sai số chuẩn), và sàng lọc sự hiện diện của gen *Sub1a* (D). (1: FR13A, 2: IR29, 3: Nàng Tây Đùm, 4: Tiêu Phát, 5: Lúa nước mặn, 6:Oc Nam Dinh, 7: Trắng Tép, M: thang chuẩn DNA). Ghi chú: các ký tự chữ cái khác nhau trên cột thể hiện sự khác biệt thống kê, $P < 0,05$.

Đối với sàng lọc gen chịu ngập *Sub1a*, chúng tôi không thấy sự hiện diện của gen này trong các giống khảo sát ngoại trừ giống đối chứng FR13A (hình 4D). Giống Tiêu Phát và lúa Nước Mặn có khả năng chịu ngập cao, tuy nhiên không chứa gen *Sub1a* chứng tỏ cơ chế chịu ngập của các giống lúa này không liên quan đến sự hiện diện của *Sub1a*. Điều này cũng đã được đề cập tới trong nghiên cứu của Niroula et al. (2012), khi nhóm tác giả khảo sát 109 giống lúa khác nhau, trong đó nhiều giống có khả năng sống cao sau 3 tuần ngập hoàn toàn dưới nước nhưng những giống này cũng không có sự hiện diện gen *Sub1a*. Nhóm tác giả đặt ra giả thiết rằng ở lúa có nhiều cơ chế chịu ngập khác nhau và những giống lúa hoang có thể sở hữu những cơ chế chịu ngập mới và cần thêm nhiều nghiên cứu để làm sáng tỏ các cơ chế này nhằm phục vụ cho công tác lai tạo lúa chịu ngập.

4. KẾT LUẬN

Trong 13 giống lúa thu thập được, chúng tôi đã xác định được các giống lúa Tiêu Phát, Nàng Quót và Đốc Phụng có khả năng chịu mặn cao theo cơ chế tương tự các giống lúa có chứa gen *Saltol*. Ngoài ra chúng tôi cũng phát hiện giống lúa Tiêu Phát và lúa Nước Mặn có khả năng chống chịu ngập tốt, tuy nhiên cơ chế chống chịu ở hai giống lúa này không theo cơ chế của các giống chịu mặn có chứa gen *Sub1a* như những nghiên cứu trước đây. Những giống lúa trong nghiên cứu này có tiềm năng cao trong việc sử dụng làm nguyên liệu lai tạo nhằm cải tiến khả năng chống chịu mặn và ngập cho các giống lúa cao sản đang được trồng phổ biến hiện nay. Ngoài ra những giống lúa này có thể tiếp tục được nghiên cứu để làm sáng tỏ các cơ chế chống chịu đối với các điều kiện bất lợi của tự nhiên là ngập và mặn mà các nghiên cứu trước đây chưa đề cập tới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Gregorio GB. Tagging salinity tolerance genes in rice using amplified fragment length polymorphism (AFLP). PhD. thesis, University of the Philippines, Los Baños. 1997; 118 p.
- [2]. IRRI. 1996. Standard Evaluation System Manual. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- [3]. Ho Viet The et al. 2010. *Introgression of Saltol into IR64 through marker assisted breeding*. Abstracts for the 3rd International rice congress, 8-12 November, 2010, Hanoi, Vietnam.
- [4]. Lê Xuân Thái và Trần Nhân Dũng. 2013. *Chọn lọc giống lúa chống chịu mặn ở đồng bằng sông Cửu Long*. Tạp chí khoa học trường đại học Cần Thơ 28: 79-85.

- [5]. Niroula et al. 2012. Sub1A-dependent and –independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *The Plant Journal*. 72, 282-293.
- [6]. Septiningsih et al. 2009. Development of submergence-tolerant rice cultivars: the Sub1 locus and beyond. *Ann. Bot* 102: 151-160.
- [7]. Singh et al. 2010. Molecular marker survey and expression analyses of the rice submergence tolerance gene SUB1A. *Theor Appl Genet* 121:1441-1453.
- [8]. Thomson et al. 2010. Characterizing the Saltol quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice* 3:148-160.