



LẬP BẢN ĐỒ CÁC TÍNH TRẠNG SỐ LƯỢNG LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG KHÁNG MẶN CỦA LÚA Ở GIAI ĐOẠN MẠ

Hồ Viết Thế¹, Thomson Michael J.² và Ismail Abdelbagi I.²

¹ Đại học Công nghiệp Thực phẩm, Tp. Hồ Chí Minh

² Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế IRRI, Los Banos, Laguna, Philippines

Thông tin chung:

Ngày nhận: 02/03/2015

Ngày chấp nhận: 28/10/2015

Title:

Identification of quantitative trait loci (QTL) relating to salinity tolerance of rice at seedling stage

Từ khóa:

Bản đồ QTL, lúa, giai đoạn mạ, chịu mặn, chỉ thị microsatellite

Keywords:

QTL mapping, rice, seedling stage, salinity tolerance, microsatellite marker

ABSTRACT

A population of 400 F₃ plants from the cross of Kalarata and Azucena were used to construct a genetic linkage map using 100 microsatellite markers. The map covered 1,405 cM with an average distance of 14.05 cM between loci. The F₃ families were phenotyped for salt tolerance in Yoshida nutrient solution with salt stress of 12 dS m⁻¹ using NaCl. A total of 8 QTLs were identified using Composite Interval Mapping with 5 traits studied. The short arm of chromosome 1 had the highest density of QTLs detected for salinity tolerance. The QTLs identified in this study would be useful for further studies through fine mapping, QTL-based gene cloning, and marker-assisted selection for breeding of salt tolerant rice varieties.

TÓM TẮT

Quần thể lúa ở thế hệ F₃ gồm 400 cá thể con từ tổ hợp lai Kalarata và Azucena được sử dụng để lập bản đồ liên kết gene với tổng cộng 100 chỉ thị phân tử SSR được sử dụng. Bản đồ liên kết thu được bao phủ 1.405 cM với khoảng cách trung bình giữa các locus là 14,05 cM. Sau khi đánh giá trong môi trường dinh dưỡng Yoshida với độ mặn 12 dSm⁻¹ bằng cách bổ sung NaCl, tổng cộng 8 tính trạng số lượng (Quantitative Trait Loci -QTL) liên kết chặt với khả năng chịu mặn của lúa ở giai đoạn mạ đã được xác định thông qua 5 tính trạng khảo sát và các QTL này tập trung chủ yếu ở phần đầu của nhiễm sắc thể số một. Những QTL được phát hiện trong nghiên cứu này là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm phục vụ cho công tác lai tạo giống kháng mặn có sự trợ giúp của các chỉ thị phân tử.

1 GIỚI THIỆU

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây lương thực quan trọng trên thế giới và được canh tác ở nhiều vùng địa lý khác nhau. Một trong những trở ngại lớn nhất đối với khả năng sinh trưởng phát triển của cây lương thực quan trọng này là sự nhiễm mặn. Nhiều nghiên cứu trước đây đã chỉ ra khả năng kháng mặn ở lúa là tính trạng số lượng do nhiều gene khác nhau tác động tạo nên và chịu ảnh hưởng lớn bởi điều kiện môi trường (Koyama *et al.*, 2001; Haq *et al.*, 2008). Như vậy, việc kết hợp chỉ thị phân tử MAS (Marker assisted selection)

vào phương pháp lai tạo truyền thống trong việc tạo giống lúa kháng mặn có thể hạn chế các ảnh hưởng của môi trường và tăng độ chính xác của phép lai. Những năm gần đây, với sự phát triển nhanh chóng của lĩnh vực tin sinh học và việc hoàn thành giải mã bộ gene cây lúa thì phương pháp lập bản đồ QTL (quantitative trait loci (QTL) mapping) được sử dụng nhiều để xác định những gene liên quan đến các tính trạng số lượng (Yano and Sasaki, 1997) và đặc biệt là xác định các vùng nhiễm sắc thể liên quan đến khả năng chịu mặn của cây lúa. Trong đó, chỉ thị SSR (microsatellite

marker) đã được sử dụng hiệu quả để xác định các QTL liên quan đến khả năng chịu mặn của lúa ở những tổ hợp lai khác nhau (Lang *et al.*, 2000; Ren *et al.* 2005; Haq *et al.*, 2008).

Mặc dù đã có nhiều công trình được thực hiện để xác định các QTL liên quan đến khả năng kháng mặn từ những giống lúa khác nhau, ví dụ từ giống Pokkali (Bonilla *et al.*, 2002) và giống Nona Bokra (Lin *et al.*, 2004), nhưng ứng dụng của những QTL này trong thực tế tạo giống vẫn còn hạn chế vì khi chuyển sang cây con khả năng chịu hạn của những QTL này thấp hơn thực tế ở cây bố mẹ (Gregorio *et al.*, 2002). Cho tới hiện nay, chỉ duy nhất QTL kháng mặn *Saltol* được ứng dụng rộng rãi trong công tác lai tạo để bổ sung tính trạng chịu mặn cho những giống lúa đang được canh tác rộng rãi nhưng kháng mặn yếu. QTL *Saltol* được xác định nằm trên tay ngắn của nhiễm sắc thể số 1 của giống lúa Pokkali, QTL này có khả năng giúp cây lúa chống chịu với điều kiện mặn ở giai đoạn cây con và nó chiếm khoảng 40% tổng khả năng kháng mặn của cây lúa (Bonilla *et al.*, 2002). Tìm ra những QTL mới có khả năng chịu hạn ở các giai đoạn khác nhau cho cây lúa ở những tổ hợp lai khác nhau là việc làm cần thiết vì hiện nay nhiều giống lúa có khả năng chịu mặn tốt chỉ ở một vài giai đoạn phát triển nhưng nhạy cảm ở những giai đoạn khác (Moradi *et al.*, 2003). Những QTL mới sẽ giúp cho những nhà chọn giống có thêm nhiều lựa chọn trong việc tạo ra những giống lúa có khả năng chịu mặn cao hơn ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng (Ismail *et al.*, 2007; Thomson *et al.*, 2010).

Nghiên cứu này nhằm xác định những QTL liên kết chặt với khả năng chịu mặn ở giai đoạn mạ của lúa sử dụng tổ hợp lai mới là Kalarata và Azucena. Các QTL tương quan chặt đến hàm lượng diệp lục trong lá, nồng độ K^+ , Na^+ và tỉ lệ Na^+/K^+ ở thân và rễ lúa được tập trung khảo sát. Với những kết quả đạt được, nghiên cứu này đặt nền tảng cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm xác định những gene cụ thể liên quan đến khả năng kháng mặn của lúa ở giai đoạn mạ. Ngoài ra, kết quả cũng xác định được những chỉ thị phân tử có liên kết chặt tới tính trạng chịu mặn tạo tiền đề cho công tác chọn tạo giống lúa bằng chỉ thị phân tử với thời gian chọn tạo ngắn hơn và hiệu quả cao hơn so với phương pháp chọn tạo giống truyền thống.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Giống lúa

Tổng cộng 400 cây con thế hệ F_3 từ tổ hợp lai Kalarata/Azucena được sử dụng để lập bản đồ liên

kết và xác định các QTL. Kalarata là giống lúa có nguồn gốc từ Ấn Độ với khả năng kháng mặn cao, trong khi đi đó giống Azucena có nguồn gốc từ Philippines với đặc tính chất lượng gạo thơm ngon nhưng mẫn cảm với mặn. Ngoài ra, thời gian sinh trưởng của hai giống này kéo dài khoảng 114-120 ngày nên thuận lợi cho công tác lai tạo (www.genesys-pgr.org).

2.2 Bố trí thí nghiệm và các chỉ tiêu theo dõi

Giống lúa bố Kalarata, giống lúa mẹ Azucena và quần thể lai được đánh giá độ kháng mặn theo quy trình của Viện nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI, 1996). Hạt lúa này mầm sẽ được gieo trên dung dịch dinh dưỡng Yoshida (Yoshida *et al.*, 1976) trong 14 ngày, sau đó dung dịch dinh dưỡng được bổ sung $NaCl$ với độ mặn $6 dS m^{-1}$ (độ mặn 0,3%) trong 7 ngày, tiếp theo độ mặn được tăng lên $12 dS m^{-1}$ (độ mặn 0,6%) và duy trì trong 2 tuần. 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 $29^{\circ}C/21^{\circ}C$ ngày/đêm, độ ẩm 70%.

Sau khi tăng độ mặn lên $12 dS m^{-1}$ hai tuần, mẫu được thu để phân tích các chỉ tiêu sinh lý liên quan đến khả năng kháng mặn. Ba lá phát triển đầy đủ nhất và còn tươi ở ngọn của cây lúa được thu và làm khô bằng máy sấy chân không (Lyophilizer LL -Esquire Biotech, India) ở nhiệt độ $-35^{\circ}C$ và được nghiền mịn. Dụng cụ đựng mẫu lá được bao bằng giấy nhôm để đảm bảo lượng diệp lục không bị phân hủy bởi ánh sáng. Diệp lục được ly trích bằng dung dịch acetone 80% lạnh với tỉ lệ 1,0 mg mẫu lá/1 ml acetone 80% sau đó được phân tích bằng máy quang phổ (DU 530, Beckman Counter, USA) ở các bước sóng 663, 652, và 645 nm. Nồng độ diệp lục được tính như sau:

$$\text{Diệp lục a} = 12,7 A_{663} - 2,7 A_{645}$$

$$\text{Diệp lục b} = 22,9 A_{645} - 4,7 A_{663}$$

$$\text{Tổng số diệp lục a và b} = 27,8 A_{652}$$

Để xác định các chỉ tiêu nồng độ Na^+ và K^+ , thân và rễ sau khi thu được làm khô, cân và ngâm trong axit acetic 100 mM trong $90^{\circ}C$ trong 2 giờ. Sau đó nồng độ Na^+ và K^+ được đo bằng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (Perkins Elmer, Norwalk, CT, USA), và xác định các tỉ lệ Na^+/K^+ theo quy trình của Thomson *et al.* (2010).

2.3 Ly trích DNA và phản ứng PCR

DNA được ly trích từ lá lúa hai tuần tuổi theo quy trình của McCouch *et al.* (1988), số lượng và chất lượng DNA được xác định bằng máy quang phổ (Nanodrop, ND-1000, USA), sau đó DNA

được pha loãng với nước cất khử ion tới nồng độ 35 ng/μl và giữ lạnh ở -80°C tới khi sử dụng. Tổng cộng 200 chỉ thị phân tử SSR phân bố đều trên 12 cặp nhiễm sắc thể lúa được sàng lọc để tìm ra những chỉ thị đa hình giữa lúa bố mẹ.

Mỗi phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 15 μl có chứa 1,5 μl 10X buffer; 1 μl của 1mM dNTPs; 0,5 μl của primer xuôi; 0,5 μl của primer ngược 5μM; 0,7 μl của Taq polymerase 5 U/μl; 8,8 μl nước cất khử ion và 2,0 μl DNA ở nồng độ 35 ng/μl. Sau đó phản ứng được thực hiện trong máy PCR GStorm GS1 (Green Technology Limited, UK) với chu kỳ nhiệt như sau: biến tính ban đầu ở 94°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ với nhiệt độ biến tính ở 94°C trong 1 phút, bắt cặp ở 55°C trong 1 phút và kéo dài ở 72°C trong 2 phút, giai đoạn kéo dài cuối cùng dài 7 phút ở nhiệt độ 72°C. Sản phẩm PCR sau đó được phân tích trên gel polyacrylamide 10% và quan sát bằng máy Geldoc (Bio-Rad, USA). Các vạch sản phẩm được cho điểm như sau: “A” nếu giống với kiểu gene của Azucena, “B” nếu giống với kiểu gene của Kalarata, và “H” nếu là kiểu gene dị hợp.

2.4 Lập bản đồ liên kết gene và phân tích QTL

Số liệu thu nhận sau điện di được sử dụng để lập bản đồ liên kết gene với phần mềm QGENE 4.3.2 (Nelson, 1997). Vị trí của các chỉ thị phân tử được sử dụng từ cơ sở dữ liệu GRAMENE (www.gramene.org) và Cornell map. Các nhóm liên kết gene được xác định với chỉ số LOD (logarithm of odds) >3,0. Tầm ảnh hưởng của từng QTL trong mỗi tính trạng được tính toán dựa trên chỉ số R².

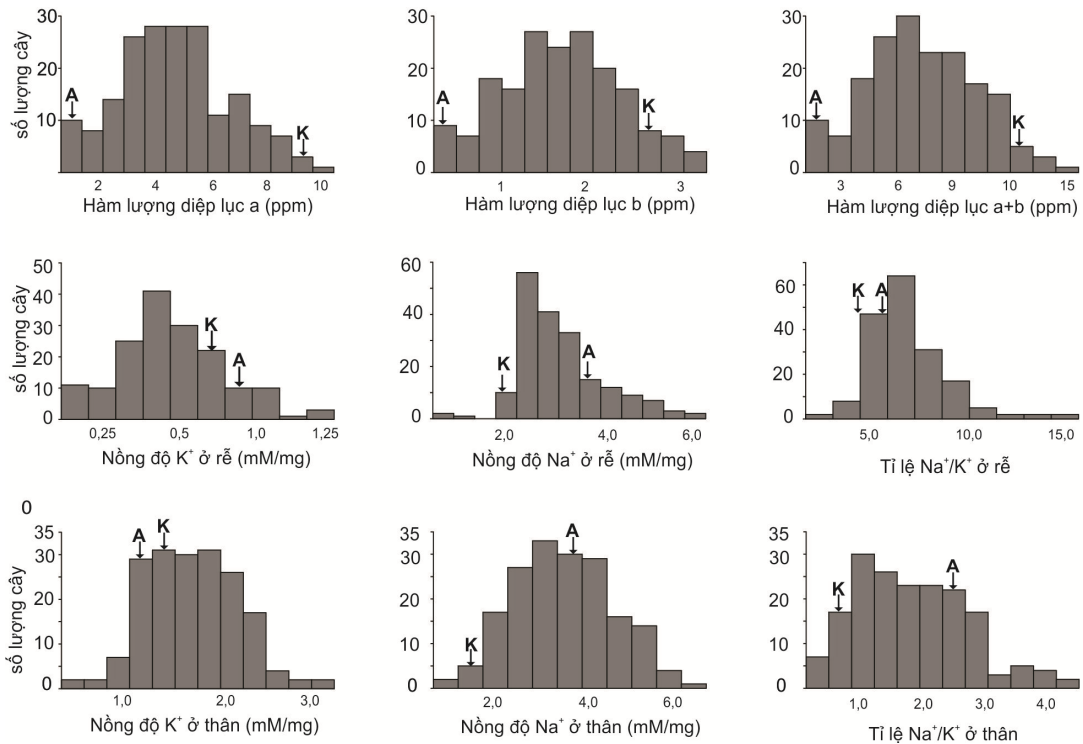
Phần mềm QGENE cũng được sử dụng để xác định các chỉ thị phân tử liên kết với các QTL liên quan đến khả năng kháng mặn của lúa ở trên 12 cặp nhiễm sắc thể của lúa. Thuật toán Composite Interval Mapping (CIM; Zeng, 1994) được sử dụng để kiểm tra sự liên kết giữa dữ liệu kiểu gene và dữ liệu kiểu hình. Phần mềm này cũng cho phép xác định các QTL và mức độ ảnh hưởng của kiểu gene bố hoặc mẹ lên sự biểu hiện tính trạng.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của mặn lên các tính trạng sinh lý của cây lúa

Qua phân tích các tính trạng liên quan chặt tới khả năng kháng mặn ở lúa như hàm lượng diệp lục trong lá, khả năng hấp thu Na⁺, K⁺ và tỉ lệ Na⁺/K⁺ thấp. Kết quả cho thấy ở hầu hết các tính trạng nghiên cứu này ở quần thể cây con có sự biến động rộng hơn sự phân bố của giống lúa bố mẹ, điều này có thể do sự phân bố không đồng đều của các allen từ cơ thể bố mẹ (Hình 1). Tần suất phân bố của các cá thể trong một tính trạng theo gần phân phối chuẩn cũng chỉ ra đây là những tính trạng số lượng do nhiều gene từ cây bố mẹ quyết định. Kết quả tương tự cũng được Nguyen (2001) phát hiện khi nghiên cứu khả năng kháng ngộ độc nhôm trên lúa và Haq *et al.* (2008) khi nghiên cứu khả năng kháng mặn của lúa ở tổ hợp lai Co39xMoroberekan.

Giá trị trung bình của số lượng diệp lục ở cây con gần với giá trị trung bình từ hai bố mẹ chứng tỏ rằng những allen từ 2 bố mẹ góp phần ngang nhau ở những tính trạng này. Các tính trạng liên quan đến khả năng chịu mặn cao của cây lúa như nồng độ K⁺ trong rễ và trong thân có xu hướng nghiêng về phía cây bố Kalarata, trong khi đó các tính trạng liên quan đến khả năng nhiễm đối với điều kiện mặn như tỉ lệ Na⁺/K⁺ cao của rễ và của thân có xu hướng lệch về phía cây mẹ Azucena. Kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đây khi cho rằng một trong những cơ chế kháng mặn ở lúa là khả năng hấp thu nhiều K⁺ và hạn chế hấp thu Na⁺ để hạn chế bị ngộ độc đối với kim loại này (Munns *et al.*, 1983). Việc hấp thu nhiều K⁺ và hạn chế Na⁺ sẽ giúp cho cây lúa phát triển tốt hơn trong điều kiện mặn bởi vì K⁺ đóng vai trò quan trọng trong sự hoạt động của nhiều enzyme và các chức năng sinh lý khác như đóng mở khí khổng (Ponnamperuma, 1984). Một trong những nguyên nhân chính có thể làm cho giống mẹ Azucena miễn cảm với điều kiện mặn là do khả năng hấp thu một lượng lớn Na⁺ của nó, và kim loại này là nguyên nhân gây ra những tổn hại ở bộ lá dẫn đến cây sinh trưởng kém (Lin *et al.*, 2004).

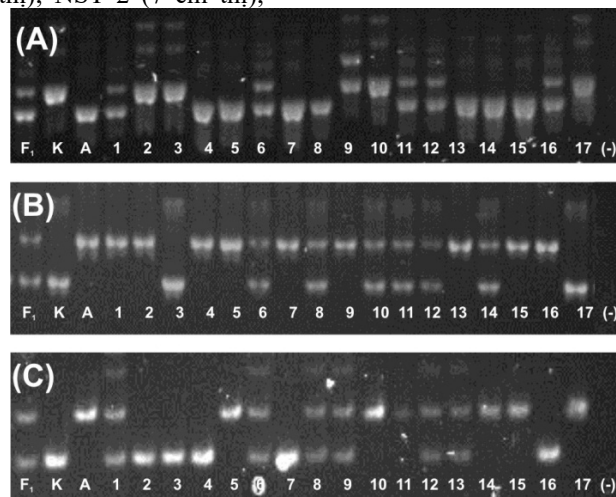


Hình 1: Tần số phân phối của các tính trạng sinh lý ở thân và rễ lúa sau khi ngập mặn 2 tuần có bổ sung NaCl ở độ mặn 12 dS m⁻¹ (độ mặn 0,6%) (A=Azucena, K= Kalarata)

3.2 Lập bản đồ liên kết gene

Thông qua việc khảo sát 200 chỉ thị phân tử, có tới 100 chỉ thị phân tử đa hình giữa hai giống lúa bố mẹ được phát hiện, các chỉ thị này lần lượt phân bố từ NST 1 tới NST 12 với số lượng các chỉ thị như sau: NST 1 (20 chỉ thị); NST 2 (7 chỉ thị);

NST 3 (11 chỉ thị); NST 4 (8 chỉ thị); NST 5 (8 chỉ thị); NST 6 (5 chỉ thị); NST 7 (8 chỉ thị); NST 8 (7 chỉ thị); NST 9 (5 chỉ thị); NST 10 (4 chỉ thị); NST 11 (8 chỉ thị); NST 12 (9 chỉ thị). Sản phẩm PCR khuếch đại từ những chỉ thị đa hình này sau khi điện di có kích thước từ 80 đến 350 bp (Hình 2).

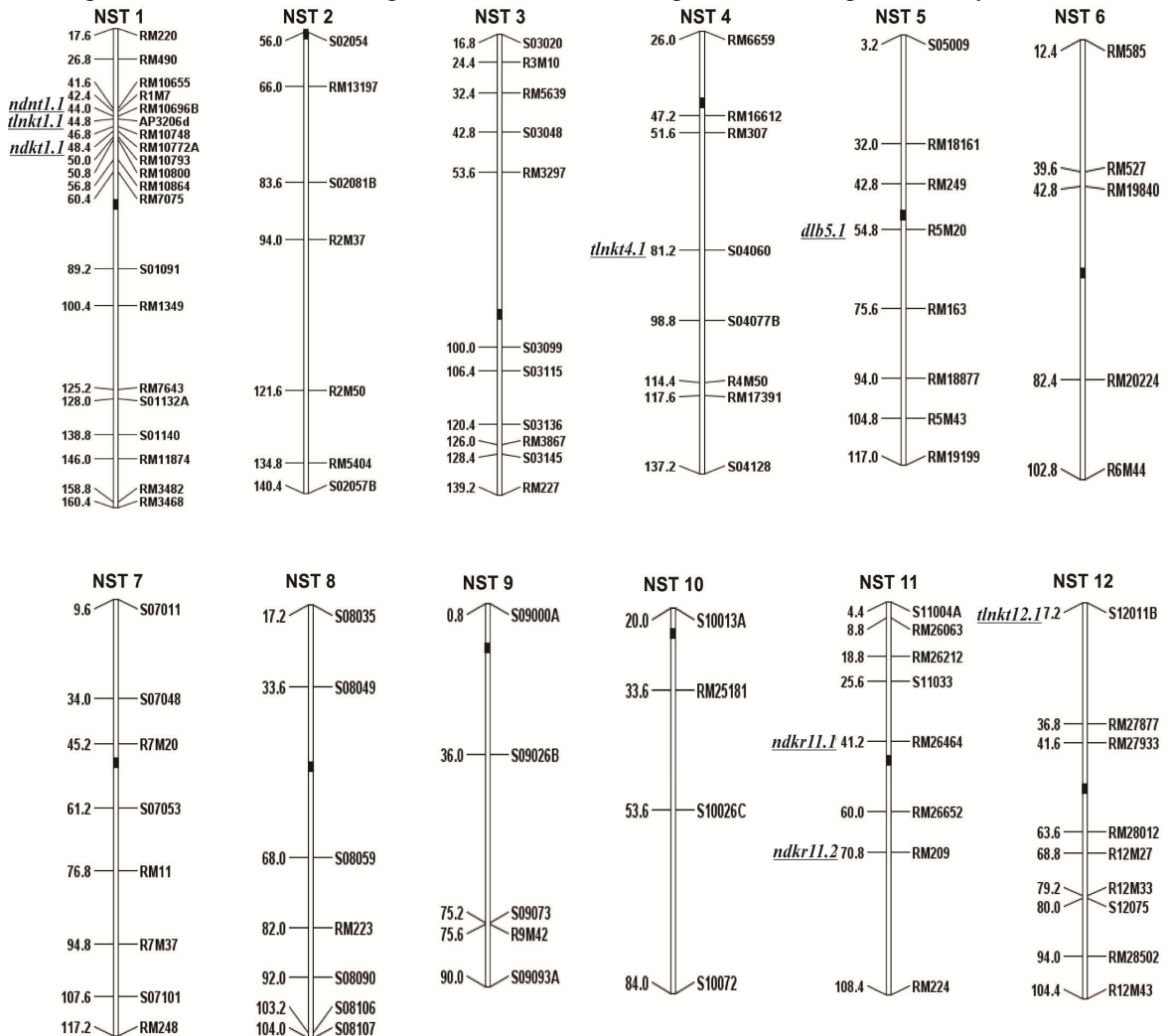


Hình 2: Sản phẩm PCR sử dụng chỉ thị SSR RM10772A (A), S04060 (B), và S12011B (C)

Các band DNA đầu tiên từ bên trái lần lượt thể hiện kiểu gene của con lai F₁ (F₁), lúa bố Kalarata (K) và lúa mẹ Azucena (A), các band tiếp theo từ 1 đến 17 là kiểu gene của một số cá thể con từ tổ hợp lai giữa hai cá bố mẹ, (-) đối chứng âm không sử dụng DNA trong phản ứng PCR

Kiểu gene của quần thể F₃ và 2 bố mẹ được ghi nhận và đưa vào phần mềm QGENE 4.3.2 để xây dựng bản đồ liên kết dựa trên dữ liệu của các chỉ thị phân tử đa hình. Sự phân bố của các chỉ thị phân tử trên toàn bộ gene cây lúa được biểu diễn trên Hình 3, với tổng cộng 100 chỉ thị phân tử độ bao phủ của chúng lên tới 1.405 cM và khoảng cách trung bình giữa các chỉ thị phân tử là 14,05 cM. Các chỉ thị phân tử tập trung nhiều ở nhiễm sắc thể số 1 với khoảng cách trung bình là 7,94 cM, trong khi đó nhiễm sắc thể số 2 có khoảng cách giữa các chỉ thị xa nhất, trung bình là 56 cM. Bản đồ liên kết trong nghiên cứu này có mật độ cao hơn và bao phủ tốt hơn so với một số nghiên cứu trước

đây. Ví dụ năm 2004, Masood *et al.* sử dụng 74 chỉ thị RFLP để lập bản đồ QTL kháng mặn trên lúa; và năm 2006, Long-zhi *et al.* sử dụng 97 chỉ thị SSR để lập bản đồ khả năng chịu lạnh ở lúa trong giai đoạn này mầm. Tuy nhiên, ở nghiên cứu của chúng tôi vẫn còn một số vùng chưa được bao phủ tốt như nhiễm sắc thể số 2, số 9 và số 10. Rõ ràng những khoảng cách lớn giữa các chỉ thị phân tử có thể dẫn đến việc bỏ qua một số QTL tiềm năng đối với tính trạng nghiên cứu, tuy nhiên do sự giới hạn của các chỉ thị phân tử đa hình giữa cặp lúa bố mẹ, những khảo sát tiếp theo đang tiếp tục được tiến hành để bổ sung thêm các chỉ thị phân tử vào những vị trí có khoảng cách xa này.



Hình 3: Bản đồ liên kết và vị trí của các QTL từ thế hệ F₃ của tổ hợp lai Kalarata/Azucena

Thông số bên phải nhiễm sắc thể là tên của chỉ thị SSR và thông số bên trái là vị trí của chỉ 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

Logarithm of the odds ratio (LOD) là một chỉ tiêu quan trọng trong việc xác định độ tin cậy của một QTL được phát hiện, giá trị LOD biểu thị xác suất của QTL xảy ra trong vùng chỉ thị được khảo sát, như vậy LOD càng cao thì xác suất của QTL hiện diện ở vùng có chỉ thị phân tử càng lớn. Dựa trên thuật toán composite interval mapping, ngưỡng phát hiện các QTL được thiết lập với LOD > 3.0, điều này có nghĩa chỉ những QTL liên kết với tính trạng khảo sát có độ tin cậy cao hơn sự xuất hiện của các liên kết ngẫu nhiên 1000 lần trở

lên mới được chấp nhận. Với yêu cầu này, tam QTL liên kết với năm tính trạng được nghiên cứu có LOD > 3.0 được phát hiện (Bảng 1) bao gồm QTL liên quan đến hàm lượng diệp lục B (*dlb5.1*), nồng độ K⁺ ở thân (*ndkt1.1*), nồng độ K⁺ ở rễ (*ndkr11.1*, *ndkr11.2*), nồng độ Na⁺ ở thân (*ndkt1.1*), và tỉ lệ Na⁺/K⁺ ở thân (*tlpkt1.1*, *tlpkt4.1*, *tlpkt12.1*). Các QTL liên quan đến các tính trạng khác diệp lục a, hàm lượng Na⁺ trong rễ chưa được phát hiện điều này có thể do những tính trạng này được điều khiển bởi rất nhiều locus với tác động nhỏ dưới ngưỡng phát hiện của thuật toán được sử dụng.

Bảng 1: Các QTL được phát hiện trong điều kiện ngập mặn giữa tổ hợp lai Kalarata/Azucena.

Tính trạng	NST	Tên QTL	Vị trí QTL	Giá trị LOD	Yếu tố ảnh hưởng	R ² (%)
Diệp lục b	5	<i>dlb5.1</i>	R5M20	3.4	K	8.2
Nồng độ K ⁺ ở thân	1	<i>ndkt1.1</i>	RM10772A	4.4	K	11.0
Nồng độ K ⁺ ở rễ	11	<i>ndkr11.1</i>	RM26464	3.7	A	9.0
	11	<i>ndkr11.2</i>	RM209	3.2	A	8.0
Nồng độ Na ⁺ ở thân	1	<i>ndnt1.1</i>	RM10696B	9.5	A	22.0
Tỉ lệ Na ⁺ /K ⁺ ở thân	1	<i>tlpkt1.1</i>	RM10696B	12.0	A	27.0
	4	<i>tlpkt4.1</i>	S04060	3.3	A	8.2
	12	<i>tlpkt12.1</i>	S12011B	3.3	A	8.2

K: Kalarata; A: Azucena; R²: Tỉ lệ biểu hiện từng QTL đến tổng biểu hiện của tính trạng tương ứng; LOD: Logarithm of Odd; NST: nhiễm sắc thể

QTL *ndkt1.1* liên kết với nồng độ K⁺ cao ở thân được phát hiện trên nhiễm sắc thể số một, QTL này chiếm 11% của tính trạng này và có nguồn gốc từ giống kháng Kalarata. Trong khi đó QTL *ndnt1.1* liên kết với tính trạng nồng độ Na⁺ cao ở trong thân cũng được phát hiện trên nhiễm sắc thể số một và có nguồn gốc từ cây mẹ Azucena mẫn cảm với mặn, QTL này chiếm tới 22% độ biểu hiện của tính trạng đây có thể là nguyên nhân làm cho cây mẹ Azucena mẫn cảm với mặn vì nồng độ Na⁺ cao là nguyên nhân chính dẫn tới sự phát triển kém của lúa, do nồng độ Na⁺ cao quá sẽ dẫn tới cây lúa bị ngộ độc do các stress về áp suất thẩm thấu và nồng độ ion trong tế bào (Walia *et al.*, 2005).

Xác định được các QTL liên quan đến hàm lượng K⁺ và Na⁺ là kết quả quan trọng trong việc ứng dụng vào thực tế chọn tạo giống lúa. Kết quả của Gregorio *et al.*, (2002) chỉ ra rằng có sự ảnh hưởng cộng gộp của yếu tố nồng độ Na⁺ thấp và nồng độ K⁺ trong thân lúa, điều này rất có tiềm năng trong lai tạo lúa chịu mặn bằng cách chuyển các QTL chịu trách nhiệm duy trì tỉ lệ Na⁺/K⁺ thấp để tăng cường khả năng kháng mặn của những giống lúa nhiễm.

Ngoài ra, kết quả cũng cho thấy rằng những QTL phát hiện ở thân hoàn toàn khác so với các QTL phát hiện ở rễ. Có tới 2 QTL đảm nhận việc duy trì nồng độ K⁺ cao ở rễ ở nhiễm sắc thể 11, trong khi đó không phát hiện QTL đối với nồng độ Na⁺ trong rễ và chỉ có một QTL cho nồng độ K⁺ và một cho nồng độ Na⁺ ở thân nằm trên nhiễm sắc thể số 1. Điều này có thể do sự hấp thu và vận chuyển hai loại ion này được điều khiển bởi những cơ chế khác nhau khi cây lúa chịu ngập mặn. Ngay từ 1993, Gregorio và Senadhira đã phát hiện hai nhóm gene liên quan đến khả năng hấp thu Na⁺ và K⁺, trong đó một nhóm liên quan đến khả năng loại bỏ Na⁺ ra khỏi tế bào và nhóm còn lại kiểm soát việc hấp thu ion K⁺. Gần đây hơn, Koyama *et al.* (2001), cho rằng QTL chịu trách nhiệm cho tỉ lệ Na⁺/K⁺ thấp có thể hoạt động khác với QTL chịu trách nhiệm cho việc hấp thu Na⁺. Điều này có thể giải thích tại sao có sự khác biệt giữa các QTL cho nồng độ Na⁺ và K⁺ ở thân và rễ.

QTL kiểm soát nồng độ Na⁺ và tỉ lệ Na⁺/K⁺ ở thân được phát hiện cùng vị trí ở tay ngắn của nhiễm sắc thể 1 chứng tỏ vị trí này kiểm soát cả hai tính trạng. Hai QTL này ở vị trí 44 cM trùng hợp

với vị trí của QTL chịu mặn *Saltol* đã được phát hiện trước đây nằm ở vị trí từ 43,2 và 65,6 cM (Thomson *et al.*, 2007) và có chỉ số R^2 lần lượt chiếm 39,2, 43,9 và 43,2% biểu hiện của các tính trạng nồng độ Na^+ , nồng độ K^+ và tỉ lệ Na^+/K^+ (Bonilla *et al.* 2002). Việc nhiều QTL liên quan đến các tính trạng khác nhau nằm cùng một vị trí trên nhiễm sắc thể số 1 chứng tỏ rằng những tính trạng này có chức năng liên quan tới nhau. Các tính trạng có thể do một gene hoặc do nhiều gene liên kết chặt với nhau kiểm soát. Kết quả tương tự được phát hiện bởi Koyama *et al.* (2001) khi nhóm nghiên cứu xác định nhiều QTL kiểm soát nồng độ K^+ , khả năng hấp thu Na^+ và tỉ lệ Na^+/K^+ ở khu vực nhiễm sắc thể này.

4 KẾT LUẬN

Lập bản đồ QTL chịu mặn của cây lúa là việc phân tích thông kê để tìm ra sự liên kết giữa các tính trạng liên quan đến khả năng chịu mặn và sự tần số xuất hiện của các chỉ thị phân tử trong kiểu gene của các cá thể lúa trong một tổ hợp lai. Trong nghiên cứu này, tám QTL được phát hiện liên kết chặt tới năm tính trạng kháng mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ bao gồm *dlb5.1*, *ndkt1.1*, *ndkr11.1*, *ndkr11.2*, *ndnt1.1*, *tlnt1.1*, *tlnt4.1*, và *tlnt12.1*. Những QTL phát hiện trong nghiên cứu này có thể ứng dụng trong công tác lai tạo giống lúa chịu mặn, hoặc có thể dùng để xác định những gene cụ thể liên quan đến cơ chế kháng mặn của lúa ở giai đoạn mạ. Tuy nhiên, những nghiên cứu tiếp theo cần tiếp tục được thực hiện để bổ sung thêm nhiều chỉ thị phân tử vào những vị trí còn trống trên bản đồ liên kết để nâng cao mức độ chính xác của việc phát hiện QTL cũng như có thể phát hiện được những locus có tác động nhỏ tới các tính trạng chịu mặn. Cần phát triển quần thể NIL (Near-isogenic line) lớn hơn để thực hiện thực hiện fine mapping cho những QTL đã được phát hiện trong nghiên cứu này, từ đó có thể sử dụng hiệu quả hơn trong công tác lai tạo giống lúa kháng mặn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bonilla P., J. Vorak, D. Mackill, D. K. Deal, and G. Gregorio. 2002. RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines. *Philippine Journal of Agricultural Science*, 85: 68-76.

Gregorio G. B., and D. Senadhira. 1993. Genetic analysis of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 86:333-338.

Gregorio G. B., D. Senadhira, R. D. Mendoza, R. D. Manigbas, N. L Rozas, and C. Q. Guerta. 2002. Progress in breeding for salinity and associated abiotic stress in rice. *Field Crops Research*. 76: 91-101.

Haq T. U., J. Akhtar, J. Gorham, K. A. Steele, and M. Khalid. 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.

IRRI. 1996. Standard Evaluation System Manual. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Ismail A. M., S. Heuer, M. J. Thomson, and M. Wissuwa. 2007. Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. *Plant Molecular Biology*, 65:547-570.

Koyama M. L., A. Levesley, R. M. D. Koebner, T. J. Flowers and A. R. Yeo. 2001. Quantitative Trait loci for component Physiological Traits Determining Salt Tolerance in Rice. *Plant Physiology* 125: 406-422.

Lang N. T., S. Yanagihara, and B. C. Buu. 2000. Quantitative trait loci for salt tolerance in rice via molecular markers. *OmonRice* 8:37-48.

Lin H. X., Zhu M. Z., M. Yano, J. P. Gao, A. W. Liang, W. A. Su, X. H. Hu, Z. H. Ren and D. Y. Chao. 2004. QTLs for Na^+ and K^+ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 253-260.

Long-Zhi H., Z. Y. Yuan, Q. Y. Li, C. G. Lan, Z. S. Yuan, K. J. Hwan, and K. K. Jong. 2006. Genetic and QTL analysis of Low-temperature vigor of germination rice. *Acta Genetica Sinica* 33(11):998-1006.

Masood M. S., Y. Seiji, Z. K. Shinwari, and R. Anwar. 2004. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for salt tolerance in rice (*Oryza sativa*) using RFLPs. *Pakistan Journal of Botany*, 36(4):825-834.

McCouch S.R., G. Kochert, Z.H. Yu, Z.Y. Wang, G.S. Khush, R.W. Coffman, and S.D. Tanksley. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theoretical Applied Genetics* 76:815-829.

Moradi F., A. M. Ismail, G. Greorio, and J. Egdane. 2003. Salinity tolerance of rice during

- reproductive development and association with tolerance at seedling stage. *Indian Journal of Plant Physiology*, 8:105-116.
- Munns R., H. Greenway, and G. O. Kirst. 1983. Halotolerant eukaryotes. In: *Physiological plant ecology. III. Responses to the Chemical and Biological Environment* (eds O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. H. Zeigler.), *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, Springer-Verlag, Berlin 12C:59-135.
- Nelson J. C. 1997. QGENE. Software for mapping based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding*, 3:239-245
- Nguyen D. B. 2001. Molecular mapping of aluminium tolerance in rice. PhD dissertation, Texas Tech University.
- Ponnamperuma F. N. 1984. Role of cultivar tolerance in increasing rice production in saline lands. In: *Salinity tolerance in plants. Strategies for crop improvement.* (Eds.): R.C. Staples and G.H Toenniessen. Wiley-Interscience. New York: 255-271.
- Ren Z. H., J. P. Gao, L. G. Li , X.L. Cai, W. Huang, D.Y. Chao, M. Z. Zhu, Z.Y. Wang, S. Luan, and H. X. Lin. 2005. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nature Genetics*, 37: 1141-1146.
- Thomson M. J., M. de Ocampo, J. Egdane, M. Katimbang, M. A. Rahman, R. K. Singh, G. B. Gregorio, and A. M. Ismail. 2007. QTL Mapping and Marker-assisted Backcrossing for Improved Salinity Tolerance in Rice. *BioAsia* (www.bioasia-2007.com), Supplement Papers: 6-12.
- Thomson M. J., A. M. Ismail, S. R. Mccouch, and D. J. Mackill. 2010. Marker Assisted Breeding. In: *Abiotic stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation.* A. Pareek, S.K. Sopory, H.J. Bohnert and Govindjee (eds.). Springer Science: 451-469.
- Thomson M.J., M. de Ocampo, J. Egdane, M.A. Rahman, A.G. Sajie, D.L Adorada, E. Tumingbang-Raiz, E. Blumwald, Z.I. Seraji, R.K. Singh, G.B. Gregorio, and A.M. Ismail. 2010. Characterizing the Saltol Quantitative Trait Locus for salinity tolerance in rice. *Rice* 3: 148-160.
- Walia H., C. Wilson, P. Condamine, X. Liu, A. M. Ismail, L. Zeng, S. I. Wanamaker, J. Mandal, J. Xu, X. Cui, and T. J. Close. 2005. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice genotypes under salinity stress during the vegetative growth stage. *Plant Physiology* 139:822-835.
- Yano M., and T. Sasaki. 1997. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Molecular Biology*, 4:130-135.
- Yoshida S., D. Forno, J. Cock, and K. Gomez. 1976. *Laboratory manual for Physiological studies of Rice.* International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Zeng Z. B. 1994. Precision Mapping of Quantitative Trait Loci. *Genetics* 136: 1457-1468.