

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất đến các thầy giáo, cô giáo khoa Sinh học, trường Đại học sư phạm Hà Nội đã trang bị kiến thức cho tôi trong suốt quá trình học tập.

Đặc biệt, xin gửi lời cảm ơn chân trọng nhất đến **TS. Khuất Hữu Trung**, Phó trưởng Bộ môn Kỹ thuật di truyền, Viện Di truyền Nông nghiệp đã tận tình hướng dẫn tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài tốt nghiệp này.

Xin gửi lời cảm ơn tới các cô chú, anh chị, các bạn đang làm việc tại Bộ môn Kỹ thuật di truyền, viện Di truyền Nông nghiệp đã giúp đỡ tôi trong việc thu thập, tìm tài liệu, tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình nghiên cứu, và cho tôi những lời khuyên quý giá để luận văn có thể hoàn thiện hơn.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn cha mẹ, anh chị em trong gia đình, bạn bè đã luôn sát cánh hỗ trợ và động viên về cả vật chất lẫn tinh thần để tôi có thể toàn tâm, toàn ý cho công việc.

Xin chân thành cảm ơn.

Hà Nội, ngày 05 tháng 11 năm 2012

Học viên

Nguyễn Thị Thảo

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ABA:	Axit abscisic
ADN:	Acid deoxyribonucleic
AFLP:	Amplified fragment length polymorphism
ARN:	Acid ribonucleic
CTAB:	Cetyl trimetyl amonium bromit
dNTP:	Dideoxyribo nucleozit triphosphat
EtBr:	Ethidium Bromide
EDTA:	Etylen diamine tetra acetic acid
FAO:	The World Food Organization
HSPs:	Heat shock protein
IRRI:	International Research Rice Institute
LEA:	Late embryogenesis abundant protein
NTSYS:	Numerial taxonomy system
PCR:	Polymerase chain reaction
PIC:	Polymorphic Information Content
QTL:	Quantitative trait loci
RAPD:	Random amplyfied polymorphic DNA
RE:	Restriction enzyme
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
SDS:	Sodium dodecyl sunphate
SSR:	Simple sequence repeats
STS :	Sequence Tagged Site
TAE:	Tris-acetat-acid EDTA
TE:	Tris EDTA
WUE:	Water use efficiency

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
1. Lí do chọn đề tài	1
2. Mục đích nghiên cứu	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài	2
4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu	2
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Vài nét sơ lược về cây lúa	3
1.2. Khái niệm về hạn và phân loại hạn	5
1.2.1. Khái niệm về hạn	5
1.2.2. Phân loại hạn	6
1.3. Ảnh hưởng của hạn hán đến sản xuất nông nghiệp	7
1.3.1. Ảnh hưởng của hạn đến thực vật	7
1.3.2. Tác động của hạn đến sản xuất nông nghiệp	8
1.4. Đặc tính chịu hạn và nghiên cứu tính chịu hạn ở cây lúa	10
1.4.1. Đặc điểm hình thái và sinh lí lúa chịu hạn	10
1.4.2. Cơ sở sinh lí, hóa sinh của tính chịu hạn	11
1.4.3. Cơ sở phân tử của tính chịu hạn	12
1.4.4. Thể hiện của gen điều khiển tính chống chịu khô hạn	14
1.5. Nghiên cứu đa dạng di truyền trên cây lúa	18
1.5.1. Vị trí và tầm quan trọng của đa dạng di truyền	18
1.5.2. Các phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền	19
1.5.3. Nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền cây lúa	21
1.6. Chọn tạo giống lúa chịu hạn	24
1.6.1. Chọn tạo lúa chịu hạn trên thế giới	24
1.6.2. Chọn tạo giống lúa chống chịu hạn ở Việt Nam	27
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	30
2.1. Vật liệu	30
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	30
2.1.2. Hóa chất	31
2.2. Phương pháp nghiên cứu	35
2.2.1. Tách chiết ADN tổng số và đo độ tinh sạch	35

2.2.2. Nhân ADN bằng kỹ thuật SSR- PCR.....	36
2.2.3. Kiểm tra kết quả PCR trên gel Agarose 3,0%.	37
2.2.4. Phân tích và xử lý số liệu	38
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	39
3.1. Kết quả tách chiết ADN tổng số	39
3.2. Kết quả phân tích đa hình tập đoàn lúa có khả năng chịu hạn bằng chỉ thị phân tử SSR.....	40
3.2.1. Kết quả phân tích với một số mẫu điển hình	40
3.2.2. Hệ số PIC, số allele và tổng số băng ADN thể hiện trên từng cặp mẫu	43
3.2.3. Tỷ lệ dị hợp (H%) và tỷ lệ khuyết số liệu (M%) của 40 giống lúa nghiên cứu	45
3.3. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của tập đoàn lúa chịu hạn nghiên cứu	47
3.4. Kết quả xác định các allele hiếm, allele đặc trưng nhận dạng các giống lúa trong tập đoàn nghiên cứu	52
3.4.1. Kết quả xác định các allele hiếm, nhận dạng các giống lúa trong tập đoàn nghiên cứu	52
3.4.2. Kết quả xác định các allele đặc trưng nhận dạng các giống lúa trong tập đoàn nghiên cứu	53
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	57
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Các loài <i>Oryza</i> theo Takeoka (1963) với số nhiễm sắc thể, kiểu gen và phân bố địa lý	4
Bảng 1.2. Đặc trưng hình thái và sinh lý tổng quát của 3 nhóm giống lúa.....	5
Bảng 2.1. Danh sách, số đăng kí (SDK) trong ngân hàng gen và kí hiệu các giống lúa nghiên cứu.....	30
Bảng 2.2. Danh sách 50 môi SSR	33
Bảng 3.1. Số allele thể hiện và hệ số PIC của 23 cặp môi SSR.....	44
Bảng 3.2. Một số kết quả phân tích đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị SSR trên cây lúa đã được công bố	45
Bảng 3.3. Tỷ lệ khuyết số liệu (M) và tỷ lệ dị hợp tử (H) của các giống lúa nghiên cứu	46
Bảng 3.4. Hệ số tương đồng di truyền giữa 40 giống lúa nghiên cứu	49
Bảng 3.5. Hệ số tương đồng di truyền giữa 40 giống lúa nghiên cứu (tiếp).....	50

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Sơ đồ minh hoạ cơ chế phân tử quá trình tham gia đáp ứng điều kiện hạn của các gen ở thực vật.....	13
Hình 1.2. Vị trí của protein hạn hán trên các nhiễm sắc thể ở cây lúa	16
Hình 3.1. ADN tổng số của 40 giống lúa nghiên cứu.....	39
Hình 3.2. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM566 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	40
Hình 3.3. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3515 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	40
Hình 3.4. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM5599 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	41
Hình 3.5. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM1364 (M: 100bp DNA Ladder)	41
Hình 3.6. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3431 (M: 100bp DNA Ladder)	42
Hình 3.7. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3534 (M: 100bp DNA Ladder)	42
Hình 3.8. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM7003 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	42
Hình 3.9. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM25271 (M: 100bp DNA Ladder)	43
Hình 3.10. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM25319 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	43
Hình 3.11. Sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa 40 giống lúa địa phương chịu hạn	48
Hình 3.12. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3467 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	52
Hình 3.13. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM5811 (M: 100bp DNA Ladder)	53

Hình 3.14. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM1155 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	54
Hình 3.15. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3476 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	54
Hình 3.16. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM3468 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	55
Hình 3.17. Ảnh điện di sản phẩm PCR của các giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM6051 (M: øX17 - Hea III digest DNA Ladder)	55

Tailieu.vn

MỞ ĐẦU

1. Lí do chọn đề tài

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là loại cây lương thực có từ rất lâu trên thế giới. Trải qua hàng ngàn năm, đến nay cây lúa đã trở thành nguồn lương thực chính của ½ dân số trên địa cầu. Nó cung cấp 20% tổng năng lượng hấp thụ hàng ngày của nhân loại. Ở hầu hết các nước nông nghiệp, ngành sản xuất lúa gạo đem lại giá trị kinh tế cao và cung cấp việc làm cho hàng triệu lao động.

Việt Nam là một trong những trung tâm phát sinh cây lúa và có tài nguyên di truyền cây lúa vào loại phong phú nhất trên thế giới. Nghề trồng lúa trở thành nghề truyền thống, quan trọng hàng đầu trong nền nông nghiệp của nước ta. Trung bình hàng năm, lúa gạo chiếm trên 60% tổng sản lượng lương thực và được gieo trồng trên 3,96 triệu ha.

Tuy nhiên, do điều kiện địa hình nhiều đồi núi, đồng bằng sát biển hoặc do hậu quả của biến đổi khí hậu, 50% diện tích lúa đang được canh tác trong điều kiện môi trường rất bất bênh, dễ bị tác động bởi các yếu tố ngoại cảnh bất lợi như hạn, mặn, lạnh... Trong đó, khô hạn là một trong những vấn nạn làm cho năng suất bị giảm mạnh, sản phẩm nông nghiệp không ổn định. Hậu quả của biến đổi khí hậu toàn cầu làm cho hạn hán xảy ra thường xuyên trên diện rộng và đã vượt tầm kiểm soát của con người. Vấn đề hạn hán càng trở nên bức xúc khi hầu hết diện tích đất canh tác bị hạn nặng lại tập trung ở vùng sâu, vùng xa, vùng nông thôn nghèo, nơi mà cuộc sống người dân chủ yếu dựa vào sản phẩm nông nghiệp.

Hiện nay, hạn hán là nguyên nhân cản trở rất lớn cho việc phát triển bền vững nền nông nghiệp của nước ta, vì vậy việc nghiên cứu, đánh giá các nguồn gen liên quan đến tính chịu hạn ở thực vật nói chung và ở cây lúa nói riêng để nâng cao khả năng chịu hạn, ổn định năng suất ở cây trồng trở thành vấn đề thời sự mang tính cấp bách và cần thiết. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài: ***“Đánh giá đa dạng di truyền tập đoàn lúa có khả năng chịu hạn của Việt Nam bằng chỉ thị SSR”*** nhằm tạo lập cơ sở dữ liệu cho nguồn gen lúa chịu hạn bản địa Việt Nam phục vụ công tác nghiên cứu, chọn tạo giống lúa chịu hạn.

2. Mục đích nghiên cứu

Đánh giá mức độ đa dạng di truyền của tập đoàn giống lúa chịu hạn bản địa của Việt Nam ở mức phân tử và xác định mối quan hệ di truyền giữa các nguồn gen ở các địa phương khác nhau phục vụ cho công tác bảo tồn, khai thác và sử dụng có hiệu quả các nguồn gen lúa chịu hạn bản địa của Việt Nam.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

Cung cấp thêm nhiều dữ liệu, thông tin khoa học hữu ích cho công tác nghiên cứu phân tích đa dạng di truyền của giống lúa chịu hạn.

Hiểu biết về đa dạng di truyền của các nguồn gen lúa chịu hạn tạo cơ sở lý luận cho việc chọn lọc, phục tráng để nâng cao tiềm năng di truyền của các giống lúa chịu hạn trong sản xuất.

Phát hiện sai khác di truyền của các giống lúa chịu hạn có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định các allele hiếm, allele đặc trưng để nhận dạng chính xác các nguồn gen ưu tú phục vụ nghiên cứu lai tạo giống và định hướng cho công tác thu thập bảo tồn đa dạng nguồn gen lúa chịu hạn ở mức phân tử.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Nghiên cứu đa dạng di truyền thông qua các chỉ thị phân tử góp phần nâng cao hiệu quả công tác bảo tồn và chọn tạo giống lúa có phẩm chất gạo tốt, năng suất cao, có khả năng chịu hạn, phù hợp với điều kiện canh tác lúa vùng khô hạn và cơ cấu sản xuất lúa vùng khô hạn ở Việt Nam.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

4.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là lúa là tập đoàn 39 giống lúa có đặc tính chịu hạn được thu thập ở nhiều địa phương khác nhau, các giống này đang được lưu giữ, bảo tồn tại ngân hàng gen Trung tâm Tài nguyên Thực vật, Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long và 01 giống lúa tham khảo (IR64) là giống miễn cảm với khô hạn.

4.2. Phạm vi nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu, đánh giá nguồn gen lúa ở mức phân tử bằng chỉ thị SSR; Các thí nghiệm được tiến hành tại Bộ môn Kỹ thuật Di truyền - Viện Di Truyền Nông nghiệp.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Vài nét sơ lược về cây lúa

Cây lúa thuộc họ hòa thảo (Graminae), tộc *Oryzae*, chi *Oryza*, có tổng số nhiễm sắc thể $2n = 24$. *Oryza* có khoảng 20 loài phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới ẩm của Châu Phi, Nam và Đông Nam Châu Á, Nam Trung Quốc, Nam và Trung Mỹ và một phần ở Châu Úc. Trong đó, chỉ có 2 loài là lúa trồng, còn lại là lúa hoang hằng niên và đa niên. Loài lúa trồng quan trọng nhất, thích nghi rộng rãi và chiếm đại bộ phận diện tích lúa thế giới là *Oryza sativa* L. Loài này hầu như có mặt ở khắp nơi từ đầm lầy đến sườn núi, từ vùng xích đạo, nhiệt đới đến ôn đới, từ khắp vùng phù sa nước ngọt đến vùng đất cát sỏi ven biển nhiễm mặn, phèn... Một loài lúa trồng khác là *Oryza glaberrima* Steud, chỉ được trồng giới hạn ở một số quốc gia Tây Châu Phi và hiện đang bị thay thế dần bởi *Oryza sativa* L. [13].

Tateoka (1963) (trong Oka, 1988) lại phân biệt 22 loài, trong đó, cũng thống nhất 2 loài lúa trồng *O. sativa* L. và *O. glaberrima* Steud. Tateoka xem dạng lúa Châu Phi (*O. perennis* Moench) như là một loài riêng *O. barthii* A. Chev., và dạng lúa Châu Á và Châu Mỹ thuộc về loài *O. rufipogon* Griff. Tateoka cũng bổ sung 2 loài mới: *O. longiglumis* Jansen và *O. angustifolia* Hubbard (Bảng 1.1) [47].

Năm 1928 - 1930, các nhà nghiên cứu Nhật Bản đã phân loại lúa trồng thành 2 nhóm “*Indica*” và “*Japonica*” dựa trên cơ sở phân bố địa lý, hình thái cây và hạt, độ bất dục khi lai tạo và phản ứng huyết thanh (Serological reaction). Các nhà nghiên cứu Nhật Bản sau đó đã thêm một nhóm thứ 3 “*Javanica*” để đặt tên cho giống lúa cổ truyền của Indonesia là “bulu” và “gundil”. Tên gọi của 3 nhóm thể hiện nguồn gốc xuất phát của các giống lúa từ 3 vùng địa lý khác nhau. Từ “*Janvanica*” có gốc từ chữ Java là tên của một đảo của Indonesia. Từ “*Japonica*” có lẽ xuất xứ từ chữ Japan là tên nước Nhật Bản. Còn “*Indica*” có lẽ có nguồn gốc từ India (Ấn Độ) (Bảng 1.2) [5].

**Bảng 1.1. Các loài *Oryza* theo Takeoka (1963) với số nhiễm sắc thể,
kiểu gen và phân bố địa lý [47]**

Nhóm/loài	2n	Kiểu gen	Phân bố địa lý
Nhóm <i>Oryzae</i>			
Sativa L.	24	AA	Khắp thế giới, lúa trồng
Rufipogon Griff.	24	AA	Châu Á, Châu Mỹ
Barthii A. Chev.	24	AA	Châu Phi
glaberrima Steud.	24	AA	Châu Phi, lúa trồng
breviligulata A. Chev. et Roehr.	24	AA	Châu Phi
australiensis Domin	24	EE	Châu Úc
eichingeri A. Peter	24	CC	Châu Phi
punctata Kotschy	24, 48	BB, BBCC	Châu Phi
officinalis Wall.	24	CC	Châu Á
minuta J.S. Presl	48	BBCC	Châu Á
latifolia Desv.	48	CCDD	Châu Mỹ
alta Swallen	48	CCDD	Châu Mỹ
grandiglumis Prod.	48	CCDD	Châu Mỹ
Nhóm <i>Schlechterianae</i>			
schlechteri Pilger			New Guinea
Nhóm <i>Granulatae</i>			
meyeriana Baill.	24	Châu Á	
Nhóm <i>Ridleyanae</i>			
ridleyi Hook. F.	48	Châu Á	
longiglumis Jansen	48	New Guinea	
Nhóm <i>Angustifoliae</i>			
brachyantha A. Chev. et Roehr.	24	FF	Châu Phi
angustifolia Hubbard	24	Châu Phi	
perrieri A. Camus	24	Malagasy	
Tisseranti A. Chev.	24	Châu Phi	
Nhóm <i>Coarctatae</i>			
Coarctata Roxb.	48	Châu Á	

Nguồn: Oka, 1988 [39]

Bảng 1.2. Đặc trưng hình thái và sinh lý tổng quát của 3 nhóm giống lúa

Đặc tính	INDICA	JAVANICA	JAPONICA
Thân	-Thân cao	-Thân cao trung bình	Thân thấp
Chồi	-Nở bụi mạnh	-Nở bụi thấp	Nở bụi trung bình
Lá	-Lá rộng, xanh nhạt	-Lá rộng, cứng, xanh nhạt	Lá hẹp, xanh đậm
Hạt	-Hạt thon dài, dẹp -Hạt hầu như không có đuôi -Trấu ít lông và lông ngắn -Hạt dễ rụng	-Hạt to, dày -Hạt không có đuôi hoặc có đuôi dài -Trấu có lông dài -Ít rụng hạt	-Hạt tròn, ngắn -Hạt không đuôi tới có đuôi dài -Trấu có lông dài và dày -Ít rụng hạt
Sinh học	-Tính quang cảm rất thay đổi	-Tính quang cảm rất yếu	-Tính quang cảm rất thay đổi

Nguồn: Chang, 1985 [22].

Hiện nay, diện tích trồng lúa chiếm trên 1/10 diện tích đất trồng trên thế giới và có 15 nước trên thế giới trồng lúa với diện tích hơn 1 triệu ha, trong đó có tới 13 nước thuộc Châu Á. Riêng Trung Quốc và Ấn Độ chiếm khoảng 50% diện tích trồng lúa và 56% sản lượng lúa toàn cầu. Bangladesh, Indonexia, Thái Lan mỗi nước đều có diện tích trồng lúa lớn hơn tổng diện tích trồng lúa của tất cả các nước Mỹ La tinh. Châu Phi có diện tích trồng lúa gần bằng diện tích trồng lúa của Việt Nam, nhưng sản lượng lúa lại thấp hơn Việt Nam từ 2-3 lần.

1.2. Khái niệm về hạn và phân loại hạn

1.2.1. Khái niệm về hạn

Bất cứ một cây trồng nào cũng cần có nước để duy trì sự sống. Mức độ cần nhiều hay ít phụ thuộc vào từng loại cây trồng và từng giai đoạn phát triển của chúng. Hạn đối với thực vật là khái niệm chỉ sự thiếu nước do môi trường gây nên trong suốt quá trình sống hay trong từng giai đoạn, làm ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển. Mức độ tổn thương của cây trồng do khô hạn gây ra có nhiều mức độ khác nhau: chết, chậm phát triển hay phát triển bình thường. Những cây trồng phát triển bình thường trong điều kiện khô hạn gọi là “**cây chịu hạn**” và

khả năng có thể giảm thiểu mức độ tổn thương do thiếu hụt nước gây ra gọi là “**tính chịu hạn**” [9].

Tuy nhiên, khó có thể xác định được thể nào là trạng thái hạn đặc trưng vì mức độ khô hạn do môi trường gây nên khác nhau theo từng mùa, từng năm, từng vùng địa lý và không thể dự đoán trước được. Mức độ khô hạn do môi trường gây nên ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của cây, nhẹ thì giảm năng suất, nặng thì có thể dẫn đến tình trạng hủy hoại cây, mùa màng [43]...

Dưới tác động các yếu tố gây hạn của môi trường như thành phần thổ nhưỡng, thời tiết, khí hậu, nhiệt độ cao, gió nóng... đã gây nên hiện tượng thiếu nước của cây, mà nguyên nhân chính là do mất cân bằng áp suất thẩm thấu giữa cây và môi trường, dẫn đến sự thiếu hụt nước trong tế bào. Trong trường hợp này, tác động của môi trường bên ngoài rất lớn gây ảnh hưởng đáng kể lên sự phát triển của cây. Thông thường, hạn được phân biệt thành 3 loại là hạn không khí, hạn đất và hạn toàn diện [6].

1.2.2. Phân loại hạn

1.2.2.1. Hạn không khí

Hạn không khí thường có đặc trưng là nhiệt độ cao ($39 - 42^{\circ}\text{C}$) và độ ẩm thấp ($< 65\%$). Hiện tượng này thường gặp ở những tỉnh miền Trung nước ta vào những đợt gió Lào và ở vùng Bắc bộ vào cuối thu, đầu đông. Hiện tượng này còn xuất hiện ở một số nước trên thế giới như gió Chamsin ở Israel; gió Mistral ở miền nam nước Pháp... đã làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến một số loài cây trồng như phong lan, cam, chanh, đậu tương [42]...

Hạn không chỉ ảnh hưởng trực tiếp lên các bộ phận của cây như hoa, lá, chồi non,... mà còn ảnh hưởng đến quá trình tung phấn của cây. Đối với thực vật nói chung và cây lúa nói riêng thì hạn không khí thường gây ra hiện tượng héo tạm thời vì nhiệt độ cao, độ ẩm thấp, làm cho mức độ thoát hơi nước nhanh vượt qua mức độ bình thường, lúc đó rễ hút nước không đủ bù lại lượng nước mất, cây lâm vào tình trạng mất cân bằng về nước. Nước cũng là sản phẩm khởi đầu, trung gian và giai đoạn cuối cùng của quá trình chuyển hóa hóa sinh, là môi trường để các phản ứng trao đổi chất xảy ra [50]. Vì vậy, việc cung cấp đủ nước cho cây chính là một biện

pháp canh tác quan trọng. Hướng nghiên cứu tăng cường tính chịu hạn của cây trồng là một trong những mục tiêu của các nhà tạo chọn giống.

Mức độ thiếu hụt nước càng lớn thì ảnh hưởng càng xấu đến quá trình sinh trưởng của cây. Thiếu nước nhẹ thì giảm tốc độ sinh trưởng, thiếu nước trầm trọng sẽ dẫn đến biến đổi hệ keo nguyên sinh chất, làm tăng quá trình già hóa tế bào. Khi bị khô kiệt nước, nguyên sinh chất bị đứt vỡ cơ học dẫn đến tế bào mô bị tổn thương và chết.

1.2.2.2. Hạn đất

Mức độ khô hạn của đất tùy thuộc vào sự bốc hơi nước trên bề mặt và khả năng giữ nước của đất. Hạn đất sẽ làm cho áp suất thẩm thấu của đất tăng cao đến mức cây không thể lấy nước qua tế bào rễ, vì thế hạn đất có thể gây ra cho cây héo lâu dài. Hạn đất tác động trực tiếp đến bộ phận rễ làm ảnh hưởng rất lớn đến quá trình sinh trưởng và phát triển của cây. Đối với cây trồng cạn, hạn đất cũng ảnh hưởng nghiêm trọng đến giai đoạn gieo hạt và nảy mầm. Lượng nước trong đất không đủ làm co mầm và héo; nếu thiếu nước nặng sẽ gây thui chột mầm và chết.

1.2.2.3. Hạn toàn diện

Hạn toàn diện là hiện tượng khi có cả hạn đất và hạn không khí xảy ra cùng một lúc. Trong trường hợp này, cùng với sự mất nước do không khí làm cho hàm lượng nước trong lá giảm nhanh dẫn đến nồng độ dịch bào tăng lên, mặc dù sức hút nước từ rễ của cây cũng tăng nhưng lượng nước trong đất đã cạn kiệt không đủ cung cấp cho cây. Hạn toàn diện thường dẫn đến hiện tượng héo vĩnh viễn, cây không có khả năng phục hồi. Ở nước ta, hạn toàn diện thường xảy ra ở các tỉnh miền Trung (Nghệ An, Hà Tĩnh,...) gây nên thiệt hại đáng kể cây trồng nói chung và cây lúa nói riêng.

1.3. Ảnh hưởng của hạn hán đến sản xuất nông nghiệp

1.3.1. Ảnh hưởng của hạn đến thực vật

Mỗi cây trồng có một giới hạn nhất định đối với các nhân tố sinh thái của môi trường như hạn, nóng, lạnh, mặn,... Nếu ở ngoài giới hạn đó có thể gây hại cho sự sinh trưởng và phát triển của cây, giảm năng suất sinh học [16]. Đối với thực vật, khái niệm “hạn” dùng để chỉ sự thiếu hụt nước do môi trường gây nên trong suốt cả

quá trình hay trong từng giai đoạn, làm ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây. Mức độ tổn thương của cây trồng do khô hạn gây ra có nhiều mức khác nhau như chết, chậm phát triển hay phát triển tương đối bình thường. Những cây trồng có khả năng duy trì sự phát triển và cho năng suất tương đối ổn định trong điều kiện khô hạn được gọi là cây chịu hạn và khả năng của thực vật có thể giảm thiểu mức độ tổn thương do thiếu hụt nước gây nên gọi là tính chịu hạn [9].

Hạn dẫn đến một số biến đổi trong mô và tế bào như làm biến tính và kết tủa protein, làm tăng độ lỏng của lipid màng, mở xoắn các axit nucleic. Hạn cũng phá hoại hệ thống quang hóa II trên màng thylacoid. Ảnh hưởng của hạn trước hết là gây ra sự mất nước của tế bào và mô. Thiếu nước nhẹ làm ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng, thiếu nước nặng gây biến đổi hệ keo nguyên sinh chất, già hóa tế bào, làm cho cây bị héo. Cuối cùng hệ nguyên sinh chất bị đứt vỡ cơ học dẫn đến tế bào và mô bị tổn thương và chết. Hạn là nguyên nhân chính của sự mất mùa và làm giảm năng suất gieo trồng [16]. Phản ứng của cây đối với hạn là sự đóng khí khổng, giảm tỷ lệ thoát hơi nước của mô, giảm quang hợp và làm tăng tích lũy axit abscisic (ABA), prolin, manitol, sorbitol, sự cấu thành nhóm ascobat, glutathione, α -tocopherol,... và sự tổng hợp protein mới [54].

1.3.2. Tác động của hạn đến sản xuất nông nghiệp

Hạn hán là một trong những nguyên nhân chính làm giảm năng suất cây trồng và làm cho sản lượng nông nghiệp toàn cầu không ổn định. Hàng năm, các điều kiện bất lợi của môi trường làm giảm 50% năng suất mùa màng, trong đó tính riêng hạn hán chiếm tới 15%. Thậm chí ở một số nơi có mực nước ngầm thấp, có năm hạn làm giảm 100% năng suất mùa màng [19].

Tại Trung Quốc, hạn hán nghiêm trọng thường xuyên xảy ra ở các tỉnh miền Bắc. Tình trạng hạn hán kéo dài từ cuối tháng 7/2009 đã ảnh hưởng nghiêm trọng vùng trồng ngô lớn nhất Trung Quốc và có nguy cơ thu hẹp 60% diện tích trồng trọt. Đây là trận hạn hán nghiêm trọng nhất quốc gia này trong vòng 60 năm qua và tác động lên hầu hết các vùng sản xuất lúa mì trong lãnh thổ Cộng hòa Nhân dân Trung Hoa. Ngoài việc phá hủy vụ mùa lúa mì, hạn hán còn gây ra tình trạng thiếu nước cho ước tính khoảng 2,31 triệu người và 2,57 triệu gia súc. Trong

8 tỉnh chịu tác động, 20% đất nông nghiệp và 35% tổng diện tích lúa mì đều bị ảnh hưởng. Đến tháng 2 năm 2011, trận hạn hán ảnh hưởng lên diện tích 7,73 triệu hécta lúa mì vụ đông sắp được thu hoạch. Theo FAO, thiệt hại vụ thu hoạch lúa mì của Trung Quốc có khả năng là một yếu tố đã làm tăng giá lúa mì trên toàn thế giới vào đầu năm 2011 [42].

Ấn Độ cũng đang phải đối mặt với đợt hạn hán nghiêm trọng nhất trong vòng 7 năm qua. Hiện nay đã có hơn 1/3 số quận của Ấn Độ rơi vào tình trạng hạn hán. Thiếu hụt lượng mưa cần thiết có thể khiến tăng trưởng kinh tế của quốc gia này giảm sút 1% trong năm 2006. Đợt hạn hán tồi tệ nhất trong lịch sử gần 20 năm qua tại Thái Lan vào năm 2002 đã đẩy quốc gia xuất khẩu gạo lớn nhất thế giới đối mặt với vụ mùa thất thu. Và theo thông báo mới nhất của cơ quan ngăn ngừa và giảm thiểu thảm họa Thái Lan, 354 huyện thuộc 47 trên tổng số 77 tỉnh, thành của nước này nằm trong khu vực thảm họa hạn hán [42].

Ở Việt Nam, hạn hán xảy ra ngày càng kéo dài hơn trước và ảnh hưởng ngày càng trầm trọng hơn đối với sản xuất nông nghiệp. Hạn hán năm 1962 ở Bắc bộ và Bắc Trung bộ đã phá huỷ 370.000ha hoa màu. Trận hạn hán 1982 đã tàn phá 180.000ha cây màu ở đồng bằng sông Cửu Long. Trong năm 1983, chúng ta đã mất 291.000ha trồng lúa do hạn hán. Vụ Đông Xuân năm 1992 - 1993, sản lượng lúa của đồng bằng sông Cửu Long giảm 559.000 tấn. Năm 1993 khoảng 175.000ha ở miền Trung bị hạn, trong đó 35.000ha bị chết hoàn toàn, mất khoảng 150.000 tấn lương thực. Vụ hạn 1994 - 1995 ở Đắc Lắc được xem là nặng nề nhất trong 50 năm gần đây, đã làm giảm doanh thu từ cây cà phê khoảng 600 tỉ đồng. Trận hạn hán khác năm 1995 - 1996 ở Miền Bắc tàn phá hoa màu khoảng 13.380ha của vùng Trung Du và 100.000ha vùng đồng bằng sông Hồng. Đặc biệt, hạn hán năm 1998 xảy trên toàn lãnh thổ Việt Nam với tổng diện tích bị hạn hán là 734.284ha, trong đó 276.656ha ở đồng bằng sông Cửu Long. Trận hạn hán này đã ảnh hưởng tới 3,8 triệu dân, gây thiệt hại khoảng 5.000 tỉ đồng. Các tỉnh từ Khánh Hoà đến Bình Thuận thường xuyên xảy ra hạn hán với tổng số diện tích hạn hán lên tới 300.000ha. Tại Bình Thuận, năm 2004, hạn hán xảy ra trầm trọng khiến diện tích trồng trọt giảm 30 - 50%. Đợt nắng nóng kéo dài cuối năm 2009 khiến ngành nông nghiệp các

tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long bị thiệt hại hàng trăm tỉ đồng. Tỉnh Kiên Giang có khoảng 13.400ha lúa bị ảnh hưởng, trong đó hơn 3.000ha bị mất trắng hoàn toàn, thiệt hại gần 80 tỉ đồng. Thiệt hại nặng nhất là huyện Gia Rai, ước tính chỉ riêng huyện này đã bị thiệt hại gần 50 tỉ đồng [7].

Theo tính toán của Tổng cục Thủy lợi (CAO), thuộc Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (04/ 2010), nếu tình hình khô hạn, thiếu nước ngọt như hiện nay tiếp tục kéo dài sẽ ảnh hưởng tới năng suất của khoảng 26.000ha lúa đông xuân ở các vùng Trung du, đồng bằng Bắc bộ và khoảng 100.000ha ở Nam bộ. Cũng theo Cục Thủy lợi, Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn, nắng nóng, khô hạn kéo dài tại các tỉnh Nam Trung bộ và Tây Nguyên đã làm hơn một triệu người thiếu nước sinh hoạt. Sơ bộ, tổng thiệt hại do hạn hán tại 2 khu vực này đã lên tới 1.258 tỷ đồng.

1.4. Đặc tính chịu hạn và nghiên cứu tính chịu hạn ở cây lúa

1.4.1. Đặc điểm hình thái và sinh lý lúa chịu hạn

Để nhận biết cây lúa kháng hạn hay khả năng chịu hạn của chúng cần nghiên cứu đặc điểm hình thái và hoạt động sinh lý của lúa chịu hạn để tạo ra các giống lúa chịu hạn đạt năng suất cao, mang lại hiệu quả kinh tế lớn và phù hợp với địa hình của nước ta, đặc biệt là trong bối cảnh biến đổi khí hậu hiện nay. Các đặc điểm hình thái và sinh lý biểu hiện giống lúa có khả năng chịu hạn là:

Khi gặp điều kiện khô hạn, bộ lá ngừng sinh trưởng hoặc sinh trưởng chậm lại để hạn chế sự thoát hơi nước. Đồng thời phiến lá mỏng hơn, nhiều lông hơn để hạn chế sự tích tụ nhiệt, hạn chế sự thoát hơi nước [62].

Một phản ứng thiết thực nhất ở lúa là đóng khí khổng khi gặp điều kiện hạn. Điều này có tác dụng hạn chế sự thoát hơi nước và đồng thời cũng làm hạn chế khả năng quang hợp. Vì vậy, đối với lúa chịu khô hạn, một đặc điểm thích nghi của nó là nâng cao hiệu suất quang hợp trước khi xảy ra hiện tượng đóng khí khổng [62].

Lá có xu hướng cuộn lại và giảm góc độ lá. Điều này có tác dụng giảm cường độ bức xạ trên bề mặt lá, tăng cường ánh sáng đi xuống phía dưới và giúp duy trì trạng thái thoát hơi nước ở bề mặt lá ở mức tối thiểu [62].

Khi gặp điều kiện hạn, ABA được tăng cường tổng hợp ở rễ, sau đó vận chuyển lên lá, đẩy nhanh tốc độ già hóa của lá, đóng khí khổng làm giảm sự thoát hơi

nước. Bên cạnh đó, ABA được tăng cường trên lá làm mức độ héo tăng lên giúp cây tránh bớt được bức xạ mặt trời, giảm sử dụng nước và tăng sử dụng bề mặt lá [8], [62].

Rễ mọc dài hơn, phân bố rộng và sâu hơn vào các lớp đất giúp cây lúa tận dụng nước dưới sâu. Khi bắt đầu gặp điều kiện hạn ở giai đoạn cây con, khối lượng rễ và tỷ lệ rễ/thân, sinh nhiều rễ đốt vì rễ đốt có khả năng đâm xuyên vào các lớp đất tốt hơn để tăng cường khả năng hút nước. Đồng thời theo nghiên cứu của Muthukuda (2001) cho thấy: khi gặp hạn, tốc độ dài rễ lớn hơn tốc độ dài lá. Nghiên cứu của Phạm Văn Cường (2009) chỉ ra rằng: ở các giống lúa chịu hạn CH5, 103S-R20 và Toitsu thì chiều dài rễ, số rễ/cây, trọng lượng khô của rễ/cây và tốc độ hút nước của rễ ở các giống chịu hạn cao hơn rất nhiều giống đối chứng khi có nước trở lại [4], [8], [23], [62].

Khi gặp hạn, cây có phản ứng giảm chiều cao cây để hạn chế nhu cầu sử dụng nước, đồng thời hạn chế sự tác động của bức xạ mặt trời. Phản ứng thấp cây cũng làm tăng khả năng chống đổ ở cây lúa [62].

Trở bông muộn hơn cũng là một phản ứng của lúa chống chịu khô hạn. Khi gặp hạn hán trong giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng, với những giống không nhạy cảm với quang chu kỳ có thể trở bông muộn hơn lúa bình thường 3 đến 4 tuần. Nhạy cảm nhất là khi cây lúa gặp hạn ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng còn giai đoạn sinh trưởng sinh thực thì ít muộn cảm hơn [62].

Trong giai đoạn đẻ nhánh và trở bông, nếu gặp hạn thì số nhánh và số bông sẽ giảm. Tuy nhiên, ở lúa chịu hạn điều đó không ảnh hưởng nhiều đến năng suất do số bông/khóm ít được bù lại bởi sự gia tăng số hạt chắc/bông và sự gia tăng khối lượng hạt [62].

1.4.2. Cơ sở sinh lý, hóa sinh của tính chịu hạn

Khi môi trường khô hạn, thực vật chống lại sự mất nước và nhanh chóng bù lại phần nước đã mất nhờ hoạt động của bộ rễ và sự điều chỉnh áp suất thẩm thấu của tế bào. Sự thích nghi đặc biệt về cấu trúc hình thái của rễ và chồi nhằm giảm thiểu tối đa sự mất nước hoặc tự điều chỉnh áp suất thẩm thấu nội bào thông qua tích lũy của các chất hòa tan, các protein và axit amin,... nhằm duy trì lượng nước tối thiểu trong tế bào. Khả năng thu nhận nước chủ yếu phụ thuộc vào chức năng

của bộ rễ. Bộ rễ có hình thái khỏe, dài, mập, có sức xuyên sâu sẽ hút được nước ở những vùng sâu. Ngoài ra, cây có hệ mạch dẫn phát triển dẫn nước lên các cơ quan thoát hơi nước, hệ mô bì phát triển sẽ hạn chế sự thoát hơi nước của cây [1], [12].

Khả năng điều chỉnh áp suất thẩm thấu có mối liên quan trực tiếp đến khả năng cạnh tranh nước của tế bào rễ cây đối với đất. Trong điều kiện khô hạn, áp suất thẩm thấu tăng lên giúp cho tế bào rễ thu nhận được những phân tử nước ít ỏi còn trong đất. Bằng cơ chế như vậy thực vật có thể vượt qua được tình trạng hạn cục bộ. Khi phân tích thành phần hóa sinh của các cây chịu hạn, các nghiên cứu đều cho rằng khi cây gặp hạn có hiện tượng tăng lên về hàm lượng ABA, hàm lượng prolin, nồng độ ion K^+ , các loại đường, axit hữu cơ,... giảm CO_2 , protein và các axit nucleic trên cây lúa. Các chất trên có chức năng điều chỉnh áp suất thẩm thấu nhờ khả năng giữ và lấy nước vào tế bào hoặc ngăn chặn sự xâm nhập của ion Na^+ . Ngoài ra còn có thể thay thế vị trí của nước nơi xảy ra các phản ứng sinh hóa, tương tác với protein và lipid màng, ngăn chặn sự phá hủy màng [17].

Nghiên cứu sự đa dạng và hoạt động của enzyme trong điều kiện gây hạn đã được nhiều tác giả quan tâm. Trần Thị Phương Liên (1999) nghiên cứu đặc tính hóa sinh của một số giống đậu tương có khả năng chịu nóng, hạn đã nhận xét rằng áp suất thẩm thấu cao ảnh hưởng rõ rệt tới thành phần và hoạt độ proteaza, kìm hãm sự phân giải protein dự trữ. Một số nghiên cứu trên các đối tượng như lạc, lúa, đậu xanh, đậu tương,... cho thấy mối tương quan thuận giữa hàm lượng đường tan và hoạt độ α -amylaza [6], [9]. Đường tan là một trong những chất tham gia điều chỉnh áp suất thẩm thấu trong tế bào. Sự tăng hoạt độ α -amylaza sẽ làm tăng hàm lượng đường tan do đó làm tăng áp suất thẩm thấu và tăng khả năng chịu hạn của cây trồng. Một trong các chất liên quan đến thẩm thấu được chú ý là prolin. Prolin là một amino axit có vai trò quan trọng trong sự điều hòa áp suất thẩm thấu trong tế bào. Theo tác giả Chen và Muranta (2002), sức chống chịu của thực vật tăng lên khi được chuyển các gen mã hóa enzyme tham gia vào con đường sinh tổng hợp prolin trong tế bào. Nhiều công trình nghiên cứu cho thấy sự tích lũy prolin có thể tăng 10 đến 100 lần ở thực vật dưới tác động của áp suất thẩm thấu [24].

1.4.3. Cơ sở phân tử của tính chịu hạn

Phản ứng của thực vật trước tác động của hạn rất đa dạng, phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, trong đó có kiểu gen, độ dài và tính khốc liệt của điều kiện ngoại cảnh. Biểu hiện của quá trình này là việc sinh tổng hợp của một loạt các chất trong tế bào, một số hoocmon hoặc chất kích thích để giúp cây có khả năng thích ứng. Khi đi sâu vào nghiên cứu ở mức độ phân tử của hiện tượng nóng, hạn ở thực vật người ta đã có những bước tiếp cận khác nhau trên nhiều loài cây trồng ở các giai đoạn phát triển. Được nghiên cứu nhiều nhất là các protein sản phẩm biểu hiện gen. Các nhóm protein được đặc biệt quan tâm bao gồm: protein sốc nhiệt, môi giới phân tử, LEA [2].



Hình 1.1. Sơ đồ minh họa cơ chế phân tử quá trình tham gia đáp ứng điều kiện hạn của các gen ở thực vật

- Protein sốc nhiệt (heat shock protein - HSPs): HSPs có ở hầu hết các loài