

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM



TRẦN VĂN LỢT

**NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO GIỐNG LÚA (*Oryza sativa* L.) CHỊU
NÓNG BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ CHO ĐỒNG BẰNG
SÔNG CỬU LONG**

Chuyên ngành: Di truyền và chọn giống cây trồng

Mã số: 9.62.01.11

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

Tp. Hồ Chí Minh, 2018

Công trình được hoàn thành tại:

VIỆN LÚA ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG
VIỆN KHOA HỌC KỸ THUẬT NÔNG NGHIỆP MIỀN NAM

Người hướng dẫn khoa học: 1. GS.TS. NGUYỄN THỊ LANG
2. GS. TS. BÙI CHÍ BỬU

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện họp tại

Vào hồigiờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc gia
2. Thư viện Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam
3. Thư viện Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Stress do nhiệt độ cao trên cây trồng là sự gia tăng nhiệt độ vượt qua ngưỡng chịu đựng trong một khoảng thời gian và gây ra những tác động có hại lên sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Đối với cây lúa ảnh hưởng của stress do nhiệt độ cao được thấy rõ nhất ở giai đoạn lúa ra hoa khi nhiệt độ môi trường trên 35°C . Sự ra hoa, thụ phấn, và sự phát triển ống phấn sẽ bị kìm hãm gây ảnh hưởng đến khả năng phát triển của hạt (Morita và ctv, 2005; Peng và ctv, 2004; Zhu và ctv, 2005). Nếu nhiệt độ môi trường liên tục cao hơn 35°C trong 5 ngày sẽ dẫn đến bất thụ ở hoa và không có hạt. Ngược lại, stress do nhiệt độ cao xảy ra ở giai đoạn hạt vào chắc (grain filling) sẽ dẫn đến thiệt hại về hiệu quả kinh tế qua việc giảm sút năng suất và chất lượng hạt vì hạt lép nhiều (Zhu và ctv, 2005). Chất lượng hạt giảm bởi vì hạt ở giai đoạn trước và sau khi xay xát có dạng hạt không sáng. Phẩm chất cơm cũng bị biến đổi do cấu trúc của amylopectin, độ đàn hồi và độ dẻo của hạt gạo bị biến đổi (Asaoka và ctv, 1985; Cheng và ctv, 2003). Giai đoạn chín của hạt lúa dưới điều kiện nhiệt độ cao sẽ làm cho hạt bị bạc bụng và khối lượng 1.000 hạt sẽ giảm.

Mô phỏng về thay đổi khí hậu dự đoán rằng: nhiệt độ trung bình của khí quyển sẽ tăng theo thời gian, là vấn đề không đảo ngược. Nhiệt độ cao ở giai đoạn lúa trổ sẽ làm tăng tỉ lệ hạt lép và làm giảm năng suất. Tại miền Nam Việt Nam, theo Trung tâm dự báo khí tượng thủy văn đã theo dõi trong 5 năm gần đây ghi nhận rằng: nhiệt độ cao nhất và thấp nhất lần lượt là $38,3^{\circ}\text{C}$ và $24,0^{\circ}\text{C}$. Trong mùa Hè, có những ngày nhiệt độ tăng lên 37°C – 40°C (đây ngưỡng gây hại cho cây lúa trong giai đoạn thụ phấn, thụ tinh). Do đó, việc nghiên cứu lai tạo và phát triển những dòng lúa có khả năng chống chịu stress do nhiệt độ

không khí tăng cao là vô cùng cần thiết cho sản xuất lúa gạo tại miền Nam Việt Nam.

Yêu cầu cải thiện giống lúa cao sản, có khả năng chịu nóng và ít bị ảnh hưởng stress đến năng suất và phẩm chất hạt đã được đặt ra cho nhà chọn giống, đồng thời nghiên cứu tìm ra các giải pháp nhằm ổn định và nâng cao năng suất giống lúa trong điều kiện nhiệt độ không khí cao là cần thiết. Từ những lý do nêu trên, đề tài: “**Nghiên cứu chọn tạo giống lúa (*Oryza sativa* L.) chịu nóng bằng chỉ thị phân tử cho đồng bằng sông Cửu Long**” đã được thực hiện.

2. Mục tiêu của đề tài

- Xác định được vật liệu bố mẹ cho công tác chọn giống lúa chịu nóng.
- Xác định kiểu gen và kiểu hình của các giống lúa thử nghiệm.
- Xác định dòng con lai hồi giao để du nhập gen chịu nóng của giống N22 vào cây lúa.

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

3.1. Ý nghĩa khoa học

- Xác định nguồn vật liệu di truyền chống chịu nóng thông qua đánh giá kiểu gen làm cơ sở phục vụ công tác chọn tạo giống hiệu quả hơn.
- Chọn cá thể mang QTL điều khiển tính chống chịu nóng chính xác và hiệu quả bằng phương pháp hồi giao cải tiến có ứng dụng chỉ thị phân tử.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

- Chọn lọc được một số dòng con lai chịu nóng triển vọng bằng chỉ thị phân tử (HTL 1, HTL 2, HTL 5, HTL 7 và HTL 8).
- Xác định được tính thích nghi và ổn định của các dòng lai tại năm tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu của đề tài

4.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là bộ giống lúa cao sản có năng suất cao được trồng phổ biến ở ĐBSCL cùng các giống lúa mang gen chịu nóng được nhập từ IRRI và các chỉ thị phân tử thích hợp có liên quan được sử dụng trong nghiên cứu.

4.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm, nhà lưới, ruộng thí nghiệm, Bộ môn Di truyền và chọn giống - Viện lúa ĐBSCL và năm trồng lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long: Long An, Hậu giang, Cần Thơ, An Giang và Trà Vinh.

- Thời gian nghiên cứu: Thời gian 11/2011-11/2016.

4.3. Phạm vi nghiên cứu

Phạm vi nghiên cứu của đề tài là đánh giá kiểu hình tính chống chịu nóng của bộ giống lúa cao sản được trồng tại các tỉnh ĐBSCL và đánh giá kiểu hình – kiểu gen chống chịu nóng của một số dòng lúa chịu nóng triển vọng.

5. Những đóng góp mới của luận án

- Ứng dụng phương pháp chọn giống bằng phương pháp hồi giao cải tiến nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử là công trình nghiên cứu mới trong nghiên cứu cải tiến giống lúa AS996 về đặc tính chịu nóng cho vùng lúa Đồng bằng sông Cửu Long.

- Sử dụng phương pháp chọn giống bằng phương pháp hồi giao cải tiến nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử có thể rút ngắn thời gian lai tạo giống.

- Đã tạo được một số dòng lúa chịu nóng triển vọng cho Đồng bằng sông Cửu Long.

6. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 138 trang, được chia thành các phần: Mở đầu (5 trang); Chương 1. Tổng quan (25 trang), Chương 2. Nội dung và phương pháp (16 trang); Chương 3. Kết quả và thảo luận (77 trang); Kết luận và đề nghị (2 trang); Công trình công bố liên quan đến luận án (1 trang); Tài liệu tham khảo (12 trang) với 151 tài liệu tham khảo trong đó có 27 tài liệu tiếng Việt và 124 tài liệu tiếng Anh. Luận án có 19 bảng số liệu và 50 hình.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Đặc điểm biến đổi nhiệt độ không khí trong tình hình biến đổi khí hậu

Theo kết quả nghiên cứu của Viện Lúa Quốc Tế (IRRI) ghi nhận: nhiệt độ đã tăng từ $0,35^{\circ}\text{C}$ đến $1,13^{\circ}\text{C}$ trên toàn cầu. Khi nhiệt độ môi trường tăng lên 1°C , sản lượng thóc giảm đi 10% (Peng và ctv, 2004). Theo báo cáo của tổ chức IPCC (Intergovernmental Panel on Climatic Change), mỗi thập kỷ nhiệt độ môi trường sẽ tăng $0,3^{\circ}\text{C}$ (Jones và ctv, 1999). Theo mô hình tiên đoán khí hậu dự báo nhiệt độ sẽ cao hơn nhiệt độ hiện nay từ $1,5^{\circ}\text{C}$ đến 3°C vào năm 2025 và 2100, theo thứ tự (Trần Văn Đạt, 2010). Tại miền Nam Việt Nam, Trung tâm dự báo khí tượng thủy văn đã theo dõi trong 5 năm ghi nhận rằng: nhiệt độ cao nhất và thấp nhất lần lượt là $38,3^{\circ}\text{C}$ và $24,0^{\circ}\text{C}$. Trong mùa Hè, có những ngày nhiệt độ lên 37°C – 40°C (ngưỡng gây hại cho cây lúa trong giai đoạn thụ phấn, thụ tinh). Yêu cầu cải thiện giống lúa cao sản, có khả năng chịu nóng và ít bị ảnh hưởng stress đến phẩm chất hạt được đặt ra cho nhà chọn giống.

1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ cao đối với cây lúa

Khi lúa ở nhiệt độ cao trên 35°C tác hại xảy ra tùy thuộc vào từng giai đoạn sinh trưởng. Hơn nữa, các giai đoạn sinh trưởng khác nhau sẽ chống chịu nhiệt độ cao rất khác nhau. Nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển bình thường của cây lúa là từ 27-32°C (Yin và ctv, 1996). Nhiệt độ cao ảnh hưởng đến hầu hết các giai đoạn sinh trưởng của cây lúa từ nảy mầm đến chín và thu hoạch. Giai đoạn sinh trưởng được xác định là mất cảm khi cây lúa bị sốc nhiệt ở giai đoạn đó bị thiệt hại (Wahid và ctv, 2007).

Ảnh hưởng của nhiệt độ cao đối với tỉ lệ hạt lép của cây lúa

Cây lúa nhạy cảm với nhiệt độ cao vào giai đoạn trổ bông và nhất là giai đoạn chín sấp. Cây lúa lúc nở hoa chỉ cần có một đến hai giờ bị nhiệt độ cao là tỉ lệ hạt lép tăng rõ rệt. Hạt lép do nhiệt độ cao gây ra rất khác nhau đối với các giống lúa khác nhau. Ở nhiệt độ 35°C, giống N22 một giống lúa cận nguồn gốc ở Ấn Độ, có tỉ lệ hoa thụ tinh cao trên 80%, trong lúc đó giống BKN6624-46-2 một giống lúa có nguồn gốc ở Thái Lan chỉ thụ tinh được có 10% (Yoshida, 1985).

1.3. Ứng dụng MAS trong chọn tạo giống lúa

Chọn tạo giống cây trồng theo phương pháp truyền thống dựa trên cơ sở chọn lọc kiểu hình trong quần thể con lai đang phân ly của một tổ hợp lai nào đó. Phương pháp này thường gặp phải những khó khăn về tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Hơn nữa, nhiều qui trình chọn lọc theo kiểu hình rất đắt tiền, tốn nhiều thời gian, tiền của, và sức lao động. Chọn tạo giống cây trồng nhờ chỉ thị phân tử được biết với thuật ngữ quốc tế MAS (viết tắt từ chữ Marker-assisted selection) là một phương pháp có khả năng khắc phục được nhược điểm nói trên.

1.4. Nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu nóng tại Việt Nam

Nghiên cứu chọn tạo giống lúa chịu nóng ở Việt Nam bước đầu còn trong giai đoạn nghiên cứu. Các nhà khoa học của Viện Công Nghệ Sinh Học Việt Nam đã tạo ra dòng lúa chịu nóng và khô từ các tế bào phôi giống lúa CR203, rồi dùng phương pháp nuôi cấy tế bào, nhân dòng lúa này tạo giống lúa mới được công nhận cấp quốc gia “DR2”, có năng suất và độ thuần cao, chịu hạn và nhiệt độ cao. Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu và cải tiến tính trạng chống chịu stress do nhiệt độ cao, đáp ứng với điều kiện thay đổi khí hậu ngày càng nghiêm trọng cho sản xuất lúa.

Trong nghiên cứu này sử dụng nguồn vật liệu là AS966 làm giống tái tục (recurrent), giống có nguồn gen chịu nóng là Dular và N22. Chỉ thị SSR liên kết chặt chẽ với QTL giả định trên nhiễm sắc thể số 3 là RM3586 và RM 160 được sử dụng để tìm con lai có gen chống chịu và cho hồi giao với dòng tái tục nhằm tạo ra quần thể BC₁, BC₂, BC₃ và BC₄ sau này.

Chương 2

NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Bộ giống lúa vật liệu lai

Gồm các giống lúa lúa cao sản, trong đó gồm:

- 48 giống lúa ngắn ngày năng suất cao được trồng phổ biến tại Đồng bằng sông Cửu Long và 2 giống lúa chịu nóng làm đối chứng (N22 và Dular).

2.1.2. Phương tiện và hoá chất ly trích DNA

- Máy ly tâm (Biofuge pico – Heraeus)
- Cồn 70% và 100 %; Dung dịch Chloroform

- Dung dịch SDS (sodium dodecyl sulfate) 10 %; Nước cất hai lần
- Dung dịch ly trích DNA (extraction buffer) pha trong 10 ml.
- Dung dịch TE buffer (pH = 8,0) pha trong 50 ml

2.1.3. Phương tiện và hoá chất cho điện di agarose gel

- Máy điện di nằm (hiệu Gibco – model 4001),
- Máy chụp hình gel bằng tia UV (Uvitec – BTS 20.M)
- Dung dịch 50X TAE: 242 g Tris base, 57,1 ml Glacial acetic acid và 100 ml 0,5 M EDTA (pH = 8,0) pha bằng nước cất để được 1 lít dung dịch

- Gel loading buffer: Pha 40 ng Brom phenol blue + 40 ng Xylene cyanole FF trong 5 ml Glycerol

- Agarose; Ethidium bromide; chỉ thị DNA ladder 1 Kb

2.1.4. Phương tiện và hoá chất cho PCR

- Máy Bio-rad; Mẫu DNA ly trích 100 ng/ μ l
- PCR buffer (10 X) pha trong 5 ml; Dung dịch stock của dNTPs (5 mM); Taq polymerase
- 24 cặp môi thích hợp được sử dụng cho nghiên cứu.

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu của bộ giống lúa thử nghiệm

Nguồn vật liệu gồm 50 giống lúa từ Viện lúa ĐBSCL và từ IRRI.

2.2.2. Đánh giá sự đa hình của bộ giống lúa chống chịu nóng thử nghiệm bằng chỉ thị SSR

Sử dụng chỉ thị phân tử SSR bao gồm 24 cặp môi liên kết chặt với các gen chống chịu nóng.

2.2.3. Tạo các quần thể hồi giao chuyển gen chống chịu nóng

Sử dụng giống nhập nội N22 và Dular (donor) để chuyển gen chịu nóng vào giống AS996. Tiến hành lai hồi giao trong 5 vụ để tạo hai quần thể hồi giao đến thế hệ BC4.

2.2.4. Đánh giá tính ổn định, thích nghi về năng suất các dòng lúa chịu nóng triển vọng

Thí nghiệm tiến hành trên tám dòng lai có triển vọng và giống đối chứng N22 và thực hiện tại năm địa điểm trồng.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Đánh giá nguồn vật liệu khởi đầu của bộ giống lúa thử nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ với ba lần lặp lại. Sử dụng phần mềm NTSYS 2.1 so sánh đa chiều kiểu hình chống chịu nóng, và phân nhóm theo phương pháp SM (simple matching coefficient) của Rohlf, 1996.

2.3.2. Đánh giá đa hình của bộ giống lúa thử nghiệm bằng chỉ thị SSR

Sử dụng 24 chỉ thị SSR liên kết chặt với gen chịu nóng.

Hoá chất và phương pháp tiến hành thực hiện theo phương pháp sử dụng trong công nghệ sinh học.

2.3.3. Tạo các quần thể hồi giao chuyển gen chịu nóng

2.3.3.1. Tạo các quần thể hồi giao

Sử dụng giống N22 có nguồn gốc của IRRI là giống chịu nóng và giống Dular là giống lúa mùa nguồn gốc Ấn Độ, giống có khả năng phối hợp rộng chịu nóng lai với AS996 có nguồn gốc từ Viện lúa ĐBSCL

2.3.3.2. Đánh giá kiểu hình

Các quần thể F_1 , BC_1 , BC_2 , BC_3 , giống N22; Dular (chống chịu nóng) và giống AS996 (mẫn cảm) được sử dụng để bố trí thí nghiệm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại.