



ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

KHẢO SÁT VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ GIỐNG LÚA
CÓ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN TẠI CÁC HUYỆN VEN
BIỂN CỦA TỈNH TRÀ VINH

Chủ nhiệm đề tài : ThS. PHAN CHÍ HIẾU
Chức vụ : Giảng viên
Đơn vị : Bộ môn Trồng trọt – Phát triển Nông thôn,
Khoa Nông nghiệp – Thủy sản

Trà Vinh, ngày tháng năm 2014



ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

KHẢO SÁT VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ GIỐNG LÚA
CÓ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN TẠI CÁC HUYỆN VEN
BIỂN CỦA TỈNH TRÀ VINH

Xác nhận của cơ quan chủ quản

(Ký, đóng dấu, ghi rõ họ tên)

Chủ nhiệm đề tài

(Ký, ghi rõ họ tên)

Phan Chí Hiếu

Trà Vinh, ngày tháng năm 2014

LỜI CẢM ƠN

Trên thực tế không có sự thành công nào mà không gắn liền với những sự hỗ trợ, giúp đỡ dù ít hay nhiều, dù trực tiếp hay gián tiếp của người khác. Trong suốt thời gian từ khi bắt đầu thực hiện đề tài nghiên cứu này “*Khảo sát và tuyển chọn một số giống lúa có khả năng chịu mặn tại các huyện ven biển của tỉnh Trà Vinh*”, tôi và nhóm nghiên cứu đã nhận được rất nhiều sự quan tâm, giúp đỡ của quý Thầy Cô của trường Đại học Trà Vinh, anh chị tại các Sở ban ngành tỉnh Trà Vinh và bạn bè. Với lòng biết ơn sâu sắc nhất, tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn đến:

Ban Giám Hiệu, Ban lãnh đạo Khoa Nông nghiệp - Thủy sản trường Đại học Trà Vinh đã tạo điều kiện thuận lợi nhất để tôi và nhóm nghiên cứu có điều kiện nghiên cứu đề tài này.

Cô Huỳnh Mỹ Phượng, cô Lê Thị Đẹp phòng Khoa học Công nghệ và Đào tạo sau đại học; cô Trần Thị Cẩm Đào - chuyên viên phòng Kế hoạch - Tài vụ đã hỗ trợ tận tình tôi trong quá trình thực hiện.

Anh chị tại các Phòng Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn huyện Duyên Hải, huyện Cầu Ngang, huyện Trà Cú, huyện Châu Thành, Sở Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn Trà Vinh đã nhiệt tình cung cấp số liệu thứ cấp và hỗ trợ việc tìm kiếm và thu thập các giống lúa chịu mặn ven biển. Và đặc biệt, là bà con nông dân đã cung cấp cho tôi những mẫu lúa để thực hiện đề tài nghiên cứu này.

Quý Thầy cô trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ tôi cập nhật và học hỏi thêm các kỹ thuật điện di, kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction) để áp dụng cho đề tài này.

Giai đoạn đầu tham gia đề tài nghiên cứu khoa học, kiến thức của tôi cũng còn hạn chế. Do vậy, không tránh khỏi những thiếu sót là điều chắc chắn, tôi rất mong nhận được những ý kiến đóng góp quý báu của quý Thầy Cô, anh chị và các bạn để kiến thức của tôi trong lĩnh vực này được hoàn thiện hơn.

Trân trọng cảm ơn!

Phan Chí Hiếu

TÓM LƯỢC

Hiện nay, hiện tượng xâm nhập mặn do biến đổi khí hậu diễn ra ngày càng phức tạp, diện tích đất trồng lúa ngày càng thu hẹp. Yêu cầu chọn tạo ra các giống lúa có khả năng ứng phó với biến đổi khí hậu, đặc biệt là tình trạng xâm nhập mặn là vô cùng cấp bách. Do đó đề tài “*Khảo sát và tuyển chọn một số giống lúa có khả năng chịu mặn tại các huyện ven biển của tỉnh Trà Vinh*” được tiến hành với ứng dụng các phương pháp chọn lọc cổ điển kết hợp với sự hỗ trợ của dấu phân tử đang cho thấy hiệu quả chọn giống nhanh và chính xác. Trong nghiên cứu này, 12 giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh được đánh giá khả năng chịu mặn bằng cách sử dụng dung dịch Yoshida bổ sung muối NaCl ở nồng độ 0‰, 2‰, 4‰ và 6‰. Ba dấu phân tử SSR RM336, RM10825 và RM10793 đã được sử dụng để nhận diện nhanh các giống lúa liên kết với gen chịu mặn. Bên cạnh đó, chỉ tiêu về tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá cũng được phân tích để cho thấy mức độ giải độc Na^+ trong từng giống. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống sót, chiều cao thân lá đều giảm mạnh khi nồng độ mặn tăng lên. Cặp mồi RM336 liên kết chặt với QTL *qPH7.1s* quyết định tính trạng chiều cao thân lá trong môi trường stress mặn và 2 cặp mồi RM10793 và RM10825 liên kết với QTL *qSKC1*, *qSNK1* và *qRNK1* quyết định tính trạng nồng độ K^+ , tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá lúa. Các giống lúa có liên kết với cả ba cặp mồi SSR trên là: Chim Vàng, Ba Túc, ST5, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13 và Trắng Tép. Ba giống Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ và TV13 cho thấy các đặc tính chịu mặn vượt trội qua kết quả thanh lọc mặn trong dung dịch Yoshida có bổ sung nồng độ muối và việc xuất hiện các băng DNA tại vị trí của chuẩn kháng Pokkali. Thêm vào đó, kết quả phân tích tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá cho thấy rằng, các giống: ST5, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13 và Trắng Tép có khả năng giải độc ion Na^+ hiệu quả nhất.

MỤC LỤC

	Trang
LỜI CẢM ƠN	i
TÓM LƯỢC	ii
MỤC LỤC	iii
DANH SÁCH BẢNG	v
DANH SÁCH HÌNH.....	vi
DANH SÁCH NHỮNG TỪ VIẾT TẮT	vii
MỞ ĐẦU	01
1. Tính cấp thiết của đề tài	01
2. Mục tiêu của đề tài	02
3. Nội dung thực hiện.....	02
4. Phương pháp nghiên cứu.....	03
CHƯƠNG 1: LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU	04
1.1. Thực trạng vùng lúa nhiễm mặn tại ĐBSCL	04
1.2. Thực trạng ảnh hưởng xâm nhập mặn tại tỉnh Trà Vinh.....	05
1.3. Tính chống chịu mặn của cây lúa.....	06
1.4. Tình hình nghiên cứu chọn giống lúa chịu mặn trong và ngoài nước	07
<i>1.4.1. Ngoài nước</i>	07
<i>1.4.2. Trong nước</i>	11
CHƯƠNG 2: NỘI DUNG NGHIÊN CỨU	11
2.1. Nội dung 1: Thực hiện thu thập mẫu giống lúa địa phương	14
<i>2.1.1. Mục đích:</i>	14
<i>2.1.2. Đối tượng và phương pháp thu mẫu</i>	14
<i>2.1.3. Kết quả thu mẫu</i>	14
2.2. Thí nghiệm 1: Ứng dụng dấu phân tử DNA nhận diện gen kháng mặn	17
<i>2.2.1. Mục đích nghiên cứu</i>	17
<i>2.2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu</i>	17
<i>2.2.3. Kết quả nghiên cứu:</i>	20
- <i>Kết quả ly trích DNA</i>	20
- <i>Kết quả nhận diện gen kháng mặn bằng dấu SSR RM336</i>	20

- <i>Kết quả nhận diện gen kháng mặn từ cặp môi RM10793</i>	21
- <i>Kết quả nhận diện gen kháng mặn từ cặp môi RM10825</i>	22
2.3. Thí nghiệm 2: Thanh lọc tính mặn nhân tạo giai đoạn mạ trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida	25
2.3.1. <i>Mục đích nghiên cứu</i>	25
2.3.2. <i>Đối tượng và phương pháp nghiên cứu</i>	25
2.3.3. <i>Kết quả nghiên cứu</i>	29
- <i>Đánh giá khả năng chịu mặn của giống lúa dựa đáp ứng sinh lý</i> ...	29
- <i>Kết quả phân tích nồng độ Na^+, K^+, và tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá lúa</i>	34
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ ĐỀ NGHỊ	37
3.1. <i>Kết quả nghiên cứu đề tài</i>	37
3.2. <i>Đề nghị</i>	37
3.3. <i>Hướng phát triển của đề tài</i>	38
TÀI LIỆU THAM KHẢO	39
PHỤ LỤC	43

DANH SÁCH BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
1.1	Phân tích QTL theo phương pháp cách quãng (interval) đối với tính trạng hấp thu K, Na và tỉ số Na/Ka ở chồi thân	11
2.1	Danh sách 12 giống lúa thu thập được tại Duyên hải, Cầu Ngang, Trà Cú, Châu Thành, tỉnh Trà Vinh	16
2.2	Trình tự 3 cặp mồi SSR được dùng trong nghiên cứu này.	19
2.3	Tóm tắt kết quả nhận diện gen kháng mặn các cặp mồi	24
2.4	Dung dịch mẹ cho môi trường Yoshida	25
2.5	Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng cho thanh lọc mặn	26
2.6	Tiêu chuẩn đánh giá (SES) ở giai đoạn tăng trưởng và phát triển (IRRI, 1997)	277
2.7	Tỷ lệ sống sót 12 giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh trong điều kiện 4‰ ở giai đoạn mạ	30
2.8	Tỷ lệ sống sót 12 giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh trong điều kiện 6‰ ở giai đoạn mạ	31
2.9	Mức độ chống chịu mặn của các giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh ở giai đoạn mạ sau 19 ngày xử lý mặn	32
2.10	Ảnh hưởng của Nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình các giống	33
2.11	Ảnh hưởng của giống lên chiều cao thân lá trung bình ở 4 nghiệm thức	33
2.12	Kết quả phân tích nồng độ Na ⁺ , K ⁺ và tỷ lệ K ⁺ /Na ⁺ trên lá các giống lúa	35
3.13	Tổng hợp kết quả hai thí nghiệm tuyển chọn, đánh giá giống chịu mặn	36

DANH SÁCH HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
1.1	Đoạn gen <i>Saltol</i> trên nhiễm sắc thể lúa, vị trí xác định của các SSR	10
1.2	Đoạn gen <i>Saltol</i> trên nhiễm sắc thể số 1 của lúa, vị trí xác định của các SSR marker	13
2.1	Sơ đồ minh họa chu kỳ phản ứng PCR	19
2.2	Phổ điện di kiểm tra DNA ở 14 giống lúa	20
2.3	Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM336 trên gel polyacrylamide 12%	21
2.4	Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM10793 trên gel polyacrylamide 12%.	22
2.5	Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM10825 trên gel polyacrylamide 12%.	23
2.6	Sơ đồ thí nghiệm thanh lọc tính mặn nhân tạo ở thời điểm 19 NSC	28
2.7	Biểu đồ thể hiện tương tác giữa giống và nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình các giống lúa thí nghiệm	34
3.6	Tỷ lệ sống của 12 giống lúa địa phương Trà Vinh không xử lý muối	48
3.7	Tỷ lệ sống của 12 giống lúa địa phương Trà Vinh xử lý muối ở 2 ‰	48
3.8	Tỷ lệ sống của 12 giống lúa địa phương Trà Vinh xử lý muối ở 4 ‰	49
3.9	Tỷ lệ sống của 12 giống lúa địa phương Trà Vinh xử lý muối ở 6 ‰	49

DANH SÁCH TỪ VIẾT TẮT

ANLT	: An ninh lương thực
BĐKH	: Biến đổi khí hậu
CI	: Chloroform Isoamylalcohol
CTAB	: Cetyl trimethyl ammonium bromide
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
dNTPs	: Deoxynucleotide Triphosphates
ĐBSCL	: Đồng bằng Sông Cửu Long
ĐBSH	: Đồng bằng Sông Hồng
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hiệp Quốc)
FAOSTAT	: The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database
KIP	: Key Informant Panel
NIAS	: Netherlands Institute for Advanced Study (Viện nghiên cứu Sinh học Nông nghiệp ở Tsubaka)
NSC	: Ngày sau chủng mẫn
NST	: Nhiễm sắc thể
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PTNT	: Phát triển nông thôn
QTL	: Quantitative Trait Loci
RNA	: Ribo Nucleic Acid
SSR	: Simple Sequence Repeats
TAE	: Tris-Acid acetic-EDTA
Taq polymerase	: Thermus aquaticus polymerase
TBE	: Tris-Borate-EDTA
TE	: Tris-EDTA
VN	: Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Trong những năm gần đây, nhiều tổ chức quốc tế, kể cả Liên Hiệp Quốc, cùng Bộ Tài Nguyên - Môi trường, các cơ quan khí tượng thủy văn Việt Nam và nhiều chuyên gia ngày càng báo động rằng Việt Nam thuộc trong 5 quốc gia có nguy cơ bị ảnh hưởng nặng nhất bởi tình trạng biến đổi khí hậu (BĐKH). Một trong những hậu quả của khí hậu biến đổi dẫn đến diện tích đất bị nhiễm mặn ngày càng gia tăng. Chính vì sự đất nhiễm mặn đã gây ra nhiều bất lợi cho việc sản xuất lúa so với nhiều năm trước. Trong đó, tỉnh Trà Vinh được đánh giá là địa phương chịu ảnh hưởng nặng nề nhất do nước mặn xâm nhập và hạn hán. Chỉ tính riêng vụ lúa đông xuân 2010 - 2011 và vụ lúa hè thu 2011, Trà Vinh có gần 12.500 ha bị khô hạn, nước mặn xâm nhập gây thiệt hại từ 30% - 100% diện tích; trong đó có 9.726 ha bị mất trắng. (Bộ Tài Nguyên Môi Trường, 2011).

Nhằm đối phó với thực trạng hiện nay, các lãnh đạo ban ngành tỉnh Trà Vinh đang phối hợp với các ngành, các cấp có liên quan tiến hành rà soát quy hoạch để bố trí lại cơ cấu mùa vụ, cây trồng cho phù hợp với điều kiện khí hậu có nhiều biến đổi, gây bất lợi trong sản xuất. Theo TS. Phạm Trung Nghĩa, Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nhận xét: Thực tế trong sản xuất hiện nay ở một số vùng lúa nhiễm mặn, ruộng lúa thường bị ngập tạm thời trong thời gian từ 7-18 ngày sau khi xuống giống đầu vụ. Hướng nghiên cứu thích nghi này đã được Viện Lúa Quốc tế thực hiện, còn Viện Di truyền Nông nghiệp và Viện Lúa ĐBSCL cũng đang bắt đầu thực hiện. Giống lúa bố mẹ mang tính chịu mặn và chịu ngập đã được xác định và không bị rào cản về bản quyền nguồn giống. Do BĐKH, kết hợp với việc xuất hiện đê ngăn nước thượng nguồn sông Mêkông, nước trong sông, kênh rạch vùng ĐBSCL có thể bị thiếu tạm thời. Do đó chọn giống lúa chịu hạn trong thời gian ngắn (khoảng 5 - 14 ngày), đất không quá khô hạn (chủ yếu là ráo nước đến hơi khô) mà vẫn cho năng suất khá cao (từ 4 - 7 tấn/ha) là thích ứng nhất với điều kiện ĐBSCL. Chọn giống lúa theo hướng này sẽ đáp ứng tốt với kỹ thuật quản lý nước

tươi tiêu tiết kiệm của Viện Lúa Quốc tế (tươi - khô ráo xen kẽ), hợp với điều kiện nguồn nước của ĐBSCL hiện nay.

Trong điều kiện khí hậu, môi trường ngày càng khắc nghiệt, công tác nghiên cứu, thu thập và tuyển chọn giống lúa nhằm nâng cao giá trị hạt gạo, phục vụ sản xuất được đặt ra hàng đầu. Theo TS. Phạm Trung Nghĩa, Viện Lúa ĐBSCL cho biết xu hướng nghiên cứu của Viện nhằm mục tiêu chọn tạo ra được các giống lúa chống chịu mặn ở mức độ từ 4 - 6‰ muối là rất cần thiết nhằm bảo đảm sản lượng lúa vùng ĐBSCL. Các nghiên cứu của Viện Lúa cho thấy, các giống lúa cao sản bị chết trên 80% số cây khi bị nhiễm mặn ở mức 4 - 6‰ trong vòng 1 tháng ở giai đoạn mạ, và giảm trên 60% năng suất khi bị mặn liên tục từ ngày thứ 55 sau khi gieo đến trổ. Do đó việc khảo sát nghiên cứu, tìm những giống lúa địa phương tại các huyện ven biển tỉnh Trà Vinh có khả năng chịu mặn là cần thiết (mặc dù với diện tích canh tác lúa mùa hiện nay của tỉnh Trà Vinh còn lại trên dưới 3.000ha ở các mô hình lúa - tôm ven biển).

2. Mục tiêu của đề tài

- Thu thập các giống lúa địa phương ven biển tại các huyện của tỉnh Trà Vinh đang còn canh tác có khả năng chịu mặn.

- Ứng dụng công nghệ sinh học để nhận nhanh những giống lúa chịu mặn đáp ứng cho công tác tuyển chọn những giống lúa thích hợp cho canh tác ở các vùng nhiễm mặn, tỉnh Trà Vinh.

3. Nội dung thực hiện

- Thực hiện thu thập mẫu giống lúa địa phương tại các huyện có nhiễm mặn thuộc tỉnh Trà Vinh.

- Đánh giá nhanh khả năng chịu mặn của các giống lúa ở giai đoạn nảy mầm đến giai đoạn hậu nảy mầm (5 - 19 ngày) trong điều kiện phòng thí nghiệm.

- Nhận diện các giống lúa mang gen kháng mặn bằng dấu phân tử DNA (microsatellite).

4. Phương pháp nghiên cứu

4.1. Thu thập mẫu lúa địa phương có khả năng chịu mặn đang canh tác tại 4 huyện, tỉnh Trà Vinh

Phương pháp: Phỏng vấn KIP và quan sát trực tiếp nhằm mục đích thu thập nhanh các giống lúa địa phương hiện còn đang canh tác tại các huyện có diện tích đất bị nhiễm mặn (phương pháp này không thống kê xử lý số liệu).

4.2. Thí nghiệm 1: Ứng dụng dấu phân tử DNA nhận diện gen kháng mặn

Phương pháp: Sử dụng công nghệ sinh học phân tử trong đó chủ yếu là kỹ thuật điện di DNA và kỹ thuật PCR.

4.3. Thí nghiệm 2: Thanh lọc tính mặn nhân tạo giai đoạn mạ trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida.

Phương pháp: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, gồm 2 nhân tố là độ mặn và giống, điều kiện thí nghiệm ngoài nhà lưới ở nhiệt độ dao động trung bình 32 - 33°C và giữ ổn định PH = 5 - 7. Khi hạt lúa được nảy mầm cho vào khay xốp có chứa dung dịch muối (2‰, 4‰, 6‰), mỗi lỗ của một vỉ xốp cho vào 1 hạt giống đã nảy mầm, mỗi giống gieo 10 lỗ cho một lần lặp lại. Sau 1 ngày khi cây đã ổn định thay nước là các dung dịch muối đã chuẩn, sau mỗi 3 ngày thay nước và điều chỉnh nồng độ muối cho thích hợp, và cung cấp thêm dung dịch dinh dưỡng.

CHƯƠNG 1

LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

1.1. Thực trạng vùng lúa nhiễm mặn tại ĐBSCL

ĐBSCL có hệ thống sông ngòi chằng chịt tạo thành hệ thống thủy lợi cung cấp nước cho sản xuất nông nghiệp, tháo chua, rửa mặn và cũng là hệ thống vận chuyển đường thủy, rất thuận lợi cho vận chuyển hàng hoá, nông sản. Mùa lũ thường kéo dài 5 tháng với lượng nước chiếm khoảng 3/4 tổng lượng nước cả năm, và 7 tháng mùa khô cạn, lượng nước còn lại rất ít. Do đó, thủy triều có ảnh hưởng rất lớn đến phần lớn vùng hạ lưu sông Mêkông, toàn bộ ĐBSCL của VN. Do ảnh hưởng của thủy triều, nước mặn từ biển thường tràn vào sâu trong đất liền vào mùa khô. Các vùng lúa ven biển ĐBSCL thuộc các tỉnh: Sóc Trăng, Bến Tre, Tiền Giang, Trà Vinh, Bạc Liêu, Cà Mau, Kiên Giang đều bị nhiễm mặn, nhiều hay ít tùy thuộc vào ảnh hưởng của thủy triều và hệ thống kênh rạch sông ngòi, đê ngăn mặn của từng vùng. Độ mặn lớn nhất trên sông theo quy luật, thường xuất hiện trùng với kỳ triều cường trong tháng, nước biển càng mặn, càng vào sâu trong đất liền ở các vùng triều mạnh và ít có nước thượng nguồn đổ về.

Mức độ xâm nhập mặn tùy thuộc vào sự xâm nhập của nước biển, và tùy vào mùa trong năm, cao điểm vào các tháng có lượng mưa thấp, khoảng tháng 3 – 4.

ĐBSCL có khoảng 1,8 - 2,1 triệu ha đất tự nhiên chịu ảnh hưởng của mặn tập trung ở các tỉnh Cà Mau, Bạc Liêu, Tiền Giang, Bến Tre, Trà Vinh, Sóc Trăng và Kiên Giang, phần lớn là đất bị nhiễm mặn kết hợp với phèn, ngập nước. Trước thực trạng trên cho thấy Việt Nam là một trong những nước bị ảnh hưởng mặn nhiều nhất và đất canh tác lúa ngày càng bị thu hẹp do sự xâm nhiễm mặn. Đứng trước thực trạng đó việc nghiên cứu tìm ra giống lúa đạt năng suất cao, phẩm chất tốt đáp ứng và đảm bảo đến an toàn lương thực là vấn đề mà hầu hết các nhà khoa học nghiên cứu lúa đã và đang quan tâm.

1.2. Thực trạng ảnh hưởng xâm nhập mặn tại tỉnh Trà Vinh (truyền hình Trà Vinh, 2013)

Theo người dân địa phương cho biết, chỉ trong 5 năm trở lại đây, sóng biển đã cuốn trôi khoảng 120ha đất ven biển của xã Hiệp Thạnh. Những năm gần đây, tình hình sản xuất và sinh hoạt của người dân tỉnh Trà Vinh cũng bị ảnh hưởng tiêu cực bởi tình trạng xâm nhập của nước mặn vào sâu nội đồng mà chính quyền và nhân dân chưa lường trước được.

Cụ thể, đầu năm 2012, mặc dù là mùa khô nhưng nước mặn vẫn xâm nhập sâu vào nội đồng trong khi lúa đông xuân các huyện Trà Cú, Cầu Ngang, Châu Thành tỉnh Trà Vinh trong giai đoạn trổ đòng bị ảnh hưởng nghiêm trọng của nước mặn. Lúa nhiễm mặn gây nghẹn đòng, số đã trổ bông bị lép hạt làm giảm năng suất, thất thu khi thu hoạch. Dẫn đến 15.000ha lúa đông xuân của bà con nông dân bị thất trắng hoặc giảm năng suất.

Dưới tác động của thủy triều nước mặn xâm nhập vào nội đồng và có xu hướng đi sâu vào đất liền hơn do tình trạng nguồn nước ngọt từ thượng lưu Mêkông ngày càng giảm vì nhiều nguyên nhân khác nhau. Mặn trên sông Hậu lên quá Đại Ngãi 8 đến 10 km; trên sông Tiền ranh giới mặn 4g/l vượt quá Mỹ Tho 10 km trên sông Cổ Chiên mặn 1g/l cũng đi quá rạch Vũng Liêm; Điều đó cho thấy cả Trà Vinh đang bị nước mặn vây lấn đe dọa.

Theo các nhà chuyên môn khi nước biển dâng, độ mặn trên 4g/l sẽ vượt qua cửa sông Mang - Thít thì toàn bộ dự án nam Mang - Thít sẽ không còn đảm bảo chức năng “ngọt hóa”. Việc dẫn nguồn nước ngọt sẽ rất khó khăn không chỉ vì khó tìm cửa lấy nước ngọt mà còn do chênh lệch đầu nước không đủ để vận chuyển nước qua một chặng quá dài.

Như vậy, thực tế và trong tương lai, ở các vùng ven sông ven biển thì thủy triều và nước mặn dâng cao, bên trong nội đồng do tình trạng nguồn nước ngọt từ thượng lưu Mêkông ngày càng bị giảm, đồng thời các cửa sông bị đóng đẽ ngăn mặn vấn đề thiếu nước ngọt sản xuất là điều không tránh khỏi.

1.3. Tính chống chịu mặn của cây lúa

Đối với cây lúa, tính chống chịu mặn là một tiến trình sinh lý phức tạp, thay đổi theo các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của cây [N.T.T. Hoai, & ctv (2003)]. Tính trạng bất thụ của bông lúa khi bị stress do mặn được điều khiển bởi một số gen trội, nhưng các gen này không tiếp tục thể hiện ở các thế hệ sau. Phân tích diallele về tính trạng chống chịu mặn, người ta ghi nhận cả hai hoạt động của gen cộng tính và gen không cộng tính với hệ số di truyền thấp (19,18%) và ảnh hưởng của môi trường rất lớn [Roberto Tuberosa and Silvio Salvi (2007)].

Rất nhiều nghiên cứu cho rằng, yếu tố di truyền tính chống chịu mặn biến động rất khác nhau giữa các giống lúa. Vì vậy, muốn chọn giống lúa chống chịu mặn có hiệu quả, cần nghiên cứu sâu về cơ chế di truyền tính chống chịu mặn, từ đó loại bỏ ngay từ những thế hệ đầu những dòng không đáp ứng được yêu cầu của nhà chọn giống. Nghiên cứu di truyền số lượng tính chống chịu mặn cho thấy, cả hai ảnh hưởng hoạt động của gen cộng tính và gen không cộng tính đều có ý nghĩa trong di truyền tính chống chịu mặn [Greenway, and Munns (1980)].

Hiện chúng ta có rất ít thông tin về kiểu hình chống chịu mặn ở giai đoạn trưởng thành của cây lúa. Hầu hết các thí nghiệm đều được tiến hành trên giai đoạn mạ với quy mô quần thể hạn chế và chỉ số Na/K thường được dùng như một giá trị chỉ thị [Muhammad S., & ctv (1987); N.T.T. Hoai, & ctv (2003)]. Cây lúa nhiễm mặn có xu hướng hấp thu Na nhiều hơn cây chống chịu. Ngược lại, cây chống chịu mặn hấp thu K nhiều hơn cây nhiễm. Ngưỡng chống chịu NaCl của cây lúa là $EC = 4$ dS/m [Muhammad S., & ctv (1987)]. Trong quá trình bị nhiễm mặn, nồng độ ion K^+ trong tế bào được điều tiết tương thích với cơ chế điều tiết áp suất thẩm thấu và khả năng tăng trưởng tế bào. Nhiều loài thực vật thuộc nhóm halophyte và một phần của nhóm glycophyte thực hiện hoạt động điều tiết áp suất thẩm thấu làm cản trở ảnh hưởng gây hại của mặn. Hoạt động này sẽ giúp cây duy trì một lượng lớn K^+ và hạn chế hấp thu Na^+ . [Munns R, (2002)]

1.4. Tình hình nghiên cứu chọn giống lúa chịu mặn trong và ngoài nước

1.4.1. Ngoài nước

Các quốc gia trên thế giới đã và đang tiến hành chọn tạo, canh tác có hiệu quả một số giống lúa chịu mặn. Nhiều nguồn giống lúa mùa địa phương như Nona Broka, Burarata chống chịu tốt với điều kiện mặn tương đương với giống Pokkali đã được xác định.

Những năm cuối thế kỷ 20, các nhà chọn tạo giống đã sử dụng những biến đổi di truyền để tạo ra những giống lúa có tiềm năng về năng suất, chất lượng gạo tốt, kháng một số sâu bệnh chính và chống chịu với những điều kiện bất lợi như khô hạn, ngập úng, mặn. Trong chiến lược chọn tạo giống lúa chống chịu mặn, Viện nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI), từ năm 1977 - 1980 đã tiến hành chọn được những dòng lúa chống chịu mặn tốt như IR42, IR4432-28-5, IR4595-4-1, IR463-22-2, IR9884-54-3. Năng suất đạt 3,6 tấn/ha trung bình cho tất cả 25 thí nghiệm. Những giống lúa cải tiến này cho năng suất cao hơn những giống lúa cổ truyền 2 tấn/ha [Ponnamperuma, F. N. (1984)].

Tác giả Gregorio và cộng sự (2002), báo cáo kết quả nuôi cấy tế bào soma lúa để tạo ra các biến dị soma chống chịu mặn. Từ giống lúa Pokkali (lúa mùa cao cây, cảm quang, yếu rạ, lá dài to bản và rũ, đẻ chồi ít, gạo màu đỏ, phẩm chất gạo xấu), tác giả đã thu được dòng biến dị soma TCCP226-2-49-B-B-3 là giống lúa cao sản, thấp cây, sinh trưởng mạnh, chống chịu mặn cao như Pokkali, gạo có màu trắng và phẩm chất gạo tốt hơn giống gốc, cho năng suất cao hơn nhiều so với Pokkali. Giống lúa TCCP226-2-49-B-B-3 đã được sử dụng trong các chương trình tạo giống lúa chịu mặn tại nhiều Trung tâm nghiên cứu lúa trên thế giới [Ponnamperuma, F. N. (1984)].

✚ Sử dụng chỉ thị phân tử SSR trong chọn giống lúa chịu mặn

Trên thực tế, việc chọn giống chống chịu mặn dựa trên kiểu hình rất khó, do có sự tương tác giữa các gen. Nhờ chỉ thị phân tử mà công việc xác định gen chống chịu mặn, chọn tạo giống chống chịu trở lên dễ dàng, chủ động và chính xác hơn.

Xác định gen kháng bằng chỉ thị phân tử nghĩa là sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen kháng và các Quantitative Trait Loci (QTLs) để chọn được các cá thể mang gen kháng trong quần thể phân li. Độ chính xác của phương pháp này có thể lớn hơn 99,75% khi gen kháng kẹp giữa hai chỉ thị liên kết với gen kháng đó và khoảng cách di truyền từ chỉ thị phân tử đến gen kháng nhỏ hơn 5cM. Bằng cách chọn lọc này, các tổ hợp gen kháng khác nhau được chọn lọc là dựa trên kiểu gen thay vì dựa trên kiểu hình [Zeng L. et al (2004)].

Về cơ bản các loại chỉ thị trên đều có thể được ứng dụng để lập bản đồ di truyền hoặc nghiên cứu sự đa dạng di truyền hoặc phân lập gen, hoặc xác định gen,... Tuy nhiên, mỗi loại chỉ thị có ưu nhược điểm riêng vì thế tùy vào mục đích, yêu cầu và điều kiện cụ thể của mỗi nghiên cứu mà lựa chọn sử dụng chỉ thị nào cho thích hợp.

Trong số các chỉ thị phân tử thì SSR có nhiều ưu điểm: đơn giản, dễ thực hiện, nhanh, chính xác, độ đa hình cao và kinh tế.

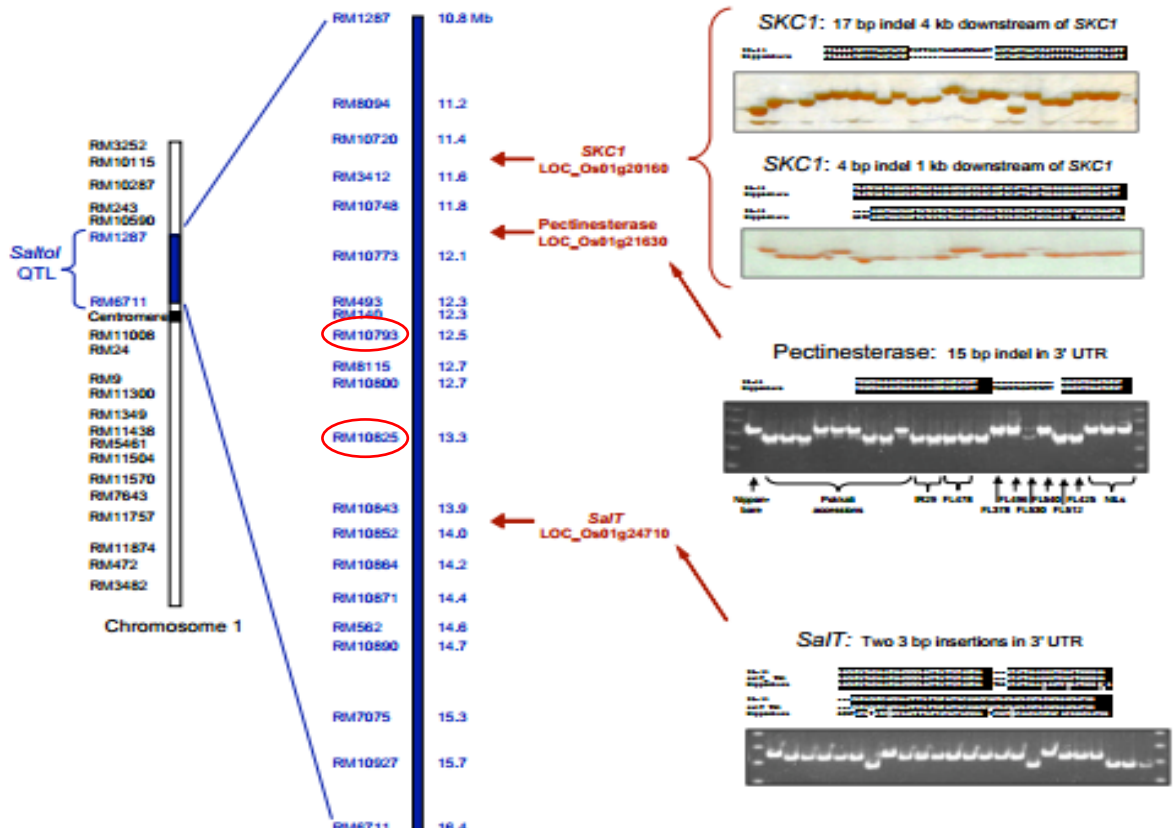
Trong nghiên cứu của mình, tác giả Mohammadi - Nejad và ctv, (2008) thí nghiệm 33 SSR marker đa hình trên đoạn *Saltol* của nhiễm sắc thể số 1 nhằm xác định mức độ liên kết và hữu dụng của các marker này trong chọn giống chống chịu mặn. Các SSR marker này được dùng để thử nghiệm trên 36 giống lúa được phân loại thành 5 nhóm: chống chịu tốt, chống chịu, chống chịu trung bình, nhiễm mặn và nhiễm mặn tốt qua thanh lọc mặn nhân tạo. Trong số 33 marker, có 6 marker: RM10745, RM1287, RM8094, RM3412, RM493 và RM140 liên kết chặt với đoạn *Saltol* ở vị trí 10.8 - 12.28 Mb. Đoạn *Saltol* có thể nằm trong vị trí có chứa các marker RM8094, RM3412, RM493. Các giống lúa: IR70023, IR65858, IR69588, IR74105, IR71832, IR74099, Cherivirrupu và IR66946-3R-178-1-1 (FL478) có sản phẩm PCR giống như sản phẩm PCR của Pokkali khi được nhân bản bởi marker RM 8094 và cho tính chống chịu rất tốt hoặc tốt đối với mặn. Do đó, marker RM8094 thể hiện liên kết thuận và chặt chẽ với tính kháng mặn ở giai đoạn mạ. Tác giả G. Mohammadi - Nejad và ctv, (2008) cũng khuyến cáo việc sử dụng hai marker RM8094 và RM10745 trong xác định kiểu gen của cây lúa chống chịu mặn có mang

đoạn QTL *Saltol* trong các chương trình lai tạo giống lúa chịu mặn [Mohammadi - Nejad và ctv, (2008)].

Lê Hùng Linh và ctv. (2012), cũng đã dùng nhiều marker phân tử xác định gen chống chịu mặn của cây lúa ở giai đoạn mạ và dinh dưỡng, và xem xét nồng độ mặn ảnh hưởng đến chiều cao cây lúa, trong đó sử dụng nhiều marker như RM366, RM10825, RM10694, RM3412B, RM10748, RM493, RM140, RM562.

Michael J. Thomson và ctv. (2012) đã sử dụng các marker phân tử RM10825, RM 10793, RM10864, RM10843,... liên kết chặt với đoạn *Saltol* ở vị trí 10.8 - 18.4Mb xác định gen và QTLs (Quantitative Trait Loci) kiểm soát cơ chế sinh lý khác nhau để đạt được một mức độ cao hơn khả năng chịu mặn trong các giống lúa năng suất cao. Tác giả Michael J. Thomson và ctv. (2012) cũng khuyến cáo việc sử dụng hai marker RM 10793, RM10825 trong xác định kiểu gen của cây lúa chống chịu mặn có mang đoạn QTL *Saltol* trong các chương trình lai tạo giống lúa chịu mặn.

Saltol: a major QTL for salt tolerance



Saltol QTL region on the short arm of chromosome 1. Twenty-one polymorphic SSR markers are shown with the physical map position in megabases (TIGR pseudomolecule version 4). Three candidate gene loci were targeted for developing gene-based markers. Nipponbare by 93-11 sequence alignments were used to identify insertion/deletions (indels), flanking primers were designed, and 1-2 polymorphic indel markers for each locus were selected and used to genotype a set of RILs and NILs for further mapping of Saltol.

Hình 1.1 Đoạn gen *Saltol* trên nhiễm sắc thể của lúa, vị trí xác định của các SSR

Nguồn: Michael J. Thomson và ctv. (2012)

✚ Chọn giống lúa chịu mặn bằng QTL (Quantitative Trait Locus)

Bản đồ QTL (phân tích dựa trên AFLP và STS marker) cho thấy gen chủ lực điều khiển tính trạng chống chịu mặn định vị trên nhiễm sắc thể số 1 (*saltol*). Bên cạnh gen chủ lực, 3 QTL được ghi nhận có liên quan với tính trạng hấp thu K cao, 4 QTL có liên quan với tính trạng hấp thu Na thấp và 3 QTL có liên quan với tính trạng tỷ số Na/K thấp. Những QTL này định vị trên nhiễm sắc thể số 1, 3, 4, 10 và 12 [F.A.O., AGL (2000)], [Ohta M & ctv (2002)].

QTL được khám phá có ảnh hưởng điều khiển tính trạng hấp thụ K ở chồi, định vị trên nhiễm sắc thể số 1, số 4 và số 12 (Bảng 1.1), với phương sai kiểu hình được giải thích là 80,2%, 83,5% và 21,2%, theo thứ tự. QTL có ảnh hưởng đến hoạt

động điều khiển tính trạng hấp thu Na, định vị trên nhiễm thể số 1, 3, và 10. Đối với tỉ số Na/K, có 3 QTL định vị trên nhiễm thể số 1, 10 và 12 được giả định là gen điều khiển tính trạng này, với biến dị kiểu hình được giải thích là 64,3%, 86,1% và 18,5%, theo thứ tự (Bảng 1.1). QTL được quan sát trên nhiễm thể số 1 đối với 3 tính trạng: Na thấp, K cao, tỉ số Na/K thấp với giả định có liên quan đến chống chịu mặn.

Bảng 1.1 Phân tích QTL theo phương pháp cách quãng (interval) đối với tính trạng hấp thu K, Na và tỉ số Na/Ka ở chồi thân.

Chỉ tiêu	Quãng giữa hai marker	Nhiễm sắc thể	Giá trị LOD	Phương sai kiểu hình được giải thích (%)
Hấp thu K				
195-209	P3/M9-8 – <i>Saltol</i>	1	17,23	80,2
206-200	RG375 – P4/M3-2	4	5,34	83,5
3- 93	P1/M1-3 - P2/M1-3	12	3,46	21,2
Hấp thu Na				
195-209	P3/M9-8 – <i>Saltol</i>	1	14,54	64,6
39-188	P1/M5-3 – P3/M9-1	3	3,17	17,1
88 - 67	P1/M10-6 – P1/M7-10	3	3,02	16,0
27 - 25	P1/M3-10 – P1/M3- 8	10	3,96	35,6
Tỉ số Na/K				
195-209	P3/M9-8 – <i>Saltol</i>	1	14,51	64,3
207- 65	G291 – P1/M7-8	10	3,60	86,1
3- 93	P1/M1-3 – P2/M1-3	12	3,14	18,5

Các nghiên cứu của Gregorio (1997) và Niones (2004) đã lập được bản đồ gen rất chi tiết cho QTL “*Saltol*” hiện diện trên nhiễm sắc thể số 1, quyết định tới khoảng 40 - 65% tính chống chịu mặn của lúa.

1.4.2. Trong nước

Tình hình chung

Ở tỉnh Trà Vinh là một tỉnh ven biển nằm trong khu vực trọng điểm lúa của cả nước và vùng ĐBSCL. Do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu, trong những năm gần đây tình hình khô hạn, mặn xâm nhập trên địa bàn tỉnh diễn ra rất phức tạp, gây thiệt hại nhiều diện tích trồng lúa. Chỉ tính riêng vụ đông xuân 2010 - 2011 có hơn 10.000ha lúa ở các huyện Trà Cú, Cầu Ngang, Châu Thành, Tiểu Cần và thành phố Trà Vinh bị thiệt hại nặng do khô hạn và mặn xâm nhập. Trong đó, có trên 6.555ha

bị thiệt hại từ 70% trở lên, riêng số còn lại bị thiệt hại từ 30 - 70%.(Bộ Tài Nguyên Môi Trường, 2011).

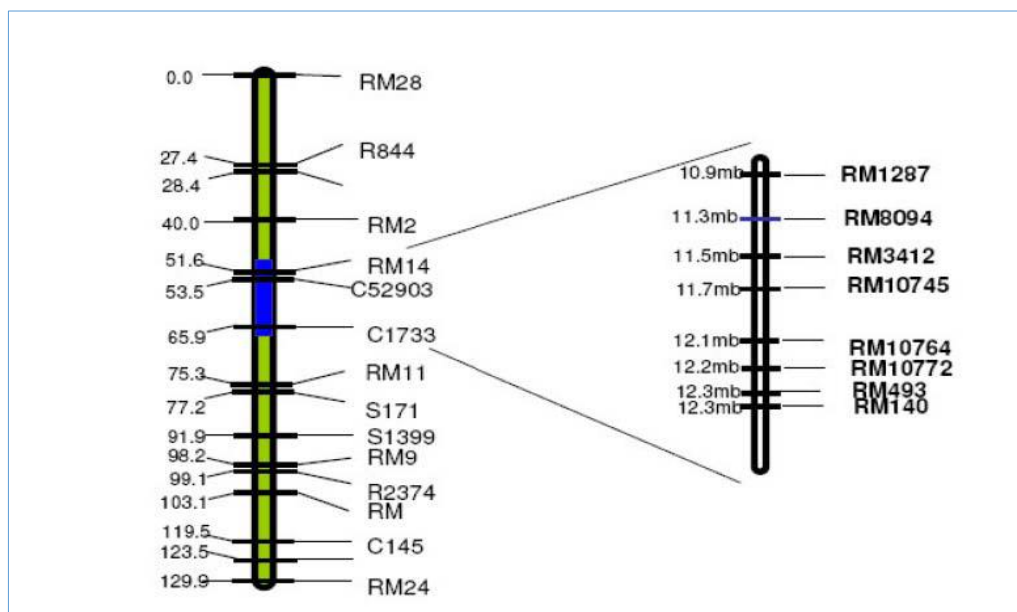
Ở Việt Nam cũng đã có nhiều nghiên cứu về lúa chịu mặn, trong đó đặc biệt phải nói đến Viện Lúa Đồng bằng Sông Cửu Long. Kết quả nghiên cứu từ năm 2009 đến nay đã bước đầu tìm được 30 dòng lúa có triển vọng chịu mặn là những dòng lúa kế thừa, được phát hiện chịu mặn qua nhiều lần thanh lọc trong phòng thí nghiệm và nhà lưới. Để đánh giá khả năng chịu mặn, Viện đang phối hợp khảo nghiệm ở một số trung tâm giống của các tỉnh như Sóc Trăng, Kiên Giang, Bến Tre, Bạc Liêu... Một số giống lúa mới của Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long xác định có khả năng kháng mặn khá cao như: OM6976, OM6677, OM5464, OM5629, OM5166, OM 5451, OM 4059, OM 6164... đã và đang được khảo nghiệm ở một số tỉnh nói trên. Kết quả khảo nghiệm ban đầu ghi nhận khá khả quan, trong đó giống lúa OM5464 đang được đề nghị nhân rộng và trình Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn công nhận là giống lúa sản xuất thử trong năm 2010. Hai giống OM6976 và OM5166 đang được tiếp tục khảo nghiệm, xác định biện pháp kỹ thuật thích hợp để tăng tính chịu mặn và năng suất của giống.

✚ Sử dụng các chỉ thị SSR liên kết chặt với QTL chịu mặn Saltol trong chọn tạo lúa chịu mặn.

Xác định gen kháng bằng chỉ thị phân tử nghĩa là sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen kháng và các QTLs để chọn được các cá thể mang gen kháng trong quần thể phân li. Độ chính xác của phương pháp này có thể lớn hơn 99,75% khi gen kháng kẹp giữa hai chỉ thị liên kết với gen kháng đó và khoảng cách di truyền từ chỉ thị phân tử đến gen kháng nhỏ hơn 5cM. Bằng cách chọn lọc này, các tổ hợp gen kháng khác nhau được chọn lọc là dựa trên kiểu gen thay vì dựa trên kiểu hình [25].

Trong số các chỉ thị phân tử thì SSR có nhiều ưu điểm: đơn giản, dễ thực hiện, nhanh, chính xác, độ đa hình cao và kinh tế. Sự phát triển của marker phân tử và bản đồ gen cây lúa trong những năm gần đây đã được ứng dụng vào mục đích xác định các QTL điều khiển tính chống chịu mặn của cây, hiện diện trên các nhiễm

sắc thể khác nhau. Các nghiên cứu của Gregorio (1997) và Niones (2004) đã lập được bản đồ gen rất chi tiết cho QTL “*Saltol*” hiện diện trên nhiễm sắc thể số 1, quyết định tới khoảng 40 - 65% tính chống chịu mặn của lúa [20, 21].



Hình 1.2 Đoạn gen *Saltol* trên nhiễm sắc thể số 1 của lúa, vị trí xác định của các SSR marker

Tác giả Nguyễn Thị Lang và cộng sự (2008), nghiên cứu ứng dụng marker phân tử trong chọn tạo giống lúa chịu mặn bằng kỹ thuật nuôi cấy túi phấn, đã tạo ra được 72 dòng lúa bằng nuôi cấy túi phấn trong nhà lưới. Từ kết quả thanh lọc mặn ở giai đoạn mạ thông qua các dữ liệu marker SSR với primer RM 223 sử dụng trên 72 dòng, kết quả, các băng hình thu được có sự phân tách giữa giống chống chịu và giống nhiễm với kích thước phân tử có chiều dài nằm trong khoảng 140 - 160bp. Các dòng lúa tái sinh qua nuôi cấy túi phấn: C53/Độc Phụng - 17, C53/Độc Phụng - 19, C53/Pokkali - 5, C53/Pokkali - 11, C53/Pokkali - 27, C53/Pokkali - 42, C53/Pokkali - 43, C53/Pokkali - 44, C53/D51 - 4, C53/D51 - 5 và C53/D51 - 8 là các dòng có khả năng chống chịu tốt với điều kiện mặn [3].

CHƯƠNG 2

NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung 1: Thực hiện thu thập mẫu giống lúa địa phương tại các huyện có nhiễm mặn thuộc tỉnh Trà Vinh.

2.1.1. Mục đích: Xác định tính đa dạng của các giống lúa tại các huyện thị ven biển bị nhiễm mặn.

2.1.2. Đối tượng và Phương pháp thu mẫu

- *Đối tượng:* Để thu thập được các giống lúa địa phương có nguồn gen quý tại các huyện ven biển của tỉnh Trà Vinh, nhóm nghiên cứu đã tiếp cận và thu mẫu lúa ngẫu nhiên ở những hộ nông dân còn đang canh tác các giống, hoặc chọn mẫu ở những hộ có mô hình lúa tôm.

- *Phương pháp nghiên cứu:* Áp dụng phương pháp trao đổi KIP (Key Informant Panel) để hỏi người am hiểu về các giống lúa địa phương có khả năng kháng được nước mặn, những người tham gia KIP bao gồm nông dân, nhân viên khuyến nông địa phương, chính quyền xã,... Do đó, phương pháp KIP dùng thu thập thông tin tổng quát về vấn đề nào đó, ở đề tài này là giống lúa chịu mặn. Lợi ích của phương pháp KIP là thu thập thông tin nhanh, đáng tin cậy và ít tốn kém (phương pháp này không thống kê xử lý số liệu).

2.1.3. Kết quả thu mẫu

Kết quả phỏng vấn KIP tại 4 huyện nghiên cứu đã thu thập được trên 12 giống lúa có các đặc tính cơ bản như sau:

- **Giống ST5:** Thời gian sinh trưởng khoảng 100 đến 120 ngày, tuy dài hơn đôi chút so với lúa thường, nhưng bù lại giống ST5 cho năng suất khá cao, hạt gạo dẻo, thơm và đặc biệt là phù hợp với các tiểu vùng thường xuyên bị nhiễm phèn mặn và có thể bố trí trồng luân canh sau vụ nuôi tôm sú nước lợ.

- **Một Bụi Đỏ:**Lúa Một Bụi Đỏ là giống lúa mùa, chịu ảnh hưởng quang chu kỳ (lúa trổ theo thời tiết) lúa sinh trưởng và phát triển trong điều kiện ngày ngắn. Cây lúa có chiều cao cây trung bình, không đổ ngã, rất thuận tiện trong chăm sóc và thu hoạch bằng cơ giới. Lúa có khả năng chịu phèn, mặn cao phù hợp với đồng ruộng. Lúa Một Bụi Đỏ chỉ thích ứng trong sản xuất vụ mùa (thời vụ gieo mạ hoặc sạ trong khoảng thời gian từ 15/7 đến 15/8 âm lịch, lúa cho thu hoạch vào khoảng 15/11 - 30/11 âm lịch). Năng suất hiện nay dao động khoảng 4 tấn/ha, phù hợp cho mô hình lúa tôm.

- **Giống TV13:** Giống lúa TV13 có nguồn gốc tại Trà Vinh với nhiều ưu điểm vượt trội như: Phát triển tốt ở vùng đất có độ mặn từ 4 - 5 phần nghìn, thời gian sinh trưởng ngắn từ 87- 95 ngày, năng suất đạt từ 6 - 8 tấn/ha, hạt gạo dài, không bạc bụng, có mùi thơm nhẹ, kháng bệnh đạo ôn và rầy nâu ...Giống lúa TV13 phù hợp cho sản xuất theo mô hình luân canh tôm - lúa (nuôi 1 vụ tôm sú vào mùa nắng, trồng 1 vụ lúa vào mùa mưa).

- **Giống OM576 (Hàm Châu):** Thời gian sinh trưởng cực ngắn, khoảng 90 ngày trong điều kiện sạ thẳng, 95 ngày khi gieo mạ cấy; chiều cao cây trung bình 90 - 95cm. Năng suất trung bình đạt 4,5 - 5,5 tấn/ha; điều kiện thâm canh có thể đạt 7,0 - 7,5 tấn/ha. OM 576 có hạt gạo hơi ngắn, chiều dài hạt gạo trung bình 6,5mm; khối lượng 1000 hạt 24 gram; tỉ lệ bạc bụng thấp, cơm mềm, ngon. Kháng rầy nâu trung bình, hơi nhiễm bệnh đạo ôn, nhiễm nhẹ bệnh đốm vằn; giống rất dai hạt.

- **Giống Trắng Tép, Lúa Sỏi, Tài Nguyên, Tài Nguyên Hạt Dài, Chim Vàng, Ba Túc, Bạc Liêu** và một ít giống khác. Các giống lúa mùa này thường nấu khô cơm hoặc dẻo, thơm, rất ngon cơm. Đây là các giống lúa đặc sản của địa phương, thích nghi nền ruộng thấp, cao gèn, chịu ngập sâu, ít tốn phân, sản xuất trong điều kiện sạch vì xen trong ruộng có nuôi tôm, không dùng phân hóa học, thuốc trừ sâu nhiều. Tuy các giống lúa này có thời gian sinh trưởng 5 - 6 tháng, năng suất thấp, chỉ bằng 60 - 70% lúa cao sản, thường bị nhiễm rầy.

- **Giống Lúa Lai F1 (ARIZE B-TE1):** Giống lúa lai Arize B-TE1 là giống lúa lai F1 ba dòng do công ty Bayer CropScience sản xuất và được công nhận giống

quốc gia từ tháng 07/2007 cho các tỉnh phía Nam. Đặc tính chủ yếu: Năng suất cao hơn lúa thường khoảng 20% trong cùng điều kiện canh tác. Hạt thon nhỏ, gạo chất lượng cao, cơm mềm, thơm nhẹ, chất lượng nấu ăn tốt, được chấp nhận cao. Kháng bệnh đạo ôn tốt, kháng rầy nâu trung bình. Hạt gạo dài 6,4 - 6,5mm. Tiềm năng năng suất có thể đạt 10 tấn/ha tại ĐBSCL nếu thâm canh tốt. Thời gian sinh trưởng (TGST): vụ Đông xuân: 100 - 107 ngày; Hè thu: 105 - 110 ngày (lúa sạ, lúa cấy cộng thêm 5 - 7 ngày nữa); Lượng giống gieo: 3 - 5 kg/ 1.000 m² (30 - 50 kg/ha) đối với lúa sạ. Năng suất đạt 8 - 10 tấn/ha. Nhược điểm: Hạt lúa **ARIZE B-TE1** ngắn và nhỏ vì thế không đáp ứng cho xuất khẩu, TGST hơi dài nên khó áp dụng cho vùng canh tác ba vụ lúa trên năm. Có thể trồng theo mô hình lúa tôm.

Bảng 2.1 Danh sách 12 giống lúa thu thập được tại Duyên hải, Cầu Ngang, Trà Cú, Châu Thành, tỉnh Trà Vinh

STT	Tên giống	Nguồn gốc
1	Hàm Châu	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
2	Tài Nguyên Hạt Tròn	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
3	Chim Vàng	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
4	Lúa Lai F1	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
5	Ba Túc	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
6	ST5	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
7	Tài Nguyên	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
8	Bạc Liêu	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
9	Lúa Sỏi	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
10	Một Bụi Đỏ	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
11	TV 13	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam
12	Trắng Tép	Tỉnh Trà Vinh, Việt Nam

Nguồn: giống thu thập, 2013

2.2. Thí nghiệm 1: Ứng dụng dấu phân tử DNA nhận diện gen kháng mặn.

2.2.1. Mục đích nghiên cứu: Nhận diện các giống lúa địa phương có mang gen kháng mặn (điều kiện đã biết marker phân tử xác định giống chịu mặn và mức độ mặn).

2.2.2. Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu

Thiết bị và dụng cụ

- Cân điện tử Adventure của OHAUS (Mỹ)
- Water and Oilbath WB/OB 7 - 45 WBU 45 của Memmert (Đức)
- Máy ly tâm Mikro 22R Hettich (Đức)
- Máy PCR GeneAmp PCR system 2700 (Applied Biosystems – Singapore)
- Lò vi sóng EM - G47558 của SANYO.
- Bộ điện di gel polyacrylamide 24V (Nhật)
- Máy đọc gel bằng tia UV của BioBlock Scientific (Pháp)
- Tủ lạnh SR - S22TN(S) của SANYO (Nhật)
- Một số dụng cụ: bình tam giác, chai thủy tinh, khay nhựa, thùng 5 lít, pi-pét, tube 1,5ml, tube 200 μ l, pipet 1 ml, pipet 200 μ l, bao tay, kéo, cối và chày nghiền mẫu...

Hóa chất

- Hóa chất ly trích DNA: CTAB Buffer, β -mercaptoethanol, isopropanol, TE, RNase, loading dye, ethanol 100% và 70%, ...
- Hóa chất cho PCR và điện di: Taq polymerase, dNTPs, PCR Buffer, ethidium bromide, acrylamide:bis (29:1), TBE...

Phương pháp

+ **Phương pháp bố trí:** Bố trí thí nghiệm các giống lúa theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên hàng cách hàng 20cm, mỗi hàng 1 giống, gồm 10 cây và cây cách cây 20cm.

+ Các giống lúa được trồng và thu mẫu lá 15 ngày sau khi cấy dùng cho việc ly trích. Hạt được thu riêng từng giống, xử lý và trữ lạnh cho việc sử dụng sau này.

- **Ly trích DNA**

+ Mẫu lá lúa 20 ngày sau khi cấy thu từ ngoài đồng có thể ly trích DNA, nếu không ly trích ngay thì phải giữ lá trong tube 1,5ml.

+ DNA được ly trích và tinh sạch từ mô lá theo phương pháp CTAB (Doyle, 1990) được tiến hành theo các bước như sau:

○ Cho khoảng 150mg mẫu lá vào từng cối riêng biệt, thêm 1ml dung dịch ly trích CTAB (đã làm nóng trong waterbath ở 65°C trong 15 phút), nghiền mẫu thật mịn, lấy phần dung dịch cho vào tube 1,5ml, tiếp tục thêm 10µl β-mercaptoethanol vào tube, lắc đều và ủ ở 65°C trong 60 phút, cứ 10 phút trộn đều mẫu một lần.

○ Thêm 500µl CI (chloroform:isoamylalcohol) ly tâm 13.000 vòng/phút trong 5 phút.

○ Lấy 750µl phần trong, thêm 500µl CI, ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút.

○ Lấy 600µl phần trong, thêm 500µl CI, ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút.

○ Lấy phần trong, thêm 5µl RNase và ủ ở 37°C trong ít nhất 2 giờ.

○ Thêm 500µl CI, ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút.

○ Lấy phần trong, thêm 400µl isopropanol, lắc đều và ủ trong nước đá 15 phút.

○ Ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút, đổ bỏ cẩn thận phần dung dịch trên, giữ phần tủa.

○ Thêm 500µl ethanol 70%, ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút, giữ phần tủa (lặp lại thêm 1 lần)

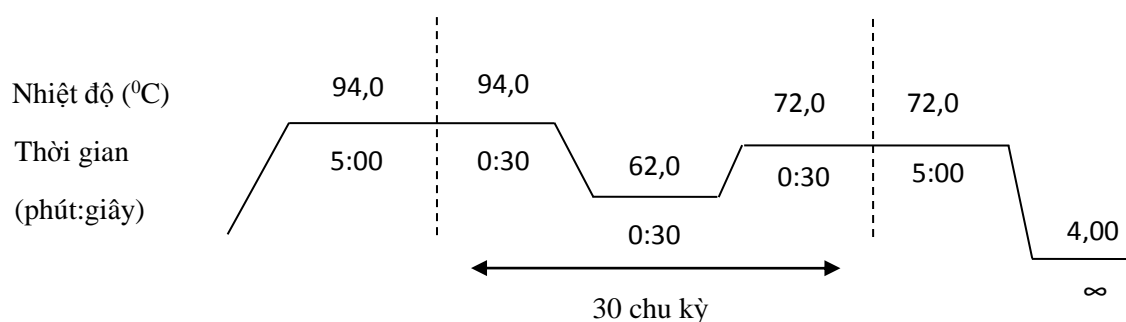
○ Thêm 500µl ethanol 100%, ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút.

○ Đổ bỏ cẩn thận phần dung dịch, giữ lại phần tủa, để khô tự nhiên, cho vào khoảng 50 μ l TE 8.0, lắc nhẹ và trữ lạnh ở - 4 $^{\circ}$ C để đảm bảo chất lượng DNA.

DNA sau khi được ly trích và tinh sạch sẽ được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1%, sau đó được nhuộm bằng ethidium bromide và chụp hình bằng máy chụp hình gel. Các mẫu có DNA tốt sẽ được sử dụng cho các phản ứng tiếp theo.

- Phản ứng PCR

Hỗn hợp phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 20 μ l bao gồm 2 μ l PCR buffer, 0,4 μ l dNTPs, 1 μ l cho cặp mồi, 0,2 μ l Taq polymerase 5U/ μ l, 15,4 μ l nước cất 2 lần và 1 μ l mẫu DNA. Trình tự của cặp mồi SSR dùng cho thí nghiệm được trình bày trong bảng 2.2. Phản ứng PCR được thực hiện qua 30 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR GenneAmp PCR system 2700 như sau:



Hình 2.1 Sơ đồ minh họa chu kỳ phản ứng PCR

Sản phẩm PCR sẽ được điện di trên gel polyacrylamide 12% trong dung dịch TBE 0,5% bằng máy điện di với điện thế 24V trong 65 phút. Sau đó, gel được nhuộm với dung dịch có chứa ethidium bromide trong 10 phút, rửa nhuộm bằng nước cất trong 1 phút và đem chụp dưới đèn UV. Các đoạn DNA khuếch đại sẽ được ghi nhận và phân tích.

Bảng 2.2 Trình tự 3 cặp mồi SSR được dùng trong nghiên cứu này

Mục tiêu	Con mồi	Trình tự con mồi
RM336	RM336-R	5'-GCTGGTTTGTTCAGGTTTCG-3'
	RM336-F	5'-CTTACAGAGAAACGGCATCG-3'
RM10793	RM10793-R	5'-TCGTCGAGTAGCTTCCCTCTCTACC-3'
	RM10793-F	5'-GACTTGCCAACTCCTTCAATTCG-3'
RM10825	RM10825-R	5'-GTTTCCTTCCATCCTTGTTGC-3'
	RM10825-F	5'-GGACACAAGTCCATGATCCTATCC-3'

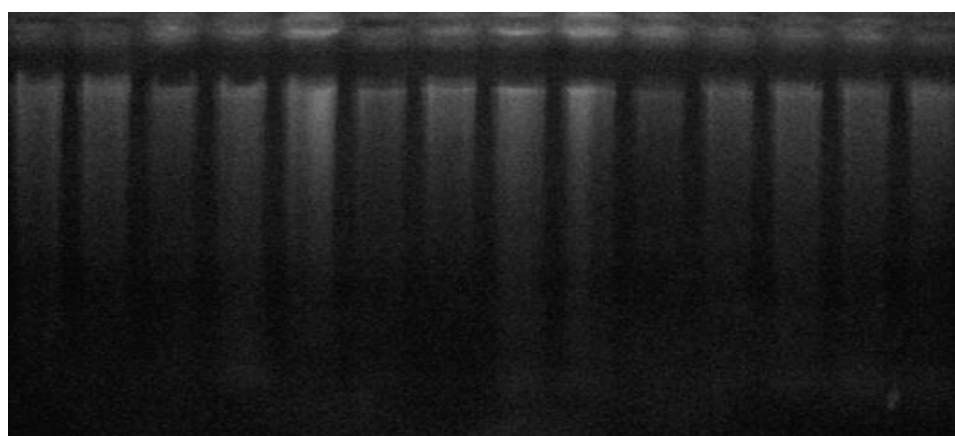
Nguồn: Lê Hùng Linh và ctv., 2012

2.2.3. Kết quả nghiên cứu

✚ Kết quả ly trích DNA

DNA sau khi được ly trích từ 14 giống lúa bằng phương pháp CTAB (Doyle and Doyle, 1990) được kiểm tra trên gel agarose 1%. Kết quả điện di kiểm tra DNA (Hình 2.2) cho thấy các giống lúa đều hiện băng tương đối. Tuy nhiên, các band DNA có vết sáng dài ở các giếng, điều này chứng tỏ DNA có lẫn một ít RNA với trọng lượng phân tử thấp hoặc DNA bị đứt gãy. Nguyên nhân là do trong quá trình ly trích, thao tác còn chậm và không cẩn thận. Dù vậy, các mẫu DNA vẫn đủ chất lượng để thực hiện phản ứng PCR ở thí nghiệm tiếp theo.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



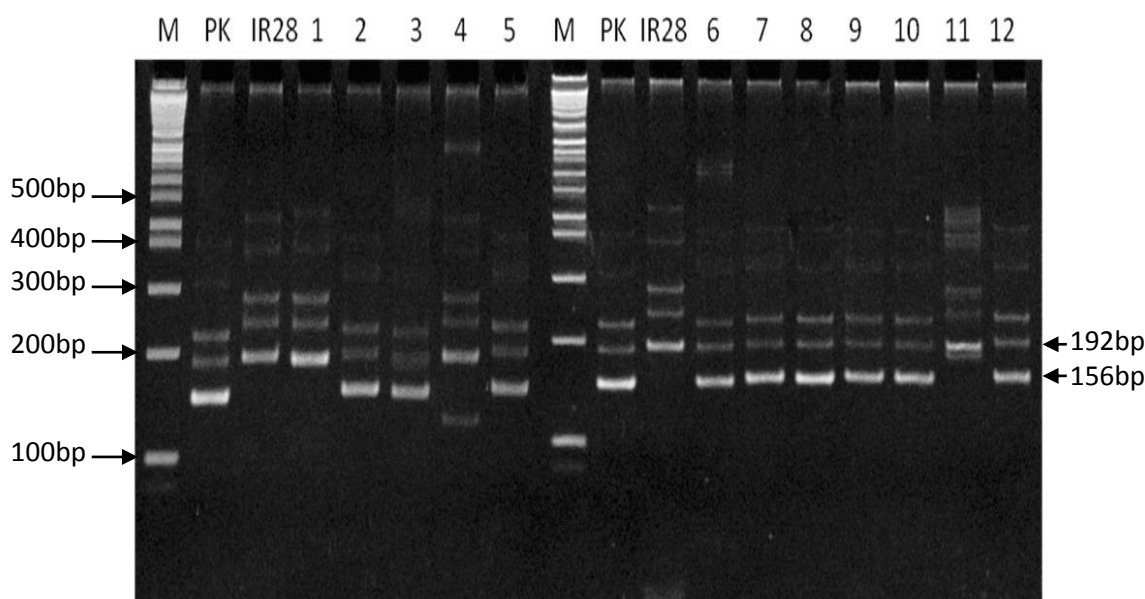
Hình 2.2 Phổ điện di kiểm tra DNA ở 14 giống lúa

Để nhận diện giống lúa chịu mặn từ 12 giống lúa ở nghiên cứu này bằng dấu phân tử SSR thì 3 cặp mồi RM336, RM10793 và RM10825 đã được sử dụng.

✚ Kết quả nhận diện gen kháng mặn từ dấu chỉ thị RM336

Kết quả phân tích phổ điện di sản phẩm PCR từ cặp mồi RM336 ở Hình 2.3 cho thấy Tài Nguyên Hạt Tròn (2), Chim Vàng (3), Ba Túc (5), ST5 (6), Tài Nguyên (7), Bạc Liêu (8), Lúa Sỏi (9), Một Bụi Đỏ (10), và Trắng Tép (12) có có band DNA khuếch đại 156 bp tương ứng với giống Pokkali (chuẩn kháng); có 3 giống có band DNA khuếch đại 192 bp tương ứng giống IR28 (giống chuẩn nhiễm) không có khả năng chịu mặn là các giống: Hàm Châu (1), Lúa Lai F1 (4) và TV 13

(11). Cặp mồi RM336 liên kết chặt với vùng gen quyết định tính trạng chiều cao cây đối với lúa trong điều kiện mặn. Việc xuất hiện band DNA ở vị trí 156 bp cho thấy các giống này hứa hẹn sẽ cho biểu hiện chống chịu đối với tính trạng chiều cao cây trong điều kiện mặn. Dấu phân tử SSR RM336 cũng đã được sử dụng thành công để nhận diện các cá thể F2 từ tổ hợp lai Sadri/FL478, có khả năng chống chịu mặn ở nồng độ muối từ 6-8 dS/cm đối với tính trạng chiều cao thân lá cây lúa (Mohammadi, 2013).



Hình 2.3 Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM336 trên gel polyacrylamide 12%

(M: ladder 1kb; PK) Pokali; IR28; 1) Hàm Châu; 2) Tài Nguyên Hạt Tròn; 3) Chim Vàng; 4) Lúa Lai F1; 5) Ba Túc; 6) ST5; 7) Tài Nguyên; 8) Bạc Liêu; 9) Lúa Sỏi; 10) Một Bụi Đỏ; 11) TV13; 12) Trắng Tép.

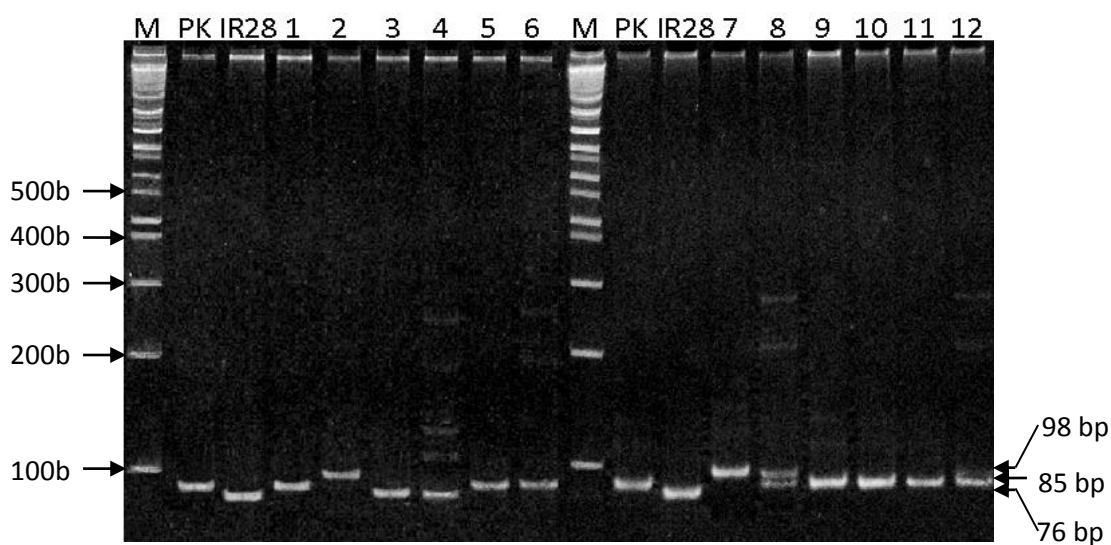
✚ Kết quả nhận diện gen kháng mặn từ cặp mồi RM10793

Theo như kết quả thu được từ phổ điện di sản phẩm PCR từ cặp mồi RM10793 (Hình 2.4) cho thấy sự xuất hiện của 3 band DNA đa hình. Các giống lúa Hàm Châu (1), Ba Túc (5), ST5 (6), Lúa Sỏi (9), Một Bụi Đỏ (10), TV13 (11), Trắng Tép (12) có band DNA xuất hiện ở vị trí 85 bp cho thấy rằng các giống này có khả năng mang gen chịu mặn; giống Chim Vàng (3) và Lúa Lai F1 (4) xuất hiện band DNA giống như IR28 (76 bp) cho thấy mang gen nhiễm mặn. Giống Tài Nguyên (7), Tài Nguyên Hạt Tròn (2) và Bạc Liêu (8) xuất hiện band DNA tại vị trí

98 bp, nhưng giống Bạc Liêu xuất hiện thêm 1 band tại vị trí 85 bp (tương tự giống chuẩn kháng Pokkali).

Khi quan sát kiểu hình của 3 giống Tài Nguyên, Tài Nguyên Hạt Tròn và Bạc Liêu trong thí nghiệm thử mặn trong dung dịch và kết hợp với kiểu gen cho thấy, vị trí band 98 bp không quyết định tính kháng mặn cũng như tính nhiễm của các giống, điều này phụ thuộc vào việc xuất hiện các band DNA ở vị trí 85 bp và 76 bp (tương tự vị trí chuẩn kháng và chuẩn nhiễm).

Phổ điện di sản phẩm PCR cặp mồi RM10793 được ghi nhận là phù hợp với kết quả phân tích nồng độ K^+ , Na^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ chứa trong lá ở thí nghiệm đánh giá khả năng chịu mặn nhân tạo (Bảng 2.12). Kết quả ghi nhận trong thí nghiệm phù hợp với nghiên cứu của Thomson *et al.*(2010) về liên kết giữa cặp mồi RM 10793 với các QTL *qSKC1*, *qSNK* và *qRNK1* quyết định tính trạng nồng độ K^+ trên lá, tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá và rễ lúa.



Hình 2.4 Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM10793 trên gel polyacrylamide 12%.

(M: ladder 1kb; PK) Pokkali; IR28; 1) Hàm Châu; 2) Tài Nguyên Hạt Tròn; 3) Chim Vàng; 4) Lúa Lai F1; 5) Ba Túc; 6) ST5; 7) Tài Nguyên; 8) Bạc Liêu; 9) Lúa Sỏi; 10) Một Bụi Đỏ; 11) TV13; 12) Trắng Tép.

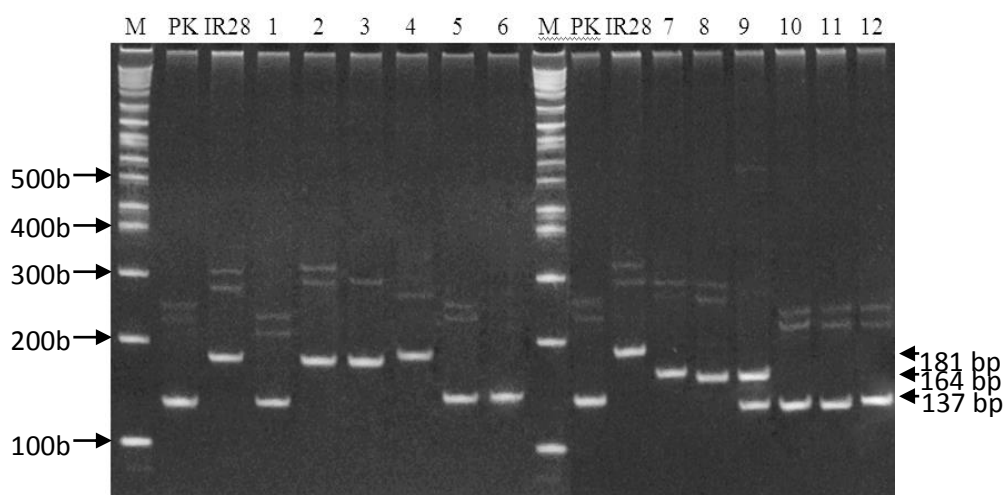
🚩 Kết quả nhận diện gen kháng mặn từ dấu chỉ thị RM10825

Kết quả phân tích phổ điện di sản phẩm PCR từ cặp mồi RM10825 ở Hình 2.5 cho thấy sự xuất hiện của 3 band DNA đa hình và 1 band DNA đơn hình. Các

giống lúa Hàm Châu (1), Ba Túc (5), ST5 (6), Một Bụi Đỏ (10), TV13 (11), Trắng Tép (12) có band DNA xuất hiện ở vị trí 137 bp cho thấy rằng các giống này có khả năng mang gen chịu mặn; giống Tài Nguyên Hạt Tròn (2), Chim Vàng (3) và Lúa Lai F1(4) xuất hiện band DNA giống như IR28 (181 bp) mang gen nhiễm mặn. Giống Tài Nguyên (7), Bạc Liêu (8) và Lúa Sỏi (9) xuất hiện band DNA tại vị trí 164 bp, nhưng giống Lúa Sỏi xuất hiện thêm 1 band tại vị trí 137 bp (tương tự giống chuẩn kháng Pokkali).

Khi quan sát kiểu hình của 3 giống Tài Nguyên (7), Bạc Liêu (8) và Lúa Sỏi (9) trong thí nghiệm thử mặn trong dung dịch và kết hợp với kiểu gen cho thấy, tương tự như cặp mồi RM10793, vị trí band 164 bp không quyết định tính kháng mặn cũng như tính nhiễm của các giống, điều này phụ thuộc vào việc xuất hiện các band DNA ở vị trí 137 bp và 181 bp (tương tự vị trí chuẩn kháng và chuẩn nhiễm).

Tương tự như cặp mồi RM10793, cặp mồi RM10825 được ghi nhận là phù hợp với kết quả phân tích nồng độ K^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ chứa trong ở thí nghiệm này (Mục 4.3.2). Kết quả ghi nhận trong thí nghiệm phù hợp với nghiên cứu của Thomson *et al.*, (2010) đã sử dụng RM10825 để nhận diện các cá thể con lai từ tổ hợp lai IR29/Pokkali có khả năng tích lũy K^+ , Na^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá và rễ lúa.



Hình 2.5 Phổ điện di sản phẩm PCR 14 giống lúa thí nghiệm từ cặp mồi RM10825 trên gel polyacrylmid 12%.

(M: ladder 1kb; PK) Pokkali; IR28; 1) Hàm Châu; 2) Tài Nguyên Hạt Tròn; 3) Chim Vàng; 4) Lúa Lai F1; 5) Ba Túc; 6) ST5; 7) Tài Nguyên; 8) Bạc Liêu; 9) Lúa Sỏi; 10) Một Bụi Đỏ; 11) TV13; 12) Trắng Tép.

❖ **Tiểu kết nội dung 2:**

Tóm lại, sử dụng 3 cặp mồi RM336 RM10793 RM10825, kết quả tuyển chọn được 7 giống có mang gen kháng mặn: Ba túc, ST5, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13, Trắng Tép. (Bảng 2.3)


Bảng 2.3 Tóm tắt kết quả nhận diện gen kháng mặn các cặp mồi

SSR	Giống kháng mặn	Giống nhiễm mặn
RM336	Tài Nguyên Hạt Tròn, Tài Nguyên, Chim Vàng, Ba Túc, ST5, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, Trắng Tép.	Hàm Châu, Lúa Lai F1, TV13.
RM10793	Hàm Châu, Ba Túc, ST5, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13, Trắng Tép.	Chim Vàng, Lúa Lai F1.
RM10825	Hàm Châu, Ba Túc, ST5, Một Bụi đỏ, TV13, Trắng Tép.	Tài Nguyên Hạt Tròn, Chim Vàng, Lúa Lai F1.

2.3. Thí nghiệm 2: Thanh lọc tính mặn nhân tạo giai đoạn mạ trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida.

2.3.1. Mục đích nghiên cứu: Đánh giá khả năng kháng mặn các giống lúa địa phương tại Trà Vinh theo thang đánh giá mặn của IRRI (Viện nghiên cứu lúa Quốc tế).

2.3.2. Đối tượng và Phương pháp nghiên cứu

 *Vật liệu thí nghiệm*

12 giống lúa và 2 đối chứng mặn: Pokkali là chuẩn kháng và IR28 là chuẩn nhiễm.

 *Chuẩn bị dung dịch Yoshida*

Bảng 2.4 Dung dịch mẹ cho môi trường Yoshida

Nguyên tố	Hóa chất	Lượng cần (g/500ml dd)
<u>Đa lượng</u>		
N	Ammonium nitrate (NH_4NO_3)	45,700
P	Sodium phosphate, monobasic monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	17,800
K	Potassium sulfate (K_2SO_4)	35,700
Ca	Calcium sulfate, dehydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	58,675
Mg	Magnesium sulfate, 7-hydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	162,000
<u>Vĩ lượng</u>		
	Hòa tan lần lượt từng nhóm chất với nước cất, sau đó thêm 25 ml H_2SO_4 cuối cùng lên thể tích 500ml	
Mn	Manganous chloride, 4-hydrate ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,75
Mo	Ammonium molybdate, 4-hydrate [(NH_4) ₆ $\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]	0,037
Zn	Zinc sulfate, 7- hydrate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,0175
B	Boric acid (H_3BO_3)	0,467
Cu	Cupric sulfate, 5-hydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0,0155
Fe	Ferric chloride, 6- hydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	3,85
	Citric acid, monohydrate ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	5,95

Nguồn: Yoshida et al., 1976.


Bảng 2.5 Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng cho thanh lọc mặn

Nguyên tố	Hóa chất	ml dd stock/10 l môi trường dinh dưỡng
Khoáng đa lượng		
N	NH ₄ NO ₃	8
P	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	8
K	K ₂ SO ₄	8
Ca	CaCl ₂ .H ₂ O	8
Mg	MgSO ₄ .7H ₂ O	8
Khoáng vi lượng		
Mn	MnCl ₂ .4H ₂ O	
Mo	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	
Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8
B	H ₃ BO ₃	
Cu	CuSO ₄ .H ₂ O	
Fe	FeCl ₃ .6.H ₂ O	

Nguồn: Yoshida et al., 1976.

Thời gian và địa điểm thí nghiệm

- Thời gian thực hiện thí nghiệm bắt đầu từ tháng 05/2013 đến tháng 12/2013.
- Địa điểm thí nghiệm đánh dấu phân tử và khảo sát gen kháng mặn tại Phòng Thí nghiệm Di truyền- Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng dụng, trường Đại học Cần Thơ.
- Địa điểm phân tích nồng độ K⁺, Na⁺, tỉ lệ K⁺/Na⁺ tại Phòng Thí nghiệm chuyên sâu, trường Đại học Cần Thơ.

 *Phương pháp:* Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, gồm 2 nhân tố là độ mặn và giống, điều kiện thí nghiệm ngoài nhà lưới ở nhiệt độ dao động trung bình 32 - 33°C và giữ ổn định PH = 5 - 7. Khi hạt lúa được nảy mầm cho vào khay xốp có chứa dung dịch muối (2‰, 4‰, 6‰), mỗi lỗ của một vỉ xốp cho vào 1 hạt giống đã nảy mầm, mỗi giống gieo 10 lỗ cho một lần lặp lại.

✚ *Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi*

Chiều cao cây: Đo khi giống IR28 chết gần như hoàn toàn, đo từ đáy khay đến chóp lá cao nhất, tính trung bình từng giống của từng lần lặp lại ở 14 nghiệm thức, đơn vị tính cm.

Khả năng chịu mặn: Khi giống IR28 chết gần như hoàn toàn thì ghi nhận tính chống chịu mặn của các giống thanh lọc theo tiêu chuẩn của IRRI (Bảng 2.6)

Tỷ lệ sống sót: Ghi nhận khi IR28 chết hoàn toàn cho đến ngày 19 sau khi cho vào dung dịch.

Cấp chống chịu mặn: Cấp chịu mặn = Tổng (Cấp n x số cây cấp n) / Tổng số cá thể thanh lọc mặn (với n là cấp thiệt hại từ: 1, 3, 5, 7, 9)

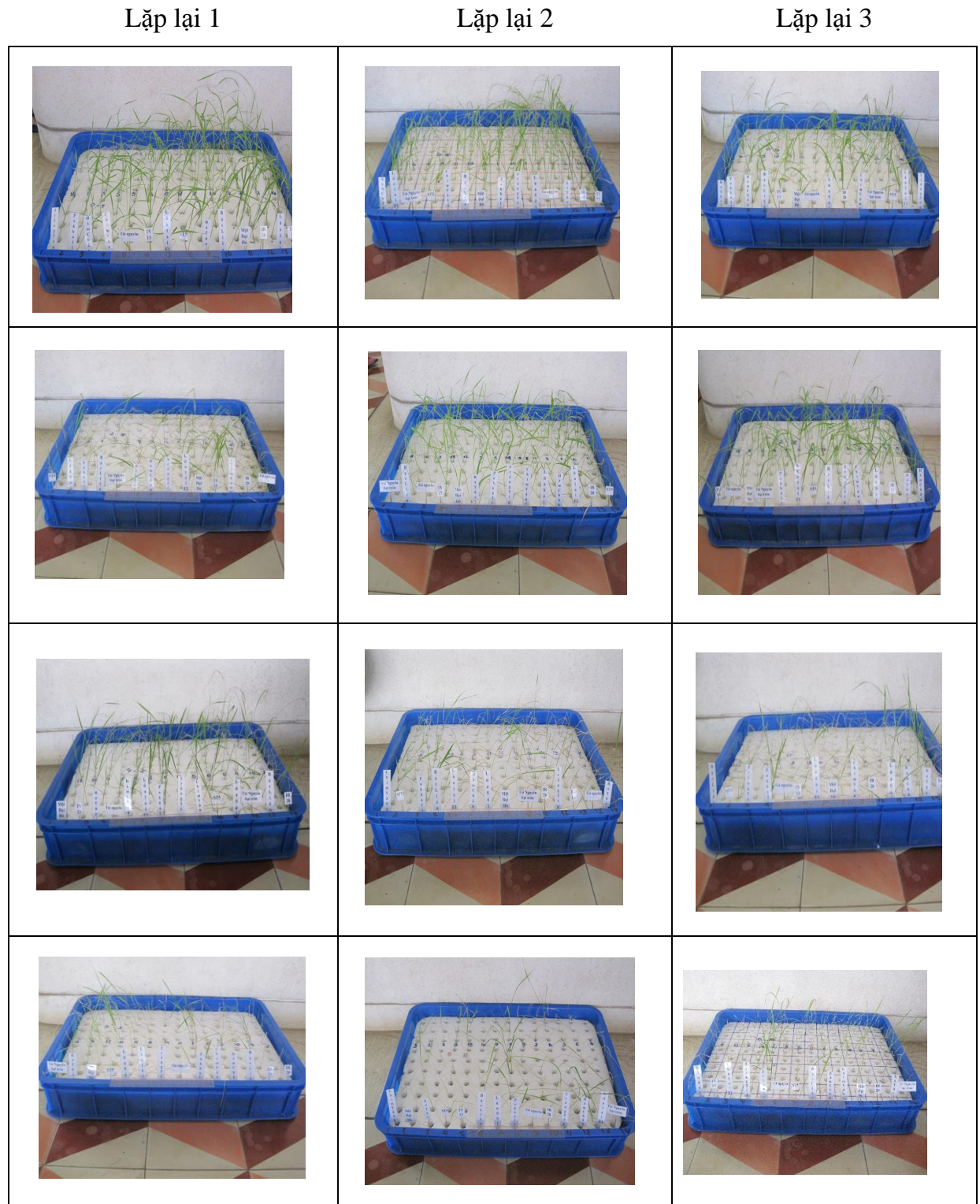
Bảng 2.6 Tiêu chuẩn đánh giá (SES) ở giai đoạn tăng trưởng (IRRI, 1997)

Cấp	Mô tả triệu chứng	Đánh giá
1	Tăng trưởng bình thường không có vết cháy lá	Chống chịu tốt
3	Gần như bình thường, nhưng đầu lá hoặc vài lá có vết trắng, lá hơi cuộn lại.	Chống chịu
5	Tăng trưởng chậm lại; hầu hết lá bị khô; một vài chồi bị chết	Chống chịu trung bình
7	Tăng trưởng ngưng lại hoàn toàn; hầu hết lá bị khô; một vài chồi bị chết.	Nhiễm
9	Tất cả cây bị chết hoặc khô	Nhiễm nặng

Nguồn: Gregorio et al., 1997

✚ Phương thức bố trí

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại, với 4 nghiệm thức 0‰, 2‰, 4‰ và 6‰.



Hình 2.6 Sơ đồ thí nghiệm thanh lọc tính mặn nhân tạo ở thời điểm 19 NSC

Tiến hành thí nghiệm thanh lọc

Cắt tấm xốp sao cho vừa khít vào bên trong khay nhựa. Mặt dưới tấm xốp được phủ bằng lưới sao cho hạt lúa không bị rơi xuống đáy khay nhựa. Tấm xốp được khoét lỗ theo hàng, tổng số lỗ trên mỗi tấm xốp là 140.

Các giống lúa thanh lọc được xử lý axit nitric, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ để lúa nảy mầm.

Khi các hạt lúa đã nảy mầm, gắp hạt vào trong các lỗ theo qui định mỗi giống 10 hạt, mỗi hạt một lỗ. Trong 3 ngày đầu thanh lọc, khay được cho ít nước để hạt lúa phát triển bình thường. Khi rễ lúa đã phát triển (sau 3 ngày) thay thế nước bằng dung dịch Yoshida có nồng độ muối là 2‰, 4‰ và 6 ‰. Sau khoảng 2 tuần thanh lọc sẽ tiến hành ghi nhận tính chống chịu mặn của các giống lúa (khi IR 28 chết hoàn toàn).

Phương pháp phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Excel xử lý số liệu thô. Phân tích thống kê bằng phần mềm Stargraphics.

2.3.3. Kết quả nghiên cứu

Đánh giá khả năng chịu mặn của các giống lúa dựa trên đáp ứng sinh lý

Tính chống chịu mặn của thực vật có được là do sự tác động đa gen cộng hưởng theo nhiều cơ chế sinh lý khác nhau như tăng áp suất thẩm thấu của dịch bào, tiết muối đã tích trữ qua khí khổng hay tuyến muối, cách ly muối và thẩm chọn lọc. Trong các nghiên cứu về khả năng chịu mặn ở lúa thì việc xác định đánh giá và phân loại mức độ chống chịu mặn là một trong những chỉ tiêu cần thiết và quan trọng bậc nhất. Kết quả thử độ nảy mầm của các giống lúa thí nghiệm đều trên 95% cho thấy các giống lúa làm thí nghiệm có sức sống rất cao, làm cơ sở để tiến hành thí nghiệm thử mặn trong dung dịch dinh dưỡng ở các nghiệm thức 2‰, 4‰, 6‰.

- **Tỷ lệ sống**

Kết quả ghi nhận khả năng sống sót cho thấy cây lúa ở nghiệm thức đối chứng (0‰) có tỷ lệ sống 100% đến khi kết thúc thí nghiệm. Ở điều kiện nhiễm mặn 2‰, hầu hết đều phát triển bình thường cho tới khi thí nghiệm kết thúc.

Kết quả được trình bày trong bảng 2.7 cho thấy, ở nghiệm thức xử lý mặn 4‰, giống IR28 chết 6.7 % sau 14 ngày xử lý mặn. Trong khi đó, các giống Chim Vàng, Ba Túc, Lúa Sỏi, Một bụi Đỏ, TV13 và Pokkali sống hơn 70% và có 5 giống có tỷ lệ sống sót dao động từ 50 - 70%: Hàm Châu, ST5, Trắng Tép và Bạc Liêu. Sau 19 ngày trong điều kiện xử lý mặn 4‰, có 6 giống có tỷ lệ sống sót trên 50% là Pokkali, Chim Vàng, Ba Túc, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ và TV13.

Bảng 2.7 Tỷ lệ sống các giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh trong điều kiện 4‰ ở giai đoạn mạ

STT	Tên giống	Tỷ lệ sống sót ở nồng độ 4‰ (%)		
		7 NSC	14 NSC	19 NSC
1	Pokkali	100	96.7	86,7
2	IR28	70	6.7	0.0
3	Hàm Châu	86.7	57.7	40
4	Tài Nguyên Hạt Tròn	73.3	47.7	30
5	Chim Vàng	90	73.3	56,7
6	Lúa lai F1	83.3	43.3	23,3
7	Ba Túc	86.7	70	50
8	ST5	90	57.7	36,7
9	Tài Nguyên	80	37.7	16,7
10	Bạc Liêu	93.3	53.3	36,7
11	Lúa Sỏi	93.3	83.3	60
12	Một Bụi Đỏ	96.7	80	66,7
13	TV 13	90	77.7	56,7
14	Trắng Tép	87.7	63.3	40

Ghi chú: Giống Pokkali (chuẩn kháng mặn); Giống IR28 (chuẩn nhiễm mặn)

Kết quả tỷ lệ sống ở điều kiện xử lý mặn 6‰ được trình bày trong bảng 2.8, giống IR28 chết hết (0%) sau 19 ngày xử lý mặn. Sau 14 ngày, chỉ còn Pokkali có tỷ lệ sống sót trên 70% và trong đó, có 6 giống Ba Túc, ST5, Một Bụi Đỏ, Lúa Sỏi và Trắng Tép, TV13 có tỷ lệ sống dao động từ 50 - 70%. Các giống còn lại dao động từ 10 - 50%.

Sau 19 ngày, có 2 giống có tỷ lệ sống sót trên 50% là Pokkali, và Một Bụi Đỏ. Các giống Hàm Châu, Chim Vàng, Ba Túc, ST5, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, TV 13 và Trắng Tép có tỷ lệ sống dao động từ 20 - 49%. Các giống còn lại có tỷ lệ sống rất thấp (dưới 10%) sau 19 ngày xử lý mặn. Như vậy, có một số giống có thể sống trong điều kiện mặn 4‰ nhưng lại chết khi nồng độ mặn tăng lên 6‰. Từ kết quả này cho thấy có 6 giống có tiềm năng chịu mặn ở mức độ trung bình khá ở giai đoạn mạ như: Ba túc, Lúa Sỏi, Một bụi đỏ, ST5, Trắng Tép và TV13, các giống này có thể xem là các giống tiềm năng cho công tác chọn lọc, lai tạo giống chịu mặn.

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Trung Tiền (2009) cho thấy tỷ lệ sống của cây lúa giảm khi nồng độ mặn tăng lên đồng thời những giống có biểu hiện chịu mặn thì đều có thời gian sống sót lâu trong môi trường mặn. Kết quả của thí nghiệm này rất phù hợp với kết quả nghiên cứu trên của Nguyễn Trung Tiền.

Bảng 2.8 Tỷ lệ sống các giống lúa thí nghiệm trong điều kiện 6‰ ở giai đoạn mạ

STT	Tên giống	Tỷ lệ sống sót (%) ở nồng độ 6‰		
		7 NSC	14 NSC	19 NSC
1	Pokkali	97.7	80	66,7
2	IR28	63.3	13.3	0.0
3	Hàm Châu	77.7	40	20
4	Tài Nguyên Hạt Tròn	60	17.7	6,7
5	Chim Vàng	80	47.7	20
6	Lúa lai F1	70	17.7	3,3
7	Ba Túc	83.3	63.3	40
8	ST5	87.7	60	36,7
9	Tài Nguyên	73.3	23.3	3,3
10	Bạc Liêu	87.7	37.7	23,3
11	Lúa Sỏi	93.3	67.7	43,3
12	Một Bụi Đỏ	90	73.3	50
13	TV 13	87.7	57.7	30
14	Trắng Tép	83.3	50	40

Ghi chú: Giống Pokkali (chuẩn kháng mặn); Giống IR28 (chuẩn nhiễm mặn)

- Mức độ chống chịu mặn

Ở điều kiện mặn 2‰, các giống đều cho thấy khả năng thích ứng với điều kiện stress mặn nhẹ, mức phản ứng từ chống chịu tốt đến chống chịu (cấp 1 - 3).

Trong điều kiện mặn 4‰, cây mạ bắt đầu bị ảnh hưởng và mức độ ảnh hưởng tăng dần theo thời gian.

Kết quả khảo sát mức độ chống chịu mặn của 12 giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh ở nghiệm thức 4‰ sau 19 ngày xử lý mặn cho thấy, có 7 giống chịu mặn trung bình (mức nhiễm 4,8 - 5,9) là (Hàm châu, Ba Túc, Chim vàng, ST5, Một Bụi Đỏ, Lúa Sỏi và TV13), 4 giống nhiễm (từ 6 - 6,9) là (Lúa Lai F1, Tài Nguyên Hạt Tròn, Bạc Liêu và Trắng Tép) và 1 giống nhiễm khá nặng (mức nhiễm trên 7) là giống Tài Nguyên. Và ở nghiệm thức 6‰ sau 19 ngày xử lý mặn cho thấy, 7 giống có biểu hiện nhiễm nặng (mức nhiễm trên 8) là các giống Hàm Châu, Tài Nguyên Hạt Tròn, Chim Vàng, Lúa Lai F1, Tài Nguyên, Bạc Liêu và Trắng Tép; 2 giống có mức nhiễm trên 7 là: Ba Túc, TV13; còn lại các giống biểu hiện nhiễm ít hơn là ST5, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ (mức nhiễm dao động 6,1 - 6,7).

Bảng 2.9 Mức độ chống chịu mặn của các giống lúa địa phương tỉnh Trà Vinh ở giai đoạn mạ sau 19 ngày xử lý mặn

STT	Tên giống	Trung bình cấp độ chịu mặn của các giống lúa		
		2‰	4‰	6‰
1	Pokkali	1,5	3,4	5,8
2	IR28	3,1	8,6	9,0
3	Hàm Châu	2,8	5,6	8,5
4	Tài Nguyên hạt tròn	2,6	6,3	8,8
5	Chim Vàng	2,3	5,4	8,1
6	Lúa lai F1	2,3	6,9	8,9
7	Ba Túc	2,8	5,7	7,1
8	ST5	2,2	5,9	6,7
9	Tài Nguyên	2,8	7,1	8,5
10	Bạc Liêu	1,9	6,2	8,3
11	Lúa Sỏi	1,9	5,3	6,1
12	Một Bụi Đỏ	1,9	5,2	6,7
13	TV 13	1,5	4,8	7,6
14	Trắng Tép	2,0	6,1	8,0

Ghi chú: Đánh giá cấp độ chịu mặn theo tiêu chuẩn (SES) ở giai đoạn tăng trưởng (IRRI, 1997), cấp thiệt hại từ: 1, 3, 5, 7, 9: trong đó cấp chống chịu tốt (cấp 1) đến nhiễm nặng (cấp 9).

- Tương tác giữa giống và nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, có mối tương quan nghịch giữa chiều cao và nồng độ muối, nồng độ muối càng tăng thì chiều cao càng giảm và trung bình chiều cao giữa các nghiệm thức khác biệt về mặt thống kê ($P < 0,05$) (bảng

2.10). Chiều cao trung bình ở nghiệm thức 0‰ là cao nhất (21,87cm) và thấp nhất là ở nghiệm thức 6‰ (15,56cm) 14 ngày sau khi xử lý muối.

Bảng 2.10 Ảnh hưởng của Nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình các giống trong thí nghiệm ở 14 ngày sau khi xử lý mặn

Nồng độ muối	Chiều cao trung bình (cm)
6‰	15.56 ^d
4‰	17.31 ^c
2‰	20.09 ^b
0‰	21.87 ^a

Nguồn: Kết quả thí nghiệm đánh giá khả năng chịu mặn 12 giống địa phương tỉnh Trà Vinh trong điều kiện nhân tạo, 2013; Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số kèm theo không giống nhau có khác biệt ý nghĩa ở mức độ 1% qua kiểm định Duncan, và ngược lại.

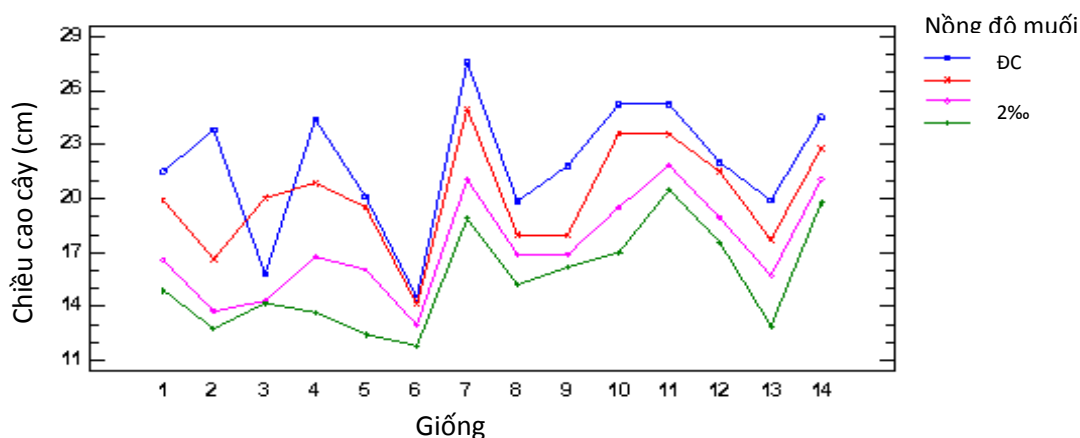
Bên cạnh đó, cũng có sự tác động của yếu tố giống lên chiều cao thân lá trung bình (bảng 2.11). Trung bình chiều cao thân lá lúa ở các giống có sự khác biệt về mặt thống kê ($P < 0,05$). Giống có chiều cao trung bình cao nhất là giống Ba Túc và không khác biệt với giống Lúa Sỏi và Trắng Tép; thấp nhất là giống Lúa Lai F1 (13,35cm).

Bảng 2.11 Ảnh hưởng của giống lên chiều cao thân lá trung bình các giống trong thí nghiệm ở 14 ngày sau khi xử lý mặn

Giống	Chiều cao trung bình
Lúa Lai F1	13.35 ± 2.81 ^h
Hàm Châu	16.08 ± 2.81 ^g
TV13	16.58 ± 2.86 ^{fg}
IR28	16.73 ± 4.29 ^{fg}
Chim Vàng	17.03 ± 3.38 ^{efg}
ST5	17.48 ± 2.13 ^{ef}
Tài Nguyên	18.21 ± 3.58 ^{de}
Pokkali	18.23 ± 2.05 ^{de}
Tài Nguyên Hạt Tròn	18.93 ± 2.70 ^{cd}
Một Bụi Đỏ	20.03 ± 3.67 ^c
Bạc Liêu	21.35 ± 2.84 ^b
Trắng Tép	22.03 ± 2.32 ^{ab}
Lúa Sỏi	22.76 ± 3.02 ^a
Ba Túc	23.10 ± 2.32 ^a

Nguồn: Kết quả thí nghiệm đánh giá khả năng chịu mặn 12 giống địa phương tỉnh Trà Vinh trong điều kiện nhân tạo, 2013; Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số kèm theo không giống nhau có khác biệt ý nghĩa ở mức độ 1% qua kiểm định Duncan, và ngược lại.

Phân tích thống kê sự ảnh hưởng của giống và nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình cho thấy có tương tác giữa 2 nhân tố này lên chiều cao. Điều này có thể hiểu đơn giản là giống và nồng độ muối cùng tác động lên tính trạng chiều cao cây. Giống khác nhau trong cùng nồng độ thì chiều cao cây khác nhau, tương tự, cùng một giống nhưng giữa các nồng độ muối khác nhau thì chiều cao cây cũng sẽ thay đổi (Hình 2.7). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Morales *et al.* (2012) cho rằng, khi nồng độ muối càng tăng thì chiều cao cây càng giảm, tuy nhiên, ở mỗi giống khác nhau thì xu hướng phát triển chiều cao thân lá cũng khác nhau.



Hình 2.7 Biểu đồ thể hiện tương tác giữa giống và nồng độ muối lên chiều cao thân lá trung bình các giống lúa thí nghiệm

1) Hàm Châu; 2) Tài Nguyên Hạt Tròn; 3) Chim Vàng; 4) Lúa Lai F1; 5) Ba Túc; 6) ST5; 7) Tài Nguyên; 8) Bạc Liêu; 9) Lúa Sỏi; 10) Một Bụi Đỏ; 11) TV13; 12) Trắng Tép.

🚩 Kết quả phân tích nồng độ Na^+ , K^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá các giống lúa thí nghiệm

Tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá quyết định khả năng giải độc ion Na^+ khi gặp điều kiện mặn. Tỷ lệ này càng cao thì khả năng giải độc càng cao, các giống có tỷ lệ này cao hứa hẹn sẽ cho kết quả chống chịu mặn tốt. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Folkard Asch *et al.* (2000) cho rằng, các giống lúa có tỷ lệ K^+/Na^+ càng cao thì khả năng chống chịu mặn càng cao.

Kết quả ghi nhận được các giống có tỷ lệ K^+/Na^+ thấp hơn hoặc tương đương IR 28 là Tài Nguyên hạt tròn, Chim Vàng, Lúa Lai F1, Tài Nguyên; các giống thuộc khoảng trung bình giữa IR28 và Pokkali là Hàm Châu, Ba Túc, Bạc Liêu và Một Bụi Đỏ; các giống có tỷ lệ K^+/Na^+ tương đương hoặc cao hơn Pokkali là ST5, Lúa Sỏi, TV13 và Trắng Tép.

Bảng 2.12 Kết quả phân tích nồng độ Na^+ , K^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá các giống lúa

STT	Giống	Kết quả thử nghiệm		
		Na (%)	K(%)	K^+/Na^+
1	Pokkali	2.69	1.20	0.45
2	IR28	3.38	1.10	0.33
3	Hàm Châu	3.13	1.30	0.42
4	Tài Nguyên hạt tròn	2.63	0.88	0.33
5	Chim Vàng	3.56	1.17	0.33
6	Lúa lai F1	3.36	1.06	0.32
7	Ba Túc	3.27	1.34	0.41
8	ST5	2.95	1.60	0.54
9	Tài Nguyên	3.54	1.18	0.33
10	Bạc Liêu	3.55	1.40	0.39
11	Lúa Sỏi	2.93	1.68	0.57
12	Một Bụi Đỏ	3.28	1.27	0.39
13	TV13	3.06	1.52	0.50
14	Trắng Tép	2.77	1.71	0.62

Nguồn: Kết quả phân tích nồng độ Na^+ , K^+ và tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá của 12 giống địa phương tỉnh Trà Vinh trong thí nghiệm thử mặn điều kiện nhân tạo, 2013.

Kết quả này phù hợp với kết quả nhận diện nhóm gen chống chịu mặn bằng dấu phân tử RM10793 và RM10825. Trong đó, các giống ST5, Lúa Sỏi, TV13, Trắng Tép, Hàm Châu, Ba Túc và Một Bụi Đỏ có thể nhận diện được bằng 2 cặp mồi RM10793 và RM10825. Dấu phân tử này liên kết với các QTL $qSKC1$, $qSNK$ và $qRNK1$ quyết định tính trạng nồng độ K^+ trên lá, tỷ lệ K^+/Na^+ trên lá và rễ lúa.

❖ **Tiểu kết nội dung 2:**

Tóm lại, dựa vào dấu chỉ thị phân tử RM336, RM 10793, RM 10825 nhận diện 7 giống từ thí nghiệm 1 có gen kháng mặn liên kết với 3 dấu phân tử là: Ba Túc, ST5, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13, Trắng Tép. Thí nghiệm 2 tiếp tục

đánh giá tỉ lệ sống, cấp độ chịu mặn, chiều cao trung bình, hàm lượng K⁺, Na⁺ và tỉ lệ K⁺/Na⁺.

Kết quả cho thấy tỷ lệ sống sót, chiều cao thân lá đều giảm mạnh khi nồng độ mặn tăng lên. Ba giống Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ và TV13 cho thấy các đặc tính chịu mặn vượt trội qua kết quả thanh lọc mặn trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida có bổ sung nồng độ muối và việc xuất hiện các băng DNA tại vị trí của chuẩn kháng Pokkali từ thí nghiệm 1. (Bảng 2.13).

Bảng 2.13 Tổng hợp kết quả hai thí nghiệm tuyển chọn, đánh giá giống chịu mặn

Giống có gen chịu được mặn	Tỉ lệ sống sót (19 NSC)		Cấp chống chịu (19 NSC)		Chiều cao (14 NSC)	Tỉ lệ K ⁺ /Na ⁺
	4‰	6‰	4‰	6‰		
Pokkali	86,7	66,7	3,4	5,8	18.23 ± 2.05 ^{de}	0,45
Ba Túc	50,0	40,0	5,7	7,1	23.10 ± 2.32 ^a	0,41
Bạc Liêu	36,7	23,3	6,2	8,3	21.35 ± 2.84 ^b	0,39
Lúa Sỏi	60,0	43,3	5,3	6,1	22.76 ± 3.02 ^a	0,57
Một Bụi Đỏ	66,7	50,0	5,2	6,7	20.03 ± 3.67 ^c	0,39
ST5	53,3	36,7	5,9	6,7	17.48 ± 2.13 ^{ef}	0,54
TV13	56,7	30,0	4,8	7,6	16.58 ± 2.86 ^{fg}	0,50
Trắng Tép	40,0	40,0	6,1	8,0	22.03 ± 2.32 ^{ab}	0,62

Ghi chú: - Đánh giá cấp độ chịu mặn theo tiêu chuẩn (SES) ở giai đoạn tăng trưởng (IRRI, 1997), cấp thiệt hại từ: 1, 3, 5, 7, 9: trong đó cấp chống chịu tốt (cấp 1) đến nhiễm nặng (cấp 9).
- Trong cùng một cột, những số có cùng chữ số kèm theo không giống nhau có khác biệt ý nghĩa ở mức độ 5% qua kiểm định Duncan, và ngược lại

CHƯƠNG 3

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

3.1. Kết quả nghiên cứu của đề tài

Thí nghiệm khảo sát khả năng chịu mặn của 14 giống lúa bằng dấu phân tử SSR, thí nghiệm thanh lọc mặn ở giai đoạn mạ trong môi trường dung dịch dinh dưỡng Yoshida và kết quả phân tích nồng độ K^+ , Na^+ , tỷ lệ K^+/Na^+ cho thấy rằng:

Kết quả sử dụng từ cặp mồi RM336 ở hình 2.3 cho thấy Tài Nguyên Hạt Tròn, Chim Vàng, Ba Túc, ST5, Tài Nguyên, Bạc Liêu, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, và Trắng Tép là các giống mang gen chịu mặn (do có band DNA khuếch đại 156 bp tương ứng với giống Pokkali chuẩn kháng); từ cặp mồi RM10793 ở hình 2.4 cho thấy các giống lúa Hàm Châu, Ba Túc, ST5, Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ, TV13, Trắng Tép có band DNA xuất hiện ở vị trí 85 bp cho thấy rằng các giống này có khả năng mang gen chịu mặn; từ cặp mồi RM10825 ở Hình 2.5 cho thấy các giống lúa Hàm Châu, Ba Túc, ST5, Một Bụi Đỏ, TV13, Trắng Tép có band DNA xuất hiện ở vị trí 137 bp cho thấy rằng các giống này có khả năng mang gen chịu mặn.

Với thí nghiệm thử mặn ở giai đoạn mạ trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida có bổ sung nồng độ muối cho thấy phương pháp này có khả năng thanh lọc các giống lúa chịu mặn tốt. Các giống có tỷ lệ sống sót và mức độ chống chịu mặn tương đương với chuẩn kháng Pokkali là Một Bụi Đỏ, Lúa Sỏi và TV13. Các giống mang gen kháng nhưng chỉ ở mức độ chống chịu khá là Hàm Châu, Ba Túc, Trắng Tép, Chim Vàng, Bạc Liêu và ST5.

Các giống có tỷ lệ K^+/Na^+ tương đương hoặc cao hơn Pokkali là ST5, Lúa Sỏi, TV13 và Trắng Tép; các giống thuộc khoảng trung bình giữa IR28 và Pokkali là Hàm Châu, Ba Túc, Bạc Liêu và Một Bụi Đỏ.

3.2. Kiến nghị

Với kết quả từ đề tài này có thể kết hợp thêm phương pháp đánh giá khả năng chịu mặn trong điều kiện đồng ruộng các giống lúa vừa được chọn (như giống

lúa TV13) để thử nghiệm ngoài thực tế đồng ruộng về khả năng chịu mặn cho mô hình một vụ lúa một tô trên năm.

3.3. Hướng phát triển của đề tài

Lúa Sỏi, Một Bụi Đỏ và TV13 là các giống lúa chịu mặn ưu tú được chọn, sẽ là nguồn gen chịu mặn vô cùng quý giá phục vụ cho công tác lai tạo để tạo ra giống lúa chịu mặn mới thích ứng với tình hình khí hậu hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu Tiếng Việt

1. Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2003. *Cơ sở di truyền tính chống chịu đối với thiệt hại do môi trường của cây lúa*. NXB Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh.
2. Bùi Chí Bửu, Nguyễn Duy Bảy, Phùng Bá Tạo, Đỗ Xuân Trường và Nguyễn Thị Lang, 2000. “*Chọn tạo giống lúa cho vùng bị nhiễm mặn ở đồng bằng sông Cửu Long*”. OMon Rice 8:16-26.
3. Nguyễn Thị Lang, Phạm Thị Xim, Bùi Chí Bửu (2008), “Nghiên cứu ứng dụng marker phân tử trong chọn tạo giống lúa chịu mặn bằng kỹ thuật nuôi cấy túi phấn”. Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn. 8/2008 . tr. 13-17 . ISSN 0866 -7020.
4. Nguyễn Trung Tiên (2012), “Thí nghiệm thanh lọc mặn giai đoạn mạ một số giống lúa mùa, lúa cao chịu mặn”. Trung tâm Giống Nông Lâm Ngư Nghiệp (NLNN) Kiên Giang.
5. Truyền hình Trà Vinh, 2013. *Trà Vinh với ảnh hưởng của biến đổi khí hậu*. Tỉnh Trà Vinh.

Tài liệu tiếng anh

1. Abrol IP, Yadav SP, Massoud FI (1988), Salt affected soils and their management. FAO Soils Bulletin, Soil Resources Management and Conservation Service, FAO Land and Water Development Division, 39: 131-139.
2. Aljanabi, S.M.; Martinez, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Res. 1997, 25, 4692–4693.
3. Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. Nucl Acids Res (1991), 19(6): 1349.

4. Folkard Asch, Michael Dingkuhn, Karl Dörffling & Kouame Miezán (2000), Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. *Euphytica* 113: 109–118, 2000.
5. Friar, E.A. Isolation of DNA from plants with large amounts of secondary metabolites. *Method Enzymol.* 2005, 395, 3–14.
6. Hoang Kim, Pham Van Bien and R.H. Howeler (2001, 2003), Status of cassava in Vietnam: Implications for future research and development. In: A review of cassava in Asia with country case studies on Thailand and Viet Nam; FAO-IFAD-CIAT-CIRAD-IITA-NRI. Proceedings of the validation forum on the Global Cassava Development Strategy held in FAO - Rome, Italy, April 26-28, (2000), Volume 3. Rome, Italy, p 103-184.
7. F.A.O., AGL (2000). Extent and causes of salt-affected soils in participating countries. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. Land and plant nutrition management service.
8. Le Hung Linh, Ta Hong Linh, Tran Dang Xuan, Le Huy Ham, Abdelbagi M. Ismail and Tran Dang Khanh (2012), Molecular Breeding to Improve Salt Tolerance of Rice. (*Oryza sativa* L.) in the Red River Delta of Vietnam. Hindawi Publishing Corporation. *International Journal of Plant Genomics*. Volume 2012, Article ID 949038, 9 pages. doi:10.1155/2012/94903.
9. Ohta M; Hayashi Y; Nakashima A; Hamada A; Tanaka A; Nakamura T and Hayakawa T (2002), “Introduction of a Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Atriplex gmelini* confers salt tolerance in rice”, *FEBS Lett* 532: 279-282.
10. Maas, EV, Hoffman, GJ, (1977), Crop salt tolerance, current assessment. *J. Irrig. Drain. Div. ASCE* 103, 115-134.
11. Mohammadi-Nejad¹, A. Arzani, A. M. Rezai¹, R.K. Singh² and G. B. Gregorio, (2008), Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL, *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (6), pp. 730-736.

12. Muhammad S., Akbar M., and Neue H.U. (1987), "Effect of Na/Ca and Na/K ratio in saline culture solution on the growth and mineral nutrition of rice (*Oryza sativa* L.)", *Plant Soil* 104, pp. 57-62.
13. G. Mohammadi-Nejad¹, A. Arzani^{1*}, A. M. Rezai¹, R.K. Singh² and G. B. Gregorio², (2008), Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL, *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (6), pp. 730-736.
14. Morales, S. R., Trejo-Téllez, L. I., Merino, F. C. G., Caldana, C., Espinosa-Victoria, D., and Cabrera, B. E. H., Growth, photosynthetic activity, and potassium and sodium concentration in rice plants under salt stress. *Acta Scientiarum*. 34: 317-324.
15. Munns R (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
16. Niones JM (2004), fine mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa*) using near-isogenic lines. MSc thesis, University of the Philippines Los Banos.
17. N.T.T. Hoai, I.S. Shim, K. Kobayashi, K. Usui (2003), "Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings", *Plant Growth Regulation*; 41: 159-164
18. Ponnampereuma, F. N. (1984), Role of cultivar tolerance in increasing rice production on saline lands. *Strategies for crop improvement*, John Wiley and sons, New York, 443p.
19. Niones JM (2004), fine mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa*) using near-isogenic lines. MSc thesis, University of the Philippines Los Banos.
20. Gregorio G.B, Senadhira D., Mendoza R.D, NL Manigbas, JP Rosxas, CQ Guerta (2002) Progress in breeding for salinity tolerance and associated abiotic stresses in rice, *Field crop Research*. Elsevier.

21. Greenway, and Munns (1980), Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, Department of Agronomy, University of Western Australia.
22. Roberto Tuberosa and Silvio Salvi (2007), “Dissecting QTLs for Tolerance to Drought and Salinity”, *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, tr381-412.
23. Reza Mohammadi, Merlyn S. Mendioro, Genaleen Q. Diaz Glenn B. Gregorio and Rakesh K. Singh (2013). Mapping quantitative trait loci associated with yield and yield components under reproductive stage salinity stress in rice (*Oryza sativa* L.). Indian Academy of Sciences. *Journal of Genetics*, Vol. 92, No. 3, 2013.
24. S.M. Jain and D.S. Brar (eds.), *Molecular Techniques in Crop Improvement*, DOI 10.1007/978-90-481-2967-6_16, © Springer Science+Business Media B.V. 2010.
25. Zeng L. et al (2004), “Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils”, *Plant Sci*, 166(5) 1275-1285.