



## TUYỂN CHỌN VÀ TÁI SINH MỘT SỐ GIỐNG LÚA CÓ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN THÍCH ỨNG VỚI BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Thị Thanh Thảo, Trần Thị Xuân Mai, Đỗ Tấn Khang<sup>1</sup> và Trần Nhân Dũng<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 20/12/2012

Ngày chấp nhận: 20/06/2013

### Title:

Selecting and regenerating salt tolerant rice varieties collected from Mekong Delta

### Từ khóa:

Chống chịu mặn, RM206, RM8094, mô sẹo, tái sinh chồi

### Keywords:

Salt tolerance, RM206, RM8094, callus, regeneration

### ABSTRACT

Eighteen rice varieties collected from Mekong Delta were used to evaluate the salt tolerance using hydroponic system containing Yoshida solution with additional NaCl concentrations (0‰, 4‰, 6‰). The results showed that increasing salt levels, the survival rate, shoot height, root length, shoot and root dry weight of the tested rice plants was greatly reduced while the chlorophyll concentration was stable. Four SSR markers including RM206, RM223, RM10745 and RM8094 were used to identify the salt tolerant genotypes. Analysis of PCR products, only RM206 marker was associated with salt tolerant gene. Three high yielding rice varieties MTL480, MTL687 and ST20 were used for studying of induced mutation in vitro in order to select genetic variability in salt tolerance, the calli of MTL480 and MTL687 showed high potential for regeneration (46,02% and 45,63%, respectively) in MS medium containing 5‰ NaCl. However when NaCl concentration was increased to 10‰, there was only 30,67% calli of MTL480 regenerated. The plantlets were transplanted in soil in the greenhouse to test their response to salt tolerance, the result revealed that 100% plants were survive on 6‰ NaCl concentration.

### TÓM TẮT

Mười tám giống lúa thu thập được từ các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long được đánh giá khả năng chống chịu mặn bằng cách sử dụng dung dịch Yoshida bổ sung 0‰, 4‰, 6‰ NaCl. Kết quả cho thấy tỉ lệ cây sống, chiều cao thân, chiều dài rễ, trọng lượng khô thân lúa đều giảm mạnh khi nồng độ mặn tăng lên trong khi hàm lượng chlorophyll thay đổi không đáng kể. Bốn marker RM206, RM223, RM8094 và RM10745 đã được sử dụng để đánh giá sự liên kết với gen chịu mặn của các giống thí nghiệm. Phân tích kết quả PCR cho thấy rằng chỉ có RM206 cho thấy sự liên kết với kiểu gen chịu mặn. Ba giống cao sản MTL480, MTL687 và ST20 được chọn để nghiên cứu mô sẹo trong môi trường mặn. Kết quả nghiên cứu nuôi cấy mô cho thấy hai giống MTL480 và MTL687 có khả năng tái sinh chồi cao (46,02% và 45,63%) khi bổ sung 5‰ NaCl vào môi trường nuôi cấy có. Khi nồng độ NaCl tăng lên 10‰ thì chỉ có 30,67% mô sẹo của giống MTL480 có khả năng tái sinh. Cây con được chuyển sang nhà lưới để đánh giá khả năng chịu mặn, kết quả ghi nhận 100% cây con tái sinh đều sống sót sau 30 ngày trong điều kiện mặn 6‰.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều năm qua, các nhà khoa học đã cố gắng cải tiến nhiều giống lúa có tính chống chịu mặn và đã thành công bước đầu (Akbar *et al.*, 1986; Lang, 2000). Qua đó phương pháp lai tạo và chọn lọc truyền thống mất rất nhiều thời gian nhưng hiệu quả chưa cao. Chọn giống nhờ marker phân tử liên kết với tính trạng mục tiêu (marker assisted selection - MAS) là phương pháp được thế giới ủng hộ mạnh mẽ từ năm 1995 có thể cho kết quả sau ba thế hệ chọn lọc (Tanksley *et al.*, 1996). Nhiều nghiên cứu cho thấy gen chủ lực điều khiển tính trạng chống chịu mặn của cây lúa nằm trên nhiễm sắc thể số 1 (saltol), một số QTL định vị trên nhiễm sắc thể số 3, 4, 8, 10, 12 cũng được ghi nhận là có quan hệ với khả năng chống chịu mặn (Teng, 1994).

Trên cơ sở đó, đề tài “*Tuyển chọn và tái sinh một số giống lúa có khả năng chịu mặn thích ứng với biến đổi khí hậu ở đồng bằng sông Cửu Long*” được thực hiện nhằm thu thập, tuyển chọn được giống lúa chịu mặn từ

các giống đang được trồng ở các vùng có đất ngập mặn của đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) qua đó làm cơ sở cho chọn giống.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các giống lúa được thu thập từ các vùng có đất nhiễm mặn ở ĐBSCL như Bảng 1.

### 2.1 Đánh giá khả năng chịu mặn dựa trên các đáp ứng sinh lý

*Khảo sát khả năng chịu mặn trong nhà lưới:*

Thanh lọc theo quy trình thanh lọc mặn của IRRI (1997) có cải tiến. Cây mạ được đánh giá cấp điểm theo tiêu chuẩn SES (Standard Evaluating Score) để phân biệt từ mặn cảm đến kháng. Khi cho mặn vào dựa vào triệu chứng của cây lúa mà đánh giá tính chống chịu theo tiêu chuẩn của IRRI (1997).

Tiêu chuẩn đánh giá mức độ chống chịu mặn ở giai đoạn tăng trưởng và phát triển theo Bảng 2.

**Bảng 1: Các giống lúa thanh lọc trong nhà lưới**

STT	Tên giống	Nơi lấy mẫu	STT	Tên giống	Nơi lấy mẫu
1	DH2	Trường Long Hoà, Duyên Hải, Trà Vinh	10	TC2	Giồng lớn, Đại An, Trà Cú, Trà Vinh
2	DH3	Dân Thành, Duyên Hải, Trà Vinh	11	CN1	Hiệp Hoà, Cầu Ngang, Trà Vinh
3	OM4900	Hiệp Mỹ, Cầu Ngang, Trà Vinh	12	Một bụi đỏ	Lộc Ninh, Hồng Dân, Bạc Liêu
4	CL8	Ngũ Lạc, Duyên Hải, Trà Vinh	13	OM576	Lộc Ninh, Hồng Dân, Bạc Liêu
5	IR50404	Long Vĩnh, Duyên Hải, Trà Vinh	14	OM6677	Thạnh Phú, huyện Cái Nước, Cà Mau
6	DH4	Ngũ Lạc, Duyên Hải, Trà Vinh	15	OM6976	Long Phú, Sóc Trăng
7	DH5	Long Khánh, Duyên Hải, Trà Vinh	16	MTL504	Long Phú, Sóc Trăng
8	OM1348	Phú Long, huyện Bình Đại, Bến Tre	17	Pokkali*	Viện lúa ĐBSCL
9	OM1350	xã Lộc Thuận, huyện Bình Đại, Bến Tre	18	IR29*	Viện lúa ĐBSCL

Ghi chú: \* Pokkali làm chuẩn kháng, IR29 làm chuẩn nhiễm

**Bảng 2: Tiêu chuẩn đánh giá mức độ kháng mặn giai đoạn tăng trưởng**

Cấp	Quan sát	Mức chống chịu
1	Tăng trưởng bình thường, không có triệu chứng trên lá	Chống chịu tốt
3	Tăng trưởng gần như bình thường nhưng chóp lá hoặc phân nửa	Chống chịu
5	Tăng trưởng chậm lại, hầu hết lá bị cuốn, chỉ có vài lá còn có thể mọc dài ra	Chống chịu trung bình
7	Tăng trưởng bị ngưng hoàn toàn, hầu hết những lá khô đi, một vài chồi bị chết	Nhiễm mặn
9	Tất cả cây bị chết hoặc khô	Rất nhiễm mặn

**Đánh giá tăng trưởng các giống lúa trong điều kiện mặn**

Ghi nhận các chỉ tiêu tăng trưởng của cây gồm:

- Chiều dài rễ (cm): Tính từ cổ rễ đến đỉnh sinh trưởng của chóp rễ dài nhất.
- Chiều dài thân lá (cm): Tính từ cổ rễ đến vùng lá non cao nhất còn xanh tốt.
- Trọng lượng khô rễ (g): Sấy khô rễ của

$$\text{Tỉ lệ biến động (\%)} = \frac{\text{TL trong mặn} - \text{TL trong đối chứng}}{\text{TL khô thân trong mặn}} \times 100$$

**Đánh giá hàm lượng chlorophyll trong lá**

Nồng độ chlorophyll a (Chla), chlorophyll b (Chlb) và chlorophyll tổng số được xác định theo các phương pháp của Shabala vào giai đoạn giống chuẩn nhiễm đã chết.

**2.2 Khảo sát khả năng tái sinh của mô lúa trong điều kiện mặn**

Ba giống cao sản MTL480, MTL687 và ST20 được chọn để nghiên cứu mô đột biến trong môi trường mặn.

Chọn những hạt còn nguyên vẹn, bóc bỏ vỏ, cho vào bình tam giác để tiến hành khử trùng bằng cồn 70°C (20 giây), Javel, 1-2 giọt Tween 20 trên máy khuấy trong 25 phút, rửa lại với nước cất vô trùng 7-10 lần. Hạt gạo khử trùng được cấy vào môi trường MS bổ sung 3%

$$\text{Tỉ lệ mô sẹo sống sót/đĩa (\%)} = \frac{\text{Số mô sẹo sống}}{\text{Số mô cấy vào}} \times 100$$

Các mô sẹo sống được trong môi trường mặn được cấy chuyển sang môi trường SIM để tái sinh ra chồi, ủ trong tối ở nhiệt độ 32,4°C một tuần, sau đó đem ra sáng với quang kì 18 giờ sáng - 6 giờ tối.

Khi cây con 3 lá, rễ dài 3 - 5 cm, dùng kẹp lấy cây ra, rửa agar và trồng vào chậu đất. Sau khi cây đã khỏe tiến hành tưới dung dịch Yoshida + NaCl 6‰ để so sánh khả năng sinh trưởng khác nhau giữa cây lúa tái sinh trong

6 cây mạ/giống (ở 80°C trong 2 ngày, sau đó ủ trong desiccators trước khi đo trọng lượng khô) cân và tính trung bình.

- Trọng lượng khô thân (g): Sấy khô thân của 6 cây mạ/giống, cân và tính trung bình vào cuối thí nghiệm.

- Tính tỉ lệ biến động trọng lượng (TL) khô thân, rễ của nghiệm thức mặn so với nghiệm thức đối chứng:

maltose (CIM 3% maltose), 20 hạt/đĩa, ủ trong tối với nhiệt độ 32,4°C. Cấy chuyển các mô sẹo có nhiều cấu trúc bi, màu vàng sáng sang đĩa môi trường mới để nhân số lượng mô sẹo sau mỗi 3 tuần.

Các mô sẹo tốt của các giống thí nghiệm được chuyển vào môi trường CIM 3% maltose có bổ sung 0‰ (đối chứng), 5‰, 10‰ và 20‰ NaCl, đặt trong tối 32,4°C, lấy số liệu về khả năng sống sót, tốc độ sinh trưởng và cấy chuyển vào môi trường tương ứng sau 3 tuần. Những mô sống sót có màu trắng ngà, kích thước mô sẹo tăng. Những mô chết có màu đen hoặc trắng, kích thước không thay đổi. Sau 1 lần cấy chuyển các mô được chuyển sang môi trường tái sinh chồi.

điều kiện mặn với cây lúa tái sinh trong điều kiện bình thường. Ghi nhận kết quả sau 3 tuần chùng mặn.

**2.3 Đánh giá sự liên kết của một số marker phân tử đến gen chịu mặn**

- Trình tự các môi được miêu tả ở Bảng 3.

Ngoài các giống lúa ở Bảng 1, trong phần đánh giá marker phân tử, DNA của giống lúa IR28 được sử dụng như là giống chuẩn nhiễm.

**Bảng 3: Trình tự các môi dùng thí nghiệm**

Tên chỉ thị	Trình tự	Trên NST	Tác giả
RM8094	For 5' AAGTTTGTACACATCGTATACA 3'	1	Nejad <i>et al.</i> , 2008
	Rev 5' CGCGACCAGTACTACTACTA 3'		
RM10745	For 5'TGACGAATTGACACACCGAGTACG 3'	1	Nejad <i>et al.</i> , 2008
	Rev 5' ACTTCACCGTCGGCAACATGG 3'		
RM206	For 5' CCC ATG CGT TTA ACT ATT CT 3'	8	Lang <i>et al.</i> , 2002
	Rev 5' CGT TCC ATC GAT CCG TAT GG 3'		
RM223	For 5' AGT GAG CTT GGG CTG AAA C 3'	11	Rahman <i>et al.</i> , 2010
	Rev 5' GAA GGC AAG TCT TGG CAC TG 3'		

**2.4 Xử lý số liệu**

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và phân tích thống kê bằng chương trình SPSS Version 16.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

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

*3.1.1 Tỷ lệ sống sót*

Kết quả ghi nhận khả năng sống sót cho thấy cây lúa ở nghiệm thức đối chứng sống 100% đến khi kết thúc thí nghiệm. Ở điều kiện nhiễm mặn 4‰ giống IR29 chết sau 19 ngày xử lý mặn, giống OM6677, Pokkali sống hơn 70% và có 8 giống sống trên 50% sau 21 ngày là: CL8, DH4, DH5, OM1348, TC2, CN1, Một bụi đỏ, OM6976. Ở điều kiện nhiễm mặn 6‰ giống IR29 chết sau 9 ngày xử lý mặn, sau 21 ngày đa số các giống đều chết chỉ còn Pokkali, DH4, Một bụi đỏ, và OM6677 còn sống sót nhưng tỉ lệ sống đều thấp hơn 50%. 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 các giống có khả năng sống sót lâu với tỉ lệ cao như: CL8, DH4, DH5, OM1348, TC2, CN1, Một bụi đỏ và OM6976 có thể xem là các giống tiềm năng cho công tác chọn lọc, lai tạo giống chịu mặn.

*3.1.2 Mức độ chống chịu mặn*

Sự sinh trưởng của các giống lúa thí nghiệm cho thấy trong điều kiện mặn 0‰ cây mạ tăng trưởng bình thường không có triệu

chứng nhiễm mặn. Trong điều kiện mặn 4‰ cây mạ bắt đầu bị ảnh hưởng và mức độ ảnh hưởng tăng dần theo thời gian. Sau 7 ngày xử lý các giống đều chưa bị ảnh hưởng chỉ IR29 và OM4900 ảnh hưởng đến cấp 3; sau 14 ngày phần lớn các giống bị ảnh hưởng ở cấp 3 - 5 riêng IR29 và OM4900 nhiễm cấp đến 7; sau 21 ngày giống pokkali, CL8, OM6677 thể hiện kháng mặn tốt (cấp 3), 8 giống lúa thể hiện kháng trung bình là: DH2, DH3, DH4, DH5, OM1348, Một bụi đỏ, OM6976, MTL504 (ảnh hưởng ở cấp 5), giống IR29, IR50404 và OM4900 biểu hiện rất nhiễm và đã chết hoàn toàn (cấp 9), các giống còn lại có biểu hiện nhiễm trung bình.

Biểu hiện của các giống lúa ở môi trường mặn 6‰ cũng tương tự như ở môi trường mặn 4‰ nhưng mức độ ảnh hưởng nặng hơn. Sau 7 ngày xử lý mặn giống IR29 có biểu hiện nhiễm ở cấp 7, giống Pokkali, DH4, DH5, OM1348, OM6677, MTL504 có biểu hiện ở cấp 3, các giống lúa khác biểu hiện cấp 5 - 7. Sau 14 ngày xử lý mặn, giống IR29 và OM4900 chết hoàn toàn (nhiễm cấp 9), giống Pokkali biểu hiện cấp 5 cùng với 6 giống lúa có biểu hiện tương đương là: CL8, DH4, OM1348, OM6677, OM6976, MTL504. Sau 21 ngày xử lý mặn hầu hết các giống lúa đã chết, chỉ có 4 giống còn lại vài cây nhiễm cấp 5 là: Pokkali, DH4, Một bụi đỏ, OM6677. Như vậy, ở nghiệm thức mặn 4‰ đã quan sát được 2 giống chịu mặn khá, 8 giống chịu mặn trung bình và 8 giống nhiễm sau 21 ngày chùng mặn. Trong khi ở nghiệm thức mặn 6‰ tại

thời điểm giống chuẩn nhiễm IR29 chết có 6 giống chống chịu trung bình nhưng đến một tuần sau đó (21 ngày sau chùng mẫn) chỉ còn 1 giống chống chịu trung bình là Pokkali. Kết quả thí nghiệm cho thấy giống Pokkali, DH4, Một bụi đỏ, OM6677 có khả năng chịu mặn tốt nhất, giống DH2, DH3, CL8, DH5, OM1348, OM6976, MTL504 biểu hiện kháng ở nồng độ mặn 4‰ nhưng biểu hiện nhiễm trong nồng độ mặn 6‰.

Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Trung Tiên (2009) cho thấy tỉ lệ sống sót của cây lúa giảm khi nồng độ mặn tăng lên đồng thời những giống có biểu hiện kháng 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 Tiên và Phan Vinh Quang.

### 3.1.3 Ảnh hưởng của mặn đến chiều cao thân lá của các giống lúa thanh lọc

Chiều cao thân lá lúa ở các nồng độ muối khác nhau thì rất khác nhau. Cây lúa trong điều kiện mặn 0‰ có chiều cao thân lá kéo dài liên tục trong quá trình thí nghiệm. Theo đó sau 7 ngày chùng mẫn các giống đều có thể kéo dài thân lá ngoại trừ giống IR29 và OM4900 ở nghiệm thức mặn 6‰. Sau 14 ngày chùng mẫn, ở độ mặn 4‰ giống IR29 giảm 37,69% chiều cao thân lá, 2 giống DH3 và OM4900 cũng có chiều cao thân lá giảm đáng kể; ở nồng độ mặn 6‰ giống chuẩn nhiễm IR29 chết hoàn toàn, OM4900 giảm 59,37%, đa số các giống có chiều cao thân lá giảm mạnh đặc biệt chỉ OM1348 và Pokkali có chiều cao tăng. Như vậy, các giống DH2, DH3, CL8, IR50504, DH5, OM6677 không giảm chiều cao ở nồng độ mặn 4‰ nhưng lại giảm mạnh ở nồng độ mặn 6‰. Giai đoạn 21 ngày sau khi xử lý mặn, ở nồng độ mặn 4‰ giống chuẩn nhiễm IR29 chết hoàn toàn, đa số các giống đều có chiều cao thân lá giảm ngoại trừ DH4, TC2, Một bụi đỏ, Pokkali thay đổi không đáng kể, OM6677 và MTL504 tăng có ý nghĩa thống kê; ở nồng độ mặn 6‰ chỉ Pokkali, DH4, Một bụi đỏ, OM6677 còn lại vài cây nhưng chiều cao cũng giảm đáng kể, các giống khác đều đã chết.

Kết quả nghiên cứu của Islam *et al.*, 2007 đã ghi nhận chiều cao cây lúa tỉ lệ nghịch với nồng độ mặn; Akita và Cabuslay (1988) thấy rằng dưới ảnh hưởng của mặn các lá già chết sớm hơn lá non. Kết quả của thí nghiệm này rất tương đồng với kết quả của các nghiên cứu nói trên.

### 3.1.4 Ảnh hưởng mặn đến chiều dài rễ của các giống lúa thanh lọc

Chiều dài rễ lúa đã giảm khi nồng độ muối tăng lên nhưng mức độ giảm không cao như sự giảm ở thân. Điều này phù hợp với ghi nhận của Akbar *et al.* (1972) rằng khi bị mặn ảnh hưởng thì sự sinh trưởng ở ngọn lúa giảm nhiều hơn sự sinh trưởng ở rễ.

### 3.1.5 Ảnh hưởng mặn đến trọng lượng khô thân, rễ của các giống lúa thanh lọc

Trọng lượng khô thân, rễ của đa số các giống lúa thí nghiệm đều giảm khi nồng độ mặn tăng lên và khối lượng khô thân giảm nhiều hơn khối lượng khô rễ. Sau 21 ngày chùng mẫn, trọng lượng khô thân giống OM4900, IR29, OM576, OM1350, DH2, DH3, IR50404 giảm hơn 50%; trọng lượng rễ IR29 giảm cao nhất 47,65%, tiếp đến OM4900 giảm 44,75%, các giống còn lại đều có tỉ lệ giảm thấp hơn 23%, giống Pokkali giảm 2,67%. Đặc biệt giống CL8, DH4, DH5, TC2 có khối lượng vật chất khô tăng nhẹ so với đối chứng. Năm 1986, Akita ghi nhận là: khi bị ảnh hưởng của mặn, trọng lượng khô có xu hướng tăng lên trong một thời gian, sau đó giảm nghiêm trọng do suy giảm diện tích lá; trong điều kiện thiệt hại nặng hơn, trọng lượng khô của chồi và của rễ suy giảm tương ứng với mức độ thiệt hại. Như vậy kết quả của thí nghiệm này rất phù hợp với ghi nhận của Akita (1986) và các giống OM4900, IR29, OM576, OM1350, DH2, DH3, IR50404 là các giống có khả năng chịu mặn kém nên đã giảm mạnh khối lượng khô sau 21 ngày nhiễm mặn, các giống có khả năng chịu mặn khá hơn nên tỉ lệ giảm thấp, giống có khối lượng thân rễ không giảm như CL8, DH4, DH5, TC2 là những giống có tiềm năng chịu mặn tốt.

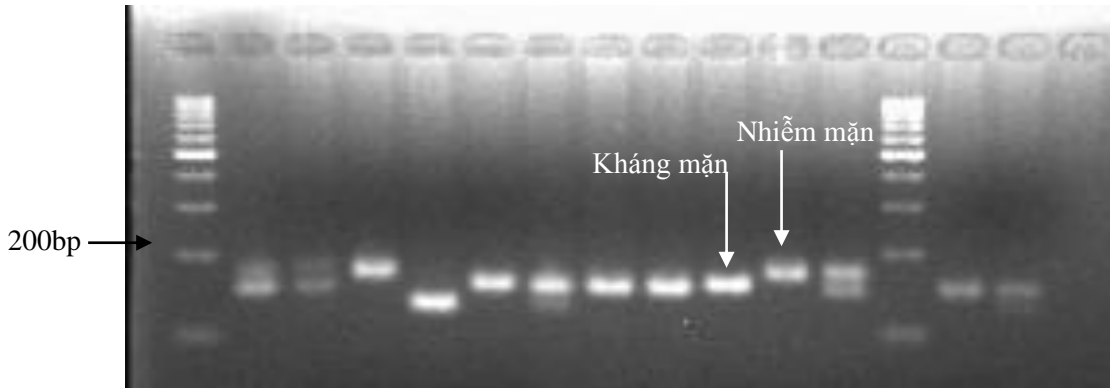
### 3.1.6 Đánh giá ảnh hưởng của mặn lên hàm lượng chlorophyll trong lá

Ở nồng độ mặn 4‰ giống IR29 có chlorophyll tổng là 1,683 mg/g thấp hơn chlorophyll tổng của Pokkali (2,122 mg/g). Tuy nhiên, xét cùng một giống thì hàm lượng Chl hầu như không thay đổi khi tăng nồng độ xử lý mặn từ 0‰ lên 4‰. Giống IR29, DH2, DH3, TC2 có hàm lượng chlorophyll giảm khi

xử lý mặn nhưng sự thay đổi này không có ý nghĩa. Nồng độ mặn 4‰ hầu như không ảnh hưởng đến hàm lượng chlorophyll trên lá của các giống lúa thí nghiệm, kết quả tương tự cũng được Tăng Thị Hạnh *et al.*, 2010 quan sát.

### 3.2 Đánh giá kiểu gen các giống thu thập được bằng marker phân tử

#### Marker RM 206



**Hình 1: Sản phẩm PCR của chỉ thị RM206**

1: Ladder, 2: DH2, 3: DH3, 4: OM4900; 5: DH5, 6: CL8, 7: OM6677, 8: CN1, 9: Một bụi đỏ, 10: Pokkali, 11: IR28, 12: IR29, 13: Ladder, 14: OM6976, 15: MTL504, 16: Nước

Kết quả phân tích gel ở hình 1 cho thấy CL8, OM1348, Một bụi đỏ, OM6677, OM6976, MTL504 có băng tương ứng với Pokkali mang kiểu gen chống chịu mặn (170bp); có sáu giống có băng tương ứng với IR28, IR29 mang gen nhiễm mặn (190bp) là: DH2, DH3, OM4900, IR50404, OM1350, OM576. Qua đó có thể thấy RM206 liên kết khá chặt với khả năng chống chịu mặn trên cây lúa, kết quả của thí nghiệm này tương ứng với kết quả thí nghiệm của Nguyễn Thị Lang *et al.*, 2008. Thông qua RM206 đã nhận diện được giống có mang gen chống chịu mặn là CL8, OM1348, Một bụi đỏ, OM6677, OM6976, MTL504.

#### Marker RM223 và RM10745

Trong nghiên cứu này các đoạn DNA do RM233 và RM10745 khuếch đại được đã không thể hiện sự khác biệt giữa giống chuẩn nhiễm IR28 và giống kháng chuẩn Pokkali. Như vậy, trong nghiên cứu này marker RM223 và RM10745 đã không liên kết chặt với khả

năng chịu mặn của các giống lúa. Nejad (2008) cũng cho rằng RM10745 liên kết chặt với khả năng kháng mặn của lúa.

Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR với marker RM8094 cho thấy có băng khác nhau đã được nhận diện từ các giống lúa thí nghiệm, đặc biệt hai giống IR28 và IR29 đều là giống chuẩn nhiễm nhưng sản phẩm PCR cũng cho ra các băng khác nhau. Điều này cho thấy RM8049 không phù hợp để phân tích gen kháng mặn nhưng có thể sử dụng trong phân tích đa dạng di truyền. Tính đa hình di truyền cao giữa các giống lúa cũng đã được Nejad (2008) ghi nhận với RM8094. Kết quả của thí nghiệm này rất phù hợp với kết quả của Nejad.

RM206 liên kết chặt với gen kháng mặn. Như vậy, trong 4 cặp primer được sử dụng trong thí nghiệm thì RM206 có khả năng liên kết cao nhất với khả năng kháng mặn; RM8094 thể hiện tính đa hình di truyền rất cao giữa các giống lúa, vì vậy RM206 tốt cho phân tích khả năng kháng mặn trong khi RM8094

tốt cho phân tích tính đa dạng di truyền của các giống lúa.

Qua kiểm tra có 6 trong các giống thu thập được có cả kiểu gen và kiểu hình kháng mặn là: CL8, OM1348, Một Bụi Đỏ, OM6677, OM6976, MTL504; một số giống có kiểu hình kháng nhưng xuất hiện băng lạ (150bp) khi phân tích sản phẩm PCR là DH4, DH5, TC2, CN1; Các giống này có thể bổ sung vào ngân hàng các giống lúa có khả năng chịu mặn nhằm làm nguồn cho các nghiên cứu tiếp theo

### 3.3 Khảo sát khả năng tái sinh của mô lúa trong điều kiện mặn

#### 3.3.1 Ảnh hưởng của NaCl đến tỉ lệ sống sót của mô sẹo

Cả 3 giống lúa MTL480, MTL687 và ST20 đều có khả năng tạo mô sẹo trên môi trường CIM3% Maltose. Kết quả đánh giá tỉ lệ sống sót của mô sẹo trong các nồng độ mặn của các giống lúa cho thấy nồng độ mặn càng cao thì tỷ lệ sống sót của mô sẹo càng giảm, mô sẹo của các giống khác nhau có khả năng chịu mặn rất khác nhau. Trong điều kiện không chùng mặn, mô sẹo các giống đều có tỉ lệ sống rất cao (khoảng 98%). Trong các môi trường chùng mặn 5‰ : 10‰ : 20‰, tỷ lệ sống sót của mô sẹo MTL480 là cao nhất (94,64%, 43,33% và 8,88%); tiếp theo là mô sẹo MTL687 (85,18%, 30,16% và 0%); tỷ lệ sống sót của mô sẹo ST20 là thấp nhất (70,28%, 9,09% và 0%). Báo cáo của Lang và Tam (2003) cho thấy mô sẹo của một số giống có khả năng sống sót cao trong môi trường mặn 15‰ như Sóc Nâu, Trang Thai Lan, Đoc Đoc, trong thí nghiệm này giống MTL480 có khả năng sống được ở nồng độ mặn 20‰.

#### 3.3.2 Khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo sau khi xử lý mặn

Kết quả thí nghiệm cho thấy: nồng độ mặn 20‰ làm mô sẹo của cả ba giống thí nghiệm đều mất khả năng tái sinh chồi; sau khi xử lý mặn mô sẹo ST20 hoàn toàn không có khả năng tái sinh chồi; tỉ lệ tái sinh chồi của MTL480 và MTL687 giảm khi nồng độ mặn tăng. Giống MTL480 có khả năng tái sinh chồi cao nhất trong các giống thí nghiệm: ở nghiệm

thức mặn 5‰ mô sẹo MTL480 có tỉ lệ tái sinh chồi tương đương ở nghiệm thức đối chứng; ở nồng độ mặn 10‰ mô sẹo MTL480 có tỉ lệ tạo chồi khá cao (30,67%). Đối với giống MTL687 cũng có tỉ lệ tái sinh chồi cao ở nghiệm thức đối chứng (60,42%) và mặn 5‰ (45,63%), nhưng đạt tỉ lệ rất thấp (1,7%) ở nghiệm thức 10‰. Như vậy, khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của lúa không những chịu ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi cấy (Lee *et al.*, 2003) mà còn chịu ảnh hưởng của kiểu gen và nồng độ xử lý mặn.

#### 3.3.3 Khả năng tạo rễ của các chồi được tái sinh từ môi trường mặn

Có 100% các chồi tái sinh từ các nghiệm thức khi chuyển sang môi trường tạo rễ MS đều có bộ rễ vững chắc sau 2 tuần, có 86% số cây con sống tốt trong vườn sau 2 tuần. Các cây con chết ở giai đoạn ươm có thể là do bị sốc nhiệt hoặc do bộ rễ chưa hoạt động tốt.

#### 3.3.4 Kiểm tra khả năng sống sót của các cây lúa tái sinh trong điều kiện mặn

Các cây lúa được tái sinh trong điều kiện mặn đều sống sót khi trồng trong chậu đất tươi hoàn toàn bằng dung dịch Yoshida bổ sung 6‰ NaCl sau 30 ngày. Kết quả trên cho thấy các cây lúa được tái sinh từ môi trường mặn có khả năng sống sót cao trong môi trường bị nhiễm mặn. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Lê Trần Bình *et al.* (2007).

## 4 KẾT LUẬN

– Có 11 trong 18 giống thu được từ các tỉnh ngập mặn của ĐBSCL có biểu hiện kháng mặn ở giai đoạn mạ, trong đó có 3 giống lúa có khả năng chịu mặn tốt là: DH4, OM1348, Pokkali; 8 giống chịu mặn trung bình là : CL8, DH5, TC2, CN1, Một bụi đỏ, OM6677, OM6976 và MTL504.

– RM206 liên kết chặt với gen chịu mặn, trong khi RM8094 thể hiện tính đa hình di truyền cao giữa các giống lúa thí nghiệm.

– Chiều cao thân, trọng lượng khô thân là giảm mạnh khi cây lúa bị nhiễm mặn trong khi chiều dài rễ, hàm lượng chlorophyll trong lá là chỉ tiêu thay đổi ít.

– Mô sẹo của ba giống MTL480, MTL687, ST20 đều có thể sinh trưởng trong môi trường CIM3% maltose bổ sung 5‰ và 10‰ NaCl. Tuy nhiên, chỉ có giống MTL480 và MTL687 có khả năng tái sinh chồi sau khi xử lý mặn.

– Cây lúa tái sinh ở điều kiện mặn của MTL480, MTL687 đều có khả năng sống sót ở nhà lưới trong điều kiện mặn 6‰ sau 30 ngày.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Trần Bình, Lê Thị Muội (1998), Phân lập gen và chọn dòng chống chịu ngoại cảnh bất lợi ở cây lúa, Nxb Đại học Quốc gia, Hà Nội.
- Nguyễn Trung Tiên. 2009. Nghiên cứu tính chống chịu mặn trên nhóm giống lúa mùa địa phương. *Omonrice*, Vol. 14, trang 39-43
- Tăng Thị Hạnh, Dương Thị Hồng Mai, Trần Văn Luyện, Phạm Văn Cường, Lê Khả Tường, Phan Thị Nga. 2010. Nghiên cứu khả năng chịu mặn của một số nguồn gen lúa lưu giữ tại ngân hàng gen cây trồng quốc gia. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*.
- Akbar M, Yabuno Y, Nakao S (1972). Breeding for saline resistant varieties of rice. I. Variability for salt-tolerance among some rice varieties. *Jpn. J. Breed* 22: 277-284.
- Akbar M and F.N. Ponnampereuma. 1982. *Saline soils of Southeast Asia as potential land*. IRRI, Los Banos, Philippines.
- Akbar M, I.E. Gunawardena, F.N. Ponnampereuma. 1986. Breeding for soil stress. Progress in rainfed lowland rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. Pages 263-272.
- Akagi HY, Yokozeki A, Inagaki T, Fujimura (1997). Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. *Theor. Appl. Genet.* 94: 61-67.
- Akita, S and Cabuslay, G S, 1988. Physiological basis of differential response to salinity in rice cultivars. In: Proc. 3<sup>rd</sup>. Intl. Symp. Genet. Aspects Plant Mineral Nutr. 19-24 June, 1988. Braunschweig, Germany. pp 37.
- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997). Screening rice for salinity tolerance, IRRI Discussion paper Series No.22. International Rice Research Institute, Los Baños. Laguna, Philippines.
- Islam M.Z., M. A. Baset Mia, M.R. Islam, and A. Akter (2007), Effect of different saline level on growth and yield attributes of mutant rice, *J.Soil .Nature .I(2)*, pp 18-22.
- Lang NT, Yanagihara S, Buu BC (2000). Quantitative trait loci for salt tolerance in rice via molecular markers. *Omonrice* 8:37-48.
- Nguyen Thi Lang, B.C. Buu and A. Ismail, 2008. Molecular mapping and marker- assisted selection for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omonrice*, Vol. 16, pp 50-56.
- Nguyen Thi Lang, Nguyen Van Tao, Bui Thi Duong Khuyeu, Trinh Hoang Khai, Dang Minh Tam, Bui Xuan Ky, Hiroyuki Hiraoka, Hiromi Kobayashi and Bui Chi Buu, 2003. Genetic Variability of Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* I L.). [www.ctu.edu.vn/institutes/mdi/jircas/JIRCAS](http://www.ctu.edu.vn/institutes/mdi/jircas/JIRCAS).
- Lee, I.S., D. S. Kim, D.Y. Hyun, S. J. Lee, H. S. Song, Y. P. Lim, and Y. I. Lee, 2003. Isolation of gamma-inuced rice mutants with increased tolerance to salt by anther culture. *J. Plant Biotechnology.* 5 (1): 51-57, 2003.
- Nejad, G.M., A. Arzani, A.M. Rezai, R.K. Singh and G.B. Gregorio, 2008. Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. *Afr. J. Biotech.*, 7: 730-736.
- Tanksley, S.D., S. Grandillo, T.M. Fulton, D. Zamir, Y. Eshed, V. Petiard, J. Lopez and T. Beck-Bunn. 1996. Advanced backcross QTL analysis in a cross between an elite processing line of tomato and its wild relative *L. pimpinellifolium*. *Theor Appl Genet* 92: 213-224.
- Teng S. 1994. *Gene tagging for salt tolerance in rice (Oryza sativa L.)*. PhD Thesis. The university of the Philippines, Los Banos, Laguna, Philippines, 118 p.