

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

TRƯỜNG ÁNH PHƯƠNG

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐỂ NGHIÊN CỨU
CẢI THIỆN TỈ LỆ BẠC BỤNG TRÊN
CÁC GIỐNG LÚA CAO SẢN
(*Oryza sativa* L.)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

CẦN THƠ, NĂM 2019

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

TRƯỜNG ÁNH PHƯƠNG

**ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐỂ NGHIÊN CỨU
CẢI THIỆN TỈ LỆ BẠC BỤNG TRÊN
CÁC GIỐNG LÚA CAO SẢN
(*Oryza sativa* L.)**

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 9420201

LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

PGS.TS. NGUYỄN THỊ NGỌC ẨN

GS.TS. NGUYỄN THỊ LANG

CẦN THƠ, NĂM 2019

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc Lập – Tự Do – Hạnh Phúc

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án “Ứng dụng chỉ thị phân tử để cải thiện tỉ lệ bạc bụng trên các giống lúa cao sản (*Oryza sativa* L.)” là công trình nghiên cứu của tôi với sự hướng dẫn của GS.TS. Nguyễn Thị Lang và PGS.TS. Nguyễn Thị Ngọc Ân. Các số liệu và kết quả trình bày trong luận án này là trung thực và chưa từng được người khác công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

TÁC GIẢ LUẬN ÁN

TRƯƠNG ÁNH PHƯƠNG

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin trân thành cảm ơn sâu sắc đến:

Cô GS.TS. Nguyễn Thị Lang đã dành nhiều thời gian quý báu, công sức và tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong thời gian thực hiện luận án và theo học tại Viện.

Cô PGS.TS. Nguyễn Thị Ngọc Ân đã nhiệt tình động viên, giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho việc học tập và nghiên cứu của tôi.

Xin được gửi lời biết ơn sâu sắc đến Ban Lãnh đạo, Quý thầy cô, anh chị em Bộ môn Di Truyền Chọn giống cây trồng Viện lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long; Ban lãnh đạo Viện nghiên cứu nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL đã sắp xếp công việc cũng như tạo điều kiện thuận lợi về thời gian và cơ sở vật chất để tôi có thể hoàn thành chương trình học tập và luận án đúng tiến độ.

Cuối cùng, sự thành công của luận án không thể không kể đến sự đóng góp không nhỏ của các thành viên trong gia đình, sự tạo điều kiện thuận lợi của Lãnh đạo cơ quan và các đồng nghiệp cơ quan, những người luôn ủng hộ, động viên và giúp tôi vượt qua rất nhiều khó khăn trong thời gian học tập.

Chân thành cảm ơn./.

Cần Thơ, ngày tháng năm 2019

Tác giả luận án

TRƯƠNG ÁNH PHƯƠNG

MỤC LỤC

	Trang
Mục lục	i
Danh sách bảng	vi
Danh sách hình	viii
Danh mục từ viết tắt	xi
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài	2
3.1. Ý nghĩa khoa học	2
3.2. Ý nghĩa thực tiễn.....	3
4. Tính khoa học của đề tài	3
5. Những đóng góp mới của đề tài	3
6. Phạm vi nghiên cứu.....	4
7. Tính mới của đề tài.....	4
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI	5
1.1. Tính trạng bạc bụng trên cây lúa.....	5
1.1.1. Lúa chất lượng và tính trạng bạc bụng.....	5
1.1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến độ bạc bụng	8
1.1.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ	8
1.1.2.2. Ảnh hưởng của dinh dưỡng.....	11
1.1.2.3. Ảnh hưởng bởi thời gian thu hoạch	12

1.1.3. Bản chất di truyền tính trạng kiểm soát độ bạc bụng.....	13
1.2. Phương pháp lai hồi giao trong chọn tạo giống lúa	16
1.2.1. Một số khái niệm trong phương pháp lai hồi giao	16
1.2.2. Ưu điểm của phương pháp lai hồi giao	18
1.2.3. Nhược điểm của phương pháp lai hồi giao	19
1.3. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa	19
1.3.1. Sơ lược về phương pháp chọn lọc bằng chỉ thị phân tử.....	20
1.3.2. Một số thành tựu của chỉ thị SSR trong chọn giống lúa	20
1.4. Chọn tạo giống bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với chỉ thị phân tử.....	22
1.4.1. Các giả thuyết mô hình MAS.....	23
1.4.2. Điều kiện để ứng dụng MAS.....	24
1.4.3. Một số nghiên cứu chọn tạo giống lúa thông qua MAS	26
1.5. Ứng dụng công nghệ sinh học trong nghiên cứu di truyền của tính trạng bạc bụng.....	28
Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	33
2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	33
2.2. Vật liệu nghiên cứu	33
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	33
2.3.1. Nội dung 1: Chọn lọc bố mẹ cho lai tạo giống lúa có tỷ lệ bạc bụng thấp	33
2.3.1.1. Thu thập và chuẩn bị mẫu.....	33
2.3.1.2. Đánh giá độ bạc bụng ở hạt gạo.....	34
2.3.1.3. Phân nhóm đa dạng di truyền kiểu hình.....	35
2.3.1.4. Phương pháp đánh giá kiểu gen	36

2.3.2. Nội dung 2: Chọn tạo quần thể lai hồi giao liên quan tính trạng hạt gạo ít bạc bụng nhờ chỉ thị phân tử	38
2.3.3. Nội dung 3: Chọn lọc các quần thể hồi giao thông qua lập bản đồ GGT	39
2.3.3.1. Kiểm tra kiểu gen của quần thể con lai trên nhiễm sắc thể số 7 dựa trên các chỉ thị phân tử đa hình giữa cây bố và mẹ	39
2.3.3.2. Lập bản đồ GGT đánh giá sự di truyền của quần thể con lai, qua đó chọn lọc các cá thể mang gen mục tiêu mong muốn.....	39
2.3.4. Nội dung 4: Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng.....	41
2.3.4.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm.....	41
2.3.4.2. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường	41
2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu.....	42
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	43
3.1. Chọn lọc bố mẹ cho lai tạo giống lúa có tỷ lệ bạc bụng thấp	43
3.1.1. Đánh giá độ bạc bụng trên các giống lúa vật liệu lai	43
3.1.2. Phân nhóm di truyền các giống lúa vật liệu lai dựa trên kết quả đánh giá cấp bạc bụng	47
3.1.3. Phân tích kiểu gen liên quan đến độ bạc bụng của các giống lúa vật liệu lai	49
3.1.4. Chọn bố mẹ cho lai tạo giống có độ bạc bụng thấp	54
3.2. Chọn tạo quần thể lai hồi giao liên quan tính trạng hạt gạo ít bạc bụng nhờ chỉ thị phân tử.....	56
3.2.1. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/ RVT//OM3673	56
3.2.1.1. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC ₁ của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673.....	56

3.2.1.2. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_2 của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673.....	58
3.2.1.3. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_3 của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673.....	61
3.2.2. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/ TLR434//OM3673.....	64
3.2.2.1. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_1 của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673	65
3.2.2.2. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_2 của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673	68
3.3. Chọn lọc các quần thể hồi giao thông qua lập bản đồ GGT	72
3.3.1. Chọn lọc các cá thể BC_3F_3 của quần thể lai hồi OM3673/RVT//OM3673	72
3.3.2. Chọn lọc các cá thể BC_2F_3 của quần thể lai hồi giao OM3673/TLR434//OM3673	74
3.4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng	76
3.4.1. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2016-2017	77
3.4.2. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017	83
3.4.3. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2017	88
3.4.4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017	93
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	98
1. KẾT LUẬN	98
2. ĐỀ NGHỊ	99

TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	100
-------------------------	-----

PHỤ LỤC

DANH SÁCH BẢNG

TT	Tên bảng	Trang
1.1	Sự tương quan giữa số thể hệ BC_nF_1 với tỷ lệ kiểu gen của dòng triển vọng (nhận gen mong muốn) được đưa vào con lai BC_nF_1	25
2.1	Tiêu chuẩn hệ thống đánh giá mẫu bạc bụng	35
3.1	Các giống lúa có tỉ lệ bạc bụng thấp qua đánh giá ở các thời điểm thu hoạch khác nhau	46
3.2	Tỷ lệ chính xác của kiểu gen so với kiểu hình dựa trên 2 chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938	51
3.3	Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F_1 đến BC_3	56
3.4	Cấp bạc bụng của 10 dòng triển vọng mang gen qui định tính trạng ít bạc bụng	64
3.5	Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F_1 đến BC_2	65
3.6	Cấp bạc bụng của 4 dòng triển vọng mang gen qui định tính trạng ít bạc bụng	71
3.7	Năng suất (tấn/ha) của bộ dòng lúa triển vọng tại 6 điểm vụ Đông Xuân 2016-2017	79
3.8	Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2016-2017	80
3.9	Tỉ lệ gạo không bạc bụng (%) của các dòng lúa triển vọng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017	84
3.10	Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỉ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017	85
3.11	Năng suất (tấn/ha) của các dòng lúa triển vọng tại 6 điểm trong vụ Hè Thu 2017	89

3.12 Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2017	91
3.13 Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%) của các dòng lúa triển vọng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017	93
3.14 Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017.....	94

DANH SÁCH HÌNH

TT	Tên hình	Trang
1.1	Mẫu so sánh hạt gạo không bạc bụng và hạt gạo bạc bụng	6
1.2	Hạt gạo với mức độ bạc bụng khác nhau	7
1.3	Cơ chế biểu hiện tính trạng bạc bụng của hạt gạo dưới ảnh hưởng của nhiệt độ cao.....	10
1.4	Sơ đồ phương pháp lai hồi giao.....	17
1.5	Giá trị trung bình của gen phục hồi qua từng thế hệ hồi giao	18
2.1	Phân tích GGT trên quần thể lai ở cây lúa	40
3.1	Cấp bạc bụng trung bình ở các thời điểm khác nhau	44
3.2	Sự biến động của các cấp bạc bụng theo thời gian thu hoạch.....	45
3.3	Phân nhóm di truyền các giống lúa vật liệu lai dựa trên kết quả đánh giá cấp bạc bụng	48
3.4	Sản phẩm PCR của các mẫu giống lúa với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	49
3.5	Sản phẩm PCR các mẫu giống lúa với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	50
3.6	Phân nhóm di truyền các giống dựa trên kết quả đánh giá kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938.....	53
3.7	Hình ảnh giống OM3673 tại Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long.....	54
3.8	Sản phẩm PCR tại locus Indel5 (a) và RM21938 (b) trên NST 7	55
3.9	Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC ₁ F ₂ với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	57
3.10	Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC ₁ F ₂ với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	58

3.11 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	59
3.12 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	60
3.13 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_3F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	61
3.14 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_3F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	62
3.15 Hai dòng số 8 và dòng 42 sau khi được thu hoạch và chà trắng hạt gạo	63
3.16 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_1F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	66
3.17 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_1F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	67
3.18 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%	69
3.19 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%	70
3.20 Hình ảnh 4 dòng triển vọng ít bạc bụng (BC_2F_2 -14, BC_2F_2 -30, BC_2F_2 -50 và BC_2F_2 -80) sau khi thu hoạch và chà trắng hạt gạo	72
3.21 Sự đa dạng di truyền thế hệ BC_3F_3 trên quần thể lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673 trên nhiễm sắc thể số 7	73
3.22 Sự đa dạng di truyền thế hệ BC_2F_3 trên quần thể lai hồi giao OM OM 3673/TLR434//OM3673 trên nhiễm sắc thể số 7	75
3.23 Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017	82

3.24 Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017	86
3.25 Hình ảnh Dòng lúa lai triển vọng vụ Đông Xuân trồng tại Trại giống Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL (HATRI)	88
3.26 Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017	92
3.27 Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017	95
3.28 Hình ảnh Dòng lúa lai triển vọng vụ Hè Thu trồng tại Trại giống Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL (HATRI)	96

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Tiếng Việt

ĐBSCL	Đồng bằng sông Cửu Long
ctv	Cộng tác viên

Tiếng Anh

ABC	Advanced-backcross populations
BC	Backcross
DNA	Deoxyribose nucleic acid
GGT	Graphical genotyping
Indel	Insertions deletion
IRRI	International Rice Research Institute
MAS	Marker assisted selection
PCR	Polymerase chain reaction
QTL	Quantitative Trait Locus
RM	Rice microsatellite
SSR	Simple sequence repeat

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây cung cấp lương thực quan trọng, nuôi sống hơn một nửa dân số trên thế giới. Giá trị kinh tế cây lúa đem lại không còn giới hạn ở việc cung cấp lương thực cho con người mà nay là mặt hàng xuất khẩu thu nguồn ngoại tệ lớn. Một trong những hướng gia tăng giá trị kinh tế cây lúa là phải đổi mới giống, đưa vào sản xuất các giống có phẩm chất cao bởi vì gạo có phẩm chất tốt được tiêu thụ với giá cao hơn gạo có phẩm chất trung bình và kém (Trần Duy Quý, 2002).

Độ bạc bụng là một trong những chỉ tiêu phẩm chất có liên quan trực tiếp đến chất lượng xay chà. Bạc bụng tạo vết đục trong phôi nhũ của hạt. Đối với gạo tẻ tỉ lệ bạc bụng cao sẽ ảnh hưởng đến tỉ lệ gãy của hạt cao trong chất lượng xay chà. Hơn nữa, dạng nội nhũ của hạt gạo là một trong số các yếu tố có vai trò quan trọng trong việc xuất khẩu lúa gạo. Bên cạnh đó, hiện nay việc sản xuất lúa ở Việt Nam đang phải đương đầu với nhiều thách thức như việc thay đổi khí hậu toàn cầu, nước biển dâng, xâm nhập mặn cộng với diện tích đất nông nghiệp giảm, thiếu nước trong mùa khô; khả năng cạnh tranh kém của bộ giống lúa đang sản xuất trên đồng ruộng hiện nay, độ bạc bụng tăng theo xu hướng ấm lên của trái đất, hàm lượng amylose cao, giá trị độ bền gel thuộc nhóm cứng cơm là thách thức lớn cho nhà chọn giống (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).

Hiện nay, việc ứng dụng công nghệ sinh học kết hợp với phương pháp truyền thống đang là giải pháp được khuyến khích. Đồng thời, với xu hướng phát triển kinh tế toàn cầu, nhu cầu và thị hiếu của người tiêu dùng đòi hỏi chất lượng lương thực ngày càng cao. Thêm vào đó, đặc tính bạc bụng được di truyền đa gen và chịu tác động của môi trường. Cho nên, rất khó tìm được giống hoàn toàn không có bạc bụng mà hướng tới cải thiện giống ít bạc bụng. Vì vậy, đề tài “Ứng dụng chỉ thị phân tử để cải thiện tỉ lệ bạc bụng trên các giống lúa cao sản (*Oryza sativa* L.)” được thực hiện nhằm tạo chọn các dòng/giống lúa có năng suất cao và ít hoặc không bạc bụng.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Tạo chọn các dòng lúa mới cho năng suất cao và tỉ lệ bạc bụng thấp nhằm cải thiện được tính trạng hạt gạo bạc bụng trên một số giống lúa cao sản nhờ vào các chỉ thị phân tử Microsatellite liên kết với gen kiểm soát tính trạng hạt gạo bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7.

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

3.1. Ý nghĩa khoa học

Khai thác nguồn gen qua đa dạng nguồn vật liệu lai bố mẹ từ lúa cao sản.

Nghiên cứu, chọn tạo các giống/dòng lúa có phẩm chất tốt và năng suất cao kết hợp chọn giống truyền thống với phương pháp hiện đại bằng chỉ thị phân tử nhằm khắc phục những hạn chế của phương pháp truyền thống, rút ngắn thời gian lai tạo và nâng cao hiệu quả chọn lọc.

Ứng dụng các thành tựu mới trong chọn tạo: nghiên cứu cơ sở di truyền tính trạng mục tiêu (độ bạc bụng thấp) dựa trên phương pháp lai hồi giao, chọn tạo bằng chỉ thị phân tử, bản đồ GGT, ...

Những thành công bước đầu trong quy tụ gen bạc bụng thấp sử dụng chỉ thị phân tử ở lúa sẽ mở ra khả năng ứng dụng rộng rãi trong công tác chọn tạo giống nói chung, không chỉ đối với chỉ tiêu độ bạc bụng mà còn đối với nhiều đặc tính nông học quý khác.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Ứng dụng các thành tựu mới của khoa học hiện đại vào trong chọn giống, nâng cao hiệu quả chọn tạo, rút ngắn thời gian và tăng hiệu suất chọn lọc cũng như hiệu quả kinh tế.

Đề tài đã chọn ra được các dòng lúa triển vọng cải thiện được tính bạc bụng (tỉ lệ không bạc bụng cao) và thích nghi điều kiện môi trường để bổ sung vào cơ cấu

giống phẩm chất cao nhằm phục vụ cho nhu cầu tiêu thụ nội địa và nâng cao khả năng cạnh tranh với các nước trên thế giới về xuất khẩu gạo.

Các nội dung nghiên cứu trong đề tài có thể ứng dụng cho công tác chọn giống hiện nay. Sản phẩm từ đề tài là nguồn vật liệu và phương pháp của đề tài là nguồn tư liệu cho các công trình nghiên cứu tiếp theo. Ngoài ra, đề tài còn góp phần phục vụ trong các công tác nghiên cứu và giảng dạy.

4. Tính khoa học của đề tài

Ứng dụng các kỹ thuật hiện đại để bổ sung cũng như giải quyết các hạn chế cho phương pháp lai tạo giống truyền thống, rút ngắn thời gian nghiên cứu.

Kế thừa các nghiên cứu trước trong việc lựa chọn vật liệu lai và chỉ thị phân tử.

Ứng dụng sinh học phân tử và tin sinh học để phân tích và đánh giá các dữ liệu của đề tài.

Ứng dụng bản đồ gen GGT để chọn các đoạn gen còn phân ly nhằm có biện pháp chọn lựa tiếp

Các dòng lúa được chọn tạo trong đề tài là kết quả khoa học có khả năng ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu và sản xuất giống lúa phẩm chất cao ở vùng ĐBSCL.

5. Những đóng góp mới của đề tài:

Đề tài đánh giá nguồn vật liệu bố mẹ để khai thác tính trạng không bạc bụng.

Bên cạnh mục tiêu chọn tạo giống lúa mang gen không bạc bụng, đề tài còn chú ý đến năng suất cao và thời gian sinh trưởng phù hợp. Điều này là điều kiện quyết định để các sản phẩm giống lúa có thể ứng dụng và phát triển rộng khi đề tài kết thúc.

Kết hợp giữa lai tạo truyền thống, sinh học phân tử và tin sinh học trong nghiên cứu.

6. Tính ứng dụng của đề tài:

Đề tài được thực hiện thông qua phương pháp lai tạo truyền thống kết hợp phương pháp chọn lọc hiện đại bằng chỉ thị phân tử. Thông qua kết quả đề tài cũng cho thấy tính hiệu quả của việc ứng dụng các kỹ thuật mới vào chọn tạo giống truyền thống.

Sản phẩm đề tài còn là nguồn vật liệu về giống và chỉ thị phân tử cho các chương trình lai tạo giống kế tiếp.

Đề tài ứng dụng nguồn gen cây lúa cũng như các phương pháp hỗ trợ trong chọn giống như phân nhóm di truyền, chọn lọc thông qua chỉ thị phân tử, phân tích đa dạng alen thông qua bản đồ GGT, ... Đề tài cung cấp một chương trình chọn tạo giống hiệu quả, mang giá trị tham khảo rất cao.

7. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

* Đối tượng: Các giống lúa cao sản tại ĐBSCL.

* Phạm vi nghiên cứu:

- Không gian: Thí nghiệm được bố trí tại Nhà lưới, Ruộng thí nghiệm của Viện Lúa ĐBSCL và tại các tỉnh ĐBSCL đại diện cho các vùng sinh thái. Các chỉ tiêu được phân tích tại Phòng phân tích phẩm chất, Phòng Sinh học phân tử tại Bộ môn di truyền chọn giống, Phòng Công nghệ gen của Viện Nghiên cứu Nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL.

- Thời gian: Từ năm 2013 đến năm 2017.

- Phương pháp: Các phương pháp truyền thống kết hợp với phương pháp hiện đại.

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI

1.1. Tính trạng bạc bụng trên cây lúa

1.1.1. Lúa chất lượng và tính trạng bạc bụng

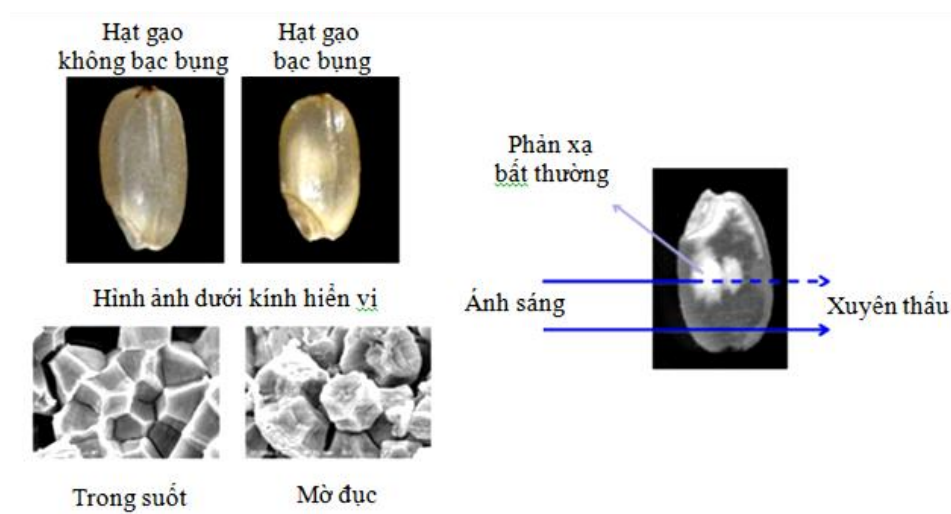
Lúa là một loại ngũ cốc quan trọng nhất cung cấp cho hơn một nửa dân số thế giới (Khush, 2005; Marathi và ctv., 2012). Do vậy, mà nhiều nước trên thế giới kể cả những nước không có kinh nghiệm trồng lúa như một số nước thuộc Châu Phi, Nam Mỹ... cũng đã đề ra chiến lược sản xuất lúa để tự đảm bảo an ninh lương thực. Điều này cho thấy lúa có tầm quan trọng đối với an ninh lương thực thế giới. Khác với các cây lương thực khác, lúa là cây lương thực chủ yếu cho con người, cùng với sự phát triển của xã hội, chất lượng gạo được xem là đặc tính quan trọng sau năng suất lúa. Do đó, việc lai tạo giống chất lượng theo thị hiếu người tiêu dùng trở thành mục tiêu chính yếu trong các chương trình chọn giống hiện nay.

Khả năng để tạo ra giống lúa theo nhu cầu thị hiếu của một đặc tính cụ thể nào đó đặc biệt là các tính trạng về chất lượng, nhà chọn giống cần phải hiểu rõ bản chất di truyền của gen quy định các tính trạng mục tiêu. Ngoài ra, việc phân nhóm các đặc tính quy định tính trạng chất lượng gạo cũng đặc biệt cần được chú ý. Chất lượng gạo bao gồm các đặc tính về vật lý và hóa học, phụ thuộc vào thị hiếu người tiêu dùng và chủ yếu liên quan đến hình dạng hạt, chất lượng xay chà, chất lượng cơm và hàm lượng dinh dưỡng (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011; Guo và ctv., 2011). Trong các đặc tính phẩm chất, bạc bụng là một trong những yếu tố chính xác định chất lượng và giá trị hạt gạo, được các nhà chọn giống cũng như người tiêu dùng quan tâm (Tan và ctv., 2000; Guo và ctv., 2011; Peng và ctv., 2014).

Bạc bụng tạo vết đục trong phôi nhũ của hạt là do sự gián đoạn trong quá trình làm đầy hạt tạo nên các khoảng không giữa các tế bào tinh bột (hạt tinh bột ở vùng bạc bụng sắp xếp rời rạc, có cấu trúc kém chặt chẽ hơn ở các vùng trong suốt) hình

thành vết màu đục trong hạt gạo thấy được do phản xạ ánh sáng (Tashiro and Wardlaw, 1991; Xi và ctv., 2014; Sreenivasulu và ctv., 2015).

Quan sát cấu trúc vật lý của hạt gạo bị và không bị bạc bụng dưới kính hiển vi điện tử (Scanning electron microscopy-SEM) cho thấy ở hạt gạo có vết đục có cấu trúc hạt tinh bột dạng tròn và có kết cấu không chặt chẽ với nhiều khoảng trống nhỏ so với hạt không bị bạc bụng (Evers and Juliano, 1976; Tashiro and Wardlaw, 1991a; Kimet và ctv., 2000; Lisle và ctv., 2000; Zakaria và ctv., 2002).



Hình 1.1: Mẫu so sánh hạt gạo không bạc bụng và hạt gạo bạc bụng dưới kính hiển vi điện tử (Scanning electron microscopy-SEM)

(Nguồn: Mitsui và ctv., 2013)

Độ trong suốt của hạt gạo phụ thuộc vào tính chất của phôi nhũ, vết đục có thể xuất hiện ở bụng, lưng hay trung tâm hạt gạo. Chính vì cấu trúc như thế nên hạt gạo dễ bị gãy tại điểm có vết đục khi xay chà làm giảm giá trị thương phẩm của hạt gạo (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011; Lin và ctv., 2017). Bạc bụng liên quan trực tiếp đến chất lượng xay chà (IRRI, 2006). Đối với gạo tẻ, tỉ lệ bạc bụng cao sẽ ảnh hưởng đến tỉ lệ gãy của hạt (hay gạo tấm) cao trong chất lượng xay chà. Bạc bụng của gạo tẻ thay đổi từ 5-50 %, tùy theo cấp hạt bạc bụng được xếp từ cấp 1 đến cấp 9. Một vài giống lúa có tỉ lệ bạc bụng rất thấp như IR 64 biến động từ 7-15

%. Tuy nhiên, đối với IR50404 tỉ lệ bạc bụng cấp 9 biến động từ 20-50 % (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).



Hình 1.2: Hạt gạo với mức độ bạc bụng khác nhau

(Nguồn: IRRI, 2006)

Theo Chun và ctv (2009) khi nghiên cứu cấu trúc tế bào tinh bột của hạt bị bạc bụng cũng cho thấy có sự khác nhau so với hạt không bạc bụng. Theo kết quả phân tích siêu cấu trúc, hạt bị bạc bụng có cấu trúc tế bào không bình thường, giữa những tế bào tinh bột có nhiều khoảng trống và lập bột (amyloplasts) có dạng tròn so với hạt không bạc bụng. Về tính hóa học, hạt bị bạc bụng hấp thu nước nhanh hơn và có thể tích lớn hơn so với hạt không bạc bụng trong quá trình nấu. Điều này được khẳng định là do kết cấu của những hạt tinh bột kém chặt chẽ ở hạt gạo bị bạc bụng so với hạt không bạc bụng. Bên cạnh đó, kết quả cho thấy nhiệt độ trở hồ thấp của hạt bị bạc bụng được xem là có liên quan đến cấu trúc phân tử của amylopectin với nhiều nhánh ngắn. Do đó, ở hạt bị bạc bụng, có độ dính kém hơn và cơm thường cứng hơn do bởi hàm lượng protein thấp. Theo đánh giá cảm quan về sự ngon cơm cũng cho thấy có sự tương quan tuyến tính nghịch giữa hạt gạo bị bạc bụng so với hạt không bạc bụng. Kết quả phân tích amylography, cho thấy phần trăm độ bạc bụng gia tăng từ 0-5% thì độ nhót của gạo khi nấu sẽ giảm mạnh từ đỉnh xuống.

Điều này chứng tỏ rằng gạo bị bạc bụng sẽ làm giảm chất lượng ngon cơm đến 5% (Chun và ctv., 2009).

1.1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến độ bạc bụng

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng có nhiều yếu tố góp phần vào sự hình thành bạc bụng ở hạt gạo, bao gồm sự tổng hợp tinh bột, cấu trúc và sự sắp xếp hạt tinh bột. Các điều này xảy ra có thể do sự thay đổi kích thích tố sinh trưởng ở thực vật (như gibberellic acid và kinetin) dưới áp lực của môi trường như thiếu chất dinh dưỡng (đạm, kali...), thiếu nước cũng như áp lực nhiệt độ cao... (Ray and Choudhuri, 1980; Yang và ctv., 2001; Wang và ctv., 2007; Lanning và ctv., 2011; Nakata và ctv., 2017; Nevame và ctv., 2018).

1.1.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

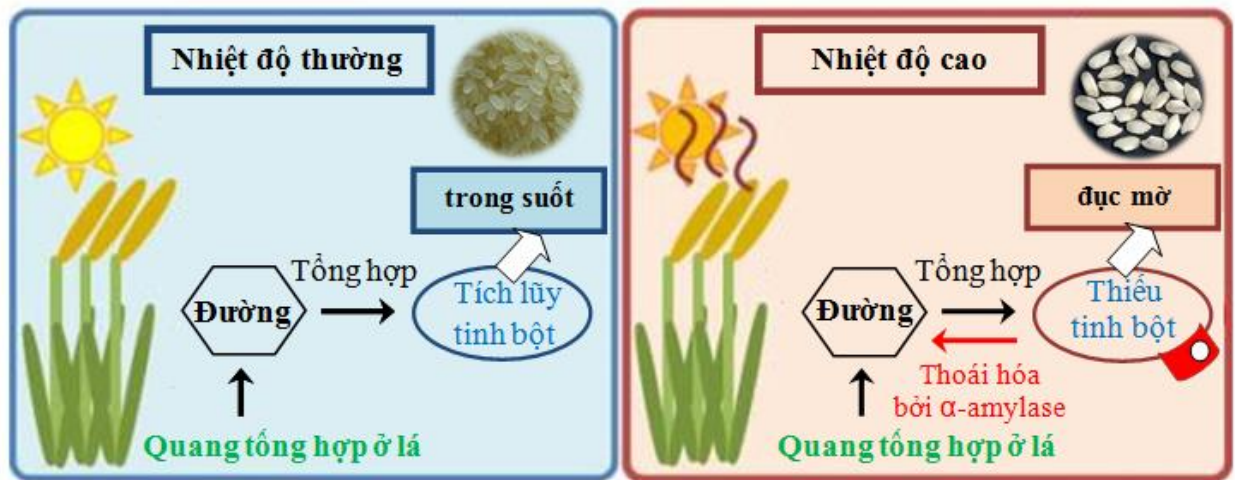
Sự gia tăng dần nhiệt độ toàn cầu gây ra stress nhiệt và các phản ứng oxy hóa trong cây (Bita và Gerats, 2013). Các phản ứng oxy hóa này gây ra những thay đổi trong quá trình trao đổi chất và làm tổn hại đến năng suất lúa và chất lượng hạt gạo. Stress nhiệt là một rối loạn trong trao đổi chất do nhiệt độ cao thông qua các phương thức sinh hóa, phân tử và sinh lý, ảnh hưởng đến quá trình phát triển tế bào và toàn bộ cây trồng, dẫn đến năng suất cây trồng thấp và chất lượng kém (Nevame và ctv., 2018).

Khi phân tích protein ở các giai đoạn phát triển hạt, cho thấy có những thay đổi tích cực của các chất chuyển hóa trong quá trình phát triển hạt gạo và các protein được thấy đã tham gia vào quá trình đường phân (glycolysis), chu trình Krebs (acid citric cycle), quá trình chuyển hóa lipid (lipid metabolism) và quá trình phân giải protein (proteolysis) được tích lũy ở mức độ cao hơn ở giai đoạn hạt chín so với giai đoạn đang phát triển. Kết quả xử lý ở nhiệt độ cao trong giai đoạn chín cho thấy hạt có hiện tượng bạc bụng là do cấu trúc lỏng lẻo của các hạt tinh bột trong nội nhũ. Tuy nhiên, cơ chế ở mức độ phân tử gây nên hiện tượng bạc bụng của hạt gạo dưới tác động của stress nhiệt còn rất phức tạp và chưa rõ ràng (Tashiro and Wardlaw, 1991a,b; Yoshida and Hara, 1977; Liu và ctv., 2010).

Một nghiên cứu khác của Shen và ctv. (1997) cho biết, khi xử lý cây lúa ở nhiệt độ cao, các đỉnh của sự tổng hợp vật chất và hoạt độ enzyme trong nội nhũ đã đạt sớm hơn các đỉnh của việc xử lý nhiệt độ thích hợp. Điều này cho phép kết luận rằng nhiệt độ đã ảnh hưởng tới trình tự và kết cấu đến sự thay đổi của các chất và enzyme trong nội nhũ trong thời gian hạt vào chắt dẫn đến tăng sự hiện diện của bạc bụng trong hạt.

Trong suốt giai đoạn chín của lúa, nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến sự hình thành độ bạc bụng của gạo (Asaoka và ctv., 1984; Inouchi và ctv., 2000; Umemoto and Terashima, 2002; Cheng và ctv., 2005; Yamakawa và ctv., 2007; Chun và ctv., 2009). Tashiro và Wardlaw (1991) thấy rằng nhiệt độ trên 26 °C là nguyên nhân gây bạc bụng hạt và giảm khối lượng hạt. Okada và ctv (2011) đã thiết lập mô hình cho nhiều ảnh hưởng của nhiệt độ và bức xạ trong giai đoạn chín của gạo. Sự gia tăng nhiệt độ có tác động tiêu cực đến chất lượng hạt gạo, trong khi sự gia tăng bức xạ có tác động tích cực. Ngoài ra, ở nhiệt độ dưới 21 °C, với sự gia tăng bức xạ, hầu hết gạo cho tỷ lệ trong, không bạc bụng cao, nhưng ở mỗi mức nhiệt độ cao hơn 21 °C, mức độ bức xạ giảm, bạc bụng hạt tăng ngày càng trở nên rõ rệt. Do đó, Okada và ctv (2011) kết luận rằng độ nhạy của chất lượng gạo (đặc biệt là bạc bụng) tăng khi mức độ bức xạ giảm trong khi nhiệt độ môi trường tăng. Tsukimori (2003) báo cáo rằng hạt bạc bụng tăng mạnh về số lượng khi nhiệt độ tối thiểu trung bình hàng ngày vượt quá 23°C trong 20 ngày. Lanning và ctv (2011) cũng đã xác nhận ảnh hưởng tiêu cực của nhiệt độ ban đêm đối với chất lượng hạt. Lyman và ctv (2013) báo cáo rằng nhiệt độ gia tăng trung bình 1°C ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ hạt bị bạc bụng và gãy. Theo Morita và Nakano (2008), sự xuất hiện của các hạt gạo bạc bụng dưới nhiệt độ cao là do sự ức chế tích lũy tinh bột. Lur và ctv (2009) đã mô tả rằng nhiệt độ tích lũy trên 26 °C trong vòng 15 ngày sau khi trổ có thể được coi là chỉ số gây bạc bụng ở hạt gạo. Wakamatsu và ctv (2004, 2005) cho rằng tỷ lệ hạt bạc bụng sống lưng (white-back, WB) và hạt bạc bụng nhân (basal-white, BW) tăng khi nhiệt độ trung bình trong quá trình chín vượt quá 27 °C.

Yamakawa và ctv (2007, 2008) đã tiến hành một phân tích yếu tố phiên mã (transcriptome) và làm sáng tỏ cơ chế phân tử liên quan đến bạc bụng hạt và các gen đáp ứng nhiệt độ cao. Sự biểu hiện của các gen kiểm soát sự tổng hợp tinh bột và tích trữ protein đã giảm ở nhiệt độ cao, trong khi sự biểu hiện của các gen liên quan đến phân hủy tinh bột và đáp ứng nhiệt đã tăng lên.



Hình 1.3: Cơ chế biểu hiện bạc bụng của hạt gạo dưới ảnh hưởng của nhiệt độ cao

(Nguồn: <http://www.naro.affrc.go.jp/org/narc/ricequalitylab/researcheng.html>)

Khi so sánh vị trí gen trên nhiễm sắc thể của gen đáp ứng nhiệt độ cao và các QTL liên quan hạt bạc bụng, Yamakawa và ctv (2007) đã một số gen có khả năng chịu nhiệt độ cao nằm trong vùng lân cận của QTL xác định độ bạc bụng của hạt. Do đó, một số gen mã hóa enzyme chuyển hóa tinh bột/carbohydrate được định vị trên nhiễm sắc thể số 8, đặc biệt là *AGPS2* (ADP-glucose pyrophosphorylase 2) giữa RM3181 và RM3689, bao phủ vùng bên trong nhạy cảm kiểm soát QTLqWB8 HT (bạc bụng lưng) ở lúa. Ở giai đoạn lúa chín, sự biểu hiện của các gen liên quan đến tổng hợp tinh bột bao gồm *GBSSI* (Granulate bound Starch Synthase I), *BEI1b*, ADP- glucose pyrophosphorylase (*AGPS2b*, *AGPS1* và *AGPL2*) và ADP-glucose translocator (*BT1-2*) bị kìm hãm một phần dưới điều kiện nhiệt độ cao do hoạt động của enzyme amylases (Yamakawa và ctv., 2007; Chen và ctv., 2012). Điều này đã được chấp nhận một cách rộng rãi đối với trường hợp đột biến của gen amylose-

extender (ae) điều khiển enzym *BEIIb* (starch-branching enzyme IIb) đặc biệt là làm thay đổi cấu trúc của amylopectin ở nội nhũ bằng cách làm ngắn chuỗi trùng hợp từ 8-12 đơn vị và tăng số lượng trùng hợp của chuỗi dài trên 19 đơn vị do đó gây hiện tượng bạc bụng của hạt (Nishi và ctv., 2001). Hiện tượng bạc bụng của hạt có đột biến ae sẽ biến mất khi được chuyển gen *BEIIb* bình thường (Tanaka và ctv., 2004). Ông cho rằng sự biểu hiện bất thường của gen *BEIIb* là một trong những yếu tố cây bạc bụng của hạt. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây lại chỉ rằng không có sự phân biệt đối với sự của phân bố chuỗi dài của cấu trúc tinh bột từ những hạt bị bạc bụng và hạt không bị bạc bụng trên giống Koshihikari ở nhiệt độ 24,4 °C và 28 °C (Tsutsui và ctv., 2013). Hơn nữa, Yamakawa và ctv (2007) mô tả rằng sự giảm hàm lượng amylose và sự gia tăng số lượng chuỗi dài của amylopectin bởi nhiệt độ cao thì không có sự liên quan đến bạc bụng của hạt gạo. Do đó, sự liên quan của cấu trúc tinh bột với độ đục của hạt dưới áp lực nhiệt độ cao vẫn chưa có kết luận rõ ràng.

Theo Viện nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI), ở thời kỳ lúa từ trổ đến chắc, nếu điều kiện nhiệt độ đêm/ngày vào khoảng 20/30 °C, lúa sẽ đạt 80% số hạt chắc, tuy nhiên, độ bạc bụng lại khá cao (80%). Trong khi đó, trong điều kiện nhiệt độ đêm/ngày từ 15/25 °C, tỷ lệ hạt chắc đạt rất thấp hơn nhưng tỷ lệ bạc bụng của hạt gạo lại rất thấp (thấp hơn 20%). Vì vậy, nếu có nhu cầu về năng suất, khả năng vào hạt tốt thì chọn thời điểm nhiệt độ từ 20/30 °C, nếu để có hạt gạo ít bạc bụng nên chọn nhiệt độ đêm/ngày là 15/25 °C cho cây lúa trổ là tốt nhất.

1.1.2.2. Ảnh hưởng của dinh dưỡng

Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng nếu bón đủ N gạo sẽ giảm độ bạc bụng so với ruộng thiếu N (Perez và ctv., 1996, Leesawatwong và ctv., 2005). Tương tự Prakash và ctv (2002), Sinh và ctv (2011) báo cáo rằng bón đạm sẽ gia tăng hàm lượng protein nhưng lại làm giảm hàm lượng amylose. Ngược lại khi cây trồng thiếu đạm vẫn thấy hàm lượng amylose tăng nhưng siêu cấu trúc của amylopectin thì lại không

thấy ảnh hưởng (Dong và ctv., 2007; Gunaratne và ctv., 2011). Tương tự khi bón kẽm và Bo sẽ làm gia tăng hàm lượng protein (Abbas, 2013).

Wang và ctv (2011) quan sát thấy rằng năng suất lúa không bạc bụng tăng và giảm tỷ lệ gạo bạc bụng, tỷ lệ dài:rộng, và hàm lượng amylose khi bón đạm ở mức 202,5 kg/hm², P₂O₅ (67,5 kg/hm²) và K₂O (135 kg/hm²). Mặc khác nếu bón kali (Vilgel và ctv., 1986) và kẽm sẽ tăng hàm lượng amylose (Chen và ctv., 1997; Hasnain và ctv., 2013) sẽ làm tăng hàm lượng amylose. Vì vậy, nhiều nghiên cứu về dinh dưỡng đặc biệt là các nguyên tố đa lượng nhằm làm giảm tỷ lệ bạc bụng trên lúa bước đầu cho thấy rằng với tỷ lệ phân bón N: K (2:1) kết quả làm giảm phần trăm độ bạc bụng ở mức chấp nhận được (Bridgemohan, 1997). Theo Mingli và Younggui (2005) khi phun dung dịch ure trong giai đoạn chín sẽ cho năng suất cao nhưng lại tăng độ bền gel, cải thiện hàm lượng amylose và đồng thời tăng tỷ lệ bạc bụng.

Bón phân không đúng tỷ lệ cũng gây ra độ bạc bụng khác nhau trong mẫu gạo. Kết quả các khảo nghiệm cho thấy, ruộng lúa không bón phân và chỉ bón lân và kali cho tỷ lệ bạc bụng thấp nhất (dưới 3,6%), bón đạm và kali, hoặc đạm và lân, bón tổng hợp NPK (với liều lượng 100 N, 60 P₂O₅ và 30 K₂O/ha) cho tỷ lệ bạc bụng cao hơn (khoảng 4-4,2%). Đây là các tỷ lệ bạc bụng thấp hơn cấp 1 và hoàn toàn có thể xuất khẩu với phẩm chất cao. Tuy nhiên, nếu xét về năng suất, ruộng lúa bón NPK cho năng suất cao nhất (6,2 tấn/ha), không bón phân cho năng suất thấp nhất (4,8 tấn/ha). Riêng ruộng bón đạm đơn độc vừa cho năng suất thấp, vừa có tỷ lệ bạc bụng cao (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).

1.1.2.3. Ảnh hưởng bởi thời gian thu hoạch

Thời gian thu hoạch cũng có ảnh hưởng đến độ bạc bụng của hạt gạo. Một thí nghiệm về thời gian gặt (chia làm 4 giai đoạn: sau khi trổ 20, 25, 30 và 35 ngày) trên giống IR64 cho thấy, lúa gặt vào các thời điểm này đều có tỷ lệ bạc bụng cấp 3 (tức là cấp bạc bụng không đủ tiêu chuẩn xuất khẩu với phẩm chất cao). Trong đó, gặt 20 ngày sau khi trổ là hạt có tỷ lệ bạc bụng thấp nhất là 3,3% và 25 ngày là

3,4%. Trong khi đó gặt lúc 35 ngày sau khi trổ là cao nhất (8,4%). Như vậy càng gặt muộn thì độ bạc bụng trong hạt gạo càng tăng cao. Tuy nhiên, xét về mặt năng suất thì gặt lúa 20 ngày sau khi trổ, năng suất thấp nhất (4,8 tấn/ha) vì rất nhiều hạt chưa vào chắc và gặt lúc 35 ngày sau khi trổ cũng cho năng suất thấp (5,0 tấn/ha), vì rất nhiều hạt bị rụng do chín quá. Gặt lúc 25 ngày sau khi trổ là năng suất cao nhất (5,6 tấn/ha), tuy nhiên độ bạc bụng cũng cao hơn lúa gặt 20 ngày sau khi trổ đôi chút (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).

1.1.3. Bản chất di truyền tính trạng kiểm soát độ bạc bụng

Bạc bụng của gạo là một tính trạng phức tạp được điều khiển bởi nhiều yếu tố di truyền và chịu ảnh hưởng của môi trường (Nakata và Jackson, 1973; Seetharaman, 1964). Những gen này được kiểm soát bởi nội nhũ và tế bào chất dòng mẹ. Theo Ebron (2013), sự bạc bụng được thể hiện bởi các vùng mờ đục ở nhiều phần của hạt gạo, xảy ra khi các thành phần protein và tinh bột được đóng gói không chặt trong nội nhũ khi hạt vào chắc. Độ bạc bụng là tính trạng thể hiện kiểu hình về chất lượng và chủ yếu được đánh giá thông qua phần trăm hạt bị bạc bụng (Percentage of grains with chalkiness - PGWC), diện tích hạt bạc bụng (Area Endosperm Chalkiness - AEC) và mức độ bạc bụng của nội nhũ (Degree of endosperm chalkiness - DEC). Sự di truyền các tính trạng này và vì vậy được xem là rất phức tạp (Pooni và ctv., 1992; Zhu and Weir, 1994; Mo, 1995). Theo Del Rosario và ctv (1968), kết quả cho thấy giá trị PGWC cao đã làm giảm mật độ hạt tinh bột và hạt dễ bị vỡ trong quá trình xay xát.

Trước đây, nhiều nghiên cứu về di truyền độ bạc bụng của gạo tại Ấn Độ và Mỹ cho thấy hạt gạo có điểm trắng ở trung tâm do gen lặn *wc* điều khiển và độ bạc trắng ở bụng hạt do gen lặn *wb* điều khiển (USDA, 1963). Một số nghiên cứu khác cho rằng hạt đục ở trung tâm là do đơn gen trội quy định (Nagai, 1958; Chalam and Venkatesvarlu 1965). Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu sau này với sự hỗ trợ của công nghệ sinh học, tính trạng bạc bụng của hạt gạo được xác định là điều khiển bởi đa gen. Những gen này chịu tác động của môi trường (Lê Doãn Liên và ctv, 1977) và

có thể bị ảnh hưởng do nhiều yếu tố kết hợp bao gồm: vật lý, sinh hóa, sinh lý, phẩm chất nước ,... (Chen và ctv., 2012).

Theo nghiên cứu của Somrith (1974) cho rằng mức độ bạc bụng có tần xuất liên kết với tính trạng hạt tròn hơn là hạt dài và chịu tác động của môi trường. Kết quả nghiên cứu của Bùi Chí Bửu và ctv (1996) cho thấy ở nhiệt độ thấp sau khi trở làm giảm hoặc mất độ bạc bụng. Theo Somrith (1974) thì tính trạng này di truyền độc lập với các tính trạng nông học khác. Theo Fitzgerald (2011), hiện tượng bạc bụng không phải là do một gen gây ra và điều này gây khó khăn trong việc loại bỏ các gen xấu ở những giống lúa mới. Vì vậy, các nhà khoa học đã sử dụng phương pháp đo mức độ bạc bụng, lập bản đồ gen của các giống lúa và sử dụng các số liệu thống kê để so sánh mức độ bạc bụng khi giống lúa có một chuỗi DNA nhất định. Kết quả phát hiện ra năm vùng di truyền trên năm phần của hệ gen cây lúa và giúp hạt lúa tránh được hiện tượng bạc bụng trong điều kiện nhiệt độ cao. Fitzgerald (2011) cũng cho biết từ kết quả nghiên cứu mới, ông có thể tách bỏ những gen bất lợi ra khỏi một số giống lúa đang được gieo trồng, từ đó giúp các chương trình chọn giống có thể lựa chọn được những giống lúa ít nguy cơ bị bạc bụng nhằm tăng chất lượng hạt gạo.

Theo Yibo và ctv (2014) cho rằng cơ sở phân tử của tính trạng bạc bụng thì chưa được biết nhiều nhưng tính trạng kiểm soát hiện tượng gây bạc bụng trên hạt gạo đã được xác định là tính trạng số lượng (QTL) quy định bởi gen *Chalk*. Gen này mã hóa enzyme pyrophosphatase (V-PPase) chuyển vị ion H^+ thuộc không bào với sự thủy phân hợp chất pyrophosphate vô cơ (PPi) đã thể hiện ảnh hưởng tới sự bạc bụng của hạt gạo và cũng ảnh hưởng tới tỷ lệ gạo nguyên. Shen và ctv (1997) cho rằng nhiệt độ gây nên hiện tượng bạc bụng.

Một số nghiên cứu khác thì cho rằng cho rằng sự bạc bụng là do dinh dưỡng cây trồng (Mingli và Yonggui (2002); Sun và ctv., 2014). Ngược lại, Yamakawa và ctv (2007) cho rằng sự bạc bụng là do bản chất di truyền của giống. Tuy nhiên, Ishimaru và ctv (2009) đã báo cáo rằng sự căng thẳng do nhiệt độ cao trong thời

gian hạt chín là nguyên nhân gây nên sự đóng gói lỏng lẻo của các lap thể tạo tinh bột.

Zhou và ctv. (2009) đã báo cáo rằng sự bạc bụng có quan hệ tới nguồn và sức chứa của cây lúa, động thái vào chắc của hạt, sự tổng hợp và sự tích lũy của tinh bột trong nội nhũ và như vậy, tính trạng bạc bụng được quy định bởi tính trạng số lượng rất phức tạp. Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các gene này được định vị ổn định trên một số locus của nhiều nhiễm sắc thể và kiểm soát sự tổng hợp tinh bột, sự biến dưỡng tinh bột và sự phát triển hạt lúa. Tuy nhiên, hệ thống điều khiển và cơ chế hình thành sự bạc bụng vẫn còn chưa được làm rõ.

Độ bạc bụng ảnh hưởng rất sớm đến các thể hệ phân ly nên cần phải đánh giá và chọn lọc sớm trong quá trình chọn giống. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tích lũy chất khô của hạt trong giai đoạn vào chắc; mẫu hạt cũng ảnh hưởng đến quá trình hình thành cấu trúc tinh bột trong hạt gạo và như vậy cũng là nguyên nhân gây ra bạc bụng. Ngoài ra khi phơi lúa làm giảm độ ẩm từ từ hạt gạo sẽ trong hơn là làm giảm ẩm độ đột ngột (Bùi Chí Bửu và ctv, 1996).

Hiện tượng bạc bụng không xảy ra ở tất cả các giống lúa. Tuy nhiên, khi thời tiết ẩm lên hoặc nhiệt độ biến đổi trong quá trình hạt phát triển thì hiện tượng bạc bụng xảy ra ở mọi giống lúa được nghiên cứu. Việc hạn chế sự bạc bụng của gạo đóng vai trò rất quan trọng với các nước sản xuất gạo. Ôxtrâyliia đang cố gắng hướng tới sản xuất gạo có giá trị cao trong một số thị trường riêng nên đã đầu tư mạnh để loại bỏ các hạt gạo bạc bụng trong mẫu giới thiệu hàng. Một số nước khác như Nhật Bản, Thái Lan và Campuchia cũng có báo cáo tỷ lệ gạo bạc bụng cao hơn trong vài năm qua.

Vào năm 2010, các thử nghiệm đồng ruộng ở tám quốc gia khác nhau với các điều kiện gieo trồng khác nhau được thực hiện. Kết quả các thử nghiệm này cho thấy có ba nhóm cây lúa: nhóm cây lúa luôn có tỷ lệ bạc bụng rất cao, nhóm cây lúa

có độ bạc bụng biến đổi tùy theo điều kiện môi trường và nhóm cây lúa rất ít bạc bụng.

Theo Fitzgerald (2011), nhóm cây lúa rất ít bạc bụng cần được quan tâm phân tích thêm. Từ đây, các nhà khoa học có thể nhận ra những vùng chính yếu trong hệ gen cây lúa, hoặc gen dự tuyển có liên quan đến độ bạc bụng. Những nghiên cứu về vùng gen này giúp những nhà khoa học ở IRRI có một bước tiến xa hơn trong việc nghiên cứu nhận ra gen thật sự qui định tính trạng bạc bụng.

1.2. Phương pháp lai hồi giao trong chọn tạo giống lúa

1.2.1. Một số khái niệm trong phương pháp lai hồi giao

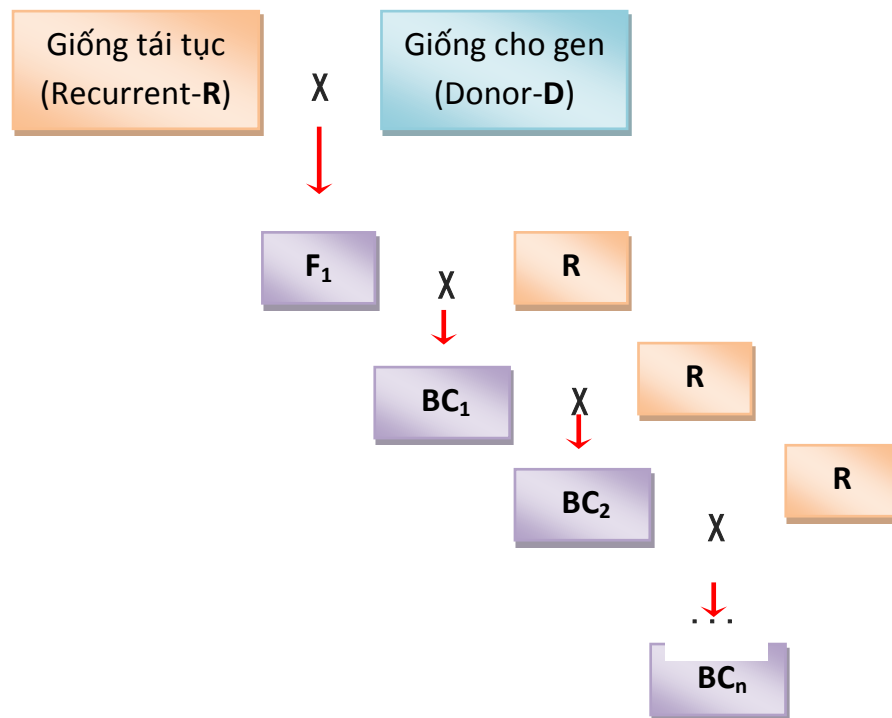
Lai hồi giao là phương pháp thường được sử dụng phổ biến nhất để chuyển một gen hoặc một tính trạng mong muốn nào đó vào một giống để chuyển nó thành giống ưu tú hơn. Con lai F_1 sau khi được tạo ra sẽ lai lại nhiều lần với bố hoặc mẹ gọi là phép lai hồi giao.

Phương pháp lai hồi giao được khởi xướng bởi Harlan và Pope vào năm 1922. Sau đó, nó được sử dụng rộng rãi trong việc chọn tạo giống cây trồng ở nhiều loài cây khác nhau (Stoskopf và ctv., 1993). Phương pháp này được thực hiện trong trường hợp muốn du nhập một gene mục tiêu quan trọng nào đó từ nguồn vật liệu cho (là giống cây bản địa, loài hoang dại có quan hệ gần gũi) vào giống cây trồng (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2007; Bao và ctv., 2002)

Tổ hợp lai bao gồm nguồn vật liệu cho (donor) thường được sử dụng làm bố và nguồn giống cây trồng có nhiều tính trạng ưu việt, chỉ thiếu một vài gene điều khiển tính trạng mục tiêu thường được sử dụng làm mẹ; thuật ngữ chuyên môn gọi là giống tái tục (recurrent).

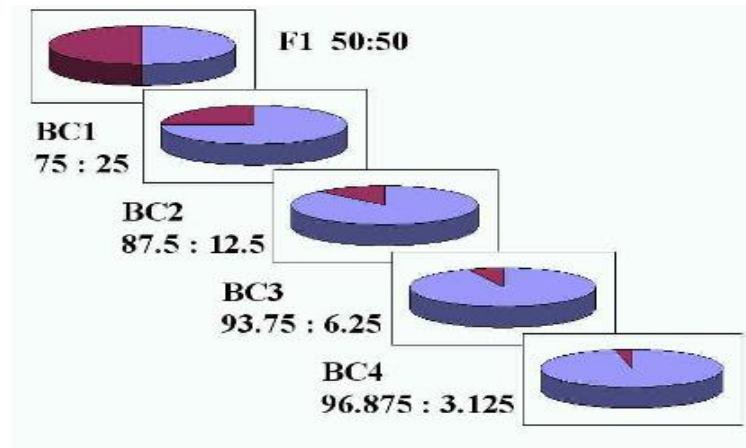
Theo Allard (1960) and Reyes (2000) thì kiểu gen của con lai có thể giống với cây tái tục khoảng 99,2% sau 6 lần hồi giao. Tuy nhiên, các con lai ở thế hệ BC_2 và BC_3 (BackCrosses) có sự chênh lệch về kiểu gen với nhau trong suốt quá trình lai, giúp các nhà chọn giống có cơ hội chọn được những dòng mong muốn. Trong hầu

hết các trường hợp, giống tái tục được sử dụng trong lai hồi giao có phần lớn các tính trạng mong muốn nhưng chỉ thiếu một vài tính trạng nào đó (Hasan và ctv., 2015). Bên cạnh đó, các nhà nghiên cứu cũng cho rằng có 3 yếu tố chính quyết định đến sự thành công của một chương trình chọn giống hồi giao là chọn lựa giống làm giống tái tục, phương pháp hiệu quả để chọn lọc các tính trạng mục tiêu và số lần lai hồi giao (Acquaah, 2007).



Hình 1.4: Sơ đồ phương pháp lai hồi giao

Mặc dù vậy, phép lai hồi giao vẫn có một số hạn chế như lai hồi giao không có hiệu quả trong việc lai để cải thiện những tính trạng số lượng do những tính trạng này có hệ số di truyền cao. Ngoài ra, sự xuất hiện của những liên kết không mong muốn có thể ngăn cản sự cải thiện giống (Acquaah, 2012). Hơn nữa khả năng xảy ra tái tổ hợp không mong muốn đối với những tổ hợp lai mà cha mẹ xa nhau về khoảng cách di truyền là rất cao khi lai giữa nhóm hoang dại với nhóm trồng hoặc giữa nhóm *indica* và *japonica* (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2007).



Hình 1.5: Giá trị trung bình của gen phục hồi qua từng thế hệ lai giao

1.2.2. Ưu điểm của phương pháp lai hồi giao

Về mặt di truyền, phương pháp lai hồi giao tạo ra sự kiểm soát di truyền tối đa trong quá trình cải tiến giống cây trồng. Không có một phương pháp chọn giống nào mà nhà chọn giống có thể dự đoán trước kiến tạo di truyền của dòng cây trồng mới. Nhà chọn giống cũng có thể lặp lại tiến trình lai hồi giao nếu cần thiết để một lần nữa phát triển giống tái tục.

Giống được phát triển bằng phương pháp lai hồi giao không cần trải nghiệm ngoài đồng trên diện rộng. Việc đánh giá chủ yếu dựa vào tính trạng mục tiêu của giống cho có kết hợp được trong giống tái tục hay không.

Phương pháp lai hồi giao không bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường trong sự thể hiện tính trạng. Nó có thể được thể hiện để tạo ra quần thể trong mùa nghịch hoặc bất cứ ở địa điểm nào. Hệ số di truyền của tính trạng mục tiêu không quá quan trọng đặc biệt khi việc chọn lọc tính trạng của giống tái tục chưa thật sự hoàn chỉnh.

Phương pháp này cho chúng ta giải pháp lý tưởng để sử dụng những nguồn gen chưa được thích nghi, chưa có tính chất cải tiến những nguồn gen tiềm ẩn kháng stress, gen cho chất lượng nông sản tốt, hoặc năng suất cao.

1.2.3. Nhược điểm của phương pháp lai hồi giao

Nhìn chung, phương pháp lai hồi giao được xem như một phương pháp có tính chất bảo thủ về mặt di truyền, vì nó không tạo ra một năng suất đột phá mới. Nó mất nhiều thời gian từ (6-7 năm) để gắn thêm một hoặc một vài tính trạng có lợi cho giống cây trồng.

Vì khuyết điểm này, người ta đã cố gắng tìm kiếm một phương pháp mới để khắc phục yếu điểm thời gian, nhờ chỉ thị phân tử. Những phát triển trong nghiên cứu chỉ thị phân tử gần đây đã mở rộng hướng sử dụng nguồn gen từ loài hoang dại để cải tiến giống cây trồng. Một phối hợp đặc biệt của hồi giao nhờ bản đồ QTL đối với các gen điều khiển tính trạng số lượng đã được công bố với thuật ngữ chuyên môn là “Advanced Backcross QTL Analysis” (phân tích QTL trên quần thể hồi giao cải tiến) đã được ứng dụng trên cà chua, nhằm chuyển tính trạng số lượng “tổng chất rắn hòa tan” (total soluble solids) vào giống cà chua thương phẩm (Tanksley và Nelson, 1996). Đây là phương pháp có một tiềm năng lớn để bổ sung cho phương pháp chọn tạo giống thông thường khác và được kỳ vọng là một trong những phương pháp có tính chất tiếp cận với những phương pháp hiện đại trong thời điểm hiện nay.

1.3. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa

Phương pháp lai hồi giao là kỹ thuật được sử dụng rộng rãi trong chọn tạo giống lúa để chuyển gen mục tiêu từ cây cho sang cây nhận. Mục đích chính của phương pháp này là giảm số lượng gen của cây cho trong con lai (Xi và ctv., 2008). Các nước Nam Á và Đông Nam Á đã ứng dụng thành công phương pháp tạo giống này để cải tiến khả năng kháng đạo ôn của các giống lúa như KDML105, Basmati và Manawthukha (Joseph và ctv., 2004; Toojinda và ctv., 2005). Cùng thời gian đó, phương pháp tiếp cận hồi giao mới cũng được thiết lập bằng việc ứng dụng dấu phân tử. Sự kết hợp này đã tạo ra nhiều thuận lợi hơn trong việc lai tạo giống và báo cáo đầu tiên trên cây lúa bởi Chen và ctv (2000).

1.3.1. Sơ lược về phương pháp chọn lọc bằng chỉ thị phân tử

Việc sử dụng các chỉ thị phân tử ADN cho mục tiêu chọn lọc trong các chương trình chọn giống được đề cập đầu tiên bởi Sorensen và Robertson (1961). Với sự phát triển của công nghệ sinh học thì việc chọn giống cây trồng cũng đã có cuộc cách mạng lớn, hầu hết các phương pháp chọn lọc không thể thực hiện được bằng việc dựa trên kiểu hình thì có thể sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết với các gen quy định tính trạng đó. Chọn lọc bằng chỉ thị phân tử có lợi thế rất lớn vì nhiều đặc tính cây trồng không thể đánh giá được ở điều kiện ngoài đồng (Giora và Lavi, 2012). Bên cạnh đó, việc chọn lọc bằng chỉ thị phân tử có thể thực hiện ở giai đoạn sớm (khi cây còn nhỏ), giúp rút ngắn thời gian chọn lọc, công sức và chi phí thực hiện. Tuy nhiên, ở một vài tính trạng thì việc chọn lọc kiểu hình sẽ hiệu quả và tiết kiệm chi phí hơn là sử dụng chỉ thị phân tử. Các nhà chọn giống đặc biệt quan tâm đến các tính trạng quan trọng như chống chịu với điều kiện bất lợi từ môi trường cũng như các tính trạng nông học.

Có gần 100 gen chức năng và tính đa hình đã được xác định dưới điều kiện tự nhiên ở mức độ sinh lý và phát triển của cây. Ở nhiều loài cây trồng, các gen này quy định cho một số tính trạng như thời gian nảy mầm và ra hoa, kiểu hình và cấu trúc của hạt và trái, cũng như các tính trạng năng suất và chất lượng (Blanco và ctv., 2009). Chín gen tác động quy định đến sự khác nhau trong thời gian ra hoa của cây *Arabidopsis* đã được phân lập và một số có ảnh hưởng chính như *FRI*, *FRL1*, *FRL2* và *FLC*. Ngược lại, sự phân tích thời gian ra hoa ở cây bắp không cho thấy có QTL ảnh hưởng chính đến tính trạng này. Thay vào đó, các QTL chỉ có ảnh hưởng nhỏ đã được nhận định bởi Buckler và ctv (2009). Bên cạnh đó, Blanco và ctv (2003) cũng cho thấy rằng *DOG1* cảm ứng cho sự nảy mầm của hạt và biểu hiện trong suốt quá trình phát triển của hạt.

1.3.2. Một số thành tựu của chỉ thị SSR trong chọn giống lúa

SSR (Simple Sequence Repeat): Sự lặp lại trình tự đơn giản, là những trình tự đặc biệt của ADN mà có chứa sự lặp lại nối tiếp từ 2-6 base. Các đoạn ADN này

sau đó được tách ra trên gel polyacrylamide hoặc agarose và hiển thị nhờ phản ứng nhuộm Bạc (Ag) hoặc Ethydium Bromide sau đó chụp hình bằng tia UV. Chiều dài các đoạn ADN trên điện di khoảng 100-200bp. Các đoạn mồi (primer) được thiết kế cho phản ứng PCR dựa trên chuỗi mã ở hai đầu của các “vệ tinh”. Thẻ đa hình chiều dài các chuỗi mã đơn giản lặp lại (SSLPs) được xác định dựa trên sự khác biệt về số lượng các đơn vị lặp lại tại vị trí mà chỉ thị đo định vị (Jacob và ctv., 1991; Jennings và ctv., 1979; McCouch và ctv., 1997) và cung cấp một nguồn đánh dấu sự khác biệt ngay trên vật chất di truyền.

Chỉ thị SSR rất phong phú và phân bố rộng trong genome cây lúa vì thế chúng được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền giữa các giống (McCouch và ctv., 1997; Nguyễn Thị Lang và ctv., 2001; Nguyễn Thị Lang và ctv., 2002).

Bản đồ di truyền SSR trên genome cây lúa được thiết kế với các SSR marker được viết tắt là RM (Rice Microsatellite) ở Mỹ và OSR ở Nhật. Sự phong phú về số lượng các chỉ thị SSR với các trình tự lặp lại phát triển trên những phần mã hoá và không mã hoá của genome cây lúa (Wu và Tanksley, 1993; Panaud và ctv., 1995, 1996; Akagi và ctv., 1996; Chen và ctv., 1997; Temnykh và ctv., 2000) giúp cho việc khảo sát sự hiện diện và khác biệt các chuỗi mã đơn giản lặp lại trên toàn bộ genome ngày càng hoàn hảo. Cho và ctv (2000) xác định tỉ lệ đa hình tìm thấy nhờ các marker từ genome cao hơn rất nhiều các chỉ thị từ ESTs (83,8% so với 54,0%). Về các trình tự lặp lại, mức độ đa dạng di truyền cao nhất tìm thấy ở chỉ thị khuếch đại chuỗi mã GA trong khi hầu hết các chỉ thị khuếch đại chuỗi mã CCG hoặc CAG không tìm thấy sự khác biệt. Ở lúa đã phát hiện các nhóm GA, GT, CAT, CTT (Liu, 2005).

Nguyễn Thị Lang (2001a) đã thiết lập bản đồ di truyền cho gen kháng mặn trên cây lúa bằng SSR marker trên các quần thể con lai BC_2F_2 của nhiều tổ hợp lai khác nhau. Đối với quần thể con lai giữa IR64/Chenghui bản đồ được thiết lập với 34 SSR marker có tổng chiều dài là 148,6 cM phủ trên 3 nhiễm sắc thể số 1, 8, 9. Quần thể con lai giữa IR64/OM1706 có 35 SSR marker được sử dụng để xây bản

đồ, có tổng chiều dài 50,5 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 1 với 8 marker. Có 47 marker được sử dụng trong phân tích quần thể con lai của tổ hợp IR64/FR13A, các marker này có tổng chiều dài 191,6 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 1 và 109,3 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 11. Quần thể con lai của tổ hợp Tequing/OM1706 sử dụng 28 chỉ thị SSR với tổng chiều dài 95,4 cM phủ trên nhiễm sắc thể số 6.

Cũng với chỉ thị vi vệ tinh, bản đồ gen mùi thơm được xây dựng nhờ marker RG28F-R liên kết trên nhiễm sắc thể số 8 thông qua phân tích BC_1F_1 , F_1 , F_2 , BC_1F_2 các tổ hợp lai IR/64/Jasmine, IR64/DS20 (Akagi và ctv., 1996; Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2002; Nguyễn Thị Lang và ctv., 2004).

1.4. Chọn tạo giống bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với chỉ thị phân tử

Phương pháp lai hồi giao có sự hỗ trợ của dấu phân tử (Marker – Assisted Backcross Method – MABC) là một trong những phương pháp chính xác và hiệu quả để bảo tồn các đặc tính quan trọng của giống bố mẹ. Trong phương pháp này, một dấu phân tử được sử dụng dựa trên đặc tính hình thái, sinh hóa hoặc dựa trên sự biến đổi của ADN/ARN để gián tiếp chọn lọc những kiểu gen hoặc những tính trạng mà nhà chọn giống quan tâm (ví dụ như tính kháng bệnh, khả năng chịu đựng với những điều kiện bất lợi của môi trường...). Nguyên tắc của MABC là tích hợp gen mục tiêu đã xác định được vị trí trên nhiễm sắc thể từ giống cho khi lai lại với bố mẹ. Có ba yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của MABC là: số lượng cá thể của quần thể hồi giao, khoảng cách của dấu phân tử với mục tiêu và số lượng dấu phân tử được sử dụng trong quá trình chọn lọc (Neelam và ctv., 2016). MABC giúp các nhà chọn giống xác định được chính xác sự hiện diện của gen mục tiêu trên các dòng hồi giao (Mohammad và ctv., 2015). Điều này sẽ giúp cải thiện giống lúa, giúp các giống này có thể chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường như lũ lụt hay kháng được với sâu bệnh. Như vậy, MABC nên được sử dụng để cải thiện chất lượng và gia tăng năng suất lúa (Neelam và ctv., 2016).

1.4.1. Các giả thuyết mô hình MAS

Trong những năm gần đây, một vài mô hình MAS đã được các nhà khoa học đưa ra và được phân tích cẩn kẽ. Theo một số mô hình, chỉ cần tiến hành lai trở lại qua 4 thế hệ, chứ không cần đến 6 thế hệ, ngay cả khi quần thể chọn lọc có kích thước nhỏ và các dữ liệu về chỉ thị phân tử bị hạn chế. Hơn thế nữa, Frisch (1999) đã đưa ra chiến lược “chọn lọc hai giai đoạn” để áp dụng trong trường hợp chưa biết các thông tin về bản đồ liên kết của các chỉ thị phân tử.

Theo Robert Koebner (2003) những tính toán dựa trên cơ sở máy tính để so sánh các chiến lược chọn lọc 2 bước, 3 bước và 4 bước (stage) về tỷ lệ kiểu gen bố mẹ phục hồi (recurrent parent genotype-RPG) cho thấy: Với chiến lược lấy mẫu 4 bước và quần thể từ 50-100 cá thể, tỷ lệ kiểu gen giống bố mẹ (RPG) có thể đạt 96% với độ tin cậy 90%. Trong khi chọn giống truyền thống phải cần tới 6 thế hệ và với rủi ro lớn hơn.

Việc tăng số lượng chỉ thị để đánh giá kiểu gen ở mỗi thế hệ có rất ít tác dụng. Khi ngưỡng 1 chỉ thị/20 cM đạt được, việc thêm chỉ thị nữa là không cần thiết (ngoại trừ các chỉ thị xung quanh locus quan tâm). Điều đó cho thấy, việc lấy mẫu quần thể lớn hơn với ít chỉ thị hơn có tác dụng hơn việc làm ngược lại. Collard và Mackill (1998) đưa ra khái niệm chọn lọc giống lúa dựa trên chỉ thị phân tử (Marker assisted selection - MAS) là sử dụng chỉ thị ADN liên kết chặt với locus mục tiêu để thay cho chọn lọc đánh giá kiểu hình với giả định chỉ thị ADN (ADN markers) có thể dự đoán kiểu hình một cách đáng tin cậy.

Theo Mackill và ctv (2006) MAS ứng dụng trong chọn tạo giống lúa có những ưu điểm nổi bật là: đặc biệt với những tính trạng khó đánh giá thanh lọc dựa trên kiểu hình; tiết kiệm thời gian và nguồn lực trong quá trình chọn lọc; rất quan trọng với một số tính trạng như chất lượng hạt; có thể chọn lọc sớm, trước khi gieo trồng, có thể chọn ngay ở thế hệ phân ly F_2 hoặc F_3 ; không bị ảnh hưởng của môi trường; và có thể phân biệt giữa đồng hợp và dị hợp và chọn lọc từng cây.

Chọn tạo giống lúa ứng dụng chỉ thị phân tử gồm đánh giá nguồn vật liệu di truyền trước khi thực hiện một chương trình chọn giống.

Trong một số trường hợp thuận lợi, đôi khi các nhà chọn giống chỉ cần lai trở lại 3 thế hệ là có thể đạt được mục tiêu của mình.

1.4.2. Điều kiện để ứng dụng MAS

Theo Francia (2005) sự thành công của hệ thống chọn giống nhờ MAS phụ thuộc vào các yếu tố: bản đồ di truyền với một số lượng hợp lý các chỉ thị đa hình tại các vùng tương đồng để định vị chính xác QTLs hay gen quan tâm; mối liên kết chặt giữa chỉ thị và các gen kháng hay các QTLs; sự tái tổ hợp thích hợp giữa các chỉ thị và phần còn lại của bộ gen; khả năng đánh giá một số lượng lớn cá thể trong một thời gian và giá thành hiệu quả. Có 2 kiểu chỉ thị có thể ứng dụng trong MAS: (1) chỉ thị phân tử được định vị ngay trong phạm vi gen quan tâm. Đây là trường hợp lý tưởng nhất cho MAS, nhưng rất khó tìm thấy loại chỉ thị này; (2) nhóm chỉ thị có khuynh hướng di truyền cùng với gen quan tâm. Mối quan hệ này tìm thấy khi gen và chỉ thị có khoảng cách vật lý gần nhau. Chọn lọc dựa trên chỉ thị này gọi là LD-MAS (linkage disequilibrium -MAS).

Như vậy, chỉ thị phân tử làm tăng thêm hiệu quả sàng lọc trong các chương trình chọn giống với các ưu điểm sau: khả năng chọn lọc ngay từ giai đoạn cây con đang nảy mầm trong khi nhiều dấu hiệu chỉ có thể sàng lọc khi chúng được biểu hiện ở những giai đoạn muộn hơn trong quá trình sống nếu chỉ sử dụng phương pháp chọn giống cổ điển (ví dụ: chất lượng quả và hạt, tính bất dục đực, khả năng phản ứng chu kỳ quang); khả năng sàng lọc những dấu hiệu mà việc đánh giá các đặc tính này khó khăn, đắt tiền, tốn thời gian (ví dụ như hình thái rễ, tính kháng nhiễm đối với các dịch hại hoặc đối với những nòi, những bệnh đặc hiệu, hay tính kháng những điều kiện gây sốc sinh học như hạn, mặn, thiếu muối, các chất độc); khả năng phân biệt trạng thái đồng hợp tử hay dị hợp tử của nhiều vị trí trong cùng một thế hệ mà không cần kiểm tra thế hệ sau; khả năng chọn lọc đồng thời vài đặc tính trong cùng một thời gian, do vậy mà có thể đưa vào cùng lúc vài gen có giá trị về mặt

nông học, ví dụ đưa vào cùng một lúc nhiều gen kháng dịch hại khác nhau. Trong trường hợp này, các phương pháp sàng lọc kiểu hình các cá thể thông qua sự lây nhiễm (đồng thời hoặc thậm chí lần lượt từng thể gây bệnh hay từng côn trùng gây hại) rất khó đạt được kết quả. Nhưng nếu áp dụng công nghệ chỉ thị phân tử có thể kiểm tra sự có mặt hay vắng mặt của từng alen kháng (hay nhiễm) khác nhau ở từng cá thể riêng biệt.

Bảng 1.1: Sự tương quan giữa số thế hệ BC_nF_1 với tỷ lệ kiểu gen của dòng triển vọng (nhận gen mong muốn) được đưa vào con lai BC_nF_1

Số thế hệ backcross (n)	Tỷ lệ kiểu gen của dòng nhận gen
1	0,750
2	0,875
3	0,938
4	0,969
5	0,984
6	0,992

Gần đây, với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ chọn giống nhờ chỉ thị phân tử, các nhà khoa học đã đưa ra một phương pháp chọn giống phân tử mới, đó là “Chọn giống hồi giao nhờ chỉ thị phân tử (Marker-Assisted Backcrossing, MABC). MABC là phương pháp thiết thực, hiệu quả trong việc đưa locus gen quy định tính trạng di truyền số lượng (QTL) hay gen mong muốn vào giống ưu tú nhằm chọn tạo giống mới mang gen/QTL mong muốn nhưng vẫn giữ nguyên (gần 100%) nền gen di truyền của giống ưu tú với thời gian chọn giống rất ngắn: quy trình chọn giống kết thúc ở thế hệ BC_3 , thậm chí BC_2 .

Nguyên lý của phương pháp MABC là chuyển một QTL/gen từ dòng cho gen vào dòng nhận gen trong khi chọn lọc sự hội nhập của dòng cho thông qua phần

còn lại của hệ gen (Septiningsih và ctv., 2009; Thomson và ctv., 2010; Singh và ctv., 2011). Việc sử dụng các chỉ thị phân tử cho phép khảo sát di truyền của con lai ở mỗi thế hệ, đẩy nhanh tốc độ của quá trình chọn lọc, vì thế tăng cường nền di truyền qua mỗi thế hệ.

Ưu điểm chính của phương pháp MABC là: (1) Chọn lọc bằng chỉ thị phân tử đối với locus gen đích; (2) Chọn lọc nền di truyền đối với hệ gen cây bố mẹ tái tổ hợp; (3) Tiến gần đến locus quan tâm trên bản đồ liên kết; (4) Chọn giống ngẫu nhiên kiểu gen mới với một số tính trạng quan tâm. Hiệu quả của các sản phẩm MABC sẽ được thể hiện trên đồng ruộng (Sarkar và ctv., 2009; Singh và ctv., 2011). Ngoài ra, thông qua phương pháp này, tốc độ của quá trình chọn lọc được đẩy nhanh lên gấp đôi, thậm chí gấp ba (chỉ cần đến thế hệ BC₂ hoặc BC₃ là đạt kết quả tương đương với BC₆ theo phương pháp thông thường).

Chọn giống hồi giao nhờ chỉ thị phân tử còn giúp khắc phục được những trở ngại mà công tác chọn giống truyền thống rất khó giải quyết nhờ loại bỏ được các tác động gây nhiễu do các tương tác trong cùng một alen hay giữa các alen gây ra. Những tương tác này thường không thể phát hiện được bằng cách phân tích kiểu hình. Phương pháp này còn đặc biệt hiệu quả trong trường hợp cần đưa nhiều gen khác nhau vào một nền gen ưu việt.

1.4.3. Một số nghiên cứu chọn tạo giống lúa thông qua MAS

Đối với các tính kháng sinh học: bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với chỉ thị phân tử đã giúp tạo ra 2 dòng lúa Pusa1602 và Pusa1603 có khả năng kháng bệnh đạo ôn bằng việc chuyển gen *Piz-5* và *Piz-54* từ dòng C101A51 và Tetep vào giống PRR78 (là giống nhiễm đạo ôn) (Singh và ctv., 2012). Qua phân tích bộ gen cho thấy bộ gen của Pusa1602 và Pusa1603 giống với cây tái tục lần lượt là 89,01 và 87,88%. Không chỉ có bệnh đạo ôn mà các nhà nghiên cứu còn xác định được gen kháng bệnh cháy bìa lá vi khuẩn là *Xa23* từ loài *O. Rufipogon* và đưa các giống lúa khác thông qua lai hồi giao. Các con lai được chọn lọc bằng cách sử dụng dấu phân tử SSR (RM206) (Pan và ctv., 2003). Hơn thế nữa, ba gen kháng bệnh cháy

bìa lá vi khuẩn từ 2 giống lúa NSIC Rc142 và NSIC Rc154 cũng được đưa vào giống lúa IR64 (Toenniessen và ctv., 2003). Đối với khả năng kháng rầy nâu, gen kháng *bph3* được chuyển từ giống cho Rathu Heenati vào giống lúa Khao Daw Mali 105 (là giống nổi tiếng nhất tại Thái Lan) (Jairin và ctv., 2009). Trong nghiên cứu này, các con lai BC₃F₂ được chọn lọc bằng 2 dấu phân tử SSR là RM589 và RM190 là 2 mối liên kết chặt với *bph3* và *Wx-RH*. Ngay cả 2 giống lúa thuộc 2 nhóm khác nhau như *japonica* và *indica* cũng có thể thực hiện được như chuyển gen kháng rầy *bhp18* từ giống IR65482-7-216-1-2 (nhóm *indica*) cho các giống *japonica* (Suh và ctv., 2011).

Đối với các tính kháng phi sinh học: ở Việt Nam, *Saltol* QTL có được từ giống có khả năng chịu mặn cao FL478 đã được đưa vào các giống lúa cao sản thông qua phương pháp lai hồi giao kết hợp dấu phân tử (Huyen *et al.*, 2012). Các thế hệ con lai được chọn lọc nhờ vào các mối liên kết với gen kháng mặn như AP3206, RM3412 và RM10793,... Con lai của giống lúa Bacthom 7 được nhận *Saltol* QTL từ giống FL478 sau khi hồi giao 3 thế hệ và có bộ gen tương đồng với giống tái tục Bacthom 7 trên 96% (Vu và ctv., 2012). Hasan *et al.* (2015) nhận định rằng có thể phát triển các giống lúa có khả năng chống chịu mặn cho vùng ven biển Đồng bằng sông Cửu Long bằng phương pháp lai hồi giao kết hợp với dấu phân tử.

Đối với các đặc tính nông học, phẩm chất: Bên cạnh đó, các tính trạng về phẩm chất gạo nấu cũng được chú trọng đến. Việc sử dụng các dấu phân tử để xác định gen mã hóa cho mùi thơm của giống lúa Basmati được nghiên cứu đầu tiên bởi (Ahn và ctv., 1992). Bằng việc sử dụng dấu phân tử này có thể nhận biết các giống lúa có mùi thơm và giống không có mùi thơm. Sự kết hợp giữa hồi giao và dấu phân tử cũng được các nhà khoa học cho là công cụ hữu hiệu để cải tiến tính trạng mùi thơm của các giống lúa. Giống Pusa Basmati 1 và các dòng khác của giống PRR78 đã được cải tiến bằng việc chuyển tính trạng mùi thơm từ giống Basmati 370 vào giống PRR78 (Yi và ctv., 2009; Singh và ctv., 2011; Begum và ctv., 2015).

1.5. Ứng dụng công nghệ sinh học trong nghiên cứu di truyền của tính trạng bạc bụng

Cho đến nay sự khác biệt về độ bạc bụng của các giống lúa khác nhau vẫn chưa được hiểu rõ ở mức độ phân tử. Vì vậy, cần phải nghiên cứu về cơ chế hóa sinh của tính trạng bạc bụng bằng sự hỗ trợ của công nghệ sinh học thông qua lập bản đồ QTL để xác định các gen liên kết trên các nhiễm sắc thể khác nhau. Sử dụng các quần thể được lập bản đồ gen khác nhau, nhiều vị trí gen kiểm soát tính trạng số lượng (QTL) được tìm ra (Koh và ctv., 1999; He và ctv., 1999; Tan và ctv., 2000; Li và ctv., 2004; Li, 2001; Wan và ctv., 2005; Huang, 2006; Peng và ctv., 2014; Gao và ctv., 2016; Zhu và ctv., 2018).

Để làm sáng tỏ cơ chế phân tử đối với sự bạc bụng hạt, các nhà khoa học ở Nhật Bản đã thực hiện phân tích tổng số các mRNAs và chứng minh các gen đáp ứng với nhiệt độ cao. Trong số các gen nghiên cứu, sự biểu hiện của các gen tổng hợp tinh bột và protein dự trữ đã giảm bởi nhiệt độ cao, trong khi các gen đáp ứng tiêu thụ tinh bột và sốc nhiệt đã gia tăng biểu hiện (Yamakawa và ctv., 2007). Theo Yamakawa và ctv. (2008), việc lập bản đồ gen kiểm soát tính trạng số lượng (QTL) là một phương pháp hiệu quả chứng minh các gen ứng cử viên kiểm soát mức độ bạc bụng của hạt gạo. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các QTL điều khiển chất lượng hình dạng bên ngoài của hạt gạo. Tabata và ctv (2007) và Kobayashi và ctv (2007) đã xác định các QTL đối với các hạt gạo có lưng trắng và hạt gạo trắng ở trung tâm dưới nhiệt độ cao khi chín, sử dụng quần thể thu được từ các cặp lai giữa hai giống japonica. Đồng thời, He và ctv (1999) và Wan và ctv (2005) đã lập bản đồ QTLs đối với các hạt gạo có lưng trắng và hạt trắng ở trung tâm từ các cặp lai giữa japonica và indica dưới các điều kiện nhiệt độ chung quanh. Ngoài ra, một quần thể lai khác loài thu được từ lúa *Oryza sativa* và lúa Châu Phi (*O. glaberrima* Steud.) cũng đã được dùng để chứng minh QTL đối với sự bạc bụng hạt (Li và ctv., 2004).

Yamakawa và ctv (2008) đã ly trích các cặp gen liên quan tới hạt vào chắc và QTLs hạt bạc bụng. Dựa vào sự biểu hiện gen đối với điều kiện nhiệt độ cao và điều kiện QTLs được xác định, các sự kết hợp được phân chia thành bốn nhóm: 1) các gen đáp ứng nhiệt độ cao và các QTLs được xác định dưới nhiệt độ cao, 2) các gen đáp ứng nhiệt độ cao và các QTLs xác định dưới các nhiệt độ xung quanh, 3) các gen không đáp ứng với nhiệt độ và các QTLs xác định dưới nhiệt độ cao và 4) các gen không đáp ứng với nhiệt độ và các QTLs dưới các nhiệt độ chung quanh, mặc dù không có cặp các gen không đáp ứng và các QTLs xác định dưới nhiệt độ cao (nhóm 3) đã được chứng minh.

Đối với sự kết hợp của các gen đáp ứng với nhiệt độ cao và các QTLs xác định dưới các nhiệt độ cao (nhóm 1), *GBSSI*-qWBHT6 (chỉ sự kết hợp gen và QTL) và *susy2*-qGH6 đã được xác định. Sự kết hợp này thể hiện sự hiện hữu của các gen với các alen thể hiện sự nhạy cảm khác nhau đối với stress do nhiệt độ cao. Hai QTLs đã đặt tên thử qWBHT6 và qWC6, đã được cùng lập bản đồ với gen *GBSSI* (*waxy*) có vị trí trên nhiễm sắc thể số 6, và ba QTLs thêm vào qCH6, qWB6, và qGH6, đã được công bố nằm ở vùng lân cận của vị trí gen. Một đột biến gen *GBSSI* đã được biết dẫn đến tinh bột nội nhũ biểu hiện bạc bụng. Nghiên cứu sự biểu hiện gen trước đây với một giống lúa *japonica* tên là Nipponbare đã cho thấy sự biểu hiện của gene *GBSSI* và đã giảm hàm lượng amylose ở nhiệt độ cao (Yamakawa và ctv., 2007). Sự phiên mã và số lượng protein của gen *GBSSI* thì nhạy cảm với nhiệt độ cao đối với alen *Wx-b* của *japonica*, nhưng đối với alen *Wx-a* của *indica* thì không (Hirano và Sano, 1998; Hirano và Sano, 2000). Ngoài ra, biểu hiện bạc bụng đã giảm bớt một phần bởi sự du nhập alen từ một giống *indica* ưu tú (Zhou và ctv., 2003). Vì vậy, gen *GBSSI* có thể là gen ứng cử viên chủ yếu của biểu hiện bạc bụng dưới nhiệt độ cao. Tuy nhiên, chúng ta không thể loại trừ sự liên quan có thể xảy ra của các gen quan hệ đến việc tổng hợp tinh bột khác liên kết chặt với gen *GBSSI* (*SSI*, *SuSy2*, and *SSIIa*) đối với ba QTL bên cạnh: qCH6, qWB6 và qGH6.

Trên nhiễm sắc thể số 1, 2 và 3, QTLs gần với nhau tương ứng trên vai ngắn và vai dài; trong số năm QTLs này, qWK1-1, qWK1-2, và qWBHT1 đã được xác

định dưới nhiệt độ cao; tuy nhiên, không có các gen đáp ứng với nhiệt độ cao có thể được xác định gần các nhóm này trong nghiên cứu của Yamakawa và ctv (2008).

Đối với sự kết hợp của các gen đáp ứng với nhiệt độ cao và QTLs xác định dưới nhiệt độ xung quanh (nhóm 2), các cặp *BT1-2-qBW2*, *BEI1b-qIK2*, *Pro7-qAPG5-1* và *qWC5*, *PPDKB-qAPG5-2*, *Amy3E* và *Amy3D-qPGWC-8*, *AGPSI-qPGWC-9* và *GSTZ2-wc12.1* được xác định. Bởi vì kiểu hình bạc bụng trên hạt nói chung thường xuất hiện nhiều hơn dưới điều kiện nhiệt độ cao, các QTLs xác định dưới nhiệt độ xung quanh hiển nhiên cũng có tiềm năng hạt bạc bụng dưới các điều kiện nhiệt độ cao. Trong nghiên cứu này, gen đáp ứng điều kiện nhiệt độ cao có thể là một ứng cử viên đối với QTL.

Trên nhiễm sắc thể số 8, hai gen α -amylase đáp ứng nhiệt độ cao, *Amy3D* và *Amy3E*, đã định vị trong vùng tương ứng với *qPGWC-8* đã xác định trong hai cặp lai độc lập *japonica / indica*. Bởi vì sự biểu hiện mạnh của gen *Amy3D* trong lúa chuyển gen đã làm cho hạt bị bạc bụng (Asatsuma và ctv., 2006), các alen của lúa *indica* từ giống Zhai Ye Quing 8 và IR24 trong 2 cặp lai dẫn đến kết quả sự biểu hiện và hoạt động mạnh hơn của sản phẩm, vì thế làm cho nội nhũ bạc bụng.

Trên nhiễm sắc thể số 2, *qIK2* và *BEI1b* ở gần nhau; *BEI1b* mã hóa một enzyme phân nhánh tinh bột là gen đem đến kết quả đột biến co giãn amylose, hạt của nó có biểu hiện bạc bụng (Nishi và ctv., 2001), và độ bạc bụng đã thể hiện có tương quan âm đối với mức biểu hiện của gen bởi sự phân tích bổ sung lúa chuyển gen; sự bạc bụng hạt xảy ra dễ thấy khi sự biểu hiện của *BEI1b* dưới vài mức (Tanaka và ctv., 2004). Tanaka và ctv (2004) chứng minh rằng alen từ một giống lúa *indica* là Habataki đã gia tăng số lượng hạt non, mức biểu hiện của *BEI1b* có thể bị giảm ở giống Habataki làm cho nội nhũ bạc bụng.

Ebitani và ctv (2006) đã xác định hai QTLs: *qAPG5-1* và *qAPG5-2*, trên nhiễm sắc thể số 5, vị trí gần với hai gen kiểm chế nhiệt độ cao mã hóa prolamin 7 và Pyruvate orthophosphate dikinase (PPDKB). *PPDKB* là một gen gây ra đột biến nội nhũ bốn [*floury endosperm-4 (flo4)*], hạt của nó có nội nhũ bạc bụng (Kang và

ctv., 2005). Bởi vì alen *qAPG5-2* từ giống lúa Kasalath gia tăng số lượng hạt bạc bụng (Ebitani và ctv., 2006), *PPDKB* có thể là gen ứng cử viên đối với sự bạc bụng hạt trong giống lúa mà sự biểu hiện của nó bị suy yếu dưới nhiệt độ cao (Yamakawa và ctv., 2007).

Tương tự, *qBW2* trên nhiễm sắc thể số 2, *qPGWC-9* trên nhiễm sắc thể số 9, và *wc12.1* trên nhiễm sắc thể 12 được định vị ở vùng lân cận của các gen ức chế với nhiệt độ cao: *BT1-2*(ADP-Glc translocator), *AGPSI*(ADP-Glc pyrophosphorylase) và *GSTZ2* (glutathione S-transferase). Hơn nữa, các nhóm QTLs xác định dưới nhiệt độ xung quanh đã được quan sát ở vai dài nhiễm sắc thể số 3 (*qSWC-3* và *wca3.1*) và vai ngắn của nhiễm sắc thể 12 (*qBW12* và *qPGWC-12*). Tuy nhiên, nhiều sự kết hợp của các gen không đáp ứng và QTLs xác định dưới các nhiệt độ xung quanh (nhóm 4), như là *susy1-qWB3* và *Susy3-qWBe7* đã được chứng minh. Tuy nhiên, chúng có thể không liên quan với độ bạc bụng của hạt ở nhiệt độ cao bởi vì không có sự đáp ứng đối với nhiệt độ cao.

Bằng cách sử dụng các bản đồ quần thể khác nhau người ta đã phát hiện nhiều QTL của tính trạng điều khiển độ bạc bụng của lúa (Koh và ctv., 1999; He và ctv., 1999; Tan và ctv., 2000; Li và ctv., 2004; Li, 2001; Wan và ctv., 2005; Huang, 2006). Đến nay, người ta đã xác định tính trạng bạc bụng nằm trên nhiễm sắc thể số 7 và 13 gen dự đoán đã được xác định bởi Zhou và ctv (2009). Các gen *OsPPDKB*, *SSIIa* và *GW2* cũng có hiện tượng pleiotropic trên vết đục ở trung tâm hạt gạo (Kang và ctv., 2005; Fujita và ctv., 2007; Nayeon và ctv., 2007). Thêm vào đó gen *PPDK* (*Pyruvate Orthophosphate dikinase*), kiểm soát dòng chảy carbon vào trong tinh bột và sự tổng hợp lipid trong suốt giai đoạn làm đầy hạt (Kang và ctv., 2005). Gene *SSIIa* cho thấy đóng vai trò quan trọng trong sự kéo dài chuỗi amylopectin (Fujita và ctv., 2007). Gen *GW2* thì chủ yếu tác động đến kích thước ở giai đoạn phát triển hạt.

Theo Liu và ctv (2011), đối với tính trạng chất lượng của nội nhũ, rất khó cho nhà chọn giống cải thiện độ bạc bụng trên hạt gạo bằng phương pháp truyền thống,

dựa vào sự ít phân ly kiểu hình riêng ở thế hệ con. Vì thế, việc xác định các vị trí gen kiểm soát tính trạng di truyền số lượng bao gồm độ bạc bụng hạt và làm rõ sự kiểm soát di truyền của nó là rất cần thiết đối với việc phát triển phương pháp chọn giống nhờ chỉ thị phân tử (MAS) và chiến lược chọn giống theo kiểu hình tháp hướng vào hiệu quả chọn giống cải tiến.

Năm 2016, Peng và ctv (2016) đã sử dụng các dòng thuần chủng tái tổ hợp (RIL) của quần thể BC₄F₂ được lai tạo giữa PA64 và 9311 trong nghiên cứu tính trạng số lượng cho bạc bụng ở hạt. Qua đó 19 QTL liên quan đến bạc bụng được tìm thấy trên nhiễm sắc thể 1, 4, 6, 7, 9 và 12, chiếm từ 5,1 đến 30,6% biến thể kiểu hình. *qACE9*, một QTL chính mới được phát hiện liên quan tính trạng bạc bụng nằm trên nhiễm sắc thể số 9. Nó dao động trên 22 kb giữa hai chỉ thị (InDel) được đánh dấu là IND9-4 và IND9-5. Phân tích dự đoán gen đã xác định được 5 gen giả định, trong đó, chỉ số gen *OsAPS1* không chỉ đóng một vai trò quan trọng trong quá trình tổng hợp tinh bột trong nội nhũ, mà còn xác định diện tích nội nhũ trong gạo. *qPCG1*, một QTL liên quan tỷ lệ phần trăm bạc bụng ở gạo, được lập bản đồ trong vật lý với chiều dài 139 kb trên nhiễm sắc thể 1 bằng phương pháp dòng di hợp tử dư (Residual Heterozygosity Line, RHL). Gen *qPCG1* là một gen chính trội không hoàn toàn và ảnh hưởng tính cộng, giải thích 6,8–21,9% phương sai kiểu hình trên nhiễm sắc thể 1. *qPCG1* có ít ảnh hưởng đến các đặc điểm nông học và nó không mang lại tác động tiêu cực đến năng suất hạt trong khi làm giảm bạc bụng ở gạo (Zhu và ctv., 2018).

Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

* Địa điểm: Các thí nghiệm được thực hiện tại Viện Lúa ĐBSCL, Viện nghiên cứu nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL và tại 6 điểm thuộc 6 tỉnh ĐBSCL bao gồm: Cần Thơ, Hậu Giang, Long An, An Giang, Bạc Liêu và Trà Vinh.

* Thời gian: Thời gian thực hiện từ tháng 01/2013 đến tháng 12/2017.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

* Giống lúa: 105 giống lúa cao sản được thu thập từ ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long (Phụ lục 1). Giống đối chứng là KDML105 và IR50404.

* Hóa chất và trang thiết bị: bao gồm các dụng cụ, thiết bị, hóa chất dùng trong phòng sinh học phân tử, phòng phân tích phẩm chất (Phụ lục 2).

* Chỉ thị phân tử:

- Chỉ thị phân tử sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa hồi giao cải tiến bao gồm Indel5 và RM21938

Indel 5:

Forward Primer: CAGCTATGTGTAGCTTCG

Reversed Primer: GTGCTCATTGGGCGGTTT

RM21938:

Forward Primer: CCAAATTGCTTCCTCGGATATAGG

Reversed Primer: CGGATTTAGGGAGTTCGTGTTCG

- Các chỉ thị sử dụng lập bản đồ di truyền GGT (Phụ lục 3).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nội dung 1: Chọn lọc bố mẹ cho lai tạo giống lúa có tỉ lệ bạc bụng thấp

2.3.1.1. Thu thập và chuẩn bị mẫu

Bông của 105 giống trồng tại ruộng Viện lúa ĐBSCL được thu hoạch tại các ẩm độ khác nhau từ 18%-30% năm 2013, mỗi giống gồm 100 bông, đạt ít nhất 600g gạo thô sau khi đập và làm sạch. Ngay sau khi thu hoạch, năm bông được chọn ngẫu nhiên từ mỗi lô 100 bông, hạt được tách vỏ bằng tay và độ ẩm của 300 hạt được đo thông qua máy đo độ ẩm (CTR 800E, Shizuoka Seiki, Shizuoka, Japan). Độ ẩm trung bình của 300 hạt được sử dụng như của lô độ ẩm. Các bông còn lại của mỗi phần được tách vỏ bằng máy (SBT, Almaco, Nevada, Iowa). Gạo thô được làm sạch và làm khô đến độ ẩm 13% và được bảo quản trong các túi plastic bịt kín trữ ở 4°C cho đến khi phân tích và xay chà.

2.3.1.2. Đánh giá độ bạc bụng ở hạt gạo

Bạc bụng được đo bằng cách sử dụng một hệ thống phân tích. Hệ thống bao gồm một máy quét (Epson Perfection V700 Photo, Model# J221A, Seiko Epson Corp., Nhật Bản) hình ảnh của hạt được chụp lại, những hình ảnh này được xử lý bằng cách phân biệt những khu vực bị bạc bụng trong hạt khi so với màu nền. Trước khi đo, hệ thống hình ảnh đã được cấu hình để phân loại màu sắc của hạt bị bạc bụng bằng cách hiển thị hoàn toàn màu nâu phần của hạt gạo trên hệ thống hình ảnh. Màu nền được chọn là màu xanh lam sẫm. Bạc bụng được xác định là tỷ lệ của những khu vực tương đối mờ đục của hạt. Tỷ lệ phần trăm bạc bụng được đo bằng cách sử dụng qui trình dưới đây.

Gạo thô (10g) từ mỗi lọ được tách vỏ lụa bằng máy tách vỏ di động (Rice Husker TR120, Kett Electric). Từ mỗi lọ, hai tập hợp khoảng 100 hạt gạo lứt được chọn ngẫu nhiên để quét. 100 hạt được đặt lên khay (kích thước 152 mm × 100 mm × 20 mm) được làm từ tấm acrylic trong dày 2mm (Plexiglass) để không có hạt nào chạm nhau. Sau đó khay được đặt trên máy scan hình ảnh. Tỷ lệ phần trăm bạc bụng được đo theo phần trăm tổng khu vực ước lượng của 100 hạt. Mức độ bạc bụng của mỗi lọ được tính bằng trung bình của 2 lần đo.

Tỷ lệ phần trăm bạc bụng được đánh giá theo tiêu chuẩn của IRRI với các cấp độ: cấp 0, cấp 1, cấp 5 và cấp 9.

Bảng 2.1: Tiêu chuẩn hệ thống đánh giá mẫu bạc bụng

Thang điểm	Kết luận
0	Không bạc bụng
1	Vết đục ít hơn 10% trong hạt gạo
5	Trung bình (11% - 20%)
9	Nhiều (hơn 20%)

(Nguồn: IRRI, 1996)

Cấp bạc bụng trung bình được tính theo công thức sau:

$$\text{Cấp bạc bụng trung bình} = \frac{(n_1 * 0) + (n_2 * 1) + (n_3 * 5) + (n_4 * 9)}{n}$$

Với: n_1 : số lượng hạt gạo bạc bụng ở cấp 0
 n_2 : số lượng hạt gạo bạc bụng ở cấp 1
 n_3 : số lượng hạt gạo bạc bụng ở cấp 5
 n_4 : số lượng hạt gạo bạc bụng ở cấp 9
 n : tổng số lượng hạt gạo

2.3.1.3. Phân nhóm đa dạng di truyền kiểu hình

Phân tích kết quả phân nhóm bằng phần mềm NTSYSpc 2.1, là chương trình phần mềm do Rohlf (1992) thiết kế dùng để tìm kiếm và thành lập kiến trúc những dữ liệu có nhiều biến. NTSYS (Numercial Taxonomy System) là hệ thống phân loại số trong nghiên cứu đa dạng quần thể ở mức độ DNA. Số liệu này sẽ được sử dụng để xây dựng ma trận tương đồng (Similarity matrix) hoặc ma trận khoảng cách (Distance matrix). Các ma trận này biểu hiện cho mối quan hệ xa gần về mặt di truyền giữa các mẫu phân tích và được xây dựng trên công thức toán học của Nei và ctv (1979): $[S_{xy} = 2 \cdot xy / (x + y)]$. Trong đó: xy : số băng giữa hai mẫu, x : số băng của mẫu x , y : Số băng của mẫu y , S_{xy} : Hệ số tương đồng giữa 2 mẫu x và y . Từ S_{xy} ta tính được khoảng cách di truyền giữa x và y : $[D_{xy} = 1 - S_{xy}]$.

Trên cơ sở toán học này, các nhà toán học đã xây dựng các phần mềm WINDIST và NTSYS cho máy tính. Chương trình WINDIST tạo ra ma trận tương đồng từ bộ dữ liệu nhập sẵn. Chương trình NTSYSpc tạo ra sơ đồ hình cây phản ánh mối quan hệ di truyền giữa các cá thể nghiên cứu (Nguyễn Thị Lang, 2001). Hiện nay 2 chương trình WINDIST và NTSYS được gộp lại thành chương trình package – NTSYSpc để tiện dụng hơn.

Phần mềm NTSYSpc được sử dụng để phân tích quan hệ di truyền dựa trên số liệu kiểu hình giữa các mẫu giống lúa trong nghiên cứu này. Kết quả đánh giá các tính trạng hàm lượng amylose và năng suất thực tế trên đồng ruộng của các giống được thu thập. Số liệu này được sử dụng để xây dựng ma trận tương đồng. Các ma trận này biểu hiện cho mối quan hệ xa gần về mặt di truyền giữa các mẫu phân tích. Phần mềm NTSYSpc cho phép chuyển hóa các số liệu về tương quan di truyền giữa các mẫu ở dạng ma trận thành dạng biểu đồ hình cây (còn gọi là cây tiến hóa), các mẫu có hệ số tương đồng tương đương nhau sẽ được xếp vào một nhóm. Dựa vào biểu đồ hình cây này có thể đánh giá mức độ đa dạng và tương quan di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu.

2.3.1.4. Phương pháp đánh giá kiểu gen

a) Ly trích DNA ở cây lúa

Phương pháp ly trích DNA thực hiện theo quy trình của Nguyễn Thị Lang (2002).

Mẫu lá lúa tươi, còn non (2-3 cm) thu được nghiền bằng cối và chày. Sau đó, 400 µl dung dịch ly trích DNA (DNA extraction buffer) (phụ lục 3) được cho vào mẫu lá nghiền. Các mẫu mô lá được nghiền đến khi dung dịch mẫu chuyển sang có màu xanh lá cây (tế bào bị phá vỡ và phóng thích ra diệp lục). Dung dịch mẫu tiếp tục được thêm vào 400 µl DNA extraction buffer, trộn và lắc đều. Sau đó, 400µl dung dịch mẫu này được hút và chuyển sang một tube 1,5 ml đã được ghi nhãn tên giống. 800µl dung dịch chloroform:isoamyl alcohol (24:1) vào tube mẫu, trộn và lắc đều, sau đó ly tâm với 12.000 vòng trong 3 phút. Các tube mẫu sau ly tâm sẽ phân

thành hai lớp riêng biệt, phần dung dịch phía trên (supernatant) được lấy và chuyển sang một tube khác có cùng thể tích. Mẫu được thêm vào 800 μ l ethanol (100%, trữ lạnh), trộn kỹ bằng máy lắc và tiếp tục ly tâm với tốc độ 13.000 vòng trong 5 phút. Dung dịch mẫu lúc này xuất hiện phần kết tủa (pellet) bên dưới tube. Thu phần kết tủa và rửa bằng ethanol (70%). Phần kết tủa là phần DNA tổng số được phơi khô ở nhiệt độ phòng ($\sim 25-30^{\circ}\text{C}$). Hòa tan DNA vào 50 μ l TE buffer (phụ lục 3) và trữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng.

b) Khuếch đại gen mục tiêu thông qua phương pháp PCR-SSR

Sản phẩm PCR được khuếch đại thông qua microsatellite (SSR) theo phương pháp của Nguyễn Thị Lang (2002).

Các thành phần hóa chất cho 15 μ l mẫu phản ứng PCR được chuẩn bị bao gồm: 8,5 μ l nước cất hai lần; 1,5 μ l dung dịch đệm cho PCR (10xTB buffer) (200mM Tris-HCl (pH = 8,0-8,5), 500 mM KCl và 15 mM MgCl_2); 1 μ l dung dịch 1 mM dNTP; 1 μ l dung dịch mỗi xuôi và mỗi ngược (5 μ M); 1 μ l dung dịch *Taq* DNA polymerase (4 U/ μ l) và 2 μ l DNA tổng số (35 ng/ μ l).

Sản phẩm PCR được khuếch đại bằng máy thermal cycler 9600 (Perkin Elmer, USA) theo chương trình SSR được thiết lập bao gồm: giai đoạn khởi đầu biến tính ở 94°C trong 5 phút và 35 chu kỳ với các bước: biến tính, tách đôi mạch kép DNA ở 94°C trong 30 giây, ủ mỗi ở 55°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°C trong 45 giây và kết thúc ở 72°C trong 5 phút. Trữ mẫu ở 4°C .

c) Kiểm tra sản phẩm PCR trên bản gel agarose 3%

Chuẩn bị gel theo thành phần ở bảng 3.3 (Phụ lục 2). Dung dịch gel được đun sôi đến khi dung dịch chuyển sang trong suốt và để nguội với nhiệt độ $50-60^{\circ}\text{C}$. Dung dịch gel được đổ nhẹ từ từ ra khay, chú ý tránh bọt khí. Khi gel cứng rút lấy các lược và khung chắn ra khỏi gel.

Dùng 5-10 μ l dung dịch nhuộm (98% formamide, 10 mM EDTA, 0,025% bromo phenol, 0,025% xylene cyanol) trộn đều vào mẫu PCR. Bơm mẫu vào các lỗ giếng.

Chạy điện di nằm khoảng 1-2 giờ tùy thuộc vào đặc tính từng cặp mồi. Nhuộm gel trong dung dịch có ethidium bromide 0,5% khoảng 10-20 phút. Chụp gel dưới tia UV và đọc kết quả hiện thị trên màn hình.

2.3.2. Nội dung 2: Chọn tạo quần thể lai hồi giao liên quan tính trạng hạt gạo ít bạc bụng nhờ chỉ thị phân tử

Lai tạo và chọn lọc các quần thể lai hồi giao nhờ các chỉ thị phân tử (BC_1F_1 - BC_nF_1)

Bước 1: *Chọn lọc bố mẹ phù hợp*. Đánh giá đa hình kiểu hình kết hợp kiểu gen giữa giống bố (giống cho gen, Donor, DP) và giống mẹ (giống tái tục, Recurrent, RP) đối với gen mục tiêu (gen không bạc bụng hoặc ít bạc bụng). Từ đó, chọn ra các cặp bố mẹ và chỉ thị phân tử SSR phù hợp cho chọn lọc cá thể trong quần thể phân ly lai hồi giao (Backcross, BC).

Bước 2: *Lai tạo quần thể lai hồi giao*. Các cá thể F_1 tạo ra từ cặp bố mẹ được lựa chọn. Cây F_1 được lai lại với giống mẹ (RP) tạo quần thể BC_1F_1 , tự thụ cho BC_1F_2 . Các cá thể BC_1F_2 được chọn lọc nhờ vào chỉ thị phân tử. Quá trình lai tạo và chọn lọc quần thể lai hồi giao được thực hiện tương tự các bước nêu trên cho đến khi đạt được quần thể mang gen mong muốn (BC_nF_1).

** Phương pháp lai tạo lúa trong nhà lưới:*

- Trồng và chọn cây bố, mẹ đem lai: Trồng các giống lúa bố, mẹ trong chậu đất tại các thời điểm khác nhau cách nhau khoảng 10 – 15 ngày để có thể chọn được nhiều cặp bố mẹ trùng khớp thời gian trổ và tung phấn. Mỗi giống bố, mẹ trồng khoảng 30 chậu, mỗi chậu 2-3 cây chia làm 3 đợt. Khi cây lúa bắt đầu trổ bông, cây lúa xanh, khỏe, cứng cáp, không sâu bệnh. Đối với cây mẹ, bông phải trổ khỏi bẹ từ 50- 60%. Đối với cây bố, bông lúa trổ vươn ra khỏi bẹ và các hoa lúa nở để lộ các nhị đực vàng ra bên ngoài vỏ trấu.

- Khử đực trên cây mẹ: Thời gian khử đực thường vào lúc chiều mát (khoảng 15 đến 17 giờ). Bông lúa được tách nhẹ nhàng ra khỏi bẹ đồng, sau đó được xử lý

bằng cách dùng kéo cắt bỏ các hoa đã nở ở chóp bông (nhị đực đã phơi ra) và những hoa còn non ở cuối bông. Các hoa còn lại được cắt xiên theo viền vỏ trấu để lộ ra những túi phấn. Thao tác này cần nhẹ nhàng, tránh làm vỡ bao phấn, làm rơi hạt phấn lên đầu nhụy. Các nhị đực được loại bỏ ra khỏi vỏ trấu bằng dụng cụ gấp hạt phấn (ben). Các bông lúa đã khử đực được bao bọc lại bằng giấy bóng mờ, không thấm nước, cố định và ghi thông tin lên bao giấy.

- Cách phủ phấn: Thời gian phủ phấn lúc có nắng tốt (thường khoảng 9-10 giờ). Các bông cho phấn hoa được chọn lựa và cắt cần thận bằng kéo. Sau đó, rắc nhẹ nhàng phấn hoa lên các hoa của cây mẹ đã được khử đực.

- Chăm sóc bông lai: Kiểm tra hạt lai sau 3 - 4 ngày phủ phấn. Nếu bầu noãn bắt đầu phình to chứng tỏ sự thụ phấn đã thành công, ngược lại, bông lúa sẽ bị khô và trắng. Hạt lai sẽ chín khi màu hạt chuyển sang vàng và được thu hoạch vào khoảng 25- 30 ngày sau khi thụ phấn. Hạt được sấy ở 40°C trong 3 ngày.

Bước 3: *Chọn lọc dòng thuần các quần thể lai hồi giao*: Các dòng hồi giao mang gen mục tiêu đồng hợp được chọn ở từng thế hệ BC_nF₂. Các thế hệ của quần thể được cho tự thụ và chọn lọc liên tục cho đến dòng thuần.

2.3.3. Nội dung 3: Chọn lọc các quần thể hồi giao thông qua lập bản đồ GGT

2.3.3.1. Kiểm tra kiểu gen của quần thể con lai trên nhiễm sắc thể số 7 dựa trên các chỉ thị phân tử đa hình giữa cây bố và mẹ

Phương pháp ly trích DNA, PCR, kiểm tra sản phẩm PCR được thực hiện tương tự như phần 3.3.1.3.

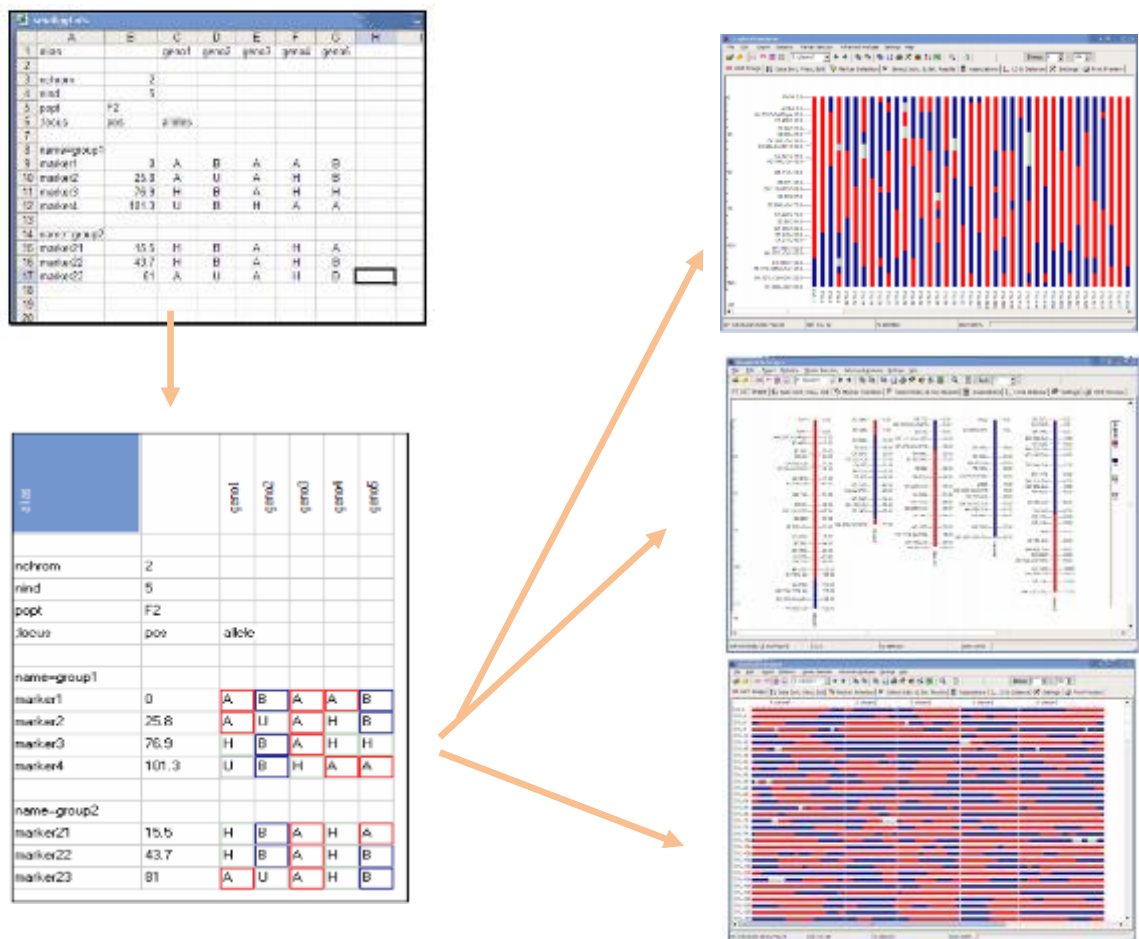
2.3.3.2. Lập bản đồ GGT đánh giá sự di truyền của quần thể con lai, qua đó chọn lọc các cá thể mang gen mục tiêu mong muốn

Phương pháp GGT do Young and Tanksley đề xuất (1989) và sau đó, Van Berllo (2008), Milne và ctv. (2010) đã xây dựng phần mềm hữu dụng này. GGT 2.0: “graphical genotyping” là phương pháp mới do nhóm tác giả của Đại Học Wageningen phát triển, khi đó các alen thể hiện đồng hợp trội, đồng hợp lặn, dị hợp

ở tất cả các con lai trong một quần thể, cho phép công tác chọn lọc các cá thể quy tụ những gen mong muốn một cách có hiệu quả nhất.

Phương pháp lập bản đồ GGT thông qua các bước như sau:

(1) Lập file dữ liệu trên Excel: mã hóa gen của quần thể với A, B là kiểu gen đồng hợp tử của cây bố mẹ; H là kiểu gen dị hợp tử; U là kiểu gen chưa được xác định; (2) Nhập dữ liệu vào cửa sổ GGT: chuyển đổi dữ liệu Excel sang dữ liệu GGT; (3) Xử lý số liệu trong GGT; (4) Đăng xuất kết quả.



Hình 2.1: Phân tích GGT trên quần thể lai ở cây lúa

(Nguồn: Milne và ctv., 2010)

2.3.4. Nội dung 4: Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng

2.3.4.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các cá thể của quần thể BC_nF_3 được trồng trên ruộng thí nghiệm. Chọn dòng triển vọng được bố trí theo kiểu tuần tự, không lặp lại, cây 1 tép với khoảng cách 20 x 15 cm.

Thực hiện khảo nghiệm bộ giống trên diện rộng ở các tỉnh đồng bằng Sông Cửu Long trong vụ Đông Xuân 2016-2017, Hè Thu 2017 và thu thập số liệu năng suất qua hai vụ.

6 địa điểm gồm: Hậu Giang, Cần Thơ, Long An, An Giang, Trà Vinh và Bạc Liêu.

Các thí nghiệm được thực hiện trên ruộng nông dân, bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Bộ giống khảo nghiệm được thực hiện bằng phương pháp cấy (15 x 20 cm, 1 tép / bụi), phân bón 80-40-30 kg NPK/ha vụ Hè Thu, và 100-30-30 kg NPK/ha vụ Đông Xuân. Mẫu năng suất được gặt là 10 m². Năng suất được qui về 14% ẩm độ, sau đó qui ra đơn vị tấn/ha.

2.3.4.2. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường

Hiện nay, có rất nhiều phương pháp khác nhau để phân tích sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường (Finlay và Wilkinson, 1963; Wricke, 1965; Francis và Kannenburg, 1978; Akhtar và ctv., 2010). Tương tác giữa kiểu gen và môi trường được xem là giao thoa, hoặc có tính chất lượng nếu nó làm cho kiểu gen thay đổi một cách tương đối trong điều kiện khác nhau của môi trường. Tương tác giữa kiểu gen và môi trường được xem là không giao thoa, hoặc có tính số lượng, nếu nó tạo ra kết quả khác nhau về giá trị trung bình, nhưng không khác nhau về kiểu gen. Tình trạng tương tác giữa kiểu gen và môi trường trở nên phức tạp hơn khi chúng ta gia tăng số lượng kiểu gen và môi trường. Trong trường hợp này chúng ta có m kiểu gen và n môi trường, kiểu tương tác sẽ là: $\frac{mn!}{m!n!}$.

Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường theo mô hình của Finlay và Wikinson (1963), Eberhart và Russell (1996): $Y_{ij} = \mu_i + \beta I_j + \delta_{ij}$. Trong đó: Y_{ij} = Trung bình của giống i ở môi trường j ; μ = Giá trị trung bình tổng thể của các giống qua tất cả các môi trường; β = Hệ số hồi quy của giống thứ I trên chỉ số môi trường, tham số để đo lường phản ứng của giống đối với sự thay đổi môi trường.

Chỉ số môi trường I_j : $I_j = (\sum Y_{ij}/V) - (\sum \sum Y_{ij}/vn)$.

Chỉ số ổn định (S_{di}^2): $S_{di}^2 = (D/(L-2) - (EMS/r))$. Trong đó: L : số môi trường; D : sự khác biệt; $S_{di}^2 \rightarrow 0$: Năng suất ổn định tương quan GxE tuyến tính.

Chỉ số ổn định (b_i): $b_i = \sum Y_{ij} I_j / I_j^2$. Trong đó: $b_i = 1$: thích ứng rộng, $b_i > 1$: thích ứng môi trường thuận lợi, $b_i < 1$ thích nghi môi trường bất thuận.

Phân tích thông số ổn định được tính toán; hai chỉ số liên quan được phân tích là: Chỉ số ổn định S_{di}^2 với xu hướng tiến về 0; Chỉ số thích nghi b_i với xu hướng tiến về 1. Theo mô hình này một đặc tính ổn định khi: $b_i = 1$ và $S_{di}^2 = 0$.

2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập và lưu trữ bằng chương trình Microsoft Office Excel.

Phân tích và thống kê số liệu (ANOVA, DUCAN) bằng Microsoft Office Excel, Cropstat 7.2, STAR.

Phân nhóm di truyền sử dụng phần mềm NTSYSpc, R-studio.

Vẽ biểu đồ sử dụng Microsoft Office Excel.

Chọn lọc cá thể của quần thể thông qua phân tích Graphical genotypes 2 (GGT 2.0).

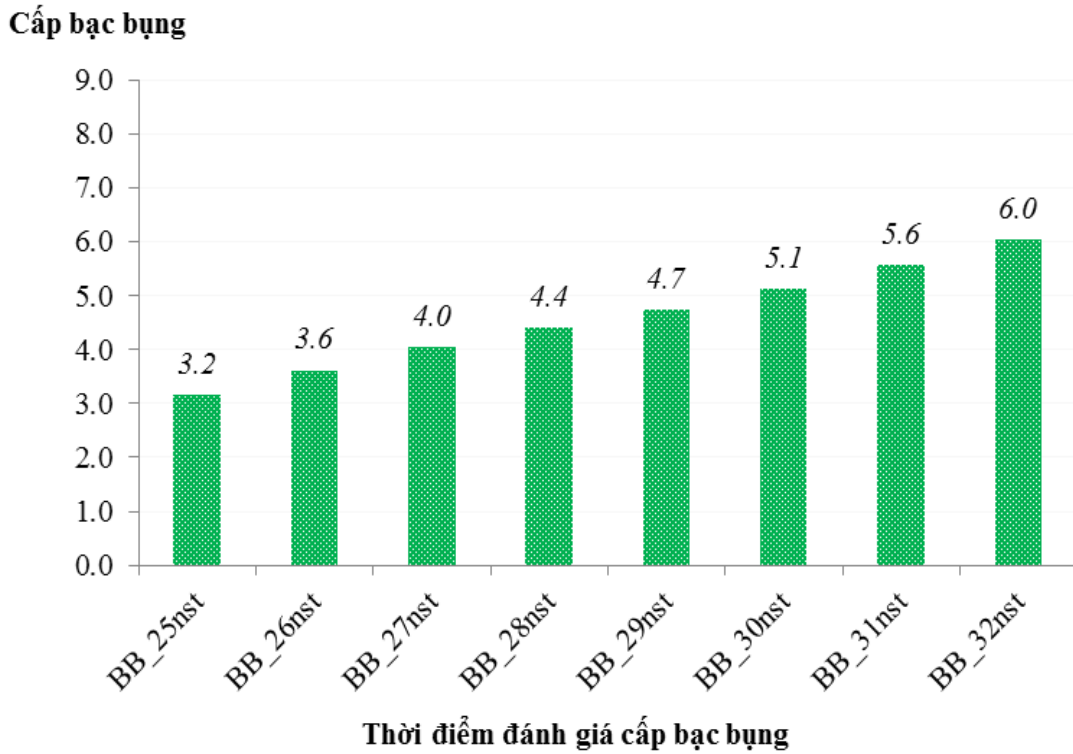
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn lọc bố mẹ cho lai tạo giống lúa có tỉ lệ bạc bụng thấp

3.1.1. Đánh giá độ bạc bụng trên các giống lúa vật liệu lai

Sự thành công trong chọn tạo giống lúa mới không chỉ phụ thuộc vào cách lai và chọn giống mà còn do vật liệu di truyền từ các giống bố mẹ đóng góp. Do đó, việc chọn lựa bố mẹ phù hợp là yếu tố quan trọng quyết định cho đặc tính sau này của con lai. Trong nghiên cứu này, 105 giống/dòng từ Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long được đánh giá độ bạc bụng nhằm tìm kiếm các cặp bố mẹ ưu tú nhất cho công tác lai tạo giống có độ bạc bụng thấp.

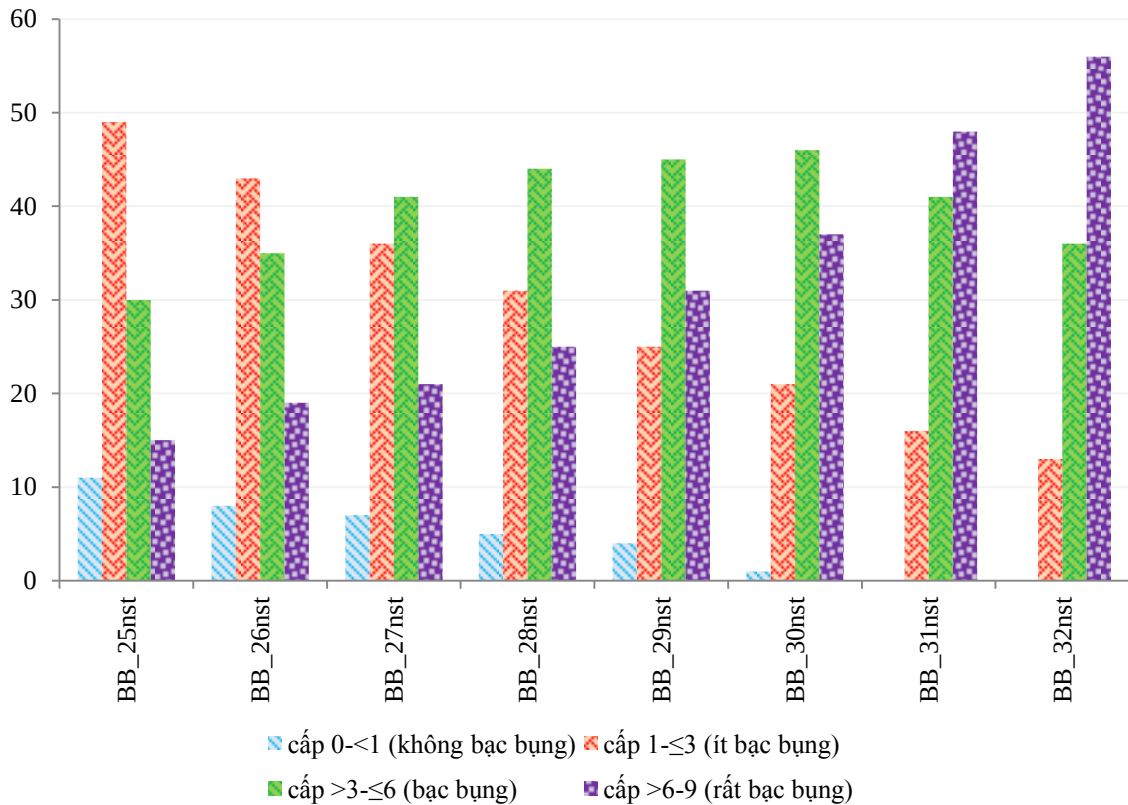
Các giống được thu hoạch ở 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 và 32 ngày sau khi lúa trổ khoảng 50%. Đánh giá độ bạc bụng được thực hiện ngay khi lúa được thu hoạch và làm khô (độ ẩm ở khoảng 13%). Qua kết quả đánh giá cho thấy độ bạc bụng có xu hướng tăng lên khi lúa được thu hoạch càng muộn (Hình 3.1). Ở thời điểm 25 ngày sau khi lúa trổ, độ bạc bụng trung bình của các giống là 3,2. Tuy nhiên, khi thời gian thu hoạch tăng lên 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 ngày sau trổ, cấp độ bạc bụng lần lượt tăng lên là cấp 3,6; 4,0; 4,4; 4,7; 5,1; 5,6 và 6,0. Bạc bụng của gạo tăng lên khi lúa được thu hoạch càng muộn sau ngày thứ 25 khi lúa trổ 50%. Điều này cũng được kết luận trong nhiều nghiên cứu trước đây (Lang và ctv., 2010; Trần Thanh Sơn, 2008; Lê Thu Thủy và ctv., 2005).



Hình 3.1: Cấp bạc bụng trung bình ở các thời điểm khác nhau

Chú thích: BB: bạc bụng; nst: ngày sau khi lúa trở 50%

Xét cụ thể trên từng cấp bạc bụng, cấp bạc bụng 1-3 (tỷ lệ bạc bụng dưới 10%) có xu hướng giảm trong khi cấp bạc bụng > 3 (tỷ lệ bạc bụng $\geq 10\%$) lại tăng khi thời gian thu hoạch càng dài (Hình 3.2). Khi thu hoạch lúa ở 25-26 ngày sau khi trở 50%, gạo có tỷ lệ bạc bụng thấp nhất, và ở 29 ngày trở về sau, bạc bụng gạo tăng lên rất nhanh. Điều này cho thấy, việc thu hoạch đúng thời điểm sẽ cho tỷ lệ gạo trong cao hơn so với thu hoạch trễ.



Hình 3.2: Sự biến động của các cấp bạc bụng theo thời gian thu hoạch

Chú thích: BB: bạc bụng; nst: ngày sau khi lúa trổ 50%

Kết quả trên bảng 3.15 (Phụ lục 1) biểu thị cấp bạc bụng trung bình của 105 giống lúa được thu hoạch ở các thời điểm khác nhau. Hạt gạo luôn tồn tại nhiều cấp bạc bụng khác nhau trong cùng một giống, tuy nhiên, cấp bạc bụng trung bình dao động trong khoảng 0,3-9,0. Cấp bạc bụng trung bình thấp nhất (0,3) được tìm thấy ở các mẫu lúa thu 25-26 ngày sau trổ, trong khi cấp bạc bụng trung bình cao nhất (9,0) ở các mẫu lúa thu từ 30-32 ngày sau trổ. Ở thời điểm thu hoạch sau 25 ngày lúa trổ, có 60/105 giống có tỷ lệ bạc bụng thấp <10% (cấp 0-3). Ở thời điểm thu hoạch 26-32 ngày sau trổ, số lượng giống có tỷ lệ bạc bụng thấp lần lượt là 51, 43, 36, 29, 22, 16 và 13/105 giống. Trong số 105 giống, giống có tỷ lệ bạc bụng thấp nhất là TLR343 và RVT, các giống có cấp bạc bụng thấp khác bao gồm: OM10252, TLR426, OM10258, ... (Bảng 3.1).

Bảng 3.1: Các giống lúa có tỉ lệ bạc bụng thấp qua đánh giá ở các thời điểm thu hoạch khác nhau

TT	Tên giống/dòng	<i>Cấp bạc bụng theo thời gian thu hoạch (cấp 0-1-5-9)</i>							
		25 N	26 N	27 N	28 N	29 N	30 N	31 N	32 N
1	TLR 434	0,5	0,6	0,8	0,9	0,9	0,9	1,1	1,1
2	RVT	0,6	0,8	0,8	0,9	0,9	1,1	1,1	1,3
3	OM 10252	0,3	0,6	0,8	1,1	1,4	1,7	1,7	1,7
4	TLR 426	0,3	0,3	0,5	0,6	0,9	1,0	1,5	2,0
5	OM 10258	0,3	0,3	0,7	0,7	1,6	1,6	1,7	2,0
6	TLR 420	1,2	1,3	1,4	1,4	1,4	1,6	1,7	2,0
7	TLR 419	1,5	1,7	1,8	1,8	1,8	1,9	2,1	2,3
8	OM 10385	0,7	0,8	0,9	1,3	1,4	1,7	2,4	2,5
9	TLR 416	0,7	1,3	1,5	1,5	1,7	1,8	2,1	2,6
10	TLR 431	0,5	1,1	1,3	1,7	1,9	2,3	2,4	2,6
11	OM 9922	1,1	1,7	1,8	2,2	2,3	2,4	2,7	2,7
12	TLR 417	0,3	0,4	0,6	0,6	0,7	1,8	2,6	3,0
13	OM 10174	1,6	2,0	2,1	2,2	2,4	2,7	3,0	3,0
14	OM 8927	1,3	1,9	2,1	2,6	2,6	2,8	3,2	3,2
15	TLR 425	1,0	1,2	1,3	1,3	2,0	2,5	3,0	3,4
16	OMCS 2012	0,9	0,9	1,2	1,5	1,8	2,6	3,1	3,6
17	TLR 437	1,5	2,0	2,0	2,1	2,1	2,7	3,0	3,7
18	OM 10097	1,6	1,7	1,8	2,3	2,3	2,8	3,8	4,0
19	OM 10179-2	1,7	1,8	2,7	2,8	3,2	3,3	3,5	4,0
20	OM 95L	2,1	2,6	2,7	3,2	3,4	3,4	3,6	4,0
21	OM 27L	1,4	2,3	2,5	2,6	2,9	3,6	3,8	4,1
22	OM 10834	2,1	2,2	2,4	2,8	3,0	3,0	3,1	4,1
23	TLR 441	2,1	2,2	2,8	3,0	3,2	3,2	3,4	4,1
24	OM 10179	1,7	1,8	2,8	2,8	3,0	3,1	4,2	4,2
25	OM 10126	0,9	1,4	2,0	2,9	3,1	3,2	4,3	4,3
26	TLR 430	1,4	1,8	2,0	2,4	2,6	3,7	4,2	4,3
27	OM 10383	1,0	1,1	1,7	1,8	2,6	2,9	3,4	4,4
28	OM 10115	1,3	1,3	1,9	1,9	2,1	2,6	2,6	4,5
29	OM 6013	2,9	3,2	3,2	3,6	3,8	4,2	4,5	4,5
30	TLR 390	1,9	2,8	3,0	3,4	3,5	4,0	4,1	4,7

Chú thích: N: ngày sau khi lúa trổ 50%

3.1.2. Phân nhóm di truyền các giống lúa vật liệu lai dựa trên kết quả đánh giá cấp bạc bụng

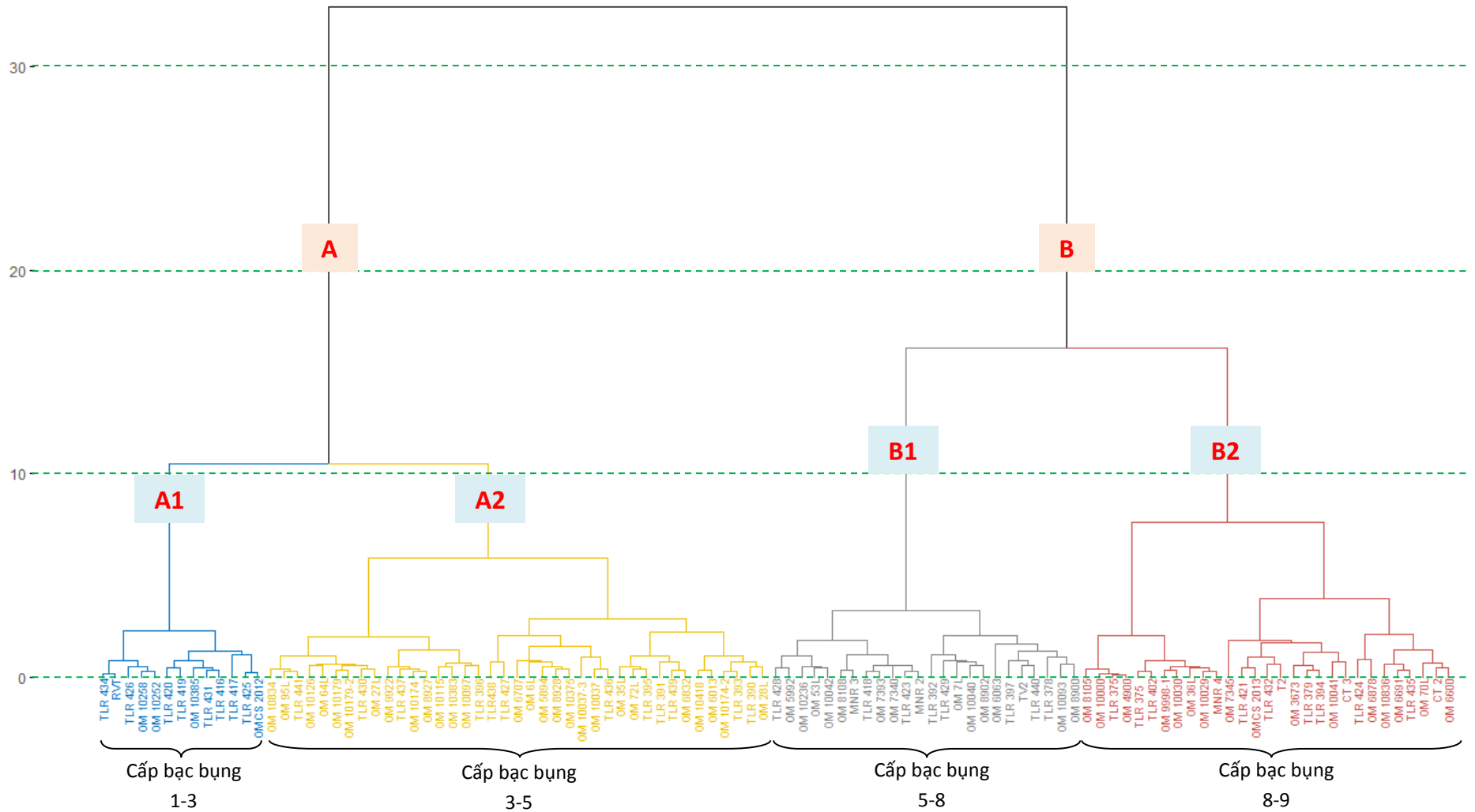
Phương pháp phân nhóm di truyền các dòng tự phối thuần có thể dựa trên kiểu hình (Abdullah và ctv., 2010). Ở lúa, tỷ lệ bạc bụng là tính trạng kém ổn định và bị ảnh hưởng bởi điều kiện canh tác (Sun và ctv., 2015; Trần Thanh Sơn, 2008). Việc phân nhóm di truyền kiểu hình giúp tìm ra nhanh chóng các nhóm giống/dòng phù hợp với mục tiêu đặt ra trong chọn giống. Trong nghiên cứu này, 105 giống lúa được phân nhóm di truyền dựa trên cấp bạc bụng (Hình 3.3).

Ở mức khác biệt khoảng 60%, các giống phân thành 2 nhóm chính: nhóm A - 52 giống và nhóm B - 53 giống. Nhóm A là nhóm bao gồm các giống có tỷ lệ bạc bụng hầu hết dưới 10% (cấp 1-5), trong khi đó, nhóm B là nhóm lúa có gạo bạc bụng trên 10% (cấp 5-9).

Tại nhóm A, ở mức khác biệt 30%, có hai nhóm phụ A1 và A2. Nhóm phụ A1 bao gồm 13 giống như: TLR434, RVT, TLR426, ... Đây là nhóm có tỷ lệ bạc bụng rất thấp (cấp 1-3). Tương tự, nhóm phụ A2 có tỷ lệ bạc bụng thấp dưới 10% (cấp 3-5). Nhóm này có 39 giống như là: OM9922, OM8928, OM10174, ...

Nhóm B phân thành hai nhóm phụ B1 và B2 tại mức khác biệt khoảng 45%. Nhóm B1 gồm 24 giống có cấp bạc bụng dao động từ cấp 5-8. Còn lại là nhóm B2 có 29 giống, nhóm giống này có tỷ lệ bạc bụng rất cao (cấp 8-9).

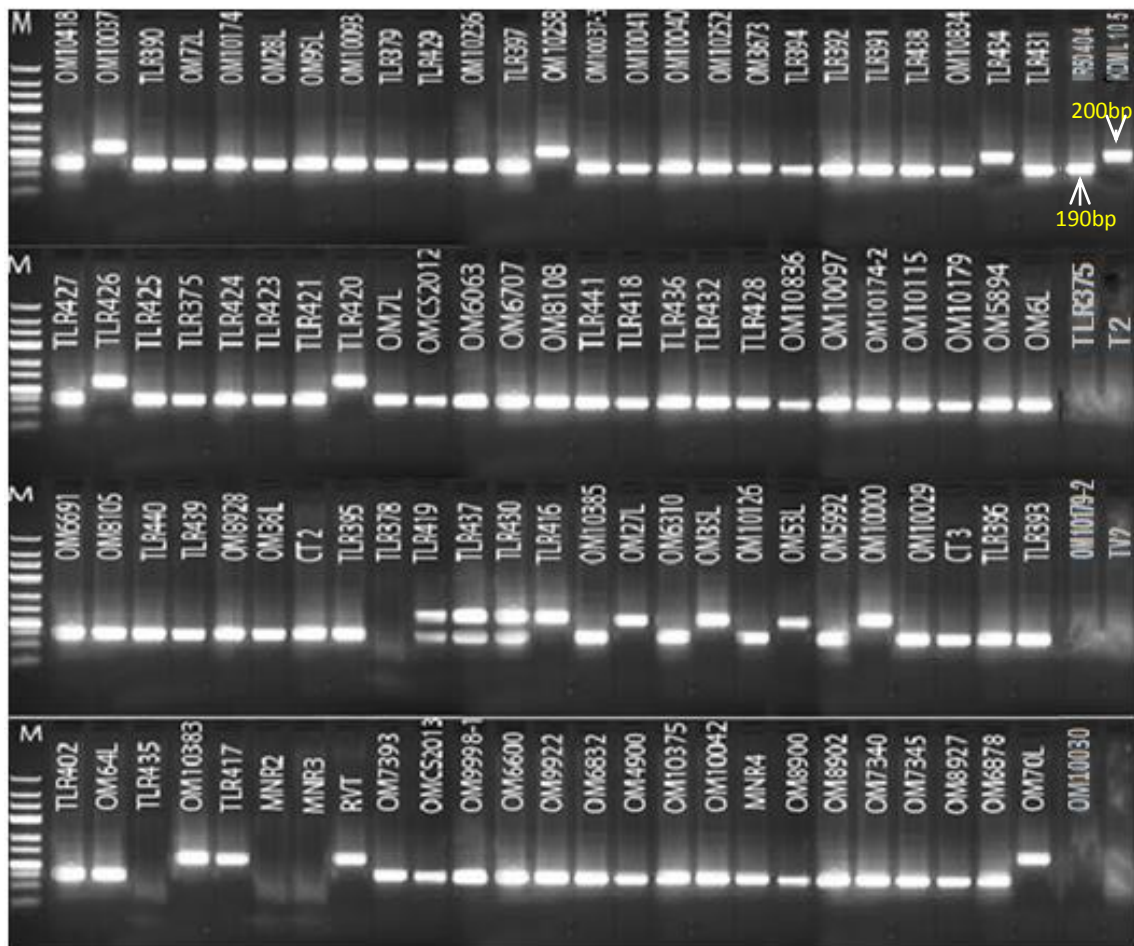
Như vậy, qua phân tích cây phân nhóm di truyền, các giống trong nhóm A1 là các giống có tỷ lệ bạc bụng rất thấp, thích hợp làm cá thể cho (donor) tính trạng hạt trong. Trong đó, các giống ưu tú nhất là **TLR434** và **RVT** (cấp bạc bụng 0-1), không bạc bụng hoặc bạc bụng rất thấp.



Hình 3.3: Phân nhóm di truyền các giống lúa vật liệu lai dựa trên kết quả đánh giá cấp bậc bụng

3.1.3. Phân tích kiểu gen liên quan đến độ bạc bụng của các giống lúa vật liệu lai

Trong rất nhiều tính trạng về phẩm chất gạo, tính trạng bạc bụng luôn được quan tâm của các nhà khoa học và thị trường. Tuy nhiên, tỷ lệ bạc bụng là tính trạng đa gen và chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện môi trường (Sun và ctv., 2015; Trần Thanh Sơn, 2008). Trong nghiên cứu này, hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 liên kết với gen qui định tính trạng bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7 (Lang và ctv., 2015; Zhou và ctv., 2009) được sử dụng để đánh giá kiểu gen của các giống lúa.

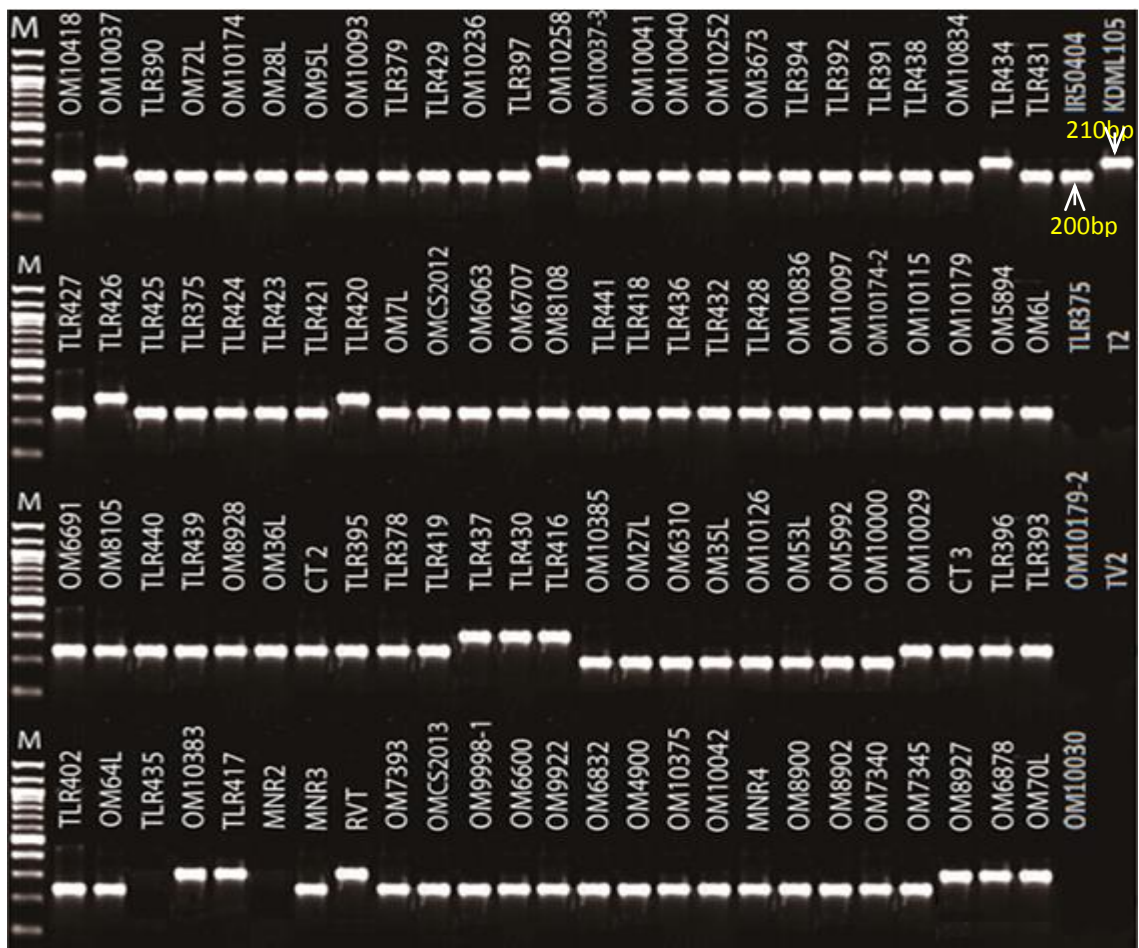


Hình 3.4: Sản phẩm PCR của các mẫu giống lúa tại Indel5 định vị trên NST 7

Chú thích: M: thang chuẩn (1Kb⁺)

Đối với chỉ thị phân tử Indel5, sản phẩm PCR được khuếch đại đạt 91,4% (9/105 mẫu không thể hiện băng hình). Kết quả sản phẩm PCR với chỉ thị Indel5

trên gel agarose 3% cho thấy đa hình với sự hiện diện của 2 alen với kích thước phân tử là 190bp và 200bp. Giống đối chứng KDML105 ít bạc bụng (tỷ lệ bạc bụng <10%) và cho băng hình ở kích thước 200bp, trong khi đó, giống IR50404 rất bạc bụng (tỷ lệ bạc bụng >10%) có vị trí là 190bp. Điều này cho thấy vị trí 200bp là vị trí tương ứng với vị trí đánh dấu gen qui định tính trạng ít bạc bụng ở gạo. Kết quả điện di ở hình 3.4 cho thấy 15 giống có vị trí băng 200bp hay mang gen ít bạc bụng bao gồm: KDML105, OM10000, OM10037, OM10258, OM10383, OM27L, OM35L, OM53L, OM70L, TLR416, TLR417, TLR420, TLR426, TLR434 và RVT. Ba giống có băng hình dị hợp tử là TLR419, TLR430 và TLR437. Các giống còn lại có băng hình ở vị trí 190bp (không mang gen mục tiêu) hay không biểu hiện băng hình.



Hình 3.5: Sản phẩm PCR các mẫu giống lúa tại RM21938 định vị trên NST 7

Chú thích: M: thang chuẩn (1Kb⁺)

Đối với chỉ thị phân tử RM21938, số giống cho băng hình chiếm 98/105 giống hay hiệu suất khuếch đại DNA đạt khoảng 93,3%. Trên gel điện di 3%, hai kích thước băng hình ở 200bp và 210 bp đã được ghi nhận (Hình 3.5). Sự đa hình này phân biệt giữa giống ít bạc bụng và bạc bụng. Tương ứng với băng hình 210bp là giống đối chứng dương KDML105 (ít bạc bụng), đây là vị trí biểu hiện cho giống mang gen ít bạc bụng. Vị trí 200bp là vị trí thể hiện cho giống không mang gen mục tiêu, tương ứng là vị trí băng của giống đối chứng âm IR50404 (bạc bụng). Trong số 105 mẫu giống khác nhau, kết quả đánh giá gen mục tiêu liên quan tính trạng bạc bụng ở gạo cho thấy 19 giống cho băng hình ở 210bp, bao gồm: KDML105, OM6878, OM8927, OM10029, OM10037, OM10258, OM10383, CT3, OM70L, TLR393, TLR396, TLR416, TLR417, TLR420, TLR426, TLR430, TLR437, TLR434 và RVT. Các giống còn lại ở vị trí 200bp (không mang gen) hoặc không cho băng hình. Không có băng hình dị hợp tử xuất hiện trên gel agarose.

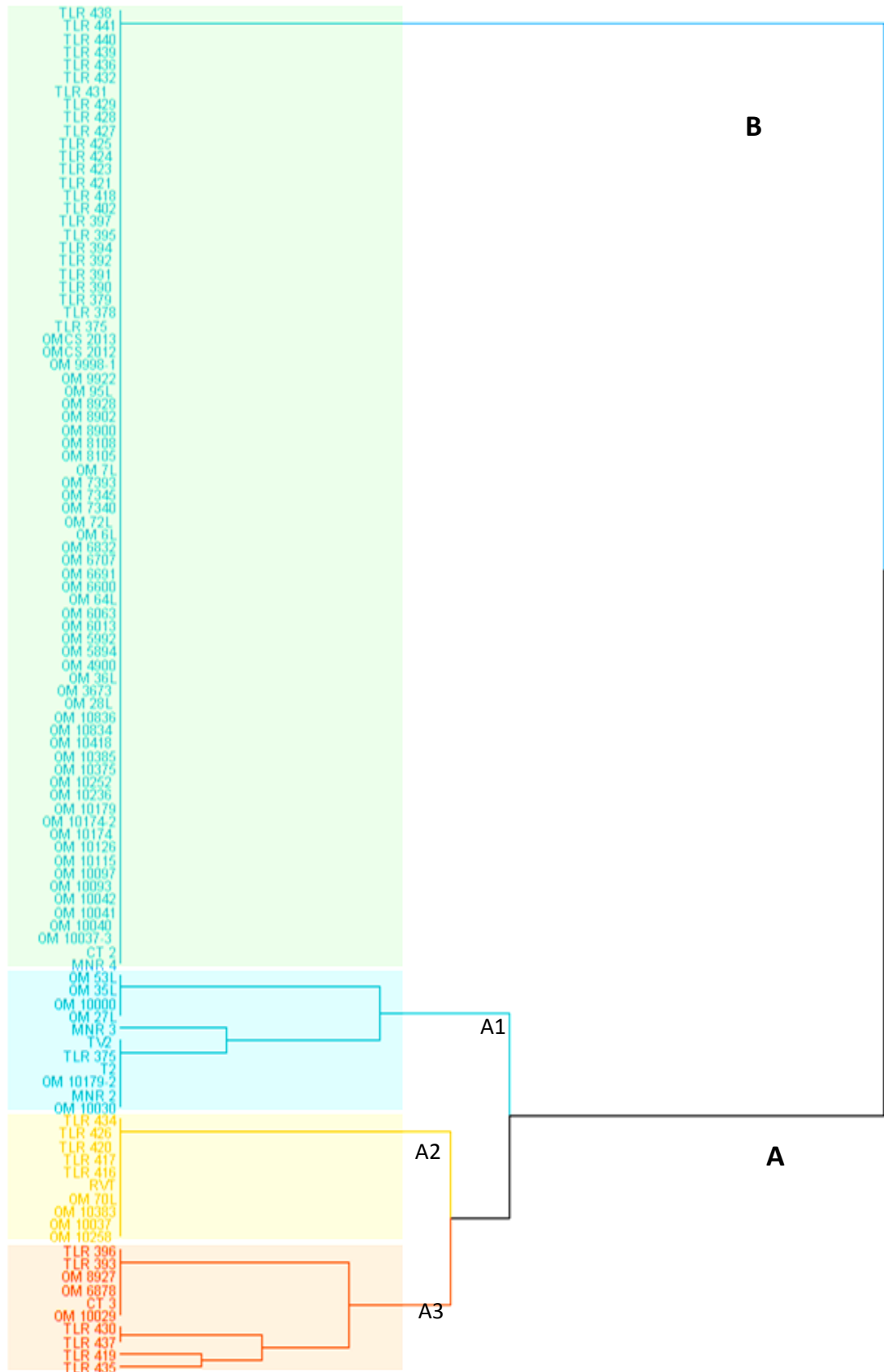
Khi so sánh kết quả kiểu hình và kiểu gen, các giống lúa có độ bạc bụng nhỏ hơn 10% với giả thuyết là các giống sẽ mang gen qui định tính trạng hạt gạo ít bạc bụng. Kết quả trên Bảng 3.2 và bảng 3.16 (Phụ lục 4) cho thấy đa số giống có sự trùng khớp, tuy nhiên, một số giống có sự mâu thuẫn giữa kiểu hình và kiểu gen.

Bảng 3.2: Tỷ lệ chính xác của kiểu gen so với kiểu hình dựa trên 2 chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938

Chỉ thị phân tử	Số lượng giống/dòng	Kiểu gen				Tỷ lệ chính xác giữa kiểu gen và kiểu hình
		Không Bạc bụng	Bạc bụng	Dị Hợp	Không xác định	
Indel5	105	14	79	3	9	66,7% (70/105)
RM21938	105	18	80	0	7	67,6% (71/105)

Kết quả đánh giá tỷ lệ chính xác của kiểu gen so với kiểu hình cho thấy chỉ thị phân tử Indel5 đạt 66,7%, trong khi chỉ thị RM21938 là 67,6%. Các kết quả tương tự với kết quả nghiên cứu của Lang và ctv. (2015). Điều này cũng cho thấy rằng việc sử dụng hai chỉ thị Indel5 và RM21938 để đánh dấu hoặc phát hiện gen qui định tính trạng hạt gạo ít bạc bụng là hữu dụng và có ý nghĩa.

Như vậy, qua phân tích kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938, các giống biểu thị mang gen ít bạc bụng (đồng hợp tử) đồng nhất ở cả hai chỉ thị bao gồm các giống KDML105, OM10037, OM10258, OM10383, OM70L, TLR416, TLR417, TLR420, TLR426, TLR434 và RVT. Các giống này thuộc nhóm A2, là ứng cử viên của giống cho gen ít bạc bụng (giống bố). Các giống thuộc nhóm A1 và A3 mang gen ít bạc bụng nhưng ở thể dị hợp tử hoặc chỉ thể hiện mang gen mục tiêu với chỉ thị này nhưng không mang gen đối với chỉ thị khác. Nhóm B là nhóm các giống không mang gen mục tiêu (Hình 3.6).



Hình 3.6: Phân nhóm di truyền các giống dựa trên kết quả đánh giá kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938

3.1.4. Chọn bố mẹ cho lai tạo giống có độ bạc bụng thấp

Việc chọn giống lúa ứng dụng MAS đã đem lại những thành công nhất định trong thời gian gần đây như: rút ngắn thời gian chọn tạo, chọn được các giống chống chịu với điều kiện bất lợi, kháng bệnh, giống có phẩm chất tốt. Công tác lai tạo giống đòi hỏi bước đầu tiên và quan trọng là chọn lọc bố mẹ phù hợp. Việc làm này tạo ra thế hệ con lai kế thừa các tính trạng tốt của bố mẹ, phát huy ưu thế lai. Trong nghiên cứu, qua đánh giá kiểu hình và kiểu gen kết hợp phân nhóm di truyền cho thấy giống **TLR434** và **RVT** là hai giống mang gen ít bạc bụng (AA), đồng thời là hai giống có tỷ lệ bạc bụng thấp nhất (cấp bạc bụng 0-1). Hơn thế nữa, hai giống này qua phân nhóm kiểu hình hay kiểu gen đều nằm trong nhóm có tỷ lệ bạc bụng thấp (Hình 3.3 và Hình 3.6). Vì vậy, hai giống này được chọn làm bố (donor) cho gen ít bạc bụng.

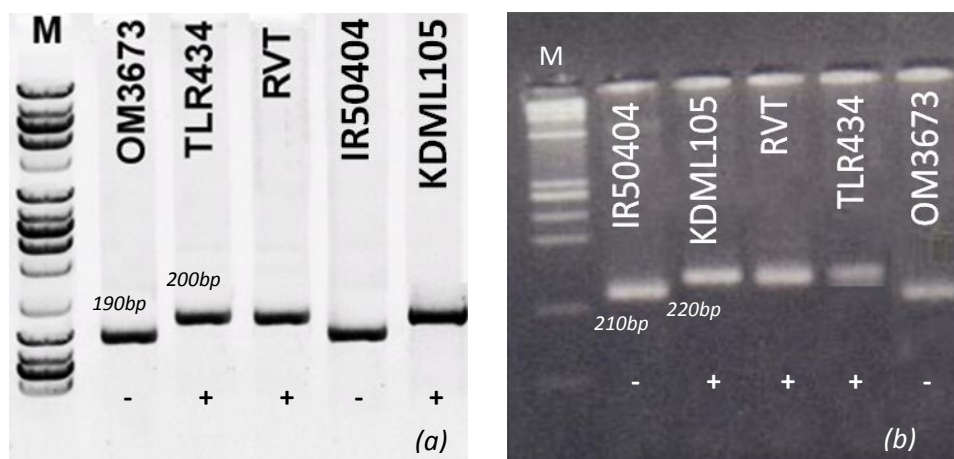


Hình 3.7: Hình ảnh giống OM3673 tại Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long

Trong các giống được đánh giá kiểu hình và kiểu gen liên quan tính trạng bạc bụng, **OM3673** được chọn như là giống làm mẹ (giống nhận gen), bởi vì, đây là giống có nhiều tính trạng tốt nhưng lại có nhược điểm là bạc bụng nhiều. Giống OM3673 được trồng phổ biến ở vùng đồng bằng Sông Cửu Long và công nhận là

giống sản xuất thử theo quyết định số 221/QĐ-TT-CLT ngày 02/06/2016 của Cục trồng trọt (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) (Hình 3.7). Giống OM3673 có nguồn gốc từ tổ hợp lai Lúa Giàu/Tiêu chùm. Thời gian sinh trưởng của giống này khá ngắn (95-100 ngày), chiều cao cây trung bình (95-100 cm) và khối lượng 1000 hạt đạt 25-26g. OM3673 có phẩm chất tốt, hạt gạo thon dài (~7,0 mm), hàm lượng amylose dao động 21-22%, hàm lượng sắt 5,1-5,3 mg/kg. Giống này không có mùi thơm và hạn chế lớn nhất là tỷ lệ bạc bụng cao (cấp 8-9). OM3673 chống chịu rất tốt với bệnh đạo ôn (cấp 1-2), chống chịu trung bình với rầy nâu (cấp 3-5) và hơi nhiễm bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá. Giống OM3673 đạt năng suất cao (4-5 tấn/ha trong vụ Hè Thu và 7-8 tấn trong vụ Đông Xuân), thích nghi rộng, chịu phèn, mặn khá. Về kiểu gen, OM3673 cho kết quả không mang gen ít bạc bụng (aa) với cả hai chi thị Indel5 và RM21938.

Tóm lại: Giống được chọn làm mẹ là OM3673 với các đặc tính di truyền mong muốn là năng suất cao, thích nghi rộng, phẩm chất khá tốt. Tuy nhiên, nhược điểm cần khắc phục của giống mẹ là tỷ lệ bạc bụng cao, không mang gen ít bạc bụng (Hình 3.8). Giống được chọn làm bố là TLR434 và RVT với đặc tính di truyền mong muốn là tỷ lệ bạc bụng rất thấp và mang gen ít bạc bụng (Hình 3.8). Hai quần thể con lai mong đợi là (OM3673 và TLR434) và (OM3673 và RVT).



Hình 3.8: Sản phẩm PCR tại locus Indel5 (a) và RM21938 (b) trên NST 7

Ghi chú: M: Thang chuẩn DNA (1Kb⁺)

3.2. Chọn tạo quần thể lai hồi giao liên quan tính trạng hạt gạo ít bạc bụng nhờ chỉ thị phân tử

3.2.1. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/RVT//OM3673

Quần thể hồi giao giữa OM3673 (giống mẹ) và RVT (giống bố) bắt đầu được lai tạo từ năm 2013 và các cá thể con lai liên tục được chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử cho đến thế hệ BC₃ (Hình 3.29- phụ lục 5). Các cá thể ở mỗi thế hệ được lựa chọn dựa trên kiểu hình bạc bụng và kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938. Số lượng cá thể được tạo ra và chọn lọc được ghi nhận cụ thể ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3: Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F₁ đến BC₃

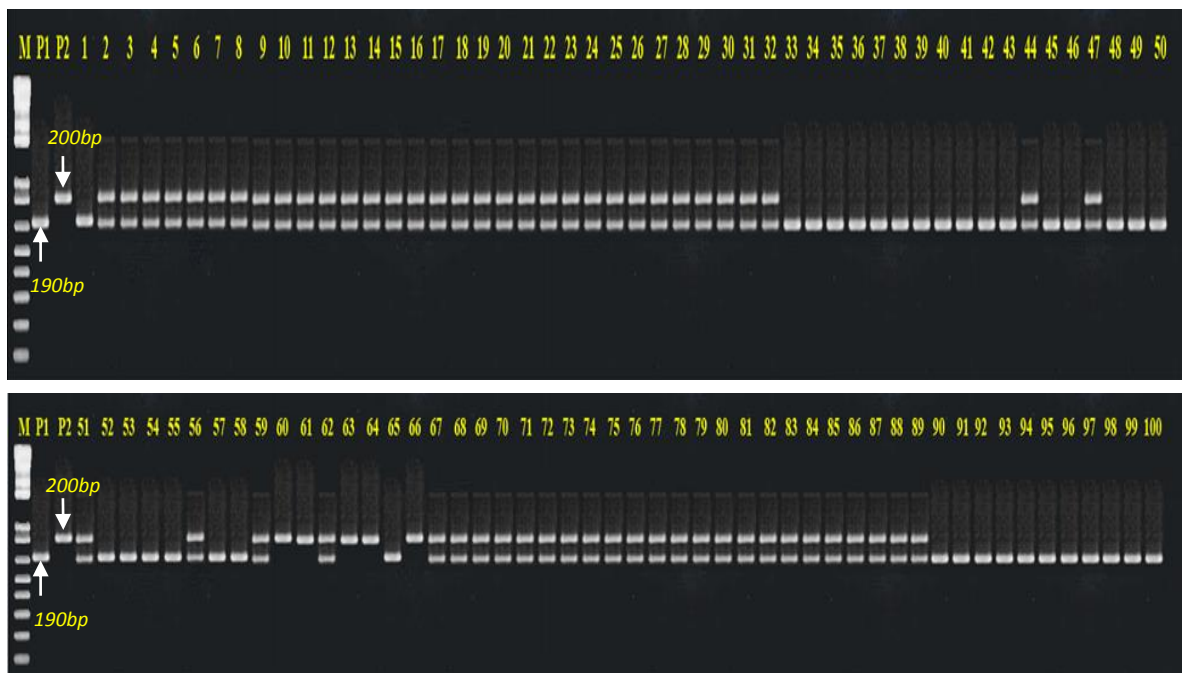
Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể được chọn đánh giá kiểu gen	Số cá thể được chọn thông qua đánh giá kiểu gen
F ₁	138		
BC ₁ F ₁	107		
BC ₁ F ₂	327	100	5
BC ₂ F ₁	159		
BC ₂ F ₂	255	100	14
BC ₃ F ₁	350		
BC ₃ F ₂	201	77	10

3.2.1.1. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC₁ của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673

Quần thể BC₁F₁ của tổ hợp lai OM3673/RVT//OM3673 được tạo ra trong năm 2013. Các cá thể của quần thể BC₁F₁ tự thụ cho thế hệ BC₁F₂. Ở thế hệ này, 100 cá thể cây khỏe mạnh được chọn lọc cho đánh giá kiểu gen liên quan tính trạng bạc bụng ở hạt gạo. Mục đích của đánh giá kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 trên quần thể này nhằm chọn lọc các cá thể cây có kiểu gen qui định tính trạng ít bạc bụng trên gạo ở thể đồng hợp tử (AA).

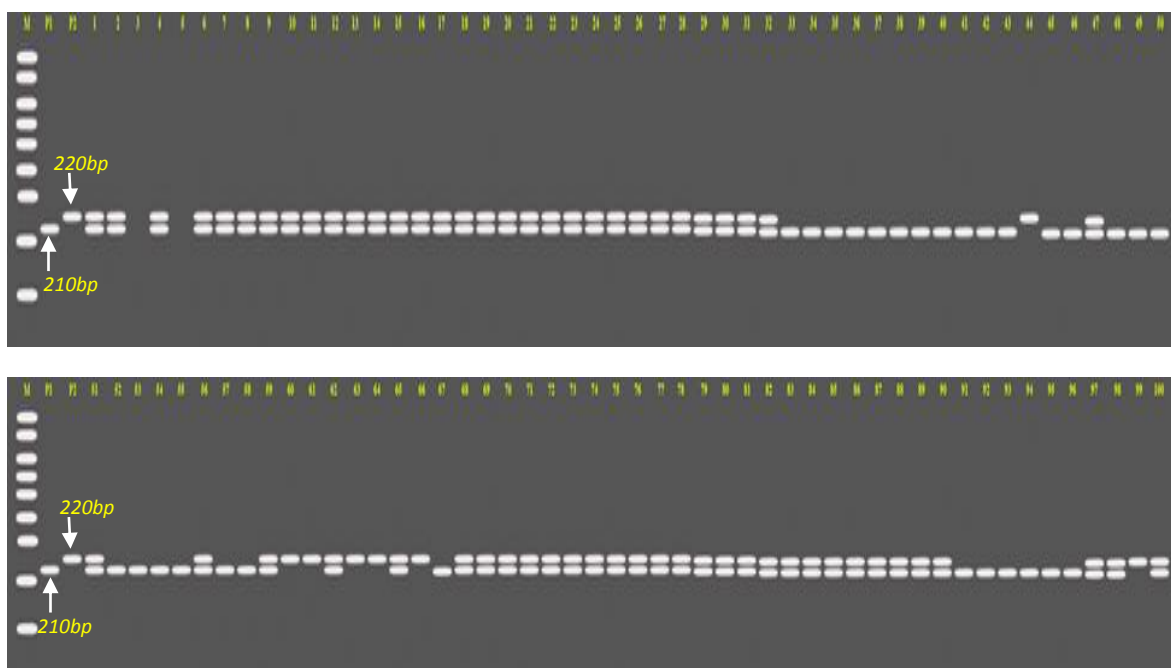
Sản phẩm kiểu gen với chỉ thị Indel5 cho kết quả băng hình ở hai vị trí 190 và 200 bp, trong đó, vị trí băng 200 bp (RVT) tương ứng với vị trí thể hiện cá thể mang gen mục tiêu. Kết quả trên hình 3.9 ghi nhận 60 cá thể cho băng dị hợp (Aa), 5 cá thể mang gen đồng hợp (cá thể số 60, 61, 63, 64 và 66), các cá thể còn lại không mang gen (aa).

Sản phẩm PCR với chỉ thị RM21938 cho băng hình ở hai vị trí 210 và 220 bp, trong đó, vị trí băng 220 bp (RVT) tương ứng với vị trí thể hiện cá thể mang gen mục tiêu. Kết quả trên hình 3.10 ghi nhận 62 cá thể mang gen dị hợp (Aa), 7 cá thể mang gen đồng hợp (cá thể số 44, 60, 61, 63, 64, 66 và 99), các cá thể còn lại không mang gen (aa) hoặc không xuất hiện băng hình (cá thể số 3 và 5).



Hình 3.9: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_1F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); P1: OM3673; P2: RVT; 1-100: các cá thể BC_1F_2



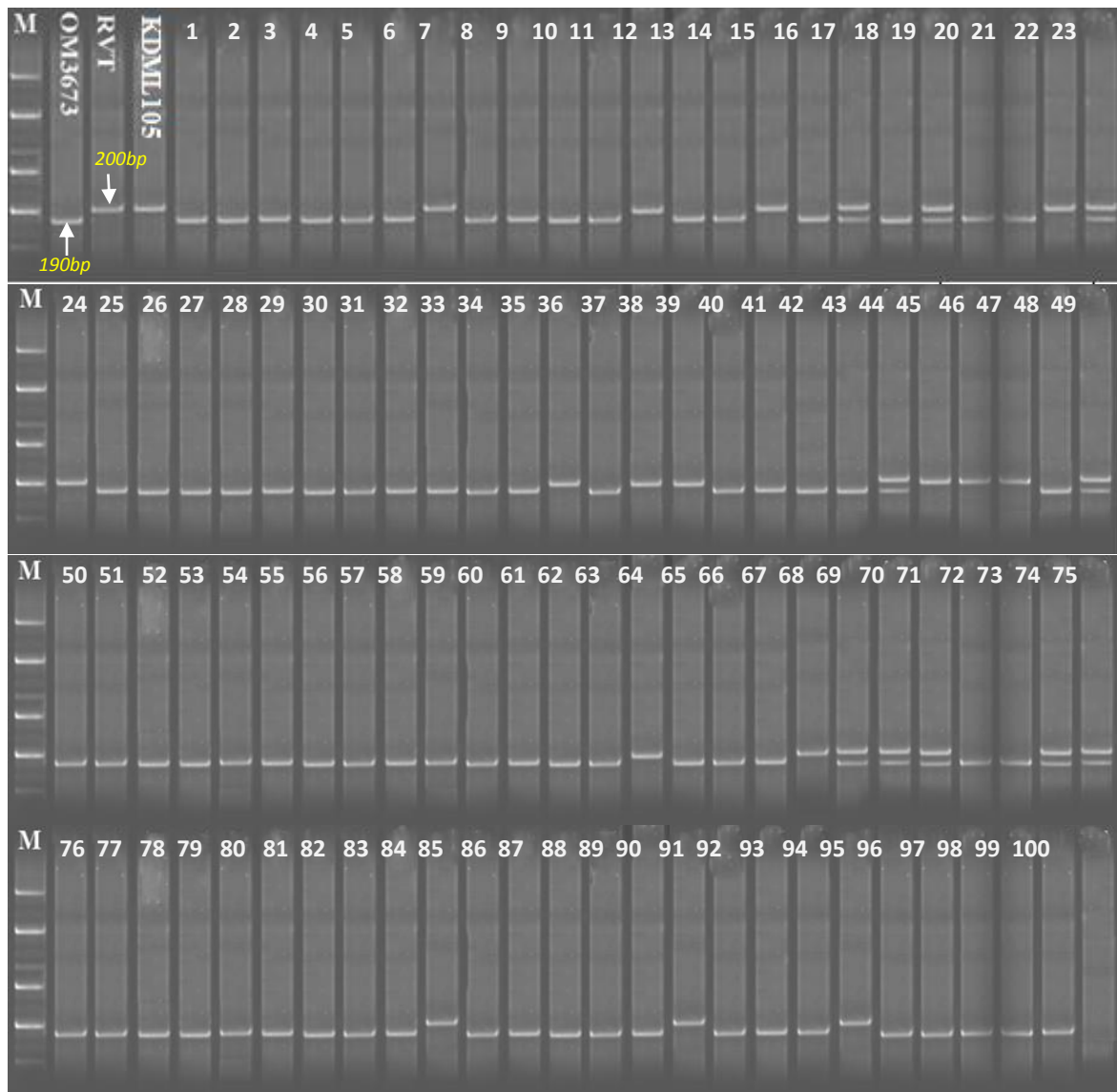
Hình 3.10: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC₁F₂ với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); P1: OM3673; P2: RVT; 1-100: các cá thể BC₁F₂

Như vậy, qua đánh giá kiểu gen liên quan tính bạc bụng ở gạo với hai chỉ thị Indel5 và RM21938 cho thấy kết quả tương đồng giữa hai chỉ thị này đạt cao (88%). Các cá thể được dự đoán là mang gen mục tiêu ở thể đồng hợp (AA) ở cả hai chỉ thị trên là cá thể số 60, 61, 63, 64 và 66. Các cá thể cây này được chọn lựa để lai tạo cho thế hệ tiếp theo.

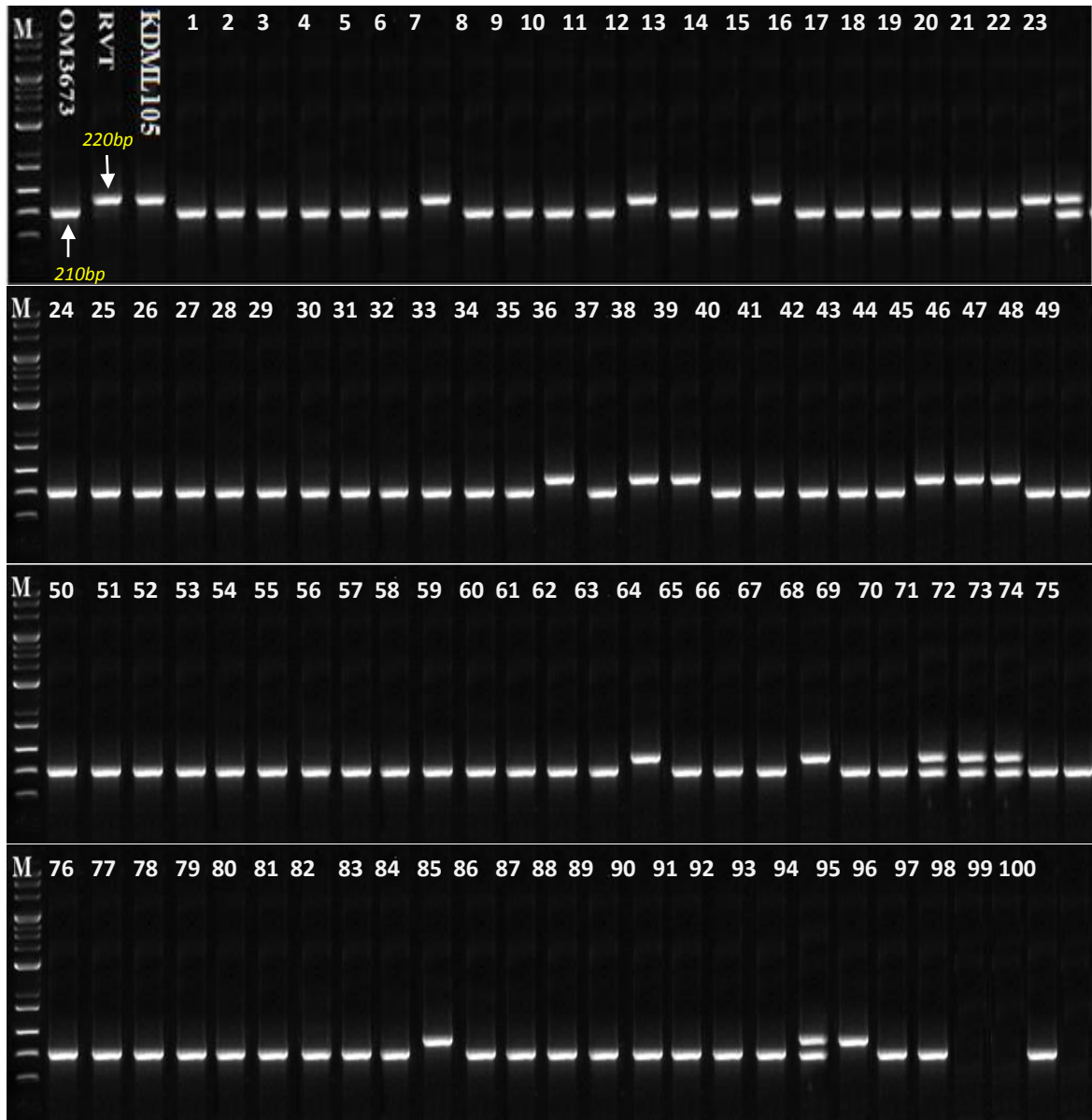
3.2.1.2. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC₂ của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673

Quần thể BC₂F₁ của tổ hợp hồi giao OM3673/RVT//OM3673 được tạo ra trong năm 2014. Các cá thể của quần thể (159) trên được cho tự thụ và tạo nên quần thể BC₂F₂. Ở quần thể BC₂F₂, 100 cá thể cây sinh trưởng khỏe được chọn lọc để tìm gen mục tiêu. Tương tự như ở thế hệ BC₁, hai chỉ thị Indel5 và RM21938 được sử dụng để tìm gen quy định tính trạng bạc bụng ở lúa. Trên gel agarose 3%, vị trí băng tương ứng gen mục tiêu là 200 bp đối với Indel5 và 220 bp đối với RM21938.



Hình 3.11: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_2F_2



Hình 3.12 Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

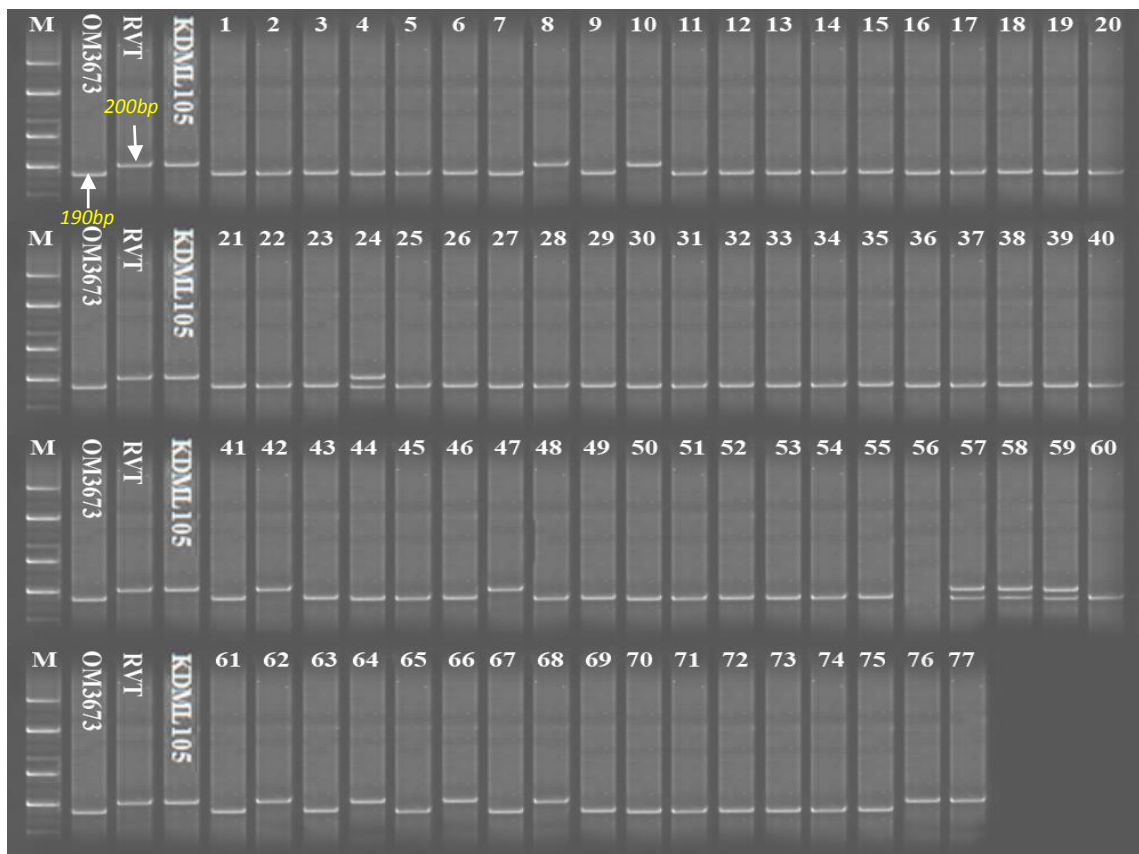
Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_2F_2

Đối với chỉ thị Indel5, 16 cá thể (số 7, 12, 15, 22, 24, 36, 38, 39, 45, 46, 47, 64, 68, 85, 91, 95) có băng ở vị trí 200 bp tương ứng với vị trí cho gen đích. Mười (10) cá thể mang gen dị hợp, còn lại các cá thể khác không mang gen (Hình 3.11). Trong khi đó, ở kết quả PCR với chỉ thị RM21938, 14 cá thể mang gen đồng hợp (băng hình có kích thước 220 bp). Các cá thể mang gen là cá thể số 7, 12, 15, 22,

36, 38, 39, 45, 46, 47, 64, 68, 85 và 95. Năm (5) cá thể mang gen dị hợp, 2 cá thể không cho băng hình và các cá thể còn lại không mang gen (Hình 3.12).

So sánh kết quả đánh giá kiểu gen với hai chỉ thị Indel5 và RM21938 cho thấy mức độ tương đồng đạt rất cao (85%). Ở thế hệ BC_2 , các cá thể đồng đều hơn so với thế hệ trước đó (BC_1) vì có số lượng cá thể dị hợp giảm đi rất nhiều. Trong số 100 cá thể ban đầu, các cá thể được dự đoán là mang gen mục tiêu ở cả hai chỉ thị bao gồm cá thể số 7, 12, 15, 22, 36, 38, 39, 45, 46, 47, 64, 68, 85 và 95. Mười bốn (14) cá thể này được chọn để lai hồi giao tiếp tục với giống OM3673 để tạo quần thể BC_3 của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673.

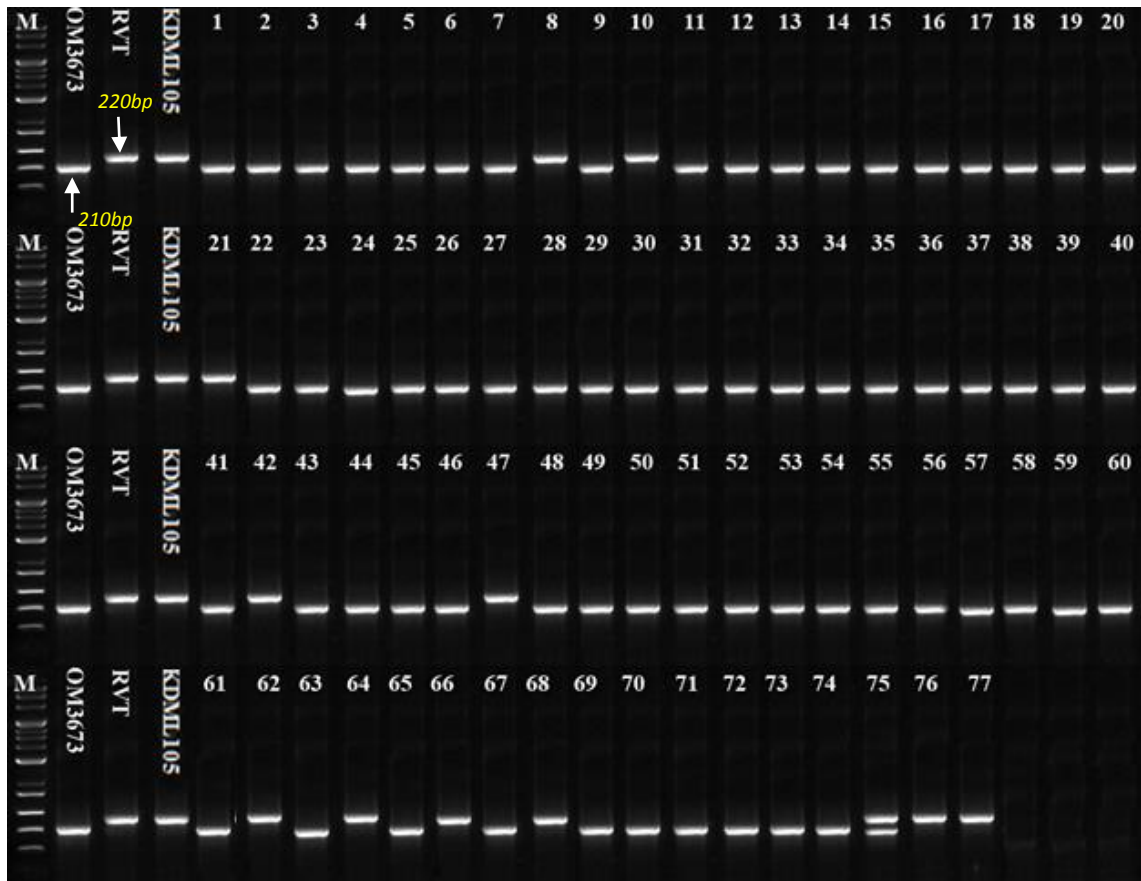
3.2.1.3. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_3 của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673



Hình 3.13: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_3F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-77: các cá thể BC_3F_2

Tương tự như các quần thể trên, quần thể BC₃ của tổ hợp lai OM3673/RVT//OM3673 cũng được lai tạo trong nhà lưới trong vụ Thu Đông 2014. Nhằm mục đích tìm kiếm gen đích biểu hiện trên cá thể con lai, quần thể này cũng cho tự thụ đến thế hệ BC₃F₂. Bảy mươi bảy (77) cá thể khỏe được lựa chọn từ quần thể bao gồm 255 cây. Hai chỉ thị Indel5 và RM21938 được sử dụng để dò tìm gen mục tiêu trên các cá thể lúa. Kết quả sản phẩm PCR với hai chỉ thị phân tử trên gel agarose 3% được thể hiện ở hình 3.13 và hình 3.14. Vị trí băng cho cá thể mang gen mục tiêu là 200 bp với chỉ thị Indel5 và 220 bp với chỉ thị RM21938.



Hình 3.14: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC₃F₂ với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-77: các cá thể BC₃F₂

Trên kết quả điện di của sản phẩm gen với chỉ thị Indel5 cho thấy trong số 77 cá thể, 10 cá thể có băng hình ở vị trí 200 bp tương ứng với vị trí mang gen đích đồng hợp tử (AA) gồm 8, 10, 42, 47, 62, 64, 66, 68, 76 và 77. Cá thể mang gen ở

thể dị hợp là cá thể số 24, 57, 58 và 59. Các cá thể còn lại có băng ở vị trí 190 bp (không mang gen). Đối với chỉ thị RM21938, các cá thể cho kết quả đa hình với vị trí 220 bp tương ứng với cá thể mang gen mục tiêu. Các cá thể được dự đoán là mang gen đích bao gồm 8, 10, 42, 47, 62, 64, 66, 68, 76 và 77 (10 cá thể). Các cá thể còn lại là gen dị hợp tử hoặc không mang gen liên quan tính trạng ít bạc bụng.

Mức độ tương đồng giữa kết quả đánh giá kiểu gen của hai chỉ thị trên trong đánh giá này đạt gần như hoàn hảo (90,9%). Số lượng cá thể dị hợp cũng giảm dần so với các thế hệ trước. Điều này cũng cho thấy mức độ ngày càng ổn định về mặt di truyền của các thế hệ lai tạo hồi giao càng nhiều lần. Các cá thể có tiềm năng cho gen ít bạc bụng được đánh giá bằng hai chỉ thị Indel5 và RM21938 là cá thể số 8, 10, 42, 47, 62, 64, 66, 68, 76 và 77.

Mười (10) cá thể trên được đánh dấu, thu hoạch ở thời điểm 25 ngày sau khi lúa trổ và đánh giá bạc bụng. Cấp bạc bụng của các dòng này được thể hiện ở Bảng 4.4. Hầu hết các dòng có tỷ lệ bạc bụng dưới 10%, cấp bạc bụng trung bình của các dòng này đạt 4,07, trong đó, giống mẹ OM3673 là ở cấp 5,35 và giống bố cho gen mục tiêu (RVT) có độ bạc bụng ở cấp 1,31. Trong số 10 dòng được đánh giá bạc bụng ghi nhận 2 dòng (dòng BC₃F₂-8 và dòng BC₃F₂-42) (Hình 3.15) có cấp bạc bụng thấp nhất (gạo ít bạc bụng nhất) và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại. Hai dòng này được chọn lọc để phát triển ngoài đồng ruộng và trên diện rộng.



Hình 3.15: Hai dòng số 8 và dòng 42 sau khi được thu hoạch và chà trắng hạt gạo

Bảng 3.4: Cấp bậc bụng của 10 dòng triển vọng mang gen qui định tính trạng ít bậc bụng

STT	Tên dòng	Số lượng hạt (hạt)				Cấp bậc bụng trung bình
		Cấp 0	Cấp 1	Cấp 5	Cấp 9	
1	BC ₃ F ₂ -8	40	39	17	4	1,60 a
2	BC ₃ F ₂ -10	16	25	33	26	4,24 bc
3	BC ₃ F ₂ -42	44	25	23	8	2,12 ab
4	BC ₃ F ₂ -47	15	15	33	37	5,13 c
5	BC ₃ F ₂ -62	21	18	40	21	4,07 bc
6	BC ₃ F ₂ -64	14	24	28	34	4,70 c
7	BC ₃ F ₂ -66	20	10	37	33	4,92 c
8	BC ₃ F ₂ -68	11	31	16	42	4,89 c
9	BC ₃ F ₂ -76	20	15	34	31	4,64 c
10	BC ₃ F ₂ -77	10	11	35	44	5,82 c
11	RVT	53	29	15	3	1,31 a
12	OM3673	9	12	47	32	5,35 c
Mức ý nghĩa (F)						**
Nhỏ nhất						1,06
Lớn nhất						6,38
Trung bình						4,07
Độ lệch chuẩn (SD)						1,62
Sai số chuẩn (SE)						0,65

Chú thích: **: rất có ý nghĩa

3.2.2. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/TLR434//OM3673

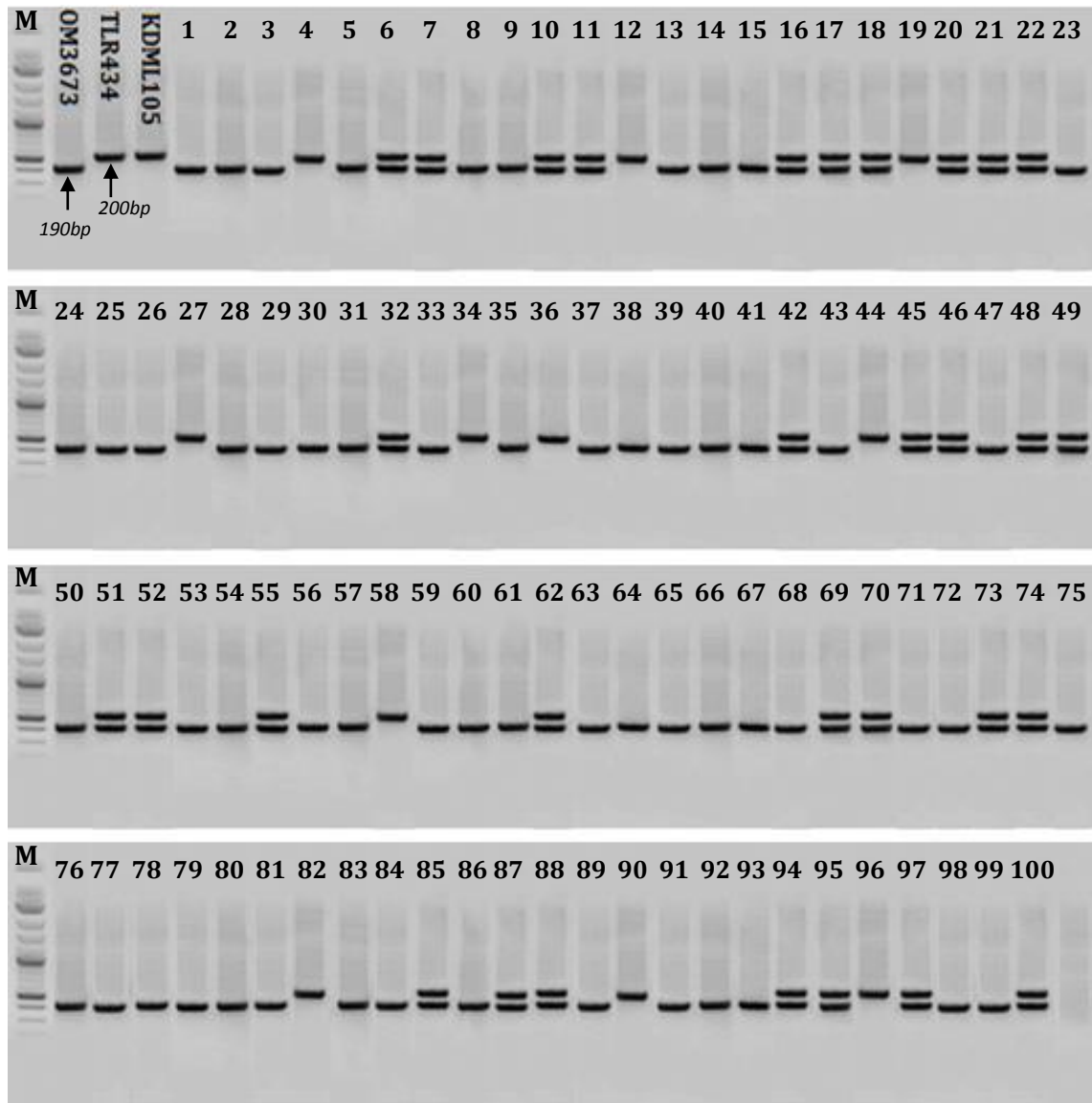
Quần thể hồi giao giữa OM3673 (giống mẹ) và TLR434 (giống bố) bắt đầu được lai tạo từ cuối năm 2013 và các cá thể con lai liên tục được chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử cho đến thế hệ BC₂. Các cá thể ở mỗi thế hệ được lựa chọn dựa trên kiểu hình bậc bụng và kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938. Số lượng cá thể được tạo ra và chọn lọc được ghi nhận cụ thể ở Bảng 3.5.

Bảng 3.5: Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F_1 đến BC_2

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể được chọn đánh giá kiểu gen	Số cá thể được chọn thông qua đánh giá kiểu gen
F_1	197		
BC_1F_1	244		
BC_1F_2	372	100	7
BC_2F_1	156		
BC_2F_2	434	100	4

3.2.2.1. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_1 của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673

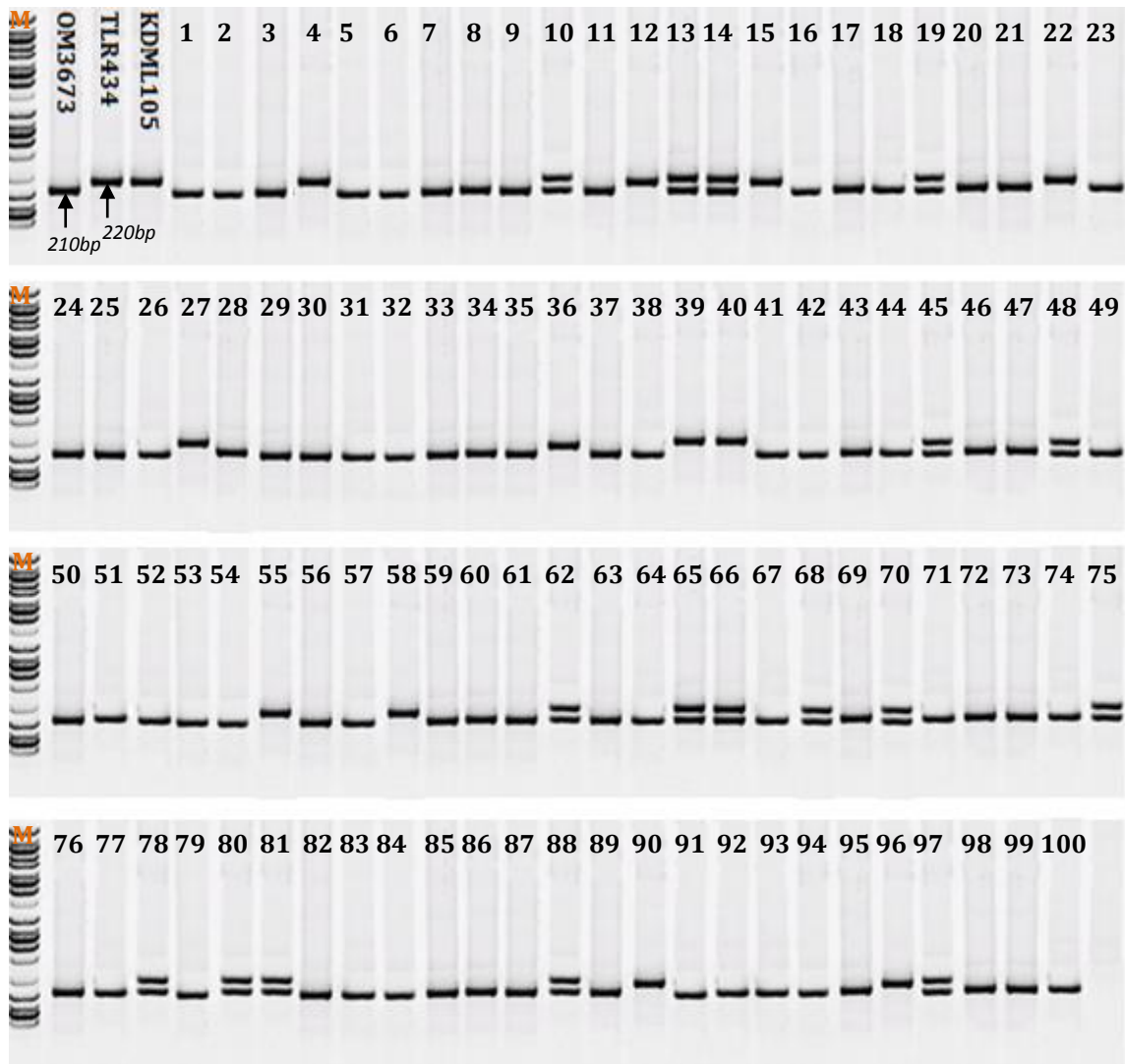
Trong vụ Thu Đông 2013, tổ hợp OM3673/TLR434 được lai tạo trong nhà lưới và thu nhận hạt lai thế hệ F_1 . Các cây F_1 tiếp tục được lai hồi giao với OM3673 tạo quần thể BC_1F_1 với 244 cá thể cây. Các cá thể này được tự thụ tạo quần thể BC_1F_2 . Một trăm (100) cá thể BC_1F_2 khỏe mạnh được lựa chọn để đánh giá kiểu gen quy định tính trạng bạc bụng với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 (hình 3.30 – Phụ lục 5). Các cây có kiểu gen đồng hợp trội sẽ được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.16: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_1F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_1F_2

Các dòng (100 dòng) BC_1F_2 của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673 được đánh giá kiểu gen liên quan tính trạng bạc bụng với chỉ thị phân tử Indel5. Trên gel agarose 3%, sản phẩm PCR với chỉ thị Indel5 cho kết quả đa hình với hai kích thước 190bp (không mang gen đích) và 200 bp (mang gen đích) (Hình 3.16). Trong đó, các cá thể mang gen đồng hợp bao gồm cá thể số 4, 12, 19, 27, 34, 36, 44, 58, 82, 90 và 96 (chiếm 11%). Các cá thể mang gen thể dị hợp gồm 31 cá thể và còn lại là các cây không mang gen mục tiêu.



Hình 3.17: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_1F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_1F_2

Sản phẩm gen với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3% cũng cho kết quả đa hình với hai vị trí băng hình là 210 bp (không mang gen đích) và 220 bp (mang gen đích) (Hình 3.17). Các cá thể được dự đoán mang gen mục tiêu đồng hợp chiếm 12%, bao gồm cá thể số 4, 12, 15, 22, 27, 36, 39, 40, 55, 58, 90 và 96. Trong khi đó, các cá thể mang gen dị hợp chiếm 16%, còn lại là các cá thể không mang gen (72%).

Qua phân tích kiểu gen BC_1F_2 với hai chỉ thị Indel5 và RM21938, mức độ tương đồng của kết quả băng hình đạt khoảng 45%. Các cá thể được đánh giá là mang gen mục tiêu đồng hợp (AA) bao gồm cá thể số 4, 12, 27, 36, 58, 90 và 96. Bảy (7) cá thể này được chọn lựa, đánh dấu và cho lai hồi giao với cây mẹ (OM3673) để tạo quần thể BC_2 cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2.2.2. Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC_2 của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673

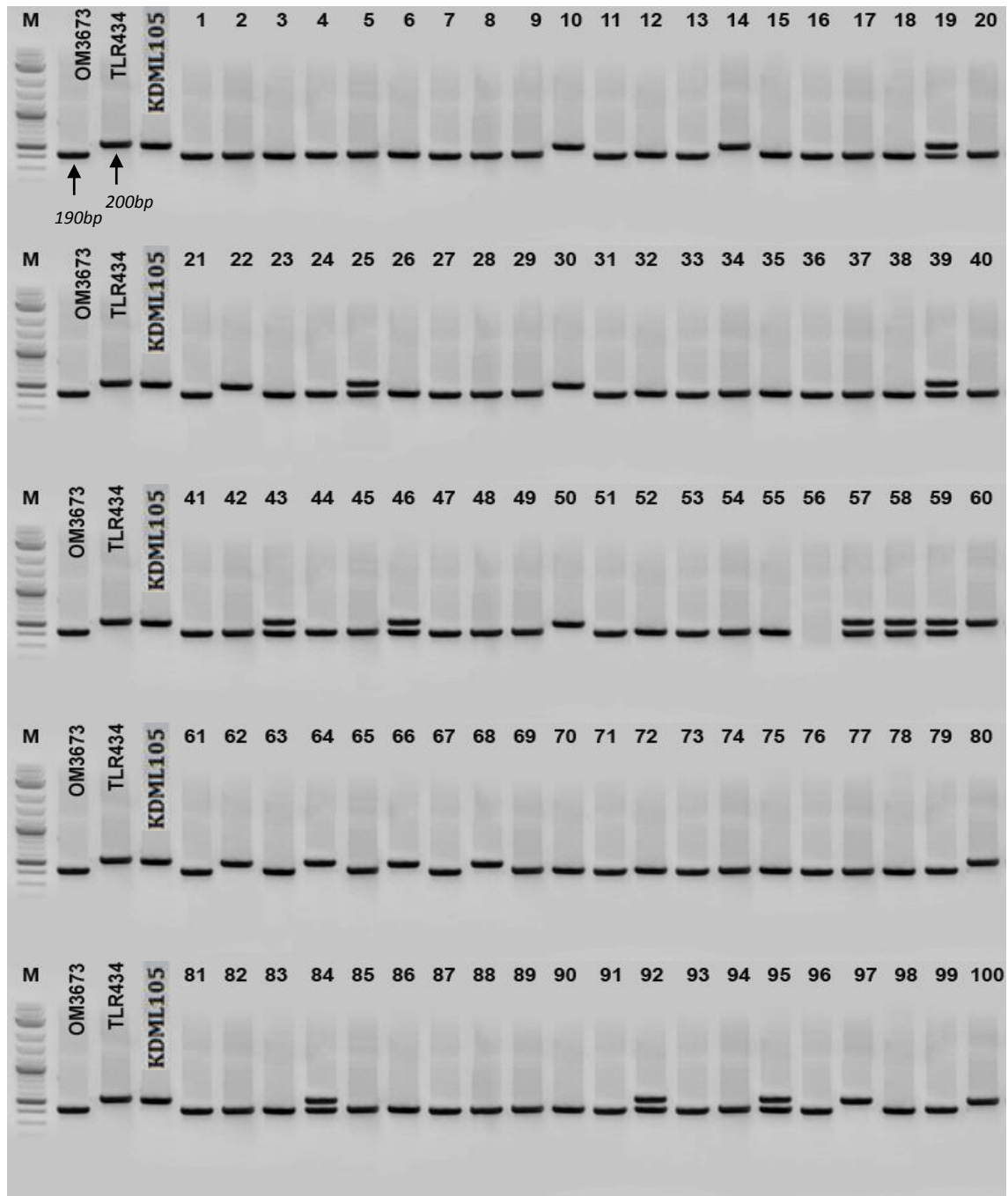
Trong vụ Thu Đông 2014, quần thể BC_2F_1 được tạo ra với 156 cá thể. Các cá thể này được cho tự thụ đến thế hệ BC_2F_2 , bao gồm 434 cá thể cây. Ở thế hệ BC_2F_2 , đánh giá kiểu gen liên quan đến tính trạng bạc bụng được thực hiện với 100 cá thể cây khỏe mạnh được lựa chọn. Tương tự như ở thế hệ BC_1 , hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 cũng được sử dụng để tìm gen mục tiêu. Trên gel agarose 3%, vị trí băng thể hiện cá thể mang gen đích là ở kích thước 200 bp đối với Indel5 và 220 bp đối với RM21938.

Đối với chỉ thị Indel5, kết quả sản phẩm gen được thể hiện trên Hình 3.18. Các cá thể mang gen mục tiêu đồng hợp (vị trí băng hình ở 200 bp) chiếm 13%, bao gồm các cá thể số 10, 14, 22, 30, 50, 60, 62, 64, 66, 68, 80, 97 và 100. Trong khi đó, cá thể dị hợp gen đích chiếm 11%, còn lại các cá thể khác không biểu hiện mang gen đích.

Đối với chỉ thị RM21938, sản phẩm PCR trên gel agarose 3% biểu hiện đa hình với băng 210 bp và 220 bp (Hình 3.19). Trong đó, vị trí băng tương ứng mang gen mục tiêu là 220 bp (vị trí của KDML105, TLR434). Các cá thể mang gen đích đồng hợp bao gồm cá thể số 2, 14, 30, 50, 57, 59, 60, 61, 63, 65, 67, 79, 80, 89, 95 và 96 (chiếm 16%). Bảy (7) cá thể mang gen dị hợp và các cá thể khác biểu hiện không mang gen mục tiêu.

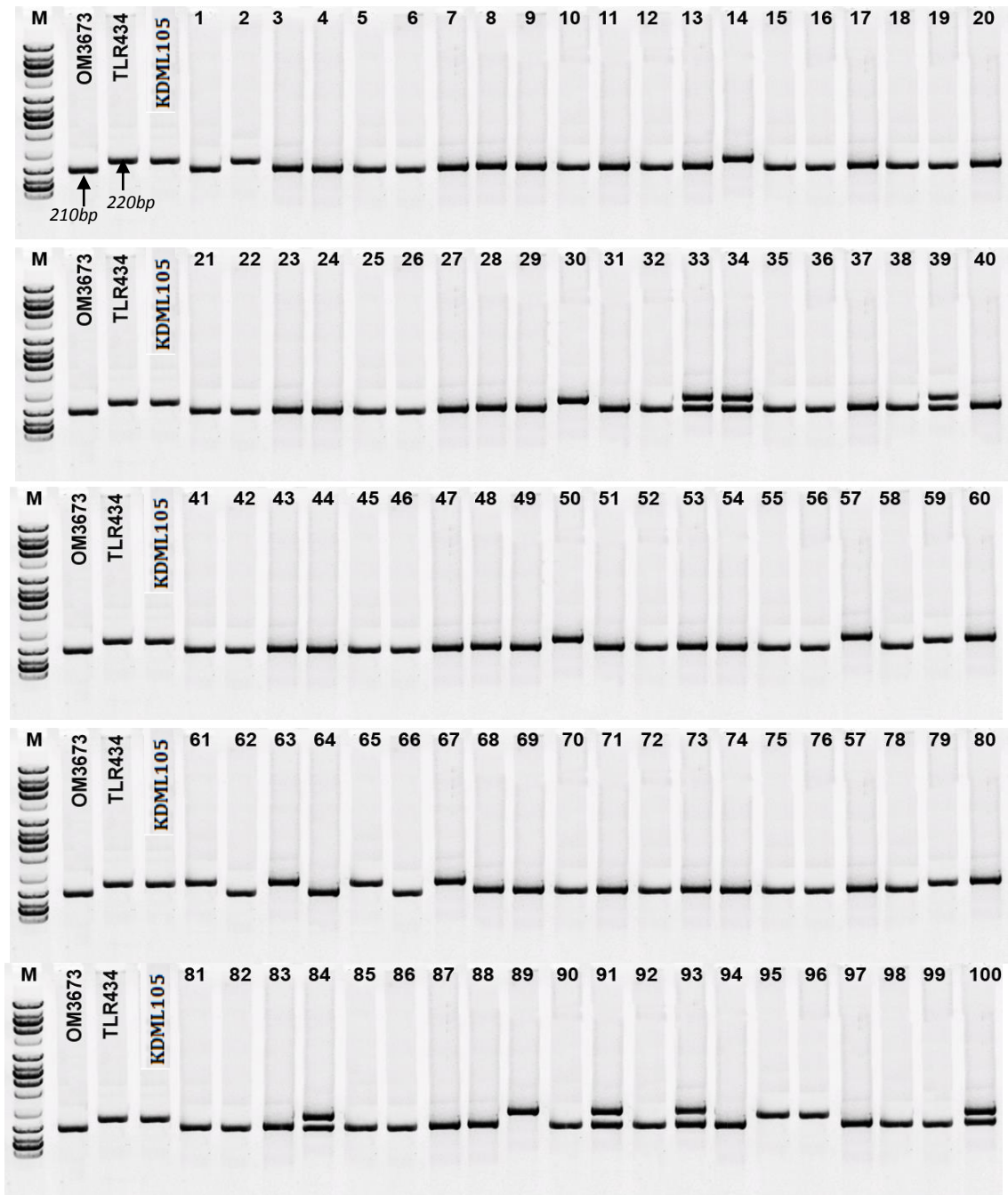
Phân tích kiểu gen của quần thể BC_2F_2 với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 cho thấy mức độ tương đồng kết quả đạt 70%. Các cá thể mang gen đồng hợp (AA) được chọn lọc qua phân tích kiểu gen là cá thể 14, 30, 50, 60 và 80. Các

dòng này được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo, các dòng khác mang gen đích nhưng không đồng nhất giữa hai chỉ thị hoặc mang gen dị hợp được lưu trữ lại.



Hình 3.18: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_2F_2



Hình 3.19: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thế hệ BC_2F_2 với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb^+); 1-100: các cá thể BC_2F_2

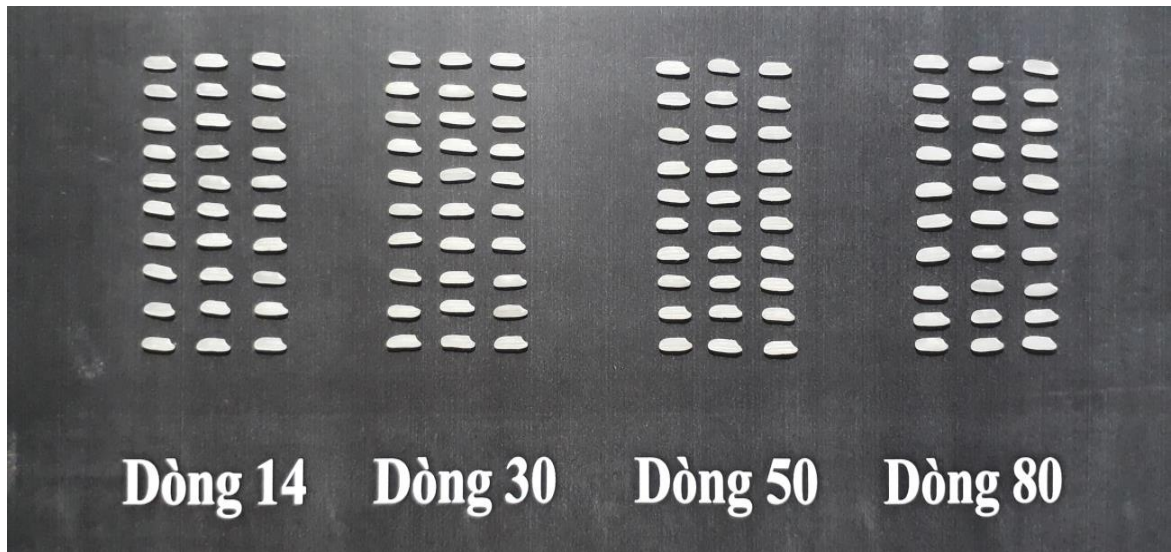
Năm (5) dòng (14, 30, 50, 60 và 80) được đánh dấu, thu hoạch và phân tích cấp độ bậc bụng, với hai đối chứng là OM3673 và TLR434 (Bảng 3.6). Kết quả

đánh giá cho thấy đa số các dòng có tỷ lệ bạc bụng thấp, trong đó, 4 dòng có tỷ lệ bạc bụng trung bình rất thấp là dòng BC₂F₂-30 (cấp 1,81), BC₂F₂-80 (cấp 1,93), BC₂F₂-50 (cấp 2,39) và BC₂F₂-14 (cấp 2,51). Riêng dòng BC₂F₂-60, hạt bạc bụng cấp 9 cao (30%), dòng này sẽ không được chọn để tiếp tục phát triển giống ít bạc bụng. Hình ảnh của 4 dòng triển vọng (BC₂F₂-30, BC₂F₂-80, BC₂F₂-50 và BC₂F₂-14) được ghi nhận ở Hình 3.20.

Bảng 3.6: Cấp bạc bụng của 4 dòng triển vọng mang gen qui định tính trạng ít bạc bụng

STT	Tên dòng	Số lượng hạt (hạt)				Cấp bạc bụng trung bình
		Cấp 0	Cấp 1	Cấp 5	Cấp 9	
1	BC ₂ F ₂ -14	33	35	18	14	2,51 ab
2	BC ₂ F ₂ -30	35	36	29	0	1,81 a
3	BC ₂ F ₂ -50	37	29	24	10	2,39 ab
4	BC ₂ F ₂ -60	21	37	12	30	3,67 bc
5	BC ₂ F ₂ -80	47	20	31	2	1,93 a
6	TLR434	53	29	15	3	1,31 a
7	OM3673	10	14	46	30	5,14 c
Mức ý nghĩa (F)						**
Nhỏ nhất						1,30
Lớn nhất						5,57
Trung bình						2,68
Độ lệch chuẩn (SD)						1,32
Sai số chuẩn (SE)						0,43

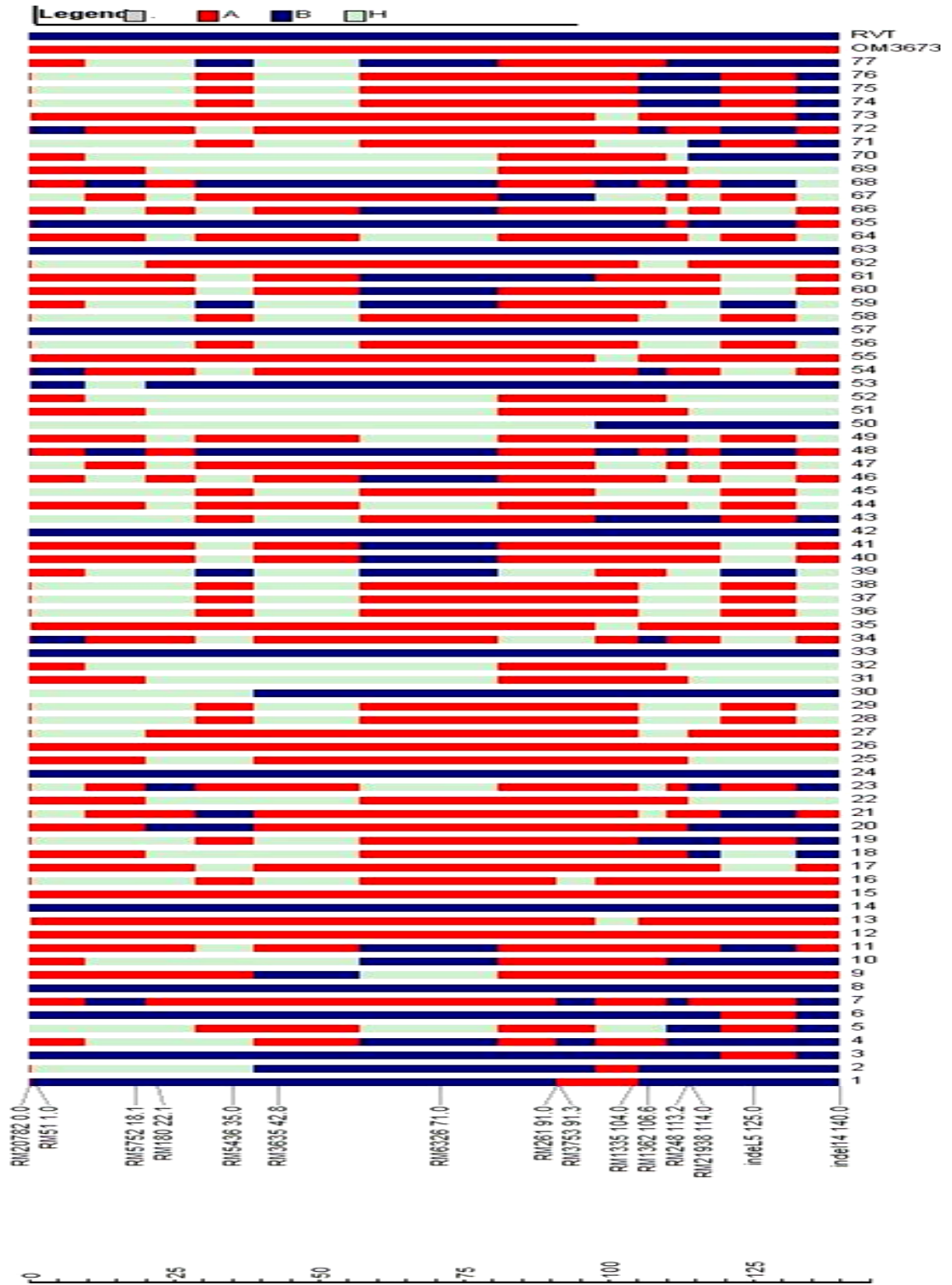
Chú thích: **: rất có ý nghĩa



Hình 3.20: Hình ảnh 4 dòng triển vọng ít bạc bụng (BC_2F_2 -14, BC_2F_2 -30, BC_2F_2 -50 và BC_2F_2 -80) sau khi thu hoạch và chà trắng hạt gạo

3.3. Chọn lọc các quần thể lai hồi giao thông qua lập bản đồ GGT

3.3.1. Chọn lọc các cá thể BC_3F_3 của quần thể lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673



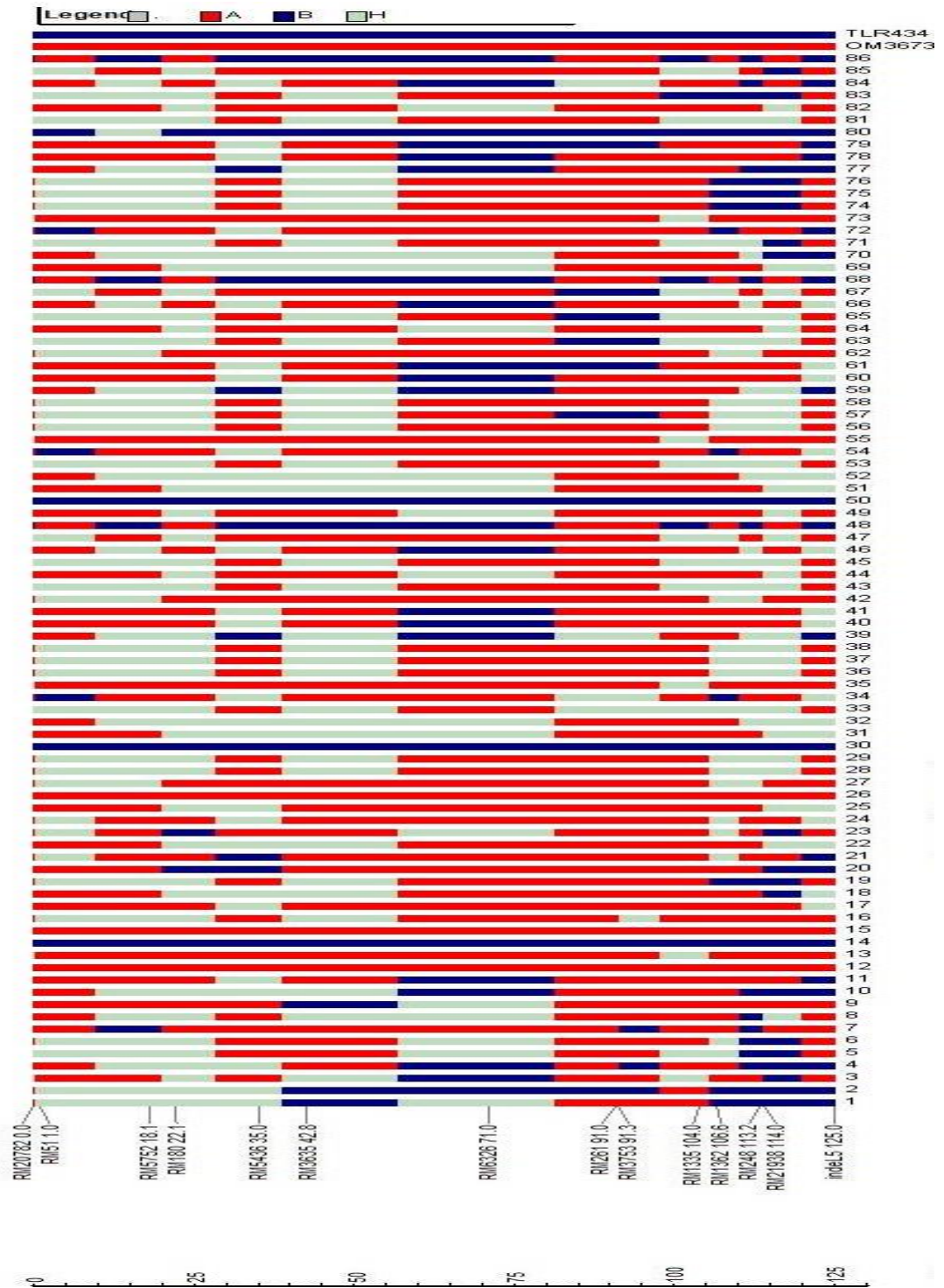
Hình 3.21: Sự đa dạng di truyền thế hệ BC_3F_3 trên quần thể lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673 trên nhiễm sắc thể số 7

Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (RVT), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OM3673), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-77: các cá thể của quần thể lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673.

GGT (Graphical genotyping) là phương pháp cho phép thể hiện các alen đồng hợp trội, đồng hợp lặn, dị hợp của một quần thể. Bản đồ GGT giúp dễ dàng nhận biết được kiểu di truyền của các con lai trong quần thể so với bộ gen bố và mẹ. Bản đồ GGT được xây dựng trên nền tảng quần thể hồi giao OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC_3F_3 . Trên bản đồ này, gen quy định tính trạng hạt gạo ít bạc bụng được đánh dấu bởi 15 chỉ thị phân tử trên nhiễm sắc thể số 7 (Phụ lục 3), khoảng cách di truyền từ 0-140 cM. Các cá thể con lai được lựa chọn phải mang gen đồng hợp trội trên vùng di truyền này. Qua bản đồ GGT ở hình 3.21 cho thấy 7 cá thể có 100% các vùng gen trùng hợp với cá thể bố (RVT), mang gen mục tiêu. Các cá thể được chọn là BC_3F_3 -8, BC_3F_3 -14, BC_3F_3 -24, BC_3F_3 -33, BC_3F_3 -42, BC_3F_3 -57 và BC_3F_3 -63.

3.3.2. Chọn lọc các cá thể BC_2F_3 của quần thể lai hồi giao OM 3673/TLR434//OM3673

Tương tự như quần thể trên, bản đồ GGT của quần thể OM 3673/TLR434//OM3673 cũng được thành lập để kiểm tra các alen thể hiện đồng hợp trội, đồng hợp lặn, dị hợp ở tất cả các con lai trong một quần thể, cho phép công tác chọn lọc các cá thể quy tụ những gen mong muốn một cách có hiệu quả nhất.



Hình 3.22: Sự đa dạng di truyền thế hệ BC_2F_3 trên quần thể lai hồi giao OM3673/TLR434//OM3673 trên nhiễm sắc thể số 7

Chú thích: màu xanh dương: kiểu gen theo cây bố (TLR434), màu đỏ: kiểu gen theo cây mẹ (OM3673), màu xám: kiểu gen dị hợp tử, khung màu xanh lá cây: đánh dấu các cá thể được lựa chọn, 1-86: các cá thể của quần thể lai hồi giao OM 3673/TLR434//OM3673

Trên bản đồ này, gen quy định tính trạng hạt gạo ít bạc bụng được đánh dấu bởi 14 chỉ thị phân tử trên nhiễm sắc thể số 7 (Phụ lục 3), khoảng cách di truyền từ 0-125 cM. Các cá thể con lai được lựa chọn phải mang gen đồng hợp trội trên vùng di truyền này. Qua bản đồ GGT ở hình 3.22, ba (3) cá thể (BC_2F_3 -14, BC_2F_3 -30 và BC_2F_3 -50) có 100% các vùng gen trùng hợp với bố (TLR434); 1 cá thể (BC_2F_3 -80) có khoảng 93% vùng gen trùng với TLR434 (mang gen mục tiêu). Bốn (4) dòng này được chọn để tiếp tục chọn lọc dòng thuần.

Như vậy, qua đánh giá di truyền dựa trên bản đồ GGT, các dòng lúa được chọn cho các đánh giá tiếp theo bao gồm: dòng BC_3F_3 -8; BC_3F_3 -14; BC_3F_3 -24; BC_3F_3 -33; BC_3F_3 -42; BC_3F_3 -57 và BC_3F_3 -63 (7 dòng thuộc tổ hợp OM3673/RVT//OM3673); dòng BC_2F_3 -14, BC_2F_3 -30, BC_2F_3 -50 và BC_2F_3 -80 (4 dòng thuộc tổ hợp OM 3673/TLR434//OM3673).

3.4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng

Các dòng BC_3F_3 tiềm năng từ các nghiên cứu trên tiếp tục được chọn lọc ngoài đồng qua một vài thế hệ tự thụ. Các dòng này được chọn theo phương pháp chọn lọc dòng thuần.

Các dòng thuần đạt được sau khi chọn lọc bao gồm 11 dòng: 7 dòng từ tổ hợp OM3673/RVT//OM3673 (BC_3F_3 -8-10-8; BC_3F_3 -14-5-1; BC_3F_3 -24-25; BC_3F_3 -33-74; BC_3F_3 -42-27; BC_3F_3 -57-2-6 và BC_3F_3 -63-7-2); và 4 dòng từ tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673 (BC_2F_3 -14-1; BC_2F_3 -30-10; BC_2F_3 -50-80 và BC_3F_3 -80-20-3).

Mười một (11) dòng triển vọng trên được khảo nghiệm ở 6 vùng sinh thái khác nhau để đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên năng suất và tỷ lệ bạc bụng của các dòng này.

3.4.1. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2016-2017

Thông thường một giống mới được công nhận phải có tính ổn định và thích nghi cao với các môi trường khác nhau cùng với các yếu tố năng suất cao và các đặc tính nông học tốt để nâng cao độ tin cậy về giống. Khi được trồng tại nhiều địa điểm khác nhau, một số đặc điểm nông học và năng suất của chúng có thể sẽ thay đổi. Nguyên nhân chính gây ra sự khác biệt về tính thích nghi, ổn định giữa các giống là do sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Điều này gây ra rất nhiều khó khăn trong việc chứng minh tính ưu thế của một giống. Kiểu hình của một cá thể được qui định thông qua sự kiểm soát của kiểu gen và môi trường. Sự biến đổi của kiểu hình trong môi trường không giống nhau ở tất cả các kiểu gen, kết quả của sự biến đổi kiểu hình phụ thuộc vào môi trường.

Trong trường hợp có nhiều kiểu tương tác thì về mặt lý thuyết chỉ có một kiểu tương tác mà trong đó kiểu gen giống nhau trở nên kiểu gen tốt nhất trên tất cả các môi trường (Chahal và Gosal, 2002). Trong thực tế, kiểu gen như vậy có thể không có, hoặc hầu như không có thể phát triển và xác định. Tương tác kiểu giao thoa trở nên thực tế hơn. Tương tác như vậy sẽ cho biết kiểu gen nào thích nghi với môi trường. Kiểu tương tác không giao thoa ảnh hưởng đến bản chất và tính chất quan trọng của những hợp phân phương sai di truyền, mặt khác chúng liên quan đến thông số như: hệ số di truyền [h^2], hiệu quả chọn lọc [GA].

Sự phức tạp về kiểu gen như vậy làm cho việc cải tiến năng suất cây trồng không chỉ lệ thuộc vào sự khéo léo của nhà chọn giống, mà còn yêu cầu sự hiểu biết đầy đủ một cách khoa học về phân tích thống kê sinh học thông qua khảo nghiệm giống trên nhiều địa điểm khác nhau, đối với lúa nói riêng và tất cả cây trồng nói chung theo (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2003; Nguyễn Thị Lang và ctv, 2016).

Các thí nghiệm đánh giá tính thích nghi, ổn định thường được thực hiện trong điều kiện môi trường khác nhau về không gian (địa điểm) hoặc thời gian (mùa vụ)

hoặc cả không gian và thời gian. Điều này cho phép ta áp dụng mô hình Eberhart và Russell (1966) để tìm hiểu quan hệ tương tác giữa kiểu gen (G) và môi trường (E). Thí nghiệm đánh giá tương tác gen và môi trường của các dòng lai triển vọng được tiến hành trên diện rộng. Thí nghiệm tại 6 địa điểm đại diện cho các vùng lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long: Hậu Giang, An Giang, Long An, Cần Thơ, Trà Vinh và Bạc Liêu.

Kết quả đánh giá năng suất lúa qua 6 địa điểm của bộ dòng lúa triển vọng trong vụ Đông Xuân 2016-2017 được trình bày qua Bảng 3.7. Kết quả ghi nhận các diễn biến năng suất cho thấy phép thử F có ý nghĩa thống kê ở mức 99 % về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường. Điều này cho phép chúng ta sử dụng chỉ số môi trường (Ij) biểu trưng cho từng địa điểm, trên giản đồ tương tác giữa kiểu gen và môi trường với thứ tự từ thuận lợi đến kém thuận lợi như sau: An Giang > Trà Vinh > Long An > Cần Thơ > Hậu Giang > Bạc Liêu với giá trị Ij theo thứ tự: 0,493 > 0,180 > -0,007 > -0,132 > -0,181 > -0,353.

Xét về giống lúa, hầu hết các dòng lai có năng suất trung bình cao hơn giống RVT (6,94 tấn/ha), TLR434 (6,99 tấn/ha), một số dòng cao hơn cả đối chứng OM3673 (7,52 tấn/ha). Các dòng có năng suất cao nhất là: BC3F3-33-74 (8,03 tấn/ha), BC3F3-63-7-2 (7,82 tấn/ha), BC3F3-42-27 (7,68 tấn/ha), BC3F3-24-25 (7,62 tấn/ha) thuộc tổ hợp OM3673/RVT//OM3673 và dòng BC2F3-30-10 (8,06 tấn/ha), BC2F3-14-1 (7,83 tấn/ha) thuộc tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673, cao hơn đối chứng OM3673. Sự khác nhau về năng suất của các dòng rất có ý nghĩa tại mức 95%, dựa vào thang đánh giá năng suất thông qua phân tích nhiều điểm.

Bảng 3.7: Năng suất (tấn/ha) của bộ dòng lúa triển vọng tại 6 điểm vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng	Năng suất (tấn/ha)						
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung bình
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	7,32	7,21	7,45	7,95	7,11	7,64	7,45 ef
2	BC ₂ F ₃ -14-1	7,71	7,59	7,84	8,34	7,49	8,02	7,83 b
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	7,69	7,58	7,82	8,32	7,48	8,01	7,82 b
4	BC ₃ F ₃ -33-74	7,91	7,79	8,04	8,54	7,69	8,22	8,03 a
5	BC ₃ F ₃ -24-25	7,50	7,38	7,62	8,12	7,28	7,81	7,62 cd
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	7,29	7,18	7,42	7,92	7,08	7,61	7,42 ef
7	BC ₂ F ₃ -30-10	7,94	7,81	8,06	8,56	7,71	8,24	8,05 a
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	7,20	7,08	7,32	7,82	6,97	7,51	7,32 f
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	7,19	7,06	7,31	7,81	6,96	7,49	7,30 fg
10	BC ₃ F ₃ -42-27	7,56	7,44	7,69	8,19	7,34	7,87	7,68 bc
11	BC ₂ F ₃ -50-80	7,19	7,07	7,31	7,81	6,97	7,51	7,31 fg
12	RVT	6,82	6,69	6,94	7,44	6,59	7,13	6,94 h
13	TLR434	6,87	7,75	7,00	7,50	6,65	7,18	7,16 g
14	OM3673	7,40	7,27	7,52	8,02	7,17	7,71	7,52 de
NSTB (tấn/ha)		7,40 d	7,35 d	7,52 c	8,02 a	7,18 e	7,71 b	
I_j		-0,132	-0,181	-0,007	0,493	-0,353	0,180	

Chú thích: I_j: Chỉ số môi trường; NSTB: Năng suất trung bình

Xét về địa điểm khảo nghiệm, điểm có năng suất trung bình cao nhất là An Giang (8,02 tấn/ha), Trà Vinh (7,71 tấn/ha), kế đến là Long An (7,52 tấn/ha). Phân tích ANOVA năng suất 14 giống lúa qua 6 môi trường thì sự khác biệt về năng suất các giống rất có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 99%.

Kết quả phân tích chỉ số ổn và thích nghi của các dòng lúa trồng trong vụ Đông Xuân 2016- 2017 và tại sáu địa điểm được trình bày qua Bảng 3.8.

Bảng 3.8: Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng	NSTB (tấn/ha)	Chỉ số thích nghi (b_i)	Chỉ số ổn định (S_{di}^2)	Hệ số tương tác (R^2)
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	7,45 ef	2,150	0,220	81
2	BC ₂ F ₃ -14-1	7,83 b	2,740	0,500	77
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	7,82 b	0,512	0,040	10
4	BC ₃ F ₃ -33-74	8,03 a	0,232	0,100	30
5	BC ₃ F ₃ -24-25	7,62 cd	1,780	0,100	59
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	7,42 ef	0,238	0,060	68
7	BC ₂ F ₃ -30-10	8,05 a	0,580	0,030	11
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	7,32 f	0,870	0,000	7
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	7,30 fg	0,982	0,140	48
10	BC ₃ F ₃ -42-27	7,68 bc	0,580	0,030	11
11	BC ₂ F ₃ -50-80	7,31 fg	0,970	0,000	2
12	RVT	6,94 h	0,170	0,000	4
13	TLR434	7,16 g	0,890	0,000	5
14	OM3673	7,52 de	0,910	0,000	3

Chú thích: NSTB: Năng suất trung bình

Phân tích chỉ số ổn định và chỉ số thích nghi của các dòng/giống được đánh giá là quan trọng trong việc đánh giá một dòng/giống tốt. Một dòng/giống được cho là thích nghi khi chỉ số thích nghi (b_i) có xu hướng tiến đến 1. Nếu $b_i = 1$, biểu thị một sự thích nghi rộng. Nếu $b_i < 1$, biểu thị tính thích nghi theo điều kiện bất lợi. Nếu $b_i > 1$, biểu thị tính thích nghi theo điều kiện thuận lợi của môi trường. Tương tự, một dòng/giống được cho là ổn định khi chỉ số ổn định (S_{di}^2) có xu hướng tiến

đến 0. Nếu $S_{di}^2 > 0$ có nghĩa là giống không có năng suất ổn định. Một dòng/giống chỉ khi đã ổn định thì mới được xét đến tính thích nghi (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2003)

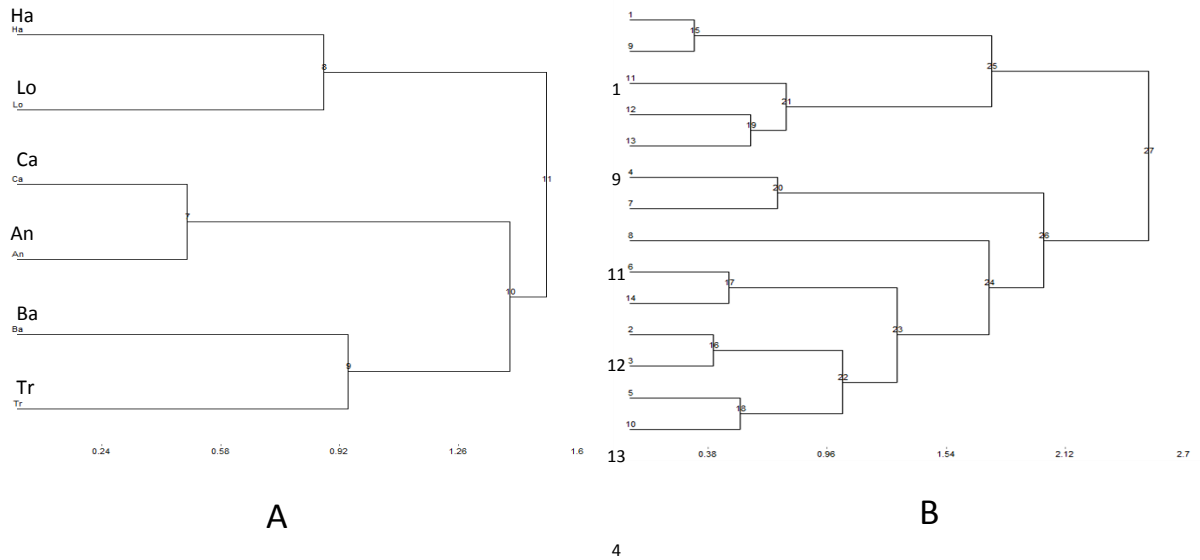
Kết quả phân tích chỉ số ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng cho thấy: hầu hết các dòng lai cho năng suất ổn định với chỉ số ổn định có xu hướng tiến về 0. Dòng BC₂F₃-50-80 ổn định và thích nghi rộng nhất, chỉ số ổn định $S_{di}^2 = 0,00$; chỉ số thích nghi $b_i = 0,97$ và hệ số tương tác là 2%. Dòng BC₂F₃-30-10 có năng suất cao nhất, tính ổn định khá cao ($S_{di}^2 = 0,030$), thích nghi với điều kiện bất lợi ($b_i = 0,580$) và hệ số tương tác là 11 %. Các dòng lai (BC₃F₃-8-10-8, BC₂F₃-14-1, BC₃F₃-24-25) có chỉ số thích nghi vượt xa giá trị 1 nên các dòng lai này thích nghi với điều kiện môi trường thuận lợi ($b_i > 1$). Đối với các dòng này, khi môi trường thuận lợi thì sẽ đạt năng suất cao, ngược lại, năng suất sẽ giảm đáng kể trong điều kiện bất lợi của môi trường. Các dòng lai còn lại thích nghi với điều kiện không thuận lợi của môi trường khi $b_i < 1$. Các dòng này có năng suất ổn định khi điều kiện canh tác trở nên bất lợi.

Về phân nhóm di truyền, các kiểu gen (dòng) và các môi trường canh tác được phân thành nhiều nhóm khác nhau. Các dòng có tính trạng gần giống nhau sẽ được xếp chung một nhóm, các môi trường canh tác có ảnh hưởng gần giống nhau đối với các dòng lúa cũng sẽ được xếp chung một nhóm. Kết quả này giúp nhà chọn giống dễ dàng hơn trong việc lựa chọn dòng/giống thích hợp và môi trường canh tác tương ứng để tăng hiệu quả sản xuất lúa gạo.

Phân nhóm kiểu gen của các dòng/giống lúa dựa trên năng suất trung bình trong vụ Đông Xuân năm 2016- 2017 được thể hiện qua Hình 3.23 B. Qua giản đồ này thì các kiểu gen giống nhau thì xếp cùng nhóm và tại mức khác biệt khoảng 80%, chia ra làm hai nhóm chính:

+ Nhóm I: có 5 dòng/giống thuộc nhóm này, bao gồm: RVT, TLR434, BC₂F₃-50-80, BC₃F₃-8-10-8, BC₃F₃-80-20-3. Đây là nhóm có năng suất thấp hơn các dòng/giống khác. Năng suất dao động trong khoảng 7,0-7,5 tấn/ha.

+ Nhóm II: 9 dòng/giống còn lại. Đây là nhóm có năng suất cao hơn nhóm I. Trong đó, có các giống cho năng suất cao nhất như: BC_3F_3 -33-74, BC_2F_3 -30-10, BC_2F_3 -14-1, OM3673, ... Nhóm này có năng suất dao động 7,5-8,0 tấn/ha.



Hình 3.23: Phân nhóm môi trường (A) và kiểu gen (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017

Chú thích: Tr: Trà Vinh; Ha: Hậu Giang; An: An Giang; Lo: Long An; Ca: Cần Thơ; Ba: Bạc Liêu; 1: BC_3F_3 -8-10-8; 2: BC_2F_3 -14-1; 3: BC_3F_3 -63-7-2; 4: BC_3F_3 -33-74; 5: BC_3F_3 -24-25; 6: BC_3F_3 -57-2-6; 7: BC_2F_3 -30-10; 8: BC_3F_3 -14-5-1; 9: BC_3F_3 -80-20-3; 10: BC_3F_3 -42-27; 11: BC_2F_3 -50-80; 12: RVT; 13: TLR434; 14: OM3673.

Giản đồ phân nhóm môi trường khảo nghiệm của các dòng lai trồng vụ Đông Xuân 2016- 2017 được thể hiện ở Hình 3.23 A. Xét trên giản đồ phân nhóm môi trường, các điểm có điều kiện tương đối giống nhau nằm trên cùng một nhóm và dựa vào giản đồ các môi trường khảo nghiệm chia thành 3 nhóm ở mức khác biệt khoảng 75%: nhóm I (Hậu Giang và Long An), nhóm II (Cần Thơ và An Giang), nhóm III (Bạc Liêu và Trà Vinh). Dựa vào kết quả này giúp nhà chọn giống bố trí hợp lý hơn từng nhóm giống lúa cho từng vùng sinh thái.

Qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường cho thấy trong vụ Đông Xuân 2016-2017, nhóm giống cho năng suất và thích nghi tốt bao gồm các dòng BC_2F_3 -

50-80; BC₃F₃-14-5-1; BC₃F₃-63-7-2; BC₂F₃-30-10 và BC₃F₃-42-27. Môi trường canh tác ở An Giang và Cần Thơ là thuận lợi nhất cho sự phát triển của bộ giống trong mùa vụ này.

3.4.2. *Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017*

Trong vụ Đông Xuân 2016-2017, bên cạnh năng suất, tương tác giữa kiểu gen và môi trường dựa trên tỷ lệ bạc bụng cũng được phân tích. Bộ dòng/giống lúa được khảo nghiệm qua 6 vùng sinh thái khác nhau (Hậu Giang, An Giang, Long An, Cần Thơ, Trà Vinh và Bạc Liêu). Kết quả của tỷ lệ bạc bụng ở các địa điểm khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức 99% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường.

Chỉ số môi trường (I_j) biểu trưng cho từng địa điểm, trên giản đồ tương tác giữa kiểu gen và môi trường với thứ tự từ thuận lợi đến kém thuận lợi như sau Hậu Giang > An Giang > Cần Thơ > Long An > Trà Vinh > Bạc Liêu với giá trị I_j lần lượt là 1,898 > 1,361 > 0,662 > -0,898 > -1,411 > -1,612 (Bảng 3.9).

Xét về giống lúa, hầu hết các dòng/giống lai có tỷ lệ không bạc bụng trung bình cao hơn giống đối chứng OM3536 (39,46%). Sự khác nhau về tỷ lệ bạc bụng của các dòng/giống rất có ý nghĩa tại mức 95%. Các dòng lúa có tỷ lệ gạo không bạc bụng hầu hết lớn hơn 70%, trong đó, các dòng có tỷ lệ cao nhất là dòng BC₃F₃-8-10-8 (84,4%), BC₂F₃-14-1 (78,8%), BC₃F₃-33-74 (78,0%), ...

Điểm canh tác có tỷ lệ gạo không bạc bụng trung bình cao nhất là Hậu Giang (77,88%) và An Giang (77,34%), thấp nhất là vùng Bạc Liêu (74,37%).

Bảng 3.9: Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%) của các dòng lúa triển vọng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng/giống	Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%)						
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung Bình
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	85,21	86,40	83,60	85,90	82,89	82,46	84,41 b
2	BC ₂ F ₃ -14-1	79,53	80,72	77,92	80,67	77,21	76,78	78,81 c
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	77,98	79,17	76,38	78,67	75,66	75,23	77,18 d
4	BC ₃ F ₃ -33-74	78,85	80,04	77,24	79,02	76,53	76,10	77,96 cd
5	BC ₃ F ₃ -24-25	78,33	79,52	76,73	75,22	76,01	75,58	76,90 d
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	74,53	75,72	72,92	75,97	72,21	79,78	75,19 e
7	BC ₂ F ₃ -30-10	75,28	76,47	73,67	78,55	72,96	72,53	74,91 e
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	77,86	79,05	76,25	78,55	75,54	75,11	77,06 d
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	74,87	76,05	73,26	75,56	72,54	72,12	74,07 e
10	BC ₃ F ₃ -42-27	74,80	75,99	73,19	75,49	72,48	72,05	74,00 e
11	BC ₂ F ₃ -50-80	68,25	69,44	66,64	68,94	65,93	65,50	67,45 f
12	RVT	94,10	95,28	92,49	94,78	91,77	91,35	93,30 a
13	TLR434	93,10	94,96	92,16	94,46	91,45	91,82	92,99 a
14	OM3673	40,26	41,44	38,65	40,95	37,93	37,51	39,46 g
TB (%)		76,64ab	77,88a	75,08c	77,34b	74,37c	74,57c	
I _J		0,662	1,898	-0,898	1,361	-1,612	-1,411	

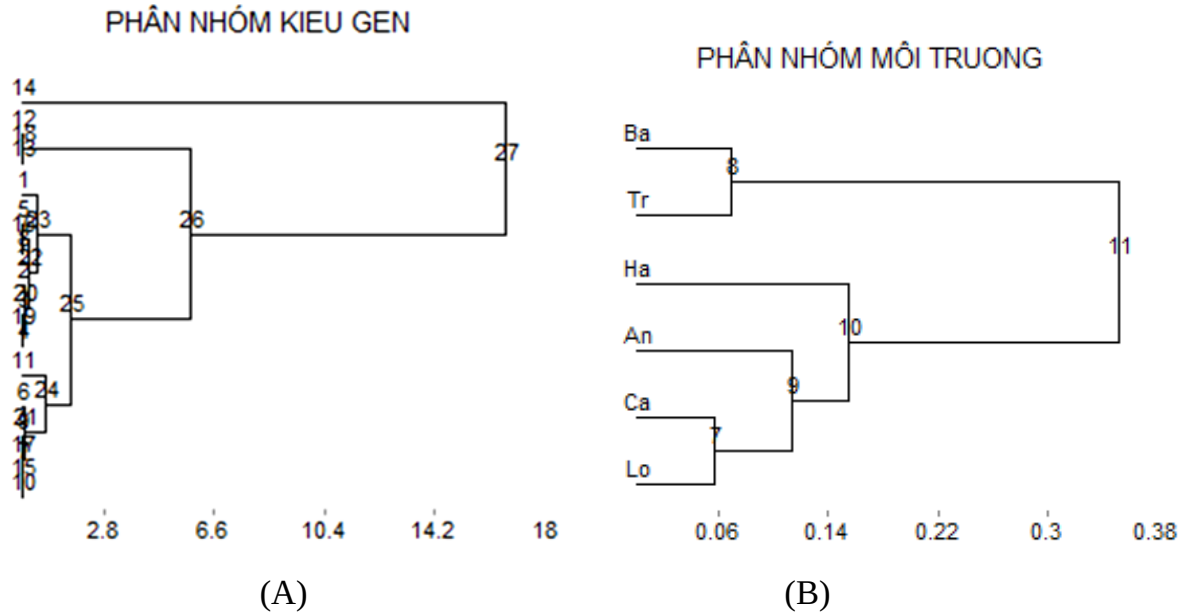
Chú thích: I_J: Chỉ số môi trường; TB: Tỷ lệ bạc bụng trung bình

Bảng 3.10: Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỉ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng/giống	Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%)	Chỉ số thích nghi (b_i)	Chỉ số ổn định (S_{di}^2)	Hệ số tương tác (R^2)
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	84,41 b	0,72	0,04	10
2	BC ₂ F ₃ -14-1	78,81 c	0,13	0,23	25
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	77,18 d	0,59	0,25	25
4	BC ₃ F ₃ -33-74	77,96 cd	0,75	0,27	30
5	BC ₃ F ₃ -24-25	76,90 d	0,96	0,00	1
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	75,19 e	0,68	0,01	2
7	BC ₂ F ₃ -30-10	74,91 e	0,88	0,01	3
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	77,06 d	0,56	0,23	10
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	74,07 e	0,42	0,35	15
10	BC ₃ F ₃ -42-27	74,00 e	0,52	0,24	12
11	BC ₂ F ₃ -50-80	67,45 f	0,13	0,14	13
12	RVT	93,30 a	0,98	0,03	5
13	TLR434	92,99 a	0,18	0,12	22
14	OM3673	39,46 g	0,75	0,05	11

Tính trạng bạc bụng ở gạo là một trong những tính trạng dễ chịu ảnh hưởng bởi điều kiện canh tác và môi trường xung quanh. Do đó, việc phân tích tính ổn định và thích nghi của tính trạng này ở các dòng/giống lúa đóng vai trò quan trọng trong việc chọn lọc dòng triển vọng thích nghi. Kết quả phân tích các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017 (Bảng 3.10) cho thấy, các dòng có tỷ lệ gạo không bạc bụng ổn định ($S_{di}^2 \sim 0$) là: BC₃F₃-24-25, BC₂F₃-30-10, BC₃F₃-57-2-6 và BC₃F₃-8-10-8. Các dòng này đều thích nghi với điều kiện bất lợi ($b_i < 1$) và có hệ số tương tác thấp (ít ảnh hưởng bởi môi trường). Điều này cho thấy rằng nếu điều

kiện canh tác trở nên bất lợi thì tỷ lệ gạo không bạc bụng của các dòng này sẽ không thay đổi nhiều.



Hình 3.24: Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017

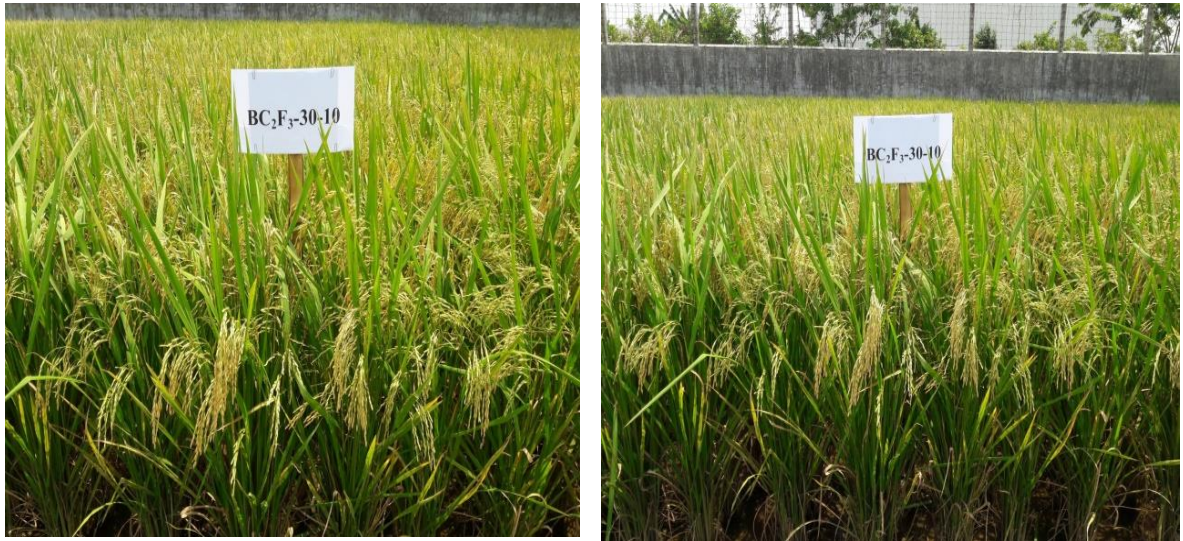
Chú thích: Tr: Trà Vinh, Ha: Hậu Giang; An: An Giang; Lo: Long An; Ca: Cần Thơ; Ba: Bạc Liêu; 1: BC₃F₃-8-10-8; 2: BC₂F₃-14-1; 3: BC₃F₃-63-7-2; 4: BC₃F₃-33-74; 5: BC₃F₃-24-25; 6: BC₃F₃-57-2-6; 7: BC₂F₃-30-10; 8: BC₃F₃-14-5-1; 9: BC₃F₃-80-20-3; 10: BC₃F₃-42-27; 11: BC₂F₃-50-80; 12: RVT; 13: TLR434; 14: OM3673.

Phân nhóm di truyền là cơ sở cho nhà chọn giống dễ dàng chọn lọc được các dòng/giống tốt canh tác trên môi trường phù hợp. Biểu đồ phân nhóm kiểu gen của các dòng/giống lúa khảo nghiệm về tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017 được thể hiện qua Hình 3.24 A. Qua biểu đồ này thì các kiểu gen giống nhau thì xếp cùng nhóm và tại mức khác biệt khoảng 25% chia ra làm ba nhóm chính: Nhóm 1 có tỷ lệ gạo không bạc bụng thấp (OM3673), Nhóm 2 có tỷ lệ gạo không bạc bụng cao nhất (trên 90%) (bao gồm RVT và TLR434), Nhóm 3 có tỷ lệ gạo không bạc bụng hầu hết trên 70% (bao gồm cả 11 dòng lúa triển vọng).

Giản đồ phân nhóm môi trường khảo nghiệm của các dòng lúa trồng vụ Đông Xuân 2016- 2017 được thể hiện ở Hình 3.24 B. Xét trên giản đồ phân nhóm môi trường, các điểm có điều kiện tương đối giống nhau và dựa vào giản đồ các môi trường khảo nghiệm chia thành 2 nhóm: Nhóm 1 (gồm Bạc Liêu và Trà Vinh) là nhóm có tỷ lệ gạo không bạc bụng thấp hơn các vùng canh tác khác (73-74%), Nhóm 2 (Hậu Giang, An Giang, Cần Thơ và Long An) ghi nhận tỷ lệ không bạc bụng cao từ 75- 77%.

Như vậy, qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên tính trạng tỷ lệ gạo không bạc bụng, các dòng triển vọng có tỷ lệ gạo không bạc bụng khá cao và tương đương nhau, khác biệt có ý nghĩa với các giống đối chứng bố mẹ. Các dòng lúa chỉ thể hiện tính khác nhau rõ rệt ở tính ổn định và thích nghi. Do đó, qua phân tích đa chiều, các dòng sau đây là triển vọng nhất: **BC₃F₃-24-25**, **BC₂F₃-30-10**, **BC₃F₃-57-2-6** và **BC₃F₃-8-10-8**.

Trong vụ Đông Xuân 2016-2017, 11 dòng lúa triển vọng thuộc hai tổ hợp lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673 và OM3673/TLR434//OM3673 được phân tích tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Tùy thuộc vào tính trạng phân tích mà các dòng biểu hiện giá trị, sự ổn định và thích nghi khác nhau. Trong đó, một số dòng vẫn hội tụ đủ các tính trạng tốt bao gồm tỷ lệ hạt gạo không bạc bụng cao, năng suất cao, ổn định và thích nghi tốt, đó là dòng **BC₂F₃-30-10**. Đặc biệt, dòng này thích nghi với điều kiện bất lợi với $b_i < 1$, có nghĩa là, trong điều kiện canh tác thuận lợi hay bất lợi, dòng này vẫn cho năng suất cao và gạo ít bạc bụng.



Hình 3.25: Hình ảnh Dòng lúa lai triển vọng vụ Đông Xuân trồng tại Trại giống Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL (HATRI)

3.4.3. *Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2017*

Tương tự như vụ Đông Xuân 2016-2017, trong vụ Hè Thu 2017, 11 dòng lúa triển vọng cũng được khảo nghiệm năng suất lúa tại 6 vùng sinh thái khác nhau của đồng bằng Sông Cửu Long (Hậu Giang, An Giang, Long An, Cần Thơ, Trà Vinh và Bạc Liêu). Kết quả ghi nhận các diễn biến năng suất có ý nghĩa thống kê ở mức 99% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường.

Bảng 3.11: Năng suất (tấn/ha) của các dòng lúa triển vọng tại 6 điểm trong vụ Hè Thu 2017

TT	Tên dòng/giống	Năng suất trung bình (tấn/ha)						Trung bình
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	6,16	5,77	6,20	6,14	5,78	5,92	6,00 a
2	BC ₂ F ₃ -14-1	5,96	5,57	6,00	5,95	5,58	5,73	5,80 c
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	5,95	5,56	5,99	5,94	5,57	5,72	5,79 c
4	BC ₃ F ₃ -33-74	5,81	5,42	5,85	5,79	5,43	5,57	5,65 d
5	BC ₃ F ₃ -24-25	5,83	5,45	5,88	5,82	5,45	5,60	5,67 d
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	5,72	5,32	5,75	5,70	5,33	5,48	5,55 e
7	BC ₂ F ₃ -30-10	6,05	5,80	6,15	6,24	5,58	5,62	5,91 b
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	5,56	5,17	5,60	5,54	5,18	5,32	5,40 f
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	5,60	5,21	5,64	5,59	5,22	5,37	5,44 f
10	BC ₃ F ₃ -42-27	5,38	4,99	5,42	5,37	5,00	5,14	5,22 g
11	BC ₂ F ₃ -50-80	5,63	5,24	5,67	5,62	5,25	5,39	5,47 f
12	RVT	4,84	4,45	4,88	4,83	4,46	4,61	4,68 h
13	TLR434	5,99	5,60	6,03	5,60	5,61	5,76	5,77 c
14	OM3673	6,10	5,71	6,14	6,09	5,72	5,87	5,94 ab
NSTB (tấn/ha)		5,76 ab	5,38 d	5,80 a	5,73 b	5,37 d	5,51 c	
I _j		0,166	-0,214	0,210	0,140	-0,221	-0,082	

Chú thích: I_j: Chỉ số môi trường; NSTB: Năng suất trung bình

Chỉ số môi trường (I_j) biểu trưng cho từng địa điểm, trên giản đồ tương tác giữa kiểu gen và môi trường với thứ tự từ thuận lợi đến kém thuận lợi như sau: Long An (0,210) > Cần Thơ (0,166) > An Giang (0,140) > Trà Vinh (-0,082) > Hậu Giang (-0,214) > Bạc Liêu (-0,221) (Bảng 3.11).

Xét về năng suất của các dòng/giống lúa khảo nghiệm, trong vụ Hè Thu 2017, năng suất lúa co thấp hơn so với vụ Đông Xuân 2016-2017, đối chứng OM3673 đạt năng suất 5,94 tấn/ha. Các dòng khảo nghiệm có năng suất khá cao, dao động từ

5,00-6,00 tấn/ha, trong đó, các dòng tương đương hoặc cao hơn đôi chứng bao gồm: BC₃F₃-8-10-8 (6,00 tấn/ha), BC₂F₃-30-10 (5,91 tấn/ha), BC₂F₃-14-1 (5,80 tấn/ha), BC₃F₃-63-7-2 (5,79 tấn/ha).

Xét về môi trường canh tác, nền canh tác ở Long An giúp các giống có năng suất tốt nhất (NSTB = 5,80 tấn/ha), kế đến là Cần Thơ (NSTB = 5,76 tấn/ha), An Giang (NSTB = 5,73 tấn/ha), và nơi mà các dòng cho năng suất trung bình thấp nhất là Bạc Liêu (NSTB = 5,37 tấn/ha). Nhìn chung, trong vụ này, các vùng sinh thái ảnh hưởng không khác biệt nhiều đến năng suất của các dòng lúa.

Bên cạnh năng suất lúa, các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng cũng cần chú ý. Trong vụ Hè Thu 2017, các dòng lúa khảo nghiệm cho kết quả khá ổn định (Bảng 3.12). Các dòng có năng suất ổn định nhất vì có ($S_{di}^2 \sim 0$) là: BC₂F₃-14-1 (0,01), BC₃F₃-63-7-2 (0,01), BC₃F₃-8-10-8 (0,02), BC₂F₃-30-10 (0,03), BC₃F₃-24-25 (0,05) và BC₃F₃-57-2-6 (0,06). Trong đó, dòng BC₂F₃-14-1, BC₃F₃-8-10-8, BC₂F₃-30-10 và BC₃F₃-24-25 thích nghi với điều kiện bất lợi ($b_i < 1$). Các dòng BC₃F₃-63-7-2 và BC₃F₃-57-2-6 thích nghi điều kiện thuận lợi vì có $b_i > 1$. Sáu (6) dòng triển vọng trên có hệ số tương tác tương đối nhỏ (<20%), điều này cho thấy các dòng này khá ổn định và ít chịu ảnh hưởng của môi trường canh tác.

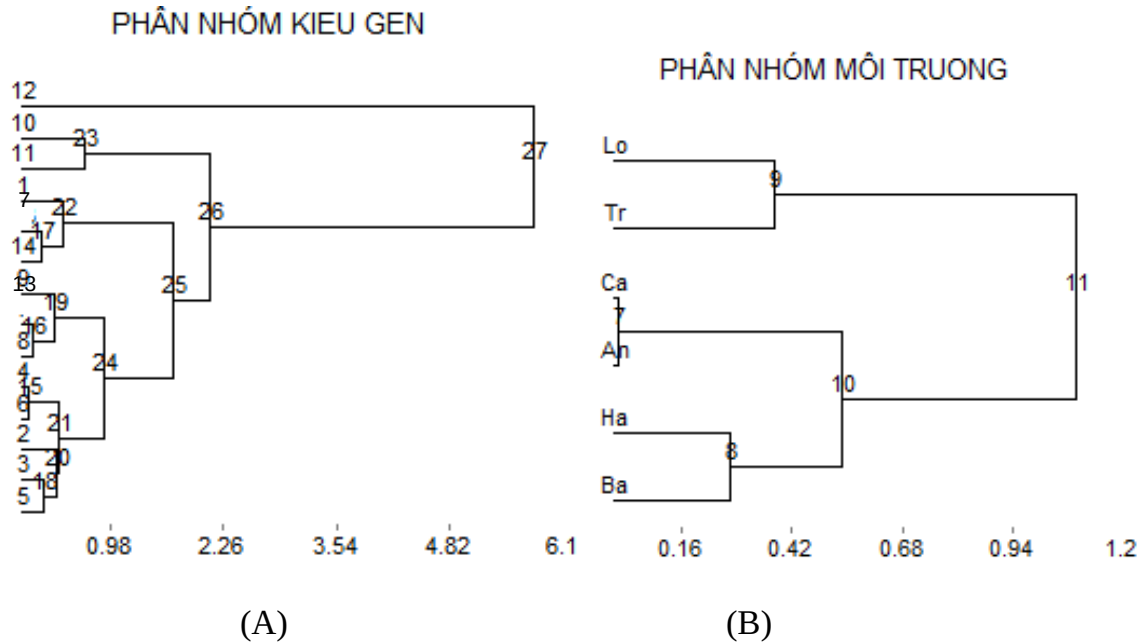
Bảng 3.12: Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2017

TT	Tên dòng/giống	NSTB (tấn/ha)	Chỉ số thích nghi (bi)	Chỉ số ổn định (S_{di}^2)	Hệ số tương tác (R^2)
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	6,00 a	0,782	0,02	7
2	BC ₂ F ₃ -14-1	5,80 c	0,798	0,01	7
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	5,79 c	1,135	0,01	1
4	BC ₃ F ₃ -33-74	5,65 d	0,002	0,32	55
5	BC ₃ F ₃ -24-25	5,67 d	0,614	0,05	15
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	5,55 e	1,441	0,06	14
7	BC ₂ F ₃ -30-10	5,91 b	0,714	0,03	4
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	5,40 f	1,893	0,25	42
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	5,44 f	1,621	0,12	19
10	BC ₃ F ₃ -42-27	5,22 g	0,621	0,12	9
11	BC ₂ F ₃ -50-80	5,47 f	0,893	0,25	2
12	RVT	4,68 h	0,914	0,03	1
13	TLR434	5,77 c	0,814	0,00	3
14	OM3673	5,94 ab	0,80	0,07	10

Phân nhóm di truyền dựa trên năng suất của các dòng lúa cũng như các địa điểm canh tác được thực hiện trong vụ này nhằm phân loại kiểu gen và môi trường tương ứng với từng kiểu gen mà nó mang lại hiệu quả canh tác tốt nhất. Kết quả phân nhóm di truyền được thể hiện trên Hình 3.26. Về kiểu gen (dòng/giống lúa), ở mức khác biệt khoảng 30%, các dòng/giống phân thành 4 nhóm chính: Nhóm I bao gồm 1 dòng là RVT (nhóm có năng suất thấp nhất); Nhóm II có 2 dòng (BC₃F₃-42-27, BC₂F₃-50-80), nhóm dòng có năng suất thấp hơn các dòng khác; Nhóm III có 3 dòng/giống (BC₃F₃-8-10-8, OM3673, BC₂F₃-30-10), đây là nhóm có năng suất cao

nhất; Nhóm IV bao gồm 8 dòng/giống còn lại, nhóm năng suất khá cao (Hình 3.26 A).

Về môi trường canh tác, ở mức khác biệt khoảng 50%, có năm nhóm môi trường khác nhau. Nhóm I bao gồm 2 địa điểm (Long An và Trà Vinh). Nhóm II là Cần Thơ và An Giang. Nhóm III bao gồm Hậu Giang và Bạc Liêu (Hình 3.26 B).



Hình 3.26: Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017

Chú thích: Tr: Trà Vinh, Ha: Hậu Giang; An: An Giang; Lo: Long An; Ca: Cần Thơ; Ba: Bạc Liêu; 1: BC₃F₃-8-10-8; 2: BC₂F₃-14-1; 3: BC₃F₃-63-7-2; 4: BC₃F₃-33-74; 5: BC₃F₃-24-25; 6: BC₃F₃-57-2-6; 7: BC₂F₃-30-10; 8: BC₃F₃-14-5-1; 9: BC₃F₃-80-20-3; 10: BC₃F₃-42-27; 11: BC₂F₃-50-80; 12: RVT; 13: TLR434; 14: OM3673.

Qua đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên năng suất trong vụ Hè Thu 2017, các dòng có năng suất cao và ổn định bao gồm **BC₃F₃-8-10-8**, **BC₂F₃-30-10**, **BC₂F₃-14-1**, **BC₃F₃-63-7-2**, **BC₃F₃-24-25** và **BC₃F₃-57-2-6**. Trong khi, môi trường canh tác tương đối giống nhau và không có sự khác biệt nhiều với nhau.

3.4.4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017

Trong vụ Hè Thu 2017, 11 dòng lúa triển vọng cũng được đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng khi các dòng/giống được canh tác tại 6 vùng sinh thái khác nhau (Cần Thơ, Hậu Giang, Long An, An Giang, Bạc Liêu và Trà Vinh) (Bảng 3.13).

Bảng 3.13: Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%) của các dòng lúa triển vọng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017

TT	Tên dòng/giống	Tỷ lệ gạo bạc bụng (%)						Trung bình
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	75,85	78,43	76,39	82,06	76,31	78,83	77,98 c
2	BC ₂ F ₃ -14-1	73,56	76,14	74,10	79,77	74,02	76,54	75,69 d
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	70,81	73,39	71,35	77,02	71,27	73,79	72,94 e
4	BC ₃ F ₃ -33-74	69,21	71,80	69,76	75,43	69,68	72,20	71,35 f
5	BC ₃ F ₃ -24-25	69,43	72,01	69,97	75,64	69,90	72,47	71,57 ef
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	61,05	63,63	61,59	67,27	61,52	64,03	63,18 h
7	BC ₂ F ₃ -30-10	65,71	70,30	69,26	71,93	76,18	74,70	71,35 f
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	56,46	59,04	57,00	62,67	56,92	59,44	58,59 i
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	65,71	68,06	66,02	71,69	65,95	68,46	67,65 g
10	BC ₃ F ₃ -42-27	60,27	62,85	60,81	66,48	60,73	63,25	62,40 h
11	BC ₂ F ₃ -50-80	51,87	54,45	52,41	58,08	52,33	54,85	54,00 j
12	RVT	89,06	91,65	89,61	95,28	89,53	92,05	91,20 a
13	TLR434	84,30	86,88	84,84	90,52	84,77	87,28	86,43 b
14	OM3673	22,45	25,03	22,99	28,66	22,91	25,43	24,58 k
TB (%)		65,41d	68,12b	66,15cd	71,61a	66,57c	68,81b	
I _j		-2,368	0,341	-1,628	3,829	-1,205	1,031	

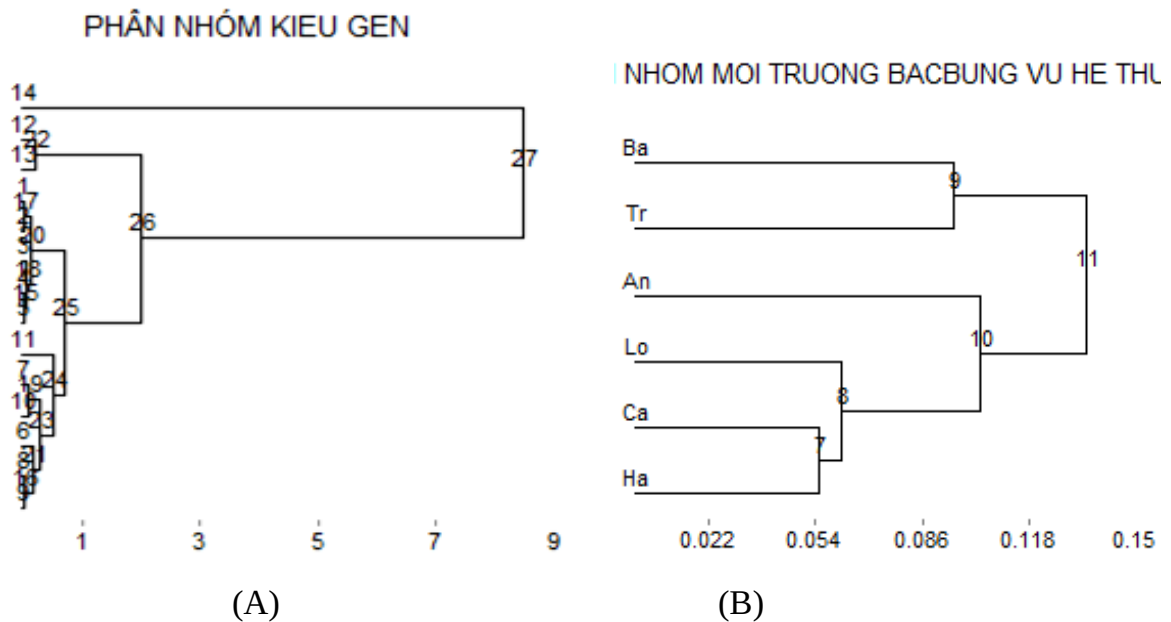
Chú thích: I_j: Chỉ số môi trường; TB: tỷ lệ gạo không bạc bụng trung bình

Đối với tỷ lệ gạo không bạc bụng của các dòng/giống ghi nhận có sự khác biệt ý nghĩa ở mức 99%. Giống đối chứng RVT và TLR434 là hai giống có tỷ lệ gạo không bạc bụng cao nhất (trên 85%). Về các dòng triển vọng ghi nhận tỷ lệ này dao động trong khoảng khá rộng từ 55-78%, trong đó, các dòng có tốt nhất bao gồm các dòng BC₃F₃-8-10-8 (77,98%), BC₂F₃-14-1 (75,69%), BC₃F₃-63-7-2 (72,94%), BC₃F₃-24-25 (71,57%), BC₃F₃-33-74 (71,35%) và BC₂F₃-30-10 (71,35%). Xét về địa điểm canh tác, An Giang là điểm cho tỷ lệ bạc bụng thấp nhất trong khi Cần Thơ là điểm cho tỷ lệ bạc bụng cao nhất.

Bảng 3.14: Các chỉ số liên quan tính ổn định và thích nghi của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỉ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017

TT	Tên dòng/giống	Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%)	Chỉ số thích nghi (b_i)	Chỉ số ổn định (S_{di}^2)	Hệ số tương tác (R^2)
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	77,98 c	1,120	0,000	0
2	BC ₂ F ₃ -14-1	75,69 d	0,850	0,014	2
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	72,94 e	0,750	0,025	10
4	BC ₃ F ₃ -33-74	71,35 f	1,600	0,032	12
5	BC ₃ F ₃ -24-25	71,57 ef	4,800	0,156	35
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	63,18 h	1,200	0,161	5
7	BC ₂ F ₃ -30-10	71,35 f	0,950	0,053	7
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	58,59 i	2,300	0,241	19
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	67,65 g	1,250	0,281	17
10	BC ₃ F ₃ -42-27	62,40 h	1,250	0,161	18
11	BC ₂ F ₃ -50-80	54,00 j	2,520	0,223	23
12	RVT	91,20 a	0,980	0,008	3
13	TLR434	86,43 b	0,051	0,291	24
14	OM3673	24,58 k	0,120	0,177	20

Về tính ổn định, các dòng/giống lúa có trị số S_{di}^2 tiến về 0 nghĩa các dòng/giống này có tính ổn định cao, bao gồm: BC₃F₃-8-10-8, BC₂F₃-14-1, BC₃F₃-63-7-2, BC₃F₃-33-74 và BC₂F₃-30-10. Xét về tính thích nghi, 5 dòng trên có tính thích nghi khác nhau, nếu như dòng BC₃F₃-8-10-8 và BC₃F₃-33-74 thích nghi điều kiện thuận lợi ($b_i > 1$), thì dòng BC₂F₃-14-1 và BC₃F₃-63-7-2 lại thích nghi với điều kiện bất lợi ($b_i < 1$), trong khi đó, dòng BC₂F₃-30-10 lại thích nghi rộng ($b_i = 0,950 \sim 1$) (Bảng 3.14). Các dòng này biểu hiện tính ổn định, ít chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường với $R^2 < 15\%$.



Hình 3.27: Phân nhóm kiểu gen (A) và môi trường (B) của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Hè Thu 2017.

Chú thích: Tr: Trà Vinh, Ha: Hậu Giang; An: An Giang; Lo: Long An; Ca: Cần Thơ; Ba: Bạc Liêu; 1: BC₃F₃-8-10-8; 2: BC₂F₃-14-1; 3: BC₃F₃-63-7-2; 4: BC₃F₃-33-74; 5: BC₃F₃-24-25; 6: BC₃F₃-57-2-6; 7: BC₂F₃-30-10; 8: BC₃F₃-14-5-1; 9: BC₃F₃-80-20-3; 10: BC₃F₃-42-27; 11: BC₂F₃-50-80; 12: RVT; 13: TLR434; 14: OM3673.

Tỷ lệ gạo không bạc bụng trên các dòng/giống được phân nhóm nhằm đánh giá mối quan hệ di truyền giữa chúng (Hình 3.27 A). Ở mức khác biệt khoảng 15%, có 3 nhóm dòng/giống được phân nhóm. Nhóm I có 1 giống duy nhất là OM3673, đây là nhóm có tỷ lệ gạo không bạc bụng thấp nhất (<30%). Nhóm II gồm hai giống đối chứng, RVT và TLR434, nhóm này đại diện cho tỷ lệ gạo không bạc bụng cao nhất (>80%). Nhóm III là nhóm bao gồm 11 dòng lúa triển vọng, nhóm này có lệ gạo không bạc bụng cao hơn đối chứng OM3673 và thấp hơn đối chứng RVT, TLR434. Nhóm III này phân thành hai nhóm phụ, nhóm III.1 có tỷ lệ gạo không bạc bụng cao hơn trong khi nhóm III.2 có tỷ lệ này thấp hơn. Các dòng trong nhóm III.1 là BC₃F₃-8-10-8, BC₂F₃-14-1, BC₃F₃-63-7-2, BC₃F₃-33-74, BC₃F₃-24-25; BC₂F₃-30-10.

Như vậy, qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên năng suất và tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017, các dòng hội tụ nhiều đặc tính tốt như năng suất cao, tỷ lệ bạc bụng thấp, ổn định và thích nghi tốt bao gồm: **BC₃F₃-8-10-8, BC₂F₃-14-1, BC₃F₃-63-7-2, BC₃F₃-33-74, BC₂F₃-30-10.**



Hình 3.28: Hình ảnh Dòng lúa lai triển vọng vụ Hè Thu trồng tại Trại giống Viện Nghiên Cứu Nông Nghiệp Công Nghệ Cao ĐBSCL (HATRI)

Tóm lại, 11 dòng triển vọng cho kết quả khác nhau về năng suất và tỷ lệ gạo không bạc bụng khi phân tích tương tác kiểu gen và môi trường trong hai vụ canh tác liên tiếp. Một số dòng cho kết quả tốt nhất ở vụ Đông Xuân 2016-2017 nhưng không phải là tốt nhất trong vụ Hè Thu 2017. Vì vậy, tùy vào đặc tính từng giống mà sự chọn lọc cũng thay đổi theo từng đặc điểm môi trường. Qua hai vụ canh tác, dòng **BC₂F₃-30-10** được đánh giá là thích hợp nhất cho vụ Đông Xuân và dòng **BC₃F₃-8-10-8** là dòng ưu tú nhất cho vụ Hè Thu.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống lúa có phẩm chất cao và năng suất ổn định để phục vụ cho tiêu thụ nội địa và xuất khẩu đã được thực hiện, nhằm đáp ứng yêu cầu cải thiện tỉ lệ gạo bạc bụng ở các giống lúa cao sản có năng suất cao hiện nay. Đồng thời, phương pháp chọn lọc con lai của quần thể hồi giao cải tiến thông qua chỉ thị phân tử mang lại hiệu quả cao và rút ngắn thời gian lai tạo.

1. Kết quả đã được thực hiện trên 105 mẫu giống lúa cao sản được thu thập và đánh giá kiểu hình, kiểu gen. Trong đó: OM3673 được chọn làm giống mẹ tái tục vì là giống có năng suất cao, ổn định và thích nghi rộng nhưng tỉ lệ gạo bạc bụng rất cao; giống cho gen đích bao gồm RVT và TLR434 được dùng làm bố, đây là các giống có tỉ lệ gạo bạc bụng rất thấp.

2. Chọn dòng triển vọng nhờ phương pháp hồi giao cải tiến cho thấy: ở thế hệ BC_3F_2 của quần thể hồi giao OM3673/RVT//OM3673 có 2 dòng (BC_3F_2-8 và BC_3F_2-42) được chọn và quần thể BC_2F_2 của OM3673/TLR434//OM3673 có 4 dòng (BC_2F_2-14 , BC_2F_2-30 , BC_2F_2-50 và BC_2F_2-80) được chọn lựa dựa trên gạo ít bạc bụng nhất để tiếp tục nghiên cứu.

3. Qua kết quả phân tích bản đồ di truyền GGT của 2 quần thể hồi giao, 11 cá thể cho thấy mang vùng gen mục tiêu trên nhiễm sắc thể số 7 (0-140 cM), đồng hợp theo bộ gen của bố (RVT, TLR434) được chọn để tiếp tục phát triển. 11 dòng lúa triển vọng được chọn từ kết quả phân tích GGT bao gồm 7 dòng BC_3F_3-8 , BC_3F_3-14 , BC_3F_3-24 , BC_3F_3-33 , BC_3F_3-42 , BC_3F_3-57 , BC_3F_3-63 (thuộc tổ hợp OM3673/RVT//OM3673) và 4 dòng BC_2F_3-14 , BC_2F_3-30 , BC_2F_3-50 , BC_2F_3-80 (thuộc tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673).

4. Kết quả phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của 11 dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất và tỉ lệ gạo không bạc bụng trong hai vụ canh tác liên tiếp (Đông Xuân 2016-2017 và Hè Thu 2017) cho thấy 11 dòng này có năng suất cao

tương đương giống mẹ (OM3673) và có tỉ lệ gạo bị bạc bụng được cải thiện rất nhiều, khác biệt có ý nghĩa so với OM3673, khả năng ổn định cao và thích nghi đa dạng với môi trường canh tác. Trong số đó, các dòng biểu hiện tốt nhất là dòng **BC₂F₃-30-10** và **BC₃F₃-8-10-8**.

2. Đề nghị

Tiếp tục phát triển các dòng lúa triển vọng mang gen mục tiêu không bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7, với các nội dung khoa học sâu hơn về đánh giá kiểu gen nhờ giải trình tự (GBS: genotyping by sequencing), để kết quả chọn dòng chính xác hơn trong tương lai.

Bên cạnh đánh giá bạc bụng theo thời gian thu hoạch, nghiên cứu thêm bạc bụng theo thời gian lưu trữ dòng/giống lúa cũng như bạc bụng theo các vị trí hạt trên bông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007), *Chọn giống cây trồng - phương pháp truyền thống và phân tử*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM. tr.304.
2. Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2000), *Một số vấn đề cần thiết về gạo xuất khẩu*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM.
3. Bùi Thị Dương Khuê (2005), *Ứng dụng đánh dấu vi vệ tinh (microsatellite marker) trong chọn giống lúa (Oryza sativa L.) có mùi thơm*. Luận án thạc sĩ Công nghệ sinh học. Viện nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học, Đại Học Cần Thơ.
4. Hồ Văn Được, Nguyễn Thị Lang, Đặng Thị Diễm Kiều, Nguyễn Thị Thảo Nguyên, Bùi Chí Bửu (2016a), "Phân tích hàm lượng amylose và tính trạng nông học của cây lúa trên quần thể lai hồi giao OM5930/OM7347//OM5930". *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 6(67): 25-30.
5. Hồ Văn Được, Nguyễn Thị Lang, Bùi Phước Tâm, Phạm Thị Bé Tư (2017), "Ứng dụng chỉ thị phân tử chọn giống lúa có hàm lượng amylose thấp trên quần thể lai hồi giao OM6976/Jasmine85//OM6976". *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 7(80): 3 - 9.
6. Lê Thu Thủy, Lê Xuân Thái, Nguyễn Hoàng Khải và Nguyễn Thành Trực (2005), "Chọn tạo giống lúa chất lượng cao và các yếu tố ảnh hưởng đến phẩm chất gạo". *Tạp chí nghiên cứu khoa học*, số 4: 36-45. Đại Học Cần Thơ.
7. Nguyễn Thị Lang (2002), *Phương pháp cơ bản trong nghiên cứu Công nghệ sinh học*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM.
8. Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2005), *Sinh học phân tử giới thiệu phương pháp và ứng dụng*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM.

9. Nguyễn Thị Lang (2005b), *Ứng dụng công nghệ sinh học chọn giống lúa chất lượng cao tỉnh An Giang*, Đề tài khoa học An Giang.
10. Nguyễn Thị Lang (2010), *Nghiên cứu chọn tạo giống lúa xuất khẩu cho Đồng bằng sông Cửu Long giai đoạn 2006 – 2010*, Đề tài cấp Bộ.
11. Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2011), *Khoa học về cây lúa – Di truyền và chọn giống*, NXB Nông Nghiệp, TP.HCM.
12. Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2018), *Công nghệ tiên tiến chọn tạo giống lúa thuần chống chịu mặn – hạn*, NXB Giáo dục, TP. Cần thơ.
13. Nguyễn Thị Lang, Phạm Công Trứ, Nguyễn Văn Hiếu, Trần Minh Tài, Nguyễn Ngọc Hương, Trần Thị Thanh Xà, Bùi Chí Bửu (2016), “Nghiên cứu sự tương tác kiểu gen và môi trường của bộ giống chịu mặn tại ĐBSCL”. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Việt Nam*, số 7 (68): 40-44.
14. Nguyễn Thị Lang và ctv. (2005), “Nghiên cứu biến động di truyền trên hàm lượng amylose của gạo (*Oryza sativa* L)”. *Tạp chí Khoa học công nghệ Nông nghiệp*, số 12: 14-20.
15. Nguyễn Thị Lang (2004), “Nghiên cứu gen waxy trên hạt gạo bằng marker phân tử”, *Tạp chí nông nghiệp và phát triển nông thôn*, số 9: 1170-1171.
16. Trần Duy Quý (2002), *Cơ Sở Di truyền và Công Nghệ Sản Xuất Lúa Lai*, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.
17. Trần Thanh Bình (2007), *Tạo quần thể lai Backcross để khai thác gen bạc bụng trên giống lúa (*Oryza sativa* L.)*, Khóa luận tốt nghiệp Cử nhân chuyên ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học An Giang.
18. Trần Thanh Sơn (2008), *Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện canh tác đến tỷ lệ bạc bụng và hàm lượng amylose của các giống lúa ở tỉnh An Giang*, Luận án tiến sĩ, Viện KHKT Nông nghiệp miền Nam, ngày bảo vệ: 18/4/2008.

19. Trần Thanh Sơn (2007), “Một số kết quả nghiên cứu chọn tạo giống lúa ở Việt Nam”, http://sonongnghiep.angiang.gov.vn/wp_ctg_ud/lua/ketquachontao.htm .
20. Trương Bá Thảo, Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2004), “ Phân tích biến động di truyền tính trạng bạc bụng trên hạt lúa ”, *Tạp chí Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn*, số 12: 1697-1699.
21. Trương Bá Thảo (2006), *Ứng dụng chỉ thị phân tử trên cơ sở phản ứng chuỗi Polymerase (PCR) để chọn giống lúa (Oryza sativa L.) có chất lượng cao*. Luận án tiến sĩ nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.
22. Vũ Hiếu Đông và Nguyễn Thị Lang (2005), “Nghiên cứu biến động độ hóa hồ (Gelatinization temperature) trên hạt gạo (Oryza sativa L.)”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 1: 61-63.

Tiếng Anh

23. Abdullah AJt, Goldstein W, DashiellK (2010), *Phenotypic structure and breeding value of open-pollinated corn varietal hybrids*, International Journal of plant breeding, Global Science Books.
24. Acquaah G. (2012), *Principles of plant genetics and breeding*. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
25. Ahmad I, Basra SMA, Hussain S, Hussain SA, Hafeez-ur-Rehman, Rehman A and Ali A. (2015), “Priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide improves seedling growth of spring maize at suboptimal temperature”, *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*, 3: 14-22.
26. Akagi, H., Y. Yokozeki., A. Inagaki and T. Fujimura. (1996), “Microsatellite DNA markers for rice chromosomes”, *Theor appl Genet*, 93: 1071- 1077.
27. Asfaliza, R., Rafii, M.Y., Saleh, G., Omar, O. and Puteh, A. (2012), “Combining ability and heritability of selected rice varieties for grain quality traits”. *Australian Journal of Crop Science*, 6(12): 1718-1723.

28. Asghar, S., Anjum, F. M., Amir, R. M. and Khan, M. A. (2012), "Cooking and eating characteristics of rice (*Oryza sativa* L.)" - A review, *Pakistan Journal of Food Science*, 22(3): 128-132.
29. Bao, J. S., H. Corke and M. Sun (2002), "Microsatellite in starch – synthesizing genes in relation to starch physiochemical in waxy rice (*Oryza sativa* L.)", *Theor Appl Genet*, 105: 898 – 905.
30. Begum, H., Spindel, J.E., Lalusin A., Borromeo, T., Gregorio, G and Hernandez J. (2015), *Genome-Wide Association Mapping for Yield and Other Agronomic Traits in an Elite Breeding Population of Tropical Rice (Oryza sativa L.)*.
31. Blanco, J. B., Vázquez, M. E., Martinez-Costas J., Castedo L., Mascareñas J. L. (2003), "A synthetic miniprotein that binds specific DNA sequences by contacting both the major and the minor groove". *Chem Biol*10, 8: 713-22.
32. Buckler, E.S., Holland, J.B., Bradbury, P.J., Acharya, C.B., Brown, P.J., and Browne, C. (2009). "The genetic architecture of maize flowering time". *Science*, 325: 714–718.
33. Chahal G.S and Gosal S.S. (2002), *Principles and Procedures of Plant Breeding, Biotechnological and Conventional Approaches*, Alpha Science International Ltd., Pangbourne, UK.
34. Chen Hai-mei, Zhao-Zhi-gang, Jiang Ling, Wan Xiang-yuan, Liu Ling-long, Wu Xiu-ju and Wan Jian-min (2011), "Molecular genetic analysis on percentage of grains with chalkiness in rice (*Oryza sativa* L.)", *African Journal of Biotechnology*, 10 (36): 6891-6903.
35. Cho Y. G., Ishii T., Temnykh S., Chen X., Lipovich L., Park W.D., Ayres N., Cartinhour S., and McCouch S.R. (2000), "Diversity of microsatellite derived from genomic libraries and genebank sequence in rice (*Oryza sativa* L.)", *Theor Appl Genet*, 100: 713- 722.

36. Chen Y, Wang M, Ouwerker PBF (2012). "Molecular and environmental factors determining grain quality in rice". *Food Energy Sec*, 1(2): 111-132. <http://dx.doi.org/10.1002/fes3.11>.
37. Cao H, H. Guan., P. L. Keeling., M.G. James and A.M. Mayers. (1999), "Identification of soluble starch synthase activity of maize endosperm", *Plant Phisol*, 120: 205 - 215.
38. Collard, B and Mackill (1998), "Conserver ADN drives polymorphirm (CDDP): A simple and novel method for generating ADN marker in plant", *Journal plant Biology*, 27: 558-562.
39. Champagne, E.T., K.L. Bett-Garber, aMcClung, A.M. & Bergman, C.J. (2004), "Sensory characteristics of diverse rice cultivars as influenced by genetic and environmental factors". *Cereal Chemistry*, 81(2): 237–243.
40. Chen, S., Lin, X.H., Xu, C.G., Zhang, Q.F. (2000), "Improvement of bacterial blight resistance of 'Minghui 63', an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection". *Crop Sci*, 40: 239-244.
41. Chen, M.H., Bergman, C.J., Pinson, S. R. M. & Fjellstrom, R.G. (2008), "Waxy gene haplotypes: Associations with apparent amylose content and the effect by the environment in an international rice germplasm collection", *Journal of Cereal Science*, 47: 536 – 545.
42. Chen, X., S. Temnykh., Y. Xu., Y. G. Cho and S. R. McCouch (1997), "Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.)", *Theor Appl Genet*, 95: 553-567.
43. Chen, Y., Wang, M. and Ouwerkerk, P.B.F. (2012), "Molecular and environmental factors determining grain quality in rice", *Food and Energy Security*, 1(2): 111–132.

44. Chung, H.-J., Liu, Q., Lee, L. & Wei, D. (2011), "Relationship between the structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of rice starches with different amylose contents". *Food Hydrocolloids*, 25(5): 968-975.
45. Dali Zeng, Zhixi Yian, Yuchun Rao. (2017), "Rational design of high-yield and superion-quality rice". *Nature Plant* 3, <http://dx.doi.org/10.1038/n.plants>.
46. Ebron G (2013), "In Search of the Perfect Grain". *Rice Today*, 12:3
47. Fitzgerald, M.A., McCouch, S.R. and Robert, D.H. (2009b), "Not just a grain of rice: the quest for quality", *Trends in Plant Science*, 14(3): 133-139.
48. Francia, E., Tacconi, G., Crosatti, C., Barabaschi, D., Bulgarelli, D., Dall'Aglio, E., Vale`, G. (2005), "Marker assisted selection in crop plants". *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 82: 317–342.
49. Frei, M. (2003), "Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines". *Food Chemistry*, 83: 395-402.
50. Frisch M, Bohn M, Melchinger AE. (1999), "Comparison of selection strategies for marker assisted backcrossing of a gene". *Crop Sci*, 39: 1295-1301.
51. Gao Y, Liu C, Li Y, Zhang A, Dong G, Xie L, Zhang B, Ruan B, Hong K, Xue D, Zeng D, Guo L, Qian Q, Gao Z. (2016), "QTL analysis for chalkiness of rice and fine mapping of a candidate gene for *qACE9*", *Gao et al. Rice*, 9:41.
52. Giora B.A. and U. Lavi (2012), "Marker-assisted selection in plant breeding", *Breeding biotechnologies*, p 163-177.
53. Guo T, Liu X, Wan X, Weng J, Liu S, Liu X, Chen M, Li J, Su N, Wu F, Cheng Z, Guo X, Lei C, Wang J, Jiang L, Wan J. (2011). "Identification of a stable quantitative trait locus for percentage grains with white chalkiness in rice (*Oryza sativa* L.)", *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(8): 598–607.

54. Hasan M.M., M.Y. Rafii, M.R. Ismail, M. Mahmood, H.A. Rahim, M.A. Alam, S. Ashkani, M.A. Malek and M.A. Latif (2015). "Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(2): 237-254.
55. He, P., S.G. Hi, Q. Qian, Y.Q. Ma, J.Z. Li, W.M. Wang, Y.Chen & L.H. Zhu. (1999), "Genetic analysis of rice grain quality", *Theor Appl Genet*, 98: 502 – 508.
56. He, P., Y. Chen., L.S.Shen., C.F.Lu., L.H.Zhu. (1998), "Analysis of quantitative trait loci with contributes to anther culurability in rice (*Oryza sativa* L)", *Mol. Breed*, 4: 165-172.
57. Huyen LTN, Cuc LM, Ismail AM, Ham LH. (2012). "Introgression the salinity tolerance QTLs Saltol into AS996, the elite rice variety of Vietnam", *Am J Plant Sci*, 3:981-987.
58. IRRI (1996). *Standard Evaluation System*. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
59. IRRI (2011), "'Chalky' discovery could increase value of rice by 25%", *News and events*, Media release.
60. Ishimaru T, Akemi K, Nishizawa, Takehiro M, Motohiko K, Mitsuru Y. (2009). "Formation of grain chalkiness and changes in water distribution in developing rice caryopsis grown under high-temperature stress", *J. Cereal Sci* 50(2): 166-174.
61. Jairin J, Teangdeerith S, Leelagud P, Kothcharerk J, Sansen K, Yi M, Vanavichit A, Toojinda T. (2009), "Development of rice introgression lines with brown plant hopper resistance and KDML105 grain quality characteristics through marker-assisted selection", *Field Crops Res*, 110: 263-271.
62. Jonaliza CL, Zue-Liu H, Onanong N, Apichart V, Vinitchan R, Somvong T. (2000), "Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai Jasmine Rice (KDML 105)", *DNA Research*. 7: 93-101.

63. Joseph M., S. Gopalakrishnan, R.K. Sharma V.P. Singh, A.K. Singh, N.K. Singh, T. Mohapatra. (2004), "Combining bacterial blight resistance and Basmati quality characteristics by phenotypic and molecular marker-assisted selection in rice", *Molecular Breeding*, 13: 337-387.
64. Juliano B.O. (2003), Production and utilization. In: Rice Chemistry and Quality, Island Publishing House, Inc. Sta. Mesa P.O. Box 406, Manila, Philippines, pp: 1-17.
65. Kiani S.H., Ranjbar G.A., Kazemitabar S.K., Jelodar N.B., Nowrozi M. and Bagheni N. (2008), "Inheritance of gelatinization temperature and gel consistency in rice", *Journal of applied sciences*, 8(8): 1503-1510.
66. Khush, G. S., H. Ikehashi (1979), "Methodology of assessing appearance of the rice grain, inducing chalkiness and whiteness", *In Proc. Workshop on Chemical Aspects of rice grain quality*, IRRI Los Banos, Philippines, pp: 223-229.
67. Khush GS. (2005), "What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030", *Pl. Mol Bio*, 59: 1-6.
68. LI Mao mao, XU Lei, REN Jun-fang, CAO Gui-lan, YU Li-qin, KOH Hee-jong, HE Hao-hua, HAN Long-zhi (2009), "Detection of Quantitative Trait Loci for Chalky Traits in japonica rice", *Chin J Rice Sci*, 23 (4): 371-376.
69. Lin Z, Zhang X, Wang Z, Jiang Y, Liu Z, Alexander D, Li G, Wang S, Ding Y. (2017), "Metabolomic analysis of pathways related to rice grain chalkiness by a notched-belly mutant with high occurrence of white-belly grains", *BMC Plant Biology*, vol. 17, article no. 39.
70. Liu Xia, Zetian Hua and Yong Wang (2011), "Quantitative trait locus (QTL) analysis of percentage grains chalkiness using AFLP in rice (*Oryza sativa* L.)", *Africa Journal of Biotechnology*, 10(3): 2399-2405, Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB>, ISSN 1684-5315, Academic Journal.

71. Lang, N.T., Seji Yanagihara. and B.C. Buu. (2001a), “A microsatellite marker for a gene conferring salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages”, *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 33(1): 1-10.
72. Lang, N.T., Seji Yanagihara. and B.C. Buu. (2001b), “QTL analysis of salt tolerance in rice”, *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 33(1): 11-22.
73. Lang, N.T. and B.C. Buu. (2002a), “Molecular analyses of crosses between *Oryza sativa* vs *O.rufopogon*, *O.officinalis*, and *O.australiensis*”, *Omon rice*, 10: 7-15.
74. Lang, N.T. and B.C. Buu. (2002b), “Identification and fine mapping of SSR marker linked to *fgr* gene of rice”, *Omon rice*, 10: 16-22.
75. Lang N.T. and B.C. Buu. (2002c), “Molecular genetic analysis and marker assisted selection of bacterial blight resistance in hybrid rice”, *Omon rice*, 10: 23-33.
76. Larkin, P. D., McClung, A. M., Ayres, N. M. & Park, W. D. (2003), “The effect of the Waxy locus (Granule Bound Starch Synthase) on pasting curve characteristics in specialty rices (*Oryza sativa* L.)”. *Euphytica*, 131(2): 243–253.
77. Lin, J., Shi, C., Wu, M. and Wu, J. (2005), “Analysis of genetic effects for cooking quality traits of japonica rice across environments”, *Plant Science*, 168: 1501-1506.
78. Liu W J, Zeng J, Jiang G H, He Y Q. (2009), “QTLs identification of crude fat content in brown rice and its genetic basis analysis using DH and two backcross populations”. *Euphytica*, 169(2): 197–205.
79. Liu Q. (2005), *Understanding starches and their role in foods*. In Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and applications (ed. S. W. Cui), pp:309–355. CRC Press, Boca Raton, USA.
80. Mackill, D. J., Collard, B. C. Y., Neeraja, C. N., Maghirang-Rodriquez, R., Heuer, S. & Ismail, A. M. (2006), *QTLs in rice breeding: examples for abiotic stresses*. In Fifth Int. Rice Genetics Symp., Manila.

81. McCouch, S.R, X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, N. Huang, T. Ishii & M. Blair (1997), “Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding”, *Plant Mol Biol*, 35: 89-99.
82. Miah, G., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A. B., Rahim, H. A., Asfaliza, R., et al. (2013), “Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches”, *Mol. Biol. Rep.* 40: 2369–2388.
83. Milne *et al.*, Milne I, P Shaw, G Stephen, M Bayer, L Cardle, WTB Thomas, AJ Flavell, and D Marshall (2010), “Flapjack—graphical genotype visualization”, *Bioinformatics*, 26: 3133–3134.
84. Morgante, M. and A.M. Olivieri (1993), PCR – amplified microsatellites as markers in plant genetics”, *Plant J.*, 1: 175-182.
85. Marathi B, Guleria S, Mohapatra T, Parsad R, Mariappan N, Kurungara VK, Atwal SS, Prabhu KV, Singh NK, AK Singh (2012), “QTL analysis of novel genomic regions associated with yield and yield related traits in new plant type based recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.)”, *BMC Plant Biology*, vol. 12, article no. 137.
86. Nakata M, Fukamatsu Y, Miyashita T, Hakata M, Kimura R, Nakata Y, Kuroda M, Yamaguchi T, Yamakawa H. (2017), “High temperature-induced expression of rice α -amylases in developing endosperm produces chalky grains”, *Frontiers in Plant Science*, vol 8, article 8, pp: 1-13.
87. Nakamura, Y., Yuki, K. (1992), “Changes in enzyme activities associated with carbohydrate metabolism during the development of rice endosperm”. *Plant Sci*, 82(1): 15–20.
88. Nevame AYM, Emon RM, Malek MA, Hasan MM, Alam MdA, Muharam FM, Aslani F, Rafii MY, Ismail MR. (2018), “Relationship between high temperature and formation of chalkiness and their effects on quality of rice”, *BioMed Research International*, vol. 2018, article ID 1653721, pp: 1-18.

89. Neelam Bishwas, Mala Sharma, Adria Hasan, Salman Akhtar, Neha Sharma. (2016), "Improvement of rice crop by Marker-assisted Backcross method", *International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)*, Vol 03, Issue: 06.
90. Nirmaladevi, G., Padmavathi, G., Kota, S. and Babu, V.R. (2015), "Genetic variability, heritability and correlation coefficients of grain quality characters in rice (*Oryza sativa* L.)", *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 47(4): 424-433.
91. Nkori Kibanda, J.M. and Luzi-kihupi, A. (2007), "Influence of genetic and genotype x environment interaction on quality of rice grain", *African Crop Science Journal*, 15(4): 173 - 182.
92. Nguyen Thi Lang and Bui Chi Buu (2004), "Quantitative analysis on amylose content by DNA markers through backcross populations of rice (*Oryza sativa* L.)", *Omonrice*, 12: 13-18.
93. Nguyen Thi Lang (2001), Fine mapping for blast resistance gene in rice using bulked segregant analysis, *Visiting Scientist Report*, March 2001, IRRI, Los Banos, Laguna, Philipines.
94. Pan, H.J., Wang C.L., Zhao K.J, Zhang Q., Fan Y.L., Zhou S.C., Zhu L.H. (2003), "Molecular mapping by PCR-based markers and marker-assisted selection of Xa23, a bacterial blight resistance gene in rice", *Acta Agron Sin*, 29 (4):501-507.
95. Patindol, J., Gu, X. and Wang, Y-J. (2010), "Chemometric analysis of cooked rice texture in relation to starch fine structure and leaching characteristics", *Starch – Stärke*. 62: 188–197.
96. Patindol, J.A., Siebenmorgen, T. J. and Wang, Y-J. (2015), "Impact of environmental factors on rice starch structure", *A review, Starch/Stärke*, 67: 42-54.

97. Paud O., Chen X., Mc Couch S.R. (1996), Development of microsatellite marker and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.), *Mol. Gen. Genet*, 252, pp.597-607.
98. Peng B, Wang L, Fan C, Jiang G, Luo L, Li Y, He Y. (2014), "Comparative mapping of chalkiness components in rice using five populations across two environments", *BMC Genetics*, 15:49.
99. Rafii, M.Y., Zakiah, M.Z., Asfaliza, R., Iffah Haifaa, M.D., Latif, M.A. and Malek, M.A. (2014), "Grain quality performance and heritability estimation in selected F1 rice genotypes", *Sains Malaysiana*, 43(1): 1-7.
100. Reyes-Valdes, M.H. (2000), "A model for marker-based selection in gene introgression breeding programs", *Crop Sci*; 40: 91-98.
101. Robert Koebner (2003), "Marker assisted selection in the cereals: the dream and the reality", *Biomedical and Science*, pp: 317-329.
102. Rohlf, F.J. (1992), *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 1.70 (NTSYS-PC)*. Exeter Software, New York.
103. Septiningsih EM, Pamplona AM, Sanchez DL, Neeraja CN, Vergara GV, Heuer S, Ismail AM, Mackill DS. (2009), "Development of Submergen toleasant rice Cultivars: The Sub1 locus and beyond", *Annals of Botany*, 103 : 151-160.
104. Singh AK, Gopalakrishnan S, Singh SVP, Prabhu KV, Mohapatra T, Singh NK, Sharma TR, Nagarajan M, Vinod KK, Singh D, Singh UD, Chander S, Atwal SS, Seth R, Singh VK, Ellur RK, Singh A, Anand D, Khanna A, Yadav S, Goel N, Singh A, Shikari A B, Singh A, Marathi B. (2011), "Marker assisted selection: a paradigm shift in Basmati breeding", *Indian J Genet Plant Breed*, 71(2): 120-128.
105. Singh, N. et al. (2012), "Morphological evolution through integration: A quantitative study of cranial integration in Homo, Pan, Gorilla and Pongo", *Journal of Human Evolution*, 62(1): 155-164.

106. Sreenivasulu N, Butardo Jr VM, Misra G, Cuevas RP, Anacleto R, Kavi Kishor PB. (2015), “Designing climate-resilient rice with ideal grain quality suited for high-temperature stress”, *J Exp Bot.*, 66(7): 1737–1748.
107. Suh JP, Yang SJ, Jeung JU, Pamplona A, Kim JJ, Lee JH, Hong HC, Yang CI, Kim YG, Jena KK. (2011), “Development of elite breeding lines conferring Bph18 gene-derived resistance to brown plant hopper (BPH) by marker-assisted selection and genome-wide background analysis in japonica rice (*Oryza sativa* L.)”. *Field Crops Res*, 120: 215-222.
108. Shen B, Chen N, Li T, Luo Y (1997). Effect of Temperature on Rice Chalkiness Formation and Changes of Materials in Endosperm. *Chin. J. Rice Sci.* 11(3): 183-186.
109. Sun W, Zhou Q, Yao Y, Qiu X, Xie K, Yu S. (2015), Identification of Genomic Regions and the Isoamylase Gene for Reduced Grain Chalkiness in Rice. *PLoS One*, 10(3): e0122013.
110. Sun Y, Yang Z, Sun Y, XU Hui, Yan Feng-jun, Zhao JH, Jun MA (2014). Effects of water-nitrogen management patterns and phosphorus and potassium fertilizer combined application on grain yield and quality of hybrid rice gangyou 725 in rapeseed (wheat)-rice planting area of Chengdu plain [J]. *J. Plant nutr. Fertil.* 20(1): 17-28.
111. Tanee Sreewongchai, Parichut Rattanapol and Vichan Vichukit (2014), “Alternate Phenotype-Genotype Selection Method for Developing Photoperiod Insensitive, Good Cooking Quality and Potential High Yielding Rice Lines”, *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 48: 851 – 859.

112. Tanksley, S.D and Nelson, J.C. (1996), “Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines”, *Theor Appl Genet*, 92: 191-203.
113. Tang, S. X., G. S. Khush. and B. S Juliano (2001), “Genetics of gel consistency in rice (*Oryza sativa* L.)”, *J. Genet*, 70: 69-78.
114. Tan YF, Xing YZ, Li JX, Yu SB, Xu CG, Zhang Q. (2000), “Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid”, *Theoretical and Applied Genetics*, 101(5-6): 823–829.
115. Temnykh, S., W. Park., N. Ayres., S. Cartinhour., N. Hauck., L. Lipovich., Y.G. Cho., T. Ishii and S. R. McCouch (2000), “Mapping and genome organization of microsatellite in rice (*Oryza sativa* L.)”, *Theor Appl Genet* 100: 689-712.
116. Thomson MJ, Ismail AM, McCouch SR, Mackill MJ. (2010), *Marker assisted breeding*, In: Pareek A, Sopory SK, Bohnert HJ, Govindjee, editors. Abiotic stress adaptation in plants: physiological, molecular and genomic foundation. New York: Springer, p. 451–69.
117. Tian R, Jiang GH, Shen LH, Wang LQ and He YQ. (2005), “Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population”, *Molecular Breeding*, pp: 117-124.
118. Toenniessen GH, O’Toole JC, DeVries J. (2003), “Advances in plant biotechnology and its adoption in developing countries”, *Curr Opin Plant Biol*, 6: 191-198.
119. Toojinda T, Tragoonrung S, Vanavichit A, Siangliw JL, Pa-In N, Jantaboon J, Siangliw M, Fukai S. (2005), “Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region”, *Plant Prod Sc*, 8: 330-333.
120. Toshiaki Mitsui, Takeshi Shiraya, Kentaro Kaneko, Kaede Wada. (2013), “Proteomics of Rice Grain under High Temperature Stress”, *Frontiers in Plant Science*, 4(36): 1-5.

121. Toth B., Francia E., Rizza F., Stanca A.M., Galiba G., Pecchioni N. (2004), Development of PCR-based markers on chromosome 5H for assisted selection of frost-tolerant genotypes in barley, *Mol Breed*, Published on line.
122. Van Berloo (2008), "GGT 2.0: Versatile software for visualization and analysis of genetic data J Hered", 99 (2): 232-236.
123. Varavinit S, Shobsngob S, Varanyanond W, Chinachoti P, Naivikul O. (2003), "Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of flours from different cultivars of Thai rice". *Starch-Stärke*, 55:410–415.
124. Vu HTT, Le DD, Ismail AM, Le HH. (2012), "Marker-assisted backcrossing (MABC) for improved salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to cope with climate change in Vietnam", *Aust J Crop Sci*, 6(12): 1649-1654.
125. Xi, Z.Y., He, F.H., Zeng, R.Z., Zhang, Z.M., Ding, X.H., Li, W.T. (2008), "Characterization of donor genome contents of backcross progenies detected by SSR markers in rice", *Euphytica*, 160: 369-377.
126. Xi M, Lin ZM, Zhang XC, Liu ZH, Li GH, Wang QS, Wang SH, Ding YF. (2014), "Endosperm structure of white-belly and white-core rice grains shown by scanning electron microscopy", *Plant Prod Sci*, 17(4): 285–290.
127. Yamakawa H., Ebitani T. and Terao T. (2008), Comparison between locations of QTLs for grain chalkiness and genes responsive to high temperature during grain filling on the rice chromosome map. *Breeding Science*, 58, pp.337-343.
128. Yamakawa H, Hirose T, Kuroda M. Yamaguchi T (2007). Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related gene under high temperature using DNA microarray. *Plant Physiol.* 144: 258-277. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.107.098665>
129. Yibo Li, Chuchuan F, Yongzhong X, Peng Y, Lijun L, Bao Y, Bo Peng, Weibo X, Gongwei Wang, Xianghua Li, Jinghua X, Caiguo X, Yuping H (2014). Chalk5

encodes a vacuolar H⁺-translocating pyrophosphatase influencing grain chalkiness in rice. *Nat. Genet.* 46: 398- 404.

130. Yi M, Nwe K T, Vanavichit A, Chai-arree W, Toojinda T. (2009), “Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha”, *Field Crops Res*, 113: 178-186.
131. Zhao K., Wright M., Kimball J., Eizenga G., McClung A., Kovach M., Tyagi W, Ali M.D., Tung C.W., Reynolds A, Bustamante C.D, McCouch S.R. (2010), “Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome”, *PloS ONE*, 5(5) e10780, pp:1-1.
132. Zhou LJ, Zhai HQ, Wan JM (2009), “Curent status and strategies for improvement of rice grain chalkiness”, *Yi Chuan*, 31(6): 563-572.
133. Zhu A, Zhang Y, Zhang Z, Wang B, Xue P, Cao Y, Chen Y, Li Z, Liu Q, Cheng S, Cao L. (2018), “Genetic Dissection of *qPCG1* for a Quantitative Trait Locus for Percentage of Chalky Grain in Rice (*Oryza sativa* L.)”, *Front Plant Sci*, 9: 1173.

PHỤ LỤC

1. Phụ lục 1: Các giống lúa vật liệu lai

Bảng 3.15: Kết quả đánh giá cấp bậc bọ của các giống lúa vật liệu lai

TT	Tên giống/dòng	Cấp bậc bọ theo thời gian thu hoạch (cấp 0-1-5-9)							
		25 N	26 N	27 N	28 N	29 N	30 N	31 N	32 N
1	CT 2	6,1	7,3	7,8	8,3	8,3	8,4	8,4	8,4
2	CT 3	3,7	5,9	6,1	6,3	7,7	8,1	8,1	8,5
3	MNR 2	3,9	3,9	4,3	4,9	5,7	6,1	6,3	6,3
4	MNR 3	4,1	4,5	4,8	5,0	5,2	5,5	6,0	6,0
5	MNR 4	6,9	7,2	7,7	8,3	8,5	8,5	8,8	8,8
6	OM 10000	8,3	8,5	8,8	8,8	8,8	8,8	8,9	8,9
7	OM 10029	6,8	6,9	7,7	7,8	8,5	8,6	8,8	8,9
8	OM 10030	6,4	7,4	8,3	8,3	8,3	8,6	8,8	8,8
9	OM 10037	2,2	2,3	2,3	2,7	2,9	3,4	4,9	5,9
10	OM 10037-3	1,1	1,4	1,7	1,8	2,2	3,7	5,1	5,8
11	OM 10040	2,4	2,6	3,5	5,6	5,9	6,3	6,3	7,0
12	OM 10041	4,6	6,0	7,0	7,1	7,4	7,9	7,9	7,9
13	OM 10042	3,4	3,4	5,7	5,7	6,0	6,8	6,8	6,8
14	OM 10093	2,2	2,5	4,0	4,1	4,9	5,4	6,3	6,4
15	OM 10097	1,6	1,7	1,8	2,3	2,3	2,8	3,8	4,0
16	OM 10115	1,3	1,3	1,9	1,9	2,1	2,6	2,6	4,5
17	OM 10126	0,9	1,4	2,0	2,9	3,1	3,2	4,3	4,3
18	OM 10174	1,6	2,0	2,1	2,2	2,4	2,7	3,0	3,0
19	OM 10174-2	2,2	2,3	2,7	3,0	3,4	3,4	3,8	5,0
20	OM 10179	1,7	1,8	2,8	2,8	3,0	3,1	4,2	4,2
21	OM 10179-2	1,7	1,8	2,7	2,8	3,2	3,3	3,5	4,0
22	OM 10236	3,5	3,5	5,0	5,3	6,2	6,7	6,7	7,4
23	OM 10252	0,3	0,6	0,8	1,1	1,4	1,7	1,7	1,7
24	OM 10258	0,3	0,3	0,7	0,7	1,6	1,6	1,7	2,0

25	OM 10375	1,6	2,4	2,9	3,4	3,6	4,6	5,3	5,3
26	OM 10383	1,0	1,1	1,7	1,8	2,6	2,9	3,4	4,4
27	OM 10385	0,7	0,8	0,9	1,3	1,4	1,7	2,4	2,5
28	OM 10418	2,8	3,2	3,6	3,8	3,9	4,1	4,1	4,8
29	OM 10834	2,1	2,2	2,4	2,8	3,0	3,0	3,1	4,1
30	OM 10836	6,2	6,2	6,8	7,4	7,6	8,2	8,2	8,3
31	OM 27L	1,4	2,3	2,5	2,6	2,9	3,6	3,8	4,1
32	OM 28L	2,3	3,1	3,1	3,4	3,6	3,9	4,0	5,7
33	OM 35L	2,7	3,1	3,3	3,7	4,0	4,9	5,3	6,2
34	OM 3673	4,5	5,2	6,0	6,5	7,5	7,6	7,7	7,7
35	OM 36L	7,0	7,7	7,9	7,9	8,0	8,6	8,7	8,8
36	OM 4900	8,5	8,7	8,8	8,9	8,9	9,0	9,0	9,0
37	OM 53L	3,8	3,9	5,4	5,9	6,2	6,3	6,7	7,0
38	OM 5894	1,9	2,2	2,4	2,6	3,0	4,2	5,2	5,6
39	OM 5992	3,9	4,4	4,8	5,6	5,7	5,9	6,4	7,2
40	OM 6013	2,9	3,2	3,2	3,6	3,8	4,2	4,5	4,5
41	OM 6063	1,7	2,0	2,6	4,0	4,1	5,7	6,3	8,3
42	OM 64L	1,5	1,9	2,2	3,2	3,2	3,6	3,8	4,8
43	OM 6600	5,6	7,1	7,5	7,7	7,8	8,2	8,3	8,3
44	OM 6691	6,0	6,2	6,4	6,5	7,7	8,5	8,9	8,9
45	OM 6707	1,5	1,7	3,0	3,3	3,9	4,0	4,9	6,2
46	OM 6832	2,5	2,9	3,3	4,5	4,6	4,7	5,6	5,6
47	OM 6878	6,7	6,7	7,2	7,3	7,8	6,6	6,6	6,6
48	OM 6L	1,7	2,6	3,1	3,3	3,6	4,8	6,1	6,3
49	OM 70L	6,1	6,1	7,8	7,9	8,0	8,6	8,8	8,8
50	OM 72L	3,1	3,3	3,7	3,8	3,8	4,9	5,7	5,7
51	OM 7340	3,1	4,0	4,2	4,3	5,4	5,7	6,0	6,0
52	OM 7345	3,1	4,2	4,9	6,6	6,9	8,5	8,9	8,9
53	OM 7393	3,5	4,3	4,4	5,0	5,2	6,5	6,5	6,5
54	OM 7L	2,3	3,4	3,9	6,0	6,3	6,5	7,0	7,0

55	OM 8105	7,9	8,3	8,6	8,9	8,9	9,0	9,0	9,0
56	OM 8108	4,0	4,8	5,2	5,4	5,4	5,5	5,6	5,8
57	OM 8900	1,9	3,7	3,7	4,2	4,6	5,1	6,6	6,6
58	OM 8902	2,3	2,8	3,4	5,1	5,1	5,7	6,8	6,8
59	OM 8927	1,3	1,9	2,1	2,6	2,6	2,8	3,2	3,2
60	OM 8928	2,0	2,4	2,8	2,9	3,2	4,8	5,5	5,6
61	OM 95L	2,1	2,6	2,7	3,2	3,4	3,4	3,6	4,0
62	OM 9922	1,1	1,7	1,8	2,2	2,3	2,4	2,7	2,7
63	OM 9998-1	6,9	7,5	8,3	8,4	8,5	9,0	9,0	9,0
64	OMCS 2012	0,9	0,9	1,2	1,5	1,8	2,6	3,1	3,6
65	OMCS 2013	5,2	5,5	5,6	5,8	6,2	6,5	8,1	8,1
66	RVT	0,6	0,8	0,8	0,9	0,9	1,1	1,1	1,3
67	T2	4,8	5,1	5,2	5,3	5,8	6,8	8,8	8,8
68	TLR 375	8,5	8,6	8,8	8,8	8,8	8,9	8,9	8,9
69	TLR 375	7,1	7,9	8,5	8,5	8,5	8,6	8,7	8,8
70	TLR 378	2,5	4,2	4,4	4,6	4,7	5,4	7,0	7,6
71	TLR 379	4,8	5,2	5,5	6,0	6,9	7,1	7,2	7,6
72	TLR 390	1,9	2,8	3,0	3,4	3,5	4,0	4,1	4,7
73	TLR 391	2,0	2,4	3,5	4,0	4,3	4,6	4,7	4,9
74	TLR 392	1,2	3,2	3,9	4,9	6,0	6,0	6,0	6,0
75	TLR 393	2,4	2,4	2,4	2,6	3,3	3,7	3,9	5,0
76	TLR 394	4,8	4,9	5,8	6,5	6,9	7,1	7,1	8,0
77	TLR 395	3,2	3,3	3,5	3,6	3,9	4,4	6,1	6,1
78	TLR 396	1,0	2,0	2,2	2,3	2,4	3,1	3,4	4,8
79	TLR 397	2,9	3,0	3,1	4,4	4,8	5,0	5,4	7,4
80	TLR 402	7,6	7,9	8,5	8,6	8,6	8,7	8,8	8,9
81	TLR 416	0,7	1,3	1,5	1,5	1,7	1,8	2,1	2,6
82	TLR 417	0,3	0,4	0,6	0,6	0,7	1,8	2,6	3,0
83	TLR 418	3,4	4,3	4,5	4,8	5,2	6,0	6,1	6,5
84	TLR 419	1,5	1,7	1,8	1,8	1,8	1,9	2,1	2,3

85	TLR 420	1,2	1,3	1,4	1,4	1,4	1,6	1,7	2,0
86	TLR 421	5,3	5,5	5,7	5,9	6,2	6,6	7,3	7,5
87	TLR 423	3,6	3,9	4,1	4,5	6,0	6,0	6,2	6,4
88	TLR 424	6,0	6,1	6,6	6,9	7,1	7,3	7,3	7,4
89	TLR 425	1,0	1,2	1,3	1,3	2,0	2,5	3,0	3,4
90	TLR 426	0,3	0,3	0,5	0,6	0,9	1,0	1,5	2,0
91	TLR 427	2,5	2,7	2,7	3,2	3,2	3,4	4,3	7,5
92	TLR 428	4,0	4,4	4,5	5,1	5,5	6,3	6,5	7,8
93	TLR 429	2,8	3,1	4,5	4,9	5,8	5,9	6,1	7,4
94	TLR 430	1,4	1,8	2,0	2,4	2,6	3,7	4,2	4,3
95	TLR 431	0,5	1,1	1,3	1,7	1,9	2,3	2,4	2,6
96	TLR 432	4,7	5,3	5,3	6,1	6,8	7,2	8,4	8,5
97	TLR 434	0,5	0,6	0,8	0,9	0,9	0,9	1,1	1,1
98	TLR 435	5,7	6,3	6,5	6,7	7,5	8,1	8,6	8,7
99	TLR 436	1,6	2,2	2,2	2,5	3,3	3,3	4,5	6,2
100	TLR 437	1,5	2,0	2,0	2,1	2,1	2,7	3,0	3,7
101	TLR 439	2,7	3,0	3,6	4,2	4,5	4,6	5,1	5,8
102	TLR 440	3,7	4,1	4,3	4,4	4,5	4,8	5,6	7,4
103	TLR 441	2,1	2,2	2,8	3,0	3,2	3,2	3,4	4,1
104	TLR438	2,0	2,1	2,3	2,6	2,6	2,6	3,6	7,7
105	TV2	3,2	3,6	3,9	4,2	4,5	5,4	5,6	6,7

Chú thích: N: ngày sau khi lúa trổ 50%

2. Phụ lục 2: Dụng cụ và hóa chất sử dụng trong thí nghiệm

*** Dụng cụ và hoá chất thực hiện ly trích DNA**

- Đĩa nghiền: phá vỡ tế bào
- Tube 1.5 ml
- Micropipet: 1µl-1000 µl
- Ống đong 1ml-1000 ml
- Máy ly tâm (Biofuge pico-Heraeus)
- Chloroform 100 %
- Cồn 100 %
- Dung dịch đệm ly trích DNA:

Tris, EDTA, NaCl, SDS, Chloroform, Nước cất hai lần, TE buffer.

*** Dụng cụ và hóa chất để thực hiện điện di agarose gel**

- Bộ máy điện di loại nằm ngang (Gibco BRL Model 4001-Life technologies)
- Máy chụp hình gel bằng tia UV
- Agarose
- TAE gồm: Tris, EDTA, glacial acetic acid, nước cất hai lần
- DNA loading buffer: sucrose, xylene cyanol, bromophenol blue, EDTA, H₂O
- Ethidium bromide
- DNA ladder 1 kb làm marker chuẩn.

*** Dụng cụ và hoá chất để thực hiện phản ứng chuỗi polymerase**

- Mẫu DNA ly trích
- dNTPs
- PCR buffer
- Các primer dùng cho SSR marker
- Taq polymerase
- Máy Thermal cycler (BioRad)

Bảng 2.2: Thành phần dung dịch đệm ly trích DNA và TE buffer (pH = 8)

Thành phần dung dịch đệm ly trích DNA (5 ml)			
Thành phần	Nồng độ	Thể tích	Chức năng
Tris (pH = 8)	50 mM	0,25 ml	Ổn định pH = 8
EDTA (pH = 8)	25 mM	0,25 ml	Kết hợp với Mg^{2+} , cofactor của DNase (tự do)
NaCl	300 mM	0,30 ml	Kết hợp với ethanol 100% để tủa và rửa sạch DNA, bảo vệ DNA
SDS	1%	0,50 ml	Biến tính protein
Nước cất		3,70 ml	Dung môi hòa tan
Thành phần dung dịch TE buffer (pH = 8) (50 ml)			
Thành phần	Nồng độ	Thể tích	
Tris (pH = 8)	10 mM	0,5 ml	
EDTA (pH = 8)	0,5 mM	0,1 ml	
Nước		49,4 ml	

(Nguồn: Nguyễn Thị Lang, 2002)

Bảng 2.3: Các thành phần của gel polyacrylamide và agarose được sử dụng

Gel polyacrylamide 6%		Gel agarose 3%	
Thành phần	Thể tích	Thành phần	Thể tích
Nước cất	78,9 ml	Nước cất	98 ml
10X TBE buffer	5,0 ml	50X TAE buffer	2 ml
40% Acrylamide	15,0 ml	Agarose	3,0 g
10% APS	1,0 ml		
TEMED	100,0 μ l		
Tổng cộng	100,0 ml	Tổng cộng	100,0 ml

(Nguồn: IRRI, 2006; Nguyễn Thị Lang, 2002)

3. Phụ lục 3: Danh sách primers phân tích GGT trên nhiễm sắc thể số 7

ST T	Tên Primer	Forward Primer (5'-3')	Reversed Primer (5'-3')
1	Indel 5	CAGCTATGTGTAGCTTCG	GTGCTCATTGGGCGGTTT
2	RM21938	CCAAATTGCTTCCTCGGATATAGG	CGGATTTAGGGAGTTCGTGTTCG
3	RM51	TCTCGATTCAATGTCCTCGG	CTACGTCATCATCGTCTTCCC
4	RM180	CTACATCGGCTTAGGTGTAGCAA CACG	ACTTGCTCTACTTGTGGTGAGGG ACTG
5	RM261	CTACTTCTCCCCTTGTGTCG	TGTACCATCGCCAAATCTCC
6	RM248	TCCTTGTGAAATCTGGTCCC	GTAGCCTAGCATGGTGCATG
7	RM6326	TAGCTTGGTTCGGTCAAACC	ACCAGATTGTTAGCAACCCG
8	RM3635	CGTGAGAGCGTGAGAGACAG	ACTTTGGTGTTCCCTCCCTC
9	RM3753	GAATGAGCTAAGAACACGCC	CTGATGGCCCAAGACTTTTG
10	RM1362	TGATCTAAACAGGCCCTTAG	CATCATCAAGACCACACATC
11	RM20782	GCTAGTAAGAGTGTGCAGTCATG G	CATGTGCCTCTTCTGAGTACTGG
12	RM5436	CAAAGGGGGTGTCTCTATG	GTTGCTCGTCCTACATGTGC
13	RM5752	TTGCAATTAATTCGATCTCC	GCAGATCGATTCGTTAGTTC
14	RM1335	GCATGCATGAATATGATGG	AGATCGAACAAGAAGAGTGG
15	Indel 14	TCATGATCAATGCACAA	AAGACTCCAAGACAAC

4. Phụ lục 4: Đánh giá tương quan giữa kiểu hình và kiểu gen bạc bụng trên các giống lúa vật liệu

Bảng 3.16: Tương quan giữa kiểu hình và kiểu gen của tính trạng bạc bụng ở 105 giống lúa

STT	Tên	Tỷ lệ bạc bụng	Chỉ thị Indel5	Chỉ thị RM21938
1	TLR 434	<10%	AA	AA
2	RVT	<10%	AA	AA
3	OM 10252	<10%	aa	aa
4	OM 10258	<10%	AA	AA
5	TLR 420	<10%	AA	AA
6	TLR 426	<10%	AA	AA
7	TLR 419	<10%	Aa	aa
8	OM 10385	<10%	aa	aa
9	TLR 416	<10%	AA	AA
10	TLR 431	<10%	aa	aa
11	OM 9922	<10%	aa	aa
12	OM 10174	<10%	aa	aa
13	TLR 417	<10%	AA	AA
14	OM 8927	<10%	aa	AA
15	TLR 425	<10%	aa	aa
16	OMCS 2012	<10%	aa	aa
17	TLR 437	<10%	Aa	AA
18	OM 10097	<10%	aa	aa
19	OM 10179-2	<10%	-	-
20	OM 95L	<10%	aa	aa
21	OM 10834	<10%	aa	aa
22	OM 27L	<10%	AA	aa

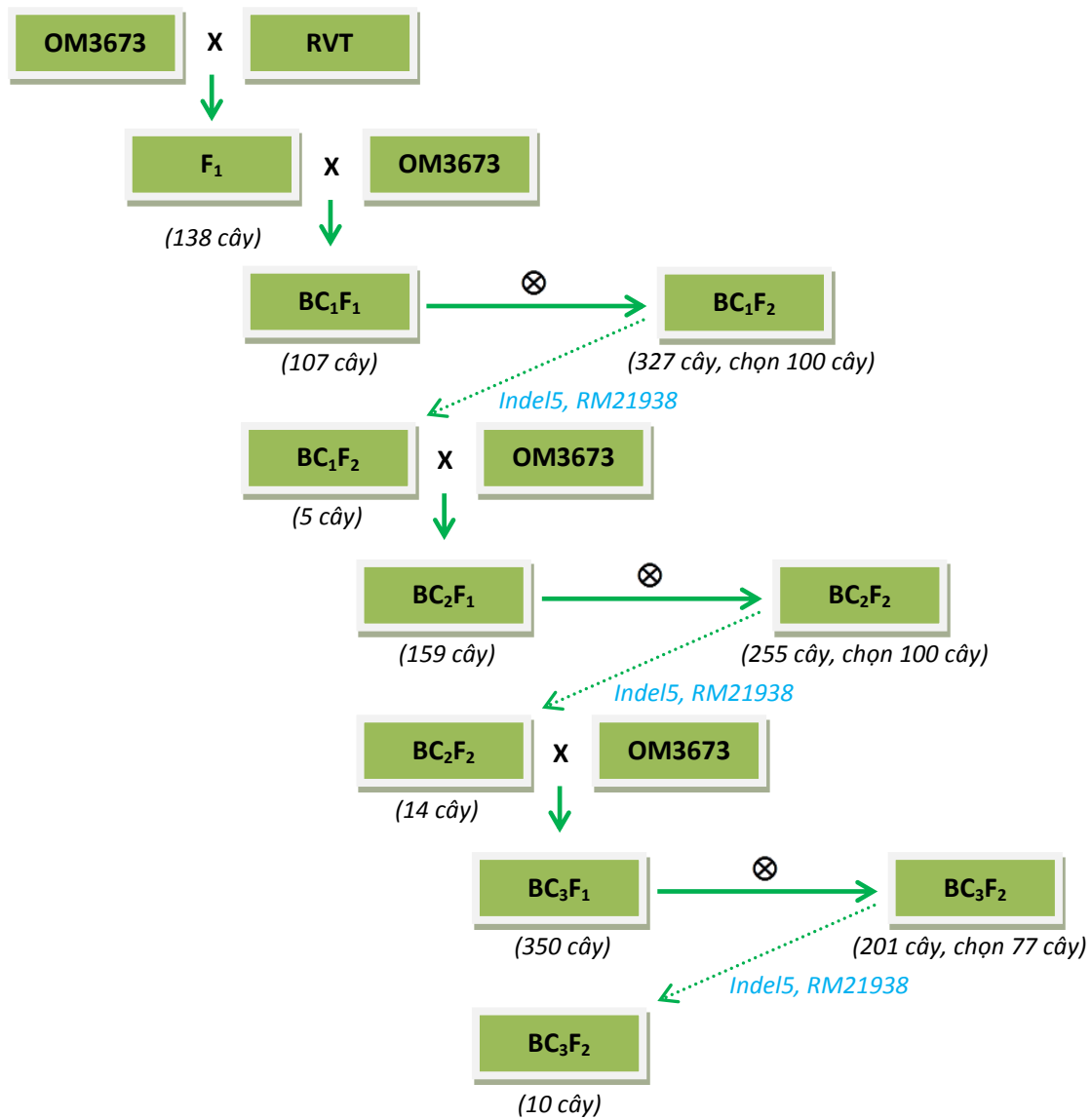
23	TLR 441	<10%	aa	aa
24	OM 10179	<10%	aa	aa
25	OM 10126	<10%	aa	aa
26	TLR 430	<10%	Aa	AA
27	OM 10383	<10%	AA	AA
28	OM 10115	<10%	aa	aa
29	OM 6013	<10%	aa	aa
30	TLR 390	<10%	aa	aa
31	OM 10418	<10%	aa	aa
32	OM 64L	<10%	aa	aa
33	TLR 396	<10%	aa	AA
34	TLR 391	<10%	aa	aa
35	OM 10174-2	≥10%	aa	aa
36	TLR 393	≥10%	aa	AA
37	OM 10375	≥10%	aa	aa
38	OM 5894	≥10%	aa	aa
39	OM 6832	≥10%	aa	aa
40	OM 8928	≥10%	aa	aa
41	OM 28L	≥10%	aa	aa
42	OM 72L	≥10%	aa	aa
43	OM 10037-3	≥10%	aa	aa
44	OM 8108	≥10%	aa	aa
45	TLR 439	≥10%	aa	aa
46	OM 10037	≥10%	AA	AA
47	MNR 3	≥10%	-	aa
48	OM 7340	≥10%	aa	aa
49	TLR 392	≥10%	aa	aa
50	TLR 395	≥10%	aa	aa

51	OM 35L	≥10%	AA	aa
52	OM 6707	≥10%	aa	aa
53	TLR 436	≥10%	aa	aa
54	MNR 2	≥10%	-	-
55	OM 6L	≥10%	aa	aa
56	OM 10093	≥10%	aa	aa
57	TLR 423	≥10%	aa	aa
58	OM 7393	≥10%	aa	aa
59	TLR 418	≥10%	aa	aa
60	OM 6878	≥10%	aa	AA
61	OM 8900	≥10%	aa	aa
62	TV2	≥10%	-	-
63	OM 10042	≥10%	aa	aa
64	OM 8902	≥10%	aa	aa
65	OM 10040	≥10%	aa	aa
66	OM 53L	≥10%	AA	aa
67	OM 7L	≥10%	aa	aa
68	OM 5992	≥10%	aa	aa
69	OM 10236	≥10%	aa	aa
70	TLR 397	≥10%	aa	aa
71	TLR 424	≥10%	aa	aa
72	TLR 429	≥10%	aa	aa
73	TLR 440	≥10%	aa	aa
74	TLR 421	≥10%	aa	aa
75	TLR 427	≥10%	aa	aa
76	TLR 378	≥10%	-	aa
77	TLR 379	≥10%	aa	aa
78	OM 3673	≥10%	aa	aa

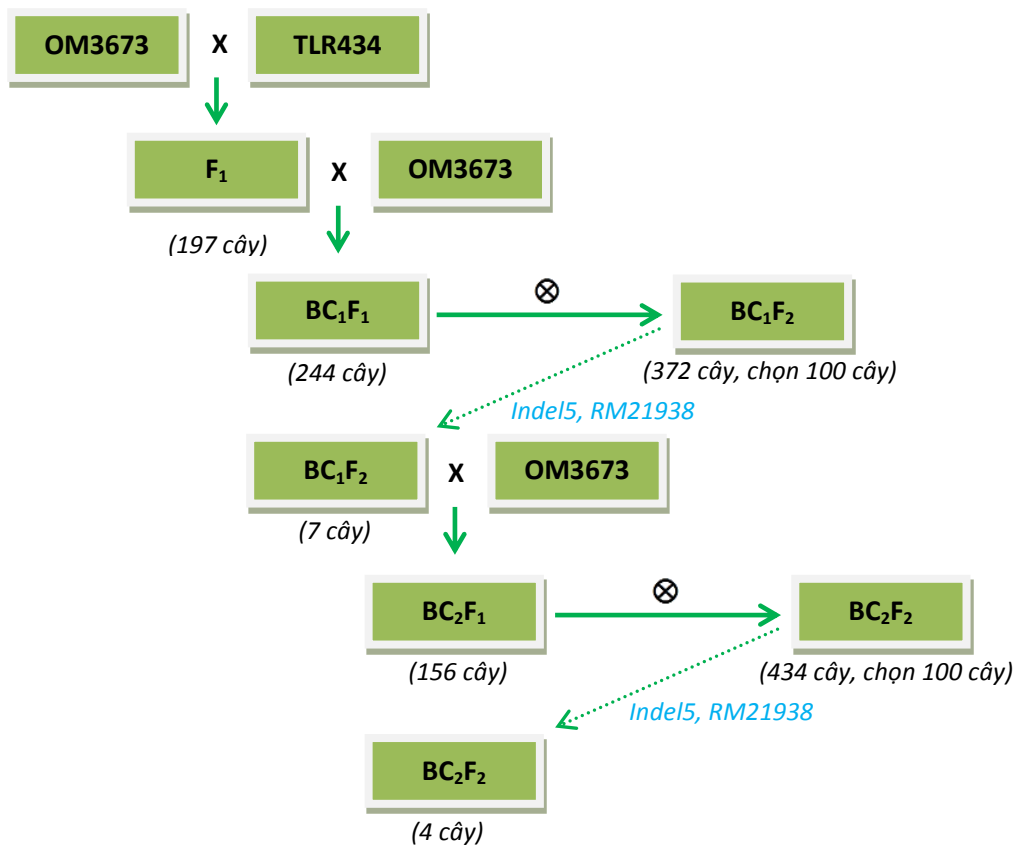
79	TLR438	$\geq 10\%$	aa	aa
80	TLR 428	$\geq 10\%$	aa	aa
81	OM 10041	$\geq 10\%$	aa	aa
82	TLR 394	$\geq 10\%$	aa	aa
83	OMCS 2013	$\geq 10\%$	aa	aa
84	OM 10836	$\geq 10\%$	aa	aa
85	OM 6063	$\geq 10\%$	aa	aa
86	OM 6600	$\geq 10\%$	aa	aa
87	CT 2	$\geq 10\%$	aa	aa
88	CT 3	$\geq 10\%$	aa	AA
89	TLR 432	$\geq 10\%$	aa	aa
90	TLR 435	$\geq 10\%$	-	-
91	MNR 4	$\geq 10\%$	aa	aa
92	OM 10030	$\geq 10\%$	-	-
93	OM 36L	$\geq 10\%$	aa	aa
94	OM 70L	$\geq 10\%$	AA	AA
95	T2	$\geq 10\%$	-	-
96	TLR 375	$\geq 10\%$	aa	aa
97	OM 10000	$\geq 10\%$	AA	aa
98	OM 10029	$\geq 10\%$	aa	AA
99	OM 6691	$\geq 10\%$	aa	aa
100	OM 7345	$\geq 10\%$	aa	aa
101	TLR 375	$\geq 10\%$	-	-
102	TLR 402	$\geq 10\%$	aa	aa
103	OM 4900	$\geq 10\%$	aa	aa
104	OM 8105	$\geq 10\%$	aa	aa
105	OM 9998-1	$\geq 10\%$	aa	aa

Chú thích: AA: gen ít bạc bụng đồng hợp tử; Aa: gen ít bạc bụng dị hợp tử; aa: không mang gen ít bạc bụng

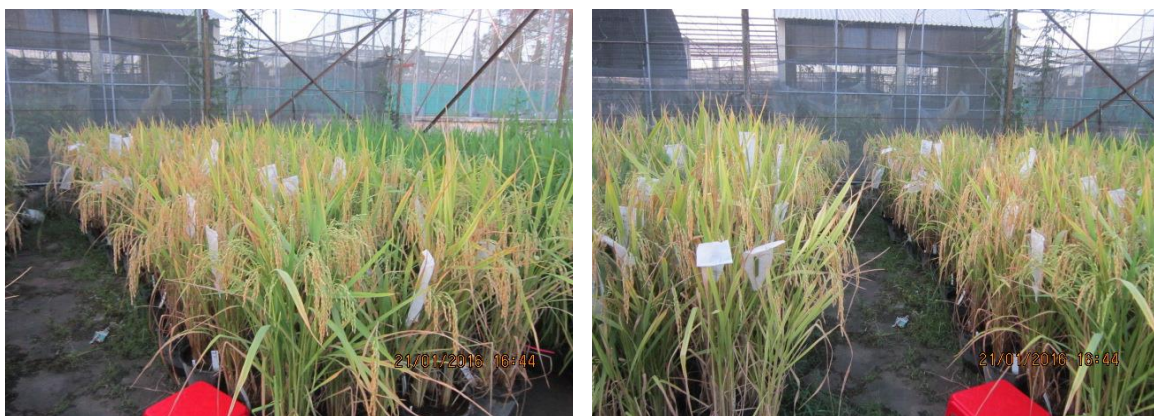
5. Phụ lục 5: Một số hình ảnh



Hình 3.29: Sơ đồ chọn tạo quần thể OM3673/ RVT //OM3673 nhờ chỉ thị phân tử



Hình 3.30: Sơ đồ chọn tạo quần thể OM3673/ TLR434//OM3673 nhờ chỉ thị phân tử



Hình 3.31: Hình ảnh các Tổ hợp lúa lai hồi giao