

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG CÁC GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG TỈNH QUẢNG NAM DỰA TRÊN CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR

Lã Tuấn Nghĩa, Hoàng Thị Huệ, Lê Thị Thu Trang,
Phạm Thị Thùy Dương, Đàm Thị Thu Hà, Đỗ Hà Thu, Chu Thị Mây

Trung tâm Tài nguyên thực vật

TÓM TẮT

Thí nghiệm tiến hành đánh giá đa dạng dựa trên một số chỉ tiêu chất lượng gạo và sử dụng chỉ thị phân tử SSR trên 80 giống lúa được thu thập tại tỉnh Quảng Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy 61,3% mẫu giống thuộc loài phụ *Japonica*, 40% mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ trung bình, 18,7% mẫu giống xác định có hương thơm. Hàm lượng amylose của các giống biến thiên từ 3,1- 22%. Đã chọn được 15 mẫu giống mang đặc tính quý như có hương thơm và hàm lượng amylose thấp hơn 20%. Kết quả phân tích đa dạng di truyền với 20 chỉ thị SSR trên 80 giống lúa nghiên cứu và 06 giống đối chứng đã phát hiện được 120 alen khác nhau với trung bình là 6,0 alen/locut; 01 alen đặc trưng có thể nhận dạng giống Ba ka chah (SĐK17520) tại locut RM44. Hệ số PIC dao động từ 0,49 đến 0,86, với giá trị trung bình là 0,72. Hệ số tương đồng di truyền của các giống nghiên cứu dao động từ 0,72 đến 0,88. Phân tích quan hệ giữa các mẫu giống lúa cho thấy các mẫu giống lúa có hương thơm (*aromatic*) có xu hướng xếp thành các nhóm riêng biệt. Các kết quả thu được trong nghiên cứu này rất có ý nghĩa cung cấp thông tin và vật liệu trong công tác bảo tồn và chọn tạo giống lúa.

Từ khóa: *Lúa, đa dạng di truyền, chất lượng, chỉ thị SSR.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, gạo Việt Nam có sức cạnh tranh kém và giá thành thấp hơn so với các quốc gia khác trong khu vực như Thái Lan, Campuchia...; nguyên nhân là do chất lượng gạo chưa đáp ứng với nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng. Do đó, nhằm cạnh tranh, xây dựng được thương hiệu, bảo vệ chủ quyền quốc gia về tài nguyên thực vật; chúng ta cần tập chung vào phát triển gạo chất lượng, đặc sản có giá trị dinh dưỡng và sức khỏe cao. Một trong các hướng tiếp cận căn bản là tập chung nghiên cứu tuyển chọn giống lúa chất lượng từ bộ giống địa phương. Do đó, công tác đánh giá về chất lượng kết hợp với sử dụng chỉ thị phân tử là hướng đi phù hợp nhằm cung cấp vật liệu và thông tin cho công tác tuyển chọn, lai tạo chọn giống lúa góp phần bảo tồn, sử dụng và phát triển lúa bền vững ở Việt Nam.

Quảng Nam là một trong những tỉnh có địa hình tương đối phức tạp bao gồm nhiều vùng sinh thái như vùng núi cao, trung du, đồng bằng và ven biển; điều này đã tạo ra cho Quảng Nam nguồn tài nguyên di truyền cây lúa phong phú với nhiều giống địa phương được trồng trọt từ rất lâu đời.

Nghiên cứu này tập chung đánh giá đa dạng di truyền các giống lúa địa phương thu thập ở Quảng Nam dựa trên chỉ tiêu chất lượng gạo và chỉ thị phân tử SSR.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 80 giống lúa thu thập ở tỉnh Quảng Nam và 06 giống đối chứng Kasalath (SDK8200), Nipponbare (SDK9048), IR36 (SDK3407), Jamine (SDK12059), Morobekan (Moro), Tám xoan Hải Hậu (SDK6249) đang lưu giữ tại Trung tâm Tài nguyên thực vật.

Nghiên cứu đã sử dụng 20 chỉ thị SSR định vị trên 12 nhiễm sắc thể của bộ gen lúa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá chất lượng các giống lúa địa phương ở tỉnh Quảng Nam

- Phân loài phụ *Indica* và *Japonica* dựa theo phương pháp của Chang T.T (1976).

- Phân loại nếp/tẻ, khối lượng 1000 hạt, độ bạc bụng, độ thơm theo phương pháp của IRRI (2002).

- Nhiệt độ hóa hồ được đánh giá thông qua độ phân hủy kiềm: phương pháp của Little và cs., (1958) theo thang điểm IRRI (SES 2002).

- Xác định hàm lượng amylose theo phương pháp của IRRI (Juliano và cs., 1981)

2.2.2. Đánh giá đa dạng di truyền các giống lúa bằng chỉ thị SSR

- Tách chiết ADN theo phương pháp CTAB của Zheng và cs. (1995).

- Kỹ thuật PCR: Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Veriti 96 well Thermal cyclor. Điện di và phát hiện sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide 8% và máy soi UV Transilluminator

- Số liệu phân tích SSR và sơ đồ hình cây được thiết lập bằng phần mềm NTSYSpc2.1 (Biostatistics Inc., 2002).

- Chỉ số PIC (Polymorphism Information Content) của từng chỉ thị SSR ứng mỗi locus được tính theo công thức của Mohammadi (2003)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

2.3. Đa dạng các mẫu giống lúa nghiên cứu dựa trên chỉ tiêu chất lượng gạo

Tập đoàn 80 mẫu giống lúa thu thập ở Quảng Nam được đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo, kết quả trình bày ở bảng 1 và hình 1.

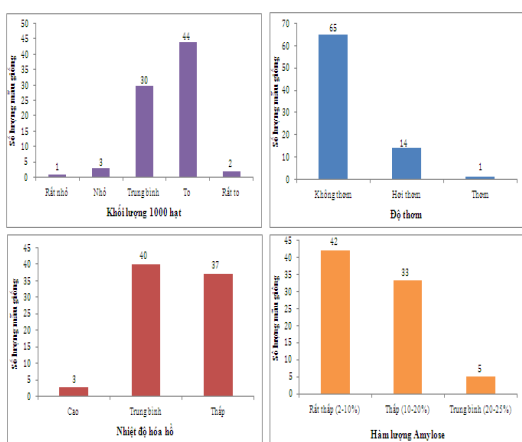
Bảng 1. Kết quả phân loài phụ *Indica/Japonica*, Nếp/Tẻ và độ bạc bụng của 80 mẫu giống lúa nghiên cứu

Chỉ tiêu đánh giá	Trạng thái biểu hiện	Số lượng (giống)	Tỉ lệ (%)
Phân loài phụ <i>Indica/Japonica</i>	<i>Indica</i>	31	38,7
	<i>Japonica</i>	49	61,3
Phân loại nếp/tẻ	Nếp	42	52,5

Chỉ tiêu đánh giá	Trạng thái biểu hiện	Số lượng (giống)	Tỉ lệ (%)
	Tẻ	38	47,5
Độ bạc bụng (38 mẫu giống lúa tẻ)	Không bạc bụng	12	31,6
	Bạc bụng ít	17	44,7
	Bạc bụng trung bình	7	18,4
	Bạc bụng nhiều	2	5,3

Kết quả nghiên cứu cho thấy 61,3% mẫu giống thuộc loài phụ *Japonica* và 38,7% thuộc loài phụ *Indica* (Bảng 1). Dựa vào khối lượng 1.000 hạt của 80 mẫu giống nghiên cứu đã phát hiện trong tập đoàn nghiên cứu rất đa dạng về hình dạng hạt: có duy nhất 1 mẫu giống lúa có dạng hạt rất nhỏ; 03 mẫu giống lúa thuộc dạng hạt nhỏ; 30 mẫu giống lúa thuộc dạng hạt trung bình, 44 mẫu giống có dạng hạt to; còn lại là 2 mẫu giống có dạng hạt rất to.

Nghiên cứu ở 38 mẫu giống lúa tẻ thu được 17 mẫu giống có bạc bụng rất ít, 12 mẫu không bạc bụng, 7 mẫu có độ bạc bụng trung bình, còn lại chỉ có 2 mẫu có độ bạc bụng nhiều. Như vậy, kết quả đánh giá cho thấy các mẫu giống lúa tẻ chủ yếu có độ bạc bụng rất ít và không bạc bụng, đây là những là nguồn gen có đặc tính quý phù hợp với thị hiếu của người tiêu dùng.



Hình 1. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của 80 mẫu giống lúa nghiên cứu

Trong 80 mẫu giống lúa nghiên cứu, cho thấy 81,3% các mẫu giống không thơm; mẫu giống thơm nhẹ chiếm tỷ lệ 17,5%; đặc biệt phát hiện được 1 mẫu giống lúa thơm (SDK17379) là lúa nếp và thuộc loài phụ *Japonica*. Kết quả thu được 50% mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ trung bình, 46,3% mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ thấp; chỉ có 3,7% mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ cao. Ngoài ra có 52,5% mẫu giống cho hàm lượng amylose rất thấp; 41,3% mẫu giống có hàm lượng amylose thấp và 6,2% mẫu giống có hàm lượng amylose trung bình.

Như vậy thông qua đánh giá đa dạng một số chỉ tiêu chất lượng 80 mẫu giống lúa thu thập ở Quảng Nam đã phát hiện được 15 mẫu giống tiềm năng có hương thơm và hàm lượng amylose thấp hơn 20%, cụ thể là các mẫu giống: Haroo Atút, Chiroo, Đh nang, Aroo đêp rông, Apoo đêp, Proong đêp, Aroo Abhong, Aroo Aum, Aroo đêp, Haroo Brui, Haroo đêp Brông, Ba la lợ, Ba gia lai, Ba la lớ, Đêp xieng may; đây là những nguồn gen có tiềm năng cần được nghiên cứu kỹ hơn để phục vụ cho việc bảo

tồn, khai thác và sử dụng bền vững nguồn gen lúa ở tỉnh Quảng Nam nói riêng và ở Việt Nam nói chung.

2.4. Đánh giá đa dạng di truyền các giống lúa bằng chỉ thị SSR

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền 80 giống lúa thu thập tại tỉnh Quảng Nam và 06 giống đối chứng bằng 20 chỉ thị SSR cho thấy kích thước sản phẩm PCR nằm trong khoảng từ 70 - 280 bp (bảng 2).

Bảng 2. Đa hình các locut SSR ở các mẫu giống lúa nghiên cứu

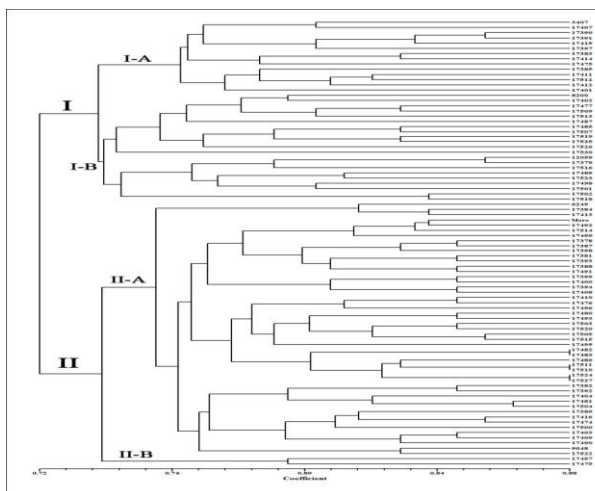
STT	Locut	NST	Số alen	Kích thước alen (bp)	Tần số alen phổ biến	Số alen đặc trưng	Giống xuất hiện alen đặc trưng (SDK)	PIC
1	RM 237	1	8	125-145	32,37			0,72
2	RM 283	1	6	140-160	42,45			0,67
3	RM 495	1	5	138-165	43,08			0,65
4	RM 154	2	9	155-195	17,23			0,84
5	RM 452	2	4	190-210	42,13			0,59
6	RM 514	3	7	240-280	15,26			0,86
7	RM 124	4	4	257-275	47,15			0,71
8	RM 161	5	6	160-185	24,67			0,82
9	RM 413	5	6	70-100	49,35			0,66
10	RM 162	6	8	200-255	27,24			0,85
11	RM 125	7	5	115-140	60,15			0,49
12	RM 455	7	3	130-140	52,46			0,58
13	RM 408	8	6	120-140	46,65			0,69
14	RM44	8	6	95-130	25,12	1	SDK17520	0,82
15	RM447	8	6	110-130	32,15			0,75
16	RM 215	9	7	145-160	17,76			0,82
17	RM 316	9	8	195-220	25,06			0,84
18	RM 271	10	6	95-120	38,45			0,76
19	RM 536	11	7	230-268	51,42			0,71
20	RM 277	12	3	115-125	55,11			0,54
	Tổng số		120					
	Trung bình		6		37,26			0,72

Ghi chú: SDK: Số đăng ký; PIC: Hệ số đa hình

Tổng số alen thu được tại 20 locut nghiên cứu 120 alen. Số alen đa hình tại mỗi locut dao động là 3 đến 9 alen (trung bình đạt 6,0 alen/locut). Cặp mồi RM154 cho nhiều alen nhất (9 alen), có 3 cặp mồi cho 8 alen, có đến 6 cặp mồi cho 6 alen, thấp nhất là cặp mồi RM455 và RM277 cho 3 alen. Kết quả này cũng cao hơn so với kết quả của

Rahman và cs. (2012) về đa dạng di truyền giống lúa ưu tú ở Bangladesh với giá trị trung bình là 4,18 alen/locut. Tuy nhiên, số alen trung bình này lại thấp hơn hẳn so với nghiên cứu của Thomson và cs. (2007) khi nghiên cứu đa dạng di truyền các giống lúa bản địa ở Indonesia với số alen trung bình là 13 alen/locut.

Trong số 20 chỉ thị SSR phân tích đa hình di truyền, chỉ có 1 chỉ thị cho nhận dạng đặc biệt là RM44 trên mẫu giống Ba ka chah (SDK17520) ở kích thước khoảng 110 bp. Tần số alen phổ biến dao động từ 15,26% đến 60,15%. Hệ số đa hình di truyền PIC thu được tại các locut SSR biến động từ 0,49 đến 0,86, trung bình đạt 0,72 cho thấy mức độ đa dạng gen tồn tại trong 80 nguồn gen lúa nghiên cứu ở mức đa dạng cao. Kết quả này đạt cao hơn hệ số PIC trung bình trong nghiên cứu của Hossain và cs. (2012) là 0,48, tuy nhiên lại thấp hơn so với hệ số PIC trung bình trong các nghiên cứu của Upadhyay và cs. (2011) là 0,78; trong nghiên cứu của Borba và cs.(2009) là 0,75.



Hình 2. Mối quan hệ di truyền các mẫu giống lúa nghiên cứu theo tương đồng di truyền (Nei và cs, 1972) dựa trên các chỉ thị SSR

Hệ số tương đồng di truyền giữa các giống lúa nghiên cứu dao động từ 0,72 đến 0,88. Ở mức tương đồng di truyền 72%, các nguồn gen nghiên cứu tách thành 2 nhóm lớn:

- Nhóm I: gồm 32 giống lúa nghiên cứu và 3 giống đối chứng. Tại mức tương đồng 0,74 các nguồn gen phân thành 2 phân nhóm I-A và I-B.

Phân nhóm I-A gồm 13 mẫu giống nằm cùng đối chứng IR36 (SDK3407) có hệ số tương đồng di truyền thấp nhất 0,78. Nhóm này đều là các giống thuộc phân loài phụ *Indica*.

Phân nhóm I-B gồm 21 mẫu giống được chia thành 2 phân nhánh I-B1 và I-B2. Phân nhánh I-B1 gồm 11 mẫu giống nghiên cứu nằm cùng đối chứng Kasalath (SDK 8200) thuộc nhóm *aus*, là nhóm đã được các nghiên cứu trước đây công bố có khả năng chống chịu với các điều kiện phi sinh học và phân tách với nhóm (I-B2) gồm đối chứng Jamine (SDK12059) thuộc nhóm V (*aromatic*) có đặc tính thơm (Michael J. Kovach và cs., 2009) cùng với 8 mẫu giống nghiên cứu tại mức tương đồng 0,77.

- Nhóm II gồm 51 mẫu giống có mức độ tương đồng di truyền từ 0,76 đến 0,88. Nhóm chính II phân thành 2 phân nhóm II- A và II-B. Nhóm phụ II-A1: gồm 3 giống có mức tương đồng di truyền 0,82 đến 0,84. Nhóm phụ II-A2: gồm 46 mẫu giống có mức độ tương đồng di truyền thấp nhất 0,78. Trong nhóm này mang đối chứng Morobekan là

giống *Tropical Japonica* và 32 mẫu giống nghiên cứu nằm phân tách với nhóm mang đối chứng Nipponbare (SDK9048) là giống *Temperate Japonica* và 13 giống lúa khác ở mức tương đồng 0,76. Nhóm phụ II-B bao gồm 2 giống địa phương Haroo Brui (SDK17479), Haroo đêép tằm (SDK17497) có hệ số tương đồng di truyền là 0,79.

Như vậy, từ kết quả phân nhóm dựa vào khoảng cách di truyền cho thấy các giống lúa thu thập tại tỉnh Quảng Nam khá đa dạng, mức độ đa dạng di truyền của các giống rất khác nhau. Chỉ có 3 cặp giống là Haroo Brui (SDK17482) và Haroo Đêép Trang (SDK17482); Ba gia lai (SDK17511) và Đêép Rang (SDK17510); Ba Ra Oóc (SDK17524) và Bo Ra Borông Chés (SDK17527) có quan hệ gần nhau nhất nhưng cũng dừng lại tại mức tương đồng di truyền khoảng 88%. Kết quả phân tích quan hệ giữa các mẫu giống lúa cho thấy đa số các mẫu giống lúa thuộc loài phụ *Indica* và *Japonica* xếp thành 2 nhóm riêng biệt, các giống lúa có đặc tính thơm có xu hướng xếp thành một nhóm riêng rẽ. Kết quả này có ý nghĩa là cơ sở để phân loại, xác định các nhóm ưu thế lai, nhận dạng các mẫu giống phục vụ công tác bảo tồn, khai thác và chọn tạo giống lúa phương ở tỉnh Quảng Nam.

III. KẾT LUẬN

Thông qua đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của 80 mẫu giống lúa thu thập tại tỉnh Quảng Nam có 49 mẫu giống lúa thuộc loài phụ *Japonica*, tỷ lệ lúa nếp chiếm 52,5%. Phần lớn các mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ trung bình. Hàm lượng amylose của các giống rất đa dạng từ 3,1- 22%, trong đó đa số là lúa nếp chiếm 52,5%. Thu được 18,7% mẫu giống có hương thơm. Từ kết quả đánh giá chất lượng gạo đã phát hiện được 15 mẫu giống có tiềm năng về hương thơm và hàm lượng amylose thấp hơn 20%.

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền sử dụng 20 chỉ thị SSR trên 80 mẫu giống lúa và 6 giống đối chứng thu được 120 alen khác nhau, số alen đa hình tại mỗi locut dao động là 3 đến 9 alen (trung bình đạt 6,0 alen/locut), phát hiện 01 alen đặc trưng có thể nhận dạng giống là Ba ka chah (SDK17520) tại locut RM44. Hệ số đa hình di truyền PIC thu được tại các locut SSR biến động từ 0,49 đến 0,86, trung bình đạt 0,72.

Hệ số tương đồng di truyền của các mẫu giống lúa nghiên cứu dao động từ 0,72 đến 0,88; ở mức tương đồng di truyền 72%, các mẫu giống nghiên cứu chia thành 2 nhóm; có 3 cặp giống có hệ số tương đồng di truyền cao nhất (0,88). Kết quả phân tích quan hệ giữa các mẫu giống lúa cho thấy các giống lúa có đặc tính thơm (*aromatic*) có xu hướng xếp thành các nhóm riêng biệt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Borba T.C.O., Brondani R. P., Rangel P. H. và Brondani C., 2009. Microsatellite marker-mediated analysis of the EMBRAPA rice core collection genetic diversity. *Genetica*, 137 (3):293-304.

- Hossain M. M., Islam M. M., Hossain H., Ali M.S., Teixeira da Silava J. A., Komamine A và H. Proadhan S., 2012. Genetic diversity analysis of aromatic landraces of rice (*Oryza sativa* L.) by microsatellite markers. *Genes, Genomes and Genomics*, 6(S11):42-47.
- International Rice Research Institute, 2002. Standard evaluation system for rice. *Los Banos. Philippines*.
- Juliano, B. O., Perez, C. M., Blakeney, A. B., Castillo, T., Kongseree, N., Laignelet, B., et al., 1981. International cooperative testing on the amylose content of milled rice. *Starch/Stärke*, 33, 157–162.
- Rahman M. M., Rasaul G. M., Hossain A. M., Iftekharuddaula M. K. và H. Hasegawa, 2012. Molecular Characterization and Genetic Diversity Analysis of Rice (*Oryza sativa* L.) Using SSR Markers. *J. Crop Dev*, 26(2):244-257.
- Thomon M. J., Septiningsih E.M., Suwardjo F., Santoso T. J., Silitonga T. S. và R. McCouch S., 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*, 114(3):559-568.
- Upadhyay P., Singh V. K. và N. Neeraja C., 2011. Identification of genotype specific alleles and molecular diversity assessment of popular rice (*Oryza sativa* L.) varieties of India. *Int. J. Plant Breed. Genet.*, 5(2):130-140.

SUMMARY

Evaluation of genetic diversity of Quang Nam rice varieties based on grain quality and SSR markers

This research was conducted to evaluate genetic diversity of 80 local rice varieties in Quang Nam, Vietnam based on grain quality and SSR marker. The results revealed that 61.3% of the accessions was *Japonica*; 18.7 % was indentified to have aroma; amylose content was ranged from 3.1% to 22%. A total of 15 rice varieties was chosen to be promising based on aroma and amylose content characters. Evaluation of genetic diversity using 20 Simple Sequence Repeat (SSR) markers showed that a total number of alleles was 120, average of 6.0 alleles per locus; 01 unique alleles at the marker RM44 was revealed in the *Ba ka chah* variety. PIC values were varied from 0.49 to 0.86 with an average of 0.72. In addition, genetic similarity coefficient of 80 examined rice varieties were ranged from 0.72 to 0.88. Cluster analysis showed that varieties with aroma tend to be grouped into the cluster. This evaluation of grain quality and genetic diversity will be of great help in providing information and materials for rice conservation and recombination breeding program.

Key words: *Rice, genetic diversity, grain quality, SSR marker.*