NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG MỘT SỐ NGUỒN GEN LÚA GẠO MÀU CỦA VIỆT NAM

Nguyễn Thị Tuyết[1, *], Phạm Hùng Cương[1],
Trần Bình Đà[2], Nguyễn Thị Quyên[1], Vũ Thị Thảo Mi[1]

TÓM TẮT

Đánh giá đa dạng di truyền của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu có nguồn gốc từ các tỉnh ở 3 vùng Đông Bắc, Tây Bắc và Bắc Trung bộ dựa trên đặc điểm hình thái nông học và kiểu gen thông qua 16 chỉ thị SSR. Kết quả cho thấy, đa dạng di truyền ở 16 locut với tổng số alen thu được là 69 alen, chỉ số PIC 0,578 cho thấy mức độ đa dạng trung bình. Tại một số locut xuất hiện alen dị hợp tử như SĐK15808 trên 2 locut RM455 và RM447, 13392 trên locut RM447. Một số mẫu giống xuất hiện alen đặc trưng như SĐK12829 trên mồi RM44, SĐK17163 trên mồi RM 125. Tại mức tương đồng di truyền 0,62, các mẫu nguồn gen nghiên cứu đã tách thành 2 nhóm lớn. Có 3 cặp mẫu nguồn gen có hệ số tương đồng là 1,00. Đối chiếu với cây phân nhóm di truyền dựa trên đặc điểm hình thái nông học các cặp mẫu nguồn gen này có nhiều đặc điểm hình thái tương đối giống nhau nhưng có một số đặc điểm hình thái khác nhau. Như vậy, đánh giá đa dạng di truyền thông qua 16 chỉ thị SSR phần nào đã phản ánh được các biểu hiện của kiểu gen thông qua các tính trạng hình thái. Kết quả cây phân nhóm di truyền dựa vào tính trạng hình thái nông học có thể thấy 94 giống lúa gạo màu nghiên cứu có mức độ đa dạng di truyền cao (khoảng cách di truyền từ 0,22-0,53) với mức biểu hiện khác nhau. Kết quả này là cơ sở để phân loại, nhận dạng các giống và hỗ trợ công tác bảo tồn trong việc sàng lọc các giống trùng lặp, từ đó xây dựng tập đoàn hạt nhân và giúp ích cho việc lựa chọn vật liệu khởi đầu tạo giống lúa chất lượng.

Từ khóa: *Gạo màu, đa dạng, di truyền.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gạo màu được ghi nhận và khuyến khích sử dụng như thực phẩm chức năng có chứa chất chống oxy hóa (antioxidant) [8], được tiêu thụ rộng rãi ở Việt Nam và Đông Nam Á. Yếu tố quan trọng nhất tạo nên thương hiệu cho gạo màu là giá trị dinh dưỡng của nó bao gồm khoảng 70% tinh bột, với hàm lượng chất khoáng có chứa 24 ppm đồng, kẽm chứa 23,6 ppm và sắt 16,2 ppm. Ngoài ra trong gạo cẩm chứa nhiều axit amin, đặc biệt trong lớp vỏ lụa cẩm có chứa lượng lớn anthocyanin có khả năng chống oxi hóa và các nhân tố có lợi cho sức khỏe, chống viêm nhiễm, hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư. Tại ngân hàng gen cây trồng Quốc gia (Trung tâm Tài nguyên thực vật) đang lưu giữ trên 1.900 mẫu nguồn gen lúa gạo màu được thu thập trên toàn quốc. Giống lúa gạo màu được trồng ở nhiều địa phương, nhiều vùng sinh thái khác nhau và rất đa dạng về kiểu hình. Việc nghiên cứu đa dạng nguồn gen lúa gạo màu không chỉ có giá trị trong bảo tồn các giống lúa gạo màu địa phương mà còn có ý nghĩa trong công tác chọn tạo giống lúa chất lượng cao ở Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu của đề tài bao gồm 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu có vỏ lụa màu tím và tím một phần đang được lưu giữ tại ngân hàng gen cây trồng Quốc gia (Bảng 1). 16 chỉ thị SSR phân bố trên 12 nhiễm sắc thể của cây lúa đã được công bố để phân tích đa dạng di truyền; tên, trình tự và nhiệt độ gắn mồi của các chỉ thị được trình bày trong bảng 2.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đặc điểm nông sinh học: Đánh giá theo phương pháp của IRRI.

Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị SSR:

- Tách chiết ADN: ADN tổng số của mẫu lá lúa được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB của Djè và cs. (2006) [2].

[1] Trung tâm Tài nguyên thực vật
[2] Học viện Nông nghiệp Việt Nam
[*]Email: nguyentuyetprc@gmail.com

Bảng 1. Danh sách bộ mẫu giống lúa gạo màu làm vật liệu nghiên cứu

Ký hiệu	SĐK	Tên giống	Nguồn gốc	Ký hiệu	SĐK	Tên giống	Nguồn gốc
L1	1869	Nếp cẩm dạng 2	Yên Bái	L48	9399	Kháu căm pạnh lào	Thanh Hoá
L2	1912	Bèo cú	Lạng Sơn	L49	9408	Ló đếp cẩm	Thanh Hoá
L3	1994	Nếp cẩm	Lào Cai	L50	9410	Kháu căm panh	Thanh Hoá
L4	2056	Nếp cẩm đen	Lào Cai	L51	9417	Kháu say khòn	Thanh Hoá
L5	2123	B'le sằng	Sơn La	L52	9446	Plào cô cắm	Hoà Bình
L6	2509	Khẩu lếch 1	Lai Châu	L53	9466	Khâu đắm đòi	Nghệ An
L7	2533	Ngó hiêng	Lai Châu	L54	9492	Khâu đắm đọi	Nghệ An
L8	2555	Khẩu lếch	Lai Châu	L55	12352	Khẩu lếch	Điện Biên
L9	2590	Khẩu sen păn	Lai Châu	L56	12409	Ngọ hiêng	Điện Biên
L10	2654	Blẩu sang bua	Lào Cai	L57	12829	Okuno murasaki	Viện Di truyền Nông nghiệp
L11	3969	Ble sá	Lai Châu	L58	12967	Black	Nhập nội từ Philippin
L12	3998	Đú đay blắt	Lào Cai	L59	12972	Blề bảu sáng	Sơn La
L13	4162	Nếp cẩm	Tuyên Quang	L60	12983	Blàu cà đáyk	Sơn La
L14	4199	Nếp cẩm có râu	Tuyên Quang	L61	13045	Khẩu cẩm pạnh	Thanh Hoá
L15	4620	Lúa đen	Hoà Bình	L62	13049	Khẩu căm pảnh	Thanh Hoá
L16	4675	Blàu cắm	Sơn La	L63	13068	Ngua cắm	Sơn La
L17	4713	Nếp cẩm dạng 1	Thanh Hoá	L64	13093	Khẩu lếch	Sơn La
L18	4721	Cẩm vỏ vàng	Thanh Hoá	L65	13290	Plề pla nua	Sơn La
L19	4730	Nếp cẩm đen	Thanh Hoá	L66	13392	Biều cú	Điện Biên
L20	4755	Khẩu sáy khon dạng 2	Thanh Hoá	L67	14283	Blề sang	Sơn La
L21	4791	Khẩu cắm panh	Nghệ An	L68	14286	Plề sáng	Sơn La
L22	4820	Blào cô cẩm	Hoà Bình	L69	14360	Plẩu xa	Lai Châu
L23	4839	Blào cô cẩm	Hoà Bình	L70	14445	Plề lẩu sáng	Yên Bái
L24	5023	Khẩu cẩm	Nghệ An	L71	14469	Plề plẩu sáng	Yên Bái
L25	5230	Nếp cẩm	Hoà Bình	L72	14473	Plề plẩu sáng	Yên Bái
L26	6946	Nếp cẩm	Tuyên Quang	L73	14617	Plẩu song	Yên Bái
L27	7045	Nếp cẩm	Quảng Ninh	L74	14644	Plẩu sáng	Yên Bái
L28	7099	Kháu cẩm pị	Hoà Bình	L75	14650	Blề blẩu sáng	Yên Bái
L29	7179	Khẩu căm pạnh	Thanh Hoá	L76	14775	Pèo cú	Lào Cai
L30	7280	Bèo cú	Tuyên Quang	L77	14801	Khẩu lếch	Sơn La
L31	7292	Nếp cẩm đen	Lào Cai	L78	14804	Khẩu lếch	Sơn La
L32	7296	Nếp cẩm dạng 2	Thanh Hoá	L79	14834	Khẩu lếch lăm	Sơn La
L33	7299	Nếp ung	Thanh Hoá	L80	14850	Ngọ kiên	Sơn La
L34	7735	Kháu căm panh	Thanh Hoá	L81	15808	KDS	Viện Di truyền Nông nghiệp
L35	8231	Kháu cặm kỵ	Sơn La	L82	17144	Cô cắm	Phú Thọ
L36	8251	Kháu phách	Sơn La	L83	17155	Lúa cẩm	Phú Thọ
L37	8254	Kháu cặm kỵ	Sơn La	L84	17159	Cô cắm	Phú Thọ
L38	8621	Ngọnt hiềng	Nghệ An	L85	17163	Lúa Cẩm	Phú Thọ
L39	8631	Kháu cẩm pưng	Nghệ An	L86	17682	Khẩu pi pát	Lai Châu

Ký hiệu	SĐK	Tên giống	Nguồn gốc	Ký hiệu	SĐK	Tên giống	Nguồn gốc
L40	8683	Kháu cặm cai	Nghệ An	L87	17819	Khẩu cẩm xăng	Nghệ An
L41	8693	Kháu cặm cỏ	Nghệ An	L88	18073	Khẩu cẩm xẳng	Nghệ An
L42	8747	Plào cô cắm	Sơn La	L89		NCT-30	Dòng mới chọn tạo
L43	8755	Kháu cặm kỵ	Sơn La	L90		NN08	Nhập nội
L44	9371	Lọ cẩm	Thanh Hoá	L91		TC4	Học viện Nông nghiệp Việt Nam
L45	9381	Bèo tả cẩm	Thanh Hoá	L92		TĐ1	Dòng mới chọn tạo
L46	9393	Lọ căm pạnh	Thanh Hoá	L93		Nếp cẩm ĐH6	Học viện Nông nghiệp Việt Nam
L47	9398	Kháu căm pạnh	Thanh Hoá	L94		Nếp cẩm Tam Đường	Lai Châu

Bảng 2. Danh sách 16 chỉ thị phân tử SSR sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên chỉ thị	Trình tự lặp	Nhiệt độ gắn mồi	Kích thước sản phẩm dự kiến	Trình tự
1	RM44	(GA)16	55	99	F:ACGGGCAATCCGAACAACC R:TCGGGAAAACCTACCCTACC
2	RM125	(GCT)8	55	127	F: TCAGCAGCCATGGCAGCGACC R: GGGGATCATGTGCCGAAGGCC
3	RM154	(GA)21	61	183	F: CCCCTTCCTCTCGCGTCGTAC R: CCGTCCTCCTCCTCCTGCGA
4	RM161	(AG)20	61	187	F:TGCAGATGAGAAGCGGCGCCTC R:TGTGTCATCAGACGGCGCTCCG
5	RM215	(CT)16	55	148	F:CAAAATGGAGCAGCAAGAGC R: TGAGCACCTCCTTCTCTGTAG
6	RM237	(CT)18	55	130	F: CAAATCCCGACTGCTGTCC R:TGGGAAGAGAGCACTACAGC
7	RM271	(GA)15	55	101	F: TCAGATCTACAATTCCATCC R:TCGGTGAGACCTAGAGAGCC
8	RM277	(GA)11	55	124	F: CGGTCAAATCATCACCTGAC R: CAAGGCTTGCAAGGGAAG
9	RM286	(GA)16	55	110	F: GGCTTCATCTTTGGCGAC R: CCGGATTCACGAGATAAACTC
10	RM408	(CT)13	55	128	F: CAACGAGCTAACTTCCGTCC R: CTGCTACTTGGGTAGCTGACC
11	RM413	(AG)11	55	79	F: GGCGATTCTTGGATGAAGAG R: TCCCCACCAATCTTGTCTTC
12	RM447	(CTT)8	55	111	F: CCCTTGTGCTGTCTCCTCTC R: ACGGGCTTCTTCTCCTTCTC
13	RM452	(GTC)9	55	209	F:CTGATCGAGAGCGTTAAGGG R:GGGATCAAACCACGTTTCTG
14	RM455	(TTCT)5	55	131	F: AACAACCCACCACCTGTCTC R: AGAAGGAAAAGGGCTCGATC
15	RM495	(CTG)7	55	159	F: AATCCAAGGTGCAGAGATGG R: CAACGATGACGAACACAACC
16	RM20	(ATT)14	55	140	F:ATCTTGTCCCTGCAGGTCAT R:GAAACAGAGGCACATTTCATTG

- Kỹ thuật PCR: để nhận dạng di truyền các giống/dòng lúa bằng chỉ thị SSR: 94 giống/dòng lúa được nhận dạng di truyền bằng 16 chỉ thị SSR. Các thành phần phản ứng SSR-PCR được chuẩn bị và chia vào các ống Eppendorf 0,2 ml. Tổng thể tích mỗi phản ứng PCR là 25 µl gồm: 12,5 µl PCR Master Mix, 2X (Promega, Hoa Kỳ); 1 µl mồi xuôi (10 pmol); 1 µl mồi ngược (10 pmol); 1 µl DNA (50 ng/µl); 9,5 µl H_2O khử ion. Điều kiện phản ứng PCR như sau: (1) 95^0C trong 5 phút; (2) 94^0C trong 30 giây; (3) T_a trong 30 giây, (4) 72^0 trong 30 giây; 32 chu kỳ lặp lại từ (2) đến (4), (5) 72^0C trong 7 phút và sau đó được giữ lạnh ở 4^0C.

- Điện di sản phẩm PCR trên gel polyacrylamid 8% ở điều kiện 100V/360 phút và phát hiện dưới tia UV bằng phương pháp nhuộm Ethidium bromide.

Phương pháp phân tích và xử lý số liệu:

Xác định các giá trị thống kê như: giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, hệ số biến động... được tính toán và xử lý trong Excel 2016.

Dữ liệu kiểu gen được xử lý, phân tích bằng phần mềm NTSYS pc 2.11X (Applied Biosatistics); hệ số tương đồng di truyền theo công thức của Nei M. (1972) [5]; các chỉ số đánh giá đa dạng di truyền, tần số alen quần thể được xử lý bằng phần mềm POPGENEv1.32.

Chỉ số PIC (Polymophic Information Content - thành phần thông tin đa hình: đánh giá tính đa hình các alen được tạo ra bởi một chỉ thị) của từng chỉ thị SSR ứng với mỗi locut được tính toán cho theo công thức: PIC = 1 - $\sum p_i$ (p_i là tần số alen tính theo đẳng thức Hardy- Weinberg).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: vụ mùa 2021.

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Tài nguyên thực vật, An Khánh, Hoài Đức, Hà Nội.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân bố nguồn gen lúa theo địa danh và dân tộc

Tập đoàn 94 nguồn gen (NG) lúa gạo màu được thu thập từ 8 nhóm dân tộc phân bố ở các vùng: Tây Bắc, Đông Bắc, Bắc Trung bộ, trong đó Sơn La và Thanh Hóa là địa phương có tỷ lệ nguồn gen lúa thu được cao nhất với 18 nguồn gen tập trung vào 3 dân tộc: Thái, Mường, Dao. Trong khi đó ở Sơn La số nguồn gen được phân bố ở 6 dân tộc: H'Mông, Mán, Thái, Dao, Kháng, Khơ Mú. Các yếu tố đa dạng dân tộc, sinh thái địa lý đã góp phần tạo nên sự đa dạng nguồn gen lúa tại vùng thu thập. Như vậy 94 nguồn gen lúa trong nghiên cứu được thu thập từ các dân tộc có truyền thống canh tác lúa gạo màu.

Bảng 3. Phân bố nguồn gen lúa theo địa danh và dân tộc

Vùng phân bố	Tỉnh	Số lượng NG	Dân tộc
Tây Bắc (35 NG)	Sơn La	18	H'Mông, Mán, Thái, Dao, Kháng, Khơ Mú
	Điện Biên	3	Thái, Khơ Mú, Dao
	Lai Châu	8	Khơ Mú, Thái, H'Mông
	Hoà Bình	6	Mường, Dao, Tày
Đông Bắc (23 NG)	Lạng Sơn	01	Dao
	Tuyên Quang	4	Dao
	Yên Bái	7	H'Mông
	Lào Cai	6	H'Mông, Dao
	Phú Thọ	4	Dao, Mường
	Quảng Ninh	01	Dao
Bắc Trung bộ (28 NG)	Thanh Hóa	18	Thái, Mường, Dao
	Nghệ An	10	Thái, Khơ Mú
Khác (8 NG)	Nhập nội	02	
	Dòng chọn tạo mới	02	
	Học viện Nông nghiệp Việt Nam	02	
	Viện Di truyền Nông nghiệp	02	

3.2. Phân nhóm, xác định quan hệ di truyền nguồn gen lúa gạo màu trong tập đoàn dựa trên tính trạng nông sinh học, đặc điểm chất lượng và chỉ thị SSR

3.2.1. Đa dạng nguồn gen lúa gạo màu dựa trên một số tính trạng nông sinh học chính

Chiều cao cây là một đặc điểm sinh học quan trọng của cây lúa. Chiều cao cây có mối tương quan nghịch với khả năng chống đổ của cây lúa, giống thấp cây và thân rạ cứng thì chống đổ tốt. Nếu lúa đổ

trước khi chín 30 ngày hoặc sớm hơn sẽ làm giảm năng suất 75%, phần lớn là do tỷ lệ lép cao. Kết quả ở bảng 4 cho thấy chiều cao cây của hầu hết các mẫu nguồn gen lúa gạo màu (63 mẫu nguồn gen, chiếm 67,02%) thuộc loại hình cao cây (trên 130 cm), có 22 mẫu nguồn gen (23,40%) thuộc loại hình cao cây trung bình (trên 110 đến 130 cm) có 8 mẫu nguồn gen chiều cao cây ở mức nửa thấp cây (từ 85 đến 110 cm) bao gồm: Bèo cú (SĐK 1912), Black (SĐK 12967), KDS (SĐK 15808), Lúa cẩm (17163), NCT 30, NN08, TC4, TĐ1, Nếp cẩm ĐH6. Các giống lúa địa phương có nhược điểm về chiều cao vì chiều cao cây càng lớn sẽ đổ vào cuối vụ ảnh hưởng đến năng suất và mức độ chịu thâm canh cao.

Bảng 4. Một số tính trạng nông sinh học chính

TT	Đặc điểm	Tham số thống kê	Mức biểu hiện	Số mẫu nguồn gen biểu hiện	Tỷ lệ	Mẫu giống đại diện
1	Chiều cao cây (cm)	Nhỏ nhất: 73,2 Lớn nhất: 168,5 TB: 135,37 Số mốt: 110 ĐLC: 19,15 CV(%): 14,15	Thấp cây (< 85)	01	1,06	SĐK: 12829
			Nửa thấp cây (85-110)	8	8,51	NN08, TĐ 1
			Trung bình (trên 110-130)	22	23,40	TC4
			Cao cây (> 130)	63	67,02	SĐK: 8251
2	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Nhỏ nhất: 119 Lớn nhất: 140 TB: 124,2 Số mốt: 120 ĐLC: 4,29 CV(%): 3,46	Ngắn ngày (<120)	02	2,13	SĐK: 12972
			Trung ngày (120 - 140)	92	97,87	SĐK: 18073
			Dài ngày (> 140)	0	0,00	
3	Khối lượng nghìn hạt (g)	Nhỏ nhất: 22,5 Lớn nhất: 32,5 TB: 29,54 Số mốt: 120 ĐLC: 32,0 CV(%): 8,19	Rất nhỏ (<18,0)	0	0,00	
			Nhỏ (18,0-22,9)	01	1,06	SĐK: 13392
			Trung bình (23,0-26,9)	15	15,96	NCT 30, TC4
			To (27,0-34,9)	78	82,98	SĐK: 14834
			Rất to (>34,9)	0	0,00	
4	Năng suất thực thu (tạ/ha)	Nhỏ nhất: 20,0 Lớn nhất: 45,0 TB: 29,1 ĐLC: 6,11 CV(%): 21,0	Từ 2,0 – 2,7	46	48,94	Kháu cặm cỏ
			Từ 2,8 – 3,5	34	36,17	Plề lẩu sáng
			Trên 3,5	14	14,89	NCT-30

Ghi chú: TB: Trung bình; ĐLC: Độ lệch chuẩn; CV: Hệ số biến động

Thời gian sinh trưởng (TGST) được tính từ khi gieo đến khi có 85% số hạt chín. TGST của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu phân nhóm ở bảng 4 cho thấy hầu hết các giống thuộc nhóm trung ngày (từ 120 đến < 140 ngày) (92 mẫu nguồn gen chiếm 97,87%). Có 02 giống có TGST ngắn 119 ngày là SĐK 12972 và SĐK 12983. Có 4 giống TGST 140 ngày là SĐK 8231, SĐK 7280, SĐK 8621 và SĐK 7099. Điều này là phù hợp vì đa số các giống lúa địa phương có thời gian sinh trưởng dài hơn so với các giống cải tiến và đây cũng là hạn chế cơ bản để bố trí cơ cấu mùa vụ trong sản xuất.

Khối lượng 1000 hạt quyết định trực tiếp đến năng suất cây lúa. Tính trạng khối lượng 1000 hạt có tính di truyền và ổn định tương đối cao. Kết quả nghiên cứu ở bảng 4 cho thấy, khối lượng nghìn hạt của các mẫu nguồn gen lúa dao động từ 22,5 g (Biều cú, SĐK: 13392) đến 32,5 g (Khẩu lếch lăm, SĐK 14834), trung bình đạt 29,47 g. Trước nhu cầu rất khác nhau của thị trường (hạt to, hạt nhỏ, hạt vừa) yêu cầu chọn tạo dạng hình hạt cũng rất khác nhau. Tùy thuộc vào yêu cầu của thị trường mà có những chiến lược chọn tạo giống phù hợp: chọn giống có hạt rất nhỏ (khối lượng nghìn hạt <18 g), hạt nhỏ (18-

22,9 g), hạt trung bình (23-26,9 g), hạt to (27-34,9 g), hạt lớn (>34,9 g).

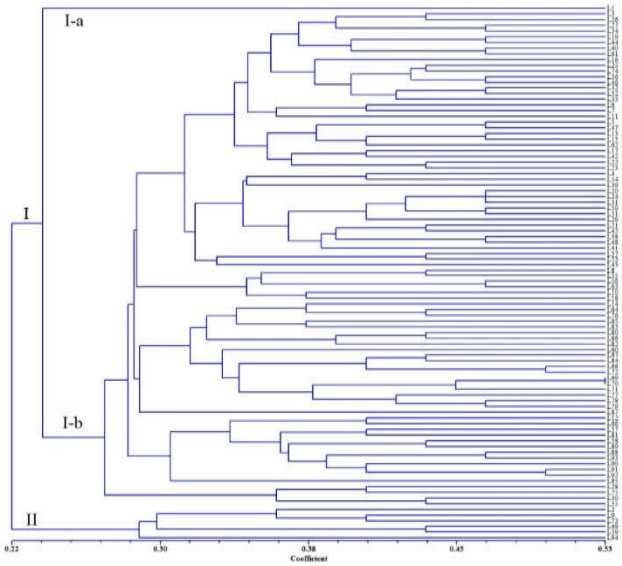
Năng suất là yếu tố quan trọng cuối cùng để đánh giá hiệu quả của trồng lúa. Năng suất của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu dao động từ 20,00 - 45 tạ/ha, trong đó có 14 mẫu nguồn gen có năng suất trên 3,5 tạ/ha, chiếm 14,89% bao gồm: Lúa cẩm (SĐK: 17163), TĐ1, nếp cẩm ĐH6, NCT-30, Nếp cẩm Tam Đường, Khẩu cẩm xẳng (SĐK: 18073), Lúa cẩm (SĐK 17155), Bèo cú (SĐK 1912), B'le sằng (SĐK 2123), Đú đay blắt (SĐK 3998), Ngua cắm (SĐK 13068), Plẩu xa (SĐK 14360), Cô cắm (SĐK 17159), TC4. Đây là những giống có triển vọng cho khai thác trực tiếp và làm vật liệu lai tạo giống.

3.2.2. Đánh giá đa dạng di truyền các mẫu giống lúa gạo màu dựa vào kiểu hình và đặc điểm chất lượng

Để đánh giá sự khác biệt về di truyền kiểu hình của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu nghiên cứu, 26 tính trạng hình thái và 6 đặc điểm chất lượng của các mẫu nguồn gen lúa gạo màu được thống kê và phân tích bằng phần mềm NTSYS2.1, từ đó thiết lập được sơ đồ hình cây Euclidean UPGMA về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nguồn gen lúa gạo màu nghiên cứu và ma trận tương đồng. Dựa vào số liệu trong bảng ma trận tương đồng được thiết lập giữa các mẫu nguồn gen lúa gạo màu nghiên cứu có thể xác định được mối tương đồng di truyền của từng cặp mẫu nguồn gen. Các mẫu nguồn gen có hệ số tương đồng tiến gần 1 thì càng giống nhau về mặt di truyền, còn các mẫu nguồn gen có hệ số tương đồng tiến gần tới 0 thì chúng càng xa nhau về phương diện di truyền. Trên cơ sở phân tích cây phân nhóm các mẫu nguồn gen lúa gạo màu nghiên cứu cho thấy, khoảng cách di truyền giữa các mẫu nguồn gen biến động từ 22 - 53%. Như vậy, dựa trên chỉ thị hình thái mức độ đa dạng của các mẫu nguồn gen nghiên cứu là khá cao (độ khác biệt di truyền giữa các mẫu giống từ 47 - 78%). Tại mức độ tương đồng 0,22 thì 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu đã được phân tách thành 2 nhóm lớn (Hình 1).

Nhóm I: gồm 86 mẫu giống, được phân thành 2 nhóm phụ I-a (01 mẫu giống) và I-b (85 mẫu giống), trong đó mẫu giống L1 (Nếp cẩm dạng 2, SĐK: 1869) thuộc phân nhóm phụ I-a phân tách với các giống còn lại tại mức tương đồng di truyền 0,24.

Nhóm phụ I-b gồm 85 mẫu giống với hệ số tương đồng di truyền từ khoảng 0,27 đến 0,53. Trong đó cặp giống L69 (Plẩu xa, SĐK: 14360) và L70 (Plề plẩu sáng, SĐK: 14445) có hệ số tương đồng cao nhất là 0,53, hai mẫu nguồn gen này tương đối giống nhau về mặt hình thái và chất lượng như: đều có phiến lá màu xanh đậm, độ phủ lông của lá dầy, cứng cây, nhụy hoa màu trắng, không râu, độ phủ lông vỏ trấu ở mức ngắn, thuộc nhóm *Japonica,* đều có hương thơm… Tiếp đến là các cặp mẫu giống L68 (Plề sáng, SĐK: 14286) và L72 (Plề plẩu sáng, SĐK: 14473); L91 (TC4) và L92 (TĐ 1) có hệ số tương đồng là 0,5. Các cặp mẫu giống này đều biểu hiện đa số kiểu hình giống nhau như: độ phủ lông của lá, màu phiến lá, độ cứng cây, độ thoát cổ bông, không có râu, màu vỏ gạo tím hoặc tím một phần...



Hình 1. Phân nhóm di truyền của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu dựa vào kiểu hình và đặc điểm chất lượng

Nhóm II gồm 6 mẫu giống: L2 (Bèo cú, SĐK 1912), L9 (Khẩu sen păn, SĐK 2590), L49 (lò đếp cẩm, SĐK 9408), L59 (Blề bảu sáng, SĐK 12972), L73 (Plẩu song, SĐK: 14617), L94 (Nếp cẩm Tam Đường). Đây đều là các mẫu giống có màu vỏ gạo tím, hạt thóc dài, hình dạng hạt thóc trung bình hoặc thon, gạo dẻo (với hàm lượng amylose thấp), phù hợp với thị hiếu của người tiêu dùng hiện nay.

3.2.3. Đánh giá đa dạng di truyền các mẫu nguồn gen lúa gạo màu dựa vào chỉ thị SSR

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền 94 mẫu giống lúa gạo màu và 2 giống đối chứng bằng 16 chỉ thị SSR cho thấy kích thước sản phẩm PCR nằm trong khoảng 74 bp đến 246 bp (Bảng 5). Kết quả thống kê cho thấy, tổng số alen thu được tại 16 locut nghiên cứu là 69 alen, trung bình đạt 4,3 alen/locut.

Trong đó, số alen thu được thấp nhất là 2 alen tại locut RM455 và cao nhất là 8 alen tại locut RM286.

Ngoài ra, chỉ số PIC của từng chỉ thị SSR dao động từ 0,207 đến 0,821, trung bình đạt 0,578 cho thấy độ đa dạng nguồn gen của các giống lúa ở mức trung bình. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Sajib và cs (2012) [6], Hossain và cs (2012) [3] với hệ số PIC trung bình lần lượt là 0,48 và 0,508 nhưng thấp hơn nghiên cúu của Upadhyay và cs. (2011) [7] với hệ số PIC trung bình là 0,78. Tại một số locut nghiên cứu đã xuất hiện alen dị hợp tử như SĐK 15808 trên 2 locut RM455 và RM447, 13392 trên locut RM447. Bên cạnh đó, một số mẫu giống xuất hiện alen đặc trưng như SĐK 12829 trên mồi RM44, SĐK 17163 trên mồi RM 125.

Bảng 5. Đa hình các locut SSR tại các mẫu giống nghiên cứu

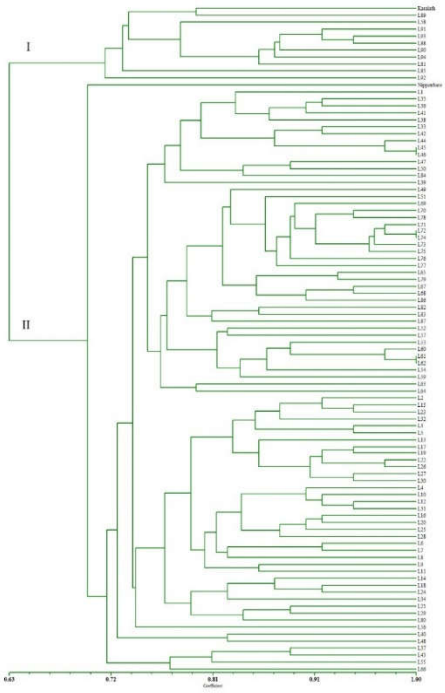
STT	Tên chỉ thị	Số alen	Kích thước alen nhỏ nhất (bp)	Kích thước alen lớn nhất (bp)	Hệ số PIC
1	RM44	5	105	135	0,306
2	RM125	4	117	142	0,598
3	RM154	7	114	138	0,821
4	RM161	4	168	183	0,670
5	RM215	5	145	158	0,667
6	RM237	3	131	146	0,650
7	RM271	6	87	108	0,699
8	RM277	3	123	128	0,548
9	RM286	8	98	146	0,744
10	RM408	3	122	132	0,207
11	RM413	4	74	88	0,570
12	RM447	4	103	125	0,578
13	RM452	4	97	102	0,747
14	RM455	2	130	134	0,217
15	RM495	4	93	104	0,672
16	RM20	3	218	246	0,557
Tổng số: 69 alen				Trung bình: 4,3 alen/locut	
Thấp nhất: 2 alen				Cao nhất: 8 alen	

Sau khi phân tích UPGMA bằng phần mềm NTSYS 2.1, trên sơ đồ hình cây, hệ số tương đồng di truyền của 94 mẫu nguồn gen nghiên cứu và 2 mẫu nguồn gen đối chứng dao động từ 0,54 đến 1. Dựa vào sơ đồ hình cây (Hình 2), tại mức tương đồng di truyền 0,62, các mẫu nguồn gen nghiên cứu đã tách thành 2 nhóm lớn:

- Nhóm I: gồm 10 mẫu nguồn gen, bao gồm: L89 (NCT 30), L58 (Black, SĐK: 12967), L91 (TC4), L93 (Nếp cẩm ĐH6), L88 (Khẩu cẩm xẳng, SĐK: 18073), L90 (NN08), L94 (Nếp cẩm Tam Đường), L81 (KDS, SĐK: 15808), L85 (Lúa cẩm, SĐK: 17163), L92 (TĐ1) và giống đối chứng Kasalath (SĐK 8200). Đặc biệt, tại nhóm này mẫu giống đối chứng Kasalath (SĐK 8200) thuộc nhóm *aus* - đây là nhóm được biết đến có chứa các gen có khả năng chống chịu với các điều kiện phi sinh học (mặn, hạn, ngập úng,...) [1], [4].

- Nhóm II gồm 84 mẫu nguồn gen còn lại, trong đó giống đối chứng Nipponbare (SĐK9048) là giống *Temparate Japonica* tách ra thành một nhánh riêng. 83 mẫu giống còn lại có mức tương đồng di truyền dao động từ 0,72 đến 1,00. Đặc biệt, 3 cặp mẫu giống L45 (Bèo tả cẩm, SĐK 9381) và L46 (Lọ căm pạnh, SĐK 9393); L61 (Khẩu cẩm pạnh, SĐK 13045) và L62 (Khẩu căm pảnh, SĐK13049); L72 (Plề plẩu sáng, SĐK 14473) và L74 (Plẩu sáng, SĐK 14644) có hệ số tương đồng là 1,00. Như vậy, 3 cặp mẫu giống này có băng ADN trùng nhau ở tất cả 16 locut khảo sát, vì vậy đã đối chiếu với đặc điểm hình thái của các cặp mẫu giống này nhận thấy, đối với cặp L45 và L46 có

sự khác biệt về đặc điểm độ phủ lông của lá, độ cứng cây, dạng bông, màu vỏ trấu và độ phủ lông vỏ trấu; cặp L61 và L62 có các đặc điểm hình thái tương đối giống nhau chỉ khác nhau về đặc điểm màu nhụy, màu vỏ trấu, độ phủ lông của vỏ trấu, màu vỏ gạo; đối với cặp giống L72 và L74 khác nhau ở các đặc điểm: màu vỏ trấu, độ phủ lông của vỏ trấu, màu vỏ gạo, màu mỏ hạt.



Hình 2. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 94 mẫu nguồn gen lúa gạo màu dựa trên các chỉ thị SSR

Như vậy, tại các locut nghiên cứu chưa phát hiện được sự khác biệt ở mức độ phân tử của 3 cặp mẫu giống L44 và L45, L61 và L62, L72 và L74, vì vậy cần sử dụng thêm chỉ thị phân tử để khảo sát thêm một số vị trí khác trên bộ gen, từ đó phát hiện ra locut có khả năng phân biệt 3 cặp mẫu giống này, đồng thời tiến hành sàng lọc trên đồng ruộng, so sánh đặc điểm hình thái để có kết luận cuối cùng về sự trùng lặp hay không của các cặp mẫu nguồn gen. Do việc đánh giá đa dạng di truyền thông qua các tính trạng hình thái, đặc biệt là đối với giống địa phương thường có biến động rất lớn trong quần thể, đặc biệt là khi quan sát các tính trạng số lượng. Việc đánh giá đa dạng di truyền thông qua chỉ thị SSR là xác định bản chất kiểu gen cần số lượng chỉ thị lớn, nên những khác biệt giữa hai phương pháp là điều dễ hiểu và cần có có những nghiên cứu chuyên biệt và sâu hơn trong thời gian tiếp theo.

Mặt khác, về đặc điểm hình thái cặp mẫu nguồn gen L69 (Plẩu xa, SĐK: 14360) và L70 (Plề lẩu sáng, SĐK: 14445) được nhận xét có mức tương đồng di truyền cao nhất khi quan sát trên sơ đồ hình cây dựa vào chỉ thị phân tử thì hai mẫu giống này nằm trong cùng một phân nhóm phụ với mức tương đồng di truyền là 88%. Ngoài ra, các mẫu giống nằm cùng phân nhóm với giống Kasalath ở cây phân loại dựa vào chỉ thị phân tử như L58 (Black, SĐK: 12967), L81 (KDS, SĐK: 15808), L85 (Lúa cẩm, SĐK: 17163), L88 (Khẩu cẩm xẳng, SĐK: 18073), L89 (NCT 30), L90 (NN08), L91 (TC4), L92 (TĐ1), L93 (Nếp cẩm ĐH6) cũng nằm tập trung ở phân nhánh nhỏ của nhóm phụ I-b1 ở cây phân loại dựa vào đặc điểm hình thái và chất lượng. Từ phát hiện này, có thể nghiên cứu sâu hơn mối liên quan di truyền về đặc điểm hình thái, chất lượng với khả năng chống chịu với điều kiện bất thuận (mặn, hạn, ngập úng...) của các mẫu giống này dựa vào các chỉ thị phân tử đã nghiên cứu.

Như vậy, kết quả đánh giá đa dạng di truyền kiểu gen (thông qua 16 chỉ thị SSR) phần nào đã phản ánh được các biểu hiện của kiểu gen thông qua các tính trạng hình thái. Kết quả phân nhóm dựa vào khoảng cách di truyền có thể thấy các giống lúa gạo màu nghiên cứu có mức độ đa dạng di truyền khá cao và biểu hiện rất khác nhau. Kết quả này là cơ sở để phân loại, nhận dạng các giống và hỗ trợ công tác bảo tồn trong việc sàng lọc các giống trùng lặp, từ đó xây dựng tập đoàn hạt nhân. Kết quả này còn giúp ích cho việc lựa chọn vật liệu khởi đầu trong công tác chọn tạo giống lúa chất lượng.

4. KẾT LUẬN

Mức độ đa dạng của các mẫu giống lúa nghiên cứu rất cao thể hiện ở đa dạng kiểu hình (khoảng cách di truyền từ 0,22-0,53) và đa dạng kiểu gen (hệ số tương đồng di truyền từ 0,62-1).

Kết quả phân nhóm dựa vào khoảng cách di truyền thông qua các tính trạng hình thái (kiểu hình) thể hiện một cách tương đối mối quan hệ di truyền của các mẫu nguồn gen (thông qua chỉ thị SSR). Điều này là rất có ý nghĩa trong công tác bảo tồn (sàng lọc giống trùng lặp để xây dựng tập đoàn hạt nhân) và chọn tạo giống.

Qua việc phân tích, đánh giá đa dạng kiểu hình và kiểu gen đã xác định được 6 mẫu nguồn gen có tiềm năng năng suất cao, cơm ngon và khả năng chống chịu là: NCT 30, Khẩu cẩm xẳng, TC4, TĐ 1,

Nếp cẩm ĐH 6, Nếp cẩm Tam Đường.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Nghị định thư: "Xác định kiểu gen, biểu hiện gen và tương tác với môi trường của các gen liên quan đến tổng hợp và tích lũy anthocyanin để hỗ trợ công tác chọn giống hiệu quả và sản xuất bền vững lúa gạo màu giá trị cao cho Việt Nam và Úc". Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amanda J. Garris,Thomas H. Tai, Jason Coburn, Steve Kresovich and Susan McCouch (2004). "Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L.". *Genetics* 169 (3): 1631-8.

2. Djè Y., Tahi G. C., Zoro Bi.I.A., Malice M., Baudoin J. P. and Bertin P. (2006). Optimization of ISSR markers for African edible-seeded Cucurbitaceae species' genetic diversity analysis. *African Journal of Biotechnology*. Vol.5, pp. 083-087.

3. Hossain M. M., Islam M. M., Hossain H., Ali M. S., Teixeira da Silva J. A., Komamine A, Prodhan S. H. (2012). *Genetic disversity analysis of aromatic landraces of rice (Oryza sativa L.) by microsatellite markers*. Genes, Genomes and Genomics, 6(SI1): 42-47.

4. Michael J. Kovach, mariafe N. Calingacion, Melissa A. Fitzgerald và Susan R. McCouch, Author Affiliatons Edited by Brian A. Larkins (2009). The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.), University of Arizona, Tuscon, AZ.

5. Nei, M (1972). Genetic distance between populations. Amer. Naturalist, 106:283-292.

6. Sajib M. A., Hossain M. Md., Mosnaz J. M. T. A., Hossain Hosneara, Islam Monirul Md., Ali Shamsher Md., Prodhan. H. S. (2012). SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis of aromatic landreces of rice (*Oryza sativa* L.). *J. Biosci. Biotech.*, 1(2): 107-116.

7. Upadhyay P., Singh V.K. and N. Neeraja C. (2011). Identification of genotype specific alleles and molecural diversity assessment of popular rice *(Oryza sativa* L.*)* varieties of India *Int. J. Plant Breed. Genet.,* 5 (2): 130-140.

8. Yawadio R., Tanimori S. and Morita N. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry* 101 (4): 1616-1625.

RESEARCH ABOUT DIVERSITY OF GENETIC RESOURCES IN COLORED RICE IN VIETNAM

Nguyen Thi Tuyet, Pham Hung Cuong,
Tran Binh Da, Nguyen Thi Quyen, Vu Thi Thao Mi

Summary

Evaluation of genetic diversity of 94 colored rice genetic resources originating from the 3 provinces of the Northeast, Northwest and North Central regions based on agro-morphological and genotype through 16 SSR directives. The results showed genetic diversity at 16 locus genes with a total of 69 alleles, the PIC index - 0.578 showed the average level of diversity. At some locus appeared heterozygous alleles such as SGK15808 on 2 locuses RM455 and RM447, 13392 on locus RM447. Some genetic samples showed specific alleles, such as SGK12829 on primer RM44, SĐK17163 on primer RM 125. At the genetic similarity level of 0.62, the studied gene samples were separated into 2 large groups. There are 3 pairs of gene source samples with similarity coefficient of 1.00. Compared with genetic group on agromorphological characteristics, these pairs of cultivars have many similar morphological characteristics but have a number of different morphological characteristics. Thus, evaluation of genetic diversity through 16 SSR directives partly reflects the expression of genotype through morphological traits. The results of genetic grouping based on agromorphological traits showed that 94 studied colored rice varieties had a high level of genetic diversity (genetic distance from 0.22 to 0.53) with a diferrent showing. This result is the basis for classification and identification of varieties and supports reservation in screening duplicate varieties, thereby building a nucleus group and helping in the selection of first level materials for breeding quality rice varieties.

Keywords: *Colored rice, diversity, genetic.*

Người phản biện: PGS.TS. Khuất Hữu Trung
Ngày nhận bài: 15/02/2022
Ngày thông qua phản biện: 28/4/2022
Ngày duyệt đăng: 5/5/2022