

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ XÁC ĐỊNH CÁ THỂ TRONG QUẦN THỂ BC₁F₁ (KC25/NPT1) MANG QTL/GEN QUY ĐỊNH TÍNH TRẠNG TĂNG SỐ HẠT/BÔNG VÀ CÓ NỀN DI TRUYỀN CAO NHẤT GIỐNG CÂY NHẬN GEN

Tạ Hồng Linh*, Đỗ Mạnh Cường, Khuất Hữu Trung,
Trần Đăng Khánh, Nguyễn Thị Loan, Hoàng Thị Hiền,
Bùi Thị Thêu, Nguyễn Thị Thúy Anh

342517

ABSTRACT

Application of molecular breeding to identify the individual plants of BC₁F₁(KC25/NPT1) carrying the QTL/Gene (increasing grain number per panicle) with the highest genetic background of the recipient plant

Rice (*Oryza sativa* L.) is the most important food crop, and the staple food for many people in the world. However, rice production is significantly affected by increasing worldwide population pressure and the impact of global climate change. Also, rice growing areas are reduced by industrialization and urbanization. Therefore, rice breeding for high-yield and good quality is an imperative need. Molecular breeding such as marker-assisted backcrossing (MABC) is one of the feasible and efficient methods to transfer the specific quantitative trait loci (QTL) or gene into the elite varieties. In this study, MABC was applied to transfer QTL/gene which is responsible for trait of increasing grain number per panicle from the donor (KC25) to recipient plant (NPT1). The results have shown that the individual plant No 54 in BC₁F₁ population carrying QTL/gene and attained the highest genetic background of the recipient plant up to 81.2%.

Keywords: Marker-assisted backcrossing (MABC), QTL/gene, NPT1, KC25.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây diện tích trồng lúa ngày càng bị thu hẹp bởi quá trình đô thị hóa đã ảnh hưởng đáng kể đến sản lượng nông nghiệp, hơn nữa áp lực dân số ngày càng tăng đòi hỏi nhu cầu lương thực ngày một lớn. Do vậy, phát triển nguồn giống đã được cải tiến cho năng suất cao, chất lượng tốt là yếu tố quan trọng cho việc đảm bảo hệ thống sản lượng lúa và an ninh lương thực.

Yếu tố cấu thành năng suất ở lúa là một tính trạng phức hợp gồm: Số bông trên khóm, số hạt trên bông và khối lượng nghìn hạt. Chọn giống nhờ chỉ thị phân tử và lai trở lại (MABC) là phương pháp thiết thực, hiệu

quả trong việc chuyển locus gen quy định tính trạng di truyền số lượng (QTL) hay gen vào giống mới cho phép rút ngắn quá trình chọn lọc, chọn lọc được những tính trạng khó, giảm thiểu được giá thành và thời gian (Thomson và cs., 2009; Septiningsih và cs., 2009; Singh và cs., 2009).

Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI) đã thành công trong việc tạo ra các giống lúa vừa có năng suất cao, vừa có khả năng chống chịu với các điều kiện phi sinh học bất lợi với trên 40 QTL/gen quy định yếu tố cấu thành năng suất đã được xác định, phân lập và nhân bản tạo ra bước đột phá mới trong công tác chọn giống lúa siêu cao sản. Trên cơ sở đó nhiều QTL/gen quy định tính trạng tăng năng suất đã được chuyển thành công bằng phương pháp MABC vào một số giống lúa hiện đang

* Email: talinh08@gmail.com

được trồng phổ biến tại một số nước như: tại Nhật Bản, các nhà khoa học đã chuyển QTL/gen tăng số hạt trên bông (GN1) vào giống lúa Koshihikari làm tăng 20% năng suất so với đối chứng hiện đang được trồng đại trà (Sakamoto và Matsuoka, 2008; Ikeda và cs., 2013); tại Trung Quốc đã thành công quy tụ các QTL/gen quy định yếu tố cấu thành năng suất vào một số giống lúa đang được trồng đại trà nâng năng suất từ 15 - 20% so với giống đối chứng (Bai và cs, 2012).

Do đó ứng dụng chi thị phân tử và phương pháp lai trở lại để quy tụ QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông vào giống lúa NPT1 (được nhập nội vào Việt Nam) nhằm tăng năng suất đồng thời vẫn giữ nguyên được đặc tính di truyền của giống nhận QTL/gen là việc làm hết sức có ý nghĩa.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa KC25 và NPT1. Giống NPT1 là giống lúa nhập nội triển vọng hiện đang được trồng thử nghiệm tại một số tỉnh đồng bằng sông Hồng, giống KC25 có nguồn gốc nhập nội mang QTL/gen quy định tăng số hạt/bông.

- 03 chi thị phân tử đa hình tại vị trí QTL/gen quy định tăng số hạt/bông gồm RM445, RM500, RM21615 (Khánh và cs, 2013).

- 63 chi thị phân tử đa hình trên 12 NST giữa 2 giống lúa NPT1 và KC25 (Bảng 1).

Bảng 1. Các chi thị SSR cho đa hình giữa KC25 và NPT1

NST	Chi thị phân tử cho đa hình	Số lượng
1	RM10115, RM10136, RM10694, RM10741, RM10800, RM10815, RM10916, RM11062, RM11438, RM11504, RM1287, RM3412b, RM5365, RM7075	14
2	RM1243, RM526, RM5356, RM6, RM7355	5
3	RM14795, RM14620, RM282, RM3654, RM5480, RM7389	6
4	RM16589, RM16820, RM280, RM3333, RM349, RM551	6
5	RM19199, RM31	2
6	RM19238, RM3, RM345, RM494, RM527, RM528, RM7434	7
7	RM11, RM21539, RM21769, RM248, RM7338; RM445, RM500, RM21615	5
8	RM22825, RM331, RM447	3
9	RM1026, RM296, RM11974, RM1208	4
10	RM24865, RM25181, RM25271, RM3628	4
11	RM3137, RM7283, RM19840, RM341	4
12	RM1194, RM247, RM7102	3
	Tổng số	63

2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp tách chiết và tinh sạch ADN theo phương pháp CTAB cải tiến.

- Kỹ thuật PCR (theo phương pháp của IRR1 có cải tiến).

- Kỹ thuật điện di trên gel Agarose 0,8%, Agarose 3,5%.

Phương pháp bố trí thí nghiệm đồng ruộng, nhà lưới của Phạm Chí Thành (1986).

- Phương pháp phân tích số liệu thống kê: Số liệu được xử lý thống kê trên bảng tính bằng chương trình Excel 2007, IRRISTAT5.0 và phần mềm GGT2.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả kiểm tra cá thể lai giữa KC25/NPT1

Trước khi tiến hành chọn lọc những cá thể mang kiểu gen và nền di truyền

mong muốn, tiến hành lai tạo 2 giống KC25 và NPT1, kết quả thu được 22 hạt lai ở thế hệ F₁. Hạt lai được gieo trồng trong điều kiện nhà lưới, lá lúa 2 tuần tuổi của các cá thể lai F₁ được lấy mẫu dùng để phân tích ADN. Việc xác định chính xác con lai F₁ để phát triển tạo quần thể BC₁F₁ là cần thiết, trong nghiên cứu đã sử dụng chỉ thị phân tử RM500 trên NST7 để kiểm tra các cá thể lai F₁ (Hình 1).



Hình 1: Kết quả chạy điện di trên Agarose 3% với chỉ thị RM500

1-22 cá thể F₁, A, NPT1; B, KC25; H, D; Hợp tử; L: Ladder 50bp

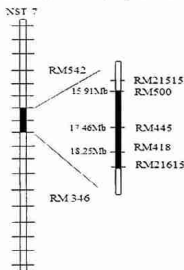
Thông qua kết quả điện di với chỉ thị RM500 cho thấy: Các cá thể số 1, 4, 7, 12, 13, 16, 19, 21, 22 mang kiểu gen đồng hợp tử giống NPT1 ở vị trí 320 kb (thang DNA chuẩn 50bp) chứng tỏ trong quá trình lai tạo đã xảy ra hiện tượng tự thụ phấn nên không được sử dụng để tạo quần thể BC₁F₁. Những cá thể mang kiểu gen dị hợp tử (bao gồm các cá thể có số ký hiệu số 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 14, 15, 17, 18 và 21) ở vị trí 320kb - 350kb được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. Kết quả xác định cá thể lai BC₁F₁ mang QTL/gen quy định tính tăng số hạt/bông

Sau khi xác định được 12 cá thể lai F₁ của tổ hợp KC25/NPT1 đã tiến hành lai tạo để tạo quần thể BC₁F₁. Kết quả đã tạo ra được 321 cá thể BC₁F₁, hạt lai được gieo trồng trong điều kiện nhà lưới phục vụ cho việc lấy mẫu xác định những cá thể mang QTL/gen tăng số hạt trên bông có nền di truyền cao nhất giống mẹ.

Kể thừa kết quả khảo sát đa hình của Khánh và cộng sự (2013) đã xác định được các chỉ thị phân tử RM500, RM445, RM21615 trên NST 7 liên kết chặt với

QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông lần lượt tại các vị trí 15.91Mb, 17.46Mb và 18.25Mb được thể hiện qua hình 2.

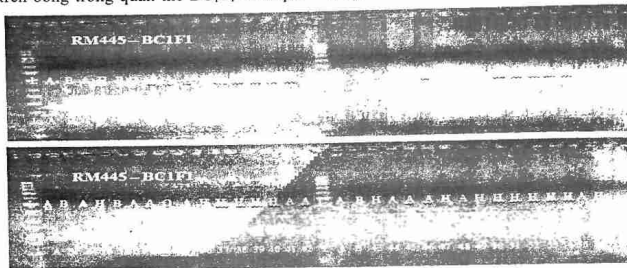


Hình 2: Vị trí chỉ thị phân tử liên kết chặt với QTL/gen tăng số hạt/bông

Ghi chú. Thứ tự chỉ thị phân tử được thể hiện bên phải NST, vị trí của chỉ thị được thể hiện phía bên trái NST. Vùng đen biểu thị locus gen tăng số hạt/bông. Thứ tự và vị trí chỉ thị phân tử được xây dựng dựa trên bản đồ Nipponbare (TIGR v. 3 pseudomolecules available at www.gramene.org and at.silver.plbr.cornell.edu/SSR).

Ba chi thị phân tử liên kết chặt với gen đích được sử dụng để xác định các cá thể con lai mang QTL/gen tăng số hạt trên bông trong quần thể BC₁F₁. Kết quả

điện di sản phẩm PCR với chi thị phân tử RM445, RM500 VÀ RM21615 được thể hiện ở một số hình ảnh điện di (Hình 3, 4, 5).



Hình 3: Kết quả chạy điện di trên Agarose 3% với chi thị RM445 1-28; 28-57 cá thể BC₁F₁, A. NPT1; B: KC25; H: Dị hợp tử; L: Ladder 50bp



Hình 4: Kết quả chạy điện di trên Agarose 3% với chi thị RM500 61-98. cá thể BC₁F₁, A. NPT1; B: KC25; H: Dị hợp tử; L: Ladder 50bp



Hình 5: Kết quả chạy điện di trên Agarose 3% với chi thị RM21615 121-153 cá thể BC₁F₁, A. NPT1; B: KC25; H: Dị hợp tử; L: Ladder 50bp

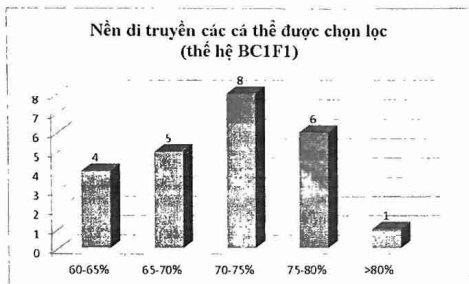
Thông qua hình điện di, sau khi kết hợp 3 chi thị phân tử RM445, RM500 và RM21615 để sàng lọc các cá thể mang QTL/gen tăng số hạt trên bông cho thấy có 24 cá thể mang QTL/gen có số thứ tự lần

lượt: 2, 9, 10, 14, 18, 20, 24, 38, 43, 49, 52, 54, 68, 74, 82, 88, 92, 97, 127, 128, 133, 138, 142, 152. Các cá thể này được lựa chọn để kiểm tra nền di truyền ở các bước tiếp theo.

3. Kết quả kiểm tra nền di truyền thế hệ BC₁F₁

Để kiểm tra nền di truyền của 24 cá thể mang QTL/gen tăng số hạt trên bông đã

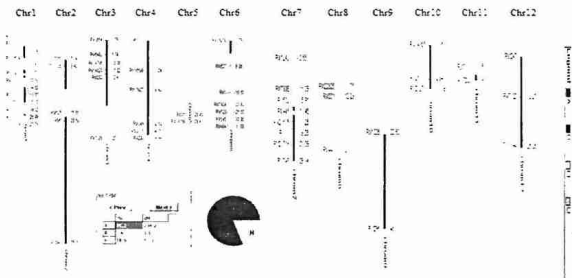
được chọn lọc, 63/66 chi thị phân tử đa hình giữa KC25 và NPT1 trên cả 12 NST (trừ 3 chi thị phân tử RM445, RM500 và RM21615) đã được sử dụng. Kết quả được thể hiện thông qua Biểu đồ 1.



Biểu đồ 1: Nền di truyền các cá thể BC₁F₁ (KC25/NPT1)

Biểu đồ 1 cho thấy: Ở thế hệ BC₁F₁ phần lớn các cá thể đều mang nền di truyền cao nhất giống mẹ ở mức từ 65 - 80% (19 cá thể), có 4 cá thể mang nền di truyền

giống mẹ ở mức 60 - 65%. Đặc biệt chỉ có 01 cá thể mang nền di truyền cao nhất giống mẹ ở mức >80% (cá thể số 54) được thể hiện qua bản đồ di truyền (hình 6).



Hình 6: Bản đồ di truyền cá thể số 54

Ghi chú: Thứ tự của các NST được biểu thị bằng số ở phía trên và danh sách các chi thị dùng trong khảo sát nền di truyền ở phía bên trái, tương ứng vị trí chi thị phân tử ghi bên phải NST. Vùng đậm biểu thị nền di truyền giống NPT1, vùng nhạt biểu thị nền di truyền giống KC25. Vị trí và thứ tự chi thị phân tử được xây dựng dựa trên phần mềm GGT2.0

IV. KẾT LUẬN

Ứng dụng chi thị phân tử và phương pháp lai trở lại (MABC) bước đầu đã thành công trong quy tụ QTL/gen quy định tính trạng tăng số hạt trên bông vào giống lúa nhập nội tại Việt Nam. Cá thể số 54 (thể hệ BC₁F₁) được lựa chọn mang QTL/gen tăng số hạt trên bông có nền di truyền cao nhất giống mẹ ở mức 81,2% sẽ tiếp tục được lựa chọn để sử dụng làm vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bai, X, Wu, B, Xing, Y. (2012). Yield-related QTLs and their application in rice genetic improvement. *J Integr Plant Biol*, 54:300-311.
2. Collard BCY, K.I., MJ Thomson, A Pamplona & DJ Mackill (2008a), "An electronic manual on marker assisted

backcrossing in rice", *Theory and applications 1st edition*.

3. Ikeda, M., Miua, K., Aya, K., Kitano, H., Matsuoka M. (2013). Genes offering the potential for designing yield-related traits in rice. *Cur Opi Plant Biol*, 16; 213-220.
4. Takeda, S., and Matsuoka, M. (2008). Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. *Nature*, 9:444-457.
5. Thomson MJ, Ismail AM, McCouch SR, Mackill DJ. (2009). Marker Assisted Breeding. In: Pareek A, Sopory SK, BohnertHJ, Govindjee (eds); Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation. *Chapter 20*. Springer, Dordrecht.

Ngày nhận bài: 22/8/2014

Người phản biện: GS.TSKH. Trần Duy Quý

Ngày phản biện: 27/8/2014

Ngày duyệt đăng: 29/9/2014

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN GIỐNG LÚA LAI THÍCH HỢP CHO VÙNG NAM TRUNG BỘ VÀ TÂY NGUYÊN

6895⁰³

Lại Đình Hòa* và ctv.

ABSTRACT

Research results of hybrid rice varieties selection adaptable for the Southern Central and the Western Highlands

The varietal trials were conducted in Dak Lak, Kon Tum, Binh Dinh, Quang Nam provinces with the aim at selecting adaptable hybrid rice varieties for the Southern Central and the Western Highland. Study materials included 14 promising hybrid rice varieties. The research results have recruited 3 suitable varieties for production in the Southern Central and the Western Highland BTE-1, HYT108; TH3-5.

In the Western Highland, the varieties BTE-1, HYT108; TH3-5 show growth duration of 119-125 days in Winter-Spring season, 100-108 days in Summer-Autumn crop, less affected by pests. Average yield in Winter-Spring season reached from 85.37 to 86.78 quintal/ha (the control: 80.86 quintals/ha) and Summer- Autumn crop from 85.38 to 86.19 quintals/ha (the control: 78.58 quintals/ha)

At the Southern Central region, varieties HYT108, BTE-1, TH3-5 have the growth duration of 105-115 days in Winter-Spring season; Summer - Autumn crop from 93-107 days, less disease affected. The average yield of Winter-Spring crop was from 84.08 to 88.44 quintals/ha (the control: 80.53 quintals/ha) and Summer - Autumn crop was from 83.31 to 84.88 quintals/ha (the control: 78.25 quintals/ha)

Keywords: Hybrid rice; selection; adaptable

* Email: hoevass@yahoo.com