

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN LÚA NẾP ĐỊA PHƯƠNG DỰA TRÊN KIỂU HÌNH VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Đoàn Thanh Quỳnh¹, Nguyễn Thị Hảo², Vũ Thị Thu Hiền³, Trần Văn Quang^{3*}

¹*Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Điện Biên*

²*Viện nghiên cứu và phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

³*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email : tvquang@vnua.edu.vn*

Ngày nhận bài: 25.07.2015

Ngày chấp nhận: 05.05.2016

TÓM TẮT

Phân tích quan hệ di truyền các giống lúa nếp là vấn đề rất quan trọng trong việc quản lý, bảo tồn nguồn gen và tuyển chọn giống mới. Thí nghiệm được tiến hành ở huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên để đánh giá đặc điểm nông sinh học và đa dạng di truyền của 42 mẫu giống lúa nếp địa phương. Kết quả cho thấy các giống lúa có thời gian sinh trưởng tương đối đa dạng, phần lớn thuộc nhóm trung ngày, chiều cao cây chủ yếu từ trung bình đến cao, khối lượng 1.000 hạt từ trung bình đến cao chiếm đa số. Dựa trên 14 tính trạng kiểu hình, qua phân tích 42 mẫu giống lúa nếp địa phương với sự sai khác 0,07 được chia thành 11 nhóm khác nhau cách biệt về di truyền. Trong nghiên cứu này, 42 mẫu giống lúa được đánh giá đa dạng di truyền bằng 38 chỉ thị SSR. Tổng cộng có 106 allele được phát hiện bởi 35 chỉ thị cho đa hình với trung bình 3,03 allele/locus. Hệ số đa hình di truyền (PIC) dao động từ 0,08 đến 0,84 với giá trị trung bình là 0,5. Hệ số tương đồng di truyền của 42 giống lúa nghiên cứu dao động từ 0,63 đến 0,97. Số liệu thu được trong nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng cho việc nghiên cứu chọn tạo các giống lúa nếp ở Việt Nam.

Từ khóa: Allen, đa dạng di truyền, nguồn gen, lúa nếp địa phương.

Analysis of Genetic Diversity in Local Sticky Rice Based on Morphological Characteristics and SSR Markers

ABSTRACT

The genetic relationship analysis of local sticky rice is very important for genetic resource management, conservation and new varietal development. The experiment was conducted in Dien Bien district, Dien Bien province to assess agronomical characteristics and genetic diversity of 42 accessions of local sticky rice. Results showed that the accessions had relatively diverse growth duration, largely of medium-maturity group; medium to tall plant type, and the majority of accessions had medium to high 1000 grain weight. Based on the analysis of 14 phenotypical traits at dissimilarity coefficient of 0.07 42 accessions were divided into 11 different groups. In addition, the genetic analysis with 38 SSR markers detected a total of 106 alleles with 35 polymorphic markers and an average of 3.03 alleles per locus. The polymorphic information content (PIC) values ranged from 0.08 to 0.84, with an average of 0.5. Genetic similarity coefficient of 42 studied rice varieties ranged from 0.63 to 0.97. The results of this study provide important information for breeding research on sticky rice in Vietnam.

Keywords: Alleles, genetic diversity, genetic resources, local sticky rice.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa nếp là một trong những loại lúa đặc sản đang được trồng khá phổ biến ở Việt Nam

và có nguồn gốc rất lâu đời. Lúa nếp có mặt ở hầu hết các tỉnh trong cả nước và được trồng ở cả nương và ruộng. Việc nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen lúa nếp không chỉ có ý nghĩa

trong việc bảo tồn các giống lúa đặc sản mà còn có đóng góp quan trọng trong công tác chọn tạo giống lúa chất lượng cao.

Công việc thu thập và bảo tồn nguồn gen cây lúa ở nước ta đã được bắt đầu từ những năm 1977. Đến nay, Trung tâm Tài nguyên di truyền Thực vật đã thu thập và bảo tồn trên 8.000 mẫu giống lúa tẻ và lúa nếp. Trong việc đánh giá đa dạng di truyền nói chung, vấn đề phân loại mang tính chất trung tâm (Bùi Huy Đáp, 1980). Theo Lã Tuấn Nghĩa và cs. (2011), ngân hàng gen cây trồng quốc gia đang lưu giữ trên 20.000 nguồn gen cây trồng, trong đó có khoảng 8.000 nguồn gen lúa cùng với sự nhìn nhận vai trò to lớn của nguồn gen lúa địa phương đối với sự biến đổi khí hậu toàn cầu hiện nay, nhiều giống lúa địa phương đã được phục tráng và duy trì trong sản xuất nông nghiệp như: Khẩu nậm xít, Sếng cù, lúa Tám, nếp Tú Lệ...

Các giống cây trồng nói chung và giống lúa nói riêng có cấu trúc di truyền khác nhau, là nguồn vật liệu tốt để định hướng trong lai tạo, chọn lọc các giống lúa mới. Để đánh giá sự đa dạng di truyền có thể dựa trên kiểu hình (tính trạng hình thái) hoặc kiểu gen (sử dụng chỉ thị phân tử). Trong đó: kiểu hình được biểu hiện qua sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Nghiên cứu đa dạng di truyền dựa vào các tính trạng hình thái, nông học và là phương pháp cổ điển nhưng hiện nay vẫn được sử dụng rộng rãi vì nó không đòi hỏi trang thiết bị đắt tiền, bố trí thí nghiệm không phức tạp mà vẫn đảm bảo hiệu quả nhất định, giúp các nhà nghiên cứu có thể phân biệt các giống một cách nhanh chóng trên đồng ruộng. Sử dụng chỉ thị phân tử trong đó có chỉ thị SSR (Simple Sequence Repeat markers) là công cụ mạnh mẽ trong việc đánh giá biến dị di truyền, giải thích mối quan hệ di truyền trong và giữa các loài. Ưu điểm của loại hình là đánh giá nhanh chóng, chính xác, cho đa hình cao và ổn định (Ma H. *et al.*, 2011; Powel W. *et al.*, 1996; Song Z.P. *et al.*, 2003; Teixeira da Silva J. A., 2005; Virk P. S. *et al.*, 2000). Đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử cung cấp thông tin và độ chính xác cao hơn so với phương pháp dựa vào hình thái. Lợi thế lớn nhất

của phương pháp này là phát hiện sự sai khác ở mức DNA và tiết kiệm thời gian vì các nghiên cứu có thể tiến hành sớm khi lúa còn ở giai đoạn mạ.

Nghiên cứu này, đã sử dụng 42 mẫu giống lúa nếp địa phương mới thu thập để đánh giá đặc điểm nông sinh học và đa dạng di truyền. Kết quả nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen các giống lúa nếp địa phương sẽ dùng để phục vụ cho công tác bảo tồn, cung cấp thông tin về nguồn gen và khai thác các giống lúa nếp địa phương ngắn ngày, năng suất cao và chất lượng tốt phục vụ sản xuất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

42 mẫu giống lúa nếp địa phương có nguồn gốc khác nhau được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử (Bảng 1) gồm: 20 mẫu giống lưu của Trung tâm Tài nguyên Thực vật - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 10 mẫu giống lưu của Viện nghiên cứu và phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và 12 mẫu giống thu thập tại các tỉnh Tây Bắc, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen lúa nếp dựa trên kiểu hình

Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp đánh giá nguồn gen của IPGRI (2001) là khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh, 2 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 10m² tại ruộng chủ động nước tưới của huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên trong vụ Xuân 2013.

Các chỉ tiêu theo dõi trên đồng ruộng được đánh giá theo tiêu chuẩn đánh giá nguồn gen cây lúa của Viện Nghiên cứu Lúa quốc tế IRRI (2002). Đánh giá đa dạng di truyền dựa trên 14 tính trạng gồm: thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chiều dài lá đồng, chiều rộng lá đồng, chiều dài hạt, chiều rộng hạt, tỷ lệ D/R, số bông/khóm, chiều dài bông, số hạt/bông, số hạt chắc/bông, khối lượng 1.000 hạt, năng suất cá thể và năng suất lý thuyết.

Bảng 1. Các mẫu giống lúa nếp địa phương sử dụng trong đánh giá đa dạng di truyền

Ký hiệu	Tên địa phương	Nơi thu thập	Ký hiệu	Tên địa phương	Nơi thu thập
N1	Nếp Cẩm	Điện Biên	N41	Nếp mớ	Viện NC&PTCT
N2	Nếp Tạ Văn Chấn	Lai Châu	N43	Khẩu nua nướng	TTNTNV
N3	Nếp Cẩm lửa	Lai Châu	N44	Nếp nướng cẩm	TTNTNV
N4	Nếp MX4	Lai Châu	N45	Ne nướng	TTNTNV
N6	Nếp Gà gáy	Điện Biên	N48	Khẩu lếch 2 dạng 2	TTNTNV
N7	Nếp Thơm	Điện Biên	N49	Pi theo củ	TTNTNV
N9	Nếp ruộng - Sơn La	Lai Châu	N50	Văn háu xiêm	TTNTNV
N10	Nếp khẩu PE	Điện Biên	N51	Plẩu tau đẳng dạng 1	TTNTNV
N11	Nếp Thơm	Điện Biên	N52	Khẩu na lầy dạng 2	TTNTNV
N12	Nếp nướng Xiêm	Lai Châu	N53	Khẩu khinh	TTNTNV
N13	Nếp nướng Tan Pôm	Lai Châu	N54	Nếp cẩm đen	TTNTNV
N14	Nếp Cẩm hoa	Điện Biên	N56	Khẩu giới ca dạng2	TTNTNV
N16	Nếp nướng (BiaoBốt)	Viện NC&PTCT	N57	Chăm lượng	TTNTNV
N18	Nếp Khẩu Lao nướng	Viện NC&PTCT	N58	Pầu đẳng quại	TTNTNV
N19	Nếp khẩu Nua Phiêng	Viện NC&PTCT	N59	Nếp lùn	TTNTNV
N20	Nếp Khẩu Màn	Viện NC&PTCT	N60	Khẩu lao	TTNTNV
N29	Nếp Khẩu Mò	Viện NC&PTCT	N61	Khẩu cẩm pị	TTNTNV
N35	Nếp Cẩm ĐH6	Viện NC&PTCT	N63	Khẩu mặc buộc	TTNTNV
N36	Khẩu lang	Viện NC&PTCT	N64	Nếp nướng	TTNTNV
N38	Khẩu cáy	Viện NC&PTCT	N65	Ló đếp cẩm	TTNTNV
N39	Nếp nướng dạng 1	Viện NC&PTCT	N66	Nếp 97	TTNTNV

Ghi chú: NC&PTCT: Nghiên cứu và Phát triển cây trồng; TTNTNV: Trung tâm tài nguyên thực vật

KHỐI

I	II	III	IV
A	F	B	CHECK
B	E	CHECK	A
C	CHECK	D	C
CHECK	D	F	E

Lặp lại 1 Lặp lại 2

Sơ đồ 1. Bố trí thí nghiệm đánh giá nguồn gen

2.2.2. Thí nghiệm đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen lúa nếp bằng chỉ thị phân tử

Hạt của các mẫu giống lúa thí nghiệm được gieo cấy trong khay đến khi cây lúa sinh trưởng được 3 lá, thì tiến hành thu mẫu lá non để tách chiết ADN. 38 chỉ thị SSR sử dụng trong thí nghiệm nằm trên 12 nhiễm sắc thể (NST) của bộ gen lúa trên trang www.gramene.org. Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Dự án JICA-JST, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Tách chiết ADN:

ADN lá non của mẫu giống lúa được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) của Doyle *et al.* (1987) (có cải tiến theo Phòng thí nghiệm của JICA-JST): Mẫu lá được nghiền nhỏ bằng máy Multi Bead-Shocker, thêm 700µl dung dịch đệm CTAB 2X. Ủ mẫu ở 65°C trong 90 phút, 15 phút lắc đều một lần. Bổ sung 500µl dung dịch CIA (Chloroform: Isoamylalcohol) tỷ lệ 24:1, trộn đều và lắc trong 30 phút. Ly tâm với 1.400 vòng/phút trong 20 phút. Chuyển dịch nổi sang tube 2ml mới, thêm 500µl dung dịch CIA, ly tâm với tốc độ 1.400 vòng/phút trong 20 phút. Hút dịch nổi sang tube 2ml mới, bổ sung isopropanol rồi giữ mẫu trong ngăn mát tủ lạnh 15 phút. Ly tâm ở 4°C trong 15 phút, tốc độ 1.400 vòng/phút, để thu kết tủa. Tiếp tục bổ sung 500µl ethanol 70%, ly tâm 1.400 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C để thu kết tủa. Để khô ADN và bảo quản mẫu trong 50µl dung dịch TE 0,1X.

Phản ứng PCR:

Phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 10µl hỗn hợp gồm 1µl ADN mẫu; 2µl H₂O; 5µl PCR Master Mix 2x; 2µl mỗi. Nồng độ ADN mẫu là 10ng và nồng độ mỗi là 1uM. Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR như sau: (1) 95°C trong 3 phút, (2) 94°C trong 30 giây, (3) 53°C trong 30 giây, (4) 72°C trong 30 giây, lặp lại 30 chu kỳ từ (2) đến (4); (5) 72°C trong 7 phút và sau đó được giữ lạnh ở 4°C.

Điện di:

Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 4% ở 250V, I = 400mA, thời gian 50 phút

trong dung dịch đệm 0,5X TBE (Tris - Bore - EDTA). Sau đó gel được nhuộm trong ethidium bromide 0,5 g/ml và soi dưới đèn UV và chụp ảnh. Các băng trên gel được xác định: xuất hiện (đánh số 1), không xuất hiện (đánh số 0).

Xử lý số liệu:

Hàm lượng thông tin đa hình (PIC-Polymorphic Information Content) được tính toán theo phương pháp của Weir (1996):

$$PIC(i) = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Trong đó: P_{ij} là tần suất alen thứ j với locus SSR thứ i . Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn).

Xác định hệ số tương đồng di truyền Jaccard, xây dựng sơ đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng của 42 mẫu giống dựa theo phương pháp UPGMA trong NTSYS 2.1. Các số liệu phân tích thống kê bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm nông sinh học của các mẫu giống lúa nếp

Thời gian sinh trưởng của các giống lúa là đặc điểm di truyền của giống, nhưng phụ thuộc vào điều kiện ngoại cảnh. Theo IRRI (2002), các giống lúa được phân nhóm theo thời gian sinh trưởng như sau: Nhóm cực ngắn ngày (thời gian sinh trưởng dưới 90 ngày), nhóm ngắn ngày (91-115 ngày), nhóm trung ngày (116-130 ngày), nhóm dài ngày (trên 131 ngày). Kết quả phân nhóm các mẫu giống lúa nếp theo thời gian sinh trưởng được trình bày tại bảng 2.

Kết quả phân nhóm cho thấy trong các mẫu giống lúa nếp thu thập không có giống cực ngắn ngày, có 12 giống có thời gian sinh trưởng thuộc nhóm ngắn ngày chiếm tỷ lệ 28,57%. Các giống trung ngày có 21 giống chiếm tỷ lệ 50%. Các giống dài ngày có 9 giống chiếm tỷ lệ 21,43%. Như vậy, thời gian sinh trưởng của các giống lúa nếp địa phương tương đối đa dạng, phần lớn thuộc nhóm trung ngày, kết quả phân nhóm theo thời gian sinh trưởng giống với phân nhóm các mẫu giống lúa địa phương vùng Tây Bắc (giống trung ngày chiếm 88%) của Đoàn Thị Thùy

Bảng 2. Phân nhóm các mẫu giống lúa nếp theo thời gian sinh trưởng

Phân loại tính trạng	Số mẫu giống	Tỷ lệ mẫu giống (%)
Cực ngắn ngày (dưới 90 ngày)	0	0
Ngắn ngày (91-115 ngày)	12	28,6
Trung ngày (116-130 ngày)	21	50,0
Dài ngày (trên 130 ngày)	9	21,4

Linh (2013). Các mẫu giống lúa ngắn ngày cũng chiếm tỷ lệ khá cao (28,6%), đây là một tính trạng quý trong công tác chọn tạo giống lúa.

Các đặc trưng cơ bản của cây lúa như chiều cao cây, số nhánh hữu hiệu, chiều dài và chiều rộng lá đồng, chiều dài bông, chiều dài và chiều rộng hạt gạo, khối lượng 1.000 hạt... thường được sử dụng để đánh giá sự khác biệt về hình thái của các giống lúa, giúp cho việc phân nhóm các giống lúa trong tập đoàn. Kết quả nghiên cứu các tính trạng trên của các mẫu giống lúa nếp địa phương thu thập được trình bày trong bảng 3.

Chiều cao cây của các mẫu giống lúa nếp địa phương biến động từ 87,6cm (N64) đến 153,5cm (N29), số nhánh hữu hiệu từ 3,2-6,5 nhánh, kiểu đẻ nhánh chủ yếu thuộc dạng xòe và hơi xòe, góc đẻ nhánh >30°. Kết quả phân nhóm (Bảng 4) cho thấy có 2 mẫu giống (N59, và N64, chiếm tỷ lệ 4,8%) thuộc loại bán lùn có chiều cao cây dưới 100cm, có 13 mẫu giống (chiếm 31,0%) thuộc loại trung bình có chiều cao cây từ 100-120cm, có 27 mẫu giống (chiếm 64,2%) thuộc loại cao cây có chiều cao trên 120cm, khả năng chống đổ của giống yếu. Kết quả đánh giá số nhánh hữu hiệu/khóm của các mẫu giống cho thấy có 25 mẫu giống (chiếm 59,5%) thuộc mức ít bông, có 17 mẫu giống (chiếm 40,5%) thuộc mức trung bình, không có mẫu giống nào thuộc mức nhiều bông.

Các mẫu giống có chiều dài lá đồng biến động từ 28,7cm (N66) đến 62,7cm (N20). Chiều rộng lá đồng biến động từ 1,4-2,6cm thuộc mức từ trung bình đến rộng, không có mẫu giống nào có chiều rộng <0,8cm (thuộc dạng lá hẹp) (Bảng 3). Góc lá đồng của các mẫu giống lúa hầu hết thuộc dạng ngang (38 mẫu giống, chiếm 90,5%), chỉ có 4 mẫu giống có góc độ lá đồng đứng (N4,

N35, N43 và N66, chiếm 9,5%). Kết quả này giống với nghiên cứu về góc lá đồng giống lúa địa phương vùng Tây Bắc (dạng ngang, chiếm 92%) của Đoàn Thị Thùy Linh (2013). Điều này cho thấy vấn đề tăng mật độ trong thâm canh đối với các mẫu giống lúa nếp địa phương khi gieo trồng là rất khó khăn.

Chiều dài bông là một đặc điểm di truyền do giống quyết định và là một yếu tố quan trọng. Trong tạo giống, nhà khoa học thường tìm nhiều cách nâng cao chiều dài bông vì đây là một chỉ số kinh tế chính của cây lúa. Chiều dài bông của các mẫu giống biến động từ 19,0cm (N64) đến 35,7cm (N12). Dạng bông dài (>30cm) có 9 mẫu giống chiếm 21,4%. Dạng bông trung bình (26-30cm) có 19 mẫu giống chiếm 45,2%, bông ngắn (20-25cm) có 13 mẫu giống chiếm 40,0%, 1 mẫu giống (N64) có bông ở dạng rất ngắn (<20cm). Các mẫu giống lúa có tổng số hạt/bông thuộc dạng ít (số liệu không trình bày ở bảng), chỉ có 2 mẫu giống (N20, N29) có số hạt/bông lớn hơn 200 hạt.

Khối lượng 1.000 hạt là một trong 4 yếu tố cấu thành năng suất lúa. Kích thước và khối lượng 1.000 hạt là những chỉ tiêu rất đặc trưng của các giống lúa do gen quy định và ít chịu tác động của ngoại cảnh. Vì vậy, chúng là những tính trạng quan trọng sử dụng để phân loại giống. Kết quả phân loại các đặc trưng về kích thước và khối lượng hạt theo IRRI (2002) cho thấy (Bảng 3, 5), về chiều dài hạt gạo: có 18 mẫu (chiếm 42,8%) giống lúa hạt rất dài (7,50mm), có 23 mẫu giống (chiếm 54,8%) thuộc dạng hạt dài, chỉ có 1 mẫu giống (chiếm 2,4%) thuộc dạng hạt trung bình và không có mẫu giống nào thuộc dạng hạt rất ngắn và ngắn. Mẫu giống có khối lượng 1.000 hạt rất cao là 9 mẫu (chiếm

21,4%), có 21 mẫu có khối lượng 1.000 hạt đạt mức cao (chiếm 50%), có 9 mẫu giống có khối lượng 1.000 hạt trung bình (chiếm

21,4%) và 3 mẫu giống có khối lượng 1.000 hạt thấp (chiếm 7,2%), không có mẫu giống nào có khối lượng 1000 hạt rất thấp (< 20g).

Bảng 3. Một số đặc điểm hình thái đặc trưng của các mẫu giống lúa nếp

Ký hiệu	Chiều cao cây (cm)	Số nhánh hữu hiệu	Chiều dài lá đòng (cm)	Chiều rộng lá đòng (cm)	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài hạt (mm)	Chiều rộng hạt (mm)	Tỷ lệ D/R hạt gạo	KL 1.000 hạt (g)
N1	126,7	3,5	47,5	2,3	23,0	7,5	3,1	2,4	29,6
N2	102,3	5,6	35,6	2,1	23,9	7,2	3,1	2,3	30,3
N3	115,7	6,5	56,5	2,6	33,5	7,4	3,0	2,5	35,0
N4	112,5	6,3	36,7	1,9	26,7	7,1	3,1	2,3	29,3
N6	134,5	4,5	57,5	2,3	28,0	7,5	3,0	2,5	24,6
N7	119,8	4,3	58,9	2,4	24,0	7,3	3,0	2,4	26,5
N9	118,9	5,7	33,2	1,8	24,0	7,3	3,0	2,4	26,2
N10	109,8	4,9	37,6	1,9	29,5	7,3	3,1	2,3	30,2
N11	128,9	3,7	55,4	2,0	31,7	8,0	3,2	2,5	24,5
N12	139,5	5,6	60,4	2,5	35,7	7,2	3,3	2,2	32,7
N13	129,9	4,7	59,5	2,2	29,8	7,3	3,0	2,4	33,0
N14	139,8	5,5	41,2	2,0	27,8	7,2	3,0	2,4	32,5
N16	150,5	3,4	45,8	2,1	28,5	7,9	3,2	2,5	35,2
N18	147,5	3,7	58,5	1,9	25,6	6,6	3,0	2,2	39,2
N19	110,5	6,0	37,5	1,8	22,2	7,1	3,0	2,4	37,5
N20	150,5	4,3	62,7	2,0	33,5	7,3	2,9	2,5	34,5
N29	153,5	4,5	58,9	1,9	31,0	7,7	2,9	2,6	33,7
N35	115,5	6,3	35,5	1,8	26,5	8,2	3,3	2,5	24,6
N36	134,5	4,3	47,5	1,7	27,3	7,2	3,0	2,4	32,9
N38	103,0	4,2	32,6	1,6	24,0	8,0	3,2	2,5	35,7
N39	124,6	5,3	55,0	1,8	30,5	7,8	3,0	2,6	27,8
N41	139,6	4,7	53,5	2,0	23,5	8,1	3,2	2,5	33,6
N43	133,6	4,3	47,5	1,9	31,5	8,4	3,2	2,6	38,4
N44	134,5	5,3	55,5	2,0	26,2	6,9	2,8	2,5	27,2
N45	137,6	3,2	58,5	1,9	25,0	7,5	3,0	2,5	34,3
N48	131,5	3,7	57,2	2,1	28,4	8,2	3,5	2,3	36,4
N49	133,8	5,6	55,9	1,9	23,2	6,9	3,0	2,3	29,7
N50	142,6	5,7	61,5	1,8	28,0	7,7	2,8	2,8	34,3
N51	122,6	4,7	37,5	1,6	20,0	7,7	3,0	2,6	28,7
N52	123,5	4,2	47,5	1,7	24,5	8,2	3,2	2,6	25,3
N53	117,8	3,7	47,6	1,9	28,3	6,2	2,4	2,6	33,4
N54	135,4	3,3	57,0	2,0	30,9	6,7	2,9	2,3	35,6
N56	121,2	3,4	55,3	2,0	24,5	7,7	3,2	2,4	24,9
N57	128,2	6,0	57,5	1,9	26,0	7,1	3,1	2,3	30,3
N58	114,5	5,3	53,5	2,1	31,0	7,9	3,3	2,4	32,3
N59	94,5	5,7	32,5	1,7	27,0	8,3	3,0	2,8	29,8
N60	109,5	4,5	45,3	1,8	29,7	8,7	3,9	2,2	36,5
N61	127,5	4,2	56,6	1,9	27,9	8,6	3,5	2,5	33,3
N63	123,0	5,2	55,7	1,8	26,4	7,7	2,8	2,7	30,2
N64	87,6	5,3	29,7	1,7	19,0	7,7	3,2	2,4	34,7
N65	124,5	4,3	43,5	1,7	28,5	8,3	3,1	2,7	35,7
N66	106,3	4,5	28,7	1,4	24,5	7,3	2,9	2,5	25,3

Bảng 4. Phân nhóm chiều cao cây và số nhánh hữu hiệu của các mẫu giống lúa nếp

Phân loại tính trạng	Số lượng mẫu giống	Tỷ lệ mẫu giống (%)
Chiều cao cây		
<100 cm (bán lùn)	2	4,8
100-120 cm (trung bình)	13	31,0
> 120 cm (cao)	27	64,2
Số nhánh hữu hiệu/khóm		
< 5 nhánh (ít)	25	59,5
5-8 nhánh (trung bình)	17	40,5
> 8 nhánh (nhiều)	0	0

Bảng 5. Phân nhóm một số tính trạng hình dạng hạt của các mẫu giống lúa nếp

Tính trạng/ Phân loại	Số mẫu giống	Tỷ lệ mẫu giống (%)
Khối lượng 1000 hạt (g)		
Rất thấp (<20g)	0	0
Thấp (20-24g)	3	7,2
Trung bình (25-29g)	9	21,4
Cao (30-35g)	21	50,0
Rất cao (>35g)	9	21,4
Chiều dài hạt gạo (mm)		
Rất ngắn (<4,50mm)	0	0
Ngắn (4,51-5,50mm)	0	0
Trung bình (5,51-6,50mm)	1	2,4
Dài (6,51-7,50mm)	23	54,8
Rất dài (>7,5mm)	18	42,8
Chiều rộng hạt gạo (mm)		
Hẹp (<2,5mm)	0	0
Trung bình (2,5-3,0mm)	22	52,4
Rộng (>3,0mm)	20	47,6
Hình dạng hạt gạo (D/R)		
Tròn (<1,5)	0	0
Bán tròn (1,5-1,99)	0	0
Bán thon (2-2,49)	20	47,6
Thon (2,5-2,99)	22	52,4
Thon dài (≥ 3,0)	0	0

3.2. Đánh giá đa dạng di truyền các mẫu giống lúa nếp thông qua kiểu hình

Đánh giá mức độ đa dạng và khoảng cách di truyền của các mẫu giống lúa giúp chúng ta có cái nhìn chung nhất về quan hệ họ hàng của các

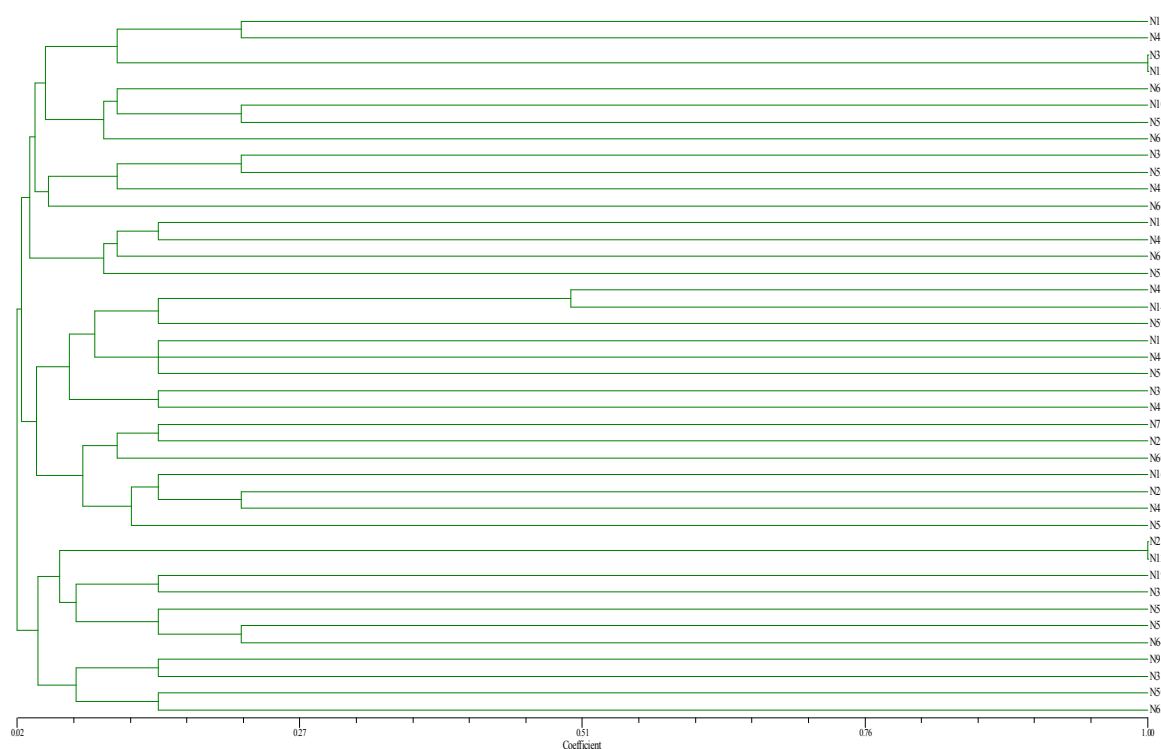
giống lúa, các giống có mức độ cách biệt di truyền càng lớn thì khả năng sử dụng trong lai tạo giống càng cao và ngược lại. Kết quả phân tích được mô hình hóa dưới dạng sơ đồ hình cây thể hiện trong hình 1. Kết quả cho thấy, với sự sai khác 0,07, 42 mẫu giống lúa nếp được phân

thành 11 nhóm di truyền, nhóm 1 gồm 4 mẫu giống N1, N45, N3 và N13; nhóm 2 gồm 4 mẫu giống N6, N10, N57 và N65; nhóm 3 gồm 3 mẫu giống N36, N52 và N43; nhóm 4 gồm 1 mẫu giống N66; nhóm 5 gồm 4 mẫu giống N18, N49, N61 và N53; nhóm 6 gồm 6 mẫu giống N4, N14, N59, N11, N44 và N56; nhóm 7 gồm 2 mẫu giống N39 và N48; nhóm 8 gồm 7 mẫu giống N7, N29, N60, N6, N20, N41 và N54; nhóm 9 gồm 2 mẫu giống N2 và N12; nhóm 10 gồm 5 mẫu giống N19, N35, N51, N58 và N64; nhóm 11 gồm 4 mẫu giống N9, N38, N50 và N63.

3.3. Đánh giá đa dạng di truyền các mẫu giống lúa nếp thông qua chỉ thị phân tử

Kết quả thu được dựa trên sự phân tích 42 mẫu giống lúa nếp sử dụng chỉ SSR cho đa hình được trình bày ở bảng 6: Trong 38 chỉ thị sử dụng trong thí nghiệm có 3 chỉ thị RM10229, RM124, RM171 không xuất hiện băng ADN. 35 chỉ thị thể hiện trạng thái đa hình. Số liệu bảng 6 cho thấy, số lượng allen khác nhau giữa các locus. Trong tổng số 38 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu, có 35 (92,1%) chỉ thị cho đa

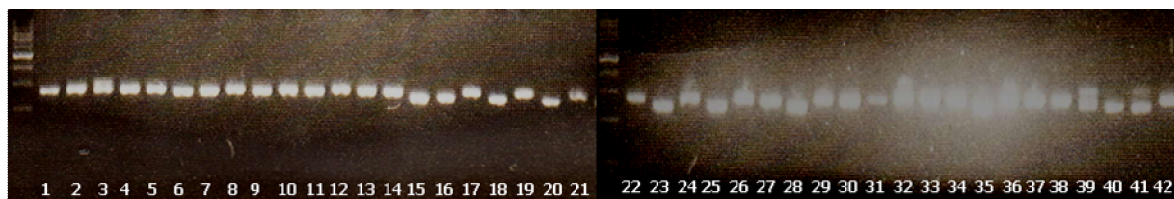
hình với tổng cộng 106 allen. Số lượng allen dao động từ 2 đến 8 allen, cặp mỗi RM316 cho 8 allen, có 2 cặp mỗi cho 5 allen (RM161, RM17949), 6 cặp mỗi cho 4 allen (RM14450, RM44, RM23535, RM334, RM510, RM11) và 12 cặp mỗi cho 3 allen (RM71, RM278, RM17718, RM15890, RM16177, RM21831, RM22054, RM22197, RM152, RM284, RM433, RM162), các mỗi còn lại cho 2 allen, giá trị trung bình là 3,03 allen/locus. Hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của 35 chỉ thị SSR dao động từ 0,08 đến 0,84, trung bình đạt 0,50. Các chỉ thị có hệ số PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của chỉ thị đó (DeWoody *et al.*, 1995). Kết quả thí nghiệm này thấp hơn so với một số nghiên cứu trước đây về lúa chất lượng như Lapitan *et al.* (2007), đánh giá mức độ đa dạng nguồn gen của các giống lúa chất lượng ở Philippin với hệ số PIC trung bình là 0,68; (Ravi *et al.*, 2003), Upadhyay *et al.* (2011) với hệ số PIC là: 0,75. Trong thí nghiệm này, hệ số PIC đạt cao hơn nghiên cứu đa dạng di truyền về các mẫu giống lúa cẩm (0,46) của Ngô Thị Hồng tươi (2014).



Hình 1. Phân nhóm di truyền 42 mẫu giống lúa nếp dựa trên 14 tính trạng kiểu hình

Bảng 6. Số alen và hệ số PIC của 38 cặp mỗi SSR

Chỉ thị SSR	NST	Hệ số đa dạng		
		Tổng alen	Số alen đa hình	PIC
RM10605	1	2	2	0,41
RM10305	1	2	2	0,41
RM10229	1	0	0	-
RM71	2	3	3	0,56
RM277	12	2	2	0,50
RM114	3	2	2	0,48
RM278	9	3	3	0,60
RM14637	3	2	2	0,44
RM17718	5	3	3	0,64
RM28507	12	2	2	0,19
RM13739	2	2	2	0,44
RM154	2	2	2	0,26
RM15890	3	3	3	0,30
RM15394	3	2	2	0,50
RM13936	2	2	2	0,50
RM12917	2	2	2	0,26
RM14450	3	4	4	0,68
RM16177	3	3	3	0,23
RM124	4	0	0	-
RM17949	5	5	5	0,73
RM21831	7	3	3	0,43
RM22054	7	3	3	0,62
RM22197	8	3	3	0,55
RM152	8	3	3	0,60
RM25	1	2	2	0,61
RM44	8	4	4	0,61
RM284	1	3	3	0,57
RM433	8	3	3	0,66
RM23535	8	4	4	0,62
RM316	9	8	8	0,84
RM105	9	2	2	0,08
RM171	10	0	0	-
RM161	5	5	5	0,78
RM334	5	4	4	0,58
RM133	6	2	2	0,04
RM510	6	4	4	0,67
RM162	6	3	3	0,50
RM11	7	4	4	0,48



Hình 4. Sản phẩm PCR của các mẫu giống lúa nghiên cứu với cặp mồi RM510

Ghi chú: ở hình 3 và 4: 1-N1; 2-N2;3-N3;4-N4;5-N6;6-N7;7-N9;8-N10;9-N11; 10-N12;11-N13;12-N14; 13-N16;14-N18;15-N19;16-N20;17-N29;18-N35;19-N36;20-N38;21-N39;22-N41;23-N43;24-N44;25-N45;26-N48; 27-N49;28-N50;29-N51; 30-N52;31-N53;32-N54;33-N56; 34-N57;35-N58;36-N59;37-N60;38-N61;39-N63; 40-N64;41-N65;42-N66

4. KẾT LUẬN

Các mẫu giống lúa nếp địa phương có thời gian sinh trưởng tương đối đa dạng, phần lớn là các giống trung ngày (chiếm 50%), chiều cao cây từ trung bình đến cao, khối lượng 1.000 hạt từ trung bình đến cao. Dựa trên các tính trạng kiểu hình cho thấy 42 mẫu giống lúa nếp phân thành 11 nhóm khác nhau cách biệt về di truyền. Như vậy, các mẫu giống lúa nếp rất đa dạng, có thể sử dụng trong tuyển chọn và chọn tạo các giống lúa nếp năng suất cao, chất lượng tốt.

Trong số 38 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền của 42 mẫu giống lúa nếp thì có 33 chỉ thị cho các băng ADN đa hình tại 33 locus, thu được 106 allele khác nhau, số allele dao động từ 2 đến 8 allele/locus, số allele trung bình đạt 3,03 allele/locus. Hệ số PIC của 33 cặp mồi nằm trong khoảng 0,08 đến 0,84. Hệ số PIC trung bình là 0,5. Hệ số tương đồng di truyền của 42 mẫu giống lúa nghiên cứu dao động từ 0,63 đến 0,97. Số liệu thu được trong nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng cho việc nghiên cứu chọn tạo các giống lúa nếp bằng phương pháp truyền thống và phương pháp phân tử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Huy Đáp (1980). Các giống lúa ở Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 563 trang.
- DeWoody J A, Honeycutt R L, Skow LC (1995). Microsatellite markers in white-tailed deer. J. Hered., 86: 317-319.
- Doyle, J J. and J L. Doyle (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull., 19: 11-15.
- Đoàn Thị Thùy Linh, Nguyễn Văn Khoa (2013). Đa dạng di truyền một số mẫu giống lúa địa phương vùng Tây Bắc dựa trên đặc điểm hình thái. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ V, tr. 1132-1139.
- IPGRI (2001). Design and analysis of evaluation trails of genetic resources collections, IPGRI Via dei Tre Denari 472/a 00057 Maccarese, Rome Italy, ISN 92-9043-505-4.
- IRRI (2002). Standard Evaluation System for Rice, Manila, Philippines.
- Lapitan C. V., Darshan S. B., Toshinori A. and Redona D.E. (2007). Assessment of genetic diversity of Philippine rice cultivars carrying good quality traits using SSR markers. Breed. Sci., 57: 263-270.
- Lã Tuấn Nghĩa, Trần Danh Sứ, Lê Khả Tường, Lưu Quang Huy, Vũ Linh Chi, Vũ Văn Tùng, Hoàng Thị Huệ (2011). Tài nguyên thực vật Việt Nam: Thành tựu và Kế hoạch bảo tồn vì Mục tiêu phát triển nông nghiệp bền vững và An ninh lương thực. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam.
- Ma H., Yin Y., Guo Z. F., Cheng L. J., Zhang L., Zhong M. and Shao G. J. (2011). Establishment of DNA finger printing of Liaojing series of japonica rice. MEJSR., 8(2): 384-392.
- Ngô Thị Hồng Tươi, Phạm Văn Cường và Nguyễn Văn Hoan (2014). Phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống lúa cẩm bằng chỉ thị SSR. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 12(4): 485-494.
- Ravi M., Geethanjali S., Sameeyafarheen F. and Maheswaran M. (2003). Molecular Marker based on? Genetic Diversity Analysis in Rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers. Euphytica, 133: 243-252.
- Powel W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S. and Rafalski A. (1996). Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. Mol. Breed., 2(3): 225-238.
- Song Z. P., Xu X., Wang B., Chen J. K. and Lu B. R., (2003). Genetic diversity in the northernmost *Oryza*

- rufipogon* populations estimated by SSR markers. Theor. Appl. Genet., 107: 1492-1499.
- Teixeira da Silva J. A., (2005). Molecular markers for phylogeny, breeding and ecology in agriculture. In: Thangadurai D., Pullaiah T., Tripathy L. (Eds) Genetic Resources and Biotechnology (Vol. III), Regency Publications, New Delhi, India, p. 221-256.
- Upadhyay P., Singh V. K., Neeraja C. N. (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.
- Virk P. S., Newbury J. H., Bryan G. J., Jackson M. T., Ford-Lloyd B. V. (2000). Are mapped or anonymous markers more useful for assessing genetic diversity Theor. Appl. Genet., 100: 607-613.
- Weir B.S.(1996). Genetic data analysis II, 2nded. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, p. 377