

Tích hợp gen/QTL trong cải tiến giống lúa ứng phó biến đổi khí hậu bằng phương pháp chọn giống nhờ chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại

Lê Hùng Linh^{1*}, Chu Đức Hà¹, Đào Văn Khởi², Phạm Thị Lý Thu¹

¹Viện Di truyền nông nghiệp

²Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia

Ngày nhận bài 19/10/2016, ngày chuyển phản biện 21/10/2016, ngày nhận phản biện 22/11/2016, ngày chấp nhận đăng 28/11/2016

Tóm tắt:

Việt Nam là một trong những nước ở châu Á chịu thiệt hại nặng nề nhất bởi ảnh hưởng của tình trạng ngập úng. Ngập úng gây ra bởi bão và lũ lụt là một trong những nguyên nhân chính gây sụt giảm năng suất lúa gạo. Cải thiện tính chịu ngập ở lúa được coi là rất quan trọng, nhằm giảm thiểu rủi ro do tình trạng ngập úng gây ra. Sử dụng phương pháp chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại (MABC - Marker-assisted backcrossing) đã mang lại thành công khi chuyển gen *Sub1* từ PSB-Rc68 vào giống Khang Dân 18 (KD18). Trong nghiên cứu này, các tác giả trình bày kết quả khảo nghiệm giống SHPT2 (Khang Dân 18-*Sub1*) để đánh giá tính trạng nông học, yếu tố cấu thành năng suất tại một số tỉnh. Giống tích hợp gen có một số đặc tính nổi bật như thời gian sinh trưởng đạt khoảng 125-135 ngày trong điều kiện vụ mùa, sinh trưởng phát triển tốt, dạng hình đẹp, dễ nhánh tập trung, trổ nhanh, thoát cổ bông, độ thuần đồng ruộng cao và mức độ nhiễm sâu bệnh nhẹ. Trong điều kiện khảo nghiệm sản xuất, năng suất thực thu của giống SHPT2 đạt bình quân khoảng 60-65 tạ/ha. Kết quả cho thấy giống SHPT2 có tiềm năng trở thành giống mới, có tính chịu ngập và thay thế giống KD18 tại một số địa phương bị ảnh hưởng bởi ngập úng.

Từ khóa: Chỉ thị phân tử kết hợp lai trở lại, chịu ngập, Khang Dân 18, lúa.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Hơn 90% lúa gạo (*Oryza sativa* L.) trên thế giới được trồng và tiêu thụ ở châu Á. Tại Việt Nam, cây lúa là nguồn cung cấp lương thực chủ yếu, đồng thời cũng là nguồn thu ngoại tệ lớn của nền nông nghiệp. Lúa gạo đóng vai trò vô cùng quan trọng đối với an ninh lương thực quốc gia.

Ngành sản xuất lúa gạo Việt Nam hiện nay đang gặp nhiều thách thức, chủ yếu do tác động tiêu cực của tình trạng biến đổi khí hậu. Một trong những nguyên nhân chính gây sụt giảm nghiêm trọng năng suất và sản lượng lúa gạo là hiện tượng mực nước biển dâng gây ngập lụt và nhiễm mặn đã và đang diễn ra trên diện rộng [1]. Do vậy, cải tiến các giống lúa đang được gieo trồng đại trà bằng cách quy tụ các gen/QTL tăng cường tính chống chịu điều kiện ngoại cảnh bất thuận là một trong những ưu tiên hàng đầu của ngành nông nghiệp. Đây cũng là mục tiêu mà ngành sản xuất lúa gạo đang hướng tới để xây dựng thương hiệu gạo quốc gia. Trong bối cảnh đó, việc cải thiện một giống lúa bằng phương pháp lai trở lại truyền thống thường tiêu tốn nhiều thời gian, tiền của và công sức. Bài toán này cũng được các nhà khoa học

ở nhiều nước quan tâm và tìm cách giải quyết để đưa ra sản xuất những giống cây trồng có khả năng ứng phó với biến đổi khí hậu.

Trên thế giới, một số nhóm tác giả đã quy tụ thành công gen/QTL trên đối tượng lúa bằng nhiều cách tiếp cận khác nhau [2-4]. Trong đó, phương pháp MABC tỏ ra vượt trội với nhiều ưu điểm hơn cả [5]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả của việc tích hợp gen/QTL vào giống lúa trồng đại trà tại Việt Nam bằng phương pháp MABC. Kết quả này sẽ góp phần củng cố các giống lúa hiện có, mang lại hiệu quả kinh tế ổn định cho những vùng chịu ảnh hưởng của biến đổi khí hậu.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa PSB-Rc68 mang gen/QTL *Sub1* có khả năng chịu ngập chìm 15-21 ngày dưới nước được nhập nội từ Viện Nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI).

Giống lúa IR42 là giống chuẩn mẫn cảm ngập được nhập nội từ IRRI (Philippines).

Giống lúa nhận gen là KD18 được nhập nội từ Trung

*Tác giả liên hệ: Tel: 0984999869; Email: lhlinh@vaas.vn

Introgression of gene/QTL into elite rice cultivar for adaption to the climate change through marker-assisted backcrossing

Hung Linh Le^{1*}, Duc Ha Chu¹, Van Khoi Dao², Thi Ly Thu Pham¹

Agricultural Genetics Institute (AGI)
National Center for Testing Seed Crop Products

Received 19 October 2016; accepted 28 November 2016

Abstract:

Vietnam is one of the most vulnerable countries affected by submergence stress in Asia. Submergence caused by typhoons and floods is one of the major reasons for rice production losses in the country. Improving rice tolerance with submergence is vital to minimize the risks from submergence stress. Using the marker-assisted backcrossing (MABC) method has successfully transferred positive alleles of *Sub1* from PSB-Rc68 into Khang Dan 18. In this study, the authors reported the result of testing the Khang dan 18-*Sub1* variety for agronomic and yield component traits at several provinces. The introgressed variety had some typical characteristics, including 125-135 days of growth duration (in the summer season) with good type plants, focus tillering, quick flowering, good exertion, high tameness, and slight infestation level to diseases. In the field conditions, this cultivar had high yields (6.0-6.5 tons/ha). Finally, the research results clearly indicated that the Khang dan 18-*Sub1* variety could become a new rice variety with submergence tolerance, and replace the original Khang Dan 18 variety.

Keywords: Khang Dan 18, marker-assisted backcrossing, submergence tolerance, rice.

Classification number: 4.6

Quốc. Đây là giống lúa được trồng phổ biến ở các tỉnh phía Bắc, có năng suất trung bình 50-55 tạ/ha.

Phương pháp nghiên cứu

Một số phương pháp sinh học phân tử chính được sử dụng trong nghiên cứu:

- Phương pháp tách chiết và tinh sạch ADN tổng số [6].
- Phương pháp PCR-SSR sử dụng các chỉ thị liên kết chặt với QTL *Sub1* (bảng 1) và kỹ thuật điện di sản phẩm PCR [7]

Các phương pháp đánh giá trên đồng ruộng:

- Khảo nghiệm được tiến hành theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng

Bảng 1. Các chỉ thị phân tử SSR liên kết chặt với QTL *Sub1* ở lúa.

Tên mồi	Nhiễm sắc thể	Vị trí (Mb)	Trình tự mồi	Kích thước
ART5	9	6,30	5'-GCTAGTGCAGGGTTGACACA-3' 3'-CTCTGGCCGTTTCATGGTAT-5'	159
SC3	9	6,60	5'-GCTAGTGCAGGGTTGACACA-3' 3'-CTCTGGCCGTTTCATGGTAT-5'	165

của giống lúa (QCVN 01-55:2011/BNNPTNT) và Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lúa (QCVN 01-65:2011/BNNPTNT).

- Khảo nghiệm cơ bản thực hiện theo QCVN 01-55:2011/BNNPTNT.

- Khảo nghiệm DUS tiến hành theo QCVN 01-65:2011/BNNPTNT.

- Khảo nghiệm sản xuất áp dụng theo quy trình tiên tiến nhất của địa phương khảo nghiệm, giống đối chứng là giống được gieo trồng phổ biến tại địa phương.

- Phương pháp đánh giá tính chịu ngập trong điều kiện nhân tạo được thực hiện theo Xu và cs [8].

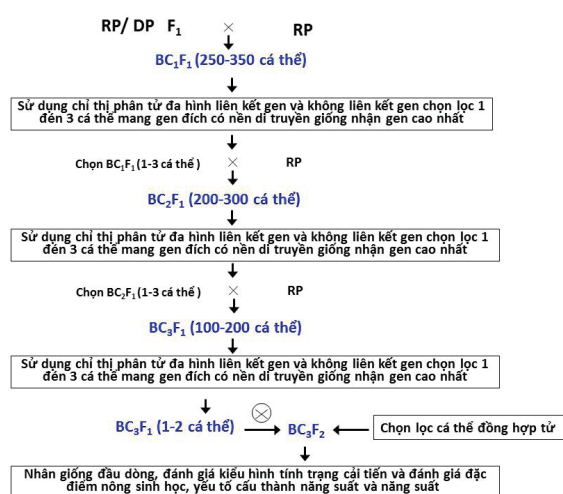
Phương pháp xử lý số liệu trên đồng ruộng được phân tích bằng IRRISTAT 4.0 và Microsoft Excel 2010.

Kết quả và thảo luận

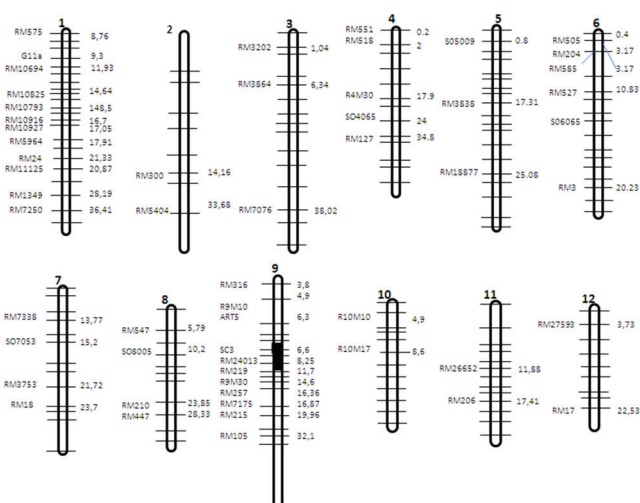
Kết quả đánh giá tích hợp gen/QTL *Sub1* vào KD18 thông qua phương pháp MABC

Quy trình tích hợp gen/QTL *Sub1* từ giống PSB-Rc68 sang giống nhận gen KD18 được thực hiện qua 3 bước cơ bản: (i) Sàng lọc chỉ thị phân tử liên kết với gen/QTL *Sub1* cho kết quả đa hình giữa PSB-Rc68 và KD18; (ii) Tìm kiếm chỉ thị phân tử rải rác trên toàn bộ 12 nhiễm sắc thể cho kết quả đa hình giữa PSB-Rc68 và KD18; (iii) Sử dụng phương pháp MABC để chọn lọc cá thể mang gen/QTL *Sub1* có nền di truyền giống KD18. Toàn bộ các bước tích hợp gen/QTL và chọn lọc cá thể con lai bằng phương pháp MABC được mô tả cụ thể ở hình 1.

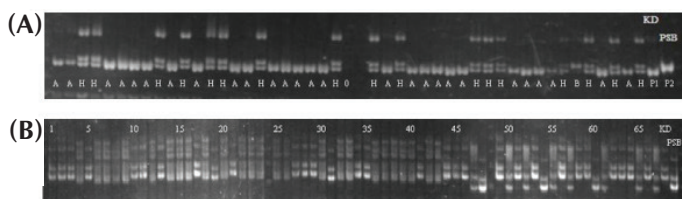
Nguyên tắc xác định các chỉ thị phân tử SSR cho kết quả đa hình di truyền giữa giống cho/nhận gen mà liên kết với gen/QTL mục tiêu được lựa chọn để sàng lọc cá thể con lai mang gen/QTL mục tiêu, trong khi các chỉ thị đa hình còn lại không liên kết với gen/QTL mục tiêu sẽ được sử dụng để chọn lọc nền di truyền của các con lai trong quần thể lai trở lại [5]. Trong nghiên cứu này,



Hình 1. Các bước tích hợp gen/QTL nhằm cải tiến giống lúa bằng phương pháp MABC (RP: Giống nhận gen, DP: Giống cho gen).



Hình 2. Vị trí phân bố trên 12 nhiễm sắc thể của các chỉ thị phân tử SSR cho kết quả đa hình di truyền giữa hai giống lúa PSB-Rc68 và KD18.



Hình 3. Xác định cá thể mang gen Sub1 trong quần thể lai BC₂F₁ bằng chỉ thị phân tử SC3 (A) và ART5 (B).

chúng tôi đã sàng lọc được 11 chỉ thị phân tử SSR cho kết quả đa hình giữa PSB-Rc68 và KD18 tại vị trí locus gen mục tiêu. Đáng chú ý, chỉ thị ART5, định vị trên nhiễm sắc thể số 9 ở vị trí ~6,3 MB và chỉ thị SC3, ở vị trí ~6,6

MB được xác định là liên kết chặt và nằm ở hai phía của gen/QTL *Sub1* (hình 2). Kết quả này cũng được mô tả trong nghiên cứu của Xu và cs [8] khi mô tả vùng gen/QTL *Sub1* giữa giống lúa indica IR40931-26 chịu ngập và giống japonica Nipponbare miễn cảm ngập. Như vậy, ART5 và SC3 được chọn để tìm kiếm cá thể mang gen/QTL *Sub1* trong quần thể lai trở lại.

Tiếp theo, chúng tôi đã tiến hành sàng lọc các chỉ thị phân tử trên 12 nhiễm sắc thể để tìm kiếm các chỉ thị có đa hình di truyền giữa PSB-Rc68 và KD18. Kết quả phân tích 458 chỉ thị SSR cho thấy, 56 chỉ thị (chiếm tỷ lệ 12,66%) cho kết quả đa hình giữa 2 giống lúa nghiên cứu. Bộ 56 chỉ thị phân bố rải rác toàn bộ các nhiễm sắc thể này sẽ được lựa chọn để đánh giá nền di truyền của các cá thể con lai trong quần thể lai trở lại (hình 2).

Như vậy, với 2 chỉ thị ART5 và SC3 liên kết chặt với gen/QTL *Sub1* (bảng 1) và bộ 56 chỉ thị phân tử khác, chúng tôi tiến hành sàng lọc và đánh giá các cá thể con lai của quần thể lai từ thế hệ BC₁, BC₂ và BC₃. Kết quả lai trở lại ở thế hệ BC₁F₁ giữa tổ hợp lai PSB-Rc68 (giống cho gen *Sub1*) và KD18 (giống nhận gen) đã sàng lọc được 46 cá thể mang locus gen *Sub1* bằng chỉ thị ART5 và SC3 (hình 3). Trong đó, chúng tôi đã xác định được cá thể số 14 có nền di truyền của giống lúa KD18 là 80% thông qua khảo sát 56 chỉ thị phân tử có đa hình di truyền rải rác trên bộ nhiễm sắc thể. Cá thể số 14 được tiếp tục lai trở lại để tạo quần thể BC₂F₁. Tương tự các bước đánh giá chỉ thị liên kết như ở thế hệ BC₁, chúng tôi đã xác định được 2 cá thể con lai số 59 và 60 có nền di truyền của giống KD18 là ~92% trên tổng số 67 cá thể con lai mang gen/QTL *Sub1*. Phát triển quần thể BC₃F₁ từ các cá thể này, đã sàng lọc được cá thể số 42 mang gen/QTL *Sub1* và có nền di truyền ~100% của KD18. Việc xác định ra cá thể số 42 trong quần thể BC₃F₁ cho phép tiến hành phát triển quần thể lai BC₃F₂ để đánh giá các dòng đồng hợp tử mang gen/QTL *Sub1*. Từ đó, các cá thể này, với gen *Sub1* ở trạng thái đồng hợp tử và có nền di truyền ~100% của KD18, tiếp tục được phát triển thành các đầu dòng để đánh giá khả năng chống chịu cũng như các đặc điểm nông sinh học khác.

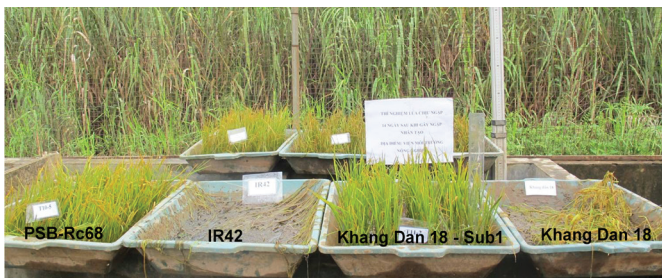
Có thể thấy rằng, phương pháp MABC với sự hỗ trợ của chỉ thị phân tử SSR đã cho phép rút ngắn thời gian lai tạo từ 2-4 thế hệ lai trở lại so với chọn lọc truyền thống, tăng độ chính xác trong việc phát hiện các cá thể con lai được quy tụ gen/QTL mục tiêu nhờ vào các chỉ thị đa

hình liên kết chặt ở hai đầu của gen/QTL. Thông qua 3 thế hệ lai trở lại có thể xác định được cá thể con lai có nền di truyền ~100% của giống nhận gen ở thế hệ BC_3F_1 , từ đó có thể phát triển thành quần thể BC_3F_2 để chọn lọc cá thể mang gen đích ở trạng thái đồng hợp tử. Việc sử dụng chỉ thị phân tử còn hỗ trợ nhà chọn giống trong việc chọn lọc trực tiếp các locus gen quy định tính trạng rất khó chọn lọc dựa trên kiểu hình, hoặc các tính trạng do gen lặn quy định. Hơn nữa, với việc sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết chặt ở 2 đầu của gen/QTL mục tiêu, trong trường hợp này là ART5 và SC3 với gen/QTL *Sub1*, cho phép chọn lọc tái tổ hợp, nghĩa là giảm thiểu các gen không mong muốn kéo theo.

Tóm lại, sử dụng phương pháp MABC, chúng tôi đã cải tiến được giống KD18 bằng cách quy tụ gen/QTL *Sub1*. Để phân tích mức độ biểu hiện của *Sub1*, chúng tôi đã tiến hành đánh giá khả năng chịu ngập của giống lúa KD18 mang gen/QTL *Sub1* trong điều kiện nhân tạo và trên đồng ruộng.

Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập của giống lúa cải tiến KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1*

Đánh giá khả năng chịu ngập của giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* được tiến hành trong điều kiện nhân tạo theo phương pháp chuẩn đã công bố trước đây [8]. Giống có độ thuần ổn định được lựa chọn để thử nghiệm, với 3 lần lặp lại, các yếu tố thí nghiệm được kiểm soát đồng đều. Kết quả thử nghiệm sau 17 ngày ngập hoàn toàn dưới nước cho thấy, mạ 15 ngày tuổi của giống cải tiến KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* có khả năng chịu ngập khá, với tỷ lệ sống đạt 89%, đạt thang điểm 3 theo tiêu chuẩn đánh giá của IRRI, tương đương với giống cho gen PSB-Rc68 (có tỷ lệ sống ~93,5%). Trong khi đó, đối chứng IR42 (chuẩn mẫu cảm ngập) chết hoàn toàn và giống nhận gen KD18 (không mang gen/QTL *Sub1*) cho kết quả chịu ngập kém (tỷ lệ sống ~15%) (hình 4).



Hình 4. Kết quả đánh giá khả năng chịu ngập trong điều kiện nhân tạo sau 17 ngày ngập hoàn toàn của mạ 15 ngày tuổi của các giống lúa nghiên cứu.

Kết quả đánh giá khảo nghiệm của giống lúa cải tiến KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1*

Giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* được tiến hành 3 bước khảo nghiệm cơ bản, bao gồm khảo nghiệm tác giả, khảo nghiệm VCU và DUS để đánh giá đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu và năng suất của giống.

Thông qua khảo nghiệm cơ bản trong hệ thống khảo nghiệm quốc gia tại 8 tỉnh đại diện cho các vùng sinh thái phía Bắc, chúng tôi đã thu được các đặc điểm nông sinh học của giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1*. Kết quả cho thấy, trong điều kiện vụ xuân, hầu hết các chỉ tiêu sinh trưởng của giống, bao gồm sức sống mạ, độ dài giai đoạn trổ, độ thoát cỏ bông, độ cứng cây, độ tàn lá, độ rụng hạt và chiều cao cây, tương đương với giống đối chứng KD18 (bảng 2). Các chỉ tiêu theo dõi được đánh giá bằng thang điểm 1-5-9, thực hiện theo QCVN 01-55:2011/BNNPTNT. Giống cải tiến có thời gian sinh trưởng trong vụ xuân khoảng 134 ngày, thuộc nhóm cảm ôn - ngắn ngày, tương đương so với KD18. Có thể thấy rằng, các đặc điểm nông sinh học của giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* không sai khác so với KD18 trong hệ thống khảo nghiệm quốc gia (bảng 2). Bên cạnh đó, chúng tôi đã khảo sát mức độ nhiễm sâu bệnh trên đồng ruộng (có sử dụng thuốc bảo vệ thực vật) để đánh giá khả năng chống chịu yếu tố hữu sinh của giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1*. Đánh giá ở vụ xuân 2014 cho thấy, giống đạt mức nhiễm nhẹ hơn hoặc tương đương so với giống KD18 ban đầu (bảng 2). Khi đánh giá năng suất thực thu tại 8 vùng sinh thái đặc trưng cho khu vực phía Bắc, giống cải tiến có năng suất bình quân đạt 56,01 tạ/ha, xấp xỉ với KD18, đạt 54,89 tạ/ha (bảng 2). Đồng thời, tại từng địa điểm khảo nghiệm, không ghi nhận thấy sự chênh lệch quá lớn về năng suất thực thu giữa giống cải tiến và đối chứng KD18. Điều này cho thấy sự ổn định về năng suất giữa giống KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* thể hiện ở các vùng sinh thái khác nhau.

Mặt khác, giống tích hợp gen được đánh giá trong khảo nghiệm DUS để đánh giá tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống. Kết quả phân tích 65 chỉ tiêu (theo QCVN 01-65:2011/BNNPTNT) đã cho thấy, giống lúa tích hợp không khác biệt với giống tương tự KD18. Tính đồng nhất được xác định thông qua số cây khác dạng đạt 1/1.000 cây, không vượt quá giới hạn cho phép (3/1.000 cây) nên có thể khẳng định giống cải tiến KD18 *Sub1* có tính đồng nhất và ổn định.

Bảng 2. Đánh giá khảo nghiệm cơ bản giống lúa cải tiến trong vụ xuân 2014 (Theo Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia).

	Giống lúa tích hợp gen	Giống lúa KD18
Một số đặc điểm sinh trưởng chính:		
- Sức sống mạ (điểm)	5	5
- Độ dài giai đoạn trổ (điểm)	5	5
- Độ thoát cỏ bông (điểm)	1	1
- Độ cứng cây (điểm)	1	1
- Độ tàn lá (điểm)	5	5
- Độ rụng hạt (điểm)	5	5
- Chiều cao cây (cm)	104,7	104,5
- Thời gian sinh trưởng (ngày)	134	132
Mức độ nhiễm một số sâu bệnh hại chính trên lúa:		
- Bệnh đạo ôn hại lá (điểm)	1-2	0-1
- Bệnh đạo ôn cổ bông (điểm)	0-1	0-1
- Bệnh bạc lá (điểm)	0-1	1-3
- Bệnh khô vằn (điểm)	3-5	1-3
- Bệnh đốm nâu (điểm)	0-1	0-1
- Sâu đục thân (điểm)	0-1	0-1
- Sâu cuốn lá (điểm)	1-3	3-5
- Rầy nâu (điểm)	0-1	0-1
Yếu tố cấu thành năng suất:		
- Số bông/khóm	4,3	4,3
- Số hạt/bông	195	178
- Tỷ lệ lép (%)	10,8	9,0
- Khối lượng 1.000 hạt (g)	19,7	20,1
Năng suất thực thu (tạ/ha):		
- Hưng Yên	54,12	59,31
- Hải Dương	50,96	56,29
- Thái Bình	59,04	51,78
- Vĩnh Phúc	65,00	63,00
- Yên Bái	53,10	49,10
- Thanh Hóa	51,70	56,77
- Nghệ An	61,03	55,70
- Hà Tĩnh	53,10	47,13

Theo tiến độ khảo nghiệm, chúng tôi đã tiến hành khảo nghiệm sản xuất giống lúa KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* để đưa ra thăm dò giá trị canh tác và giá trị sử dụng của giống trong điều kiện sản xuất đại trà tại một số tỉnh khu vực phía Bắc. Kết quả cho thấy, đặc điểm sinh trưởng, phát triển của giống cải tiến ổn định, thời gian sinh trưởng khoảng 125-135 ngày (trong điều kiện vụ mùa) (bảng 3). Như vậy, có thể gieo cấy giống cải tiến vào trà mùa sớm hoặc mùa chính vụ trong cơ cấu cây

Bảng 3. Đánh giá khảo nghiệm sản xuất của giống lúa tích hợp gen trong vụ mùa năm 2015 (Theo Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia).

Chỉ tiêu	Địa điểm khảo nghiệm			
	Huế	Thanh Hóa	Yên Bái	Thái Nguyên
Một số đặc điểm sinh trưởng chính:				
- Độ dài giai đoạn trổ (điểm)	5	5	5	5
- Độ cứng cây (điểm)	1	1	1	1
- Độ tàn lá (điểm)	5	5	5	5
- Chiều cao cây (cm)	105-110	106	113	113
- Thời gian sinh trưởng (ngày)	125	125	134	124
Mức độ nhiễm một số sâu bệnh hại chính trên lúa:				
- Bệnh đạo ôn (điểm)	1	1	0-1	0-1
- Bệnh bạc lá (điểm)	0	0-1	0-1	0-1
- Bệnh khô vằn (điểm)	1	0-1	0-1	1-3
- Sâu đục thân (điểm)	1	0-1	1	1
- Sâu cuốn lá (điểm)	1	0-1	1	1
- Rầy nâu (điểm)	1	0-1	1	1
Yếu tố cấu thành năng suất:				
- Số bông/khóm	5,6	5,8	5,0	5,6
- Số hạt/bông	160	160	178	170
- Tỷ lệ lép (%)	16,9	16,9	12,9	14,7
- Khối lượng 1.000 hạt (g)	20,0	20,0	20,9	20,2
- Năng suất thực thu (tạ/ha)	60,6	61,8	64,1	65,3

trồng 2 vụ lúa - 1 vụ màu ở phía Bắc. Về năng suất thực thu tại các điểm khảo nghiệm, giống tích hợp gen có năng suất khá cao, trung bình đạt khoảng 60-65 tạ/ha (bảng 3). Đây được coi là mức năng suất cao, tương đương với một số giống lúa lai có triển vọng tại địa phương. Nhìn chung, với tình hình sâu bệnh hại hiện nay, giống cải tiến bị hại nhẹ với bệnh khô vằn và sâu cuốn lá. Vì vậy chúng tôi khuyến cáo cần chú ý ở giai đoạn đẻ nhánh rõ với sâu cuốn lá và giai đoạn lúa đứng cái - làm đòng với bệnh khô vằn. Trong thời gian tiếp theo, giống lúa tích hợp gen sẽ tiếp tục được đánh giá và công nhận giống chính thức, từ đó có thể đề xuất đưa vào triển khai sản xuất tại một số khu vực ở phía Bắc.

Kết luận

Tích hợp gen/QTL *Sub1* từ giống PSB-Rc68 vào giống nhận gen KD18 sử dụng phương pháp MABC đã giảm bớt được thời gian cải tiến giống mới và tăng độ chính xác trong chọn lọc cá thể mang gen *Sub1*. Thử nghiệm trong điều kiện ngập ở giai đoạn mạ cho thấy giống cải tiến được tích hợp gen/QTL *Sub1* có khả năng chịu ngập tốt hơn hẳn giống KD18 ban đầu.

Kết quả khảo nghiệm trên đồng ruộng cho thấy giống lúa cải tiến KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* thuộc nhóm cảm ôn, ngắn ngày, thời gian sinh trưởng đạt khoảng 125-135 ngày trong điều kiện vụ mùa. Giống sinh trưởng phát triển tốt, dạng hình đẹp, đẻ nhánh tập trung, trổ nhanh, thoát cỏ bông, độ thuần đồng ruộng cao, và mức độ nhiễm sâu bệnh nhẹ. Trong điều kiện khảo nghiệm sản xuất, năng suất thực thu của giống tích hợp gen đạt bình quân khoảng 60-65 tạ/ha, các đặc điểm nông sinh học tương đương so với KD18.

Đề nghị triển khai giống cải tiến KD18 tích hợp gen/QTL *Sub1* thay thế cho giống KD18 tại các tỉnh phía Bắc, đặc biệt là một số địa phương chịu ảnh hưởng bởi tình trạng ngập úng vào thời vụ mùa sớm hoặc mùa chính vụ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự tài trợ từ DANIDA (mã số dự án: 09-P01-VIE). Chúng tôi chân thành cảm ơn những đóng góp của các nhân viên, sinh viên thực tập tại Viện Di truyền nông nghiệp và sự hỗ trợ về kỹ thuật từ Viện Nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Nishiuchi, et al. (2012), "Mechanisms for coping with submergence and waterlogging in rice", *Rice*, **5**, p.2.
- [2] X.W. Chen, et al. (2004), "Marker-assisted selection and pyramiding for three blast resistance genes, Pi-d(t)1, Pi-b, Pi-ta2, in rice", *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, **20**, pp.708-714.
- [3] Q. Zhang (2007), "Strategies for developing Green Super Rice", *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, pp.16402-16409.
- [4] S.K. Pradhan, et al. (2015), "Pyramiding of three bacterial blight resistance genes for broad-spectrum resistance in deepwater rice variety, Jalmagna", *Rice (N Y)*, **8**, p.51.
- [5] M.M. Hasan, et al. (2015), "Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement", *Biotechnology, Biotechnological Equipment*, **29**, pp.237-254.
- [6] C. Mutou, K. Tanaka, R. Ishikawa (2014), "DNA Extraction from Rice Endosperm (Including a Protocol for Extraction of DNA from Ancient Seed Samples)", *In Cereal Genomics: Methods and Protocols*, pp.7-15.
- [7] P.Y. Lee, J. Costumbrado, C.-Y. Hsu, Y.H. Kim (2012), *Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments*. e3923.
- [8] K. Xu, X. Xu, P.C. Ronald, D.J. Mackill (2000), "A high-resolution linkage map of the vicinity of the rice submergence tolerance locus *Sub1*", *Mol Gen Genet*, **263**, pp.681-689.