

# NGHIÊN CỨU, ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁC GIỐNG LÚA NẾP THU THẬP Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Kim Khánh<sup>1</sup>, Nguyễn Khiết Tâm<sup>2</sup>, Trương Trọng Ngôn<sup>3</sup>

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích khảo sát đặc điểm nông học và di truyền của 14 giống lúa nếp được chọn từ các vùng trồng nếp ở đồng bằng sông Cửu Long để tìm những giống có khả năng thích nghi với vùng chuyên canh lúa nếp nhằm đa dạng nguồn giống trong sản xuất, làm vật liệu để lai tạo những giống lúa nếp mới. Đặc điểm nông học được khảo sát trong 02 vụ thu đông 2017 và đông xuân 2017-2018 tại huyện Phú Tân, tỉnh An Giang. 14 giống lúa nếp cũng được khảo sát bằng 9 chỉ thị phân tử SSR tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Kết quả phân tích đặc điểm nông học, năng suất đã tuyển chọn được giống nếp Đùm Lá Xanh là giống có năng suất cao và có nhiều ưu điểm hơn so với các giống khác trong thí nghiệm. Phân tích năng suất và tính ổn định của các giống cho thấy, 14 giống lúa nếp trong thí nghiệm phân thành bốn nhóm. Kết quả khảo sát bằng 9 chỉ thị phân tử SSR, đã khuếch đại tổng số 19 băng trong đó có 11 băng đa hình đạt tỉ lệ 57,9%. Chỉ số PIC dao động từ 0,00-0,90 với mức độ đa hình trung bình của quần thể trong nghiên cứu này là 0,65. Kết quả phân tích sơ đồ nhánh dựa vào phương pháp UPGMA đã chứng minh các mẫu lúa nếp có sự đa dạng về kiểu gen rất cao và có phần trăm tương đồng dao động từ 49,9-100% và được phân thành 2 nhóm lớn. Nghiên cứu này chỉ ra rằng có sự biến đổi về mặt di truyền đáng kể trong số các giống lúa nếp khảo sát mà hình thái học khó có thể phân biệt.

**Từ khóa:** Lúa nếp, SSR, PIC.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa nếp được xem là giống đặc sản trồng từ lâu đời và sử dụng với nhiều mục đích khác nhau trong văn hóa ẩm thực như làm bánh, làm xôi và chế biến các sản phẩm khác ở nhiều nước châu Á, đặc biệt ở Việt Nam và Lào. Các giống nếp đã được trồng phổ biến nhiều năm qua ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, trong đó, chỉ có hai giống nếp chủ lực mang chỉ dẫn địa lý là Nếp - AG (CK 92) và Nếp Long An (IR 4625) được trồng với diện tích lớn liên tục qua nhiều năm, các giống nếp khác đều do nông dân tự phát và chưa có qui hoạch phù hợp. Trong điều kiện sản xuất hiện nay, việc đa dạng nguồn giống để có những giống tốt, năng suất cao, thơm ngon phục vụ tiêu dùng nội địa và xuất khẩu ở nhiều thị trường khác nhau là vô cùng cần thiết. Do đó, nghiên cứu các biến dị di truyền của các giống lúa nếp phổ biến hiện nay để làm nền tảng cho quá trình chọn nguồn vật liệu lai tạo trong thời gian tới có ý nghĩa vô cùng quan trọng. Các biến dị di truyền có thể được đánh giá thông qua kiểu hình (sử dụng chỉ thị hình thái)

hoặc thông qua 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. Sử dụng chỉ thị phân tử trong đó có chỉ thị SSRs (Simple Sequence Repeats) 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 chỉ thị SSR là đánh giá nhanh chóng, chính xác, cho đa hình cao và ổn định (Powell *et al.*, 1996; Virk *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2003; Teixeira *et al.*, 2005; Ma *et al.*, 2011). 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. Vì vậy, việc nghiên cứu và đánh giá đặc tính của các giống nếp trong vùng đồng bằng sông Cửu Long, để tìm ra những giống tốt, có khả năng thích nghi với vùng chuyên canh lúa nếp nhằm đa dạng nguồn giống trong sản xuất, lai tạo ra những giống nếp mới với năng suất và chất lượng cao đáp ứng cho tiêu dùng và xuất khẩu là vô cùng cần thiết.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu

- Giống: 14 giống lúa nếp được thu thập tại các vùng trồng nếp phổ biến khu vực đồng bằng sông Cửu Long như An Giang, Long An, Đồng Tháp, Cần Thơ bao gồm: CK2003, nếp Thom, nếp Cẩm, nếp

<sup>1</sup> Viện NCNN Lộc Trời, Chi nhánh Trung tâm NCNN Định Thành, An Giang

<sup>2</sup> Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh An Giang

<sup>3</sup> Viện NC & PT CNSH, Trường Đại học Cần Thơ

Thái, nếp Thái-1, nếp Thái-2, nếp Thái Mỡ, nếp Thái-3, nếp Bến Tre, nếp Đùm Lá Xanh, OM10412, IR4625, CK92 và nếp Hương. - Chỉ thị phân tử: gồm 9 chỉ thị phân tử được thể hiện trong bảng 1.

**Bảng 1. Các chỉ thị phân tử dùng cho khảo sát bộ gen của lúa nếp**

| Môi    | Trình tự dấu phân tử (5'-3') | Kiểu lặp     | NST |
|--------|------------------------------|--------------|-----|
| RM307  | R: CCTTAACCTTGACACCGAATCCG   |              |     |
|        | F: GTACTACCGACCTACCGTTCAC    | (AT)14(GT)21 | 4   |
| RM212  | R: CTGCTATGCATGAACTGCTC      |              |     |
|        | F: CCACTTTCAGCTACTACCAG      | (CT)24       | 1   |
| RM256  | R: CACCCATTTGTCTCTCATTATG    |              |     |
|        | F: GACAGGGAGTGATTGAAGGC      | (CT)21       | 8   |
| RM3586 | R: GTTGATTTCCGCAAGGGC        |              |     |
|        | F: GAAGAGAGAGCCAGAGCCAG      | (GA)12       | 3   |
| RM201  | R: ACACGATCGAGCTAGAAGACG     |              |     |
|        | F: CTCGTTTATTACCTACAGTACC    | (CCT)6       | 9   |
| RM235  | R: CTACCTCCTTTCTAGACCGATA    |              |     |
|        | F: AGAAGCTAGGGCTAACGAAC      | (CT)24       | 12  |
| RM234  | R: TCACCTGGTCAGCCTCTTTC      |              |     |
|        | F: ACAGTATCCAAGGCCCTGG       | (CT)25       | 7   |
| RM231  | R: CACGTGAGACAAAGACGGAG      |              |     |
|        | F: CCAGATTATTTCTGAGGTC       | (CT)16       | 3   |
| RM21   | R: CACTTGCATAGTTCTGCATTG     |              |     |
|        | F: ACAGTATTCCGTAGGCACGG      | (GA)18       | 11  |
|        | R: GCTCCATGAGGGTGGTAGAG      |              |     |

(Nguồn: Gramene)

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

- Địa điểm: Phú Thọ - Phú Tân - An Giang, đất phù sa ven sông Hậu, điều kiện tưới tiêu thuận lợi. Vùng đất trồng nếp nhiều năm liền, giống nếp chủ lực được trồng tại đây: CK 92, CK 2003.

- Mùa vụ: + Thu đông 2017: 15/8/2017 - 10/12/2017.

+ Đông xuân 2017-2018: 29/12/2017 - 10/5/2018.

- Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD), 1 nhân tố, nghiệm thức là 14 giống lúa nếp và 3 lần lặp lại, CK 92 được sử dụng làm giống đối chứng. Mỗi nghiệm thức 15 m<sup>2</sup> (5 x 3 m) với khoảng cách cấy 15 x 15 cm, cấy 2 - 3 tép.

2.2.2. Phương pháp thu thập và phân tích các chỉ tiêu nông học, năng suất và thành phần năng suất

Sử dụng hệ thống tiêu chuẩn đánh giá cây lúa (Standard evaluation system for rice - SES) theo tiêu chuẩn của IRRI (2014) và Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa (QCVN 01 - 55: 2011/BNNPTNT) để đánh giá sự di truyền về kiểu hình của các giống lúa nếp trong nghiên cứu dựa trên một số đặc tính hình thái và nông học: thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, số bông/bụi, chiều dài bông, số hạt/bông, khối lượng 1.000 hạt, năng suất.

2.2.3. Phương pháp tách chiết ADN và phân tích dữ liệu phân tử

Phân tích mẫu ADN tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử - Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Cần Thơ. Ly trích ADN dựa theo qui trình của Rogers và Bendich (1994).

*Kỹ thuật PCR:*

Các mẫu được sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong bảng 1. Phản ứng PCR được thực hiện với điều kiện như sau: 1 chu kỳ 94°C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ ở 94°C - 30 s, 55°C - 30 s, 72°C - 30 s và kết thúc ở 1 chu kỳ 72°C - 5 phút. Mỗi phản ứng PCR được thực hiện ở thể tích cuối cùng là 15 µL bao gồm các thành phần 50 ng ADN, 0,25M mỗi, 0,25mM mỗi dNTP, 1X PCR buffer và 0,75U Taq ADN polymerase.

**2.3. Phương pháp phân tích thống kê**

- Phần mềm Microsof Excel 2010 và phần mềm CropStat 7.2 được dùng để xử lý số liệu thô, phân tích phương sai.

- Kết quả phân tích dựa trên sự xuất hiện (đánh số '1') và không xuất hiện (đánh số '0') của các băng ADN. Hàm lượng thông tin đa hình (PIC-Polymorphic Information Content) được tính toán theo phương pháp của Saal và Wricke (1999).

$$PIC_i = 1 - \sum p_{ij}^2$$

Trong đó, P<sub>ij</sub> là tần số xuất hiện của alen thứ j của kiểu gen i được kiểm tra. 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, thiết lập sơ đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 14 giống lúa dựa theo phương pháp UPGMA trong Biodiversity Pro; số alen bên trong và giữa các quần thể được xác định bằng phần mềm FStat V2. 9. 3.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Các đặc tính nông học**

*3.1.1. Đánh giá đặc tính của các giống nếp qua 02 vụ thí nghiệm*

Trong vụ thu đông 2017, các giống nếp trong thí nghiệm có TGST dao động từ 96 đến 116 ngày; chiều cao cây dao động từ 84 đến 112 cm, trung bình là 98 cm; số bông/m<sup>2</sup> cao (309-483 bông/m<sup>2</sup>, trung bình là 401 bông/m<sup>2</sup>). Chiều dài bông trung bình của các giống nếp trong thí nghiệm là 21,3 cm; khối lượng 1.000 hạt của các giống dao động từ 23,6-34,0 gam. Năng suất các giống dao động từ 4,85-7,32 tấn/ha, trung bình là 6,05 tấn/ha. Giống nếp Thái -1 có số hạt chắc trên bông và năng suất cao nhất (7,32 tấn/ha), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các giống còn lại trong thí nghiệm (Bảng 2).

**Bảng 2. Thành phần năng suất và năng suất các giống lúa nếp thí nghiệm vụ thu đông 2017**

| TT | Nghiem thức      | TGST (ngày) | Cao cây (cm) | Số bông/m <sup>2</sup> (bông) | Dài bông (cm)  | Hạt chắc/ bông | KL 1000 hạt (g) | NSIT (tấn/ha)   |
|----|------------------|-------------|--------------|-------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1  | CK 2003          | 100         | 84 g         | 377 cdef                      | 18,7 h         | 82             | 25,7 h          | 5,82 bcd        |
| 2  | Nếp Thơm         | 97          | 102 bc       | 309 f                         | 22,7 abc       | 84             | 33,0 b          | 6,52 abc        |
| 3  | Nếp Cẩm          | 115         | 102 bc       | 375 def                       | 21,3 def       | 89             | 24,3 k          | 5,57 cd         |
| 4  | Nếp Thái         | 110         | 98 cde       | 371 def                       | 23,0 ab        | 67             | 26,9 f          | 5,45 cd         |
| 5  | Nếp Thái-1       | 110         | 112 a        | 393 cde                       | 22,0 bcd       | 106            | 25,0 i          | 7,32 a          |
| 6  | Nếp Thái-2       | 110         | 92 f         | 415 abcde                     | 21,0 def       | 67             | 27,1 e          | 4,85 d          |
| 7  | Nếp Thái Mơ      | 100         | 97 de        | 445 abcd                      | 19,0 h         | 67             | 28,0 d          | 6,52 abc        |
| 8  | Nếp Thái-3       | 107         | 96 e         | 340 ef                        | 21,7 cde       | 91             | 26,5 g          | 5,97 bcd        |
| 9  | Nếp Bến Tre      | 96          | 104 b        | 367 ef                        | 22,7 abc       | 58             | 34,0 a          | 6,18 abc        |
| 10 | Đùm Lá Xanh      | 115         | 93 f         | 472 ab                        | 20,3 fg        | 81             | 23,6 l          | 6,97 ab         |
| 11 | OM 10412         | 97          | 100 bcd      | 409 abcde                     | 21,3 def       | 73             | 33,1 b          | 6,27 abc        |
| 12 | IR 4625          | 116         | 102 b        | 404 bcde                      | 23,7 a         | 62             | 30,3 c          | 5,45 cd         |
| 13 | <b>CK92 (ĐC)</b> | <b>115</b>  | <b>92 f</b>  | <b>483 a</b>                  | <b>19,7 gh</b> | <b>85</b>      | <b>23,71</b>    | <b>6,15 abc</b> |
| 14 | Nếp Hương        | 115         | 102 bc       | 453 abc                       | 20,7 efg       | 75             | 24,6 j          | 5,70 cd         |
|    | Trung bình       | 107         | 98           | 401                           | 21,3           | 78             | 27,6            | 6,05            |
|    | CV%              | -           | 2,0          | 11,5                          | 2,9            | -              | 0,5             | 11,1            |

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự thì không khác biệt qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%.*

Trong vụ ĐX 2017 - 2018, các giống có TGST dao động từ 92-110 ngày và chiều cao cây dao động từ 92-116 cm. Số bông/m<sup>2</sup> của các giống trong thí nghiệm cao, dao động từ 269-485 bông/m<sup>2</sup>, trong đó giống CK2003 có số bông/m<sup>2</sup> cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các giống còn lại. Khối lượng 1.000 hạt dao động từ 22,8-31,9 gam. Năng suất các giống dao động từ 5,0-7,3 tấn/ha, trong đó, giống nếp Đùm Lá Xanh có năng suất cao nhất (7,30

tấn/ha), vượt đối chứng CK92 (6,73 tấn/ha) là 8,4%, tuy nhiên không khác biệt so với đối chứng CK92 qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 5% (Bảng 3).

Kết quả thí nghiệm qua hai vụ cho thấy: giống nếp Thái-1 và nếp Đùm Lá Xanh có năng suất cao và ổn định, vượt đối chứng CK92 lần lượt là 19,0% và 13,3% trong vụ thu đông 2017; tiếp tục vượt đối chứng CK92 lần lượt là 1,8% và 8,4% trong vụ ĐX 2017 - 2018.

**Bảng 3. Thành phần năng suất và năng suất các giống lúa nếp thí nghiệm vụ ĐX 2017 - 2018**

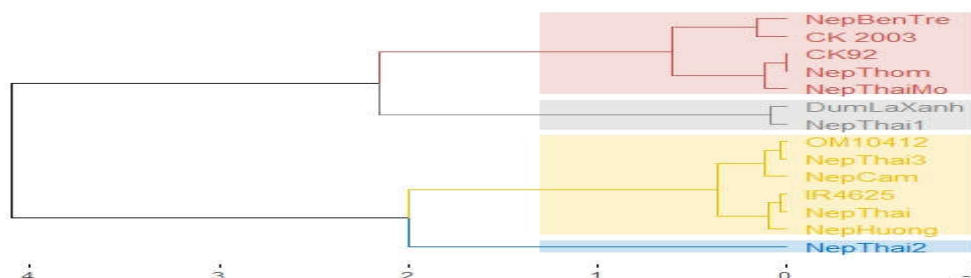
| TT | Nghiem thuc      | TGST<br>(ngày) | Cao cây<br>(cm) | Số<br>bông/m <sup>2</sup><br>(bông) | Dài bông<br>(cm) | Hạt chắc/<br>bông | KL 1.000 hạt<br>(g) | NSTT<br>(tấn/ha) |
|----|------------------|----------------|-----------------|-------------------------------------|------------------|-------------------|---------------------|------------------|
| 1  | CK 2003          | 97             | 92 g            | 485 a                               | 19,0 g           | 97                | 23,4 hi             | 6,75 ab          |
| 2  | Nếp Thơm         | 92             | 102 d           | 269 e                               | 20,7 de          | 71                | 31,8 ab             | 6,37 bc          |
| 3  | Nếp Cẩm          | 110            | 106 b           | 311 d                               | 21,3 cde         | 99                | 24 g                | 5,85 cde         |
| 4  | Nếp Thái         | 100            | 99 e            | 327 cd                              | 22,7 ab          | 87                | 26,8 e              | 6,30 bc          |
| 5  | Nếp Thái-1       | 100            | 116 a           | 317 d                               | 22,0 bc          | 94                | 25,3 f              | 6,85 ab          |
| 6  | Nếp Thái-2       | 100            | 94 f            | 325 d                               | 21,7 bcd         | 79                | 27,3 d              | 5,00 f           |
| 7  | Nếp Thái Mơ      | 95             | 99 e            | 257 e                               | 21,0 cde         | 109               | 26,4 e              | 6,48 bc          |
| 8  | Nếp Thái-3       | 98             | 94 f            | 364 c                               | 21,7 bcd         | 94                | 24,9 f              | 5,55 def         |
| 9  | Nếp Bến Tre      | 92             | 104 c           | 336 cd                              | 20,3 ef          | 72                | 31,9 a              | 6,20 bcd         |
| 10 | Đùm Lá Xanh      | 105            | 101 d           | 441 b                               | 21,0 cde         | 91                | 23,7 gh             | 7,30 a           |
| 11 | OM 10412         | 94             | 102 d           | 313 d                               | 21,0 cde         | 78                | 31,4 b              | 5,30 ef          |
| 12 | IR 4625          | 100            | 106 b           | 329 cd                              | 23,7 a           | 79                | 30,5 c              | 6,35 bc          |
| 13 | <b>CK92 (ĐC)</b> | <b>107</b>     | <b>98 e</b>     | <b>449 ab</b>                       | <b>19,3 fg</b>   | <b>84</b>         | <b>22,8 j</b>       | <b>6,73 ab</b>   |
| 14 | Nếp Hương        | 103            | 103 c           | 364 c                               | 22,7 ab          | 83                | 23,1 ij             | 5,97 cde         |
|    | Trung bình       | 100            | 101             | 349                                 | 21,3             | 87                | 26,7                | 6,21             |
|    | CV%              | -              | 0,6             | 6,5                                 | 3,1              | -                 | 1,2                 | 7,0              |

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số có cùng mẫu tự thì không khác biệt qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%.

### 3.1.2. Năng suất và tính ổn định về năng suất của các giống lúa nếp qua hai vụ thí nghiệm

Để đánh giá sự tương đồng về năng suất của 14 giống lúa nếp làm cơ sở cho việc chọn nhóm giống có năng suất cao để khuyến cáo trong sản xuất và làm vật liệu lai tạo các giống nếp mới trong thời gian

tới, nghiên cứu đã tiến hành phân nhóm các giống nếp dựa trên cơ sở năng suất trung bình qua 02 vụ thí nghiệm của các giống bằng phần mềm NTSYS pc 2.0. Kết quả cho thấy, 14 giống lúa nếp được phân thành 4 nhóm với mức tương đồng là 80% (Hình 1).



**Hình 1. Phân nhóm dựa trên sự tương đồng về năng suất của 14 giống lúa nếp**

Nhóm 1: có 5/14 giống, chiếm tỉ lệ là 35,7%, đây là nhóm có năng suất khá cao và dao động từ 5,19-6,5 tấn/ha gồm nếp Bến Tre, CK2003, CK92, nếp Thom và nếp Thái Mỡ. Trong đó, giống CK92 và giống nếp Thom có mức độ tương đồng về năng suất là 100%.

Nhóm 2: chỉ có 2/14 giống, chiếm tỉ lệ là 14,3% gồm nếp Đùm Lá Xanh, nếp Thái-1, đây là nhóm nếp có năng suất cao nhất trong các giống nếp khảo nghiệm, hai giống nếp có mức tương đồng về năng suất là 98%.

Nhóm 3: có 6/14 giống, chiếm tỉ lệ cao nhất là 42,9% gồm các giống có năng suất khá, dao động từ 5,71-5,9 tấn/ha là các giống OM10412, nếp Thái-3, nếp Cẩm, IR4625, nếp Thái, nếp Hương. Trong đó, OM 10412 và nếp Thái-3 có mức tương đồng là 99%, IR4625 và nếp Thái cũng có mức tương đồng về năng suất là 99%.

Nhóm 4: chỉ gồm giống nếp Thái-2, nhóm có năng suất thấp nhất.

Bên cạnh đó, sự ổn định về năng suất qua hai vụ thí nghiệm của các giống cũng được đánh giá. Việc phân tích tính ổn định bởi biểu đồ liên quan giữa các giá trị năng suất trung bình với hệ số biến thiên (CV%) của các giống cho thấy, 14 giống lúa nếp trong thí nghiệm cũng được phân thành 4 nhóm (Hình 2).

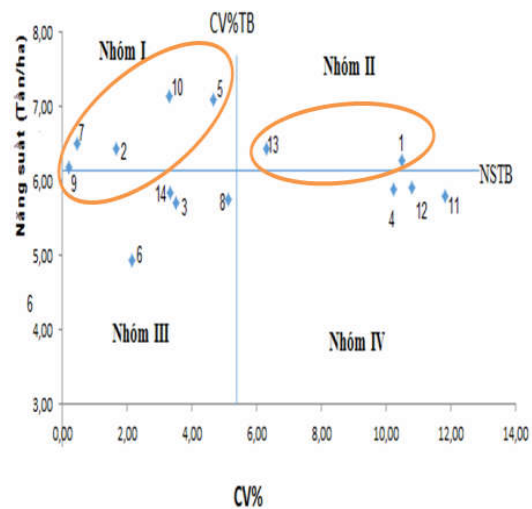
Nhóm 1: các giống có năng suất cao và ổn định gồm các giống: nếp Đùm Lá Xanh, nếp Thái-1, nếp Thom, nếp Thái Mỡ, nếp Bến Tre có năng suất cao hơn năng suất trung bình của 14 giống thí nghiệm (6,13 tấn/ha) và có CV% nhỏ hơn CV% trung bình (5,29 %) của 14 giống. Đây là các giống mong muốn, phù hợp cho công tác chọn giống.

Nhóm 2: các giống CK92, CK2003 là những giống có năng suất và CV% cao, đây là những giống phù hợp cho việc chọn giống theo từng vùng riêng biệt.

Kết quả phân tích tính ổn định về năng suất trung bình 2 vụ thí nghiệm cho thấy các giống nếp Đùm Lá Xanh, nếp Thom, nếp Thái Mỡ, nếp Bến Tre, nếp Thái-1, CK92 thuộc nhóm I và nhóm II nên phù hợp với mục tiêu chọn giống.

Tóm lại, hai giống nếp Thái-1 và nếp Đùm lá xanh có năng suất cao và ổn định, đáp ứng mục tiêu của đề tài là chọn giống lúa nếp thích nghi với vùng chuyên canh nhằm đa dạng nguồn giống trong sản

xuất và làm vật liệu lai tạo ra những giống nếp mới trong thời gian tới.



Hình 2. Biểu đồ liên quan giữa năng suất trung bình với hệ số biến thiên (CV%) của các giống

Ghi chú: 1: CK2003, 2: Nếp Thom, 3: Nếp Cẩm, 4: Nếp Thái, 5: Nếp Thái-1, 6: Nếp Thái-2, 7: Nếp Thái Mỡ, 8: Nếp Thái-3, 9: Nếp Bến Tre, 10: Đùm Lá Xanh, 11: OM10412, 12: IR4625, 13: CK92, 14: Nếp Hương

### 3.2. Sự đa hình của các chỉ thị SSR với 14 giống lúa nếp nghiên cứu

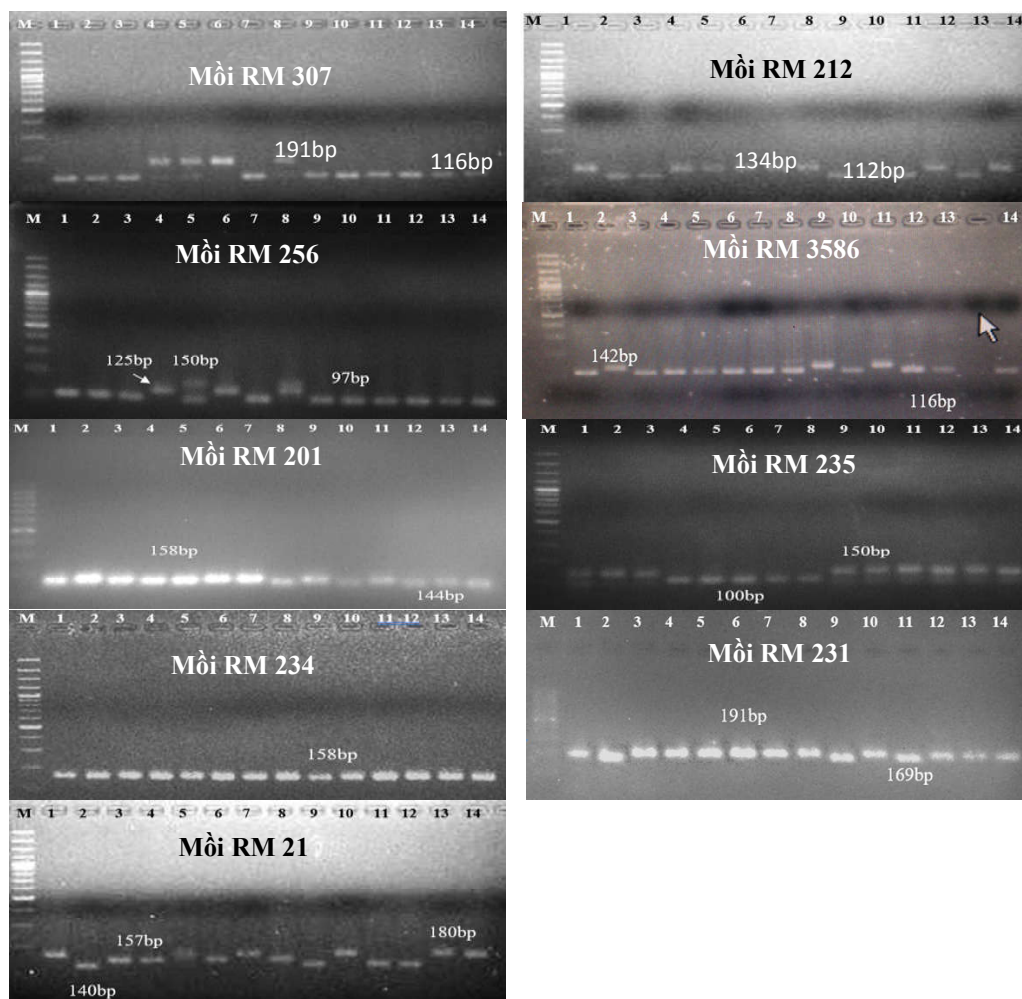
#### 3.2.1. Kết quả khuếch đại chín chỉ thị SSR

Chỉ thị phân tử là công cụ mạnh mẽ trong việc đánh giá các biến dị di truyền, giải thích mối quan hệ di truyền trong và giữa các loài, hỗ trợ việc quản lý các nguồn tài nguyên di truyền thực vật (Song *et al.*, 2003; Teixeira *et al.*, 2005; Virk *et al.*, 2000). Trình tự lặp đơn (Simple Sequence Repeat-SSR) là công cụ quan trọng để xác định sự biến đổi di truyền của nguồn gen.

Kết quả khuếch đại các trình tự SSR trong nghiên cứu hiện tại được thể hiện trên hình 3 cho thấy sử dụng 2 cặp mồi RM256 và RM21 trên nhiễm sắc thể số 8 và 11 cũng tìm thấy 3 alen với kích thước lần lượt từ 97 bp-150 bp và 140 bp-180 bp. Tương tự, mồi RM234 trên nhiễm sắc thể số 7 cũng chỉ tìm thấy 1 alen với kích thước bằng là 158 bp. Đối với các cặp mồi còn lại đều tìm thấy 2 alen với kích thước lần lượt là RM307 (191 bp và 116 bp), RM212 (112 bp và 134 bp), RM3586 (116 bp và 142 bp), RM201 (144 bp và 158 bp), RM235 (90 bp và 132 bp), RM231 (169 bp và 191 bp). Như vậy, phần lớn các kích thước alen

của 9 locus SSR được xác định trong nghiên cứu hiện tại trên các giống lúa nếp nằm trong khoảng công bố của Gamene.

### 3.2.2. Số lượng các alen ở locus khảo sát



**Hình 3. Khuếch đại ADN của các giống lúa nếp bằng 9 cặp mũi SSR**

*Ghi chú: 1: CK2003, 2: Nếp Thom, 3: Nếp Cẩm, 4: Nếp Thái, 5: Nếp Thái-1, 6: Nếp Thái-2, 7: Nếp Thái Mỡ, 8: Nếp Thái-3, 9: Nếp Bến Tre, 10: Đùm Lá Xanh, 11: OM10412, 12: IR4625, 13: CK92, 14: Nếp Hương*

Đánh giá đa dạng di truyền của các giống lúa nếp bằng cách sử dụng cùng một tập hợp của các chỉ thị phân tử SSR theo đề nghị của Gamene đã được ứng dụng trong nhiều công trình (Giarrocco *et al.*, 2007; Bounphanousay *et al.*, 2008 và Adegba *et al.*, 2015). Trong nghiên cứu hiện tại, 9 locus SSR đã được sử dụng để phân tích đặc điểm di truyền của các giống lúa nếp ở ĐBSCL. Kết quả ở bảng 4 chỉ ra sự đa dạng di truyền trên mỗi SSR ở các giống nếp thí nghiệm. Tổng số 19 alen đã được xác định ở 9 locus SSR trên 14 giống lúa nếp thí nghiệm với số lượng alen trung bình của các locus SSR là 2,11 alen, dao động từ 1 alen đến 3 alen/locus. Kết quả này

thấp hơn so với các nghiên cứu của Jayamani *et al.* (2007) với 7,7 alen/locus; Mahmoud *et al.* (2005) tìm thấy 5 alen/locus; Bounphanousay *et al.* (2008) là 4,3 alen/locus, Zeng *et al.* (2004) là 3,1 alen/locus, Ngô Thị Hồng Tươi và *ctv.* (2014) trên giống lúa Cẩm là 2,62 alen trên một locus, Đoàn Thanh Quỳnh và *ctv.* (2016) trên giống nếp địa phương là 3,03 alen/locus và Kumar *et al.* (2018) là 7,75 alen/locus

Kết quả ở bảng 4 cũng cho thấy số alen cao nhất là 3 alen nằm ở các locus RM256 và RM21, thấp nhất là 1 alen (RM234), các locus còn lại xác định được từ 2 alen. Trong khi đó, ở locus RM21, Trần Thị Lương và *ctv.* (2013) tìm thấy 6 alen trên các giống lúa nếp

cao hơn nghiên cứu hiện tại. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu trên các locus RM212, RM234 của Adegba *et al.* (2015) trên 6 giống lúa ở châu Phi có 3 alen với số alen đa hình là 3 alen và chỉ số PIC lần lượt là 0,32 và 0,31 cao hơn so với các giống nếp trong nghiên cứu hiện tại. Trong nghiên cứu của Kumar *et al.* (2018) ở đa hình RM234 tìm thấy 5 alen với chỉ số PIC là 0,834 cao hơn nghiên cứu hiện tại. Ở locus RM201 quần thể lúa nếp thí nghiệm thể hiện sự đa dạng về số lượng alen thấp (2 alen) và thấp hơn so với nghiên cứu của Kumar *et al.* (2018), nhóm tác giả tìm thấy 5 alen ở locus này với chỉ số đa hình là 0,782. Ở locus RM307, kết quả nghiên cứu hiện tại tìm thấy 2 alen tương tự với nghiên cứu của Ngô Thị Hồng Tươi và *ctv.* (2014) trên giống lúa Cẩm, nhóm tác giả cũng tìm thấy 2 alen trên locus này. Tuy nhiên nghiên cứu của Trần Thị Lương và *ctv.* (2013) trên các giống lúa nếp tìm thấy 7 alen ở locus này với 4 alen đa hình và chỉ số PIC là 0,69.

**Bảng 4. Số lượng các alen trong mỗi locus SSR của các giống nếp ở ĐBSCL**

| Mỗi                | Số alen | Số alen đa hình | Tỷ lệ đa hình (%) | Hàm lượng thông tin đa hình (PIC) |
|--------------------|---------|-----------------|-------------------|-----------------------------------|
| RM307              | 2       | 1               | 50,0              | 0,59                              |
| RM212              | 2       | 1               | 50,0              | 0,74                              |
| RM256              | 3       | 2               | 66,7              | 0,78                              |
| RM3586             | 2       | 1               | 50,0              | 0,67                              |
| RM201              | 2       | 1               | 50,0              | 0,73                              |
| RM235              | 2       | 1               | 50,0              | 0,70                              |
| RM234              | 1       | 0               | 0,00              | 0,00                              |
| RM231              | 2       | 1               | 50,0              | 0,74                              |
| RM21               | 3       | 3               | 100               | 0,90                              |
| Tổng số alen       | 19      | 11              | 57,9              |                                   |
| Số alen trung bình | 2,11    | 1,22            | 57,9              | 0,65                              |

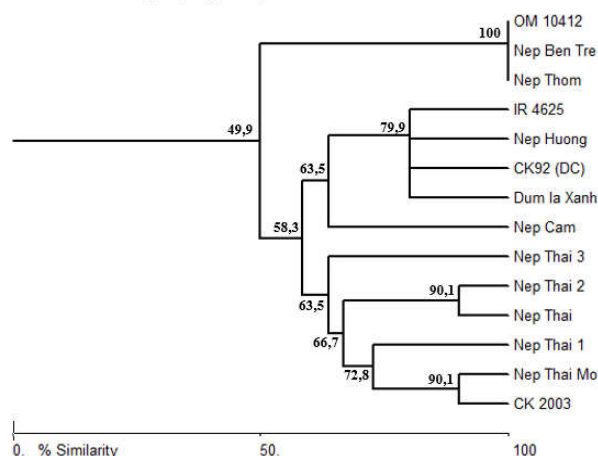
Những hiểu biết về biến dị di truyền của nguồn gen rất cần thiết cho việc xác định các giống phục vụ cho công tác chọn giống và tạo nên nguồn tài liệu hướng dẫn cho việc bảo tồn hiệu quả phát triển tại chỗ và trong ngân hàng gen (Albrecht *et al.*, 2012). Theo Jain *et al.* (2004) alen được coi là hiếm nếu tần số xuất hiện của chúng nhỏ hơn hoặc bằng 5% tổng số các kiểu gen phân tích. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, số alen tìm thấy ở các locus tương đối thấp, tuy nhiên

trong các alen này cũng tìm thấy được các alen hiếm với trung bình là 1,22 alen. Ở các locus RM307, RM212, RM3586, RM201, RM235, RM231 đều tìm thấy tỷ lệ đa hình của các alen là 50%, trong khi đó ở locus RM21 có 100% alen đa hình và locus RM256 là 66,7% alen đa hình; chỉ có một locus không tìm thấy alen đa hình là locus RM234. Bên cạnh đó, kết quả ở bảng 4 cũng thể hiện hàm lượng thông tin di truyền (PIC) của các locus khảo sát, chỉ số PIC là công cụ hữu ích để đánh giá mức độ đa hình của các cặp mồi. Chỉ số PIC được xem xét trên các giống lúa nếp với 9 cặp mồi SSR có giá trị nhỏ nhất là 0,0 (RM234) và cao nhất là 0,90 (RM21) với chỉ số trung bình là 0,65. Kết quả hiện tại tương tự với nghiên cứu của Đoàn Thanh Quỳnh và *ctv.* (2016) trên các giống lúa nếp địa phương có chỉ số PIC dao động từ 0,08 đến 0,84 với giá trị trung bình là 0,5 và nghiên cứu của Ngô Thị Hồng Tươi và *ctv.* (2014) trên giống nếp Cẩm có chỉ số PIC dao động từ 0,08 đến 0,74 với giá trị trung bình là 0,46 và trong nghiên cứu của Trần Thị Lương và *ctv.* (2013) dao động từ 0,06 đến 0,83 với giá trị trung bình là 0,6. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, chỉ số PIC trung bình của các locus là 0,65, chỉ có 7/9 locus khảo sát có chỉ số PIC cao dao động từ 0,67 đến 0,90.

### 3.2.3. Quan hệ di truyền giữa các giống lúa nếp

Khoảng cách di truyền là một phép đo sự khác biệt di truyền giữa các loài/giống hoặc giữa các quần thể trong một loài. Các quần thể có nhiều alen tương tự có khoảng cách di truyền nhỏ. Điều này chỉ ra rằng chúng có quan hệ gần gũi và có một tổ tiên gần nhau (Nei, 1987). Các giống nếp trong nghiên cứu có thể chia làm hai nhóm chính: nhóm 1 gồm 3 giống nếp Bến Tre, OM10412 và nếp Thơm và nhóm 2 gồm 11 giống còn lại với mức độ tương đồng của 2 nhóm là 49,9%. Kết quả phân tích ở hình 4 cũng cho thấy, các nhóm giống phân bố khác nhau, giống IR4625, nếp Hương, và nếp Đùm Lá Xanh là những giống tương đối gần giống đối chứng CK92 với giá trị tương đồng là 79,9%. Giống nếp Thái và nếp Thái-2 mặc dù có kiểu hình, chỉ tiêu nông học khác biệt nhưng kết quả kiểm tra kiểu gen với mồi SSR cho thấy 2 giống có khoảng cách di truyền thấp với phần trăm tương đồng là 90,1%. Tương tự, giống lúa nếp Thái Mỡ cũng thể hiện sự tương đồng di truyền cao với giống CK2003 với tỷ lệ tương đồng là 90,1%. Giống nếp Bến Tre, OM10412 và nếp Thơm thể hiện không khác biệt nhau với phần trăm tương đồng là 100%.

Jaccard Cluster Analysis (Single Link)



**Hình 4. Mối quan hệ di truyền của các giống lúa nếp dựa trên dấu chỉ thị SSR**

#### 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Đánh giá sự tương đồng và ổn định về năng suất của 14 giống lúa nếp qua 2 vụ đã chọn được các giống có năng suất cao để khuyến cáo trong sản xuất và làm vật liệu lai tạo các giống nếp mới trong thời gian tới là: nếp Đùm Lá Xanh, nếp Thái-1, nếp Bến Tre, CK2003, CK92, nếp Thom và nếp Thái Mỡ. Giống nếp Đùm Lá Xanh là giống có năng suất cao và có nhiều ưu điểm hơn so với các giống khác trong thí nghiệm.

Khi khảo sát 9 chỉ thị phân tử SSR trên 14 giống lúa nếp tìm thấy 11 alen đa hình trong số 19 alen hiện diện, số alen dao động từ 1 đến 3 alen/locus, số alen trung bình là 2,11 alen/locus. Hệ số PIC dao động từ 0,00 đến 0,90 với hệ số trung bình là 0,65. Dựa trên sự đa hình của các băng xuất hiện ở từng locus khảo sát, các giống nếp trong nghiên cứu được phân thành 2 nhóm lớn với hệ số tương đồng thấp, chỉ 49,9%. Các kết quả thu được trong nghiên cứu hiện tại là cơ sở cho việc nghiên cứu chọn tạo các giống lúa nếp bằng phương pháp kết hợp giữa truyền thống và sinh học phân tử.

##### 4.2. Kiến nghị

Khảo sát thêm nhiều chỉ thị phân tử quanh vùng gen điều khiển sự tổng hợp hàm lượng amylose và phân tích liên kết giữa chỉ thị phân tử với gen mục tiêu để đánh giá thêm về phẩm chất của các giống lúa nếp.

##### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adegaju, M. S., Akinyele, B. O., Akinwale, M. G., Igwe, D., & Osekita, O. S., 2015. Molecular characterization and genetic diversity analysis of elite

african lowland Rice varieties using SSR marker system. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 3(10), 54-65.

2. Albrecht, E., Zhang, D., Saftner, R. A., & Stommel, J. R., 2012. Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(4), 517-538.

3. Bounphanousay, C., Jaisil, P., McNally, K. L., Sanitchon, J., & Hamilton, N. S., 2008. Variation of microsatellite markers in a collection of Laos black glutinous rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant Sciences*.

4. Đoàn Thanh Quỳnh, Nguyễn Thị Hào, Vũ Thị Thu Hiền, Trần Văn Quang, 2016. Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen lúa nếp địa phương dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, tập 14, số 4: 527-538.

5. Giarrocco L. E. Marassi M. A. And Salerno G. L., 2007. Assessment of the genetic diversity in Argentine rice cultivars with SSR markers. *Crop Science*, vol. 47, no. 2, p. 853-858.

6. IRRI, 1996. *Standard Evaluation System for Rice*. International Rice Testing Program. 2nd Edition. IRRI, Philippines.

7. Jain S., Jain R. K., McCouch S. R., 2004. Genetic analysis of Indian aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using panels of fluorescently-labeled microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*, 109(5): 965-977.

8. Jayamani, P., Negrão, S., Martins, M., Maças, B. and Oliveria, M. M., 2007. Genetic relatedness of Portuguese rice accessions from diverse origins as assessed by microsatellite markers. *Crop Science*, vol. 47, no. 2, p. 879-884.

9. Kumar, P., Kumari, R., & Sharma, V. K., 2018. Choice of microsatellite markers for isolation of fertility restorers of wild abortive (WA) type cytoplasmic male sterility in rice. *Indian J Genet Plant Breed*, 78, 202-210.

10. Ma H., Yin Y., Guo Z. F., Cheng L. J., Zhang L., Zhong M., Shao G. J., 2011. Establishment of ADN fingerprinting of Liaojing series of japonica rice. *MEJSR*, 8(2): 384-392.

11. Mahmoud M., Sawsan S. Y., Naglaa A. A., Hany S. B. and Ahmed M. E. S., 2005. Genetic analysis of some Egyptian rice genotypes using RAPD, SSR and AFLP. *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (9), pp. 882-890.

12. Ngô Thị Hồng Tươi, Phạm Văn Cường, 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*, tập 12, số 4: 485-494.
13. Powel W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A., 1996. Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 2(3): 225-238.
14. Rogers S.O. and A. Bendich, 1994. Extraction of DNA from plant, fungal and algal tissues. In: *Gelvin SB, Schilperoort RA (eds) Plant Molecular Biology Manual. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers*, D 1: 1-8.
15. Saal B. and Wricke G., 1999. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.). *Genome* 42:964-972.
16. Song Z. P., Xu X., Wang B., Chen J. K., Lu B. R., 2003. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. *Theor. Appl. Genet.*, 107: 1492-1499.
17. 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.
18. Trần Thị Lương, Lưu Minh Cúc, Nguyễn Đức Thành, 2013. Phân tích quan hệ di truyền một số giống lúa đặc sản, chất lượng, trồng phổ biến ở Việt Nam bằng chỉ thị phân tử SSR. *Tạp chí Sinh học*, 35(3): 348-356.
19. 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.
20. Zeng, L., Kwon T-R., Liu, X., Wilson C., Grieve C.M. and Gregorio G.B., 2004. Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. *Plant Science*, vol. 166, no. 5, p. 1275-1285.

RESEACH AND ASSESSMENT SOME AGRONOMICAL CHARACTERISTICS AND GENETIC DIVERSITY OF GLUTINOUS RICE VARIETIES COLLECTED IN MEKONG DELTA

Nguyen Kim Khanh, Nguyen Khiet Tam, Truong Trong Ngon

Summary

The study was conducted to investigate the agronomic and genetic characteristics of 14 glutinous rice varieties in the Mekong delta to find the varieties that are able to adapt to the specialized glutinous rice cultivation area in order to diversify seed sources in production, as material for breeding new sticky rice varieties. Agronomic characteristics were surveyed in the two crops of fall-winter 2017 and winter-spring 2017-2018 in Phu Tan district, An Giang province. 14 sticky rice varieties were also surveyed by 9 SSR markers at the Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University. Based on morphological characteristics analysis, Dum La Xanh was of the high yielding variety and had many advantages compared to others in the experiment. Analyzing the yield and stability of glutinous rice breeds showed that 14 samples have divided into four groups. With SSR markers, amplified a total of 19 bands having 11 polymorphic bands reaching 57.9%. The PIC index ranges from 0.00 to 0.90 has the average level of polymorphism of the population being 0.65. The analysis of the branch diagram based on the UPGMA method has demonstrated that the glutinous samples have very high genetic diversity and have a percentage of similarity ranging from 49.9 to 100% and have classified into two groups. This study indicates that there is considerable genetic variation among the samples, which morphology is difficult to distinguish.

**Keywords:** *Glutinous rice, SSR, PIC.*

**Người phản biện:** PGS.TS. Lê Tuấn Nghĩa

**Ngày nhận bài:** 20/7/2021

**Ngày thông qua phản biện:** 20/8/2021

**Ngày duyệt đăng:** 27/8/2021