

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

TRƯỜNG ÁNH PHƯƠNG

**ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ĐỂ NGHIÊN CỨU
CẢI THIỆN TỈ LỆ BẠC BỤNG TRÊN CÁC GIỐNG
LÚA CAO SẢN (*Oryza sativa* L.)**

Chuyên ngành: CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Mã số: 9420201

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

CẦN THƠ - 2019

Công trình được hoàn thành tại:

VIỆN LÚA ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Người hướng dẫn khoa học:

Thầy hướng dẫn 1: PGS.TS. Nguyễn Thị Ngọc Ân

Thầy hướng dẫn 2: GS.TS. Nguyễn Thị Lang

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện họp
tại..... ngày tháng..... năm.....

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư Viện Quốc gia
2. Thư Viện Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam
3. Thư Viện Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa* L.) là cây cung cấp lương thực quan trọng, nuôi sống hơn một nửa dân số trên thế giới. Giá trị kinh tế cây lúa đem lại không còn giới hạn ở việc cung cấp lương thực cho con người mà nay là mặt hàng xuất khẩu thu nguồn ngoại tệ lớn. Một trong những hướng gia tăng giá trị kinh tế cây lúa là phải đổi mới giống, đưa vào sản xuất các giống có phẩm chất cao bởi vì gạo có phẩm chất tốt được tiêu thụ với giá cao hơn gạo có phẩm chất trung bình và kém (Trần Duy Quý, 2002).

Độ bạc bụng là một trong những chỉ tiêu phẩm chất có liên quan trực tiếp đến chất lượng xay chà. Bạc bụng tạo vết đục trong phôi nhũ của hạt. Đối với gạo tẻ tỷ lệ bạc bụng cao sẽ ảnh hưởng đến tỷ lệ gãy của hạt cao trong chất lượng xay chà. Hơn nữa, dạng nội nhũ của hạt gạo là một trong số các yếu tố có vai trò quan trọng trong việc xuất khẩu lúa gạo (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011). Đồng thời, với xu hướng phát triển kinh tế toàn cầu, nhu cầu và thị hiếu của người tiêu dùng đòi hỏi chất lượng lương thực ngày càng cao. Thêm vào đó, đặc tính bạc bụng được di truyền đa gen và chịu tác động của môi trường. Cho nên, rất khó tìm được giống hoàn toàn không có bạc bụng mà hướng tới cải thiện giống ít bạc bụng. Vì vậy, đề tài “Ứng dụng chi thị phân tử để cải thiện tỉ lệ bạc bụng trên các giống lúa cao sản (*Oryza sativa* L.)” nhằm tạo chọn các dòng/giống lúa có năng suất cao và ít hoặc không bạc bụng.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Tạo chọn các dòng lúa mới cho năng suất cao và tỷ lệ bạc bụng thấp nhằm cải thiện được tình trạng hạt gạo bạc bụng trên một số

giống lúa cao sản nhờ vào các chỉ thị phân tử Microsatellite liên kết với gen kiểm soát tính trạng hạt gạo bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Những thành công bước đầu trong quy tụ gen bạc bụng thấp sử dụng chỉ thị phân tử ở lúa sẽ mở ra khả năng ứng dụng rộng rãi trong công tác chọn tạo giống nói chung, không chỉ đối với chỉ tiêu độ bạc bụng mà còn đối với nhiều đặc tính nông học quý khác.

Đề tài đã chọn ra được các dòng lúa triển vọng cải thiện được tính bạc bụng (tỷ lệ không bạc bụng cao) và thích nghi điều kiện môi trường để bổ sung vào cơ cấu giống phẩm chất cao nhằm phục vụ cho nhu cầu tiêu thụ nội địa và nâng cao khả năng cạnh tranh với các nước trên thế giới về xuất khẩu gạo.

Các nội dung nghiên cứu trong đề tài có thể ứng dụng cho công tác chọn giống hiện nay. Sản phẩm từ đề tài là nguồn vật liệu và phương pháp của đề tài là nguồn tư liệu cho các công trình nghiên cứu tiếp theo. Ngoài ra, đề tài còn góp phần phục vụ trong các công tác nghiên cứu và giảng dạy.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

* Đối tượng: Các giống lúa cao sản tại ĐBSCL.

* Phạm vi nghiên cứu:

- Không gian: Thí nghiệm được bố trí tại Nhà lưới, Ruộng thí nghiệm của Viện Lúa ĐBSCL và tại các tỉnh ĐBSCL đại diện cho các vùng sinh thái. Các chỉ tiêu được phân tích tại Phòng phân tích phẩm chất, Phòng Sinh học phân tử tại Bộ môn di truyền chọn giống, Phòng Công nghệ gen của Viện Nghiên cứu Nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL.

- Thời gian: Từ năm 2013 đến năm 2017.

- Phương pháp: Các phương pháp truyền thống kết hợp với phương pháp hiện đại.

5. Những đóng góp mới của đề tài:

Đề tài đánh giá nguồn vật liệu bố mẹ để khai thác tính trạng không bạc bụng

Bên cạnh mục tiêu chọn tạo giống lúa mang gen không bạc bụng, đề tài còn chú ý đến năng suất cao và thời gian sinh trưởng phù hợp. Điều này là điều kiện quyết định để các sản phẩm giống lúa có thể ứng dụng và phát triển rộng rãi khi đề tài kết thúc.

Kết hợp giữa lai tạo truyền thống, sinh học phân tử và tin sinh học trong nghiên cứu.

6. Cấu trúc của luận án

Phần chính của luận án được trình bày trong 99 trang, 16 bảng số liệu và 34 hình. Phần mở đầu 4 trang; Chương 1: Tổng quan tài liệu 28 trang; Chương 2: Vật liệu và Phương pháp nghiên cứu 10 trang; Chương 3: Kết quả và thảo luận 55 trang; Kết luận và đề nghị: 2 trang. Ngoài ra còn có các phụ lục. Luận án sử dụng 133 tài liệu tham khảo, trong đó 22 tài liệu tiếng Việt, 111 tài liệu tiếng Anh.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Bạc bụng tạo vết đục trong phôi nhũ của hạt là do sự gián đoạn trong quá trình làm đầy hạt tạo nên các khoảng không giữa các tế bào tinh bột (hạt tinh bột ở vùng bạc bụng sắp xếp rời rạc, có cấu trúc kém chặt chẽ hơn ở các vùng trong suốt) hình thành vết màu đục trong hạt gạo thấy được do phản xạ ánh sáng (Tashiro and Wardlaw, 1991).

Độ trong suốt của hạt gạo phụ thuộc vào tính chất của phôi nhũ, vết đục có thể xuất hiện ở bụng, lưng hay trung tâm hạt gạo. Chính vì cấu trúc như thế nên hạt gạo dễ bị gãy tại điểm có vết đục khi xay

chà làm giảm giá trị thương phẩm của hạt gạo (Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2011).

Bạc bụng của gạo là một tính trạng phức tạp được điều khiển bởi nhiều yếu tố di truyền và chịu ảnh hưởng của môi trường (Nakata và Jackson, 1973; Seetharaman, 1964). Những gen này được kiểm soát bởi nội nhũ và tế bào chất dòng mẹ. Theo Ebron, 2013, sự bạc bụng được thể hiện bởi các vùng mờ đục ở nhiều phần của hạt gạo, xảy ra khi các thành phần protein và tinh bột được đóng gói không chặt trong nội nhũ khi hạt vào chắt. Độ bạc bụng là tính trạng thể hiện kiểu hình về chất lượng và chủ yếu được đánh giá thông qua phần trăm hạt bị bạc bụng (Percentage of grains with chalkiness - PGWC), diện tích hạt bạc bụng (Area Endosperm Chalkiness - AEC) và mức độ bạc bụng của nội nhũ (Degree of endosperm chalkiness - DEC). Sự di truyền các tính trạng này và vì vậy được xem là rất phức tạp (Pooni và ctv., 1992; Zhu and Weir, 1994; Mo, 1995). Theo Del Rosario và ctv. (1968), kết quả cho thấy giá trị PGWC cao đã làm giảm mật độ hạt tinh bột và hạt dễ bị vỡ trong quá trình xay xát.

Trước đây, nhiều nghiên cứu về di truyền độ bạc bụng của gạo tại Ấn Độ và Mỹ cho thấy hạt gạo có điểm trắng ở trung tâm do gen lặn *wc* điều khiển và độ bạc trắng ở bụng hạt do gen lặn *wb* điều khiển (USDA, 1963). Một số nghiên cứu khác cho rằng hạt đục ở trung tâm là do đơn gen trội quy định (Nagai, 1958; Chalam and Venkatesvarlu 1965). Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu sau này với sự hỗ trợ của công nghệ sinh học, tính trạng bạc bụng của hạt gạo được xác định là điều khiển bởi đa gen. Những gene này chịu tác động của môi trường (Lê Doãn Liên và ctv, 1977) và có thể bị ảnh hưởng do

nhiều yếu tố kết hợp bao gồm: vật lý, sinh hóa, sinh lý, phẩm chất nước, ... (Chen và ctv., 2012).

Nghiên cứu của Trương Bá Thảo, Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu trong việc phân tích biến động di truyền của tính trạng bạc bụng trên hạt lúa đối với các tổ hợp lai IR64/Jasmin và IR64/DS20, cho thấy rằng tỉ lệ bạc bụng là tỉ lệ đa gen và chịu ảnh hưởng môi trường rất mạnh và đề nghị tiếp tục nghiên cứu bằng marker phân tử để tìm ra tính đa hình trong tỷ lệ phân ly của các tổ hợp lai.

Chương 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

* Địa điểm: Các thí nghiệm được thực hiện tại Viện Lúa ĐBSCL, Viện nghiên cứu nông nghiệp công nghệ cao ĐBSCL và tại 6 điểm thuộc 6 tỉnh ĐBSCL bao gồm: Cần Thơ, Hậu Giang, Long An, An Giang, Bạc Liêu và Trà Vinh.

* Thời gian: Thời gian thực hiện từ tháng 01/2013 đến tháng 12/2017.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

* Giống lúa: 105 giống lúa cao sản được thu thập từ ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long được dùng để đánh giá kiểu hình và kiểu gen. Vật liệu được sử dụng để tiến hành lai là các giống lúa được chọn ra từ 105 giống lúa cao sản được thu thập ban đầu. Mẹ: có năng suất cao nhưng hạt gạo bị bạc bụng nhiều gồm OM3673. Bố: có tỉ lệ bạc bụng cấp 0 cao bao gồm: RVT và TLR434. Giống đối chứng là KDML105 và IR50404.

* Hóa chất và trang thiết bị: bao gồm các dụng cụ, thiết bị, hóa chất dùng trong phòng sinh học phân tử, phòng phân tích phẩm chất.

* Chỉ thị phân tử:

- Chỉ thị phân tử sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa hồi giao cải tiến bao gồm Indel5 và RM21938.

- Các chỉ thị sử dụng lập bản đồ di truyền GGT (15 chỉ thị).

2.3. Nội dung nghiên cứu

- Đánh giá vật liệu bố mẹ sử dụng trong nghiên cứu chọn tạo giống lúa phẩm chất cao có bạc bụng thấp

- Chọn tạo quần thể lai hồi giao có tỉ lệ bạc bụng thấp thông qua MAS

- Chọn lọc các quần thể hồi giao BC_nF_2 thông qua lập bản đồ GGT

- Đánh giá và chọn lọc cá thể có độ bạc bụng thấp và năng suất cao trên các quần thể lai hồi giao BC_nF_3 ở các môi trường khác nhau

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp lai tạo: bao gồm phương pháp lai đơn, phương pháp lai hồi giao.

2.4.2. Phương pháp phòng thí nghiệm:

- Tỉ lệ phần trăm bạc bụng được đánh giá theo tiêu chuẩn của IRRI với các cấp độ: cấp 0, cấp 1, cấp 5 và cấp 9.

- Phương pháp đánh giá kiểu gen bằng chỉ thị phân tử theo Nguyễn Thị Lang (2002).

2.4.3. Phương pháp phân tích thống kê và xử lý số liệu:

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2010, phân nhóm di truyền bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 (Adams và Rohlf, 2000), tính tương tác giữa kiểu gen và môi trường bằng phần mềm IRRISTAT.

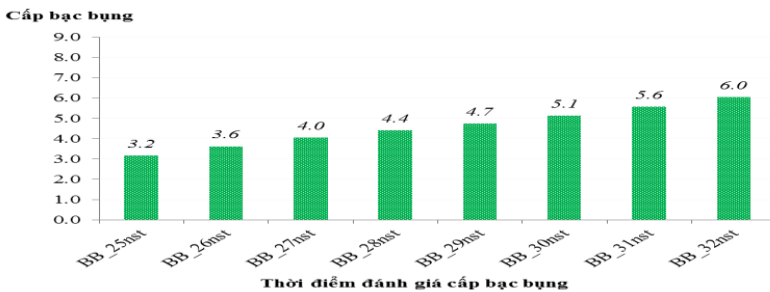
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn lọc bố mẹ cho lai tạo giống lúa có tỷ lệ bạc bụng thấp

3.1.1. Đánh giá độ bạc bụng trên các giống lúa vật liệu lai

Sự thành công trong chọn tạo giống lúa mới không chỉ phụ thuộc vào cách lai và chọn giống mà còn do vật liệu di truyền từ các giống bố mẹ đóng góp. Do đó, việc chọn lựa bố mẹ phù hợp là yếu tố quan trọng quyết định cho đặc tính sau này của con lai. Trong nghiên cứu này, 105 giống/dòng từ Viện Lúa Đồng Bằng Sông Cửu Long được đánh giá độ bạc bụng nhằm tìm kiếm các cặp bố mẹ ưu tú nhất cho công tác lai tạo giống có độ bạc bụng thấp.

Các giống được thu hoạch ở 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 và 32 ngày sau khi lúa trở khoảng 50%. Đánh giá độ bạc bụng được thực hiện ngay khi lúa được thu hoạch và làm khô (độ ẩm ở khoảng 13%). Qua kết quả đánh giá cho thấy độ bạc bụng có xu hướng tăng lên khi lúa được thu hoạch càng muộn sau ngày thứ 25 khi lúa trở 50% (Hình 3.1). Điều này cũng được kết luận trong nhiều nghiên cứu trước đây (Lang và ctv., 2010; Trần Thanh Sơn, 2008; Lê Thu Thủy và ctv., 2005).

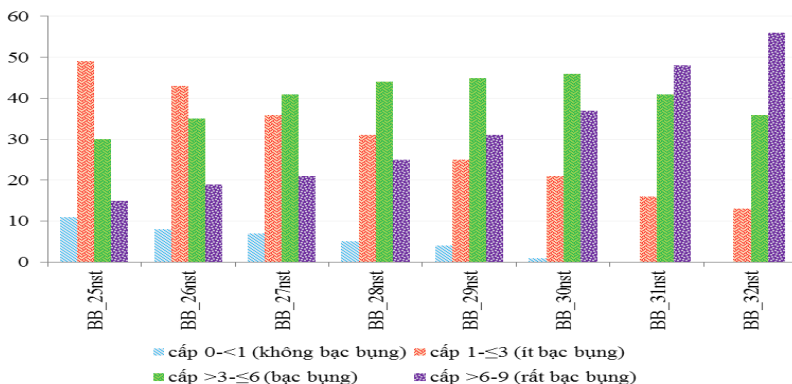


Hình 3.1: Cấp bạc bụng trung bình ở các thời điểm khác nhau

Chú thích: BB: bạc bụng; nst: ngày sau khi lúa trở 50%

Xét cụ thể trên từng cấp bạc bụng, cấp bạc bụng 1-3 (tỷ lệ bạc bụng dưới 10%) có xu hướng giảm trong khi cấp bạc bụng > 3 (tỷ lệ bạc bụng \geq 10%) lại tăng khi thời gian thu hoạch càng dài (Hình 3.2). Khi thu hoạch lúa ở 25-26 ngày sau khi trở 50%, gạo có tỷ lệ

bạc bụng thấp nhất, và ở 29 ngày trở về sau, bạc bụng gạo tăng lên rất nhanh. Điều này cho thấy, việc thu hoạch đúng thời điểm sẽ cho tỷ lệ gạo trong cao hơn so với thu hoạch trễ.



Hình 3.2: Sự biến động của các cấp bạc bụng theo thời gian thu hoạch

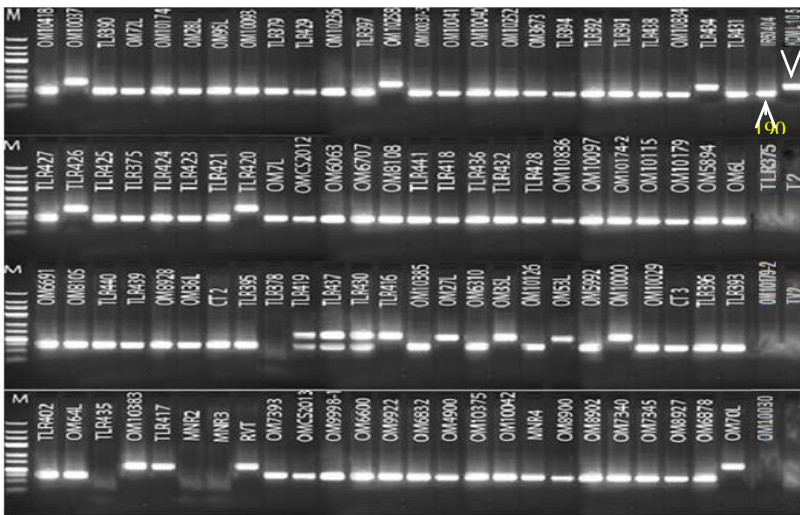
Chú thích: BB: bạc bụng; nst: ngày sau khi lúa trổ 50%

3.1.2. Phân nhóm di truyền các giống lúa vật liệu lai dựa trên kết quả đánh giá cấp bạc bụng

Việc phân nhóm di truyền kiểu hình giúp tìm ra nhanh chóng các nhóm giống/dòng phù hợp với mục tiêu đặt ra trong chọn giống. Trong nghiên cứu này, 105 giống lúa được phân nhóm di truyền dựa trên cấp bạc bụng. Qua phân tích cây phân nhóm di truyền, các giống trong nhóm A1 là các giống có tỷ lệ bạc bụng rất thấp, thích hợp làm cá thể cho (donor) tính trạng hạt trong. Trong đó, các giống ưu tú nhất là **TLR434** và **RVT** (cấp bạc bụng 0-1), không bạc bụng hoặc bạc bụng rất thấp.

3.1.3. Phân tích kiểu gen liên quan đến độ bạc bụng của các giống lúa vật liệu lai

Trong rất nhiều tính trạng về phẩm chất gạo, tính trạng bạc bụng luôn được quan tâm của các nhà khoa học và thị trường. Tuy nhiên, tỷ lệ bạc bụng là tính trạng đa gen và chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện môi trường (Sun và ctv., 2015; Trần Thanh Sơn, 2008). Trong nghiên cứu này, hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 liên kết với gen qui định tính trạng bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7 (Lang và ctv., 2015; Zhou và ctv., 2009) được sử dụng để đánh giá kiểu gen của các giống lúa.



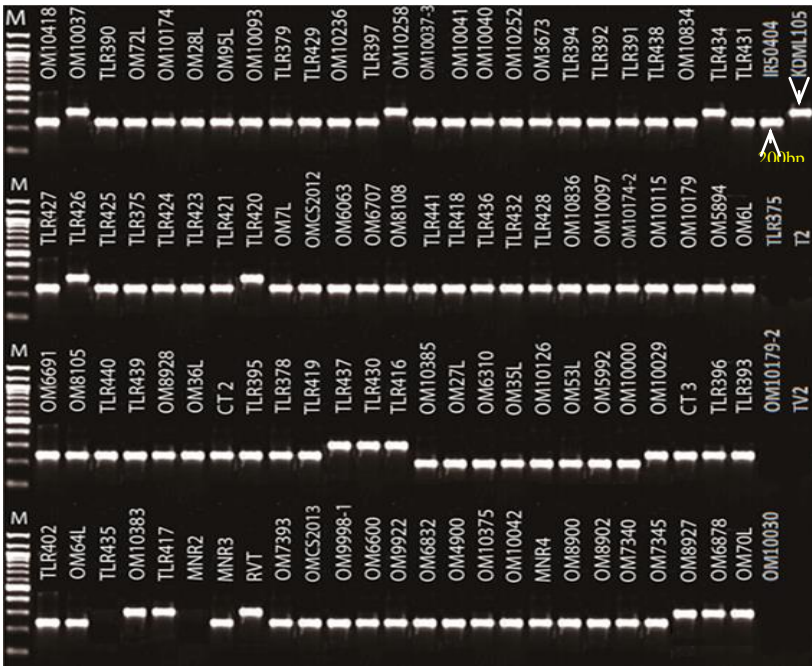
Hình 3.4: Sản phẩm PCR của các mẫu giống lúa tại Indel5 định vị trên NST 7

Chú thích: M: thang chuẩn (IKK^+)

Đối với chỉ thị phân tử Indel5, sản phẩm PCR được khuếch đại đạt 91,4% (9/105 mẫu không thể hiện băng hình). Kết quả sản phẩm PCR với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3% cho thấy đa hình với sự hiện diện của 2 alen với kích thước phân tử là 190bp và 200bp.

Giống đối chứng KDML105 ít bạc bụng (tỷ lệ bạc bụng <10%) và cho băng hình ở kích thước 200bp, trong khi đó, giống IR50404 rất bạc bụng (tỷ lệ bạc bụng >10%) có vị trí là 190bp. Điều này cho thấy vị trí 200bp là vị trí tương ứng với vị trí đánh dấu gen qui định tính trạng ít bạc bụng ở gạo.

Kết quả điện di ở hình 3.4 cho thấy 15 giống có vị trí băng 200bp hay mang gen ít bạc bụng. Các giống còn lại có băng hình ở vị trí 190bp (không mang gen mục tiêu) hay không biểu hiện băng hình.



Hình 3.5: Sản phẩm PCR các mẫu giống lúa tại RM21938 định vị trên NST 7

Chú thích: M: thang chuẩn ($1Kb^+$)

Đối với chỉ thị phân tử RM21938, số giống cho băng hình chiếm 98/105 giống hay hiệu suất khuếch đại DNA đạt khoảng 93,3%. Trên gel điện di 3%, hai kích thước băng hình ở 200bp và 210 bp đã được

ghi nhận (Hình 3.5). Sự đa hình này phân biệt giữa giống ít bạc bụng và bạc bụng. Tương ứng với băng hình 210bp là giống đối chứng dương KDML105 (ít bạc bụng), đây là vị trí biểu hiện cho giống mang gen ít bạc bụng. Vị trí 200bp là vị trí thể hiện cho giống không mang gen mục tiêu, tương ứng là vị trí băng của giống đối chứng âm IR50404 (bạc bụng). Trong số 105 mẫu giống khác nhau, kết quả đánh giá gen mục tiêu liên quan tính trạng bạc bụng ở gạo cho thấy 19 giống cho băng hình ở 210bp. Các giống còn lại ở vị trí 200bp (không mang gen) hoặc không cho băng hình. Không có băng hình dị hợp tử xuất hiện trên gel agarose.

Bảng 3.2: Tỷ lệ chính xác của kiểu gen so với kiểu hình dựa trên 2 chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938

Chỉ thị phân tử	Số lượng giống/dòng	Kiểu gen				Tỷ lệ chính xác giữa KG và KH
		Không Bạc bụng	Bạc bụng	Dị Hợp	Không xác định	
Indel5	105	14	79	3	9	66,7% (70/105)
RM21938	105	18	80	0	7	67,6% (71/105)

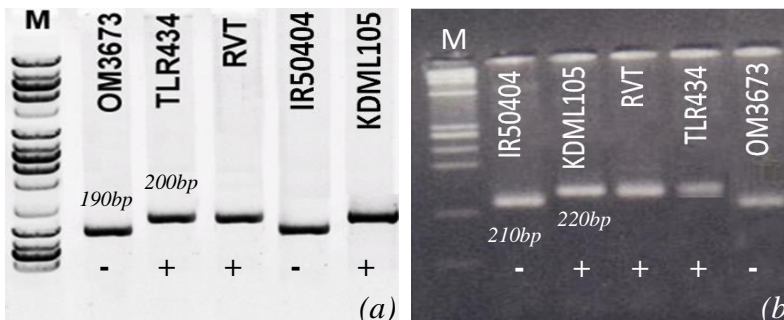
Kết quả đánh giá tỷ lệ chính xác của kiểu gen so với kiểu hình cho thấy chỉ thị phân tử Indel5 đạt 66,7%, trong khi chỉ thị RM21938 là 67,6%. Các kết quả tương tự với kết quả nghiên cứu của Lang và ctv. (2015). Điều này cũng cho thấy rằng việc sử dụng hai chỉ thị Indel5 và RM21938 để đánh dấu hoặc phát hiện gen qui định tính trạng hạt gạo ít bạc bụng là hữu dụng và có ý nghĩa.

Như vậy, qua phân tích kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938, các giống biểu thị mang gen ít bạc bụng (đồng hợp tử) đồng nhất ở cả hai chỉ thị bao gồm các giống KDML105, OM10037,

OM10258, OM10383, OM70L, TLR416, TLR417, TLR420, TLR426, TLR434 và RVT. Các giống này thuộc nhóm A2, là ứng cử viên của giống cho gen ít bạc bụng (giống bố). Các giống thuộc nhóm A1 và A3 mang gen ít bạc bụng nhưng ở thể dị hợp tử hoặc chỉ thể hiện mang gen mục tiêu với chỉ thị này nhưng không mang gen đối với chỉ thị khác.

3.1.4. Chọn bố mẹ cho lai tạo giống có độ bạc bụng thấp

Công tác lai tạo giống đòi hỏi bước đầu tiên và quan trọng là chọn lọc bố mẹ phù hợp. Việc làm này tạo ra thế hệ con lai kế thừa các tính trạng tốt của bố mẹ, phát huy ưu thế lai. Trong nghiên cứu này, giống được chọn làm mẹ là OM3673 với các đặc tính di truyền mong muốn là năng suất cao, thích nghi rộng, phẩm chất khá tốt. Tuy nhiên, nhược điểm cần khắc phục của giống mẹ là tỷ lệ bạc bụng cao, không mang gen ít bạc bụng (Hình 4.8). Giống được chọn làm bố là TLR434 và RVT với đặc tính di truyền mong muốn là tỷ lệ bạc bụng rất thấp và mang gen ít bạc bụng (Hình 3.8). Hai quần thể con lai mong đợi là (OM3673 và TLR434) và (OM3673 và RVT).



Hình 3.8: Sản phẩm PCR tại locus Indel5 (a) và RM21938 (b) trên NST 7

Ghi chú: M: Thang chuẩn DNA ($1Kb^+$)

3.2. Chọn tạo quần thể lai hồi giao liên quan tính trạng hạt gạo ít bạc bụng nhờ chỉ thị phân tử

3.2.1. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/RVT//OM3673

Quần thể hồi giao giữa OM3673 (giống mẹ) và RVT (giống bố) bắt đầu được lai tạo từ năm 2013 và các cá thể con lai liên tục được chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử cho đến thế hệ BC₃. Các cá thể ở mỗi thế hệ được lựa chọn dựa trên kiểu hình bạc bụng và kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938. Số lượng cá thể được tạo ra và chọn lọc được ghi nhận cụ thể ở Bảng 3.3.

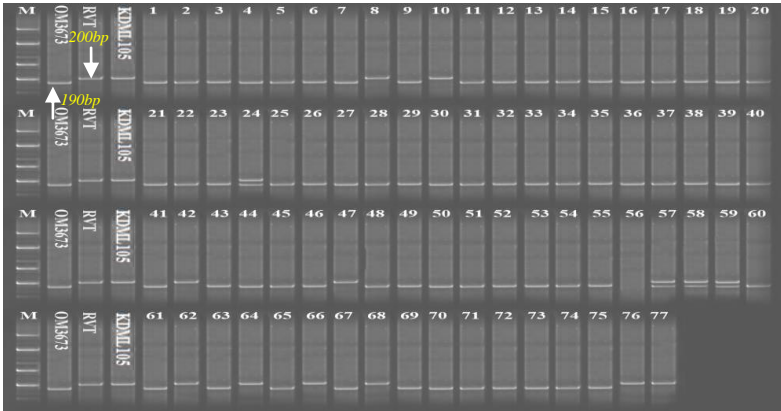
Bảng 3.3: Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F₁ đến BC₃

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể được chọn đánh giá KG	Số cá thể được chọn thông qua đánh giá KG
F ₁	138		
BC ₁ F ₁	107		
BC ₁ F ₂	327	100	5
BC ₂ F ₁	159		
BC ₂ F ₂	255	100	14
BC ₃ F ₁	350		
BC ₃ F ₂	201	77	10

*** Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC₃ của tổ hợp OM3673/RVT//OM3673**

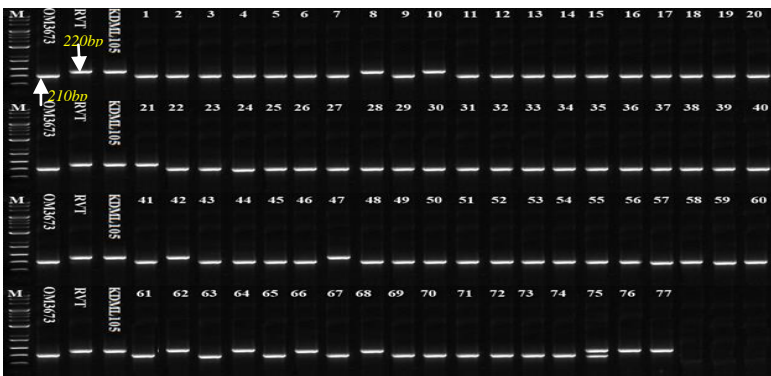
Tương tự như các quần thể BC₁ và BC₂, quần thể BC₃ của tổ hợp lai OM3673/RVT//OM3673 được lai tạo trong nhà lưới trong vụ Thu Đông 2014. Nhằm mục đích tìm kiếm gen đích biểu hiện trên cá thể con lai, quần thể này cũng cho tự thụ đến thế hệ BC₃F₂. Bảy mươi bảy (77) cá thể khỏe được lựa chọn từ quần thể bao gồm 255 cây. Hai chỉ thị Indel5 và RM21938 được sử dụng để dò tìm gen mục tiêu

trên các cá thể lúa. Kết quả sản phẩm PCR với hai chỉ thị phân tử trên gel agarose 3% được thể hiện ở hình 3.13 và hình 3.14. Vị trí băng cho cá thể mang gen mục tiêu là 200 bp với chỉ thị Indel5 và 220 bp với chỉ thị RM21938.



Hình 3.13: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC₃F₂ với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-77: các cá thể BC₃F₂



Hình 3.14: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/RVT//OM3673 ở thế hệ BC₃F₂ với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-77: các cá thể BC₃F₂

Mức độ tương đồng giữa kết quả đánh giá kiểu gen của hai chỉ thị trên trong đánh giá này đạt gần như hoàn hảo (90,9%). Số lượng cá thể dị hợp cũng giảm dần so với các thế hệ trước. Điều này cũng cho thấy mức độ ngày càng ổn định về mặt di truyền của các thế hệ lai tạo hồi giao càng nhiều lần. Các cá thể có tiềm năng cho gen ít bạc bụng được đánh giá bằng hai chỉ thị Indel5 và RM21938 là cá thể số 8, 10, 42, 47, 62, 64, 66, 68, 76 và 77.

Mười (10) cá thể trên được đánh dấu, thu hoạch ở thời điểm 25 ngày sau khi lúa trổ và đánh giá bạc bụng. Hầu hết các dòng có tỷ lệ bạc bụng dưới 10%, cấp bạc bụng trung bình của các dòng này đạt 4,07, trong đó, giống mẹ OM3673 là ở cấp 5,35 và giống bố cho gen mục tiêu (RVT) có độ bạc bụng ở cấp 1,31. Trong số 10 dòng được đánh giá bạc bụng ghi nhận hai dòng (dòng số 8 và 42) có cấp bạc bụng thấp nhất (gạo ít bạc bụng nhất) và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại. Hai dòng này được chọn lọc để phát triển ngoài đồng ruộng và trên diện rộng.

3.2.2. Kết quả lai tạo quần thể hồi giao OM3673/TLR434//OM3673

Quần thể hồi giao giữa OM3673 (giống mẹ) và TLR434 (giống bố) bắt đầu được lai tạo từ cuối năm 2013 và các cá thể con lai liên tục được chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử cho đến thế hệ BC₂. Các cá thể ở mỗi thế hệ được lựa chọn dựa trên kiểu hình bạc bụng và kiểu gen với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938. Số lượng cá thể được tạo ra và chọn lọc được ghi nhận cụ thể ở Bảng 3.5.

Bảng 3.5: Số lượng cá thể chọn lọc qua các thế hệ F₁ đến BC₂

Thế hệ	Tổng số cá thể	Số cá thể được chọn đánh giá kiểu gen	Số cá thể được chọn thông qua đánh giá KG
F ₁	197		
BC ₁ F ₁	244		
BC ₁ F ₂	372	100	7
BC ₂ F ₁	156		
BC ₂ F ₂	434	100	4

*** Kết quả chọn tạo quần thể hồi giao BC₂ của tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673**

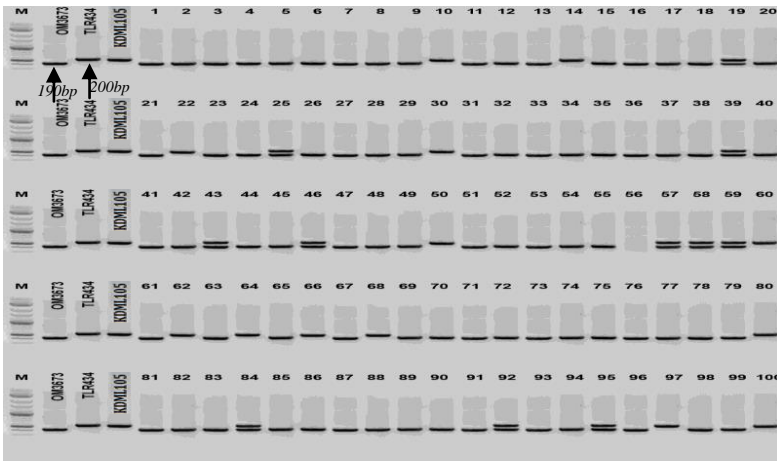
Trong vụ Thu Đông 2014, quần thể BC₂F₁ được tạo ra với 156 cá thể. Các cá thể này được cho tự thụ đến thế hệ BC₂F₂, bao gồm 434 cá thể cây. Ở thế hệ BC₂F₂, đánh giá kiểu gen liên quan đến tính trạng bạc bụng được thực hiện với 100 cá thể cây khỏe mạnh được lựa chọn. Tương tự như ở thế hệ BC₁, hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 cũng được sử dụng để tìm gen mục tiêu. Trên gel agarose 3%, vị trí băng thể hiện cá thể mang gen đích là ở kích thước 200 bp đối với Indel5 và 220 bp đối với RM21938.

Đối với chỉ thị Indel5, kết quả sản phẩm gen được thể hiện trên Hình 3.18. Các cá thể mang gen mục tiêu đồng hợp (vị trí băng hình ở 200 bp) chiếm 13%, bao gồm các cá thể số 10, 14, 22, 30, 50, 60, 62, 64, 66, 68, 80, 97 và 100. Trong khi đó, cá thể dị hợp gen đích chiếm 11%, còn lại các cá thể khác không biểu hiện mang gen đích.

Đối với chỉ thị RM21938, sản phẩm PCR trên gel agarose 2,5% biểu hiện đa hình với băng 210 bp và 220 bp (Hình 3.19). Trong đó, vị trí băng tương ứng mang gen mục tiêu là 220 bp (vị trí của KDML105, TLR434). Các cá thể mang gen đích đồng hợp bao gồm cá thể số 2, 14, 30, 50, 57, 59, 60, 61, 63, 65, 67, 79, 80, 89, 95 và 96

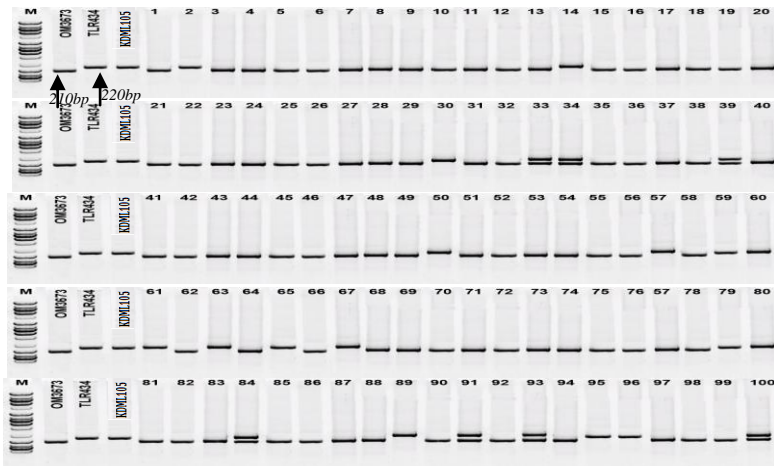
(chiếm 16%). Bảy (7) cá thể mang gen dị hợp và các cá thể khác biểu hiện không mang gen mục tiêu.

Phân tích kiểu gen của quần thể BC₂F₂ với hai chỉ thị phân tử Indel5 và RM21938 cho thấy mức độ tương đồng kết quả đạt 70%. Các cá thể mang gen đồng hợp (AA) được chọn lọc qua phân tích kiểu gen là cá thể 14, 30, 50, 60 và 80. Các dòng này được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo, các dòng khác mang gen đích nhưng không đồng nhất giữa hai chỉ thị hoặc mang gen dị hợp được lưu trữ lại.



Hình 3.18: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434/OM3673 ở thế hệ BC₂F₂ với chỉ thị Indel5 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-100: các cá thể BC₂F₂



Hình 3.19: Sản phẩm gen của quần thể OM3673/TLR434//OM3673 ở thể hệ BC₂F₂ với chỉ thị RM21938 trên gel agarose 3%

Chú thích: M: thang chuẩn (1 Kb⁺); 1-100: các cá thể BC₂F₂

Năm (5) dòng (14, 30, 50, 60 và 80) được đánh dấu, thu hoạch và phân tích cấp độ bạc bụng, với hai đối chứng là OM3673 và TLR434. Kết quả đánh giá cho thấy đa số các dòng có tỷ lệ bạc bụng thấp, trong đó, 4 dòng có tỷ lệ bạc bụng trung bình rất thấp là dòng BC₂F₂-30 (cấp 1,81), BC₂F₂-80 (cấp 1,93), BC₂F₂-50 (cấp 2,39) và BC₂F₂-14 (cấp 2,51). Riêng dòng BC₂F₂-60, hạt bạc bụng cấp 9 cao (30%), dòng này sẽ không được chọn để tiếp tục phát triển giống ít bạc bụng.

3.4. Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng

Các dòng BC₃F₃ tiềm năng từ các nghiên cứu trên tiếp tục được chọn lọc ngoài đồng qua một vài thế hệ tự thụ. Các dòng này được chọn theo phương pháp chọn lọc dòng thuần.

Các dòng thuần đạt được sau khi chọn lọc bao gồm 11 dòng: tổ hợp OM3673/RVT//OM3673 (BC₃F₃-8-10-8; BC₃F₃-14-5-1; BC₃F₃-24-25; BC₃F₃-33-74; BC₃F₃-42-27; BC₃F₃-57-2-6 và BC₃F₃-63-7-2); tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673 (BC₂F₃-14-1; BC₂F₃-30-10; BC₂F₃-50-80 và BC₃F₃-80-20-3).

Mười một (11) dòng triển vọng trên được khảo nghiệm ở 6 vùng sinh thái khác nhau để đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên năng suất và tỷ lệ bạc bụng của các dòng này.

3.4.1. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất trong vụ Đông Xuân 2016-2017

Thí nghiệm tại 6 địa điểm đại diện cho các vùng lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long: Hậu Giang, An Giang, Long An, Cần Thơ, Trà Vinh và Bạc Liêu.

Kết quả đánh giá năng suất lúa qua 6 địa điểm của bộ dòng lúa triển vọng trong vụ Đông Xuân 2016-2017 được trình bày qua Bảng 3.7. Xét về giống lúa, hầu hết các dòng lai có năng suất trung bình cao hơn giống RVT (6,94 tấn/ha), TLR434 (6,99 tấn/ha), một số dòng cao hơn cả đối chứng OM3673 (7,52 tấn/ha). Các dòng có năng suất cao nhất là: BC₃F₃-33-74 (8,03 tấn/ha), BC₃F₃-63-7-2 (7,82 tấn/ha), BC₃F₃-42-27 (7,68 tấn/ha), BC₃F₃-24-25 (7,62 tấn/ha) thuộc tổ hợp OM3673/RVT//OM3673 và dòng BC₂F₃-30-10 (8,06 tấn/ha), BC₂F₃-14-1 (7,83 tấn/ha) thuộc tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673, cao hơn đối chứng OM3673. Sự khác nhau về năng suất của các dòng rất có ý nghĩa tại mức 95%, dựa vào thang đánh giá năng suất thông qua phân tích nhiều điểm.

Bảng 3.7: Năng suất (tấn/ha) của bộ dòng lúa triển vọng tại 6 điểm vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng	Năng suất (tấn/ha)						
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	Trung bình
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	7,32	7,21	7,45	7,95	7,11	7,64	7,45 ef
2	BC ₂ F ₃ -14-1	7,71	7,59	7,84	8,34	7,49	8,02	7,83 b
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	7,69	7,58	7,82	8,32	7,48	8,01	7,82 b
4	BC ₃ F ₃ -33-74	7,91	7,79	8,04	8,54	7,69	8,22	8,03 a
5	BC ₃ F ₃ -24-25	7,50	7,38	7,62	8,12	7,28	7,81	7,62 cd
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	7,29	7,18	7,42	7,92	7,08	7,61	7,42 ef
7	BC ₂ F ₃ -30-10	7,94	7,81	8,06	8,56	7,71	8,24	8,05 a
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	7,20	7,08	7,32	7,82	6,97	7,51	7,32 f
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	7,19	7,06	7,31	7,81	6,96	7,49	7,30 fg
10	BC ₃ F ₃ -42-27	7,56	7,44	7,69	8,19	7,34	7,87	7,68 bc
11	BC ₂ F ₃ -50-80	7,19	7,07	7,31	7,81	6,97	7,51	7,31 fg
12	RVT	6,82	6,69	6,94	7,44	6,59	7,13	6,94 h
13	TLR434	6,87	7,75	7,00	7,50	6,65	7,18	7,16 g
14	OM3673	7,40	7,27	7,52	8,02	7,17	7,71	7,52 de
<i>NSTB (tấn/ha)</i>		7,40 d	7,35 d	7,52 c	8,02 a	7,18 e	7,71 b	
<i>I_j</i>		-0,132	-0,181	-0,007	0,493	-0,353	0,180	

Chú thích: I_j: Chỉ số môi trường; NSTB: Năng suất trung bình

Xét về địa điểm khảo nghiệm, điểm có năng suất trung bình cao nhất là An Giang (8,02 tấn/ha), Trà Vinh (7,71 tấn/ha), kế đến là Long An (7,52 tấn/ha). Phân tích ANOVA năng suất 14 giống lúa qua 6 môi trường thì sự khác biệt về năng suất các giống rất có ý nghĩa thống kê ở mức 99%.

Qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường cho thấy trong vụ Đông Xuân 2016-2017, nhóm giống cho năng suất và thích nghi tốt bao gồm các dòng **BC₂F₃-50-80**; **BC₃F₃-14-5-1**; **BC₃F₃-63-7-2**; **BC₂F₃-30-10** và **BC₃F₃-42-27**. Môi trường canh tác ở An Giang và Cần Thơ là thuận lợi nhất cho sự phát triển của bộ giống trong mùa vụ này.

3.4.2. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường của các dòng lúa triển vọng dựa trên tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Đông Xuân 2016-2017

Trong vụ Đông Xuân 2016-2017, bên cạnh năng suất, tương tác giữa kiểu gen và môi trường dựa trên tỷ lệ bạc bụng cũng được phân tích. Bộ dòng/giống lúa được khảo nghiệm qua 6 vùng sinh thái khác nhau (Hậu Giang, An Giang, Long An, Cần Thơ, Trà Vinh và Bạc Liêu). Kết quả của tỷ lệ bạc bụng ở các địa điểm khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức 99% về giả thuyết tuyến tính của môi trường, giống, giống tương tác với môi trường.

Bảng 3.9: Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%) của các dòng lúa triển vọng tại 6 vùng sinh thái khác nhau trong vụ Đông Xuân 2016-2017

TT	Tên dòng/giống	Tỷ lệ gạo không bạc bụng (%)						Trung Bình
		Cần Thơ	Hậu Giang	Long An	An Giang	Bạc Liêu	Trà Vinh	
1	BC ₃ F ₃ -8-10-8	85,21	86,40	83,60	85,90	82,89	82,46	84,41 b
2	BC ₂ F ₃ -14-1	79,53	80,72	77,92	80,67	77,21	76,78	78,81 c
3	BC ₃ F ₃ -63-7-2	77,98	79,17	76,38	78,67	75,66	75,23	77,18 d
4	BC ₃ F ₃ -33-74	78,85	80,04	77,24	79,02	76,53	76,10	77,96 cd
5	BC ₃ F ₃ -24-25	78,33	79,52	76,73	75,22	76,01	75,58	76,90 d
6	BC ₃ F ₃ -57-2-6	74,53	75,72	72,92	75,97	72,21	79,78	75,19 e
7	BC ₂ F ₃ -30-10	75,28	76,47	73,67	78,55	72,96	72,53	74,91 e
8	BC ₃ F ₃ -14-5-1	77,86	79,05	76,25	78,55	75,54	75,11	77,06 d
9	BC ₂ F ₃ -80-20-3	74,87	76,05	73,26	75,56	72,54	72,12	74,07 e
10	BC ₃ F ₃ -42-27	74,80	75,99	73,19	75,49	72,48	72,05	74,00 e
11	BC ₂ F ₃ -50-80	68,25	69,44	66,64	68,94	65,93	65,50	67,45 f
12	RVT	94,10	95,28	92,49	94,78	91,77	91,35	93,30 a
13	TLR434	93,10	94,96	92,16	94,46	91,45	91,82	92,99 a
14	OM3673	40,26	41,44	38,65	40,95	37,93	37,51	39,46 g
TB (%)		76,64ab	77,88a	75,08c	77,34b	74,37c	74,57c	
I _J		0,662	1,898	-0,898	1,361	-1,612	-1,411	

Chú thích: I_J: Chỉ số môi trường; TB: Tỷ lệ bạc bụng trung bình

Xét về giống lúa, hầu hết các dòng/giống lai có tỷ lệ không bạc bụng trung bình cao hơn giống đối chứng OM3536 (39,46%). Sự khác nhau về tỷ lệ bạc bụng của các dòng/giống rất có ý nghĩa tại mức 95%. Các dòng lúa có tỷ lệ gạo không bạc bụng hầu hết lớn hơn

70%, trong đó, các dòng có tỷ lệ cao nhất là dòng BC₃F₃-8-10-8 (84,4%), BC₂F₃-14-1 (78,8%), BC₃F₃-33-74 (78,0%), ...

Điểm canh tác có tỷ lệ gạo không bạc bụng trung bình cao nhất là Hậu Giang (77,88%) và An Giang (77,34%), thấp nhất là vùng Bạc Liêu (74,37%).

Như vậy, qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên tính trạng tỷ lệ gạo không bạc bụng, các dòng triển vọng có tỷ lệ gạo không bạc bụng khá cao và tương đương nhau, khác biệt có ý nghĩa với các giống đối chứng bố mẹ. Các dòng lúa chỉ thể hiện tính khác nhau rõ rệt ở tính ổn định và thích nghi. Do đó, qua phân tích đa chiều, các dòng sau đây là triển vọng nhất: **BC₃F₃-24-25**, **BC₂F₃-30-10**, **BC₃F₃-57-2-6** và **BC₃F₃-8-10-8**.

Trong vụ Đông Xuân 2016-2017, 11 dòng lúa triển vọng thuộc hai tổ hợp lai hồi giao OM3673/RVT//OM3673 và OM3673/TLR434//OM3673 được phân tích tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Tùy thuộc vào tính trạng phân tích mà các dòng biểu hiện giá trị, sự ổn định và thích nghi khác nhau. Trong đó, một số dòng vẫn hội tụ đủ các tính trạng tốt bao gồm tỷ lệ hạt gạo không bạc bụng cao, năng suất cao, ổn định và thích nghi tốt, đó là dòng **BC₂F₃-30-10**. Đặc biệt, dòng này thích nghi với điều kiện bất lợi với $b_1 < 1$, có nghĩa là, trong điều kiện canh tác thuận lợi hay bất lợi, dòng này vẫn cho năng suất cao và gạo ít bạc bụng.

Tương tự, qua phân tích tương tác kiểu gen và môi trường dựa trên năng suất và tỷ lệ gạo không bạc bụng trong vụ Hè Thu 2017, các dòng hội tụ nhiều đặc tính tốt như năng suất cao, tỷ lệ bạc bụng thấp, ổn định và thích nghi tốt bao gồm: **BC₃F₃-8-10-8**, **BC₂F₃-14-1**, **BC₃F₃-63-7-2**, **BC₃F₃-33-74**, **BC₂F₃-30-10**.

Tóm lại, 11 dòng triển vọng cho kết quả khác nhau về năng suất và tỷ lệ gạo không bạc bụng khi phân tích trong tác kiểu gen và môi trường trong hai vụ canh tác liên tiếp. Một số dòng cho kết quả tốt nhất ở vụ Đông Xuân 2016-2017 nhưng không phải là tốt nhất trong vụ Hè Thu 2017. Vì vậy, tùy vào đặc tính từng giống mà sự chọn lọc cũng thay đổi theo từng đặc điểm môi trường. Qua hai vụ canh tác, dòng $BC_2F_3-30-10$ được đánh giá là thích hợp nhất cho vụ Đông Xuân và dòng $BC_3F_3-8-10-8$ là dòng ưu tú nhất cho vụ Hè Thu.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

1. Kết quả đã được thực hiện trên 105 mẫu giống lúa cao sản, trong đó: OM3673 được chọn làm giống mẹ tái tục vì là giống có năng suất cao, ổn định và thích nghi rộng nhưng tỉ lệ gạo bạc bụng rất cao; giống cho gen đích bao gồm RVT và TLR434 được dùng làm bố, đây là các giống có tỉ lệ gạo bạc bụng rất thấp.

2. Chọn dòng triển vọng nhờ phương pháp hồi giao cải tiến cho thấy: ở thế hệ BC_3F_2 của quần thể hồi giao OM3673/RVT//OM3673, kết quả ghi nhận có 10 cá thể mang gen mục tiêu đồng hợp tử ở cả 2 chỉ thị Indel5 và RM21938, tuy nhiên, chỉ có 2 dòng (BC_3F_2-8 và BC_3F_2-42) được chọn tiếp tục nghiên cứu vì có cấp bạc bụng thấp nhất. Tương tự, quần thể BC_2F_2 của OM3673/TLR434//OM3673, có 5 cá thể mang gen đích đồng hợp tử nhưng chỉ có 4 dòng (BC_2F_2-14 , BC_2F_2-30 , BC_2F_2-50 và BC_2F_2-80) được chọn lựa dựa trên gạo ít bạc bụng nhất.

3. Qua kết quả phân tích bản đồ di truyền GGT, 11 cá thể cho thấy mang vùng gen mục tiêu trên nhiễm sắc thể số 7 (0-140 cM), đồng hợp theo bộ gen của bố (RVT, TLR434) được chọn để tiếp tục

phát triển. 11 dòng lúa bao gồm dòng BC₃F₃-8, BC₃F₃-14, BC₃F₃-24, BC₃F₃-33, BC₃F₃-42, BC₃F₃-57 và BC₃F₃-63 (thuộc tổ hợp OM3673/RVT//OM3673); dòng BC₂F₃-14, BC₂F₃-30, BC₂F₃-50 và BC₂F₃-80 (thuộc tổ hợp OM3673/TLR434//OM3673).

4. Kết quả phân tích tương tác kiểu gen và môi trường của 11 dòng lúa triển vọng dựa trên năng suất và tỷ lệ gạo không bạc bụng trong hai vụ canh tác liên tiếp (Đông Xuân 2016-2017 và Hè Thu 2017) cho thấy 11 dòng này có năng suất cao tương đương giống mẹ (OM3673) và có tỷ lệ gạo bị bạc bụng được cải thiện rất nhiều, khác biệt có ý nghĩa so với OM3673, khả năng ổn định cao và thích nghi đa dạng với môi trường canh tác. Trong số đó, các dòng biểu hiện tốt nhất là dòng **BC₂F₃-30-10** và **BC₃F₃-8-10-8**.

Phương pháp chọn lọc con lai của quần thể hồi giao cải tiến, thông qua chỉ thị phân tử định vị trên nhiễm sắc thể số 7, mang hiệu quả cao và rút ngắn thời gian lai tạo.

2. Đề nghị

Tiếp tục phát triển các dòng lúa triển vọng mang gen mục tiêu không bạc bụng trên nhiễm sắc thể số 7, với các nội dung khoa học sâu hơn về đánh giá kiểu gen nhờ giải trình tự (GBS: genotyping by sequencing), để kết quả chọn dòng chính xác hơn trong tương lai.

Bên cạnh đánh giá bạc bụng theo thời gian thu hoạch, nghiên cứu thêm bạc bụng theo thời gian lưu trữ dòng/giống lúa cũng như bạc bụng theo các vị trí hạt trên bông.

NHỮNG CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. Trương Ánh Phương, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Ngọc Ân (2016). “Khai thác vật liệu khởi đầu cho giống lúa không bạc bụng”. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông Nghiệp Việt Nam*, số 6, tr. 3-6.
2. Trương Ánh Phương, Nguyễn Thị Lang, Phạm Thị Thu Hà, Bùi Chí Bửu (2017). “Ứng dụng dấu chuẩn phân tử để chọn hạt gạo không bạc bụng trong quần thể lai hồi giao của tổ hợp lúa OM3673/RVT//OM3673”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 2, tr.20-27.
3. Nguyen Thi Lang, Phan Ho Truc Giang, Pham Thi Thu Ha, Tran Bao Toan, Truong Anh Phuong, Bui Chi Buu (2017). “Identifying the Grain Chalkiness Gene Using Molecular Marker Techniques in Rice (*Oryza sativa* L.)”. *International Letters of Natural Sciences*,(63), pp. 18-26.
4. Trương Ánh Phương, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Ngọc Ân, Bùi Chí Bửu (2018). “Nghiên cứu sự tương tác kiểu gen và môi trường của bộ giống lúa không bạc bụng tại đồng bằng sông Cửu Long”. *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học và Công nghệ chuyên ngành Trồng trọt, Bảo vệ thực vật giai đoạn 2013-2018*, tr.18-28.
5. Trương Ánh Phương, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Ngọc Ân, Bùi Chí Bửu (2019). “Nghiên cứu sự tương tác kiểu gen và môi trường của tổ hợp lúa lai hồi giao tại Đồng bằng sông Cửu Long”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 1, tr.3-10.
6. Trương Ánh Phương, Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Thị Ngọc Ân, Bùi Chí Bửu (2019). “Nghiên cứu sự tương tác kiểu gen và môi trường của tổ hợp lúa lai hồi giao tại đồng bằng sông Cửu Long”. *Kỷ yếu Hội thảo Khoa học quốc gia Nghiên cứu khoa học ở trường đại học thời kỳ cách mạng công nghiệp 4.0*, tr.186-199.