

ĐÁNH GIÁ ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC, CHẤT LƯỢNG VÀ XÁC ĐỊNH SỰ CÓ MẶT CỦA GEN LIÊN KẾT VỚI TỔNG HỢP ANTHOCYANIN CỦA MỘT SỐ DÒNG LÚA CẨM MỚI

Nguyễn Thị Hương⁵, Trần Thiện Long¹, Lê Văn Huy², Nguyễn Thị Kim Dung²
Nguyễn Quang Tín³, Trần Mạnh Cường³, Trần Thị Huyền², Phạm Văn Thuyết⁴, Trần Văn Quang^{1*}

¹*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

²*Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

³*Vụ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*

⁴*Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*

⁵*Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: tvquang@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 26.08.2021

Ngày chấp nhận đăng: 21.01.2022

TÓM TẮT

Gạo cẩm đang được sử dụng như một loại thực phẩm chức năng giúp cải thiện sức khỏe con người. Chọn tạo giống lúa cẩm có thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, chất lượng tốt, hàm lượng anthocyanin cao và nhiễm nhẹ sâu bệnh là hết sức cần thiết. Thí nghiệm được tiến hành để đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất và chất lượng của một số dòng lúa cẩm mới tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Ứng dụng chỉ thị phân tử SSR để xác định gen kiểm soát hàm lượng anthocyanin trong mẫu gạo lúa cẩm. Kết quả đánh giá 25 dòng đã lựa chọn được 7 dòng lúa cẩm có triển vọng là C1, C12, C14, C18, C19, C21 và C25. Các dòng triển vọng có thời gian sinh trưởng 109-117 ngày trong vụ mùa, năng suất thực thu từ 6,15-8,05 tấn/ha, tỷ lệ gạo xay 74-80%, chiều dài hạt gạo từ 6,4-6,7mm, vỏ cám màu đen. Trong 7 dòng triển vọng đã chọn được dòng lúa nếp cẩm ưu tú C1 có hàm lượng amylose đạt 3,88%, hàm lượng anthocyanin đạt 619 mg/100g chất khô và mang cả 3 gen *Kala1*, *Kala3*, *Kala4*. Như vậy, chọn tạo giống lúa cẩm có hàm lượng anthocyanin cao cần sử dụng chỉ thị phân tử SSR để kiểm tra sự có mặt của 3 gen *Kala1*, *Kala3* và *Kala4*.

Từ khóa: Lúa cẩm, lúa nếp cẩm, hàm lượng anthocyanin, gen *Kala1*, *Kala3* và *Kala4*.

Evaluation of the Agronomic Traits, Quality and the Presence of Genes Linked to Anthocyanin of Newly Developed Black Rice Lines

ABSTRACT

In Vietnam, black rice varieties are being used as functional food for the improvement of human health. Breeding and selection of black rice varieties with early maturity, high yield, good quality, high anthocyanin content and low susceptibility to pests are of necessity. The present experiments were conducted to evaluate agronomical characteristics, yield and quality of some newly developed black rice lines at Crop Research and Development Institute, Vietnam National University of Agriculture. The SSR molecular markers were used to identified genes controlling anthocyanin content in black rice lines. Out of 25 inbred lines, there are seven promising lines have been selected, viz. as C1, C12, C14, C18, C19, C21 and C25 with a desirable desired growth duration of 109-117 days, yield of 6.15-8.05 tons ha⁻¹ in the summer season, head rice ratio in the range of 74-80%, and grain length of 6.4-6.7mm. Out of 7 promising lines, only one elite line C1 was been selected. The new black rice line C1 that carries markers of *Kala1*, *Kala3*, and *Kala4* genes has an amylose content of 3.88% and, anthocyanin content of 619mg/100g on dry matter basis. This suggested that SSR markers of *Kala1*, *Kala3* and *Kala4* genes could be used for making decision for selection of black rice genotypes with high anthocyanin content.

Keywords: Black rice, black glutinous rice, anthocyanin content, *Kala1*, *Kala3* and *Kala4* genes.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gạo cẩm đang được sử dụng như một loại thực phẩm chức năng, giúp cải thiện sức khỏe con người. Gạo cẩm chứa các chất dinh dưỡng trung lượng, vi lượng, khoáng chất carbohydrate, lipid và protein cao hơn so với gạo trắng (Pratiwi & Purwestri, 2017). Goufo & Trindade (2014) cho rằng gạo cẩm chứa nhiều axit amin, đặc biệt vỏ cám có chứa lượng lớn anthocyanin có khả năng chống oxy hoá, hạn chế viêm nhiễm và sự phát triển của tế bào ung thư. Cơm nếp cẩm kết hợp với một số thức ăn như rau xanh, hoa quả, thịt nạc có thể tăng sự hấp thu sắt cho cơ thể (Maeda & cs., 2014).

Nghiên cứu của Maeda & cs. (2014) cho rằng màu sắc vỏ cám gạo (đỏ, nâu, tím, đen) là do 3 cặp gen nằm trên nhiễm sắc thể (NST) số 1 (*Kala1*), NST3 (*Kala3*) và NST4 (*Kala4*) quy định. Các gen này có tương tác với nhau và quyết định màu sắc của hạt gạo.

Ở Việt Nam, lúa cẩm gieo cấy tập trung ở các tỉnh miền núi phía Bắc, Bắc Trung bộ và đồng bằng sông Cửu Long. Một số giống lúa cẩm trồng ở các tỉnh phía Bắc như: giống địa phương (Nếp cẩm hoa, Nếp cẩm nương, Nếp thơm, Khẩu nua nương, Thảo dược Vĩnh Hòa 1), giống cải tiến (ĐT128, ĐT190, ĐH6)..., có thời gian sinh trưởng 135-145 ngày (vụ xuân), 110-120 ngày (vụ mùa), năng suất 40-45 tạ/ha, nhiễm bệnh đạo ôn trong vụ xuân, bạc lá trong vụ mùa (Đoàn Thanh Quỳnh & cs., 2014; Ngô Thị Hồng Tươi & cs., 2014). Hơn nữa, các giống lúa cẩm địa phương chủ yếu là giống phản ứng quang chu kỳ, năng suất thấp, nhiễm nặng sâu bệnh, đặc biệt là bệnh đạo ôn, bạc lá (Cục Trồng trọt, 2019). Chính vì vậy, việc chọn tạo giống lúa cẩm có thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, chất lượng tốt, hàm lượng anthocyanin cao và nhiễm nhẹ sâu bệnh là hết sức cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm sử dụng 25 dòng lúa cẩm mới do Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam chọn tạo, trong đó: các dòng C1, C17, C18, C19, C20,

C21, C22, C23, C24, C28 được chọn lọc từ quần thể phân ly thông qua đột biến phóng xạ (liều lượng 20 Krad) giống lúa địa phương Nếp Cẩm pẹ ở thế hệ M_6 ; các dòng C2, C3, C5, C8, C9, C12, C13, C14, C27 được chọn lọc từ quần thể phân ly tổ hợp lai hữu tính ĐH11/ĐH6 ở thế hệ F_8 ; các dòng C25, C26, C31 chọn lọc từ quần thể phân ly tổ hợp lai hữu tính E23S/ĐH6 ở thế hệ F_8 ; dòng C30 chọn lọc từ quần thể phân ly tổ hợp lai hữu tính D62-2/ĐH6 ở thế hệ F_8 ; dòng C29 và C32 được chọn lọc từ quần thể phân ly thông qua đột biến phóng xạ (liều lượng 20 Krad) giống lúa địa phương Khẩu Chấm Chuối GLT ở thế hệ M_6 . Giống nếp cẩm ĐH6 do Viện Nghiên cứu và Phát triển Cây trồng chọn tạo và công nhận sản xuất thử năm 2014 (Đoàn Thanh Quỳnh & cs., 2014) được sử dụng làm giống đối chứng.

Sử dụng 3 chỉ thị phân tử SSR là RM3400, RM7210 và RM7405 cho thí nghiệm xác định gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin *Kala1*, *Kala3* và *Kala4* của các dòng lúa cẩm mới. Tên, trình tự và kích cỡ của các chỉ thị SSR được cụ thể tại bảng 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện trong vụ mùa 2019 tại khu thí nghiệm đồng ruộng Viện Nghiên cứu và Phát triển Cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Gia Lâm, Hà Nội. Các dòng lúa cẩm mới được bố trí gieo cấy tuần tự không nhắc lại (Gomez & Gomez, 1984), mỗi dòng cấy với diện tích 10m², mật độ 35 khóm/m², 1 danh/khóm, bón phân với lượng 80kg N: 80kg P₂O₅: 80kg K₂O/ha.

Đánh giá đặc điểm nông sinh học, mức độ nhiễm sâu bệnh trên đồng ruộng của các dòng lúa cẩm mới theo phương pháp của IRRI (2002). Năng suất tích lũy được tính bằng việc lấy năng suất thực thu chia cho thời gian sinh trưởng. Đánh giá mùi thơm trên nội nhũ theo phương pháp của Kibria & cs. (2008). Đánh giá chất lượng gạo, cơm theo các tiêu chuẩn sau: Phân tích tỉ lệ gạo lật, tỉ lệ gạo nguyên, kích thước hạt gạo theo TCVN1643:2008; xác định hàm lượng amylose theo TCVN5716-2:2008; đánh giá chất lượng cơm theo TCVN8373:2010.

Bảng 1. Tên và trình tự của các chỉ thị sử dụng trong phản ứng PCR

Tên chỉ thị	Trình tự xuôi (5'-3')	Trình tự ngược (5'-3')	Nhiễm sắc thể	Kính cỡ (bp)	Gene	Trích dẫn
RM7405	TTGGCTCGCCCATATATAGG	CAGTCAGTCATCACTGGTAGTCG	1	109	<i>Kala1</i>	Maeda & cs. (2014)
RM3400	GGGTGCACCTTTGTATCTGTGC	TGACAGAGGTAAGCAGCAGTAGTCG	3	184	<i>Kala3</i>	
RM7210	CGTGGTGCCTTCTTCAAAG	AAACAGGCGTAGCAGCAAAG	4	158	<i>Kala4</i>	

Bảng 2. Một số đặc điểm nông sinh học của các dòng cấy mới trong vụ mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài lá đồng (cm)	Chiều rộng lá đồng (cm)	Số lá trên thân chính	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài cổ bông (cm)	Mật độ hạt trên bông (hạt/cm)
ĐH6 (đ/c)	117	96,5 ± 2,6	34,9 ± 2,4	2,0	14,8	22,2	2,1	6,7
C1	121	114,2 ± 2,9	31,0 ± 3,4	1,9	15,0	22,4	-1,2	6,4
C2	119	141,6 ± 3,9	40,6 ± 8,2	2,2	14,3	23,0	3,6	7,1
C3	118	122,6 ± 3,6	42,1 ± 3,3	2,1	14,6	24,1	1,7	6,6
C5	109	106,0 ± 2,6	41,4 ± 5,9	1,5	14,3	24,2	-1,5	6,0
C8	122	109,1 ± 4,0	34,1 ± 4,0	2,0	14,5	25,6	0,8	6,3
C9	116	117,0 ± 3,7	31,3 ± 3,8	2,2	14,6	23,5	3,4	6,8
C12	127	114,6 ± 2,6	41,6 ± 7,2	2,1	14,8	24,8	2,3	5,5
C13	122	120,8 ± 3,2	42,9 ± 5,5	2,0	14,6	24,3	2,6	5,8
C14	115	103,5 ± 3,9	30,0 ± 3,9	1,9	14,2	23,4	5,3	6,7
C17	112	102,0 ± 2,8	44,0 ± 3,4	1,7	14,3	24,3	3,2	5,6
C18	125	123,8 ± 1,5	36,3 ± 4,3	1,9	15,2	24,9	3,1	7,8
C19	113	112,1 ± 2,9	40,0 ± 7,9	1,9	14,1	21,9	2,1	8,0
C20	120	114,0 ± 3,3	32,9 ± 5,7	1,9	14,4	25,2	3,4	6,1
C21	122	114,0 ± 2,8	31,9 ± 2,6	1,8	14,6	22,4	0,5	6,1
C22	114	101,7 ± 3,9	31,9 ± 3,2	1,9	14,0	23,3	4,2	7,1
C23	120	117,3 ± 3,9	32,8 ± 4,5	1,9	14,5	23,7	5,0	7,7
C24	121	113,1 ± 1,4	35,9 ± 4,1	1,9	14,6	24,7	5,1	6,8
C25	118	110,9 ± 3,1	32,8 ± 3,4	1,9	14,7	24,0	3,5	6,6
C26	117	107,0 ± 3,7	29,1 ± 4,0	1,9	14,8	23,5	1,9	5,8
C27	112	109,2 ± 3,1	29,8 ± 4,6	1,8	13,9	24,0	5,0	6,4
C28	121	106,2 ± 2,5	29,1 ± 6,2	1,8	14,6	24,3	2,2	5,8
C29	121	109,8 ± 3,7	31,8 ± 6,3	2,0	14,8	22,8	1,8	6,1
C30	122	106,5 ± 3,3	36,2 ± 3,5	2,0	14,6	25,8	8,1	6,4
C31	124	117,1 ± 1,9	33,9 ± 5,4	2,0	15,5	23,6	6,0	5,6
C32	122	109,6 ± 3,6	34,4 ± 5,7	2,2	15,0	24,7	2,9	4,9

Qui trình PCR xác định gen *Kala1*, *Kala3* và *Kala4*: Tách chiết ADN theo qui trình CTAB rút gọn (De la Cruz, 1997). Chu trình nhiệt cho PCR: 94°C trong 2' và 30 chu kỳ: 94°C trong 5",

33-55°C trong 30", 72°C trong 30" và 72°C trong 7'. Điện di: sản phẩm chạy PCR được điện di trên gel agarose 4%, 100V trong 60' và nhuộm với Ethilium Bromide 0,5 µg/ml sau đó quan sát

Đánh giá đặc điểm nông học, chất lượng và xác định sự có mặt của gen liên kết với tổng hợp anthocyanin của một số dòng lúa cẩm mới

bằng máy soi gel UV. Sử dụng chỉ thị ADN theo Maeda & cs. (2014) gồm: RM3400, RM7210, RM7405 (Bảng 1).

Số liệu giá trị trung bình và hệ số biến động (CV%) được tính bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm nông sinh học của các dòng lúa cẩm mới

Các dòng lúa cẩm mới có thời gian sinh trưởng thuộc nhóm trung bình trong vụ mùa tại đồng bằng sông Hồng (Bộ NN&PTNT, 2011), biến động từ 109 đến 127 ngày, giống đối chứng ĐH6 là 117 ngày; dòng có thời gian sinh trưởng ngắn nhất là C5 (109 ngày), dòng có thời gian sinh trưởng dài nhất là C12 (127 ngày).

Đối với tính trạng chiều cao cây, có 3 dòng thuộc nhóm cao cây là C2 (141,6cm), C3 (122,6cm), C13 (120,8cm) và C18 (123,8cm). Các dòng còn lại và đối chứng ĐH6 thuộc nhóm có chiều cao cây trung bình (90-120cm); giống đối chứng ĐH6 có chiều cao cây thấp nhất, đạt 96,5cm. Các dòng lúa cẩm có chiều dài lá đồng biến động từ 29,1 đến 44,0cm, trong đó, đối chứng ĐH6 là 34,9cm, dài hơn dòng C1, C8, C9, C14, C20, C21, C22, C23, C25, C26, C27, C29, C31 và C32. Dòng C17 có lá đồng dài nhất là 44,0cm. Chiều rộng lá đồng của các dòng giống lúa cẩm biến động từ 1,5-2,2cm; đối chứng ĐH6 có lá đồng rộng hơn so với hầu hết các dòng trừ dòng C2, C3, C9, C12 và C32. Số lá của các dòng lúa cẩm biến động từ 13,9 đến 15,5 lá, trong đó đối chứng ĐH6 có 14,8 lá. Chiều dài bông của các dòng lúa cẩm thuộc loại trung bình, biến động từ 21,9 đến 25,8cm và giống đối chứng ĐH6 là 22,2cm

Qua kết quả đánh giá ở bảng 2 cho thấy chiều dài cổ bông của các dòng khảo sát biến động từ -1,5 đến 8,1cm, trong đó dòng C2 và C5 trổ không thoát, các dòng còn lại và đối chứng trổ thoát. Mật độ hạt trên bông là chỉ tiêu phản ánh mức độ xếp hạt trên bông. Giá trị mật độ xếp hạt càng lớn, hạt càng xếp xít, tạo ra cấu trúc bông dạng compact (Panda & cs., 2015). Kết quả đánh giá cho thấy: Mật độ hạt trên bông của đối chứng ĐH6 và dòng C14 đạt là

6,7 hạt/cm, thấp hơn so với các dòng C2, C9, C18, C19, C22, C23 và C24. Dòng C32 có mật độ hạt trên bông thấp nhất. Dòng C19 (8 hạt/cm) có mật độ hạt trên bông cao nhất.

3.2. Mức độ nhiễm sâu bệnh trong điều kiện tự nhiên và khả năng chống đổ của các dòng, giống lúa cẩm

Trong vụ mùa 2019, các dòng lúa cẩm và giống đối chứng ĐH6 đều nhiễm rất nhẹ (điểm 1) đến nhẹ (điểm 3) các loại sâu bệnh như rầy nâu, đục thân, cuốn lá, khô vằn, bệnh đạo ôn và bệnh bạc lá. Sâu cuốn lá xuất hiện trong giai đoạn từ đẻ nhánh đến trổ, gây hại nhẹ (điểm 3) các dòng C5, C9, C26, C27, C28, C29 và C32. Sâu đục thân và rầy nâu xuất hiện giai đoạn trước và trong khi trổ nhưng hầu như không gây hại cho các dòng lúa cẩm. Đối với bệnh bạc lá (bệnh nguy hiểm cho lúa trong điều kiện vụ mùa ở các tỉnh phía Bắc), hầu hết các dòng nhiễm ở mức độ nhẹ (điểm 3). Nhìn chung, các dòng lúa cẩm mới có mức độ nhiễm sâu bệnh tương đương với giống đối chứng ĐH6. Khả năng chống đổ của các dòng, giống thể hiện qua chỉ tiêu độ cứng cây. Kết quả đánh giá cho thấy 6/25 dòng có độ cứng cây trung bình (điểm 5), các dòng còn lại đều có độ cứng cây tốt (điểm 1) (Bảng 3).

Kết quả đánh giá các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng lúa cẩm được trình bày tại bảng 4 cho thấy: số bông trên khóm của các dòng biến động khá lớn từ 7,3 bông (dòng C1) đến 11,7 bông (dòng C8), trong đó giống đối chứng ĐH6 là 7,6 bông. Số hạt trên bông của các dòng biến động từ 122,0 hạt (dòng C22) đến 195,2 hạt (dòng C18), giống đối chứng ĐH6 có số hạt trên bông là 149,0 hạt. Mười ba (13) dòng là C1, C5, C12, C13, C17, C21, C20, C26, C26, C28, C29, C31 và C32 có số hạt trên bông cao hơn đối chứng ĐH6. Tỷ lệ hạt chắc trên bông của các dòng biến động lớn từ 55,8% (dòng C30) đến 97,2% (dòng C28), trong đó giống đối chứng ĐH6 có tỷ lệ hạt chắc là 86,9%, thấp hơn so với các dòng C1, C5, C19, C21, và C29. Khối lượng 1.000 hạt của các dòng biến động từ 19,0 gam (dòng C23) đến 31,9 gam (dòng C30); giống đối chứng ĐH6 có khối lượng 1.000 hạt là 23,6g,

thuộc nhóm thấp, thấp hơn so với các dòng C1, C2, C3, C12, C13, C14, C28, C29, C30, C31 và C32. Phân loại khối lượng 1.000 hạt theo IRRI (2002), dòng C30 thuộc nhóm có khối lượng 1.000 hạt lớn; dòng C1, C3, C12, C13, C14, C29, C30, C31 và C32 thuộc nhóm trung bình; dòng C20 và C23 thuộc nhóm rất thấp; các dòng còn lại thuộc nhóm thấp. Năng suất lý thuyết của các dòng biến động từ 5,94 tấn/ha (dòng C17) đến 10,69 tấn/ha (dòng C18). Giống đối chứng ĐH6 có năng suất lý thuyết là 8,13 tấn/ha, thấp hơn các dòng C17, C19, C20, C22, C23, C24, C26 và C27. Năng suất thực thu của các dòng

biến động từ 3,78 tấn/ha (dòng C17) đến 8,05 tấn/ha (dòng C18), trong đó giống đối chứng ĐH6 có năng suất thực thu là 6,11 tấn/ha. Các dòng C1, C12, C14, C18, C19, C21 và C25 có năng suất thực thu cao hơn đối chứng. Năng suất tích lũy là tỉ số giữa năng suất thực thu và thời gian sinh trưởng. Nhà chọn giống căn cứ vào năng suất tích lũy để so sánh các giống có thời gian sinh trưởng khác nhau. Năng suất tích lũy của các dòng biến động từ 33,8 kg/ha/ngày (dòng C17) đến 64,4 kg/ha/ngày (dòng C18). Giống đối chứng ĐH6 có năng suất lý tích lũy là 52,2 kg/ha/ngày.

Bảng 3. Mức độ nhiễm sâu bệnh và khả năng chống đỡ của các dòng, giống lúa cấy trong vụ mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Sâu hại (điểm)			Bệnh hại (điểm)			Độ cứng cây (điểm)
	Cuốn lá	Đục thân	Rầy nâu	Bạc lá	Đạo ôn	Khô vằn	
ĐH6 (Đ/C)	1	1	1	3	1	1	1
C1	1	1	1	1	1	1	1
C2	1	1	1	3	1	1	1
C3	1	1	1	3	1	1	1
C5	3	1	1	3	1	1	1
C8	1	1	1	3	1	1	5
C9	3	1	1	3	1	1	1
C12	1	1	1	1	1	1	1
C13	1	1	1	3	1	1	1
C14	1	1	1	1	1	1	1
C17	1	1	1	3	1	1	5
C18	1	1	1	1	1	1	1
C19	1	1	1	1	1	1	1
C20	1	1	1	3	1	1	5
C21	1	1	1	1	1	1	1
C22	1	1	1	3	1	1	1
C23	1	1	1	3	1	1	1
C24	1	1	1	3	1	1	1
C25	1	1	1	1	1	1	1
C26	3	1	1	3	1	1	1
C27	3	1	1	3	1	1	1
C28	3	1	1	3	1	1	1
C29	3	1	1	3	1	1	1
C30	1	1	1	3	1	1	5
C31	1	1	1	3	1	1	5
C32	1	1	1	3	1	1	5

Đánh giá đặc điểm nông học, chất lượng và xác định sự có mặt của gen liên kết với tổng hợp anthocyanin của một số dòng lúa cẩm mới

Bảng 4. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng, giống lúa cẩm trong vụ mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/Giống	Số bông/khóm	Số hạt/bông	Số hạt chắc/bông	Tỉ lệ hạt chắc (%)	Khối lượng 1.000 hạt (gam)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Năng suất tích lũy (kg/ha/ngày)
ĐH6 (đ/c)	7,6	149,0	129,5	86,9	23,6	8,13	6,11	52,2
C1	7,3	143,0	131,0	91,6	26,9	9,00	6,88	56,9
C2	7,6	164,0	124,0	75,6	24,9	8,21	6,13	51,5
C3	8,0	159,0	129,0	81,1	25,4	9,17	6,73	57,0
C5	8,8	146,0	132,0	90,4	23,3	9,47	6,92	63,5
C8	11,7	161,0	119,0	73,9	21,9	10,67	7,39	60,6
C9	9,6	160,0	113,0	70,6	23,1	8,77	6,01	51,8
C12	9,5	136,0	118,0	86,8	25,7	10,08	7,39	58,2
C13	8,8	142,0	123,0	86,6	26,1	9,89	5,54	45,4
C14	8,2	157,0	128,4	81,8	27,2	10,02	6,76	58,8
C17	8,0	136,0	102,0	75,0	20,8	5,94	3,78	33,8
C18	8,3	195,2	165,7	84,9	22,2	10,69	8,05	64,4
C19	8,0	175,0	156,0	89,1	21,5	9,39	6,28	55,6
C20	7,5	153,0	124,0	81,0	19,9	6,48	5,98	49,8
C21	9,0	137,0	128,0	93,4	20,3	8,18	6,15	50,4
C22	7,3	166,0	131,0	78,9	21,5	7,20	6,19	54,3
C23	8,6	183,0	142,0	77,6	19,0	8,12	6,20	51,7
C24	9,0	167,0	125,0	74,9	20,3	7,99	6,26	51,7
C25	11,4	158,0	131,0	82,9	20,1	10,51	6,31	53,5
C26	7,9	136,0	106,0	77,9	22,3	6,54	6,42	54,9
C27	7,9	153,0	117,0	76,5	20,8	6,73	6,51	58,1
C28	8,5	142,0	138,0	97,2	23,8	9,77	6,64	54,9
C29	8,2	140,0	125,0	89,3	25,9	9,29	6,71	55,5
C30	8,0	165,0	92,0	55,8	31,9	8,22	6,77	55,5
C31	8,1	133,0	105,0	78,9	28,4	8,45	6,80	54,8
C32	9,6	122,0	98,0	80,3	29,8	9,81	6,89	52,2

3.3. Một số chỉ tiêu chất lượng của các dòng lúa cẩm mới

Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của các dòng, giống lúa cẩm được trình bày ở bảng 5 cho thấy: Chiều dài hạt gạo của các dòng lúa cẩm biến động từ 6,1mm (dòng C18) đến 7,4mm (dòng C17), đều thuộc nhóm có hạt gạo trung bình đến dài (IRRI, 2002). Giống đối chứng ĐH6 có hạt gạo dài 6,0mm, ngắn nhất so với các dòng trong thí nghiệm. Các dòng C1, C8, C9, C18, C19, C25, C29, C31 và C32 có chiều dài hạt gạo thuộc nhóm trung bình; các dòng còn lại

thuộc nhóm hạt gạo dài. Tỉ lệ chiều dài/chiều rộng của các dòng biến động từ 2,5 (dòng C1) đến 4,0 (dòng C26), thuộc nhóm trung bình đến thon dài. Các dòng C8, C17, C20, C21, C22, C23, C24, C25, C26, C27, C28, C29, C30 và C31 thuộc nhóm hạt gạo thon dài; giống đối chứng ĐH6 và các dòng còn lại có hình dạng hạt gạo thuộc nhóm trung bình. Các dòng lúa cẩm thuộc nhóm màu sắc vỏ hạt từ khoang tím đến tím. Đối với các giống lúa cẩm, người sản xuất quan tâm đến tỉ lệ gạo xay (gạo lật) vì giá trị sử dụng liên quan đến vỏ cám màu tím (chứa chất anthocyanin). Tỉ lệ gạo xay của các dòng, giống biến động từ 72-80%.

Dòng C2, C14 và đối chứng ĐH6 có tỷ lệ gạo xay cao nhất (80%); dòng C13, C27 và C30 có tỷ lệ gạo xay thấp nhất (72%). Các dòng C1, C2, C12 và C13 có nội nhũ thơm; dòng C5, C9 và C14 thơm nhẹ; các dòng còn lại và đối chứng ĐH6 không có mùi thơm trên nội nhũ.

Căn cứ vào kết quả đánh giá năng suất, một số chỉ tiêu chất lượng gạo đã chọn được 07 dòng có triển vọng nhất là C1, C12, C14, C18, C19, C21 và C25. Các dòng này được lấy mẫu gạo để phân tích hàm lượng amylose và anthocyanin. Kết quả phân tích hàm lượng amylose được trình bày tại bảng 6 cho thấy hàm lượng amylose

của các dòng, giống biến động từ 3,79% đến 13,93%. Theo phân loại của IRRI (2002) có dòng C1 và giống đối chứng ĐH6 là nếp cẩm (hàm lượng amylose < 5%), các dòng còn lại đều là tẻ cẩm (hàm lượng > 5%). Hàm lượng anthocyanin của các dòng, giống biến động khá lớn từ 106 đến 619 mg/100g chất khô, giống đối chứng ĐH6 là 271mg. Hai dòng C18 và C25 có hàm lượng anthocyanin thấp hơn đối chứng. Các dòng còn lại có hàm lượng anthocyanin cao hơn so với đối chứng, đặc biệt hai dòng C1 và C12 có hàm lượng anthocyanin cao nhất, đạt lần lượt là 619 và 506mg.

Bảng 5. Một số chỉ tiêu chất lượng gạo của các dòng, giống lúa cẩm trong vụ mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Chiều dài hạt gạo (mm)	Tỷ lệ dài/rộng (D/R)	Xếp loại dạng hạt	Tỷ lệ gạo xay (%)	Màu sắc vỏ cám	Mùi thơm nội nhũ (điểm)
ĐH6 (đ/c)	6,0	2,6	Trung bình	80	Tím	1
C1	6,6	2,5	Trung bình	76	Tím	3
C2	7,1	2,6	Trung bình	80	Tím	3
C3	6,7	2,7	Trung bình	78	Khoang tím	1
C5	6,7	3,0	Trung bình	78	Nâu tím	2
C8	6,6	3,5	Thon dài	78	Khoang tím	1
C9	6,4	2,9	Trung bình	77	Nâu tím	2
C12	6,8	2,7	Trung bình	76	Tím	3
C13	6,7	2,8	Trung bình	72	Tím	3
C14	6,7	3,0	Trung bình	80	Tím	2
C17	7,4	3,9	Thon dài	74	Khoang tím	1
C18	6,1	2,8	Trung bình	76	Tím	1
C19	6,5	3,0	Trung bình	76	Tím	1
C20	7,0	3,9	Thon dài	74	Khoang tím	1
C21	6,7	3,5	Thon dài	76	Tím	1
C22	6,7	3,5	Thon dài	76	Tím	1
C23	6,7	3,5	Thon dài	77	Tím	1
C24	6,7	3,5	Thon dài	74	Tím	1
C25	6,4	3,6	Thon dài	74	Tím	1
C26	6,8	4,0	Thon dài	73	Nâu tím	1
C27	6,8	3,8	Thon dài	72	Nâu tím	1
C28	6,7	3,7	Thon dài	73	Khoang tím	1
C29	6,5	3,6	Thon dài	74	Khoang tím	1
C30	6,7	3,5	Thon dài	72	Tím	1
C31	6,5	3,6	Thon dài	73	Tím	1
C32	6,4	2,8	Trung bình	78	Nâu tím	1

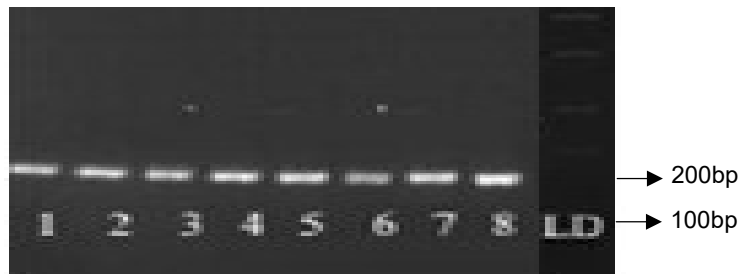
Ghi chú: Mùi thơm nội nhũ: điểm 1: Không thơm; điểm 2: Thơm nhẹ; điểm 3: Thơm.

Đánh giá đặc điểm nông học, chất lượng và xác định sự có mặt của gen liên kết với tổng hợp anthocyanin của một số dòng lúa cẩm mới

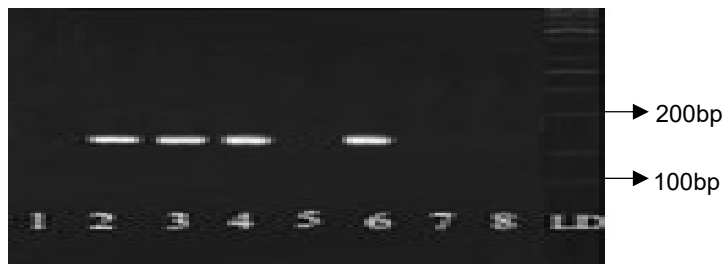
Bảng 6. Hàm lượng amylose và anthocyanin của các dòng, giống lúa cẩm triển vọng trong vụ mùa 2019 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Độ ẩm (%)	Hàm lượng amylose (% CK)	Hàm lượng anthocyanin (mg/100g CK)
C1	10,98	3,88	619
C12	9,98	10,08	506
C14	9,18	12,93	383
C18	8,38	10,21	208
C19	10,18	13,93	273
C21	10,60	9,56	298
C25	10,00	8,64	106
ĐH6 (đ/c)	8,80	3,79	271

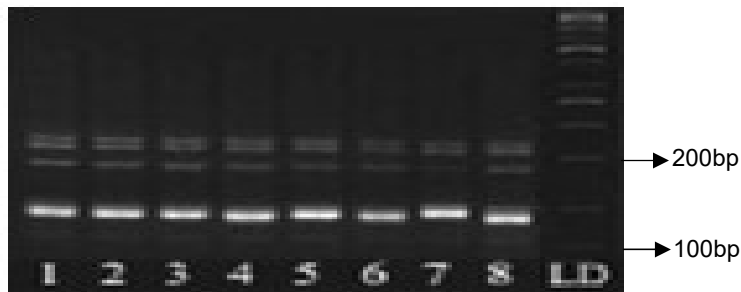
Ghi chú: Kết quả phân tích tại bảng 6 được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Trung tâm KH&CNTP, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.



Hình 1. Điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala1* bằng chỉ thị RM7405



Hình 2. Điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala3* bằng chỉ thị RM3400



Ghi chú: Giếng 1: C18; Giếng 2: ĐH6 (đ/c); Giếng 3: C1; Giếng 4: C14; Giếng 5: C19; Giếng 6: C12; Giếng 7: C21; Giếng 8: C25; Giếng LD: DNA ladder 100bp.

Hình 3. Điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala4* bằng chỉ thị RM7210

3.3. Kết quả xác định gen liên quan đến hàm lượng anthocyanin của các dòng lúa cẩm

Sử dụng chỉ thị RM7405 đặc hiệu cho gen *Kala1*, kích cỡ là 109bp. Tuy nhiên khi chạy điện di sản phẩm PCR tạo ra khoảng 200bp (Hình 1) và cho thấy tất cả 8 dòng, giống lúa cẩm đều mang gen *Kala1*. Sử dụng chỉ thị RM3400 đặc hiệu cho gen *Kala3*, kích thước 184bp. Khi chạy điện di sản phẩm PCR cho thấy 4 dòng, giống mang gen *Kala3* là ĐH6, C1, C12, C14 có băng ADN kích thước khoảng 184 bp (Hình 2), các dòng còn lại đều không mang gen *Kala3* vì không xuất hiện băng ADN. Sử dụng chỉ thị RM7210 đặc hiệu cho gen *Kala4*, kích cỡ là 158bp. Khi chạy điện di sản phẩm PCR (Hình 3) cho thấy tất cả 8 dòng, giống lúa cẩm đều mang gen *Kala4*. So sánh với kết quả phân tích hàm lượng anthocyanin (Bảng 6) cho thấy các dòng C1, C12, C14 và đối chứng ĐH6 có mặt của cả 3 gen *Kala1*, *Kala3*, *Kala4* đều cho hàm lượng anthocyanin cao, lần lượt là 619mg, 506mg, 383mg và 271mg. Tuy nhiên, sự có mặt của gen *Kala3* quyết định đến việc sinh tổng hợp anthocyanin trong các dòng có hàm lượng chất này cao. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với công bố của Maeda & cs. (2014) cho rằng giống có mặt 3 gen *Kala1*, *Kala3* và *Kala4* gạo có màu đen; có 2 gen *Kala3* và *Kala4* (thiếu *Kala1*) gạo có màu đỏ; có 2 gen *Kala1* và *Kala4* (thiếu *Kala3*) gạo màu nâu; chỉ có gen *Kala4* gạo màu nâu nhạt; có một trong hai kiểu gen *Kala1/Kala3* hoặc cả hai và thiếu *Kala4* gạo màu trắng.

4. KẾT LUẬN

Trong vụ mùa 2019 tại vùng đồng bằng sông Hồng, các dòng lúa cẩm mới chọn tạo có thời gian sinh trưởng 109-127 ngày, chiều cao cây 102,0-141,6cm, thân xanh tím, nhiễm nhẹ sâu bệnh, cứng cây, năng suất thực thu 3,78-8,05 tấn/ha, chiều dài hạt gạo 6,1-7,4mm, tỉ lệ gạo xay 72-80%, vỏ cám màu tím đen. Thông qua đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất và một số chỉ tiêu chất lượng gạo của 25 dòng lúa cẩm đã chọn được 07 dòng triển vọng là C1, C12, C14, C18, C19, C21 và C25.

Các dòng lúa cẩm triển vọng có hàm lượng amylose 3,79-13,93%, hàm lượng anthocyanin 106-619mg và đều mang gen *Kala1*, *Kala4*. Đã xác định được dòng C1 là nếp cẩm có hàm lượng amylose 3,88%, hàm lượng anthocyanin 619mg. Dòng C1 đã được gửi khảo nghiệm quốc gia và sản xuất thử nghiệm ở một số địa phương phía Bắc.

Có sự tương quan thuận giữa hàm lượng anthocyanin và sự có mặt của các gen *Kala1*, *Kala3*, *Kala4*. Các dòng C1, C12, C14 ngoài mang *Kala1*, *Kala4* cần có sự xuất hiện của gen *Kala3* đã cho hàm lượng anthocyanin cao, lần lượt là 619, 506 và 383 mg/100g chất khô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Khoa học và Công nghệ (2008). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV5716-2: 2008. Gạo - xác định hàm lượng amylose.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV8372: 2010. Gạo trắng - xác định tỉ lệ trắng trong, trắng bạc và độ trắng bạc.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV8373: 2010. Gạo trắng - đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm.
- Bộ NN&PTNT (2011). Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa-QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT.
- Cục Trồng trọt (2019). Báo cáo sơ kết sản xuất vụ hè thu, vụ mùa 2019, triển khai kế hoạch sản xuất vụ đông xuân 2019-2020 tại các tỉnh phía Bắc. Hội nghị tổ chức ngày 22/10/2019 tại Hà Nam.
- de la Cruz M., Ramírez F. & Hernández H. (1997). DNA isolation and amplification from cacti. Plant Mol. Biol. Rep. 15: 319-325.
- Đoàn Thanh Quỳnh, Đàm Văn Hưng, Nguyễn Thị Hào, Vũ Thị Bích Hạnh, Trần Văn Quang & Vũ Văn Liết (2014). Kết quả tuyển chọn và khảo nghiệm giống lúa nếp cẩm mới ĐH6. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề giống cây trồng vật nuôi. 2.
- Gomez K.A. & Gomez A.A. (1984). Statistical procedures for agricultural research, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc..
- Goufo P. & Trindade H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid. Food Science & Nutrition. 2(2): 75-104.

Đánh giá đặc điểm nông học, chất lượng và xác định sự có mặt của gen liên kết với tổng hợp anthocyanin của một số dòng lúa cẩm mới

- IRRI (2002). Standard evaluation system for rice, International rice research institute, P.O. Box 933.1099, Manila, Philippines.
- Kibria K., Islam M.M. & Begum S.N. (2008). Screening of aromatic rice lines by phenotypic and molecular markers. Bangladesh J. Bot. 37(2): 141-147.
- Maeda H., Takuya Y., Motoyasu O., Takeshi T., Kenji F., Kazumasa M., Yukihide I., Yoichiro K., Makiko M., Hidenobu O., Naoyuki M., Yoshinori K. & Takeshi E. (2014). Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. Breeding Science. 64(2): 134-141.
- 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 SRR. Tạp chí Khoa học và Phát triển. 12(4): 485-494.
- Panda B.B., Badoghar A.K., Das K., Panigrahi R., Kariali E., Das S.R., Dash S.K., Shaw B.P. & Mohapatra P.K. (2015). Compact panicle architecture is detrimental for growth as well as sucrose synthase activity of developing rice kernels. Functional Plant Biology. 42(9): 875-887.
- Pratiwi R. & Purwestri Y.A (2017). Black rice as a functional food in Indonesia. Functional Foods in Health and Disease. 7(3): 182-194.