

## ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA CÁC DÒNG BỐ MẸ PHỤC VỤ CHỌN TẠO GIỐNG LÚA LAI HAI DÒNG CHẤT LƯỢNG CAO

Trần Mạnh Cường<sup>1</sup>, Nguyễn Quốc Trung<sup>2</sup>, Ngô Thị Trang<sup>2</sup>  
Nguyễn Quốc Đại<sup>2</sup>, Trần Văn Quang<sup>2\*</sup>, Phạm Văn Cường<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Bộ Khoa học và Công nghệ*

<sup>2</sup>*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email\*: tvquangn1@gmail.com

Ngày gửi bài: 06.12.2014

Ngày chấp nhận: 15.08.2014

### TÓM TẮT

Việc sử dụng các giống lúa bố mẹ cho hạt gạo thơm và chất lượng nấu nướng ngon là cơ sở để chọn tạo các giống lúa lai chất lượng cao. Sử dụng 15 mẫu giống bố mẹ, kết quả đánh giá chất lượng nấu nướng cho thấy: có 5 mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ thấp (ST19, 135s, E15S-1, E15S-2 và E15S-3); 6 mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ trung bình (Sén cù, HC1, HC2, A2, A12 và Hoa sữa); 4 mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ cao (R998, A11, HC3 và A3). Đánh giá chất lượng ăn uống cho kết quả 8 mẫu giống mang gen thơm *fgt* trong đó các mẫu có hàm lượng amylose trung bình (21,5-24,7%) là 3 dòng TGMS (E15S-1, E15S-2 và E15S-3), 2 dòng phục hồi (HC1 và HC3); các giống có hàm lượng amylose thấp (15,5-18,4%) là Sén cù, HC2 và Hoa sữa.

Từ khóa: Gen mùi thơm, hàm lượng amylose, TGMS.

### Characterization of Quality of Parental Lines for Breeding High Quality Two-Line Hybrid Rice

#### ABSTRACT

In two-line hybrid rice, breeders have been focusing on improving quality of parental lines that have high cooking and eating quality. Fifteen lines were evaluated on grain quality. Five lines (ST19, A3, 135s, E15S-1, E15S-2 and E15S-3) showed low gelatinization temperature (GT), 6 lines (Sen cu, HC1, HC2, A2, A12 and Hoa sua) have intermediate GT and 4 lines (R998, A11, HC3 and A3) have high GT. Eight lines were identified carrying aromatic *fgt* gene including three TGMS lines (E15S-1, E15S-2 and E15S-3), two restorer lines (HC1 and HC3) with average amylose content (21.5-24.7%); and 3 lines (Sen cu, HC2 and Hoa sua) with low amylose content (15.5-18.4%).

Keywords: Amylose content, aromatic gene, TGMS.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đối với lúa gạo, chất lượng nấu nướng được người tiêu dùng quan tâm nhất. Các loại gạo cho cơm phẩm chất tốt phải có đặc điểm: hạt gạo nấu ít trương nở, cơm mềm xốp và có mùi thơm. Chính vì vậy, trong chương trình chọn tạo giống lúa chất lượng cao, các nhà tạo giống đã đặt chỉ tiêu chất lượng nấu nướng lên vị trí hàng đầu.

Tinh bột là thành phần chính dự trữ trong nội nhũ hạt gạo dưới dạng glucid. Hạt tinh bột

có kích thước từ 1-150nm, có thành phần chính là 2 dạng polysaccharide: amylose (chiếm 0-30%) và amylopectin chiếm xấp xỉ 70% (Martin and Smith, 1995). Tính chất mềm xốp của cơm phụ thuộc chủ yếu vào hàm lượng amylose/amylopectin trong thành phần tinh bột của hạt gạo. Gạo có hàm lượng amylose từ 18-22% sẽ cho cơm mềm xốp tốt nhất. Trong công tác chọn tạo giống, các phương pháp xác định hàm lượng amylose trong nội nhũ gạo đã được ứng dụng rộng rãi và cho độ tin cậy cao (Juliano, 1971).

Mùi thơm ở lúa gạo chủ yếu do một hợp chất dễ bay hơi là 2-acetyl-1 pyrroline (2AP) quyết định (Lorrieux, 1996). Bradbury (2005) đã phát hiện ở các giống lúa thơm như Basmati và Jasmine có gen mã hoá cho enzyme Betaine aldehyde dehydrogenase 2 (BAD2) nằm trên nhiễm sắc thể (NST) số 8. Gen này bị đột biến mất 8bp và có sự đa hình nucleotide đơn (SNPs) tại 3 vị trí trên Exon 7, dẫn đến dịch chuyển khung đọc mở và làm thay đổi chức năng của BAD2. Theo đó các giống lúa thơm đều có BAD2 bị mất chức năng và các giống lúa không thơm thì có gen mã hoá BAD2 hoạt động bình thường. Kuo (2006) đã áp dụng chỉ thị phân tử (marker) để nghiên cứu gene điều khiển tính trạng mùi thơm dựa trên quần thể dòng đẳng gen (NILs). Theo đó, tác giả đã xác định gen quy định mùi thơm là gen lặn, ký hiệu là *fgr*, định vị trên NST số 8, liên kết với marker này ở khoảng cách 4,5cM.

Để chọn tạo được giống lúa lai hai dòng có chất lượng cao, cần tiến hành đánh giá một số

chỉ tiêu liên quan đến chất lượng nấu nướng như: nhiệt độ hóa hồ, độ bền gel, hàm lượng amylose, mùi thơm và xác định sự có mặt của gen mùi thơm của các dòng bố mẹ.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu (xem bảng dưới)

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá độ bền gel theo phương pháp của Cagampang et al. (1973), cụ thể: lấy 100g bột gạo cho vào ống nghiệm, cho tiếp vào 0,2ml Ethanol 95% có chứa 0,025% Thymol blue + 2ml KOH 0,2N và lắc đều. Đậy ống nghiệm và đem chưng cách thuỷ 100°C trong 8 phút rồi lấy ra, để yên 5 phút, làm lạnh bằng nước đá trong 20 phút. Để ống nghiệm nằm ngang cho gel chảy ra từ từ và đo chiều dài gel sau 1 giờ. Phân cấp độ bền thể gel theo thang điểm của IRR (2002).

Mẫu giống	Cơ quan chọn tạo	Mẫu giống	Cơ quan chọn tạo
Sén cù	Giống địa phương của Lào Cai	HC2	Viện NC&PT Cây trồng
R998	Nhập nội từ Trung Quốc	HC3	Viện NC&PT Cây trồng
ST19	Viện NC&PT Cây trồng	Hoa sữa	Nhập nội từ Mỹ
A2	Nhập nội từ Trung Quốc	135s	Viện NC&PT Cây trồng
A3	Nhập nội từ Trung Quốc	E15S-1	Viện NC&PT Cây trồng
A11	Nhập nội từ Trung Quốc	E15S-2	Viện NC&PT Cây trồng
A12	Nhập nội từ Trung Quốc	E15S-3	Viện NC&PT Cây trồng
HC1	Viện NC&PT Cây trồng		

Ghi chú: Từ số 1-11 là các mẫu giống lúa thuần; từ số 12-15 là các dòng TGMS

Chiều dài gel (cm)	Thang điểm	Loại độ bền gel
81-100	1	Rất mềm
61-80	3	Mềm
41-60	5	Trung bình
35-40	7	Cứng
<35	9	Rất cứng

Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của các dòng bố mẹ phục vụ chọn tạo giống lúa lai hai dòng chất lượng cao

Điểm	Độ lan rộng	Độ phân huỷ trong kiềm	Nhiệt độ hóa hồ
1	Hạt gạo còn nguyên	Cao	Thấp
2	Hạt gạo phồng lên	Cao	Thấp
3	Hạt gạo phồng lên, viên còn nguyên hay vỡ nét	Cao đến trung bình	Thấp đến trung bình
4	Hạt gạo phồng lên, viên còn nguyên và nở rộng	Trung bình	Trung bình
5	Hạt rã ra, và nở rộng	Trung bình	Trung bình
6	Hạt tan ra, viên mất hoàn toàn	Thấp	Cao
7	Hạt tan ra hoàn toàn và quyện vào nhau	Thấp	Cao

Ghi chú: Nhiệt độ hóa hồ tương thấp: <69°C; Trung bình: 70-74°C; Cao: >75°C

Đánh giá chỉ tiêu nhiệt độ hóa hồ theo phương pháp của Little et al. (1958), cụ thể: lấy 6 hạt gạo đã được xát trắng, không có vết nứt và sắp vào đĩa petri. Cho vào mỗi đĩa 10ml dung dịch KOH 1,7%, đậy nắp và để trong 23 giờ ở nhiệt độ 30°C. Nhiệt độ hóa hồ được xác định bằng tính trung bình mức độ lan rộng và độ trong suốt của các hạt gạo sau khi xử lý theo bảng trên:

Đo hàm lượng amylose theo phương pháp của Juliano et al (1971), cụ thể: hạt lúa đã được bóc vỏ, làm trắng, nghiền nhỏ. Lấy 100mg bột đã nghiền, bổ sung vào đó 1ml Ethanol 95%, 9ml NaOH 1N. Đun sôi ở 100°C trong 10 phút và định mức cho đủ 100ml. Lấy ra 5ml từ 100 ml dung dịch hoà tan, cho thêm 1ml CH<sub>3</sub>COOH 1N, 2ml dung dịch i ốt. Định mức cho đủ 100ml, giữ ấm ở 30°C trong 20 phút rồi đo OD ở bước sóng 620nm trên máy đo quang phổ và đối chiếu giá trị với bảng qui đổi tìm ra hàm lượng amylose.

Phương pháp đánh giá cảm quan mùi thơm trên gạo: lấy 10 hạt của mỗi mẫu giống đã được bóc vỏ, làm trắng và nghiền. Bột gạo được đặt trong đĩa petri chứa 500µl KOH 1,7%, đậy nắp và để ở nhiệt độ phòng trong vòng 10 phút. Đánh giá mùi thơm bằng phương pháp ngửi với 5 người độc lập và tính điểm trung bình. Mùi thơm được cho điểm từ 1 đến 5 (5 tương ứng với mùi thơm cao nhất).

Phương pháp PCR phát hiện gen thơm: Tách chiết ADN theo qui trình CTAB rút gọn (De la Cruz, 1997). Qui trình PCR: sử dụng cặp môi ESP: 5'-TTGTTTGGAGTCTGCTGATG-3'

và IFAP: 5'- CAT AGG AGC AGC TGA AAT ATA TACC-3' để nhân lên đoạn gen đặc hiệu cho gen thơm *fgr* có kích thước 257bp. Chu trình nhiệt cho PCR: 94°C trong 2 phút và 30 chu kỳ 94°C trong 5 giây, 58°C trong 5 giây, 72°C trong 5 giây và 72°C trong 5 phút. Điện di: sản phẩm chạy PCR được điện di trên gel agarose 2%, 100V trong 45 phút và nhuộm với Ethilium Bromide 0,5 µg/ml sau đó quan sát bằng máy soi gel UV.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả đánh giá độ bền gel và nhiệt độ hóa hồ

Nhiệt độ hóa hồ có liên quan đến thời gian nấu cơm, nhiệt độ hóa hồ càng cao thì thời gian nấu chín cơm càng lâu. Qua kết quả đánh giá cho thấy, có 5 mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ thấp (<69°C) đó là ST19, 135s, E15S-1, E15S-2 và E15S-3, các mẫu giống này có thời gian nấu chín cơm rất nhanh. Các mẫu giống có nhiệt độ hóa hồ cao là: R998, A11, HC3 và A3; nhiệt độ hóa hồ trung bình gồm: Sén cù, HC1, HC2, A2, A12 và Hoa sữa.

Độ bền gel là một chỉ tiêu quan trọng quyết định độ mềm dẻo của cơm khi để nguội, các giống có cùng hàm lượng amylose nhưng có thể khác nhau về độ bền gel trong đó giống có độ bền gel mềm được người tiêu dùng ưa chuộng hơn. Kết quả ở bảng 1 cho thấy độ bền gel các mẫu gạo nghiên cứu đều có độ bền gel từ mềm đến rất mềm.

**Bảng 1. Kết quả đánh giá nhiệt độ hóa hồ và độ bền thể gel của các mẫu giống**

T T	Mẫu giống	Độ phân hủy trong kiềm	Nhiệt độ hóa hồ	Độ bền thể gel	
				Chiều dài (mm)	Kết luận
1	Sén cù	Trung bình	Trung bình	120	Rất mềm
2	R998	Thấp	Cao	61	Mềm
3	ST19	Cao	Thấp	92	Rất mềm
4	HC1	Trung bình	Trung bình	110	Rất mềm
5	HC2	Trung bình	Trung bình	120	Rất mềm
6	HC3	Thấp	Cao	110	Rất mềm
7	A2	Trung bình	Trung bình	120	Rất mềm
8	A3	Thấp	Cao	85	Rất mềm
9	A11	Thấp	Cao	130	Rất mềm
10	A12	Trung bình	Trung bình	100	Rất mềm
11	Hoa sữa	Trung bình	Trung bình	140	Rất mềm
12	135S	Cao	Thấp	67	Mềm
13	E15S-1	Cao	Thấp	120	Rất mềm
14	E15S-2	Cao	Thấp	80	Mềm
15	E15S-3	Cao	Thấp	65	Mềm

### 3.2. Kết quả đo hàm lượng amylose

Theo kết quả trong bảng 2, chúng tôi thu được các mẫu giống cho hàm lượng amylose trung bình (20,5-24,8%) là: E15S-1, E15S-2, E15S-3, A11, A2, A3, HC1 và HC3; các mẫu

giống có hàm lượng amylose thấp (15,5-18,4%) là: Sén cù, ST19, HC2, A12 và Hoa sữa. Mẫu giống R998 và 135S có hàm lượng amylose cao là 29,5% và 29,1% tương ứng.

**Bảng 2. Hàm lượng amylose của các mẫu giống, giống nghiên cứu**

TT	Mẫu giống	Hàm lượng amylose	
		%	Phân loại
1	Sén cù	18,4	Thấp
2	R998	29,5	Cao
3	ST19	18,5	Thấp
4	HC1	20,5	Trung bình
5	HC2	15,5	Thấp
6	HC3	20,5	Trung bình
7	A2	21,7	Trung bình
8	A3	20,5	Trung bình
9	A11	21,4	Trung bình
10	A12	18,6	Thấp
11	Hoa sữa	17,0	Thấp
12	135S	29,1	Cao
13	E15S-1	24,4	Trung bình
14	E15S-2	24,7	Trung bình
15	E15S-3	24,8	Trung bình

Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của các dòng bố mẹ phục vụ chọn tạo giống lúa lai hai dòng chất lượng cao

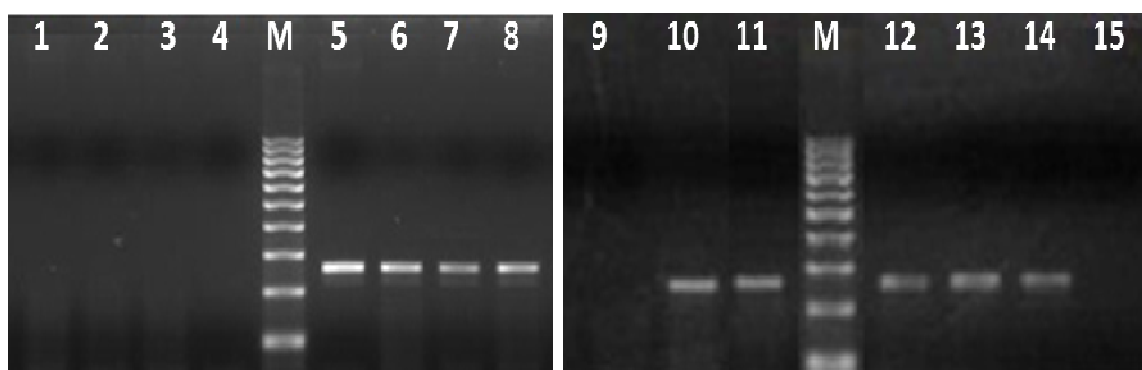
### 3.3. Kết quả đánh giá mùi thơm và gen thơm

Sử dụng 2 môi đơn ESP và IFAP để nhân lên đoạn ADN đặc hiệu cho gen thơm có kích thước 257bp, mẫu không có băng 257bp thì không mang gen thơm (Bradbury, 2005). Kết quả thu được sau khi điện di kiểm tra sản phẩm PCR ở hình 1:

Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy các giếng số 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14 tương ứng với các mẫu giống: Hoa sữa, Sén cù, ST19, HC1, HC2, HC3, E15S-1, E15S-2 và E15S-3 có xuất hiện vạch 257bp, chứng tỏ các mẫu giống này có

mang gen *fgr* qui định mùi thơm. Tại các giếng số 1, 2, 3, 4 và 15 tương ứng với các mẫu giống R998, A2, A3, A12, 135S không thấy xuất hiện vạch 257bp, vì vậy các mẫu giống này không có gen qui định mùi thơm (*fgr*).

Kết quả so sánh, đánh giá cảm quan và xác định kiểu gen ở bảng 3 cho thấy sự tương đồng khá rõ: mẫu giống mang gen thơm đồng thời có điểm mùi thơm cao (>1,8), giống Sén cù có điểm cao nhất là 4,5; mẫu giống không mang gen thơm có điểm thấp (0-1).



Hình 1. Kết quả điện di gel agarose 2% sản phẩm PCR cặp môi ESP và IFAP

Giếng 1: A2	Giếng 6: HC3	Giếng 11: E15-3
Giếng 2: A3	Giếng 7: HC2	Giếng 12: E15-2
Giếng 3: R998	Giếng 8: HC1	Giếng 13: E15-1
Giếng 4: A12	Giếng 9: A11	Giếng 14: Hoa sữa
Giếng 5: ST19	Giếng 10: Sén cù	Giếng 15: 135s
M: DNA ladder 100bp		

Bảng 3. So sánh kết quả đánh giá cảm quan và phát hiện gen thơm bằng PCR

TT	Mẫu giống	Điểm mùi thơm	Gen thơm <i>fgr</i>	TT	Mẫu giống	Điểm mùi thơm	Gen thơm <i>fgr</i>
1	Sén cù	4,5	+	9	A12	0,4	-
2	R998	0,8	-	10	135s	0,4	-
3	ST19	2,0	+	11	Hoa sữa	2,2	+
4	A11	1,0	-	12	E15-1	2,4	+
5	HC1	3,8	+	13	E15-2	2,8	+
6	HC2	2,5	+	14	E15-3	1,8	+
7	HC3	2,4	+	15	A2	0,8	-
8	A3	0,2	-				

#### 4. KẾT LUẬN

Các dòng bất dục đực di truyền nhân mãn cảm nhiệt độ (TGMS) và dòng cho phấn (R ) thích hợp cho chọn tạo giống lúa lai hai dòng thơm và hàm lượng amylose trung bình là: E15S-1, E15S-2 và E15S-3, HC1 và HC3.

Các mẫu giống có thể sử dụng để chọn tạo bố mẹ mới, cụ thể: nguồn cho gen thơm: Hoa sữa, Sến cù, ST19; nguồn gen cho amylose trung bình: HC1, HC3, A2, A3 và A11; nguồn cho hàm lượng amylose thấp: Sến cù, HC2, ST19, A12 và Hoa sữa.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bradbury, L.M.T. Henry, R.J. Jin, Q.S. Reinke, R.F and Waters, D.L.E. (2005). A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding*, 16: 279-283.
- Cagampang, G.B., CM. Perez and B.O. Juliano (1973). A gel consistency test for eating quality in rice. *J. Sci. Food Agr.*, 24: 1598 -1594.
- Marlene de la Cruz, Fabiola Ramirez, Hector Hernandez (1997). DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 15: 319-325
- IRRI (2002), Standard Evaluation of Rice. International Rice Research Institute, Los Panos, Philippines.
- Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Science Today*, pp. 334-338.
- Kuo, S.M. Chou, S.Y. Wang, A.Z. Tseng, T.H. Chueh, F.S. Yen, H.C. Wang, C.S. (2006). The betaine aldehyde dehydrogenase (BAD2) gene is not responsible for the aroma trait of SA0420 rice mutant derived by sodium azide mutagenesis. National Science Council (NSC 94-2317-B-055-006.
- Little R. R.; Hilder G. B. and Dawson E. H. (1958). Differential Effect of Dilute Alkali on 25 varieties of Milled White Rice. *Cereal Chem.*, 35: 111-126.
- Lorieux, M. Petrov, M. Huang, N. Guiderdoni, E. Ghesquiere, A. (1996). Aroma in rice: Genetic analysis of a quantitative trait. *Theor Appl Genet*, 93: 1145-1151.
- Martin Cathie and A.M. Smith (1995). Starch Biosynthesis, *The Plant Cell*, 7: 971-985.