

PHÂN TÍCH DI TRUYỀN TÍNH TRẠNG MÙI THƠM LÚA Ở QUẦN THỂ F₂ QUA CHỈ THỊ PHÂN TỬ ASA CỦA *BADH2*

Bùi Thị Dương Khuyết^{1,*}, Nguyễn Kim Khánh²,
La Ngọc Tường Vi^{2,3}, Nguyễn Thị Quỳnh Như^{3,4}, Nguyễn Thị Thanh Xuân^{5,*}

TÓM TẮT

Mùi thơm là một trong những đặc tính chất lượng quan trọng của lúa, liên quan đến sự hiện diện của hợp chất 2-acetyl-1-pyrroline (2AP). Một gen lặn nằm trên nhiễm sắc thể số 8 được xác định liên kết chặt với tính trạng này. Nghiên cứu sử dụng giống lúa OM1490 lai với hai giống bố Lộc Trời 28 và Hương Cốm 16 có đặc tính thơm để tạo giống mới qua chọn lọc phả hệ. Đánh giá kiểu hình mùi thơm lá bằng KOH 1,7% và kiểu gen bằng chỉ thị phân tử ASA (Allele specific amplification) của *BADH2* cho 100 cá thể ngẫu nhiên ở quần thể F₂ của hai tổ hợp OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16. Số liệu phân tích kết quả thí nghiệm cho thấy tính trạng mùi thơm lúa ở hai quần thể F₂ phân li theo định luật di truyền Mendel (với tỉ lệ 3 không thơm: 1 thơm). Kiểu gen mùi thơm của 100 cá thể đối với hai tổ hợp OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16 phân biệt các cá thể thơm đồng hợp tử chính xác cao ($\geq 90\%$). Tần suất kiểu gen thơm ở hai quần thể F₂ ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg, không có sự biến đổi qua các hệ phân ly. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, chọn tính trạng mùi thơm giống lúa sẽ hiệu quả hơn ở các thế hệ sau, khi quần thể lúa thuần.

Từ khóa: Lúa thơm, di truyền, ASA, *BADH2*, quần thể F₂.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu cầu gạo thơm trên thị trường ngày càng được nhiều người tiêu dùng ưa chuộng do hương thơm đặc biệt của nó. Đối với nhóm gạo thơm, giá bán trên thị trường có khi lên đến 768 - 1.180 USD/tấn, trong khi gạo trắng thông thường dao động 386 - 518 USD/tấn [1]. Ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, cơ cấu nhóm giống lúa (*Oryza sativa* L.) thơm trong sản xuất dịch chuyển tăng từ năm 2015 - 2019, tỷ lệ giống lúa thơm năm 2015 là 15,6% và 32,3% năm 2019 [2]. Vì vậy, áp lực nhu cầu

về giống lúa mới có hương thơm phát triển kịp thời với điều kiện sản xuất khá cao. Tính trạng thơm của giống lúa chịu tác động lớn bởi tương tác kiểu gen và môi trường [3]. Gen mùi thơm được kiểm soát bởi đơn gen lặn (*fgr*) nằm trên nhiễm sắc thể số 8 [4], gen *fgr* có liên quan đến mất một allele của gen mã hóa enzyme betaine aldehyde dehydrogenase (*BADH2*) [5], [6]. Các đoạn môi trường rất chuyên biệt (ESP, IFAP, INSP và EAP) của *BADH2* phân biệt chính xác giữa các cá thể thơm đồng hợp tử [5], [7].

Trong quá trình chọn giống lúa, ở F₂ - thế hệ con lai thứ 2, quyết định lớn đến sự thành công của giống mới vì cơ hội tìm thấy các thể tái tổ hợp vượt trội của các thể phân ly mong muốn. Kiểu gen mùi thơm được xác định nhờ chỉ thị phân tử dùng để phân tích biến dị di truyền tính trạng thơm lúa ở quần thể F₂ phân ly, giúp chính xác và rút ngắn thời gian hơn trong việc dự đoán khả năng chọn lọc tính trạng mục tiêu.

¹ Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

² Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời

³ Học viên cao học Khoa Nông nghiệp - Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Trạm Bảo vệ Thực vật huyện Châu Phú, tỉnh An Giang

⁵ Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

*Email: btdkhuyeu@agu.edu.vn; thanhxuan.agu@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống lúa bố, mẹ: OM1490, Hương Cốm 16, Lộc Trời 28.

- Quần thể F2 của tổ hợp lai OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16.

- Chỉ thị phân tử ASA của *BADH2* xác định sự hiện diện kiểu gen mùi thơm trên nhóm lúa Indica

Bảng 1. Thông tin về nguồn gốc và một số đặc tính chính của giống lúa bố, mẹ

TT	Tên giống	Hương thơm	Đặc tính	Nguồn gốc
1	OM1490	Không	Ngắn ngày, dạng hình đẹp, năng suất cao, gạo đẹp, không thơm	Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long
2	Lộc Trời 28	Thơm	Thơm, hạt gạo đẹp, thon, rất dài, com nở theo chiều dài, yếu rạ	Tập đoàn Lộc Trời
3	Hương Cốm 16	Thơm	Thơm, hạt gạo đẹp, thon, rất dài, com nở theo chiều dài, năng suất cao, cây cao	Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Bảng 2. Trình tự 4 đoạn mã đánh giá gen thơm (*BADH2*) [4]

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Sự bắt cặp	Kích thước (bp)
ESP	TTGTTTGGAGCTTGCTGATG	ESP-EAP (băng chung)	585
EAP	AGTGCTTTACAAAGTCCCGC		
INSP	CTGGTAAAAAGATTATGGCTTCA	INSP-EAP (băng không thơm)	355
IFAP	CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC	IFAP-ESP (băng thơm)	257

Ghi chú: ESP: External sense primer, INSP: Internal non-fragrant sense primer, EAP: External antisense primer, IFAP: Internal fragrant antisense primer.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Quần thể F2 (tại ruộng thí nghiệm Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời) trồng khoảng 1.500 cá thể/tổ hợp để chọn lọc phả hệ, mỗi cá thể trồng (cấy) riêng lẻ (khoảng cách cây 25 cm x 25 cm). Tương ứng mỗi quần thể trồng 30 cá thể bố, mẹ để so sánh sự khác biệt các tính trạng với con lai. Mỗi quần thể F2 đánh giá tính thơm (kiểu gen và kiểu hình) của 100 cá thể ngẫu nhiên.

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8 năm 2022 đến tháng 01 năm 2023 tại Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời và Phòng thí nghiệm Trường Đại học An Giang.

Quần thể F2 trồng 1.500 cá thể/tổ hợp để chọn lọc phả hệ, trồng mỗi cá thể riêng lẻ, khoảng cách cây 25 cm x 25 cm, cấy mạ 10 - 12 ngày tuổi, khảo sát 2 quần thể. Tương ứng mỗi quần thể trồng 30 cá thể bố, mẹ để so sánh sự khác biệt các tính trạng với con lai.

Khi cây lúa 50 ngày tuổi, mỗi quần thể F2 thu 100 cá thể ngẫu nhiên để đánh giá cả kiểu gen và kiểu hình đánh giá tính thơm của.

2.2.2. Đánh giá kiểu hình mùi thơm

Đánh giá mùi thơm trên lá lúa [8]: cân 1 g lá đòng tươi ở giai đoạn lúa vừa trổ, cắt nhỏ vào đĩa petri hay ống nghiệm có dung tích 50 ml, cho vào 5 mL KOH 1,7% đập nắp và để 30 phút ở nhiệt độ phòng, 5 người ngửi kiểm tra kết quả hương thơm

lá phân nhóm thơm theo hai mức độ: không thơm (-) và thơm (+).

2.2.3. Đánh giá kiểu gen mùi thơm

- Ly trích ADN [9]: nghiền mẫu lá, thêm 500 μ L dịch trích ADN, trộn mẫu và ủ ở nhiệt độ 65°C trong khoảng từ 30 phút đến 1 giờ. Sau đó mẫu được thêm 400 μ L dung dịch chloroform: isoamyl alcohol (24 : 1), trộn đều mẫu, ly tâm với 13.000 vòng trong 5 phút. Mẫu được phân chia thành hai lớp dung dịch, hút lấy 400 μ L lớp trên, thêm 800 μ L isopropanol (100%), trộn đều, ủ khoảng 30 phút đến 1 giờ. Ly tâm ở 13.000 vòng trong 3 - 5 phút, giữ ADN kết tủa và rửa bằng cồn ethanol 70%. Phơi khô ADN (30 phút - 1 giờ). Hòa tan ADN với 50 μ L TE 1 X. Trữ lạnh mẫu.

- Khuếch đại đoạn ADN với 4 mỗi ESP, INSP, IFAP, EAP, được thực hiện thông qua ba bước biến tính ở 95°C, gắn mỗi ở 57°C và kéo dài ở 72°C, lặp lại 35 - 40 chu kỳ [5], [6]. Điện di và chụp hình sản phẩm PCR trên gel agarose 2% trên hệ thống chụp ảnh điện di với phần mềm Quantum ST4.

2.2.4. Phân tích di truyền tính trạng mùi thơm của quần thể F2

- Phân tích kiểu hình mùi thơm: sử dụng phép kiểm định chi bình phương (χ^2), kiểm định giả thuyết về sự phân li tính trạng mùi thơm trên quần thể F2. Với giả thuyết di truyền Mendel, phân ly theo tỉ lệ 3 : 1 (không thơm: thơm).

Cách tính chi bình phương [10]:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Trong đó: O là giá trị quan sát; E là giá trị mong đợi.

- Phân tích kiểu gen mùi thơm của quần thể F2 [5]: xác định số lượng cá thể mang alen thơm đồng hợp tử, dị hợp tử và không thơm từ hình chụp điện di sản phẩm PCR với chỉ thị phân tử đặc hiệu đánh giá gen thơm (*BADH2*). Cá thể mang vạch băng ở vị trí tương ứng 257bp được xác định có kiểu gen mùi thơm, vị trí 355bp cho cá thể không hiện diện kiểu gen thơm, cá thể có 2 vạch băng 355bp và 257bp là kiểu gen dị hợp tử.

- So sánh sự chính xác giữa kiểu gen thơm và kiểu hình đối với quần thể F2 của tổ hợp lai OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16.

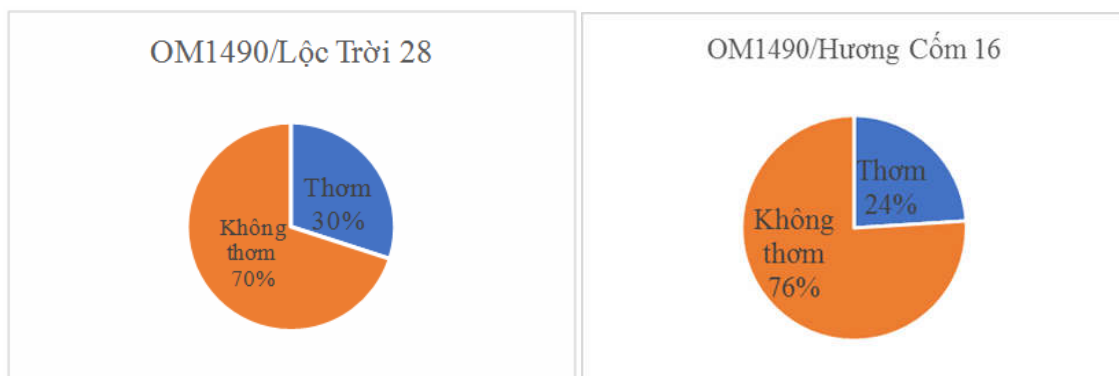
- Phân tích biến dị di truyền tính trạng thơm của quần thể F2: xác định tần số allele và tần số kiểu gen mùi thơm trong quần thể F2 theo phương trình cân bằng Hardy-Weinberg. Sử dụng phép kiểm định χ^2 kiểm định quần thể F2 đối với gen qui định tính trạng mùi thơm ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg. Quần thể ở trạng thái cân bằng được mô tả vốn gen của tính trạng trong quần thể không có xuất hiện đột biến, các kiểu gen có sức sống và khả năng di truyền như nhau [11].

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm Excel, sử dụng phép kiểm định χ^2 kiểm định quần thể F2.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kiểu hình tính trạng mùi thơm lúa trên quần thể F2

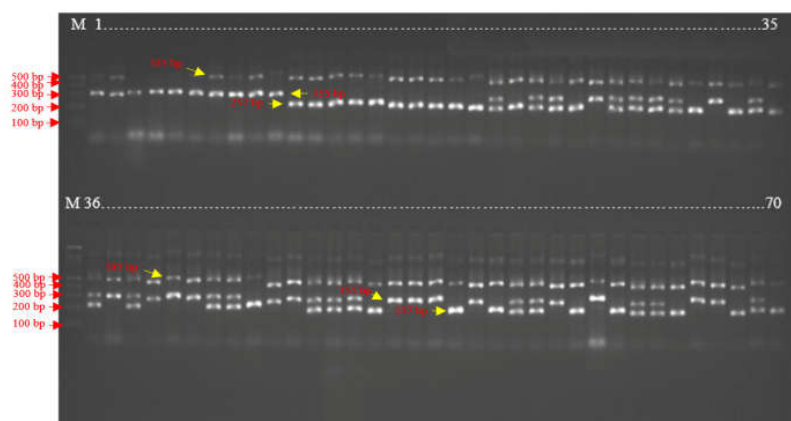


Hình 1. Tỷ lệ mùi thơm trên lá lúa bằng KOH 1,7% của 100 cá thể ở quần thể F2

Đánh giá mùi thơm trên lá lúa 100 cá thể ngẫu nhiên trong quần thể F2 của tổ hợp OM1490/Lộc Trờ 28 và OM1490/Hương Cóm 16 với KOH 1,7%, cho kết quả thơm lần lượt là 30% và 24%, không thơm lần lượt là 70% và 76% (Hình 1). Đối với cây lúa mùi thơm của lúa có thể được xác định trên cả hạt, thân và mô lá [12], biểu hiện mạnh nhất ở lá

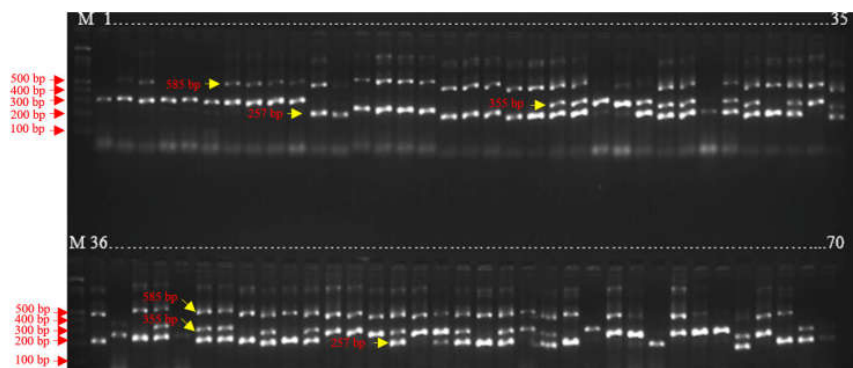
non khỏe [6], đánh giá kiểu hình mùi thơm cho kết quả không khác biệt giữa hạt và lá [13]. Như vậy, tính trạng mùi thơm trong các cá thể F2 được di truyền từ giống bố Lộc Trờ 28 chiếm tỉ lệ 30% và Hương Cóm 16 chiếm tỉ lệ 24%.

3.2. Kiểu gen mùi thơm lúa trên quần thể F2



Hình 2. Phổ điện di sản phẩm PCR với chỉ thị ASA của *BADH2* trên gel agarose 2% nhận diện các cá thể F2 có kiểu gen thơm của tổ hợp OM1490/Lộc Trờ 28

Ghi chú: Giếng M: thang chuẩn 100 - 1.000 bp; giếng số 1-10: OM1490; giếng số 11-20: Lộc Trờ 28; giếng số 21-70: con lai F2.



Hình 3. Phổ điện di sản phẩm PCR với chỉ thị ASA của *BADH2* trên gel agarose 2% nhận diện các cá thể F2 có kiểu gen thơm của tổ hợp OM1490/Hương Cóm 16

Ghi chú: Giếng M: thang chuẩn 100 - 1.000 bp; giếng số 1-10: OM1490; giếng số 11-20: Hương Cóm 16; giếng số 21-70: con lai F2.

Từ 100 cá thể đã đánh giá kiểu hình tính trạng mùi thơm, tiếp tục đánh giá kiểu gen mùi thơm lúa thông qua 4 đoạn mỗi đặc hiệu cho sản phẩm khuếch đại PCR mang ba vạch băng đa hình, có kích thước 585 bp, 355 bp, 257 bp. Cặp mỗi ESP-EAP khuếch đại một đoạn ADN khoảng 585 bp cho cả kiểu gen thơm và không thơm. Cặp mỗi ESP-IFAP khuếch đại đoạn ADN có kích thước

257 bp giúp nhận diện được kiểu gen thơm và cặp mỗi INSP-EAP khuếch đại đoạn ADN có kích thước 355 bp giúp nhận diện kiểu gen không thơm. Nếu sản phẩm PCR có cùng lúc hai kích thước băng 257 bp và 355 bp thì dòng lúa đó mang kiểu gen thơm dị hợp [5]. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 2% cho thấy, giống bố Lộc Trờ 28 và Hương Cóm 16 có mang kiểu gen

thơm (có kích thước băng 257 bp) và giống mẹ OM1490 không có mang kiểu gen thơm (có kích thước băng 355 bp). Kết quả phân tích sản phẩm PCR ở quần thể F2 của tổ hợp OM1490/Lộc Trôi 28 có 27/100 cá thể mang kiểu gen thơm đồng hợp, 41/100 cá thể mang kiểu gen thơm dị hợp và 32/100 cá thể không mang kiểu gen thơm (Hình 2). Tương tự, quần thể F2 của tổ hợp OM1490/Hương Cốm 16 có 24/100 cá thể mang kiểu gen thơm đồng hợp, 45/100 cá thể mang kiểu gen thơm dị hợp và 31/100 cá thể không mang kiểu gen thơm (Hình 3).

Theo Dương Xuân Tú và cs (2014) [14] phân tích gen thơm *fgr* kết hợp với đánh giá mùi thơm trên quần thể phân ly F2 của tổ hợp lai giữa giống lúa thơm và không thơm BT7 x Q5; HT1 x KD18, kết quả cho thấy chỉ thị *BADH2* đưa ra được tỷ lệ phân ly kiểu gen thơm gần đúng với tỷ lệ 1 : 2 : 1. Chỉ thị *BADH2* có độ chính xác cao và ổn định với 92 - 95% cá thể có mùi thơm được phát hiện mang gen thơm *fgr* đồng hợp tử đối với quần thể F2 của BT7 x Q5; HT1 x KD18.

3.3. Mức độ chính xác giữa kiểu gen và kiểu hình mùi thơm lúa trên quần thể F2

Kết quả kiểu gen thơm lặn đồng hợp tử được xác định nhờ chỉ thị *ASA* của *BADH2* so sánh với

kiểu hình mùi thơm lá bằng KOH 1,7% cho thấy mức độ chính xác cao giữa kiểu gen thơm (*fgrfgr*) và kiểu hình với quần thể F2 lần lượt là 90%, 100% từ tổ hợp OM1490/Lộc Trôi 28, OM1490/Hương Cốm 16 (Bảng 3). Tuy nhiên, ở quần thể F2 của tổ hợp OM1490/Lộc Trôi 28 giải thích cho kết quả chênh lệch giữa kiểu gen và kiểu hình mùi thơm có thể không phân biệt rõ ràng trên một số cá thể kiểu gen dị hợp tử. Nhìn chung, chỉ thị phân tử *ASA* của *BADH2* đánh giá tính trạng thơm trong quần thể F2 của hai tổ hợp trên có tính chính xác cao, không bị tác động thay đổi bởi yếu môi trường.

Bảng 3. So sánh mức độ chính xác giữa kiểu gen thơm (*fgrfgr*) và kiểu hình đối với quần thể F2

F2	Kiểu gen (cây)	Kiểu hình (cây)	Mức độ chính xác (%)
OM1490/Lộc Trôi 28	27	30	90
OM1490/Hương Cốm 16	24	24	100

3.4. Kiểm định tỉ lệ phân li kiểu gen và kiểu hình mùi thơm lúa trên quần thể F2

Bảng 4. Sự phân ly kiểu hình và kiểu gen trong 2 quần thể F2

<i>BADH2</i>	OM1490/Lộc Trôi 28		OM1490/Hương Cốm 16	
	Tỷ lệ kiểu hình	Tỷ lệ kiểu gen	Tỷ lệ kiểu hình	Tỷ lệ kiểu gen
Tỷ lệ kỳ vọng	3 : 1	1 : 2 : 1	3 : 1	1 : 2 : 1
Giá trị quan sát	70 : 30	32 : 41 : 27	76 : 24	31 : 45 : 24
Giá trị χ^2	1,333	2,573	0,053	0,646

Ghi chú: Allele BADH2 được lai từ 2 giống lúa Lộc Trôi 28 và Hương Cốm 16, giá trị χ^2 bảng với kiểu hình và kiểu gen lần lượt là $\chi^2(1, 0,05)=3,841$ và $\chi^2(2, 0,05)=5,991$.

Xu hướng đặc điểm di truyền của các cá thể trong quần thể thay đổi nhau do sự biến đổi hoặc sai lệch của kiểu gen tiếp xúc các yếu tố môi trường hoặc di truyền. Theo Ahn và cs (1992) [4] gen thơm được xác định là đơn gen lặn. Xem xét sự phân li của tính trạng mùi thơm ở thế hệ F2 được kiểm định χ^2 cho 100 cá thể mẫu với giả thuyết phân ly theo định luật di truyền Mendel, tỉ

lệ 3 : 1, trong đó tính trạng thơm tính trạng lặn. Kết quả ở bảng 4 cho thấy, χ^2 tính của 2 quần thể đều nhỏ hơn χ^2 bảng ở mức ý nghĩa 0,05 nên giả thuyết phân ly với tỉ lệ 3 : 1 theo định luật di truyền Mendel được chấp nhận. Vì vậy, kiểu hình mùi thơm của hai quần thể F2 khảo sát phân ly theo tỉ lệ 3 : 1 (không thơm: thơm). Điều này chứng tỏ tính trạng mùi thơm trong quần thể do đơn gen

qui định, trong quá trình chọn lọc ở thế hệ F2 có thể dựa vào kiểu hình mùi thơm phân ly kết hợp với các đặc tính nông học khác để chọn lọc những cá thể mong muốn. Mặt khác, nghiên cứu của Nguyễn Lộc Hiền và cs (2006) [15] trên quần thể F2 của tổ hợp Jasmine 85/Tep Hành đột biến và Khao Dawk Mali 105/IR64 phân ly không thơm: thơm theo tỉ lệ 3 : 1, tuy nhiên, giống có đặc tính thơm ở hai tổ hợp lai sử dụng là vật liệu mẹ [13].

Với mỗi quần thể F2, với 100 cá thể mẫu được chọn ngẫu nhiên và sự di truyền Mendel được biểu hiện qua phân tích kiểu hình với tỉ lệ phân ly 3 : 1 ($\chi^2_{\text{tính}} < \chi^2_{(1, 0,05)}$). Sự phân ly kiểu gen thể hiện tất cả quần thể F2 biểu hiện phân ly theo tỉ lệ 1 : 2 : 1 qua sự tổng kết quan sát sản phẩm điện di ở hình 2 ($\chi^2_{\text{tính}} < \chi^2_{(2, 0,05)}$). Hơn nữa, kết quả phân tích kiểu hình liên kết chặt chẽ với dữ liệu phân tích kiểu gen cho tất cả các cá thể ở hai quần thể F2 (Bảng 4).

Tóm lại, kết quả kiểu gen và kiểu hình là cơ sở cho thấy rằng di truyền tính trạng mùi thơm trên lúa được qui định bởi một gen lặn và phân ly theo tỉ lệ 3 : 1 (kiểu hình) và 1 : 2 : 1 (kiểu gen) của định luật di truyền Mendel.

3.5. Phân tích mức độ biến dị di truyền tính trạng thơm của quần thể F2

Tần số allele và tần suất gen hiện diện trong quần thể F2 được tính toán dựa theo số kiểu gen thơm được đánh giá nhờ chỉ thị phân tử đánh giá allele *BADH2*. Tần số allele trội *Frg* là 0,525 và 0,535 ở quần thể OM1490/Lộc Trôi 28, OM1490/Hương Cốm 16 (Bảng 5). Phân tích vốn gen thơm hiện diện trong quần thể đánh giá có sự biến đổi gen qua phương trình cân bằng Hardy-Weinberg. Cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) là một nguyên tắc cơ bản quan trọng của di truyền quần thể, trong đó nói rằng “tần số kiểu gen trong quần thể không đổi giữa các thế hệ khi không có sự xáo trộn bởi các yếu tố bên ngoài” [16]. Quần thể ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg sẽ không có xuất hiện đột biến, các kiểu gen hiện diện như nhau, di truyền tuân theo quy định. Qua kiểm định χ^2 về tần suất kiểu gen thơm với giả thuyết quần thể ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg, kết quả χ^2 tính của tổ hợp OM1490/Lộc Trôi 28, OM1490/Hương Cốm 16 là 2,573 và 0,646 nhỏ hơn so với χ^2 bảng (5,991) ở df = 2 và mức ý nghĩa 0,05.

Bảng 5. Kiểm định χ^2 về kiểu gen thơm của 100 cá thể ở quần thể F2 theo phương trình cân bằng Hardy-Weinberg

Kiểu gen thơm	OM1490/Lộc Trôi 28	OM1490/Hương Cốm 16
1. Số kiểu gen quan sát		
<i>FrgFrg</i>	32	31
<i>Frgfrg</i>	41	45
<i>frgfrg</i>	27	24
2. Tần số allele		
<i>Frg</i>	0,53	0,54
<i>frg</i>	0,48	0,47
3. Số kiểu gen kì vọng		
<i>FrgFrg</i>	28	29
<i>Frgfrg</i>	49	49
<i>frgfrg</i>	23	22
4. χ^2 tính	2,573	0,646
5. χ^2 bảng*	5,991	5,991

Ghi chú: *Frg* (Fragrance): allele trội của gen thơm; *frg*: allele lặn của gen thơm. *: Chi bình phương bảng ở độ tự do df = 2, mức ý nghĩa p = 0,05.

Như vậy, kiểu gen thơm trong quần thể F2 của 2 tổ hợp khảo sát không tạo ra đột biến, tính biến đổi di truyền rất thấp cho tính trạng thơm qua các thế hệ nên chọn lọc tự nhiên, tính trạng thơm tuân theo sự phân ly và tái tổ hợp gen. Theo Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007) chọn lọc cho tính trạng ở thế hệ phân ly không có sự thay đổi biến dị di truyền khả năng tìm kiếm sự khác biệt của tính trạng đó qua các thế hệ sẽ không có [11]. Vì vậy, chọn giống mùi thơm kết hợp đặc tính nông học tốt khác với điều kiện chọn lọc nhân tạo cho hai tổ hợp đang khảo sát cần chọn tính thơm của các cá thể ở thế hệ thuần.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Tính trạng mùi thơm lúa ở quần thể F2 của 2 tổ hợp OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16 tuân theo định luật Mendel (tỉ lệ: 3 không thơm : 1 thơm).

Ứng dụng chỉ thị phân tử ASA với bốn mẫu chuyên biệt xác định kiểu gen mùi thơm của cá thể đối với hai tổ hợp OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16 chính xác cao ($\geq 90\%$).

Tần suất kiểu gen thơm ở quần thể F2 của hai tổ hợp OM1490/Lộc Trời 28, OM1490/Hương Cốm 16 ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg, không có sự biến đổi qua các hệ phân ly.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục chọn lọc cá thể các tính trạng nông học tốt ở các thế hệ sau, chọn và đánh giá tính trạng mùi thơm ở thế hệ thuần.

LỜI CẢM ƠN

Kinh phí nghiên cứu được cấp từ Trường Đại học An Giang theo đề tài Nghiên cứu Khoa học và Công nghệ cấp Trường số 135/HĐNC-ĐHAG; nguồn lúa vật liệu nghiên cứu, khu ruộng bố trí thí nghiệm được Tập đoàn Lộc Trời tạo điều kiện sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. FAO (2018). *Rice market monitor*. XXI (1): April 2018.
2. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2020). *Tài liệu hội thảo đánh giá kết quả thực hiện cơ cấu ngành hàng lúa gạo*. Hà Nội 12/2020.

3. Custodio MC, RP Cuevas, J Ynion, AG Laborte, ML Velasco, M Demont (2019). Rice quality: How is it defined by consumers, industry, food scientists, and geneticists. *Trends in Food Science & Technology* 92: 122–137. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.039>.

4. Ahn SN, CN Bollich, & SD Tanksley (1992). RFLP tagging of a gene for aroma in rice. *Theor Appl Genet* 84:825-828. <https://doi.org/10.1007/BF0022>.

5. Bradbury LMT, TL Fitzgerald, RJ Henry, QS Jin, and DLE Waters (2005). The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J* 3:363-370. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x>.

6. Chen SH, Y Yang, WW Shi, Q Ji, F He, ZD Zhang, ZK Cheng, XN Liu, and ML Xu (2008). Badh2, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-Acetyl-1-Pyrroline, a major component in rice fragrance. *Plant Cell* 20:1850-1861. <https://10.1105/tpc.108.058917>.

7. Li W, X Zeng, S Li, F Chen, and J Gao (2020). Development and application of two novel functional molecular markers of BADH2 in rice. *Electron J Biotechnol*. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2020.04.004>.

8. Sood BC and EA Siddiq (1978). A rapid technique for scent determination in rice. *Genet. Plant Breed* 38: 268-271.

9. Kim SR, J Yang, G An, KK Jena (2016). A Simple DNA preparation method for high quality polymerase chain reaction in rice. *Plant Breed Biotech* 4(1):99-106. <http://dx.doi.org/10.9787/PBB.2016.4.1.99>.

10. Greenwood C, MS Nikulin (1996). *A guide to chi-squared testing*. New York: Wiley. ISBN 0-471-55779-X.

11. Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007). *Chọn giống cây trồng phương pháp truyền thống và phân tử*. Nxb Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh.

12. Jennings PR, WR Coffman and HE Kauffman (1979). Rice improvement. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines.

13. Lorieux M, M Petrov, N Huang, E Guiderdoni, A Ghesquiere (1996). Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait. TAG. Vol 93 (7): 1145-1151.
14. Dương Xuân Tú, Nguyễn Văn Khởi, Lê Thị Thanh, Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Thế Dương, Trần Thị Diệu và Phan Hữu Tôn (2014). Sử dụng dấu phân tử ADN xác định gen mùi thơm trong chọn tạo giống lúa thơm. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(4): 539-548.
15. Nguyen Loc Hien, Tadashi Yoshihashi, Wakil Ahmad Sahadi, Vo Cong Thanh, Yosei Oikawa and Yutaka Hirata (2006). Evaluation of Aroma in rice (*Oryza sativa* L.) using KOH method, molecular markers, and measurement of 2-Acetyl-1-Pyrroline concentration. *Jpn. J. Trop. Agr.* 50(4): 190-198.
16. Edwards AWF (2008). GH Hardy (1908) and Hardy - Weinberg Equilibrium. *Genetics* 179, 1143-1150. doi:10.1534/genetics.104.92940.

**GENETIC ANALYSIS FOR THE FRAGRANT TRAIT IN F2 POPULATIONS
OF RICE THROUGH THE ASA MARKER BADH2**

**Bui Thi Dương Khuyeu, Nguyen Kim Khanh,
La Ngoc Tuong Vi, Nguyen Thi Quynh Nhu, Nguyen Thi Thanh Xuan**

Summary

The fragrance, related to the presence of the compound 2-acetyl-1-pyrroline (2AP), which is one of the most important quality traits in rice. A recessive gene located on chromosome 8 has been identified that is strongly associated with this trait. In the study, the rice variety OM1490 was used as a female parent to cross with the aromatic varieties, Loc Troi 28 and Huong Com 16 in order to develop new aromatic rice by breeding pedigree selection. The fragrance in rice was identified by KOH 1.7% and the aroma gene (*fgr*) was tested by ASA marker *BADH2* on 100 random individuals in the F2 populations of OM1490/Loc Troi 28 and OM1490/Huong Com 16. The data were analyzed with Chi-square. The results showed that the aroma trait in two F2 populations segregated following Mendelian inheritance (the ratio of non-aroma: aroma in a 3 : 1 ratio). The aroma genotype of 100 individuals in the OM1490/Loc Troi 28 and OM1490/Huong Com 16 populations was identified as homozygous recessive individuals with high accuracy ($\geq 90\%$). The frequencies of aromatic alleles in two F2 populations got in Hardy-Weinberg equilibrium. There is no variation across the cleavage systems. This was considered no variation in the separating generations. Therefore, pure rice breeding for the aromatic trait of the above two populations will be more effective.

Keywords: *Fragrant rice, genetics, ASA marker, BADH2, F2 population.*

Người phản biện: GS.TSKH. Trần Duy Quý

Ngày nhận bài: 3/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 23/02/2023

Ngày duyệt đăng: 28/02/2023