

ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG AMYLOSE VÀ MÙI THƠM CỦA 14 GIỐNG LÚA NẾP (*Oryza glutinosa*) Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG THÔNG QUA PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HÓA LÝ VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ ADN

Nguyễn Kim Khánh¹, Nguyễn Khiết Tâm², Trương Trọng Ngôn³

TÓM TẮT

Gạo nếp từ lâu được coi là đặc sản của nhiều vùng miền và được sử dụng cho đời sống văn hóa tín ngưỡng của con người. Để chọn nguồn vật liệu lai tạo các giống lúa nếp mới, 14 giống lúa nếp được sử dụng để đánh giá đặc điểm hình thái hạt, chất lượng gạo và cơm, phân tích hóa lý và phân tử. Các chỉ tiêu hóa lý được phân tích theo Tiêu chuẩn Quốc gia hiện hành, đồng thời sự hiện diện của gen thơm và gen quy định hàm lượng amylose cũng được đánh giá qua chỉ thị BADH2 và *WxIn1*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, có 5 giống thuộc nhóm gạo hạt dài (6,61 - 7,5 mm), chiếm tỷ lệ 35,7% gồm Nếp Thơm, Nếp Thái - 2, Nếp Thái Mỡ, Nếp Bến Tre, OM10412; chín giống thuộc nhóm hạt trung bình (5,51 - 6,60 mm). Các giống trong thí nghiệm có nhiệt độ trở hồ từ cấp 2 đến cấp 6, tập trung chủ yếu ở cấp 4 và 5 (nhiệt độ hóa hồ trung bình). Hàm lượng amylose dao động trong khoảng 1,8 - 5%, xếp loại nếp. Sử dụng dung dịch KOH 1,7% đánh giá mức độ thơm của gạo lúc cho thấy, có 4 giống thơm là Nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412 (thang điểm 2) và Nếp Hương (thang điểm 3), đồng thời cả 4 giống trên đều có mang gen thơm khi kiểm tra kiểu gen thơm với chỉ thị BADH2, tất cả 14 giống nếp nêu trên đều có hàm lượng amylose thấp, có kiểu gen T, ngoại trừ giống Nếp Thái Mỡ với hàm lượng amylose (5%) xuất hiện trạng thái dị hợp (T/G). Kết hợp các kết quả có thể chọn được giống Nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412, Nếp Hương là những giống lúa nếp chất lượng cao, có sự hiện diện của gen thơm và hàm lượng amylose thấp, có dạng hạt dài và trung bình. Kết quả nghiên cứu hứa hẹn góp phần chọn tạo được các giống lúa nếp mới chất lượng cao trong thời gian tới.

Từ khóa: *Amylose*, *BADH2*, *lúa nếp*, *WxIn1*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều thập kỷ qua, thông qua các tiến bộ về khoa học kỹ thuật như công nghệ di truyền, giống, kỹ thuật canh tác..., năng suất và sản lượng lúa nếp đã có những bước tăng đột biến. Bên cạnh năng suất và sản lượng, chất lượng gạo nếp cũng được chú trọng trong khâu chọn tạo giống để nâng cao giá trị của sản phẩm ở thị trường nội địa và xuất khẩu. Chất lượng hạt gạo nếp được quyết định bởi những yếu tố bên trong như chất lượng dinh dưỡng... và những yếu tố bên ngoài như bề ngoài hạt gạo, phẩm chất xay chà [22]. Người tiêu dùng các thị trường khác nhau quan tâm nhiều đến chất lượng ăn

bao gồm sự khác nhau về độ mềm, dẻo, thơm và độ ngon của cơm. Các tính chất này bị ảnh hưởng bởi đặc tính của tinh bột chiếm đến hơn 90% trong hạt gạo trắng [10]. Có khoảng 14 thông số mô tả tính chất giác quan của cơm, trong đó có 11 thông số tương quan chặt chẽ đến chất lượng nấu của gạo [9]. Ba chỉ tiêu hàm lượng amylose, độ bền gel và nhiệt độ trở hồ là những chỉ tiêu chính quan trọng của tinh bột được đo đạc bằng phương pháp hóa học dùng dự đoán tính chất cơm của các giống lúa [10], [12], [16], [18].

Hàm lượng amylose được xem là tính trạng có ý nghĩa quan trọng quyết định độ mềm của cơm, dự đoán chất lượng gạo nấu và chất lượng gạo chế biến vì quyết định cơm dẻo, mềm hay cứng. Tính trạng quy định hàm lượng amylose do gen *waxy* nằm trên nhiễm sắc thể số 6 điều khiển. Do đó gen *waxy* còn được gọi là gen điều khiển hàm lượng amylose. Trong nhiều nghiên cứu đã cho rằng, enzyme Granule - Bound Starch Synthase (GBSS) là sản

¹ Nghiên cứu sinh khóa 2017 - Đợt 1, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

² Sở Nông nghiệp và PTNT An Giang

³ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

* Email: ttngon@ctu.edu.vn

phẩm của gen waxy (Wx) là một trong những enzyme ảnh hưởng đến sự tổng hợp amylose [6]. Phương pháp sử dụng chỉ thị SNP ở *WxIn1* có thể được sử dụng để đánh giá hàm lượng amylose ở các giống lúa hoặc được sử dụng trong chọn giống nhờ chỉ thị phân tử, nhờ đó đã giúp những nhà chọn giống có thể cải thiện hàm lượng amylose của giống một cách toàn diện để có hàm lượng amylose hợp lý ở sản phẩm sau cùng [4].

Bên cạnh hàm lượng amylose thì mùi thơm cũng là một chỉ tiêu chất lượng quan trọng ở lúa gạo. Tính trạng mùi thơm là một tính trạng rất quan trọng để đánh giá phẩm chất gạo và bị chi phối rất mạnh bởi điều kiện môi trường. Phẩm chất gạo thay đổi theo mùa do điều kiện canh tác, thời tiết, quá trình sản xuất, thu hoạch và phơi sấy khác nhau của từng mùa [13]. Các kết quả nghiên cứu được công bố gần đây đã khẳng định, có hàng trăm chất được tìm ra có liên quan đến mùi thơm ở lúa gạo, trong đó chất 2AP là chất chính tạo mùi thơm ở hầu hết các giống lúa thơm. Chất 2AP do gen đơn lặn *fgr* nằm trên nhiễm sắc thể số 8 kiểm soát tổng hợp. Gen *fgr* được xác định có liên kết với một số chỉ thị RG28, RM223, RM342, L06 và 4 mỗi ESP, EAP, IFAP và INSP (BADH2) nhưng ở mức độ khác nhau. Trong đó, chỉ thị quanh vùng gen BADH2 sẽ giúp nâng cao độ chính xác và có thể sử dụng ở quần thể phân ly thế hệ F_2 để chọn được các cá thể mang kiểu gen thơm *fgr* đồng hợp tử và dị hợp tử với độ độ tin cậy cao [8]. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, chất lượng của gạo còn có sự khác nhau giữa các giống, vì vậy nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu rõ hơn về chất lượng của một số giống lúa nếp thông qua kết quả phân tích các chỉ tiêu hóa lý, cảm quan cơm, xác định sự hiện diện của gen thơm và gen hàm lượng amylose thấp để đề xuất những giống phù hợp cho công tác lai tạo các giống lúa nếp chất lượng cao.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Giống: 14 giống lúa nếp được thu thập tại các vùng trồng nếp phổ biến khu vực đồng bằng sông Cửu Long như An Giang, Long An, Đồng Tháp, Cần Thơ: CK2003, Nếp Thơm, Nếp Cẩm, Nếp Thái, Nếp Thái - 1, Nếp Thái - 2, Nếp Thái Mỡ, Nếp Thái - 3, Nếp Bến Tre, Nếp Đùm Lá Xanh, OM10412, IR4625, CK92 và Nếp Hương.

Các giống lúa nếp được trồng trong cùng điều kiện thí nghiệm của vụ đông xuân 2017 - 2018 tại Phú Thọ - Phú Tân - An Giang. Thu hoạch và phơi về ẩm độ 14% trước khi phân tích mẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chỉ tiêu liên quan phẩm chất gạo và cơm

Chiều dài hạt gạo và dạng hạt gạo: được phân loại theo IRRI 2014.

Hàm lượng Amylose: được xác định theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5716 -2: 2017. Hàm lượng amylose được phân loại theo bảng 1.

Bảng 1. Phân loại hàm lượng amylose của các giống lúa nếp

Phân loại	Hàm lượng amylose (%)
Nếp	0 - 5
Rất thấp	5 - 12
Thấp	12 - 20
Trung bình	20 - 25
Cao	25 - 33

Độ trở hồ: được khảo sát theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5715: 1993, dựa vào sự đánh giá độ lan rộng, độ trong suốt của hạt gạo và được chia theo 7 cấp:

- Cấp 1: Hạt gạo còn nguyên.
- Cấp 2: Hạt gạo phồng lên.
- Cấp 3: Hạt gạo phồng lên; viên còn nguyên hay vỡ nát.
- Cấp 4: Hạt gạo phồng lên, viên còn nguyên, nở rộng.
- Cấp 5: Hạt gạo nứt hoặc rã, viên hoàn toàn nở rộng.
- Cấp 6: Hạt tan ra hòa chung với viên.
- Cấp 7: Hạt tan hoàn toàn và quện vào nhau.

Dựa vào bảy cấp đánh giá, phân nhóm các giống lúa theo nhiệt độ trở hồ (Bảng 2).

Bảng 2. Phân nhóm giống lúa nếp dựa theo nhiệt độ trở hồ

Phân nhóm theo nhiệt độ trở hồ	Cấp trở hồ
Cao	1 - 3
Trung bình	4 - 5
Thấp	6 - 7

Độ bền thể gel: xác định theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8369: 2010, phân loại độ bền gel được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Phân loại giống lúa nếp dựa trên độ bền gel

Phân loại độ bền gel	Chiều dài gel (mm)
Mềm	61 – 100
Trung bình	41 – 60
Cứng	26 – 40

Hương thơm gạo lật: được đánh giá dựa theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-65: 2011/BNNPTNT. Tiến hành cân 2 g gạo lật cho vào 10 ml KOH 1,7% để yên trong 10 phút sau đó đánh giá mùi thơm và cho điểm, mức độ biểu hiện phân nhóm thơm theo 3 cấp độ sau: Cấp 1 (Không có hoặc thơm rất nhẹ); cấp 2 (Thơm nhẹ); cấp 3 (Thơm).

Đánh giá phẩm chất cơm: dựa theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8373-2010. Thang điểm đánh giá chất lượng cảm quan của cơm được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Thang điểm đánh giá chất lượng cảm quan của cơm

Điểm	Chỉ tiêu			
	Mùi	Độ trắng	Độ mềm dẻo	Vị ngon
5	Rất thơm, đặc trưng	Rất trắng	Rất mềm dẻo	Rất ngon
4	Thơm, đặc trưng	Trắng ngà	Mềm dẻo	Khá ngon
3	Có mùi thơm nhẹ, khá đặc trưng	Trắng hơi xám	Hơi mềm	Ngon
2	Có mùi cơm, hương thơm kém đặc trưng	Trắng ngà nâu	Cứng	Chấp nhận được
1	Không có mùi đặc trưng	Nâu	Rất cứng	Không ngon

Bảng 5. Xếp hạng chất lượng cảm quan của cơm

TT	Xếp hạng chất lượng	Điểm tổng hợp
1	Tốt	từ 18,6 đến 20,0
2	Khá	từ 15,2 đến 18,5
3	Trung bình	từ 11,2 đến 15,1
4	Kém	từ 7,2 đến 11,1
5	Rất kém	nhỏ hơn 7,2

Chất lượng cảm quan cơm nấu của mẫu gạo trắng được đánh giá qua điểm tổng hợp của 4 chỉ tiêu (mùi, độ trắng, độ mềm dẻo, vị ngon) theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8373-2010. Theo mức điểm,

chất lượng cảm quan cơm nấu từ mẫu gạo trắng được xếp thành 5 hạng được trình bày ở bảng 5.

2.2.2. Phương pháp phân tích kiểu gen thơm và gen liên quan đến amylose

Phương pháp tách chiết ADN:

Phân tích mẫu ADN tại Phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ. Ly trích ADN dựa theo khuyến cáo của Rogers và Bendich (1994) [17].

Kỹ thuật PCR: các đoạn mỗi dùng trong phản ứng PCR được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Các chỉ thị phân tử dùng cho khảo sát bộ gen của lúa nếp

Vùng gen	Tính trạng	Trình tự chỉ thị phân tử (5'-3')	NST
BADH2	Mùi thơm	ESP: TTGTTTGGAGCTTGCTGATG	8
		INSP: CTGGTAAAAAGATTATGGCTTCA	
		EAP: AGTGCTTTACAAAGTCCCGC	
		IFAP: CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC	
Wx In1	Hàm lượng amylose	GF: TACAAATAGCCACCCACA	6
		TF: CATCAGGAAGAATCTGCAAGT	
		TR: GATCAGCCTAACCAACA	
		GR: GGGAAACAAAGAATTATAAACATATATGTACAC	

Nguồn: BADH2: Bradbury và cs (2005b) [1]; Wx In1: Cai và cs (2015) [4]

Phản ứng PCR được thực hiện với điều kiện như sau: 1 chu kỳ 94°C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ ở 94°C - 30 s, 58°C - 30 s, 72°C - 30 s và kết thúc ở 1 chu kỳ 72°C - 5 phút. Mỗi phản ứng PCR được thực hiện ở thể tích cuối cùng là 15 µL bao gồm các thành phần 50 ng DNA, 500 nM mỗi mỗi, 0,1 mM mỗi dNTP, 1X PCR buffer và 1,25 U Taq DNA polymerase.

2.3. Phương pháp phân tích

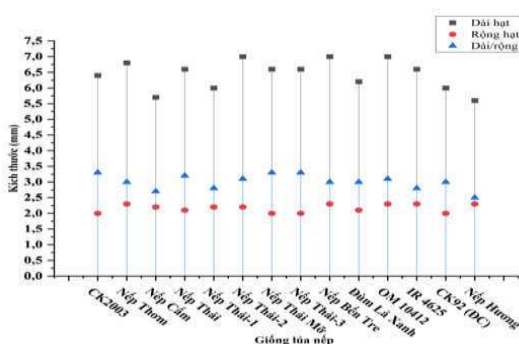
Các số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phần mềm OriginPro 2021b SR1 v9.8.5.204 được sử dụng để vẽ biểu đồ.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá chiều dài, dạng hạt và màu sắc gạo

3.1.1. Chiều dài hạt

Kích thước hạt tùy thuộc vào chiều dài của hạt, trong khi hình dạng hạt tùy thuộc vào tỷ lệ dài: rộng hạt [10]. Sự phân loại mẫu gạo tùy thuộc vào kích thước và hình dạng tùy thuộc vào các nước khác nhau và những thị trường tiêu thụ khác nhau [7]. Hệ thống phân loại thường được sử dụng theo tiêu chuẩn quốc tế của IRRI: hạt ngắn ($\leq 5,50$ mm), trung bình (5,51 - 6,60 mm), dài (6,61 - 7,50 mm) và rất dài ($> 7,50$ mm). Tương tự, đối với hình dạng hạt cũng được phân chia như sau: dạng hạt tròn ($\leq 2,0$), dạng hạt trung bình (2,1 - 3,0) và dạng hạt dài ($> 3,0$) [7].



Hình 1. Kích thước hạt của 14 giống lúa nếp

Các giống trong thí nghiệm có chiều dài dao động 5,59 - 7,04 mm, theo thang điểm của IRRI (2014) [11], các giống lúa nếp khảo sát thuộc nhóm hạt dài và nhóm hạt trung bình. Hình 1 cho thấy, có 5 giống thuộc nhóm gạo hạt dài (6,61 - 7,5 mm), chiếm

tỷ lệ 35,7% gồm Nếp Thom, Nếp Thái - 2, Nếp Thái Mỡ, Nếp Bến Tre, OM10412. Trong đó, Nếp Bến Tre và OM10412 có chiều dài hạt gạo trên 7 mm. Đối với nhóm hạt trung bình (5,51 - 6,60 mm) gồm 9 giống, chiếm tỷ lệ 64,3%: CK 2003, Nếp Cẩm, Nếp Thái, Nếp Thái - 2, Nếp Thái - 3, Đum Lá Xanh, IR4625, CK 92, Nếp Hương. Trong đó, Nếp Hương có chiều dài hạt ngắn nhất 5,59 mm. Trong khi đó, nghiên cứu của Ông Huỳnh Nguyệt Ánh và cs (2015) [15] khi khảo sát trên 26 giống Nếp tìm thấy đến 91,8% giống có hạt nếp dài. Tương tự, nghiên cứu của Nguyễn Thanh Tường và cs (2005) [14] trên 6 giống Nếp ở Bến Tre và Long An cũng cho thấy, có 4/6 giống có hạt dài (Nếp 4 Tháng, Nếp Bà Già, Nếp Lá Hẹ và Nếp Sáp), chiếm tỷ lệ 66,7% và hai nhóm Nếp Ruồi và Nếp Vò Vàng có kích thước hạt gạo thuộc nhóm trung bình chiếm tỷ lệ 33,3%.

3.1.2. Dạng hạt

Theo Vũ Thị Thu Hiền và Phạm Văn Cường (2012) [21] hình dạng hạt bán thon và thon là nguồn gen rất có ý nghĩa cho mục tiêu chọn giống có chất lượng thương phẩm cao phục vụ xuất khẩu. Theo tiêu chuẩn phân nhóm của IRRI (2014) [11], dạng hạt dài có tỷ lệ $D/R > 3,0$ và dạng hạt trung bình ($D/R = 2,1 - 3,0$). Dựa theo cách phân nhóm trên, nghiên cứu này tìm thấy 8/14 giống trong thí nghiệm thuộc dạng hạt dài chiếm tỷ lệ 57,1% và 6/14 giống thuộc dạng hạt trung bình (42,9%).

3.1.3. Màu sắc hạt lúa nếp

Trong 14 giống lúa nếp thí nghiệm, có 12/14 giống có vỏ trấu màu vàng, trong đó giống Nếp Thom, Nếp Bến Tre, OM10412 và IR4625 có vỏ trấu vàng sáng hơn các giống còn lại. Ngoài ra, giống Nếp Cẩm có vỏ trấu màu nâu tím và Nếp Hương có vỏ trấu màu nâu.

Đối với màu sắc hạt gạo, kết quả cho thấy, màu gạo khi xay chà có màu trắng sáng, riêng giống Nếp Cẩm có lúc màu tím và gạo có màu tím nhạt. Gạo các giống đều đục, đẹp, riêng giống Nếp Thái Mỡ có lẫn hạt trong, tỷ lệ đục 60%.

3.2. Kết quả đánh giá chất lượng gạo và cơm

Chất lượng gạo và cơm được trình bày ở bảng 7.

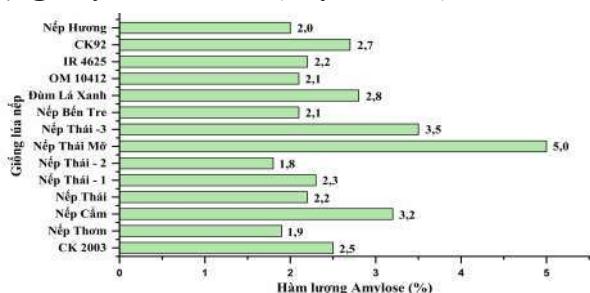
Bảng 7. Kết quả đánh giá chất lượng gạo và cơm

TT	Giống	Cấp trở hồ	Phân loại độ bền gel	Hàm lượng amylose (%)	Hương thơm gạo lật (cấp)
1	CK 2003	5	Mềm	2,50	Cấp 1

2	Nếp Thom	6	Mềm	1,90	Cấp 2
3	Nếp Cẩm	4	Mềm	3,20	Cấp 1
4	Nếp Thái	6	Mềm	2,23	Cấp 1
5	Nếp Thái - 1	4	Mềm	2,30	Cấp 1
6	Nếp Thái - 2	5	Mềm	1,80	Cấp 1
7	Nếp Thái Mỡ	2	Mềm	5,00	Cấp 1
8	Nếp Thái - 3	5	Mềm	3,50	Cấp 1
9	Nếp Bến Tre	6	Mềm	2,10	Cấp 2
10	Đùm Lá Xanh	5	Mềm	2,80	Cấp 1
11	OM10412	6	Mềm	2,10	Cấp 2
12	IR4625	6	Mềm	2,20	Cấp 1
13	CK92 (ĐC)	5	Mềm	2,70	Cấp 1
14	Nếp Hương	4	Mềm	2,00	Cấp 3

3.2.1. Kết quả phân tích amylose

Ông Huỳnh Nguyệt Ánh và cs (2015) [15] khi nghiên cứu các giống MTL cũng tìm thấy hàm lượng amylose các giống lúa nếp biến động từ 2,5 - 7,5%, trung bình là 5% và có 67,2% giống có hàm lượng amylose thấp hơn 5%. Kết quả phân tích hàm lượng amylose của 14 giống lúa nếp ở bảng 7 và hình 2 cho thấy, các giống có hàm lượng amylose dao động từ 1,8 - 5,0%, trung bình là 2,6%, có 9/14 giống có hàm lượng amylose thấp hơn amylose trung bình của 14 giống, chiếm tỉ lệ 64,3%, trong đó giống Nếp Thái - 2 có hàm lượng amylose thấp nhất (amylose = 1,8%). Có 5/14 giống có amylose cao hơn amylose trung bình, chiếm tỉ lệ 35,7%, giống Nếp Thái Mỡ có hàm lượng amylose cao nhất (amylose = 5%).



Hình 2. Hàm lượng amylose của 14 giống lúa Nếp trong thí nghiệm

3.2.2. Nhiệt độ trở hồ

Nhiệt độ trở hồ của tinh bột gạo là nhiệt độ nấu mà khi lên đến đó nước được hấp thụ và hạt tinh bột phồng lên không hoàn nguyên, đồng thời dạng tinh thể biến mất. Nhiệt độ trở hồ thường từ 55 - 79°C và được chia thành 3 nhóm chính: thấp (< 70°C), trung bình (70 - 74°C) và cao (> 74°C). Nhiệt độ trở hồ tương quan thuận với thời gian để nấu cơm chín. Gạo có nhiệt độ trở hồ cao khi ngâm nước đem nấu sẽ ít

nở hơn gạo có nhiệt độ trở hồ thấp hay trung bình [12]. Khi nghiên cứu trên 6 giống Nếp ở Bến Tre và Long An, Nguyễn Thanh Tường và cs (2005) [14] tìm thấy 5/6 giống có nhiệt độ trở hồ cấp 4 và 1/6 giống có nhiệt độ trở hồ cấp 5. Theo Nguyễn Thanh Tường (2005) [14], các giống lúa có nhiệt độ trở hồ trung bình là một trong những tiêu chuẩn cần thiết để tiến hành chọn tạo cải tiến các giống lúa. Ngược lại, Ông Huỳnh Nguyệt Ánh và cs (2015) [15] tìm thấy đến 68,9% giống lúa Nếp khảo sát có nhiệt độ trở hồ cấp 6 hoặc cấp 7.

Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích nhiệt độ trở hồ của 14 giống lúa nếp chỉ tìm thấy một giống Nếp Thái Mỡ có nhiệt độ trở hồ cấp 2 (nhiệt độ trở hồ > 74°C). Có 8/14 giống có nhiệt độ trở hồ trung bình cấp 4 và cấp 5 (nhiệt độ trở hồ trong khoảng 70 - 74°C); các giống có nhiệt độ trở hồ cấp 4 gồm 3 giống, chiếm tỉ lệ 21,4% gồm Nếp Cẩm, Nếp Thái - 1 và Nếp Hương; các giống có nhiệt độ trở hồ cấp 5 gồm 5 giống, chiếm tỉ lệ 35,7% gồm các giống CK 2003, Nếp Thái - 2, Nếp Thái - 3, Nếp Đùm Lá Xanh và CK 92. Kết quả cũng cho thấy, có 5/14 giống (Nếp Thom, Nếp Thái, Nếp Bến Tre, OM10412 và IR4625) có nhiệt độ trở hồ cấp cao (cấp 6) chiếm tỉ lệ 35,7% (Bảng 7). Các giống có nhiệt độ trở hồ cấp cao sẽ có nhiệt độ trở hồ thấp (< 70°C) và do đó cần ít thời gian nấu chín hơn. Trong giai đoạn biến đổi khí hậu hiện nay, xu hướng trên thế giới có phần tập trung cho những giống có nhiệt độ trở hồ thấp để tiết kiệm thời gian nấu và giảm phát thải nhiệt.

3.2.3. Độ bền gel

Độ bền gel (GC-Gel consistency) là một chỉ số hiệu quả để đánh giá độ dẻo của cơm sau khi để nguội. Độ bền thể gel có thể được chia ra các nhóm: cứng 26 - 40 mm, trung bình 41 - 60 mm, mềm 61 -

100 mm. Mặc dù hàm lượng amylose là yếu tố quyết định đến chất lượng nấu nướng, nhưng sự khác nhau của độ bền gel cũng góp phần tham gia đến phẩm chất cơm. Kết quả phân tích 14 giống trong thí nghiệm cho thấy các giống nếp đều có độ bền gel mềm (61 - 100 mm), đạt 100%.

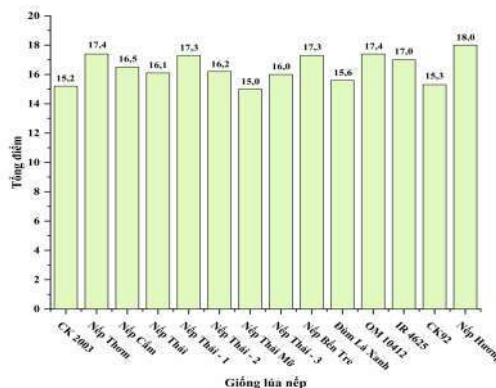
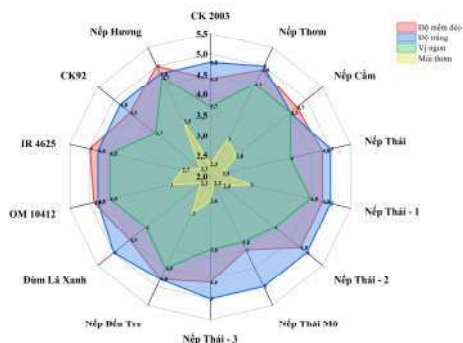
3.2.4. Kết quả đánh giá hương thơm gạo lứt với KOH 1,7%

Kết quả đánh giá có 4/14 giống có mùi thơm, trong đó ba giống Nếp Thơm, OM10412, Nếp Bến

Tre có hương thơm cấp 2 (thơm nhẹ) và giống Nếp Hương có hương thơm cấp 3 (thơm). Các giống nếp còn lại không thơm hoặc thơm rất nhẹ (cấp 1) (Bảng 7).

3.2.5. Kết quả cảm quan cơm

Các giống trong thí nghiệm được tiến hành nấu để thử cảm quan cơm theo TCVN 8373: 2010 và được đánh giá cảm quan về mùi thơm, độ mềm dẻo, độ trắng và vị ngon (Hình 3).



a. Điểm cảm quan cơm theo chỉ tiêu

b. Tổng điểm cảm quan cơm theo giống

Hình 3. Biểu đồ kết quả cảm quan cơm của 14 giống lúa nếp

Kết quả đánh giá cơm cho thấy, giống Nếp Hương nổi bật về mùi thơm, độ mềm dẻo và vị ngon và có điểm cơm cao nhất (18 điểm). Về phân loại cơm theo tổng điểm, có 13/14 giống nếp có kết quả cơm từ 15,2 - 18,0 điểm, phân loại khá (Hình 3). Riêng giống Nếp Thái Mỡ có điểm cơm thấp nhất (15 điểm) và phân loại trung bình. Từ kết quả đánh giá cơm, các giống có cơm ngon, rất dẻo và mùi thơm đặc trưng là Nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412 và Nếp Hương, các giống còn lại đạt độ mềm, dẻo, ngon nhưng không thơm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, giống nếp Nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412 và Nếp Hương là các giống nổi trội trong 14 giống thí nghiệm vì gạo đục hoàn toàn 100%, hàm lượng amylose thấp (dao động từ 1,9 - 2,2%) và chất lượng cơm thơm, rất dẻo và rất ngon phù hợp làm vật liệu lai tạo các giống nếp thơm chất lượng cao.

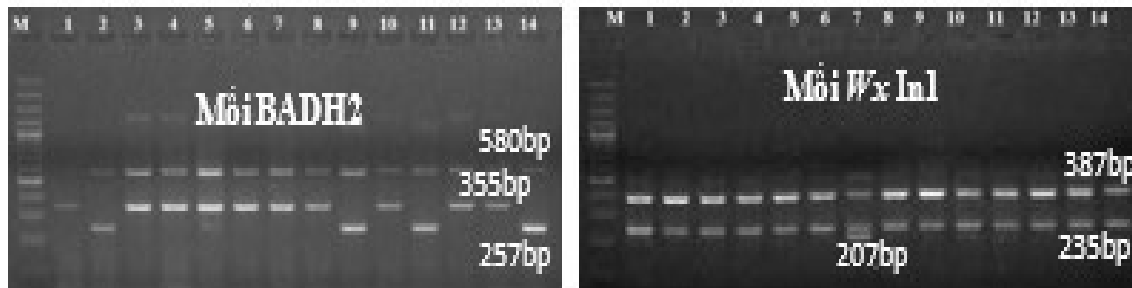
3.3. Xác định sự hiện diện của gen thơm và gen liên quan hàm lượng amylose

Theo Trần Thị Xuân Mai và cs (2014) [20], một chỉ thị phân tử hoàn hảo là chỉ thị phân tử nằm trong gen mã hóa cho tính trạng. Các kỹ thuật viên ở Trường Đại học Southern Cross đã phát hiện ra đột

biến mất một đoạn 8 cặp nucleotid và 3 SNP trong một gen được cho là mã hóa enzyme betaine aldehyde dehydrogenase 2 (BADH2) là tác nhân tạo ra mùi thơm ở gạo Jasmine và Basmati. Các giống lúa không thơm sở hữu một chức năng đầy đủ của gen mã hóa BADH2, trong khi đó, các giống thơm sở hữu một phiên bản chứa đột biến mất đoạn và SNP của gen mã hóa BADH2. Sự đa hình này đem đến cơ hội để xây dựng một chỉ thị phân tử hoàn hảo cho việc nghiên cứu gen thơm trên lúa. Dựa trên nghiên cứu của Bradbury và cs (2005a) [2] kết quả nghiên cứu cho thấy, khi sử dụng chỉ thị liên quan đến gen BADH2 trên cặp nhiễm sắc thể số 8 đã khuếch đại thành công ADN của lúa nếp với kích thước dao động từ 257 - 580 bp. Các giống Nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412, Nếp Hương lần lượt ở vị trí số 2, 9, 11, 14 có sự hiện diện của gen thơm và khi đánh giá chất lượng cơm cũng cho thấy, các giống này đều có mùi thơm và cơm rất ngon; trong khi đó các giống CK 2003, Nếp Cẩm, Nếp Thái, Nếp Thái - 1, Nếp Thái - 2, Nếp Thái Mỡ, Nếp Thái - 3, Nếp Đùm lá Xanh, IR4625, CK 92 không có mang gen thơm. Kết quả kiểm tra 14 giống lúa nếp với gen BADH2 cho thấy, mối tương quan rất rõ giữa các giống có mang gen thơm với kết quả cảm quan cơm và đánh giá hương

thơm gạo lứt, kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Thị Xuân Mai và cs (2014) [20] cho thấy, sự tương quan của chỉ thị và tính trạng mùi thơm là 100%. Nghiên cứu của Trần Mạnh Cường và cs (2014) [19] cho thấy, việc đánh giá cảm quan và xác định kiểu gen thể hiện sự tương đồng khá rõ, tìm thấy mẫu giống mang gen thơm đồng thời có điểm

mùi thơm cao (>1,8) với điểm cao nhất là 4,5; mẫu giống không mang gen thơm có điểm thấp (0-1). Do đó, sử dụng chỉ thị phân tử BADH2 để chọn lọc giống lúa có mùi thơm là rất hiệu quả vì có thể tiến hành nhanh, sớm (thử được ở giai đoạn mạ) và giúp phân biệt được những cá thể đồng hợp và dị hợp một cách chính xác [20].



Hình 4. Kết quả khuếch đại hai gen BADH2 và *Wx In1* trên 14 giống lúa nếp

Bảng 8. Sự hiện diện của các gen BADH2 và *Wx In1* ở 14 giống lúa nếp

TT	Tên giống	Gen <i>BADH2</i>	Gen <i>Wx In1</i>
1	CK 2003	-	T
2	Nếp Thơm	+	T
3	Nếp Cẩm	-	T
4	Nếp Thái	-	T
5	Nếp Thái -1	-	T
6	Nếp Thái - 2	-	T
7	Nếp Thái Mơ	-	T G
8	Nếp Thái - 3	-	T
9	Nếp Bến Tre	+	T
10	Đùm Lá Xanh	-	T
11	OM10412	+	T
12	IR4625	-	T
13	CK92 (ĐC)	-	T
14	Nếp Hương	+	T

Ghi chú: (+): có gen thơm, (-): không có gen thơm, T: alen loại T (xuất hiện ở giống amylose thấp), G: alen loại G (xuất hiện ở giống amylose cao)

Theo nghiên cứu của Cai và cs (2015), tìm thấy sự thay thế G → T ở vị trí đầu tiên của Intron (In1) của gen Waxy (*Wx*) quy định hàm lượng amylose định vị trên nhiễm sắc thể số 6, một gen kiểm soát amylose trong gạo, kết quả là làm giảm hàm lượng amylose. Phương pháp PCR với chỉ thị *Wx In1* (GF, TR, GR, TF) đã giúp phân biệt được các giống có kiểu gen G và kiểu gen T. Kết quả ở hình 4 và bảng 3 cho thấy, tất cả các giống nếp trong thí nghiệm đều có băng điện di ở kích thước 387 bp và 235 bp. Điều

này có thể kết luận rằng các giống nếp trong thí nghiệm đều có kiểu gen T, nghĩa là các giống đều có amylose thấp. Bên cạnh đó chỉ tìm thấy giống Nếp Thái Mơ có xuất hiện trạng thái dị hợp (có băng điện di 207 bp và 235 bp), chứng tỏ trong giống Nếp Thái Mơ có kiểu gen G và hàm lượng amylose 5% cũng cao hơn so với các giống không có sự hiện diện của kiểu gen G (1,8 - 3,5%), điều này cũng phù hợp với kết quả độ thuần của giống Nếp Thái Mơ khi tỷ lệ đục của gạo nếp chỉ đạt 60%. Kết quả trên cho thấy, chỉ thị *Wx In1* là một chỉ thị rất hiệu quả trong chọn giống lúa nếp dựa vào hàm lượng amylose vì có thể phát hiện các cá thể đồng và dị hợp ngay từ giai đoạn cây con do phân biệt được các giống có amylose thấp (kiểu gen T), amylose cao (kiểu gen G) hoặc giống có mang cả 2 kiểu T và G.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết quả đã chọn được bốn giống lúa nếp Thơm, Nếp Bến Tre, OM10412, Nếp Hương là những giống có triển vọng. Các giống lúa nếp này nên được đánh giá thêm 1-2 vụ ở nhiều địa điểm và mùa vụ khác nhau thuộc vùng đồng bằng sông Cửu Long để giúp đa dạng hóa nguồn giống lúa nếp cho người trồng. Ngoài ra, chúng cũng có thể được dùng làm nguồn vật liệu khởi đầu nhằm lai tạo các giống lúa nếp mới thơm với chất lượng cao.

Nên ứng dụng hai chỉ thị phân tử BADH2 và *Wx In1* cho việc khám vùng gen thơm và hàm lượng amylose trong hạt nhằm giúp đạt hiệu quả trong chương trình lai tạo và cải thiện giống lúa nếp theo mục tiêu có mùi thơm với hàm lượng amylose thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bradbury L. M. T., Henry R. J., Jin Q. S., Reinke R. F. and Waters D. L. E. (2005b). *A perfect marker for fragrance genotyping in rice*. *Mol Breed* 16: 279 - 283.
2. Bradbury L. M. T., Fitzgerald T. L., Henry R. J., Jin Q. S. and Waters D. L. E. (2005a). The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J* 3: 363 - 370.
3. Boonmeejoy J., Wichaphon J. and Jiamyangyuen S. (2019). Classification of rice cultivars by using chemical, physicochemical, thermal, hydration properties, and cooking quality. *Food and Applied Bioscience Journal*, 7 (2), 42 - 62
4. Cai, H., Xu D., Zhou L., Cheng J., Zhang Z., Wu J., and You A. (2015). Development of PCR - Based CNP marker of rice Waxy gene with confronting Two - Pair Primer. *Russian Journal of Genetics* 51 (7): 673 - 676.
5. Cagampang G. B. and Rodriguez F. M. (1980). Methods of analysis for screening crops of appropriate quantities.
6. Chen, M. H., Bergman, C. J., Pinson, S. R. M., Fjellstrom, R. G. (2008). Waxy gene haplotypes: associations with apparent amylose content and the effect by the environment in an international rice germplasm collection. *Journal of Cereal Science* 47, 536 - 545.
7. Cruz, N., and Khish, G. S. (2000). Rice Grain Quality Evaluation Procedures. In: *Singh, R.K., Singh, U.S. and Khush, G.S., Aromatic Rcies, Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, 15-28.*
8. Dương Xuân Tú, Nguyễn Văn Khởi, Lê Thị Thanh, Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Thế Dương, Trần Thị Diệu, Phan Hữu Tôn (2014). Sử dụng chỉ thị 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.
9. Fitzgerald MA, Bergman CJ, Resurreccion AP, Möller J, Jimenez R, Reinke RF, Martin M, Blanco P, Molina F, Chen M-H, Kuri V, Romero MV, Habibi F, Umemoto T, Jongdee S, Graterol E, Reddy KR, Bassinello PZ, Sivakami R, Rani NS, Das S, Wang YJ, Indrasari SD, Ramli A, Ahmad R, Dipti SS, Xie L, Lang NT, Singh P, Toro DC, Tavasoli F and Mestres C (2009). Addressing the Dilemmas of Measuring Amylose in Rice. *Cereal Chemistry*, 86 (5), 492 - 498.
10. Graham R. (2002). *A Proposal for IRRI to Establish a Grain Quality and Nutrition Research Center*. International Rice Research Institute.
11. IRRI (1994). *Standard Evaluation System for Rice*. International Rice Testing Program. 5th Edition. IRRI, Philippine.
12. Nadaf A., Mathure S. and Jawali N. (2016). Quality Parameter Assessment in Scented Rice Cultivars. In *Scented rice (Oryza sativa L.) Cultivars of India: A Perspective on Quality and Diversity (pp. 31-56)*. New Delhi: Springer India. http://doi.org/10.1007/978-81-322-2665-9_3.
13. Nguyễn Ngọc Đệ (2008). *Giáo trình cây lúa*. Nxb Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh. Trang 180-189.
14. Nguyễn Thanh Tường, Nguyễn Bảo Vệ, Võ Công Thành (2005). Đánh giá phẩm chất gạo của 55 giống lúa trồng ven biển các tỉnh Bến Tre, Long An, Tiền Giang và Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 33 - 39.
15. Ông Huỳnh Nguyệt Ánh, Nguyễn Hồng Huệ, và Nguyễn Văn Chánh (2015). Phân tích phẩm chất gạo của tập đoàn giống lúa MTL. (Miền Tây Lúa) đang lưu giữ tại Ngân hàng gen Trường Đại học Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 106 - 112.
16. Paula R., and Fitzgerald M. A. (2012). Genetic Diversity of Rice Grain Quality. In *M. Caliskan (Ed.), Genetic Diversity in Plants (pp. 285 - 310)*.
17. Rogers S. O. and Bendich A. (1994). Extraction of DNA from plant, fungal and algal tissues. In: *Gelvin SB, Schilperoort RA (eds) Plant Molecular Biology Manual. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers, D 1: 1 - 8.*
18. Taylor J. R. N., and Duodu K. G. (2009). Applications for Non - Wheat Testing Methods. In *S. P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), The ICC Handbook of Cereals, Flour, Dough & Product Testing: Methods and Applications. DEStech Publications, Inc.*
19. Trần Mạnh Cường, Nguyễn Quốc Trung, Ngô Thị Trang, Nguyễn Quốc Đại, Trần Văn Quang, Phạm Văn Cường (2014). Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của các dòng bố mẹ phục vụ chọn tạo

<http://doi.org/10.1094/CCHEM-86-5-0492>.

giống lúa lai hai dòng chất lượng cao. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 12, số 5: 650 - 655.

20. Trần Thị Xuân Mai, Nguyễn Thành Tâm, Nguyễn Thị Liên, Trương Trọng Ngon (2014). Hiệu quả của chỉ thị phân tử trợ giúp chọn lọc trong chọn tạo giống lúa. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, số 33, 78 - 84.

21. Vũ Thị Thu Hiền, Phạm Văn Cường (2012). Phân tích đa dạng di truyền mẫu giống lúa canh tác nhờ nước trời bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Khoa học và Phát triển Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội*, tập 1 (10), trang: 15 - 24.

22. Yu Y., Wing R. A., and Li J. (2013). Grain Quality. In *Genetics and Genomics of Rice* (pp. 237–254). New York, NY: Springer New York. http://doi.org/10.1007/978-1-4614-7903-1_16.

EVALUATION OF AMYLOSE CONTENT AND AROMA OF 14 GLUTINOUS RICE (*Oryza glutinosa*) VARIETIES IN THE MEKONG DELTA BY PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS AND DNA MARKER METHODS

Nguyen Kim Khanh, Nguyen Khiet Tam, Truong Trong Ngon

Summary

Glutinous rice has long become a specialty of many regions and friendly material for the cultural and religious life of a large number of people. Evaluation of grain morphological characteristics, rice quality, physicochemical and molecular analysis of fourteen glutinous rice varieties to select the breeding material for new glutinous rice varieties. The methods of analyzing data for physicochemical parameters according to the current National Standards. The presence of aromatic and amylose content regulation genes was evaluated by BADH2 and Wx In1 markers. The results showed that there were five varieties belonging to the group of the long-grain rice kernel (6.61 to 7.5 mm), accounting for 35.7% consisting of Nep Thom, Nep Thai - 2, Nep Thai Mo, Nep Ben Tre, OM10412; the remaining varieties belongs to the group of medium grain rice (5.51 to 6.60 mm). Fourteen glutinous rice varieties had alkali digestion ranging from scale 2 to 6, mainly at levels 4 and 5 (intermediate gelatinization temperature). The amylose content varies from 1.8% to 5%, classified as waxy. Using a 1.7% KOH solution to rate the scale of brown rice aroma indicated that four aromatic varieties were Nep Thom, Nep Ben Tre, OM10412 (on a scale of 2), and Nep Huong (on a scale of 3). At the same time, all four varieties have aromatic genes when testing aromatic genotypes with the BADH2 marker. Because all 14 rice varieties mentioned above with low amylose content have genotype T except for glutinous rice variety Thai Mo with low amylose content (5%) appeared heterozygous (T/G). In conclusion, it is possible to select Nep Thom, Nep Ben Tre, OM10412, and Nep Huong as high-quality glutinous rice varieties, with the presence of aromatic genes and low amylose content, with long and medium grain shapes. The research results promise to contribute to the selection of new high-quality sticky rice varieties in the coming time.

Keywords: *Amylose, BADH2, glutinous rice, WxIn1.*

Người phản biện: TS. Đỗ Đức Tuyền

Ngày nhận bài: 13/5/2022

Ngày thông qua phản biện: 14/6/2022

Ngày duyệt đăng: 06/7/2022