

LỌC THUẦN HAI GIỐNG LÚA MÙA BA BÔNG MẶN VÀ BỜ LIẾP 2

Trần Hữu Phúc¹, Vũ Anh Pháp¹, Huỳnh Kỳ² và Văn Quốc Giang²

TÓM TẮT

Ứng dụng kỹ thuật điện di SDS-PAGE protein chọn lọc những hạt có hàm lượng amylose thấp, dựa trên mức độ ăn màu của băng waxy và nhận diện khả năng kháng rầy nâu qua 2 dấu phân tử SSR (B121 và RM5749). Thí nghiệm đánh giá độ thuần, năng suất và chất lượng các dòng thực hiện từ năm 2016 đến 2017 và đánh giá năng suất giống được lọc thuần thực hiện từ năm 2017 đến 2018. Từ kết quả ngoài đồng và trong phòng thí nghiệm, đã lọc thuần thành công giống lúa Ba Bông Mặn và Bờ Liếp 2 thích nghi vùng canh tác lúa tôm và lúa cá. Thời gian sạ của hai giống này từ 15/8 - 15/9, thu hoạch tháng 12, chiều cao 106 - 110 cm, trọng lượng 1.000 hạt từ 22 - 24 g, thuộc nhóm gạo dài, tỷ lệ bạc bụng thấp (7 - 10%), mềm cơm (amylose 20,7 - 21,4%); năng suất 3,8 - 3,9 tấn/ha; kháng đạo ôn và có gen kháng rầy nâu.

Từ khóa: Lúa mùa, SDS-PAGE, SSR, B121 và RM5749

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lúa mùa địa phương được biết đến với khả năng thích nghi với điều kiện khó khăn, canh tác chủ yếu trong mô hình lúa tôm và lúa cá trên đất trũng nhiễm phèn, mặn vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Mô hình canh tác lúa - tôm là một mô hình canh tác đặc thù của vùng bị nhiễm mặn theo mùa trong hơn 50 năm qua (Nguyễn Bảo Vệ và *ctv.*, 2005). Hệ thống canh tác lúa - tôm được sản xuất với mức độ quảng canh và quảng canh cải tiến, diện tích của hình thức sản xuất này lên đến 120.000 ha vào năm 2004 và sẽ phát triển đến 200.000 ha trong các năm tiếp theo như kế hoạch của ngành nông nghiệp (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2004). Kết quả thu thập năm 2018 toàn vùng có 8/13 tỉnh có canh tác lúa tôm với khoảng 540 ngàn ha canh tác lúa tôm có kết hợp thả xen cá và cua, trong đó có hai tỉnh có diện tích canh tác lớn là Kiên Giang 170 ngàn ha và Cà Mau 180 ngàn ha.

Hai giống lúa mùa Ba Bông Mặn và Bờ Liếp 2 có khả năng chịu mặn khá tốt phù hợp cho hình lúa - tôm - cá, có chất lượng tốt, nhưng từ trước đến nay chưa được lọc thuần, nên lẫn tạp rất nhiều, gạo có lẫn dạng hạt đỏ, đã làm cho năng suất và chất lượng bị giảm. Do đó, lọc thuần hai giống lúa Ba Bông Mặn và Bờ Liếp 2 là rất cần thiết. Để giải quyết vấn đề này, tiến bộ kỹ thuật công nghệ sinh học như kỹ thuật điện di SDS-PAGE protein được ứng dụng nhằm chọn những dòng có khả năng mềm cơm; phân tích AND để chọn dòng có khả năng chống chịu rầy nâu, giúp tăng độ chính xác và rút ngắn thời gian nhằm nâng cao năng suất, chất lượng, giúp phát triển mô hình tôm - lúa, lúa - cá.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống Ba Bông Mặn và Bờ Liếp 2 được thu trên đồng khi lúa vừa chín, mẫu 5 m² hai giống này và giống Một Bụi Đò Cao, Một Bụi Đò Lùn được làm đối chứng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Ứng dụng dấu phân tử protein và ADN vào việc chọn dòng, phục tráng giống và sản xuất giống siêu nguyên chủng theo sơ đồ 2 (kỹ thuật phục tráng từ hạt giống trong sản xuất) theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2006). Số dòng đạt yêu cầu phải được hỗn dòng dùng để sản xuất giống vụ thứ nhất (G₀) thu thập bông lúa đúng giống từ đồng ruộng, vụ thứ 2 (G₁) trồng theo dòng để loại bỏ những dòng không đạt, vụ thứ 3 (G₂) đánh giá dòng vụ thứ 3, những dòng đạt yêu cầu được hỗn dòng.

2.2.1. Thanh lọc bằng kỹ thuật điện di SDS-PAGE protein

Mỗi giống lấy 80 bông từ 80 bụi tốt nhất để phân tích, chọn một hạt/bông, dựa trên điện di để chọn hạt tốt. Điện di protein trên gel polyacrylamid có SDS (SDS-PAGE) được thực hiện theo phương pháp của Laemmli (1970). Một nửa hạt (không chứa phôi mầm) được tán nhuyễn, cân chính xác 3 mg và ly trích với dung dịch Tris-HCl (pH = 8,0), chứa 0,2% SDS, 5M urea và 1% 2-ME (Mercaptoethanol) để ly trích qua đêm; ly tâm 10.000 vòng/phút, 10 ml/giống; điện di với gel cô mẫu (stacking gel) 5% và gel phân tách (separating gel) 12% với cường độ dòng điện 40 V ở gel cô mẫu, 80 V ở gel phân tách, thời gian điện di 5 h. Gel được nhuộm bằng dung dịch

¹ Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

nhuộm 0,2M Coomassie Brilliant Blue R250 trong 30 phút đến 1 giờ. Rửa gel trong dung dịch acid acetic : methanol : nước cất theo tỷ lệ 7 : 20 : 73 trong thời gian từ 1 đến 3 ngày. Các kết quả đọc gel được xử lý bằng phần mềm ImageJ (Phần mềm nguồn mở ImageJ được phát triển tại Viện Y tế quốc gia Mỹ - NIH và được cải tiến bởi nhiều người dùng).

2.2.2. Nhận diện gen kháng rầy nâu

Dựa vào kết quả điện di SDS-PAGE protein chọn ra 50% dòng tốt nhất của mỗi giống, trích ADN theo quy trình CTAB (Rogers and Bendich, 1988), phân tích ADN để chọn những dòng có mang gen kháng rầy thông qua hai dấu phân tử SSR là B121

(Rahman *et al.*, 2009) và RM5749 (Myint *et al.*, 2012), giống chuẩn kháng Ptb33, giống chuẩn nhiễm TN1. Gel được chụp, bằng máy chụp hình gel Biorad UV 2000 và ghi nhận kết quả, thang chuẩn 100bp của công ty Fermentas đã được sử dụng để ước lượng kích thước sản phẩm PCR và trình tự các cặp mỗi của các dấu phân tử này (Bảng 1).

Sau khi phân tích hai chỉ tiêu trên, gieo tất cả những dòng đạt yêu cầu (½ hạt còn lại và toàn bộ hạt chắc trên bông) trong nhà lưới, cấy ra đồng, thành ruộng dòng G₁, chiều dài các ô bằng nhau. Thường xuyên theo dõi, khử bỏ các cây khác giống do lẫn cơ giới trước khi cây đó tung phấn, không khử bỏ cây khác dạng.

Bảng 1. Trình tự các đoạn mỗi được sử dụng trong phản ứng PCR

Tên marker	Gen	Trình tự mỗi	Tác giả
B121	<i>Bph21</i>	For. 5' CGT CGT ACA TTC TGA AAT GGA G 3' Rev. 5' GGA CAT GGA GAT GGT GGA GA 3'	Rahman <i>et al.</i> , 2009
RM5479	<i>Bph26</i>	For. 5' CTA AGC TCA CCA TAG CAA TC 3' Rev. 5' ATA CAC TTC TCC CCT CTC TG 3'	Myint <i>et al.</i> , 2012

Đánh giá lần cuối dòng được chọn, thu hoạch, phân tích chiều cao, số chồi (bông/m²), hạt chắc/bông, trọng lượng 1.000 hạt, năng suất, chất lượng xay chà, chiều dài hạt gạo theo IRRI (2014), amylose theo phương pháp của Cagampang và Rodriguez (1980), protein theo Lowry O.H và cộng tác viên (1951), khả năng chống chịu cháy lá theo IRRI (2014) với giống chuẩn kháng (Tê Tép) và giống nhiễm là OM1490.

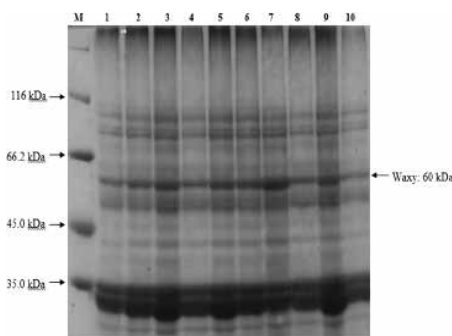
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm so sánh dòng năm 2016 - 2017 bố trí theo tuần tự không lặp lại tại ruộng canh tác lúa - tôm - cá tại ấp Minh Hà B, xã Khánh Bình Đông, huyện Trần Văn Thời, tỉnh Cà Mau. Thí nghiệm năm 2017 - 2018 tại 6 điểm, thuộc 6 xã của 3 huyện U Minh, Thới Bình và Trần Văn Thời tỉnh Cà Mau trong ruộng lúa - tôm - cá.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

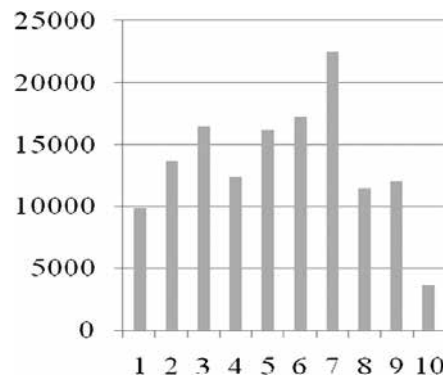
3.1. Ứng dụng chỉ thị protein phân tử vào việc nhận diện tính trạng amylose

Theo Phan Thị Bảy và cộng tác viên (2008) tinh bột chiếm 90% trong hạt gạo, tinh bột là hợp chất amylose và amylopectin. Gen wx mã hóa cho enzym tổng hợp tinh bột dạng liên kết mạch thẳng là protein waxy, có vai trò chính trong việc tổng hợp amylose, nên việc phân tích định tính waxy cũng góp phần dự đoán được hàm lượng amylose. Theo Dung (1999), hàm lượng amylose tỷ lệ thuận với mức độ đậm màu trên băng điện di SDS-PAGE protein, nghĩa là băng protein waxy nhạt màu (giá trị độ rõ thấp) thì hàm lượng amylose thấp. Đánh giá kết quả đọc gel được xử lý bằng phần mềm *ImageJ*, những hạt được chọn thì băng *Waxy 60 kDa* có độ rõ (Density) của băng *Waxy* thể hiện mức độ rõ ở giá trị thấp (Hình 1 và Hình 2).



Hình 1. Phổ điện di protein gel 5

Ghi chú: M: Dấu phân tử, 1: *BBM1*, 2: *BBM2*, 3: *BBM3*, 4: *BBM4*, 5: *BBM5*, 6: *BBM6*, 7: *IR504*, 8: *BBM7*, 9: *BBM8*, 10: *BBM9*.



Hình 2. Mức độ rõ (Density) của băng Waxy

Để thoả mãn mục tiêu cải thiện tính mềm cơm của giống (giống này hiện nay bị cứng cơm) nên chọn những hạt bằng *Waxy 60 kDa* có giá trị mức độ rõ ràng nhỏ càng tốt. Dựa vào kết quả điện di giống Ba Bông Mẩn chọn giống 1*, 4*, 8*, 9* và 10* trên gel 5, vì có băng *waxy* rất nhạt ở mức 1 (giá trị độ rõ thấp) tương ứng với hàm lượng amylose thấp, đây là những dòng có khả năng mềm cơm. Đối với lúa mùa Bờ Liếp 2, quá trình phân tích cũng thực hiện như trên.

3.2. Ứng dụng dấu phân tử SSR vào việc cải thiện khả năng kháng rầy nâu

Dựa vào kết quả phổ điện di protein của 80 hạt từ 80 bông khác nhau, chọn được 40 bông tốt nhất, tiến hành trồng và trích ADN để kiểm tra gen kháng rầy nâu thông qua hai dấu phân tử SSR là B121 và RM5749. Theo Rahman và cộng tác viên (2009) đã xác định được vị trí của gen *Bph21* nằm trên nhiễm sắc thể số 12, có kích thước 194 kbp và dấu phân tử B121 nằm giữa hai dấu phân tử S12094A và B122, sản phẩm PCR có band 101 bp tương ứng với kiểu hình kháng rầy và band 95 bp tương ứng với kiểu hình nhiễm rầy. Theo Myint và cộng tác viên (2012) thì gen *Bph26* nằm trên cánh dài của nhiễm sắc thể số 12 và dấu phân tử RM5479 cũng nằm trên nhiễm sắc thể số 12 và nằm rất gần với gen *Bph26*,

ADN khuếch đại hai band chính khoảng 200 bp (nhiễm rầy) và 160 bp (kháng rầy).

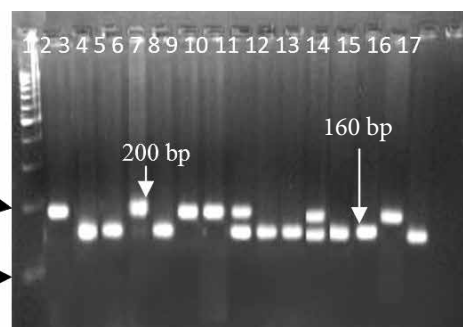
Theo Jennings và cộng tác viên (1979) có 4 *biotype* rầy nâu: *biotype 1* phân bố rộng ở Đông và Đông Nam Á; *biotype 2* có nguồn gốc ở Philippines phát sinh sau khi sử dụng rộng rãi các giống có gen *Bph1*; *biotype 3* phát sinh tại các phòng thí nghiệm ở Nhật và Philippines; *biotype 4* xuất hiện ở vùng Nam Á. Theo Ikeda và Vaughan (2006), về vấn đề xếp hạng các nhóm gen kháng với *biotype* gồm 4 nhóm. Nhóm *Bph1*, gen chủ lực là *Bph1*, thì kháng với *biotype 1* và 3, nhiễm với *biotype 2*. Nhóm *Bph2*, gen chủ lực là *bph2* thì kháng với *biotype 1* và 2, nhiễm với *biotype 3*. Nhóm *Bph3* thì kháng với tất cả *biotype*, gen chủ lực là *bph3*, *bph4*, *bph8* và *bph9*. Nhóm khác thì kháng với *biotype 4*, các gen chủ lực là *bph5*, *Bph6* và *bph7*. Theo Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2007), gen kháng nhóm *bph1* và *bph2* được tìm thấy trên nhiễm sắc thể số 12. Như vậy, nếu các dòng/giống thể hiện gen kháng trên nhiễm sắc thể số 12, tức là dòng/giống lúa có khả năng kháng với cả 3 loại *biotype* rầy nâu, đây là một đặc tính rất tốt của giống. Do hai dấu phân tử SSR là B121 và RM5749 liên kết chặt với các gen kháng rầy nâu nằm trên nhiễm sắc thể số 12, nên các dòng/giống được đánh giá là có mang gen kháng rầy nâu dựa vào hai dấu phân tử này thì có khả năng kháng với cả 3 loại *biotype* rầy nâu.



Hình 3. Điện di sản phẩm PCR dòng/giống Bờ Liếp 2 với marker B121.

Ghi chú: 1: Ptb33 (ĐC Kháng); 2: TN1 (ĐC nhiễm); 3: BL2-1^k; 4: BL2-11^{dh}; 5: BL2-3^k; 6: BL2-12^k; 7: BL2-13^k; 8: BL2-15^k; 9: BL2-16^k; 10: BL2-2ⁿ; 11: BL2-4ⁿ; 12: BL2-5ⁿ; 13: BL2-17ⁿ; 14: BL2-14^{dh}; 15: Nước (đối chứng âm); 16: thang chuẩn 100 bp. ^k: kháng; ⁿ: nhiễm; ^{dh}: dị hợp

Kết quả phân tích sản phẩm PCR trên gel agarose với nồng độ 3% cho thấy đoạn ADN được khuếch đại hai band chính khoảng 101 bp và 95 bp (Hình 3). Dấu phân tử B121 đã cho thấy sự đa hình rất rõ giữa các dòng/giống lúa khảo sát, các giống lúa có band 101 bp tương ứng với kiểu hình kháng rầy và band 95 bp tương ứng với kiểu hình nhiễm rầy như giống chuẩn kháng và chuẩn nhiễm. Dấu phân tử



Hình 4. Điện di sản phẩm PCR dòng/giống Bờ Liếp 2 với marker RM5749

Ghi chú: 1: thang chuẩn 100 bp; 2: TN1 (ĐC nhiễm); 3: Ptb33 (ĐC Kháng); 4: BL2-1^k; 5: BL2-2ⁿ; 6: BL2-3^k; 7: BL2-4ⁿ; 8: BL2-5ⁿ; 9: BL2-11^{dh}; 10: BL2-12^k; 11: BL2-13^k; 12: BL2-14^{dh}; 13: BL2-15^k; 14: BL2-16^k; 15: BL2-17ⁿ; 16: BL2-21^k; 17: Nước

này còn khuếch đại sản phẩm PCR với cùng lúc hai band 101bp và 95 bp trên một số dòng, có thể những dòng lúa này là những cá thể dị hợp. Từ kết quả này đã cho thấy B121 liên kết chặt với gen kháng rầy. Kết quả phân tích 40 dòng/giống, giống Bờ Liếp 2 (BL2-1 - BL2-40) loại bỏ 5 dòng thể hiện band nhiễm và 3 dòng dị hợp, giống Ba Bông Mẩn (BBM1 - BBM40) loại bỏ 6 dòng thể hiện band nhiễm và 3 dòng dị hợp.

Điện di sản phẩm PCR với dấu phân tử RM5479 trên gel agarose với nồng độ 3% cho thấy đoạn ADN được khuếch đại hai band chính khoảng 200 bp và 160 bp (Hình 4). Giếng 2 là mẫu đối chứng nhiễm (TN1) cho band khoảng 200 bp, giếng 3 là mẫu đối chứng kháng (Ptb33) cho band khoảng 160 bp. Dấu phân tử RM5479 cho thấy sự đa hình rất rõ trên các dòng lúa khảo sát, sản phẩm PCR với cả 2 band khoảng 200 bp và 160 bp, những dòng cho sản phẩm PCR cùng lúc 2 band này có thể là những mẫu dị hợp. Kết quả này cho thấy hai dấu phân tử cho kết quả giống nhau, tuy nhiên do số lượng mẫu còn ít và phân tích trên dòng nên không thể nhận xét là hai dấu phân tử này cho kết quả như nhau.

3.3. Khảo nghiệm 30 dòng/giống Ba Bông Mẩn và Bờ Liếp 2 năm 2016 - 2017

Lọc thuần giống theo nguyên tắc là loại bỏ những dòng được xem là khác dạng, năng suất thấp, phẩm chất kém và khả năng chống chịu kém. Kết quả giống Ba Bông Mẩn chọn được 27 dòng, loại trực tiếp 03 dòng (Ba Bông Mẩn-17, Ba Bông Mẩn-18 và Ba Bông Mẩn-22), trong đó 02 dòng 17 và 18 trở không tập trung, dòng 22 phát triển kém lá cờ hơi xiên và giống Bờ Liếp 2 chọn được 28 dòng loại bỏ trực tiếp 2 dòng (Bờ Liếp 2-7, Bờ Liếp 2-24) vì có màu bẹ lá khác dạng.

Đánh giá chiều cao (cm): Chiều cao giữa các dòng càng gần nhau, sau khi hỗn dòng đưa ra sản xuất thì giống sẽ có độ thuần trên đồng ruộng càng cao, giúp tất cả các cây lúa phát triển đồng đều. Do có chiều cao gần bằng nhau nên khả năng quang hợp và hấp thu dưỡng chất được tốt, giúp cải thiện năng suất, những dòng có chiều cao nằm trong khoảng

giá trị trung bình cộng trừ độ lệch chuẩn ($\bar{X} \pm s$) sẽ được chọn, bỏ những dòng có chiều cao cây quá cao hay quá thấp (Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2006).

Đánh giá thành phần năng suất và năng suất (tấn/ha): Bông/m², số hạt chắc/bông, trọng lượng 1.000 hạt (g) chọn những dòng có số bông/m² lớn hơn giá trị ($\bar{X} - s$), để cải thiện các thành phần năng suất. Năng suất: chọn những dòng có năng suất lớn hơn giá trị > 3,5 tấn/ha vì theo kết quả lấy mẫu năng suất giống Một Bụi Đỏ trung bình là 3,5 tấn/ha.

Đánh giá chất lượng gạo: Tỷ lệ gạo lức, gạo trắng và gạo nguyên chọn những dòng có tỉ lệ (%) hơn giá trị ($\bar{X} - s$). Chiều dài gạo (mm) chọn những dòng Ba Bông Mẩn có chiều dài gạo (mm) lớn hơn giá trị trung bình chung (> 6,1 mm). Bạc bụng cấp 9 (%) chọn những dòng có tỉ lệ (%) bạc bụng cấp 9 (< 15%) (vì các mẫu giống thu thập có tỉ lệ bạc bụng trung bình là 15%). Amylose (%) chọn những dòng Ba Bông Mẩn có tỉ lệ (%) amylose (< 22,5%) và giống Bờ Liếp 2 chọn những dòng có amylose thấp (< 21,5%). Protein (%) chọn những dòng có tỉ lệ (%) protein lớn hơn giá trị ($\bar{X} - s$).

Khả năng chống chịu bệnh cháy lá (cấp bệnh): chọn những dòng có mức chống chịu rất kháng (cấp 1) đến hơi kháng (cấp 3).

Giống Ba Bông Mẩn sau khi đánh giá chọn được 11 dòng tốt nhất đạt tất cả các chỉ tiêu (Bảng 2), tương tự giống Bờ Liếp 2 chọn được 9 dòng tốt nhất thoả mãn tất cả các chỉ tiêu (Bảng 3) và các dòng/giống được hỗn lại, tiếp tục đánh giá vụ tiếp theo.

Bảng 2. Các dòng Ba Bông Mẩn tốt nhất được chọn

Chỉ tiêu	Ba Bông Mẩn										
	1	3	4	5	8	11	13	15	24	26	27
Chiều cao (cm)	108	106	106	105	108	105	106	106	106	105	106
Bông/m ²	270	280	281	232	278	280	299	270	270	280	281
Hạt chắc/bông	69	81	75	77	65	65	62	69	69	81	75
1.000 hạt (g)	22,1	22,1	22,1	21,5	21,4	22,1	22,1	22,1	22,1	22,1	22,1
Năng suất (tấn/ha)	4,0	3,6	4,0	3,6	3,8	3,6	4,1	4,0	4,0	3,6	4,0
Gạo lức (%)	80	81	80	81	81	81	80	80	80	81	80
Gạo trắng (%)	69	69	69	70	69	69	69	69	69	69	69
Gạo nguyên (%)	66	67	66	66	67	67	66	66	66	67	66
Dài gạo (mm)	6,6	6,4	6,5	6,3	6,2	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,4
Bạc bụng (%)	10,0	9,0	10,0	9,5	10,3	9	10	10	10	9	10
Amylose (%)	20,9	22,5	22,0	21,4	20,4	21,5	22,0	20,8	20,5	22,5	22,0
Protein (%)	7,2	7,8	8,6	8,1	7,3	8	7,8	7,4	8,1	7,6	7,8
Cháy lá (cấp)	3	3	3	1	1	1	3	1	3	0	0

Bảng 3. Các dòng Bờ Liếp 2 tốt nhất được chọn

Chỉ tiêu	Bờ Liếp 2								
	2	3	4	8	10	12	13	16	22
Chiều cao (cm)	114	115	113	110	116	115	110	112	111
Bông/m ²	216	235	231	236	258	221	250	215	285
Hạt chắc/bông	63	57	57	64	63	63	65	67	65
1.000 hạt (g)	24,8	27,1	25,3	24,5	24,2	24,2	24,3	26,1	22,9
Năng suất (tấn/ha)	3,6	3,6	3,6	3,8	4,0	3,5	4,0	3,6	4,3
Gạo lức (%)	79	81	79	81	79	80	81	80	80
Gạo trắng (%)	67	69	68	68	68	68	71	67	70
Gạo nguyên (%)	57	61	58	62	59	58	66	56	63
Chiều dài gạo (mm)	6,6	6,6	6,7	6,7	6,5	6,5	6,4	6,6	6,6
Bạc bụng (%)	5,5	8	4,5	9,5	10	10	5,5	4,5	4,5
Amylose (%)	20,8	20,8	20,5	20,5	21,2	20,1	20,2	20,1	20,4
Protein (%)	8,5	8,6	9,4	9,0	8,1	7,8	7,9	8,1	8,4
Cháy lá (cấp)	1	1	1	1	3	3	3	3	1

3.4. Đánh giá các dòng đã được lọc thuần năm 2017 - 2018

3.4.1. Chiều cao, thành phần năng suất và năng suất thực tế

Hỗn dòng, 11 dòng giống Ba Bông Mẩn được hỗn dòng thành một, là giống Ba Bông Mẩn đã được lọc thuần và giống Bờ Liếp 2 đã lọc thuần là hỗn hợp của 9 dòng.

Kết quả thí nghiệm tại 6 điểm thí nghiệm (Bảng 4) trong mô hình lúa-tôm-cá cho thấy, giống Bờ Liếp 2 đã được lọc thuần có chiều cao trung bình tương

đương với giống Bờ Liếp 2 đối chứng chưa lọc thuần (khác biệt không có ý nghĩa thống kê). Điều này cho thấy trong quá trình lọc thuần chỉ cải thiện độ đồng đều mà không làm thay đổi đặc tính chiều cao của giống. Giống Bờ Liếp 2 sau lọc thuần có năng suất cao hơn giống chưa lọc thuần đạt 3,8 tấn/ha (khác biệt có ý nghĩa thống kê) cải thiện được 19% năng suất. Kết quả đánh giá trên giống Ba Bông Mẩn sau lọc thuần và trước lọc thuần (Bảng 5) cũng cho kết quả tương tự như giống Bờ Liếp 2. Giống Ba Bông Mẩn sau lọc thuần đạt năng suất 3,9 tấn/ha.

Bảng 4. Chiều cao, thành phần năng suất và năng suất thực tế

TT	Tên giống	Chiều cao (cm)	Bông/m ²	Hạt chắc/bông	Trọng lượng 1.000 hạt (g)	Năng suất (tấn/ha)
1	Bờ Liếp 2 (hỗn dòng)	110 ^{bc}	248 ^{ab}	63 ^{cd}	24,2 ^a	3,8 ^a
2	Ba Bông Mẩn (hỗn dòng)	106 ^c	268 ^a	72 ^a	22,2 ^b	3,9 ^a
3	Bờ Liếp 2 (Đ/c)	113 ^b	227 ^b	58 ^d	23,4 ^a	3,2 ^d
4	Ba Bông Mẩn (Đ/c)	107 ^c	257 ^a	66 ^{bc}	21,9 ^b	3,3 ^{cd}
5	Một Bụi Đỏ Lùn (Đ/c)	97 ^d	263 ^a	70 ^{ab}	23,4 ^a	3,5 ^b
6	Một Bụi Đỏ Cao (Đ/c)	118 ^a	233 ^b	60 ^d	23,4 ^a	3,4 ^{bc}
	<i>Trung bình</i>	<i>108,3</i>	<i>249,3</i>	<i>64,9</i>	<i>23,1</i>	<i>3,5</i>
	<i>F giống</i>	<i>**</i>	<i>**</i>	<i>**</i>	<i>**</i>	<i>**</i>
	<i>F địa điểm</i>	<i>*</i>	<i>**</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>**</i>
	<i>F giống × địa điểm</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
	CV (%)	5,6	13	11,4	4,8	6,9

Ghi chú: Bảng 4, 5: ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê; *: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%; **: khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Những số trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.4.2. Chất lượng gạo

Độ bạc bụng ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ xay chà, giá cả khi xuất khẩu và thị hiếu người tiêu dùng. Đối với gạo tẻ nguyên nhân bạc bụng là do hạt tinh bột ở vùng bạc bụng sắp xếp rời rạc kém chặt chẽ tạo khe hở chứa không khí giữa các hạt tinh bột tạo thành vết đục (Del Rosario *et al.*, 1968). Giống sau khi lọc thuần đã giảm tỷ lệ bạc bụng, đồng thời chiều dài hạt gạo cũng được cải thiện đáng kể, đáp ứng tốt thị hiếu

người tiêu dùng. Kết quả so sánh giữa giống Bờ Liếp 2 đã phục tráng và giống Bờ Liếp 2 đối chứng chưa lọc thuần, giống đã lọc thuần có tỷ lệ gạo nguyên cao hơn giống chưa lọc thuần và giống Ba Bông Mẩn đã lọc thuần so sánh với giống Ba Bông Mẩn đối chứng chưa lọc thuần cũng cho tỷ lệ gạo nguyên cao hơn. Điều này cho thấy, giống được lọc thuần thành công cải thiện đáng kể chất lượng xay chà.

Bảng 5. Tỷ lệ gạo lúc, trắng, nguyên, bạc bụng, chiều dài hạt gạo và amylose

TT	Tên giống	Gạo lúc (%)	Gạo trắng (%)	Gạo nguyên (%)	Bạc bụng cấp 9 (%)	Chiều dài gạo (mm)	Amylose (%)
1	Bờ Liếp 2 (hỗn dòng)	80 ^a	69 ^{ab}	60 ^c	7 ^b	6,9 ^a	20,7 ^c
2	Ba Bông Mẩn (hỗn dòng)	80 ^a	69 ^a	66 ^a	10 ^b	6,3 ^b	21,4 ^c
3	Bờ Liếp 2 (Đ/c)	80 ^a	68 ^{bc}	55 ^d	13 ^a	6,6 ^a	22,6 ^b
4	Ba Bông Mẩn (Đ/c)	80 ^a	68 ^{ab}	62 ^b	16 ^a	6,0 ^c	23,7 ^a
5	Một Bụi Đỏ Lùn (Đ/c)	80 ^{ab}	67 ^c	60 ^c	7 ^b	6,0 ^c	23,7 ^a
6	Một Bụi Đỏ Cao (Đ/c)	79 ^b	67 ^c	55 ^d	15 ^a	6,1 ^c	24,4 ^a
	<i>Trung bình</i>	80	67,9	59,7	11,5	6,3	22,7
	<i>F giống</i>	**	**	**	**	**	**
	<i>F địa điểm</i>	**	**	**	*	**	<i>ns</i>
	<i>F giống × địa điểm</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>	**
	<i>CV (%)</i>	1,4	1,7	4,7	38,5	3,9	5,1

Hàm lượng amylose có thể được xem là hợp phần quan trọng trong phẩm chất cơm nấu vì nó quyết định tính chất của hạt như: dẻo, mềm hay cứng. Theo IRRI (2014), hàm lượng amylose thấp (10 - 20%), trung bình (20 - 25%) và cao (25 - 30%), phần lớn các giống lúa mùa ở Việt Nam, Thái Lan, Miến Điện và Ấn Độ có hàm lượng amylose từ cao đến trung bình. Giống lúa Ba Bông Mẩn và Bờ Liếp 2 thuộc nhóm amylose trung bình, sau khi lọc thuần có hàm lượng amylose thấp hơn so với giống đối chứng, góp phần cải thiện tính mềm cơm của giống.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Ứng dụng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE và nhận diện gen kháng rầy nâu bằng dấu phân tử SSR, đã giúp loại bớt những dòng có khả năng khô cơm và những dòng nhiễm rầy nâu, góp phần tăng độ chính xác của kết quả nghiên cứu. Hai dấu phân tử B121 và RM5479 giúp đánh nhanh các dòng/giống lúa mùa mang gen kháng.

Giống lúa mùa Ba Bông Mẩn đã lọc thuần thích hợp cho mô hình canh tác lúa tằm và có mang gen

kháng rầy nâu, có năng suất khá 3,9 tấn/ha (cải thiện năng suất 18,2% so với giống Ba Bông Mẩn đối chứng chưa lọc thuần 3,3 tấn/ha), chất lượng xay chà tốt, tỷ lệ bạc bụng 10% cải thiện được gần 40% so với giống chưa lọc thuần và hàm lượng amylose trung bình là 21,4% (cải thiện được tính mềm cơm 9,7%).

Giống lúa mùa Bờ liếp 2 đã lọc thuần thích hợp cho mô hình canh tác lúa tằm và có mang gen kháng rầy nâu, có năng suất khá 3,8 tấn/ha (cải thiện năng suất 15,8% so với giống Bờ liếp 2 đối chứng chưa lọc thuần 3,3 tấn/ha), chất lượng xay chà tốt, tỷ lệ bạc bụng 7% cải thiện được gần 38,5% so với giống chưa lọc thuần và hàm lượng amylose trung bình là 20,7% (cải thiện được tính mềm cơm 8,4%).

4.2. Đề nghị

Nhân nguồn giống để đưa vào sản xuất và thử nghiệm các biện pháp canh tác trên hai giống lúa này.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Cà Mau đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn Trung tâm Giống Nông nghiệp Cà Mau đã phối hợp thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phan Thị Bẩy, Nguyễn Công Hương, Lê Thị Muội và Nguyễn Đức Thành**, 2008. Đặc điểm các microsatellite của gen tổng hợp tinh bột ở một số giống lúa Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 6 (3): 311-320.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn**, 2004. “Quy hoạch chuyển đổi cơ cấu sản xuất nông - lâm - thủy sản vùng ĐBSCL đến năm 2010 và tầm nhìn đến năm 2020”. Địa chỉ: <http://vukehoach.mard.gov.vn/Default.aspx?baocaoquyhoach>; ngày truy cập: 21/10/2018.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn**, 2006. *Quyết định số 4100/QĐ/BNN-KHCN, ngày 29 tháng 12 năm 2006, của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về Lúa thuần - qui trình kỹ thuật sản xuất hạt giống, theo tiêu chuẩn ngành (10TCN: 395 - 2006)*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội. 2007.
- Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang**, 2007. *Chọn giống cây trồng - Phương pháp Truyền thống và Phân tử*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 504 trang.
- Nguyễn Bảo Vệ, Ngô Ngọc Hưng, Quảng Trọng Thao, Nguyễn Thành Hối, Vũ Ngọc Út và Đỗ Minh Nhựt**, 2005. *Nghiên cứu xây dựng mô hình lúa - tôm bền vững tại huyện An Biên và Hòn Đất, tỉnh Kiên Giang*. Sở Khoa học và Công nghệ Kiên Giang, Kiên Giang.
- Cagampang G. B. and F. M. Rodriguez**, 1980. *Methods analysis for screening crops of appropriate qualities*. Institute of Plant Breeding. University of the Philippines at Los Banos. pp 8-9
- Del Rosario, R., Aurora & P. Briones, Vivian & J. Vidal, Amanda & Juliano, Bienvenido**, 1968. Composition and Endosperm Structure of Developing and Mature Rice Kernel. *Cereal Chemistry*, 45: p. 225-235.
- Dung L. V.**, 1999. *The genetic complexity of agronomical traits in relation to its evaluation and use in rice*. Thesis (Doctor). Hokkaido University of Japan, 118p: 64-72p
- Ikeda, R. and D.A. Vaughan**, 2006. *The distribution of resistance genes to the brown plant hopper in rice germplasm*. International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila, Philippines.
- IRRI (International Rice Research Institute)**, 2014. *Standard Evaluation system of rice (SES), 5th Edition*. Los Baños, Philippines, 57 pages.
- Jenning, P.R., W.R. Coffman and H.E. Kauffman**, 1979. *Rice Improvement*. International Rice Research Institute. Los Bannos. Philippines, pp.113-116.
- Laemmli. U.K.**, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall**, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagen. *Bio. Chem.* 193: pp. 265-275.
- Myint, K.K.M., D. Fujita, M. Matsumura, T. Sonoda, A. Yoshimura and H. Yasui**, 2012. Mapping and pyramiding of two major genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) in the rice cultivar ADR52. *Theor Appl Genet*, 124: 495 -504.
- Rahman, M.L., W. Jiang, S.H. Chu, Y. Qiao, T.H. Ham, M.O. Woo, J. Lee, M.S. Khanam, J.H. Chin, and J.U. Jeung**, 2009. High resolution mapping of two rice brown planthopper resistance genes, *Bph20(t)* and *Bph21(t)*, originating from *Oryza minuta*. *Theor. Appl. Genet.*, 119: 1237-1246.
- Rogers, S.O., and Bendich, A.J.**, 1988. Extraction of ADN from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual*, A6:73-83.

Selection of two local varieties Ba Bong Man and Bo Liep 2

Tran Huu Phuc, Vu Anh Phap, Huynh Ky and Van Quoc Giang

Abstract

Protein electrophoresis application was used for choosing seeds that has good grain quality such as low amylose content based on the color of the waxy, and identification of resistance to brown plant hopper by SSR markers (B121 and RM5749). Experiments were carried out to evaluate the genetic purity, yield and quality of the lines from 2016 to 2017 and to evaluate the yield of selected lines from 2017 to 2018. Pure rice varieties including Ba Bong Man and Bo Liep 2 were successfully selected in laboratory and on field which were adapted to rice-shrimp-fish farming areas. Sowing time of these two varieties were from August 15 to September 15; harvesting time in December, plant height of 106 - 110 cm, weight of 1000 grains in the range of 22 - 24 g, long grain; chalkiness of endosperm rate ranged from 7% to 10%, low amylose content ranging from 20.7% to 21.4%, actual yield of 3.8 - 3.9 tons/ha, resistance to blast disease and brown plant hopper.

Keywords: Local rice, SDS-PAGE, SSR, B121 and RM5749

Ngày nhận bài: 18/1/2019

Ngày phản biện: 24/1/2019

Người phản biện: TS. Huỳnh Văn Nghiệp

Ngày duyệt đăng: 14/2/2019