

XÁC ĐỊNH GEN THƠM VÀ SỰ BIỂU HIỆN HƯƠNG THƠM CỦA CÁC DÒNG ĐỘT BIẾN PHÁT SINH TỪ GIỐNG LÚA TÁM DỰ VÀ TÁM THƠM ĐỘT BIẾN

Nguyễn Xuân Dũng¹, Nguyễn Văn Tiếp¹, Nguyễn Minh Công²

TÓM TẮT

Sử dụng các chỉ thị phân tử SSR liên kết với locus kiểm soát hương thơm ở lúa (BADH2) để kiểm tra gen thơm của 24 dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dự, 22 dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến và 2 giống gốc. Kết quả cho thấy: 2 giống gốc và 44/46 dòng đột biến mang cặp gen lặn kiểm soát hương thơm *fgrfgr* (trừ 2 dòng đột biến TD38 và TD39) và đều cho gạo thơm ở các mức độ khác nhau (từ thơm đậm đến thơm rất nhẹ). Cùng một giống gốc hoặc một dòng đột biến mang cặp gen lặn *fgrfgr* nhưng được gieo trồng ở 6 tỉnh và thành phố khác nhau thì cho mức độ hương thơm khác nhau (ở Hải Hậu - Nam Định có chỉ số hương thơm cao nhất). Gạo vụ Mùa thơm hơn gạo vụ Xuân; gạo từ lúa thu hoạch khi chín 80% thơm hơn từ lúa được thu hoạch khi chín toàn phần (100%). Các dòng đột biến TD4, TD9, TD22 và TD27 cho gạo thơm bằng hoặc đậm hơn so với giống gốc khi gieo trồng ở một số địa điểm; các dòng ĐB5, ĐB7, ĐB18 có hương thơm tương tự giống gốc.

Từ khóa: Gen thơm (*fgrfgr*), dòng đột biến, giống lúa đặc sản, vụ Xuân, vụ Mùa

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuật ngữ “gen thơm” ở lúa trong nhiều năm được sử dụng chưa thống nhất. Bradbury và cộng tác viên (2005) và một số tác giả đặt tên gen thơm là BADH2 vì locus này mã hóa phân tử protein gồm 503 amino axit, tạo ra enzyme BADH2 (Betaine Aldehyde Deydrogenase Homologue 2) có hoạt tính ức chế tổng hợp 2AP làm cho lúa không thơm. Ngược lại, khi đột biến lặn phát sinh trong gen này (làm xuất hiện alen lặn *fgr* và kiểu gen đồng hợp lặn *fgr fgr*) làm mất chức năng nói trên thì sẽ cho gạo thơm. Một số tác giả khác đặt tên cho gen thơm là *fgr* (fragrance) - dựa trên kiểu hình kiểm soát bởi locus BADH2. Kết quả xác định trình tự nucleotit trong gen (hay giải trình tự nucleotit trong gen) của Gaur và cộng tác viên (2016) cho thấy *fgr* và BADH2 thực chất chỉ là một gen. Vì vậy, các công trình công bố gần đây đều sử dụng thuật ngữ “gen thơm” là *fgr* - kiểu gen *fgr fgr* kiểm soát hương thơm. Các giống lúa và dòng đột biến có kiểu gen *fgr fgr* thường cho gạo thơm. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của Phan Hữu Tôn và Tống Văn Hải (2010) cho thấy các giống lúa cho gạo thơm đều mang cặp gen lặn *fgr fgr* nhưng một số giống mang cặp gen này lại không cho gạo thơm.

Để góp phần làm sáng tỏ cơ chế di truyền kiểm soát hương thơm và sự biểu hiện của gen thơm ở các điều kiện gieo trồng, mùa vụ và thời điểm khác nhau của quá trình chín của hạt thóc, nghiên cứu “Xác định gen thơm và sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dự và Tám Thơm Đột Biến” được tiến hành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng 24 dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dự, 22 dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến ở thế hệ thứ 7 và 2 giống gốc. Các dòng đột biến nói trên được tạo ra bằng chiếu xạ tia gamma (Co⁶⁰) vào hạt lúa nảy mầm ở thời điểm 69 h kể từ khi ngâm hạt cho hút nước bão hòa ở khoảng nhiệt độ 30 - 32°C trong 36 h, tiếp đó đem ủ ở khoảng nhiệt độ nói trên. Sử dụng các chỉ thị *fgr* gồm 4 môi: EAP, IFAP, ESP và INSP để xác định sự có mặt của gen thơm ở các dòng đột biến và giống gốc.

Bảng 1. Tên và trình tự 4 môi xác định gen thơm

Tên môi	Trình tự
ESP	5'-TTGTTTGGAGCTTGCTGATG-3';
IFAP	5'-CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3'
INSP	5'-CTGGTAAAAAGATTATGGCTTCA-3'
EAP	5'-AGTGCTTTA CAAGTCCCGC-3'

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định gen thơm

a) Tách chiết ADN tổng số

Mẫu lá của các dòng đột biến và giống gốc được thu thập và tách chiết ADN tổng số theo phương pháp CTAB của Obara và Kako (1998) có cải tiến.

- Chuẩn bị sẵn dung dịch đệm chiết CTAB ở 60°C.

Nghiên khoảng 0,3 gam mẫu lá bằng chày và cối sứ vô trùng trong nitơ lỏng đến khi thành dạng bột mịn, sau đó hoà tan trong 800 µl CTAB buffer và 60 µl SDS 10%.

Ủ mẫu ở 65°C trong bể ổn nhiệt, khoảng 60 phút.

Bổ sung hỗn hợp CHCl₃-IsoA (24 : 1) với tỷ lệ 1 : 1 về thể tích so với dịch mẫu, lắc nhẹ cho tới khi thành dạng nhũ sữa. Ly tâm 12000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng, hút dung dịch phía trên chuyển sang ống mới.

Tiếp tục chiết lần 2 bằng hỗn hợp CHCl₃-IsoA (24 : 1). Thu được dịch chiết chứa ADN, rửa ADN bằng ethanol đã làm lạnh rồi để ở -20°C trong 1 giờ.

Ly tâm thu rửa 14000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, rửa rửa bằng etanol 70%, ly tâm thu rửa, làm khô và hoà tan trong đệm TE. Độ tinh sạch và nồng độ ADN tổng số được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1% cùng với ladder λADN 25 µg/µl.

- Kỹ thuật PCR:

Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Veriti 96 well Thermal cycler, tổng thể tích phản ứng là 15 µl, bao gồm: 5 µl ADN; 0.15 µM mỗi; 0.2 mM dNTPs; 1X dịch đệm PCR; 2.5 mM MgCl₂ và 0.25 đơn vị Taq polymerase.

Điều kiện phản ứng PCR:

+ Bước 1: Nhiệt độ 95°C, thời gian 7 phút, số chu kỳ: 1.

+ Bước 2: Nhiệt độ 94°C, thời gian 15 giây; Nhiệt độ 55°C, thời gian 30 giây; Nhiệt độ 72°C, thời gian 1 phút, số chu kỳ: 35.

+ Bước 3: Nhiệt độ 72°C, thời gian 5 phút, số chu kỳ: 1.

Giữ mẫu ở 4°C.

Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 3%.

b) Điện di trên gel agarose

Theo phương pháp của Khoa Genome Thực vật, Trường Đại học Công nghệ Texas, Mỹ (2002) có cải tiến.

Chuẩn bị gel agarose:

- Bột agarose (3%) được hòa tan trong dung dịch đệm TBE 0.5X. Đun sôi dung dịch agarose bằng lò vi sóng, rồi đưa về khoảng 50°C, sau đó bổ sung Ethidium bromide (EtBr) với nồng độ 0.5 µg/ml. Rót hỗn hợp gel agarose EtBr vào khay gel và cắm lược.

- Tra sản phẩm PCR.

- Chạy điện di với dung dịch đệm TBE 0.5X với điều kiện 100 mA trong 4 giờ.

Rửa gel trong H₂O rồi đặt gel vào máy soi UV và chụp ảnh.

c) Điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide

Sản phẩm PCR được điện di trên gel

polyacrylamide 6,0% và được phát hiện dưới tia cực tím bằng phương pháp nhuộm ethidium bromide.

+ Gel polyacrylamide bao gồm các thành phần sau (bản gel có kích thước 30 cm × 12 cm): 22,2 ml nước cất khử ion; 1,5 ml TBE 10X; 6 ml dung dịch acrylamide 40%; 300 µl dung dịch APS 10%; 25µl dung dịch TEMED; 30 ml tổng thể tích gel.

+ Trộn đều hỗn hợp các dung dịch trên và dùng xilanh bơm vào giữa hai tấm kính. Sau 30 phút, gel được polyme hoá hoàn toàn, điện di sản phẩm PCR cùng với thang marker ΦX174 ở điều kiện 150V.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu sự biểu hiện hương thơm

Hương thơm được đánh giá theo phương pháp của Sood và Siding (1978), được Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2004) cụ thể hóa như sau: mỗi dòng/giống lấy 15 hạt, bóc vỏ trấu và nghiền nhỏ, sau đó đặt trong đĩa petri. Cho vào mỗi hộp 0,5 ml dung dịch KOH 1,7% và đậy nắp hộp, đặt trong điều kiện 30°C trong 30 phút. Sau đó, mở lần lượt từng hộp và đánh giá hương thơm theo cảm quang. Chỉ số hương thơm của mỗi mẫu là trung bình cộng kết quả đánh giá của 5 người. Để tăng khả năng xác định độ khác biệt giữa các dòng với nhau và với giống gốc, nhóm tác giả đã chi tiết hóa thang đánh giá hương thơm của hạt gạo lứt trong “Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của các giống lúa” - QCVN01-65:2011/BNNPTNN với chỉ gồm 3 mức (không thơm hoặc thơm rất nhẹ - điểm 1; thơm nhẹ - điểm 2; thơm - điểm 3) cụ thể như sau: 0 - không thơm; 0 < thơm rất nhẹ < 3; 3 ≤ thơm nhẹ < 6; 6 ≤ thơm < 8; 8 ≤ thơm đậm ≤ 10.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

- Kết quả về xác định gen thơm được đọc trực tiếp trên băng điện di và đối chiếu với đối chứng dương là băng điện di của giống Basmati có cặp gen đồng hợp tử lặn về gen *fgr*; alen lặn *fgr* có băng với kích thước tương đương 257bp, còn alen trội FGR có băng với ích thước tương đương 355bp. Kết quả đọc băng được mã hóa bằng các ký hiệu như sau:

Ký hiệu - là băng có kích thước tương đương 257bp hay có gen lặn *fgr*.

Ký hiệu + là băng có kích thước tương đương 355bp hay có gen trội FGR.

Nên -/- là ký hiệu của cặp gen lặn *fgr fgr*; +/+ là ký hiệu của cặp gen trội FGR FGR; +/-: ký hiệu của cặp gen dị hợp tử FGR *fgr*.

- Kết quả xác định sự biểu hiện hương thơm: điểm hương thơm là điểm trung bình của 5 người đánh giá hương thơm.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: 1/2017 - 12/2017.
- Địa điểm nghiên cứu:

Thí nghiệm xác định gen thơm được thực hiện tại Bộ môn Di truyền học, Trường đại học Sư phạm Hà Nội.

Các dòng/giống nghiên cứu được gieo trồng tại 6 địa điểm thuộc các tỉnh, thành phố: huyện Hữu Lũng - Lạng Sơn; Việt Yên - Bắc Giang; Sơn Dương

- Tuyên Quang; Thanh Trì - Hà Nội; Hải Hậu - Nam Định và Hậu Lộc - Thanh Hóa để xác định sự biểu hiện hương thơm.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra gene thơm *fgr*

Bradbury và cộng tác viên (2005) đã chứng minh rằng: Phản ứng PCR với 2 mỗi EAP và ASP khuếch đại được đoạn AND gồm 577bp ở các giống lúa thơm và đoạn AND gồm 585bp ở lúa không thơm; còn 2 mỗi IFAP và INSP khuếch đại đoạn 257bp ở giống lúa thơm và 355bp ở lúa không thơm.

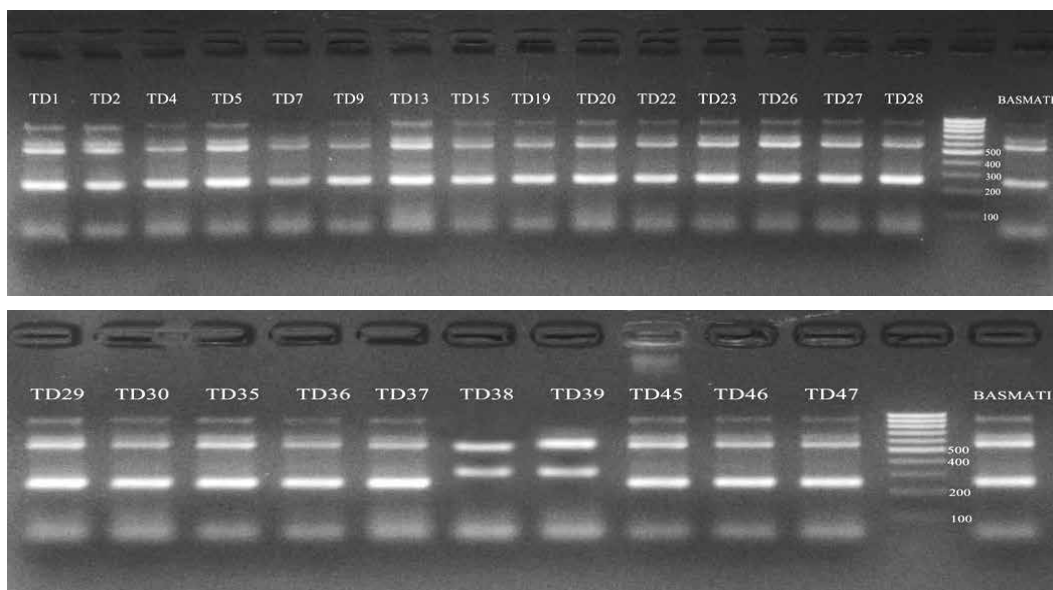
Bảng 2. Kết quả xác định gen thơm *fgr* của các dòng đột biến phát sinh từ 2 giống lúa Tám Dụ và Tám Thơm Đột Biến

STT	Tên dòng/ giống	Gen <i>fgr</i>	Biểu hiện	STT	Tên dòng/ giống	Gen <i>fgr</i>	Biểu hiện
1	TD	-/-	Thơm	1	TTĐB	-/-	Thơm
2	TD2	-/-	Thơm	2	ĐB1	-/-	Thơm
3	TD4	-/-	Thơm	3	ĐB2	-/-	Thơm
4	TD5	-/-	Thơm	4	ĐB5	-/-	Thơm
5	TD7	-/-	Thơm	5	ĐB6	-/-	Thơm
6	TD9	-/-	Thơm	6	ĐB7	-/-	Thơm
7	TD13	-/-	Thơm	7	ĐB9	-/-	Thơm
8	TD15	-/-	Thơm	8	ĐB13	-/-	Thơm
9	TD19	-/-	Thơm	9	ĐB14	-/-	Thơm
10	TD20	-/-	Thơm	10	ĐB17	-/-	Thơm
11	TD22	-/-	Thơm	11	ĐB18	-/-	Thơm
12	TD23	-/-	Thơm	12	ĐB21	-/-	Thơm
13	TD26	-/-	Thơm	13	ĐB22	-/-	Thơm
14	TD27	-/-	Thơm	14	ĐB24	-/-	Thơm
15	TD28	-/-	Thơm	15	ĐB26	-/-	Thơm
16	TD29	-/-	Thơm	16	ĐB27	-/-	Thơm
17	TD30	-/-	Thơm	17	ĐB28	-/-	Thơm
18	TD35	-/-	Thơm	18	ĐB31	-/-	Thơm
19	TD36	-/-	Thơm	19	ĐB33	-/-	Thơm
20	TD37	-/-	Thơm	20	ĐB34	-/-	Thơm
21	TD38	+/+	Không thơm	21	ĐB39	-/-	Thơm
22	TD39	+/+	Không thơm	22	ĐB42	-/-	Thơm
23	TD45	-/-	Thơm	23	ĐB49	-/-	Thơm
24	TD46	-/-	Thơm				
25	TD47	-/-	Thơm				

Ghi chú: TD: giống lúa Tám Dụ; TD2, TD4, ... các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dụ; TTĐB: Tám Thơm Đột Biến; ĐB1, ĐB2, ĐB5,... các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến; Trạng thái gen: (-/-): đồng hợp lặn; (+/+): đồng hợp trội.

Thực hiện phản ứng PCR với 4 môi: EAP, ASP, IFAP và INSP để kiểm tra sự có mặt của gen thơm của các dòng đột biến và các giống gốc. Sử dụng giống lúa Basmati làm đối chứng dương, điện di sản phẩm PCR của giống này thu được các băng ADN có kích thước tương đương 257bp và khoảng 580bp, nghĩa là giống lúa Basmati mang kiểu gen đồng hợp tử lặn (*fgrfgr*). Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Bradbury và cộng tác viên (2005).

Bốn môi nói trên cũng được sử dụng để kiểm tra gen thơm ở các dòng đột biến, các giống gốc và thu được ảnh điện di rõ nét (Hình 1). Đối chiếu với kết quả thu được trên đối chứng dương (giống lúa Basmati), nhận thấy: hầu hết các dòng đột biến (44/46 dòng) và 2 giống gốc xuất hiện băng ADN với kích thước tương đương 257bp (Hình 1), chứng tỏ 2 giống gốc và các dòng đột biến này đồng hợp tử lặn về gen kiểm soát hương thơm (*fgrfgr*). Băng kích thước 355bp (đồng hợp tử trội) chỉ thấy ở 2 dòng TD38 và TD39.



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR với mỗi kiểm tra gen thơm

Ghi chú: TD1 trong hình 1 biểu thị TD.

Phan Hữu Tôn và Tống Văn Hải (2010) nghiên cứu xác định gen thơm (*fgr*) ở tập đoàn các giống lúa có hoặc không có hương thơm đã kết luận: “các giống lúa có hương thơm thì đều mang cặp gen lặn (*fgrfgr*) kiểm soát hương thơm; tuy nhiên một số giống mang cặp gen nói trên, không có hoặc hầu như không thơm”. Vì vậy, cần nghiên cứu sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến thuộc 2 tập đoàn này.

3.2. Sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dụ và Tám Thơm Đột Biến

3.2.1. Sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dụ

Kết quả xác định sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dụ được trình bày trong bảng 3.

Số liệu trình bày ở bảng 3 cho thấy: Các dòng TD5, TD19, TD22 và TD27 cho gạo có hương thơm tương tự so với giống gốc. Ở một số địa điểm gieo

trồng, các dòng đột biến nói trên đặc biệt là các dòng TD5 và TD22 còn có chỉ số hương thơm cao hơn so với giống gốc. Kết quả này phù hợp với kết luận của Sompong và cộng tác viên (2017) cho rằng “xử lý hạt thóc ở giai đoạn nảy mầm bằng chiếu xạ tia gamma có thể làm tăng đáng kể hương thơm ở các dòng đột biến”.

Mức độ biểu hiện hương thơm từ gạo của các dòng TD7, TD13, TD29, TD35, TD36 và TD47 rất khác nhau khi gieo trồng tại các địa điểm khác nhau, nghĩa là thơm ở địa điểm này nhưng thơm nhẹ hoặc thơm rất nhẹ ở địa điểm khác như: dòng TD13, TD27, TD36 có hương thơm đặc trưng ở Nam Định và Thanh Hóa, thơm nhẹ ở Hà Nội, Lạng Sơn và Tuyên Quang nhưng thơm rất nhẹ khi gieo trồng tại Bắc Giang.

Các dòng TD35 và TD49 biểu hiện thơm ở Nam Định, hơi thơm ở Thanh Hóa và Hà Nội, thơm nhẹ hoặc rất nhẹ khi gieo trồng tại Tuyên Quang, Lạng Sơn và Bắc Giang.

Bảng 3. Biểu hiện hương thơm ở hạt của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dự

STT	Dòng/ giống	Mùa vụ	Sự biểu hiện hương thơm ở các địa điểm và thời gian chín khác nhau											
			Nam Định		Thanh Hóa		Hà Nội		Tuyên Quang		Lạng Sơn		Bắc Giang	
			80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%
1	TD	X	7,4	6,5	7,2	6,6	7,0	6,5	6,9	6,2	7,0	6,3	6,6	6,0
		M	7,8	6,9	7,5	6,8	7,3	6,8	7,2	6,6	7,1	6,6	6,9	6,5
2	TD2	X	3,1	2,2	3,0	1,9	2,0	0,7	1,5	0,6	1,4	0,5	1,3	0,3
		M	4,1	3,5	3,3	2,1	3,2	1,4	2,1	1,4	2,4	0,9	1,8	0,7
3	TD4	X	4,2	2,3	2,2	1,1	2,5	1,3	2,1	1,5	4,2	2,8	1,2	0,8
		M	5,8	2,8	3,1	2,6	4,0	3,2	4,3	3,4	5,0	4,3	3,1	1,5
4	TD5	X	8,6	8,2	8,2	8,0	8,2	7,9	7,9	7,7	7,8	7,3	6,9	6,7
		M	9,2	8,9	8,6	8,6	8,5	8,2	8,4	8,0	8,4	8,1	7,5	7,3
5	TD7	X	6,1	6,1	6,1	5,4	3,1	2,8	2,3	1,4	2,3	1,6	1,2	0,9
		M	7,3	6,5	7,5	6,6	4,0	3,7	3,2	2,9	2,7	2,3	2,5	1,9
6	TD9	X	0,8	0,1	0,9	0,5	1,4	0,3	1,2	0,4	1,6	0,5	1,1	0,5
		M	1,7	0,9	2,5	1,6	2,1	1,1	2,7	1,3	1,8	0,9	1,8	0,9
7	TD13	X	1,0	0,5	1,1	0,8	2,1	1,2	2,1	0,6	2,2	1,1	1,3	0,9
		M	2,1	0,7	2,3	1,8	3,1	2,0	3,0	2,4	2,6	1,5	1,5	1,1
8	TD15	X	1,0	0,5	1,1	0,3	2,1	1,2	1,1	0,7	0,9	0,3	0,8	0,4
		M	2,1	1,1	1,7	0,7	2,5	1,7	1,9	1,2	1,4	0,8	1,2	0,7
9	TD19	X	7,0	6,6	6,4	6,1	6,2	5,5	6,7	6,2	6,3	6,0	6,3	5,4
		M	7,6	7,0	7,7	6,9	7,2	6,7	7,3	6,9	7,0	6,4	6,8	6,3
10	TD20	X	1,5	0,7	1,3	0,3	1,5	0,4	0,7	0,2	1,5	0,3	0,9	0,3
		M	1,9	1,1	2,0	0,8	1,7	0,7	1,8	0,5	1,9	1,1	1,3	0,9
11	TD22	X	8,5	7,9	8,3	7,8	8,0	7,8	7,8	7,5	7,5	7,1	7,7	7,0
		M	9,0	8,6	8,8	8,4	8,7	8,2	8,3	8,0	8,1	7,6	8,2	7,5
12	TD23	X	1,4	0,4	0,9	0,2	0,7	0,2	1,5	0,6	2,1	1,2	1,1	0,6
		M	1,6	0,6	1,3	0,4	1,7	0,8	1,8	0,9	2,5	1,7	1,3	0,8
13	TD26	X	4,4	3,8	4,1	3,7	3,6	3,1	1,2	0,6	0,7	0,1	0,9	0,2
		M	5,7	5,1	5,5	4,9	4,5	4,1	2,3	1,7	1,1	0,5	1,2	0,5
14	TD27	X	6,7	6,3	6,3	6,0	6,7	6,4	6,7	6,1	6,7	6,0	6,0	5,3
		M	7,3	6,8	7,0	6,5	7,4	7,0	7,3	6,7	7,3	6,5	6,6	6,0
15	TD28	X	1,2	0,3	1,3	0,6	1,1	0,7	0,9	0,5	1,4	0,4	1,1	0,3
		M	1,7	1,1	2,0	1,6	1,8	1,3	1,3	1,1	1,6	0,7	1,2	0,5
16	TD29	X	6,8	6,1	6,4	5,8	3,1	2,9	3,3	2,1	2,3	2,1	2,1	0,9
		M	7,5	6,9	7,2	6,9	4,5	3,4	3,8	3,1	3,4	3,0	2,5	2,3
17	TD30	X	0,8	0,4	1,1	0,6	0,9	0,2	1,5	0,2	1,3	0,5	1,3	0,3
		M	1,3	0,7	1,5	0,9	1,3	0,4	1,8	0,6	1,7	1,1	1,7	0,7
18	TD35	X	6,7	6,1	4,0	3,5	3,2	2,1	1,8	1,2	1,7	0,7	1,5	0,5
		M	7,5	6,9	5,5	4,1	3,7	3,3	2,8	3,0	2,1	1,3	2,1	1,3
19	TD36	X	1,1	0,5	1,1	0,9	2,4	1,8	2,1	0,7	2,2	0,7	1,3	0,9
		M	2,1	0,9	2,1	1,2	3,1	2,3	2,0	1,4	2,6	1,5	1,5	1,8
20	TD37	X	1,0	0,5	0,9	0,5	1,5	0,6	0,5	0,1	0,7	0,1	1,5	0,7
		M	2,1	1,4	1,7	1,1	1,8	0,9	0,9	0,3	1,0	0,4	1,9	1,4
21	TD38	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	TD39	X	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	TD45	X	3,4	2,8	1,4	0,7	2,6	1,1	1,2	0,4	0,7	0,3	0,8	0,2
		M	4,8	3,2	2,5	1,5	3,5	2,0	1,8	1,2	1,5	1,1	1,3	0,6
24	TD46	X	4,5	3,7	4,2	2,3	2,6	1,4	3,9	3,4	1,7	0,6	2,9	1,3
		M	5,6	4,9	5,3	3,0	3,7	2,7	4,8	4,1	2,4	1,8	3,3	2,6
25	TD47	X	6,1	6,0	4,4	3,7	3,5	3,3	2,2	1,1	0,7	1,1	0,8	0,5
		M	7,3	6,7	5,7	5,1	4,6	4,1	2,7	2,5	1,3	2,5	1,9	1,1

Ghi chú: Hương thơm: 0: không thơm; 0<thơm rất nhẹ < 3; 3 ≤ thơm nhẹ < 6; 6 ≤ thơm < 8; 8 ≤ thơm đậm ≤ 10; TD: Tám Dự; TD2, TD4,... các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Dự, X- vụ Xuân, M- vụ Mùa.

Các dòng TD26, TD37, TD45, TD46 có hương thơm nhẹ đến rất nhẹ; các dòng TD9, TD23, TD28 có hương thơm rất nhẹ ở các địa điểm nghiên cứu.

Các dòng TD38, TD39 không biểu hiện hương thơm ở tất cả các địa điểm gieo trồng, ở cả vụ Xuân và vụ Mùa, ở tất cả các thời điểm chín (các dòng này có kiểu gen đồng hợp trội về gen kiểm soát hương thơm).

3.2.2. Sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến

Kết quả xác định sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến được trình bày trong bảng 4.

Các dòng đột biến ĐB5, ĐB7, ĐB18 biểu hiện hương đậm, tương tự giống gốc. Ở tất cả các địa điểm nghiên cứu khác nhau, các mùa vụ khác nhau (xuân và mùa) và ở các thời điểm chín khác nhau của hạt thóc.

Các dòng ĐB1, ĐB6, ĐB21, ĐB26, ĐB33, ĐB39, ĐB42 cho gạo có hương thơm giảm nhẹ so với giống gốc (từ thơm đậm đến thơm).

Các dòng ĐB2, ĐB22, ĐB28, ĐB31 và ĐB49 có hương thơm không ổn định khi gieo trồng ở các địa điểm khác nhau, các mùa vụ khác nhau; cho gạo thơm ở nơi này nhưng thơm nhẹ hoặc thơm rất nhẹ ở nơi khác. Các dòng ĐB9, ĐB17, ĐB24, ĐB27 và ĐB34 cho gạo thơm đến thơm rất nhẹ; các dòng ĐB13 và ĐB14 cho gạo thơm nhẹ đến rất nhẹ.

Số liệu ở bảng 3 và bảng 4 cho thấy: Khi gieo trồng ở các điều kiện sinh thái khác nhau thuộc các tỉnh và thành phố: Lạng Sơn, Bắc Giang, Tuyên Quang, Hà Nội, Nam Định và Thanh Hóa, biểu hiện hương thơm đặc trưng, giống Tám Thơm Đột Biến có hương thơm đậm hơn so với ở giống Tám Dụ ở tất cả các địa điểm nghiên cứu. Hương thơm từ hạt gạo của các dòng đột biến được biểu hiện rõ nhất khi gieo trồng ở Hải Hậu, Nam định tiếp đến là Hậu Lộc, Thanh Hóa; Thanh Trì, Hà Nội, Sơn Dương, Tuyên Quang; Hữu Lũng, Lạng Sơn và Việt Yên, Bắc Giang. Gạo vụ Mùa thơm hơn so gạo vụ Xuân.

Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả về sự biểu hiện hương thơm của các dòng đột biến và giống gốc phù hợp với kết quả thực nghiệm của nhiều tác giả khác ở trong và ngoài nước. Nguyễn Minh Anh Tuấn và cộng tác viên (2017) nghiên cứu sự biểu hiện hương thơm từ gạo của 2 tập đoàn dòng đột biến phát sinh từ 2 giống lúa tẻ thơm đặc sản Miền bắc (Tám Xuân Đài và Tám Thơm) được gieo

trồng trong vụ Xuân và vụ Mùa ở 3 địa điểm: Nam Định, Hà Nội và Tuyên Quang và ở các thời điểm chín khác nhau của hạt thóc khi thu hoạch. Kết quả nghiên cứu trình bày trong bài báo này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Tiếp (2018) về sự biểu hiện hương thơm từ hạt gạo của các dòng đột biến phát sinh từ 2 giống lúa nếp (Nếp cái Hoa vàng và Nếp Đuôi Trâu) được gieo trồng ở vụ Xuân và vụ Mùa, ở 4/5 địa điểm khác (Nghệ An, Thanh Hóa, Hà Nội, Bắc Giang và Lạng Sơn) và cũng ở các thời điểm chín khác nhau của hạt thóc khi thu hoạch như trên.

Các nghiên cứu của Hashemi và cộng tác viên (2013), Goufo và cộng tác viên (2010) về ảnh hưởng của điều kiện đất đai, mùa vụ gieo trồng và thời điểm thu hoạch tới sự biểu hiện hương thơm của các giống lúa. Ngoài ra, các nghiên cứu của Monggoot và cộng tác viên (2014), Mo và cộng tác viên (2016) còn cho thấy: Hàm lượng dinh dưỡng và thời điểm bón phân cũng ảnh hưởng không nhỏ đến sự biểu hiện hương thơm ở lúa.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

- Các giống lúa có hương thơm từ hạt gạo và các dòng đột biến được tạo từ các giống lúa này đều mang cặp gen lặn (*ggrfgr*) kiểm soát hương thơm.

- Tất cả các dòng đột biến và giống gốc mang cặp gen lặn (*ggrfgr*) đều cho gạo có hương thơm ở mức độ khác nhau tùy thuộc vào mùa vụ gieo trồng (gạo ở vụ Mùa thơm hơn gạo ở vụ Xuân), địa điểm gieo trồng (khi gieo trồng ở Nam Định thì cho gạo có hương thơm nhất, tiếp đến là Thanh Hóa, Hà Nội, Tuyên Quang, Lạng Sơn và Bắc Giang) và các thời điểm chín khác nhau của hạt lúa (thời điểm chín 80% thì cho gạo thơm hơn khi chín hoàn toàn - chín già - 100%).

- Các dòng TD4, TD9, TD22, TD27 cho gạo có hương thơm tương tự hoặc thơm hơn giống gốc (Tám Dụ); các dòng ĐB5, ĐB7, ĐB18 có hương thơm đậm như ở giống gốc (Tám Thơm Đột Biến).

4.2. Kiến nghị

Cần bổ sung các nghiên cứu về hàm lượng dinh dưỡng trong đất và chế độ bón phân, tưới nước để nâng cao chất lượng và năng suất của các dòng đột biến phát sinh từ các giống lúa thơm nhằm cho sản phẩm gạo thơm đặc trưng cho từng vùng.

Bảng 4. Biểu hiện hương thơm từ hạt của các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến

STT	Dòng/ giống	Mùa vụ	Sự biểu hiện hương thơm ở các địa điểm và thời gian chín khác nhau											
			Nam Định		Thanh Hóa		Hà Nội		Tuyên Quang		Lạng Sơn		Bắc Giang	
			80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%	80%	100%
1	TTĐB	X	8,8	8,2	8,5	8,0	9,0	8,3	8,7	8,2	8,8	8,2	8,6	8,0
		M	9,6	8,8	9,5	8,8	9,3	8,5	9,2	8,6	9,1	8,3	8,9	8,5
2	ĐB1	X	8,1	7,2	8,0	6,9	7,5	6,7	7,5	7,0	6,6	6,0	6,4	6,1
		M	9,1	8,5	8,3	7,1	8,2	7,4	8,1	7,5	7,4	6,6	6,8	6,2
3	ĐB2	X	6,2	5,3	6,5	5,1	5,2	4,3	4,1	3,5	1,3	0,8	2,2	1,5
		M	6,8	6,0	7,1	6,6	6,0	5,2	5,3	4,4	3,0	2,3	3,2	2,5
4	ĐB5	X	8,5	8,4	8,2	8,1	8,9	8,3	8,9	8,3	8,5	8,3	8,7	8,1
		M	9,5	8,9	9,3	8,6	9,5	8,7	9,4	8,8	9,2	8,6	9,0	8,4
5	ĐB6	X	7,1	6,7	8,1	7,3	7,1	6,5	7,3	6,4	7,3	6,6	7,2	6,5
		M	8,3	7,5	8,5	7,8	8,0	7,3	8,2	7,8	7,7	7,3	7,5	6,9
6	ĐB7	X	8,7	8,2	8,3	8,0	8,6	8,1	8,6	8,0	8,6	8,1	8,8	8,0
		M	9,7	9,0	9,4	8,4	9,4	8,5	9,2	8,5	9,3	8,3	9,2	8,4
7	ĐB9	X	6,0	5,5	5,7	5,1	4,2	2,8	4,5	3,4	2,4	1,7	2,7	1,1
		M	6,5	6,0	6,3	5,8	5,1	4,1	6,0	5,4	3,6	2,5	3,5	2,8
8	ĐB13	X	2,0	1,3	2,1	1,3	3,1	2,5	1,5	0,5	1,4	0,8	1,3	0,5
		M	3,1	2,4	2,7	1,7	3,5	2,7	2,9	1,4	2,0	1,3	1,7	0,8
9	ĐB14	X	3,0	2,2	2,4	1,1	2,2	1,1	1,7	1,2	1,4	0,5	1,3	0,6
		M	3,6	3,0	3,7	2,9	3,2	2,3	2,3	1,5	2,0	1,4	1,8	0,9
10	ĐB17	X	5,5	4,7	5,6	5,0	3,6	2,9	4,2	3,2	3,2	2,3	2,9	1,3
		M	6,6	6,1	6,0	5,3	4,7	3,7	5,8	4,5	4,1	3,7	3,3	2,8
11	ĐB18	X	8,5	8,0	8,8	8,2	8,6	8,1	8,7	8,2	8,4	8,0	8,4	8,0
		M	9,4	9,0	9,5	8,9	9,5	8,7	9,2	8,5	9,2	8,3	9,2	8,5
12	ĐB21	X	7,8	7,0	7,3	6,2	7,1	6,5	7,8	6,8	6,7	6,0	6,5	6,1
		M	8,6	8,1	8,0	7,3	7,7	6,9	8,8	7,9	7,8	7,3	7,3	6,7
13	ĐB22	X	4,6	3,5	4,2	3,1	2,6	2,0	1,9	0,8	1,2	1,1	0,9	0,2
		M	5,5	5,0	5,7	4,5	4,7	3,9	3,0	1,3	2,1	1,5	2,2	1,7
14	ĐB24	X	6,1	5,3	5,6	4,0	5,6	4,4	5,9	4,3	5,5	4,2	4,5	4,1
		M	7,0	6,2	6,5	5,1	6,7	5,1	6,7	5,5	6,3	5,4	4,9	4,4
15	ĐB26	X	7,2	6,3	6,8	6,1	7,1	6,8	6,5	6,2	6,4	6,0	6,5	6,0
		M	8,4	7,8	8,0	7,6	7,8	7,3	7,3	6,7	7,6	6,9	7,2	6,7
16	ĐB27	X	6,5	6,0	6,5	5,5	5,1	3,9	4,4	4,1	4,6	4,1	5,1	4,3
		M	7,6	6,7	7,4	6,6	6,5	5,4	5,8	5,1	5,4	4,7	5,5	4,7
17	ĐB28	X	6,4	5,4	4,3	3,6	4,7	3,6	5,5	4,2	3,3	2,6	1,3	0,8
		M	7,3	6,6	6,5	5,8	5,9	4,7	6,2	5,2	5,4	4,3	2,5	1,8
18	ĐB31	X	6,6	6,1	4,9	3,5	3,1	2,1	1,5	1,0	1,5	0,7	1,2	0,5
		M	7,3	6,8	5,7	4,8	3,5	3,0	2,9	2,0	2,2	1,3	2,1	1,3
19	ĐB33	X	7,5	7,0	7,7	7,2	7,3	6,8	6,1	5,3	6,3	5,5	6,6	6,2
		M	8,1	7,7	8,3	7,8	8,1	7,5	7,0	6,4	6,6	6,1	7,5	6,8
20	ĐB34	X	6,2	5,5	5,9	4,5	5,1	4,2	4,8	4,2	4,5	4,1	4,5	4,0
		M	7,1	6,4	6,7	5,6	5,8	4,5	5,9	4,7	5,0	4,4	4,9	4,4
21	ĐB39	X	7,5	7,0	7,6	7,0	7,4	6,3	6,5	6,1	6,4	6,0	6,4	6,0
		M	8,0	7,5	8,4	7,9	8,3	7,5	7,5	6,7	6,8	6,2	7,2	6,5
22	ĐB42	X	7,3	6,8	7,5	6,6	7,6	6,6	6,8	6,1	6,7	6,0	6,5	6,0
		M	8,6	7,8	8,5	7,7	8,4	7,7	7,9	7,7	7,3	6,9	7,0	6,5
23	ĐB49	X	3,4	2,8	1,4	0,7	2,6	1,1	1,2	0,4	0,7	0,3	0,8	0,2
		M	4,8	3,2	2,5	1,5	3,5	2,0	1,8	1,2	1,5	1,1	1,3	0,6

Ghi chú: Hương thơm: 0: không thơm; 0 < thơm rất nhẹ < 3; 3 ≤ thơm nhẹ < 6; 6 ≤ thơm < 8; 8 ≤ thơm đậm ≤ 10.
 TTĐB: Tám Thơm Đột Biến, ĐB1, ĐB2,... các dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Thơm Đột Biến; X - vụ Xuân, M - vụ Mùa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011. QCVN 01-65:2011/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định của giống lúa.
- Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu, 2004. Xác định gen *fgr* điều khiển tính trạng mùi thơm bằng phương pháp Fine Mapping với microsatellites. *Hội nghị quốc gia về chọn tạo giống lúa*. Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long, tr.192-199.
- Phan Hữu Tôn, Tống Văn Hải, 2010. Sàng lọc các giống lúa có chứa gen mùi thơm bằng chỉ thị phân tử. *Tạp chí Khoa học và Phát triển, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*, tập 8 (số 4), tr.646-652.
- Nguyễn Minh Anh Tuấn, Nguyễn Văn Tiệp, Nguyễn Xuân Viết, Nguyễn Minh Công, 2017. Kết quả xác định gen *fgr* và nghiên cứu sự biểu hiện mùi thơm của 2 tập đoàn dòng đột biến phát sinh từ giống lúa Tám Xuân Đài và Tám Thơm. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, số 1, năm 2017, tr.42-47.
- Bradbury LMT, Fitzgerald TL, Henry RJ, Jin Q and Waters DLE, 2005. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol J*, 3: 363-370.
- Gaur A., Shabir Wani H., Pandita D., Bharti N., Malav A., Asif Shikari B., and Ashraf Bhat M., 2016. Understanding the Fragrance in Rice. *Journal Rice Research* 4, pp. 125-135.
- Goufo P., Duan M., Wongpornchai S., Tang X., 2010. Some factors affecting the concentration of the aroma compound 2-acetyl-1-pyrroline in two fragrant rice cultivars grown in South China. *Frontiers of Agriculture in China* 4, pp.1-9.
- Hashemi F.S.G., Raffi M.Y., Ismail M.R., Mahmud T.M.M., Rahim H.A., Asfaliza R., Malek M. A., Latif M. A., 2013. Biochemical Genetic and Molecular Advances of Fragrance Characteristics in Rice. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32, pp. 445-457.
- Monggoot S., Sookwong P., Mahatheeranont S. and Meechoui S., 2014. Influence of single nutrient element on 2-acetyl-1-pyrroline contents in Thai fragrant rice (*Oryza sativa* L.) cv. *Khao Dawk Mali*.
- Mo Z., Huang J., Xiao D., Ashraf U., Duan M., Pan S., Tian H., Xiao L., Zhong K., Tang X., 2016. Supplementation of 2-AP, Zn and La improves 2-Acetyl-1-Pyrroline concentrations in detached aromatic rice panicles *in vitro*. *Plos one*, Volume 11(2), pp. 1-15.
- Sompong S., Yanling H., Saowapa C., Kannika P and Chanun S, 2017. Effect of Gamma Irradiation on 2-Acetyl-1-pyrroline Content, GABA Content and Volatile Compounds of Germinated Rice (Thai Upland Rice). *Plants*, Volume 6 (2), pp.7-18.
- Sood B.C., and Siddiq E.A., 1978. A rapid technique for scent determination in rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, Volume 38 (2), pp. 268-271.

Determination of *fgr* gene and aroma expression of mutation rice lines derived from rice variety Tam Du and mutated rice variety Tam Thom

Nguyen Xuan Dung, Nguyen Van Tiep, Nguyen Minh Cong

Abstract

Using SSR markers linked to the locus conferring aroma (BADH2) to test the aromatic genes of 24 mutant lines derived from Tam Du varieties; 22 mutant lines derived from mutated Tam Thom variety and two original varieties. The results showed that the two original varieties and 44/46 mutant lines carry the genes conferring scent *fgr fgr* (except two mutated lines TD38 and TD39) and had aromatic hulled grains with different degree (from highly scented to slightly scented). The same original variety or a mutant line carrying recessive gene *fgr fgr*, but cultivated in 6 different provinces and cities had different scent degree (Hai Hau, Nam Dinh had the highest scent degree). Hulled grains from summer cultivated rice varieties were more scented than those from spring cultivated ones; hulled grains of 80% ripened paddy were more scented than those of fully ripening (100%). Hulled grains of mutant lines TD4, TD9, TD22 and TD27 had scent equal or stronger than that of original varieties when cultivated in some places; the lines ĐB5, ĐB7 and ĐB18 had the same scent as the original ones.

Keywords: Aromatic gene (*fgr fgr*), mutant lines, specialty rice variety, spring crop season, summer crop season

NNgày nhận bài: 12/1/2019

Ngày phản biện: 17/1/2019

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày duyệt đăng: 14/2/2019