

# LAI TẠO VÀ TUYỂN CHỌN DÒNG NẾP THAN THƠM NGẮN NGÀY CÓ NĂNG SUẤT CAO, PHẨM CHẤT TỐT

Nguyễn Phúc Hảo<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Giao<sup>1</sup> và Võ Công Thành<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*Beginning from the degenerated seasonal black sticky rice (Nep Than) which collected in Soc Trang and Tra Vinh province, we used traditional breeding assistant with SDS-PAGE technique to reduce the time of growth (to break the photoperiod characteristic), improve the yield and quality of this variety. The result at F4 generation (seed F5) showed that: 3 new excellent sticky rice lines were chosen which had some particularities such as: purify, aromatic, short maturity, low amylose contain (2,80%-2,97%), high protein contain (10,1%-10,7%), high yield (4,9-5,5 ton/ha) and still maintain the black colour in milled rice as original.*

**Keywords:** SDS-PAGE, Nep Than, TP5

**Title:** Crossing and selecting aromatic black sticky rice lines with short maturity, high yielding and good quality

## TÓM TẮT

*Từ giống Nếp Than thoái hóa ban đầu thu thập tại tỉnh Sóc Trăng và Trà Vinh, sử dụng kỹ thuật lai tạo theo phương pháp truyền thống, chọn lọc cá thể nhiều lần kết hợp với kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE giống đã rút ngắn thời gian sinh trưởng (cải thiện đặc tính quang kỳ) cũng như nâng cao năng suất nhưng vẫn giữ được những phẩm chất tốt. Kết quả lai đơn đến thế hệ F4 (hạt F5) đã chọn ra được 3 dòng thuần ưu tú (THL NTxTP5-1-3-3, THL NTxTP%-2-3-1 và THL NTxTP5-2-4-2) đáp ứng được mục tiêu đề tài đặt ra là tạo được dòng nếp thơm, ngắn ngày, năng suất cao (4,9-5,5 tấn/ha), hàm lượng amylose thấp (2,80%-2,97%), hàm lượng protein cao (10,1%-10,7%) và vẫn giữ được màu đen đặc trưng của giống.*

**Từ khóa:** SDS-PAGE, Nếp Than, TP5

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống nếp than là giống lúa mùa đặc sản của tỉnh Sóc Trăng và Trà Vinh. Giống này rất được nông dân Khmer ưa chuộng vì có vỏ lụa đen đặc trưng rất hấp dẫn khi làm xôi, bánh hay nấu rượu sẽ có màu than đẹp tự nhiên nhưng còn một số nhược điểm: bị ảnh hưởng quang kỳ, cao cây, dài ngày, năng suất thấp... và hiện tại, giống đã bị lấn tấp. Do đó làm thế nào để chọn lại được giống Nếp Than vẫn giữ được các đặc tính gốc ban đầu đồng thời nâng cao các giá trị phẩm chất và có mùi thơm là vấn đề được đặt ra.

Bằng kỹ thuật lai tạo theo phương pháp truyền thống, chọn lọc cá thể nhiều lần kết hợp với kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE, đề tài: “Lai tạo và tuyển chọn dòng Nếp than thơm ngắn ngày có năng suất cao, phẩm chất tốt” được thực hiện tại phòng thí nghiệm Chọn giống, Bộ môn Di truyền - Giống Nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ nhằm mục tiêu: chọn 1 đến

<sup>1</sup> Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp & SHƯĐ, Trường Đại học Cần Thơ

2 dòng nếp than thơm, thuần có năng suất cao (có màu đen), ngắn ngày, chất lượng tốt (hàm lượng protein  $\geq 10\%$ , amylose  $\leq 3\%$ ).

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Phương tiện

#### 2.1.1 Giống cha mẹ ban đầu

- Giống lúa Nếp Than thu thập ở tỉnh Sóc Trăng: là cây mẹ.
- Dòng lúa thuần TP5: Dòng thuần chọn lọc từ tổ hợp lai Jasmine 85 x Amaroo làm cây cha (nguồn từ ptn Chọn Giống và Ứng Dụng CNSH).



Hình 1: Hạt giống Nếp Than (mẹ)



Hình 2: Hạt dòng lúa TP5 (cha)

Bảng 1 Một số đặc tính hình thái, nông học và phẩm chất của giống/dòng cha mẹ

Chỉ tiêu	TP5	Nếp than
Thời gian sinh trưởng	85-90 ngày	Bị quang kỳ
Cao cây (cm)	89	178
Chiều dài (mm)	7,60	6,15
Chiều rộng (mm)	2,30	2,20
Tỷ số dài/rộng	3,30	2,80
Trọng lượng 1000 hạt (g)	27,28	21,76
Hàm lượng amylose (%)	13,15	3,31
Hàm lượng protein (%)*	13,30	9,10
Dài x rộng lá cờ (cm)	25 x 2	39 x 1,2
Dài bông (cm)	27,3	25
Chồi hữu hiệu/tổng số	15/17	7/8
Số hạt chắc/lép	189/25	125/28
Năng suất	8-9 tấn/ha	3-3,5 tấn/ha
Tính thơm	Thơm	Không thơm

(\*) Hàm lượng protein kể cả lớp aleuron

#### 2.1.2 Thiết bị hóa chất

Các thiết bị, hóa chất sử dụng trong lai tạo, trong chạy điện di và trong phân tích các chỉ tiêu về phẩm chất của gạo.

#### 2.1.3 Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Lai tạo, trồng và phân tích các chỉ tiêu phẩm chất: 6/2007 đến 12/2009.

Địa điểm: Nhà lưới, Phòng Thí Nghiệm Di Truyền-Giống Cây Trồng, Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp & Sinh Học Ứng Dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

## 2.2 Phương pháp

### 2.2.1 Phương pháp nghiên cứu

- Điện di protein tổng số của giống Nếp Than và dòng TP5.
- Thực hiện tổ hợp lai.
- Điện di protein tổng số hạt F1 để loại bỏ những hạt tự thụ. Điện di albumin để chọn những cá thể mang gen thơm. Trồng các cá thể F1 được chọn trong nhà lưới, thu cá thể.
- Trồng F2 trong nhà lưới, phân tích các chỉ tiêu về phẩm chất hạt F3, điện di chọn những cá thể mang protein chỉ thị thơm.
- Trồng F3 trong nhà lưới, chọn lại 5 bụi, tiếp tục phân tích các chỉ tiêu phẩm chất hạt. Đánh giá ban đầu về mức độ thích nghi và khả năng kháng sâu bệnh.
- Chọn khoảng 5 cá thể ưu tú nhất mang mùi thơm, có màu và đạt được các chỉ tiêu phẩm chất mong muốn.

### 2.2.2 Phương pháp nghiên cứu cụ thể

- Điện di protein tổng số và thành phần albumin theo phương pháp SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis).
- Phân tích hàm lượng amylose hạt lúa theo phương pháp của (Cagampang and Rodriguez, 1980).
- Phân tích hàm lượng protein hạt lúa theo phương pháp Lowry (1951).
- Trắc nghiệm tính thơm bằng KOH 1,7% (IRRI, 1979). Bơm 5ml dung dịch KOH 1,7% vào ống nghiệm đã chứa sẵn khoảng 50 hạt gạo, đậy kín ống nghiệm bằng giấy bạc. Sấy ở 50 độ trong 30 phút. Dem ra ngửi mùi và so sánh kết quả.
- Phương pháp xác định nhiệt trở hồ (IRRI, 1979).
- Số liệu trung bình được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excell.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Kết quả theo dõi một số chỉ tiêu nông học cây F1 và màu sắc hạt F2

#### 3.1.1 Các chỉ tiêu nông học của cây F1

##### Thời gian sinh trưởng (TGST) của cây F1

Thời gian sinh trưởng của các dòng trong tổ hợp này khác biệt rất lớn (chênh lệch từ 1 – 18 ngày) và trong khoảng 118 – 136 ngày. Kết quả này là biểu hiện trung gian của tổ hợp lai giữa một dòng lúa ngắn ngày TP5 (90 ngày) với giống Nếp Than – nếp mùa (khoảng 150-160 ngày).

##### Chiều cao cây F1

Chiều cao cây ở thế hệ F1 giảm đáng kể so với cây mẹ (Bảng 2). Chiều cao của các dòng trong THL NTxTP5 có biến động nhưng không lớn, biến thiên từ

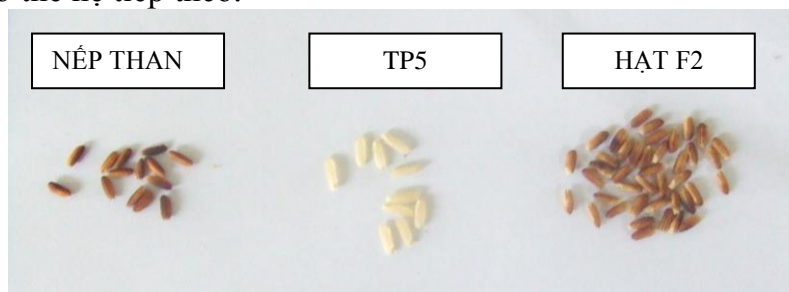
123 – 144 cm, cao hơn giống TP5 (89 – 95 cm) và thấp hơn rất nhiều so với nếp than (178 – 183 cm).

**Bảng 2: Chiều cao và TGST của cây F1**

STT	Dòng (cây)	TGST (ngày)	Cao cây (cm)
1	<b>TP5</b>	85-90	89
2	<b>Nếp Than</b>	Quang kỳ	178 - 183
3	THL NTxTP5-1	118	129
4	THL NTxTP5-2	125	138
5	THL NTxTP5-3	136	123
6	THL NTxTP5-5	136	144
7	THL NTxTP5-6	122	140
<b>Trung bình</b>		<b>127,4</b>	<b>127,4</b>

**3.1.2 Màu sắc các hạt F2**

Các hạt F2 có màu sắc trung gian giữa cha TP5 - màu trắng và mẹ Nếp Than - màu đen (Hình 3). Do giống Nếp Than ban đầu chưa thuần nên có một số hạt F2 có màu đen đậm như giống mẹ một số nhạt hơn và một số gần như không có màu đen. Những hạt có màu tương đương với Nếp Than sẽ được chọn để điện di và nhân dòng ở thế hệ tiếp theo.



**Hình 3: So sánh màu sắc hạt F2 với cha mẹ**

**3.2 Kết quả kiểm tra phẩm chất và chọn lọc các dòng ưu tú đến thế hệ F3**

Các hạt lai F1 thu được sẽ tiến hành trồng lên ở thế hệ F2, F3. Ở mỗi thế hệ tiến hành chọn lọc kiểu hình đồng thời chọn những cá thể ưu tú về phẩm chất thông qua việc kiểm tra hàm lượng amylose, protein, nhiệt trở hồ và trắc nghiệm tính thơm bằng KOH 1.7%.

Kết thúc thế hệ F3, 6 dòng ưu tú có hạt Nếp màu đen tuyền, chiều cao cây thấp từ 105cm -132 cm, thời gian sinh trưởng từ 102-109 ngày, không bị quang kỳ, có hàm lượng amylose <3 %, hàm lượng protein < 10 % và có mùi thơm đã được chọn. Kết quả được trình bày cụ thể ở bảng 3.

**Bảng 3: Một số đặc tính phẩm chất của các dòng ưu tú ở thế hệ F3**

STT	Cá thể	Mùi thơm	Amylose (%)	Protein (%)
1	THL NTxTP5-1-3-3	Thơm	2,61	10,1
2	THL NTxTP5-1-3-4	Thơm nhẹ	2,67	10,2
3	THL NTxTP5-2-3-1	Thơm nhẹ	2,85	10,2
4	THL NTxTP5-2-3-2	Thơm	2,87	10,1
5	THL NTxTP5-2-3-3	Thơm	2,66	10,6
6	THL NTxTP5-2-4-2	Thơm nhẹ	2,68	10,1

### 3.3 Kết quả theo dõi một số chỉ tiêu nông học, thành phần năng suất và phân tích phẩm chất hạt F5 trong thí nghiệm so sánh giống ở thế hệ F4

Bông cái của sáu cá thể ưu tú ở thế hệ F3 được nhân thành dòng ở thế hệ F4, mỗi dòng 2m<sup>2</sup> trong nhà lưới với khoảng cách 20 cm x 20 cm, cấy mạ lúc 15 ngày tuổi. Khi nếp chín, ba cá thể tốt/dòng sẽ được thu hoạch riêng (không lấy chỉ tiêu, sử dụng để nhân ở thế hệ F5), số còn lại gom chung cân năng suất và lấy mẫu đại diện để phân tích phẩm chất và chạy điện di đánh giá độ thuần.

#### 3.3.1 Kết quả theo dõi TGST, chiều cao cây các dòng F4

##### Thời gian sinh trưởng

Kết quả theo dõi về thời gian sinh trưởng cho thấy các cá thể của 3 dòng THL NTxTP5-1-3-3, THL NTxTP5-2-3-1 và THL NTxTP5-2-4-2 có thời gian sinh trưởng như nhau (trở đồng loạt), trong khi các cá thể của 3 dòng còn lại thì không đồng đều (trở không cùng lúc). Tuy nhiên, thời gian trở chỉ chênh lệch ít trong khoảng 5 ngày, chứng tỏ các cá thể này vẫn chưa thuần.

##### Chiều cao cây

Chiều cao cây của các dòng F4 biến động từ 105-110 cm (giá trị trung bình của dòng). Chiều cao cây của 3 dòng THL NTxTP5-1-3-3, THL NTxTP5-2-3-1 và THL NTxTP5-2-4-2 biểu hiện đồng nhất với nhau, trong khi chiều cao cây của 3 dòng còn lại vẫn còn chênh lệch, do thời gian trở không giống nhau. Nhìn chung, chiều cao cây trung bình của các dòng ở F4 tương đương với các cá thể này ở thế hệ F3.

#### 3.3.2 Kết quả phân tích chỉ tiêu phẩm chất và tính năng suất các dòng F4

**Bảng 4: Kết quả phân tích các chỉ tiêu phẩm chất hạt F5 và năng suất dòng F4**

STT	Dòng	A (%)		P (%)		Mùi thơm	NS có thể đạt (tấn/ha)
		F4	F3	F4	F3		
1	THL NTxTP5-1-3-3	2,80	2,61	10,1	10,1	Thơm	4,9
2	THL NTxTP5-1-3-4	2,97	2,67	10,0	10,2	Thơm	5,7
3	THL NTxTP5-2-3-1	2,84	2,85	10,3	10,2	Thơm nhẹ	5,4
4	THL NTxTP5-2-3-2	2,98	2,87	9,5	10,1	Thơm nhẹ	6,3
5	THL NTxTP5-2-3-3	3,32	2,66	10,1	10,6	Thơm nhẹ	5,8
6	THL NTxTP5-2-4-2	2,97	2,68	10,7	10,1	Thơm nhẹ	5,5

##### Hàm lượng amylose và protein

Các cá thể chọn lọc ở thế hệ F3 đều có hàm lượng amylose <3% nhưng khi nhân thành dòng ở thế hệ F4 lại xuất hiện dòng THL NTxTP5-2-3-3 có hàm lượng amylose tăng hơn 3%. Tuy chỉ tăng nhẹ, song vẫn cho thấy chỉ tiêu amylose của dòng này chưa thật sự ổn định. Các dòng còn lại có hàm lượng amylose <3% và dao động trong khoảng 2,80%-2,98%.

Hàm lượng protein của hầu hết các dòng cũng biểu hiện tính ổn định cao, dao động từ 10,0%-10,7%. Hàm lượng protein chỉ tăng hoặc giảm nhẹ nhưng đều đạt trên 10,0%. Riêng dòng THL NTxTP5-2-3-2 có hàm lượng protein giảm xuống mức 9,5%. Không đạt được mục tiêu đề ra.

**Mùi thơm**

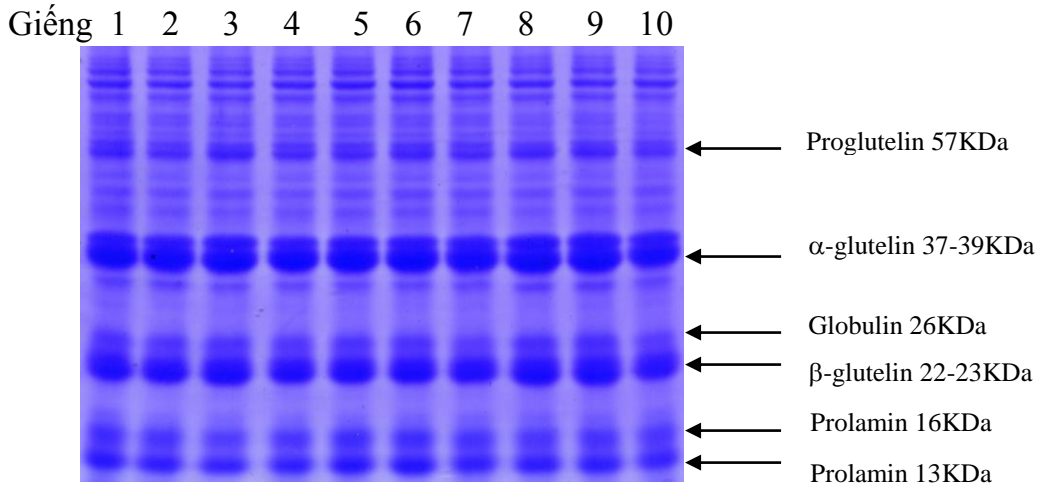
Kết quả khảo sát mùi thơm bằng KOH 1,7% thì các dòng F4 tuy có dao động nhưng vẫn được đánh giá ở mức thơm nhẹ đến thơm.

**Năng suất thực tế**

Hạt của 2m<sup>2</sup>/dòng được làm sạch, phơi khô về ẩm độ 14%. Kết quả bảng 4 cho thấy, năng suất các dòng biến thiên từ 4,9-6,3 tấn/ha, thấp hơn nhiều so với giống cha là TP5 (8-9 tấn/ha). Cao nhất là dòng THL NTxTP5-2-4 (6,3 tấn/ha), thấp nhất là dòng THL NTxTP5-1-3-3 (4,9 tấn/ha). Năng suất các dòng này tăng hơn so với giống Nếp Than ban đầu (3,5 tấn/ha) là do các thành phần năng suất của các dòng lai đều có sự cải thiện. Tuy chưa phải là năng suất lý tưởng, vẫn còn thấp hơn so với Giống Nếp CK2003 là 7-8 tấn/ha, giống Nếp Bè 1-2 là 8-10 tấn/ha, nhưng là một bước cải thiện đáng kể so với giống gốc ban đầu.

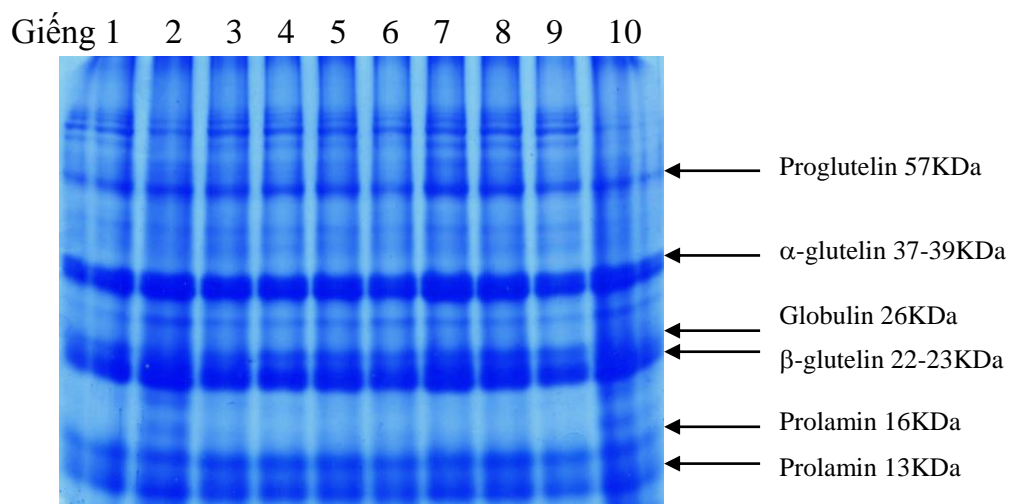
**3.3.3 Kết quả đánh giá độ thuần các dòng F4 bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE**

Các hạt F5 của 6 dòng được tiến hành chạy điện di protein tổng số để đánh giá độ thuần. Mỗi dòng chạy 10 hạt. Dòng được đánh giá là thuần khi mức độ ăn màu của các băng protein đối với thuốc nhuộm CBBR-250 như nhau.



**Hình 4: Phổ điện di protein tổng số dòng THL NTxTP5-1-3-3**

Hình 5 là phổ điện di protein tổng số của dòng THL NTxTP5-1-3-3, các băng protein thể hiện sự ăn màu với thuốc nhuộm CBBR-250 rất đồng nhất ở cả 10 giếng (10 hạt). Cho thấy dòng THL NTxTP5-1-3-3 đã thuần, kết quả này rất phù hợp với kết quả phân tích về các chỉ tiêu nông học và phẩm chất ở thể hệ F4. Trong khi đó, phổ điện di protein tổng số của dòng THL NTxTP5-2-3-3 lại biểu hiện khác (hình 6). Mỗi giếng trong phổ điện di cho một dãy băng protein ăn màu khác nhau. Ví dụ giếng 2,7,8 và 10 có các băng protein nhóm α-glutelin 37-39KDa và β-glutelin 22-23KDa ăn màu rất đậm và nhạt hơn ở các giếng khác. Cho thấy sự không đồng nhất giữa các giếng (các hạt F5 của dòng THL NTxTP5-2-3-3). Dòng này chưa thật sự thuần.



**Hình 5: Phổ điện di protein tổng số dòng THL NTxTP5-2-3-3**

Kết thúc đánh giá độ thuần các dòng F4 bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE, 3 dòng THL NTxTP5-1-3-3, THL NTxTP5-2-3-1 và THL NTxTP5-2-4-2 được đánh giá là thuần, 3 dòng THL NTxTP5-1-3-4, THL NTxTP5-2-3-2 và dòng THL NTxTP5-2-3-3 được đánh giá là không thuần.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Kết thúc thể hệ F4 đã chọn được 3 dòng nếp mới của tổ hợp lai Nếp than x TP5 là : THL NTxTP5-1-3-3, THL NTxTP5-2-3-1 và THL NTxTP5-2-4-2 có các đặc điểm lần lượt như sau: Thuần, thơm, hàm lượng amylose thấp: 2,80%, 2,84% và 2,97 %, hàm lượng protein cao: 10,1%, 10,3% và 10,7%, thời gian sinh trưởng: 107 ngày, 110 ngày và 115 ngày, chiều cao cây thấp: 110 cm, 105 cm và 105 cm, năng suất được cải thiện: 4,9 tấn/ha, 5,4 tấn/ha và 5,5 tấn/ha, hạt nếp vẫn giữ được màu đen đặc trưng.

### 4.2 Đề nghị

So sánh năng suất thực tế 3 dòng trên với giống Nếp Than đối chứng. Đánh giá khả năng thích nghi, tính ổn định và khả năng chống chịu sâu bệnh trong điều kiện đồng ruộng.

Tiếp tục chọn lọc cá thể ở 3 dòng còn lại, khả năng chọn lọc được dòng ưu tú là rất cao vì các dòng này vẫn chưa thuần.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- BÙI CHÍ BỬU và NGUYỄN THỊ LANG, 2000. Di truyền phân tử. Những nguyên tắc cơ bản trong chọn giống cây trồng. NXB Nông Nghiệp TPHCM.
- BÙI CHÍ BỬU và NGUYỄN THỊ LANG, 2000. Một số vấn đề cần biết về gạo xuất khẩu. Viện lúa đồng bằng sông Cửu long.
- CAGAMPANG, G.B. and F.M. RODRIGUEZ, 1980. Method of analysis for screening crops of appropriate qualities. Institute of Pland breeding. University of the Phillipin and Los Banos. P8-9.

- LÊ DOÃN DIÊN *et al.* 1997. Nghiên cứu chất lượng lúa gạo ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu Khoa học Công nghệ Nông nghiệp (1994-1995). NXB Nông Nghiệp Hà Nội. Trang 75-78
- LÊ NGUYỆT ÁNH, 2005. Đánh giá chất lượng gạo thơm tại vùng đồng bằng sông Cửu Long. Luận văn tốt nghiệp. 50 trang.
- LÊ XUÂN THÁI, 2003. So sánh và đánh giá tính ổn định năng suất và phẩm chất gạo của 8 giống lúa cao sản ở đồng bằng sông Cửu Long. Luận án Thạc sĩ. Đại Học Cần Thơ, 90 trang.
- NGUYỄN THỊ MỸ PHƯƠNG, 2006. So sánh năng suất và phẩm chất gạo của 10 giống/dòng lúa thơm vụ Thu Đông năm 2004 tại Huyện Chợ Mới, tỉnh An Giang. Luận văn tốt nghiệp. 55 trang.
- P.R. JENNING, W.R. COFFMAN VÀ H.E. KAUFFMAN, 1979. Cải tiến giống lúa. Viện Nghiên Cứu Lúa Gạo Quốc Tế, Đại học Cần Thơ. Trang 31-55, Trang 103-110.
- QUAN THỊ ÁI LIÊN, 2006. Xác định dấu phân tử protein tương quan đến mùi thơm bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE. Kỷ yếu Hội nghị Nông-Lâm-Ngư toàn quốc lần thứ 3.
- TIÊU CHUẨN VIỆT NAM, 2001. Trang 104-104.
- TRẦN MINH BẰNG, 2004. Bước đầu tìm dấu phân tử liên kết tính thơm của tập đoàn giống lúa thơm Trường Đại học Cần Thơ. Luận văn tốt nghiệp. Trang 7-10.