

TẠO DÒNG LÚA THƠM KHÁNG RẦY NÂU, CÓ NĂNG SUẤT CAO VÀ PHẨM CHẤT TỐT

Nguyễn Thị Mai Hạnh¹ và Võ Công Thành¹

ABSTRACT

At the present, due to the requirement of aromatic rice variety with brown plant hopper resistance, good quality for production and export, a cross between two purified lines BN (medium quality, short maturity and brown plant hopper resistance) and TP5 (aromatic rice with good quality) was done. By applying electrophoresis SDS-PAGE, DNA technique, some testing methods on quality and brown plant hopper resistance testing, the result showed that: 4 new pure lines were chosen - BN x TP5 - 1 - 2; BN x TP5 - 4 - 1; BN x TP5 - 9 - 2 and THL BN x TP5 - 9 - 3. These lines had common characteristics such as: aromatic, brown plant hopper resistance from level 1 to level 3, low amylose content ranged from 16,8% to 17,3%, high protein content ranged from 10,2% to 10,4%, long grain (7 mm), maturity 95 days (A1), 97 cm to 100 cm plant height, high yield (from 6,4 ton/ha to 7,5 ton/ha).

Keywords: SDS-PAGE, aromatic rice, BN

Title: Breeding for aromatic rice with resistance to brown plant hopper, high yield and good quality

TÓM TẮT

Trong tình hình hiện nay, nhu cầu về các giống lúa kháng rầy nâu mới, ngắn ngày, năng suất cao và có phẩm chất tốt phục vụ cho sản xuất lúa ở Đồng bằng sông Cửu Long cũng như đáp ứng nhu cầu xuất khẩu là rất bức thiết. Một tổ hợp lai (BN x TP5) giữa dòng thuần kháng rầy nâu rất tốt, ngắn ngày (90 ngày) nhưng phẩm chất trung bình - BN và dòng thuần TP5 thơm, có phẩm chất gạo rất ngon được thực hiện. Đề tài ứng dụng các kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE, kỹ thuật DNA, trắc nghiệm tính kháng rầy nâu và sử dụng các phương pháp phân tích phẩm chất để chọn lọc các dòng lúa ưu tú. Kết thúc so sánh các dòng trong điều kiện nhà lưới ở thế hệ F5, tổng cộng có 4 dòng lúa mới ưu tú được chọn là THL BN x TP5 - 1 - 2; THL BN x TP5 - 4 - 1; THL BN x TP5 - 9 - 2 và dòng THL BN x TP5 - 9 - 3 có các đặc tính lần lượt như sau: thuần, mức độ kháng rầy từ hơi kháng đến kháng, hàm lượng protein cao từ 10,2% đến 10,4 %, hàm lượng amylose thấp từ 16,8% đến 17,3%, có mùi thơm nhẹ, dạng hạt gạo dài (>7 mm), thời gian sinh trưởng 95 ngày, chiều cao cây từ 97 cm đến 100 cm, năng suất cao từ 6,4 tấn/ha đến 7,5 tấn /ha.

Từ khóa: SDS-PAGE, aromatic rice, BN

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Là khu vực sản xuất lúa chính, lâu đời của cả nước, đồng bằng sông Cửu Long có nhiều giống lúa nổi tiếng. Tuy nhiên, trong cơ cấu giống lúa, thì các giống lúa phẩm chất thấp vẫn còn chiếm ưu thế như OM576 (Hàm Trâu), IR50404... Trong khi nhu cầu về gạo của các giống này trong nước và trên thế giới ngày càng ít lại. Một vấn đề khác, từ năm 1968 đến nay, rầy nâu trở thành đối tượng dịch hại rất

¹ Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp & SHƯD, Trường Đại học Cần Thơ

nguy hiểm. Việc sử dụng nông dược vẫn không mang lại hiệu quả, mặt khác làm ô nhiễm môi trường. Song song với biện pháp canh tác và biện pháp sinh học, giống kháng giữ vai trò rất quan trọng trong phòng trừ rầy nâu hại lúa. Sử dụng giống kháng cho hiệu quả kinh tế cao, ít chi phí, giảm tác động bất lợi đến môi trường do thuốc bảo vệ thực vật.

Bằng việc kết hợp giữa phương pháp lai tạo truyền thống với kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE và phương pháp thử rầy đề tài được thực hiện với mục tiêu là chọn lọc ra giống lúa mới thơm, kháng rầy tốt (cấp 3), đạt một số đặc tính và phẩm chất sau: năng suất thực tế ước đạt 6-7 tấn/ha, gạo trong, tỉ lệ bạc bụng <5%, dài (> 6,6 mm), ngắn ngày (< 95 ngày), hàm lượng protein >10 %, amylose thấp <18%.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện

2.1.1 Giống cha mẹ ban đầu

Dòng thuần TP5: Thế hệ F7 của THL Jasmine 85 x Amaroo sử dụng làm cây cha.

Dòng thuần BN: kết quả chọn lọc cá thể ưu tú bằng kỹ thuật protein SDS-PAGE từ quần thể IR50404 lần tập ở huyện Châu Thành A, Hậu Giang. Sử dụng làm cây mẹ.

Bảng 1: Một số đặc tính dòng TP5 và dòng BN

Đặc tính	Dòng thuần TP5 (thơm)	Dòng thuần BN (không thơm)
Thời gian sinh trưởng (ngày)	90-95	90
Chiều cao cây (cm)	95-100	90-95
Năng suất (tấn/ha) vụ ĐX	7,0-8,0	8,5-10
Hàm lượng amylose (%)	16,03	24,1
Hàm lượng protein (%)	13,3	7,2
Nhiệt trở hồ	Cấp 5	Cấp 3
Tỉ lệ bạc bụng (%)	0,3	15-20
Chiều dài hạt (mm)	7,5-7,6	6,6
Trọng lượng 1000 hạt (gam)	27,15	24,15
Một số đặc tính khác	Cứng cây, nhiễm cháy bìa lá, vàng lá chín sớm, hơi nhiễm rầy nâu (cấp 5), hơi nhiễm đạo ôn (cấp 5)	Yếu rạ, Kháng rầy nâu cấp 1, không nhiễm vàng lá chín sớm, chống chịu tốt với đạo ôn cổ bông

* Hàm lượng protein kể cả vỏ lúa

2.1.2 Thiết bị hóa chất

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

2.1.3 Thời gian và địa điểm thí nghiệm

- Lai tạo, chọn lọc, thử rầy, nhân dòng, phân tích DNA, các chỉ tiêu phẩm chất và so sánh dòng trong điều kiện nhà lưới: từ tháng 06/2008 đến tháng 4/2010.
 - Địa điểm: Nhà lưới, PTN Chọn Giống và Ứng Dụng CNSH, Bộ môn Di Truyền Giống Nông Nghiệp, Khoa Nông Nghiệp & SHUD, Đại Học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Nội dung nghiên cứu

Bước 1: Chạy điện di protein tổng số xác định bố mẹ ưu tú và kiểm tra mùi thơm.

Bước 2: Thực hiện tổ hợp lai theo phương pháp lai đơn.

Bước 3: Trồng cây F1 (trong nhà lưới), thu cá thể.

Bước 4: Trồng cây F2 (trong nhà lưới), phân tích các chỉ tiêu về phẩm chất hạt (amylose, protein tổng số), điện di protein và kiểm tra mùi thơm bằng KOH 1,7% chọn những dòng có độ thuần cao, tách thành dòng. Thử rầy nâu trong nhà lưới.

Bước 5: Chọn các dòng ưu tú, kháng rầy nâu, trồng các dòng F3 (trong nhà lưới), chọn lại 5 bụi/dòng, phân tích các chỉ tiêu về phẩm chất hạt như ở bước 4. Thử rầy nâu và chọn lại 2-3 bụi/dòng thơm, có phẩm chất tốt.

Bước 6: Trồng nhân thành dòng F4 (trong nhà lưới), kiểm tra các chỉ tiêu phẩm chất. Chọn lại các dòng ưu tú nhất để so sánh dòng trong điều kiện nhà lưới ở thế hệ F5. Đánh giá độ thuần, tính chống chịu sâu bệnh, tiềm năng năng suất và thử tính thơm. Chọn lại khoảng 2-3 dòng thuần kháng rầy có năng suất cao, phẩm chất tốt để tiến hành khảo nghiệm ngoài đồng ở thế hệ F6.

2.2.2 Phương pháp nghiên cứu cụ thể

Phương pháp lai: Lai đơn (Cải tiến giống lúa, 1979).

Phương pháp điện di protein SDS-PAGE (Bộ Nông Nghiệp Nhật).

Phương pháp phân tích hàm lượng protein (phương pháp Lowry O.H., 1951).

Phương pháp phân tích hàm lượng amylose (Cagampang và Rodriguez, 1980).

Phương pháp phân tích độ trở hồ: Theo phương pháp của IRRI (1979).

Phương pháp xác định độ bền thể gel: Phương pháp của Tang *et al.* (1991).

Phương pháp phân loại cấp độ bạc bụng: phương pháp của IRRI (1996).

Phương pháp xác định tính thơm: Bằng KOH 1,7%, điện di protein thành phần albumin và bằng kỹ thuật DNA.

Thử rầy và đánh giá tính kháng rầy theo phương pháp của IRRI (1980).

Bố trí thí nghiệm theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 nhân tố với 3 lần lặp lại, dòng BN làm đối chứng.

Xử lý số liệu trung bình bằng Excell và phân tích ANOVA bằng phần mềm SPSS.

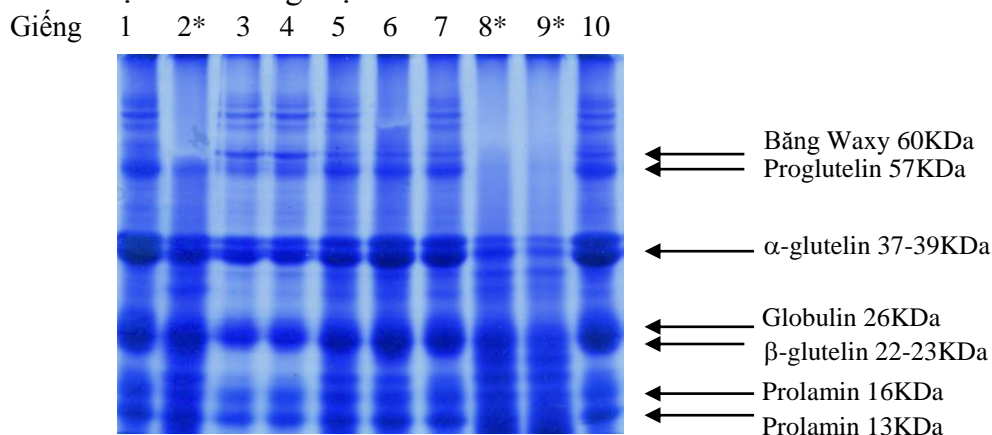
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả kiểm tra các hạt lai và theo dõi đặc tính cây F1

3.1.1 Kết quả chạy điện di protein tổng số trên các hạt F1

Hình 1 cho thấy các hạt lai F1 là khá đồng nhất, thể hiện đặc tính trung gian giữa dòng cha TP5 và dòng mẹ BN nhất là ở băng Waxy 60KDa. Các cá thể lai F1 của tổ hợp này có băng waxy nhạt hơn dòng BN nhưng đậm hơn giống TP5. Protein

nhóm α và β -glutelin (chiếm khoảng 80% protein tổng số) cũng biểu hiện mức độ ăn màu đậm hơn dòng mẹ BN.



Hình 1: Phổ điện di protein tổng của hạt lai F1

Giếng 1-2: Dòng TP5 Giếng 3-4: Dòng lúa BN Giếng 5-10: Hạt lai F1

(Các cá thể ở các giếng đánh dấu (*) không được đánh giá)

Kết quả điện di chọn được 21 hạt là hạt lai F1. Các hạt được chọn sẽ trồng lên trong chậu và được theo dõi các chỉ tiêu nông học.

3.1.2 Các chỉ tiêu nông học của cây F1

Bảng 2: Một số chỉ tiêu nông học của cây F1 (giá trị trung bình của 21 cá thể)

STT	Chỉ tiêu	Dòng TP5	Dòng BN	Cây F1
1	TGST (ngày)	98	92	95
2	Cao cây (cm)	96	92	95,4
3	Chiều dài x chiều rộng lá cờ (cm)	35 x 2,2	23 x 2,0	31,4 x 2,02

Thời gian sinh trưởng (TGST) của cây F1

Trung bình thời gian sinh trưởng của các cây F1 là 95 ngày, không khác biệt nhiều so với dòng cha TP5 (90-95 ngày) nhưng dài ngày hơn so với dòng mẹ là BN (90 ngày).

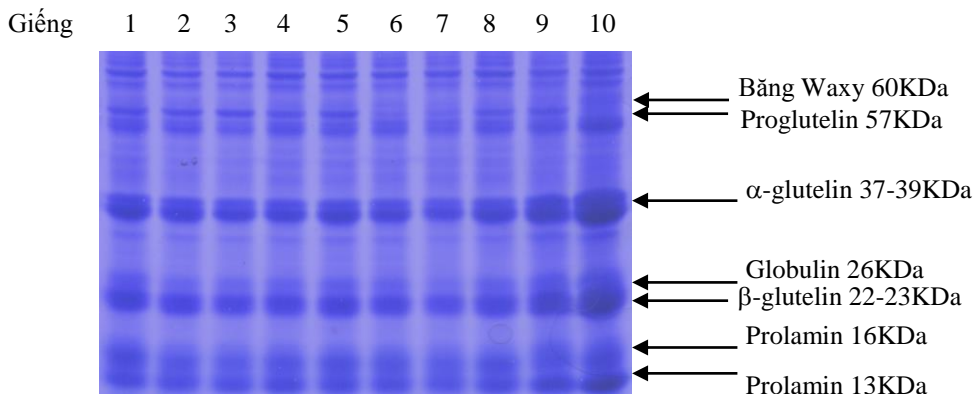
Chiều cao cây F1

Chiều cao các cây F1 cũng không khác biệt nhiều so với 2 cá thể cha, mẹ trồng đối chứng. Giá trị trung bình của 21 cá thể nằm trong khoảng trung gian giữa cha, mẹ và đạt 95,4 cm. Bên cạnh chiều cao cây, thời gian sinh trưởng thì chiều dài, chiều rộng lá cờ của các cây lai F1 cũng biểu hiện ở mức trung gian, ngắn và nhỏ hơn so với dòng TP5 nhưng dài và rộng hơn dòng BN.

3.1.3 Kết quả chạy điện di protein tổng số trên các hạt F2

Kết quả điện di (Hình 2) cho thấy hạt F2 của dòng THL BN x TP5 có sự phân ly mạnh mẽ, thể hiện qua mức độ ăn màu khác nhau của các băng cũng như sự xuất hiện không đồng loạt của băng waxy. Ở các giếng 1, 3, 5, 8 có xuất hiện băng waxy và ăn màu tương đương giếng 9 (cây mẹ), giếng 2 và 4 có băng waxy ăn màu nhạt hơn giếng 9, còn lại các giếng 6 và 7 không có sự hiện diện của băng waxy (giống dòng cha TP5-giếng 10). Ở phổ điện di trên, các hạt được chọn để nhân lên

thành dòng ở thế hệ tiếp theo là hạt ở giếng 6 (Hình 2). Áp dụng lựa chọn tương tự cho các hạt ở các gel còn lại.



Hình 2: Phổ điện di protein tổng hạt F2 của THL BN x TP5

Giếng 1-8: Hạt F2 của THL BN x TP5

Giếng 9: Hạt BN

Giếng 10: Hạt TP5

3.2 Trắc nghiệm tính kháng rầy nâu

Đến thế hệ F3, 9 dòng lai ưu tú được tiến hành thanh lọc tính kháng rầy nâu. Thí nghiệm bố trí theo thế thức hoàn toàn ngẫu nhiên, giống chuẩn nhiễm Jasmine 85; 9 dòng lai và chuẩn kháng OM5930, 3 lần lặp lại. Kết quả cho thấy mật số rầy trung bình giữa các giống/dòng cao, ít thay đổi ở 1 và 2 ngày sau khi thả. Sau đó mật số rầy trên các giống/dòng bắt đầu giảm và thấp nhất ở thời điểm 6 ngày sau khi thả. Mức độ giảm qua các ngày khác nhau giữa các dòng, chuẩn kháng OM5930, THL BN x TP5-21 và THL BN x TP5-9 có mật số rầy thấp ở ngày thứ 6 (1,83; 1,50 và 1,93). Chuẩn nhiễm Jasmine 85 có mật số rầy cao ở ngày thứ 6 là 3,1.

Bảng 3: Sự ưa thích ký chủ của rầy nâu đối với các dòng lai ưu tú

Giống/dòng lúa	Phản ứng	Mật số rầy/cây sau khi thả vào					
		1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
Jasmine 85	RN	6,13cd	6,97a	4,87a	3,70ab	3,10a	-
OM5930	K	6,70abcd	4,20de	3,00de	2,27de	1,83cd	1,30b
THL BN x TP5 – 1	HK	7,80a	5,73b	4,70ab	3,23abc	2,60ab	1,73ab
THL BN x TP5 – 2	HN	7,60a	5,13bcd	5,10a	3,17bc	2,40bc	1,87a
THL BN x TP5 – 4	K	6,07d	5,13bcd	3,33cde	3,00c	2,40bc	1,67ab
THL BN x TP5 – 9	K	7,07abcd	5,50bc	3,50bcde	3,80a	1,93bcd	1,90a
THL BN x TP5 – 14	K	6,47bcd	4,40cde	3,53bcde	3,73bc	2,03bcd	1,67ab
THL BN x TP5 – 21	K	6,47bcd	3,77e	2,70e	2,07e	1,50d	1,97a
THL BN x TP5 – 24	HN	6,00d	4,57bcde	4,67ab	3,03c	2,33bc	2,07a
THL BN x TP5 – 31	N	7,23abc	4,13de	4,00abcd	2,93c	2,33bc	1,73ab
THL BN x TP5 – 34	HN	7,07abcd	5,13bcd	4,40abc	2,77cd	2,40bc	1,90a
F		**	**	**	**	**	**
CV(%)		8,7	13,2	16,7	10,9	16,01	51,7

Trên cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau là không khác biệt ở mức ý nghĩa 1%, (**).

(-) Lúa đã chết hoàn toàn. RN=rất nhiễm, N=nhiễm, HN=hơi nhiễm, K= kháng, HK=hơi kháng.

Trong cùng một ngày, mật số rầy trung bình trên các giống /dòng có sự khác biệt. Vào ngày thứ 5 giống chuẩn nhiễm bắt đầu chết dần. Vào ngày thứ 6 giống chuẩn nhiễm Jasmine 85 chết hoàn toàn. Một số dòng gần như không thể hiện triệu chứng, một số dòng khác có lá phía dưới bị vàng và có dòng xuất hiện một số cây chết nhưng không nhiều từ 3-5 cây ở mỗi lần lặp lại. Cụ thể, mức độ thiệt hại của giống chuẩn nhiễm Jasmine 85 là 94,5% (rất nhiễm), giống chuẩn kháng là 15,5% (kháng). 9 dòng lai ưu tú có biểu hiện từ kháng đến hơi nhiễm. Trong đó, 4 dòng THL BN x TP5-4, -9, -14, -21 có biểu hiện kháng với mức độ thiệt hại lần lượt là 15,0%, 18,7%, 16,4% và 13,8%. Dòng THL BN x TP5-1 hơi kháng, 3 dòng THL BN x TP5-2, -24, -34 có biểu hiện hơi nhiễm và dòng THL BN x TP5-31 biểu hiện nhiễm với mức độ thiệt hại là 51%.

Kết thúc thanh lọc tính kháng rầy của 13 dòng lai ưu tú đã chọn được 5 dòng lai có biểu hiện tính kháng tốt. Trong đó có 4 dòng kháng (THL BN x TP5 – 4, THL BN x TP5 – 9, THL BN x TP5 – 14, THL BN x TP5 – 21) và 01 dòng hơi kháng (THL BN x TP5 – 1). Các dòng này tiếp tục được chọn lọc tiếp tục đến hết thế hệ F4 theo hướng có tính thơm, hàm lượng protein >10%, hàm lượng amylose < 18%.

3.3 Kết quả so sánh các dòng ưu tú ở thế hệ F5, kiểm tra các chỉ tiêu phẩm chất, đánh giá độ thuần

Đến thế hệ F5, tám dòng lúa ưu tú đã được chọn. Các dòng này được trồng so sánh trong nhà lưới theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 2 m², dòng BN làm đối chứng. Cây mạ 10 ngày tuổi với mật độ 15cm x 15 cm.

3.3.1 Kết quả theo dõi một số chỉ tiêu nông học và thành phần năng suất cây F4

Thời gian sinh trưởng và chiều cao cây

Đến thế hệ F5, thời gian sinh trưởng đã ổn định, các cá thể trong dòng và các dòng đều chín cùng lúc (95 ngày). Thời gian sinh trưởng của các dòng vẫn dài hơn dòng mẹ BN nhưng vẫn được xếp vào nhóm có thời gian sinh trưởng ngắn (nhóm A1).

Thời gian sinh trưởng không khác nhau nhưng chiều cao cây của các dòng lai có sự khác biệt về mặt thống kê. Chiều cao cây các dòng thay đổi từ 96,3 cm-100,7 cm, cao hơn đối chứng BN (95,7 cm) và nằm trong khoảng chiều cao cây tối hảo của giống lúa cho năng suất cao từ 80 cm-110 cm (Võ Tòng Xuân, 1986).

Số bông/m²

Kết quả trình bày ở bảng 4 cho thấy số bông/m² của các dòng lai ưu tú có sự khác biệt về mặt thống kê, biến thiên từ 193-218 bông/m² so với đối chứng BN là 207 bông/m². Dòng có số bông/m² thấp nhất là dòng THL BN x TP5-9-3 (193 bông).

Chiều dài bông

Chiều dài bông của các dòng lúa khảo sát không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (ngoại trừ dòng THL BN x TP5-9-3), biến thiên từ 26,2 cm đến 27,2 cm và tất cả đều dài hơn dòng BN đối chứng (chỉ đạt 24,3 cm). Tuy chiều dài bông của các dòng chưa đạt được như dòng cha TP5 ban đầu (27,9 cm) nhưng đã có bước cải thiện rất đáng kể so với dòng mẹ BN.

Bảng 4: Một số chỉ tiêu nông học và thành phần năng suất cây F4

Giống/dòng	TGST (ngày)	CC (cm)	B/m ²	DB (cm)	C/B	TL1000 hạt (g)	NSTT (tấn/ha)
BN (ĐC)	90	95,7d	207,0 ab	24,3 c	183,0 a	24,6 b	7,25 ab
THL BN x TP5 – 1 – 2	95	97,3 bcd	218,0 a	26,8 ab	166,7 cd	26,6 ab	6,40 b
THL BN x TP5 – 1 – 3	95	97,7 bcd	197,7 b	26,3 ab	167,0 bcd	26,0 ab	7,12 ab
THL BN x TP5 – 4 – 1	95	100,7 ab	210 ab	26,5 ab	172,3 abc	26,1 ab	6,75 ab
THL BN x TP5 – 4 – 2	95	96,3 cd	201,7 ab	27,0 ab	171,0 abc	26,2 ab	6,73 ab
THL BN x TP5 – 9 – 2	95	99,0 bcd	210,0 ab	26,5 ab	158,7 d	26,0 ab	6,48 ab
THL BN x TP5 – 9 – 3	95	103,3 a	193,0 b	26,2 b	164,7 cd	25,8 ab	7,47 a
THL BN x TP5 – 14 – 3	95	97,3 bcd	215,7 a	27,2 a	178,0 ab	25,5 ab	6,32 b
THL BN x TP5 – 21 – 3	95	100,0 abc	207,7ab	27,0 ab	173,3 abc	26,8 a	6,49 ab
F	-	*	*	*	*	*	*
CV (%)	-	2,03	4,45	1,78	3,75	3,8	12,9

* TGST: Thời gian sinh trưởng, CC: Chiều cao cây, B/m²: Số bông/m², DB: Chiều dài bông, C/B: Số hạt chắc/bông, NSTT: Năng suất thực tế.

* Trên cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau là không khác biệt ở mức ý nghĩa 5% (*).

Số hạt chắc/bông và trọng lượng 1000 hạt

Số hạt chắc/bông của 8 dòng lai ưu tú đều thấp hơn dòng đối chứng BN, đạt từ 158,7 đến 178 hạt chắc/bông so với đối chứng BN là 183 hạt chắc/bông. Dòng có số hạt chắc/bông thấp nhất là dòng THL BN x TP5 -9-2, dòng có số hạt chắc/bông cao nhất là dòng THL BN x TP5 -14-3. Trọng lượng 1000 hạt của 8 dòng ưu tú không khác biệt thống kê nhưng khác biệt có ý nghĩa so với trọng lượng 1000 hạt của dòng đối chứng BN, biến thiên từ 25,5 gam đến 26,8 gam; thấp hơn dòng cha TP5 (27,2 gam).

Năng suất thực tế

Tổng lượng hạt của 2m²/dòng được làm sạch, phơi khô, cân khối lượng ở ẩm độ 14% và nhân lên 5000 lần để có năng suất cho 1 ha. Năng suất các dòng biến thiên từ 6,3-7,5 tấn/ha, hầu hết thấp hơn giống đối chứng BN (7,3 tấn/ha), dòng THL BN x TP5-9-3 có năng suất thực tế cao hơn đối chứng BN (đạt 7,5 tấn/ha). Tuy nhiên, các dòng này cần được trồng khảo nghiệm trong điều kiện đồng ruộng với diện tích lớn hơn để có thể đánh giá đúng năng suất thực tế của các dòng.

Hàm lượng Amylose

Hàm lượng amylose là đặc tính phẩm chất quan trọng quyết định cơm mềm hay cứng sau khi nấu và là đặc tính quan trọng trong chọn lọc giống. Ở thế hệ F5, hầu hết các dòng đều có hàm lượng amylose ổn định (<18%), riêng dòng THL BN xTP5 – 14 – 3 có hàm lượng amylose tăng cao và dòng này không được chọn ở thế hệ sau.

Hàm lượng Protein

Hàm lượng protein ở thế hệ F5 tương đối ổn định, biến thiên từ 9,7 đến 10,4%. Đáng chú ý là trong 8 dòng ưu tú được chọn, có 2 dòng là THL BN x TP5 – 1 – 3 và THL BN x TP5 – 4 – 2 có trung bình hàm lượng protein <10%, trong khi các dòng khác đều duy trì hàm lượng protein >10%. Các dòng có hàm lượng protein <10% không được chọn cho thế hệ tiếp theo.

Bảng 5: Hàm lượng amylose và protein hạt F5

STT	Dòng	Amylose (%)	Protein (%)
1	THL BN x TP5 - 1 - 2	17,3	10,3
2	THL BN x TP5 - 1 - 3	16,4	9,9
3	THL BN x TP5 - 4 - 1	16,8	10,4
4	THL BN x TP5 - 4 - 2	16,3	9,7
5	THL BN x TP5 - 9 - 2	16,8	10,4
6	THL BN x TP5 - 9 - 3	17,1	10,2
7	THL BN x TP5 - 14 - 3	18,7	10,0
8	THL BN x TP5 - 21 - 3	15,2	10,1
Trung bình		16,8 ± 0,4	10,1 ± 0,1

Nhiệt trở hồ và độ bền gel

Nhiệt trở hồ của 8 dòng lúa lai ưu tú đều đạt mức trung bình, dòng THL BN x TP5 -4-1 và dòng THL BN x TP5 -9-2 có nhiệt trở hồ cấp 4 cùng cấp với dòng mẹ BN (không chọn). Các dòng còn lại có nhiệt trở hồ cấp 5, là cấp nhiệt trở hồ tối ưu cho giống lúa có phẩm chất cơm nấu tốt. Độ bền gel từ mềm đến trung bình với chiều dài gel biến thiên từ 48 mm đến 72 mm, so với dòng mẹ BN (thuộc phân nhóm cứng) thì các dòng lai ưu tú đã có sự cải thiện.

Chiều dài hạt gạo và độ bạc bụng

Kết quả ghi nhận cho thấy cả 8 dòng lai ưu tú đều có chiều dài hạt gạo >7 mm, biến thiên từ 7 mm đến 7,3 mm, đạt trung bình là 7,1 mm, được xếp vào nhóm dạng hạt thon dài (IRRI, 1988), đạt yêu cầu chiều dài hạt của gạo xuất khẩu.

Đối với chỉ tiêu độ bạc bụng, tổng cộng 200 hạt/dòng được chọn ngẫu nhiên và tách vỏ trấu để kiểm tra. Tỷ lệ bạc bụng của các dòng thay đổi từ 1,5% đến 8,5%; trong đó 2 dòng THL BN x TP5 -14-3 và dòng THL BN x TP5-21-3 có tỷ lệ bạc bụng cao từ 7,5% đến 8,5% (lần lượt là 15 hạt/200 hạt và 17 hạt/200 hạt bạc bụng). Theo chỉ tiêu phân cấp độ bạc bụng của IRRI (1996) thì các dòng đều có cấp độ bạc bụng ở phân cấp 1.

3.3.2 Kết quả kiểm tra tính thơm trên hạt F5 bằng KOH 1,7%; kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE và tính thơm trên lá cây F5 bằng kỹ thuật DNA

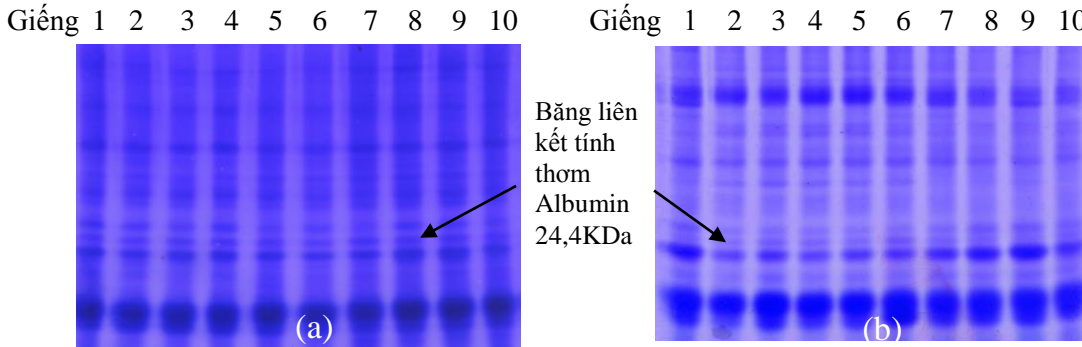
Kết quả kiểm tra tính thơm hạt F5 bằng KOH 1,7%

Tất cả 8 dòng ưu tú đều được đánh giá ở mức thơm nhẹ so với dòng đối chứng TP5 là thơm và dòng không thơm BN. Riêng dòng THL BN X TP5-4-2 có 2 lượt đánh giá là không thơm. Các dòng này vẫn duy trì được mùi thơm như ở thế hệ F4.

Kết quả kiểm tra tính thơm hạt F5 bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE (điện di protein thành phần albumin)

Mỗi dòng chọn ngẫu nhiên 5 hạt và tiến hành điện di protein thành phần albumin để kiểm tra tính thơm. Theo kết quả nghiên cứu của Võ Công Thành và Quan Thị Ái Liên (2007), khẳng định được băng protein có trọng khối phân tử 24,4 KDa trong phổ điện di protein thành phần albumin có liên kết với tính thơm của hạt gạo ($r=0,97^*$), mức độ thơm tùy thuộc vào mức độ ăn màu của băng protein 24,4KDa

đối với thuốc nhuộm protein CBBR-250. Ấn màu càng đậm chứng tỏ giống lúa càng thơm và ngược lại.



(a) Giếng 1-5: THL BN x TP5-1-3
Giếng 6-10: THL BN x TP5-4-1

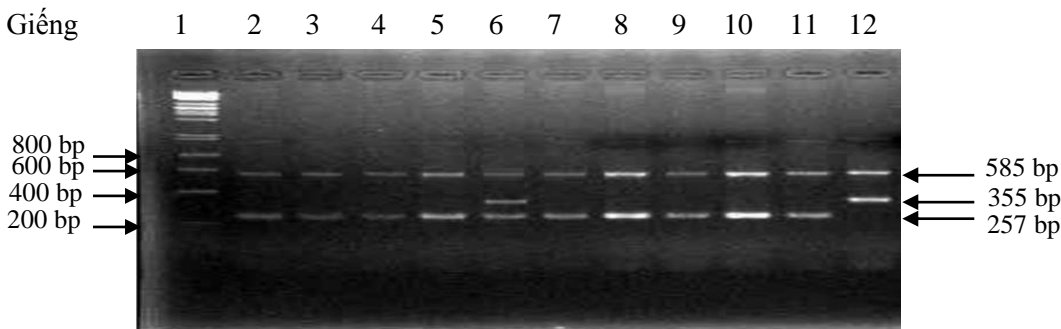
(b) Giếng 1-5: THL BN x TP5-9-3
Giếng 6-10: THL BN x TP5-21-3

Hình 3: Phổ điện di protein thành phần albumin 4 dòng lai ưu tú F5

Kết quả phân tích cho thấy trong phổ điện di protein thành phần albumin của cả 8 dòng lai ưu tú đều có xuất hiện băng protein liên kết với tính thơm 24,4KDa, chứng tỏ hạt gạo của các dòng này đều có mùi thơm. Kết quả phân tích này phù hợp với kết quả đánh giá tính thơm bằng KOH 1,7%.

Kết quả kiểm tra tính thơm trên lá cây F5 bằng kỹ thuật DNA

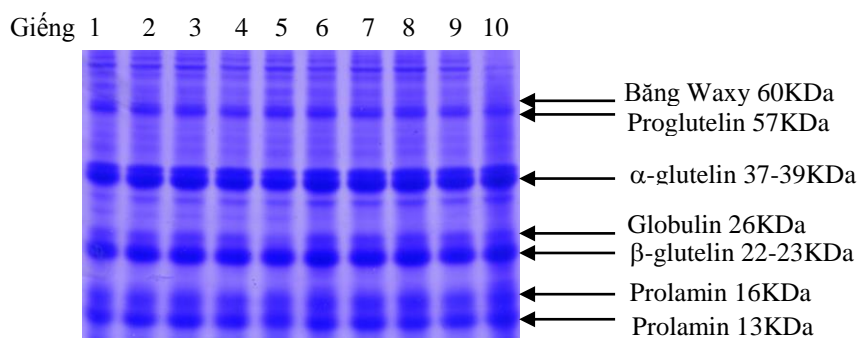
Kết quả PCR của các DNA trên 8 dòng lúa ưu tú thấy có xuất hiện băng chung với kích thước khoảng 585 bp và băng thơm có kích thước 257 bp, thể hiện tính thơm đồng hợp tử. Giếng 6 (dòng THL BN x TP5-4-2) xuất hiện cả hai băng 257 bp và 355 bp thể hiện tính thơm ở trạng thái dị hợp tử, chứng tỏ dòng này chưa thuần. Dòng đối chứng không thơm BN (giếng 12) cho băng không thơm đồng hợp tử (355 bp). Kết quả phân tích PCR trên 8 dòng lúa ưu tú cho thấy đều có mang gen thơm.



Giếng 1: Thang chuẩn (Novagen) Giếng 2: THL BN x TP5 - 4-1 Giếng 3: THL BN x TP5 -1-3
Giếng 4: THL BN x TP5 - 9-3 Giếng 5: THL BN x TP5 - 21-3 Giếng 6: THL BN x TP5 - 4-2
Giếng 7: THL BN x TP5 - 1-2 Giếng 8: THL BN x TP5 - 9-2 Giếng 9: THL BN x TP5 - 14-3
Giếng 10: TP5 Giếng 11: Jasmine 08 Giếng 12: BN

Hình 4: Sự đa hình tính trạng mùi thơm của các dòng lúa thơm ưu tú thông qua việc sử dụng bốn môi ESP, IFAP, INSP và EAP trong cùng phản ứng PCR

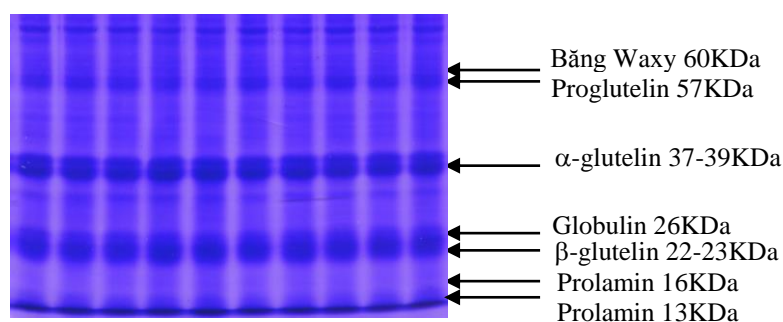
3.3.3 Kết quả kiểm tra độ thuần bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE



Giếng 1-5: Dòng THL x TP5-9-3

Giếng 6-10: Dòng THL BN x TP5-21-3

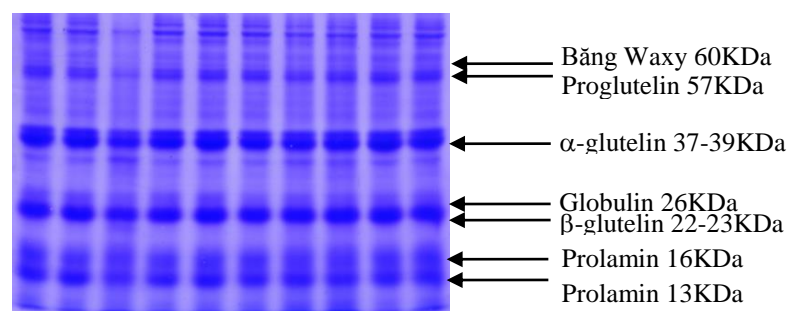
Hình 5: Phổ điện di protein tổng số dòng THL BN x TP5-9-3 và THL BN x TP5-21-3



Giếng 1-5: Dòng THL x TP5-1-2

Giếng 6-10: Dòng THL BN x TP5-9-2

Hình 6: Phổ điện di protein tổng số dòng THL BN x TP5-1-2 và THL BN x TP5-9-2



Giếng 1-5: Dòng THL x TP5-4-2

Giếng 6-10: Dòng THL BN x TP5-14-3

Hình 7: Phổ điện di protein tổng số dòng THL BN x TP5-4-2 và THL BN x TP5-14-3

Các hạt F5 của 8 dòng được tiến hành chạy điện di protein tổng số để đánh giá độ thuần. Mỗi dòng chạy 5 hạt. Dòng được đánh giá là thuần khi mức độ ăn màu của các băng protein đối với thuốc nhuộm CBBR-250 như nhau. Mức độ thuần sẽ giảm dần tùy theo sự ăn màu không đồng nhất của các băng protein.

Kết quả điện di cho thấy 6/8 dòng có biểu hiện thuần. Tất cả các băng protein của các cá thể trong các dòng này đều ăn màu thuốc nhuộm protein CBBR-250 như nhau. Riêng 2 dòng THL BN X TP5-21-3 (giếng 6-10, Hình 5) và dòng THL BN x TP5-4-2 (giếng 1-5, Hình 7) biểu hiện không thuần. Các băng protein giữa các cá thể trong cùng một dòng ăn màu thuốc nhuộm protein CBBR-250 không giống nhau. Như giếng 10 của hình 5 có băng protein nhóm α-glutelin và prolamine ăn

màu đậm hơn các giéng còn lại và nhóm protein có trọng khối phân tử >60 KDa lại không xuất hiện như các giéng khác. Đối với dòng THL BN x TP5 -4-2 thì giéng số 3 (Hình 7) lại có biểu hiện protein nhạt, trong khi các giéng khác là đồng nhất.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1 Kết luận

Qua lai tạo và chọn lọc, đến thế hệ F5 tổng cộng có 4 dòng lúa mới của tổ hợp lai BN x TP5 đã được chọn là : THL BN x TP5 – 1 – 2; THL BN x TP5 – 4 – 1; THL BN x TP5 – 9 – 2 và dòng THL BN x TP5 – 9 – 3 có các đặc điểm lần lượt như sau: thuần; có mùi thơm nhẹ; từ hơi kháng đến kháng đối với rầy nâu (tổng số lá thiệt hại từ 15% đến 25,7%); năng suất đạt lần lượt là 6,4 tấn/ha; 6,8 tấn/ha; 6,5 tấn/ha và 7,5 tấn/ha; dạng hạt gạo dài đạt từ 7,2 đến 7,3 mm; thời gian sinh trưởng 95 ngày; hàm lượng protein cao lần lượt là 10,3%; 10,4%; 10,4% và 10,2%; hàm lượng amylose thấp 17,3%; 16,8%; 16,8% và 17,1.

4.2 Đề nghị

Tiến hành khảo nghiệm năng suất thực tế 4 dòng chọn được trong điều kiện ngoài đồng ruộng ở nhiều địa phương khác nhau để kiểm tra tính thích nghi, đánh giá khả năng kháng rầy và kiểm tra tính ổn định về phẩm chất của các dòng lúa mới.

Tiếp tục chọn lọc cá thể ở 2 dòng chưa thuần THL BN x TP5 – 4 – 2 và THL BN x TP5 – 21 – 3 vì đây là 2 dòng có biểu hiện kháng với rầy nâu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- CAGAMPANG, G.B. and F.M. RODRIGUEZ, 1980. Method of analysis for screening crops of appropriate qualities. Institute of Pland breeding. University of the Philippin and Los Banos. P8-9.
- Nguyễn Thị Lang (1994), Nghiên cứu một số ưu thế lai của một số tính trạng sinh lý và năng suất cây lúa. Luận án Phó tiến sĩ khoa học Nông nghiệp. Viện KHNN Việt Nam, Hà Nội.
- Nguyễn Văn Huỳnh (1997), Giống kháng côn trùng. Trang 44-52.
- Nguyễn Văn Huỳnh và Nguyễn Thị Sen (2004), Giáo trình côn trùng nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ.