

ĐẶC ĐIỂM NÔNG SINH HỌC VÀ KIỂM TRA SỰ HIỆN DIỆN GEN SINH TỔNG HỢP ANTHOCYANIN CỦA MỘT SỐ DÒNG LÚA NẾP CẨM MỚI

Nguyễn Thị Hường¹, Nguyễn Thanh Tuấn², Trần Văn Quang^{2*}

¹*Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm*

²*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: tvquang@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 09.07.2025

Ngày chấp nhận đăng: 19.09.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá đặc điểm nông sinh học và xác định sự hiện diện của một số gen liên kết sinh tổng hợp anthocyanin (*Kala1*, *Kala3*, *Kala4* và *Rc*) để phục vụ công tác phát triển giống lúa nếp cẩm có thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, khả năng chống chịu tốt và giàu anthocyanin. Thí nghiệm đánh giá đặc điểm nông sinh học, năng suất của 20 dòng lúa cẩm được bố trí theo phương pháp khảo sát tập đoàn, tuần tự không nhắc lại, phương pháp đánh giá các chỉ tiêu theo thang điểm của Viện nghiên cứu Lúa quốc tế - IRRI (2013). Xác định sự có mặt của 4 gen *Kala1*, *Kala3*, *Kala4* và *Rc* được thực hiện bằng phản ứng PCR với 4 marker SSR theo phương pháp của Gu & cs. (2011) và McCouch & cs. (2002). Kết quả đánh giá 20 dòng đã lựa chọn được 7 dòng lúa nếp cẩm có triển vọng là LC1-01; LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21 và LC9-25. Bảy dòng lúa nếp cẩm triển vọng có thời gian sinh trưởng 115-124 ngày (vụ mùa 2022), năng suất thực thu từ 6,11-7,48 tấn/ha, chiều dài hạt gạo 6,0-7,4mm, tỷ lệ gạo xay 73,4-80,9%, hàm lượng anthocyanin 252,3 mg/100g đến 653,1 mg/100g gạo, vỏ cám màu tím và đều mang cả 4 gen (*Kala1*, *kala3*, *kala4* và *Rc*).

Từ khóa: Lúa cẩm, đặc điểm nông sinh học, gen *Kala1*, *Kala3*, *Kala4*, *Rc*, anthocyanin.

Agronomic Characteristics of and the Presence of the Anthocyanin Biosynthesis Genes in Newly Developed Black Rice Lines

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the agronomic characteristics and detection of the anthocyanin biosynthesis genes (*Kala1*, *Kala3*, *Kala4*, *Rc*) of newly developed black rice lines. Agro-biological characteristics and yield were evaluated in a non-replicated experiment. The determination of the presence of four genes *Kala1*, *Kala3*, *Kala4* and *Rc* was performed by PCR with four SSR markers. Out of 20 lines investigated, there were seven promising black rice lines, viz. LC1-01, LC7-12, LC8-14, LC2-18; LC2-19; LC2-21 and LC9-25 selected for good agronomic characters with growth duration ranged from 115-124 days (2022 Summer season), light infection of the main pests and diseases, actual yield from 6,11-7,48 tons/ha, grain length 6.0-7.4mm, milled rice ratio 73.4-80.9%, and black bran. These black rice lines carry anthocyanin biosynthesis genes *Kala1*, *Kala3*, *kala4* and *Rc* genes.

Keywords: Black rice, agronomic characteristics, gene *Kala1*, *Kala3*, *Kala4*, *Rc*, anthocyanin.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, chất lượng cuộc sống của con người ngày một cải thiện, đi cùng với điều đó là nhu cầu về các thực phẩm chức năng giúp làm giảm quá trình lão hóa, giảm cholesterol, kéo dài tuổi thọ ngày một nhiều. Các giống lúa cẩm có màu sắc khác nhau ở vỏ trấu và vỏ cám như

màu đen, tím, nâu, đỏ thường có hàm lượng các chất hữu cơ đặc thù như chất kháng oxy hóa anthocyanin, vitamin, vi lượng có lợi cho sức khỏe con người (Ghasemzadeh & cs., 2018; Veni, 2020).

Anthocyanin là chất có khả năng kháng oxy hóa cao và hàm lượng cao trong lúa cẩm, hiện nay đang được nghiên cứu ở nhiều nước

trồng lúa (Kristamtini & cs., 2012). Yếu tố quan trọng nhất và tạo nên thương hiệu cho lúa cẩm bởi giá trị dinh dưỡng của nó có chứa khoảng 70% tinh bột, với hàm lượng chất khoáng có tỉ lệ đồng chứa 24ppm, kẽm 23,6ppm và sắt 16,2ppm. Ngoài ra trong gạo cẩm chứa nhiều axit amin mà đặc biệt trong vỏ nếp cẩm có chứa lượng lớn axit amin anthocyanin có khả năng chống oxy hoá và các nhân tố có lợi cho sức khỏe, chống viêm nhiễm, hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư (Maeda & cs., 2014). Gạo nếp cẩm kết hợp với một số thức ăn như rau xanh, hoa quả, thịt nạc sẽ có thể tăng sự hấp thụ sắt cho cơ thể (Maeda & cs., 2014). Hơn nữa, gạo cẩm là nguồn giàu chất sắt tự nhiên, thích hợp cho người ăn kiêng (Madhurima, 2024).

Nghiên cứu của Maeda & cs. (2014), chỉ ra màu sắc vỏ cám (đỏ, nâu, tím, đen) là do 3 cặp gen nằm trên nhiễm sắc thể số 1 (*Kala1*), nhiễm sắc thể số 3 (*Kala3*), và nhiễm sắc thể số 4 (*Kala4*) quy định. Các gen này có tác động tương tác với nhau đã được xác định là yếu tố chính quyết định màu sắc của vỏ hạt lúa.

Ở Việt Nam, lúa cẩm được gieo cấy tập trung ở các tỉnh miền núi phía Bắc, hơn nữa các giống lúa cẩm địa phương chủ yếu là giống phản ứng quang chu kỳ, năng suất thấp, nhiễm nặng sâu bệnh, đặc biệt là bệnh đạo ôn, bạc lá (Cục

Trồng trọt, 2019). Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là chọn lọc các dòng lúa cẩm triển vọng có thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao, chất lượng tốt bằng việc đánh giá các đặc điểm nông sinh học, chất lượng kết hợp với việc ứng dụng chỉ thị phân tử để sàng lọc và xác định sự hiện diện của các gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin ở lúa cẩm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm sử dụng hai mươi (20) dòng lúa cẩm do Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam chọn tạo như bảng 1.

Giống nếp cẩm ĐH6 do Viện Nghiên cứu và Phát triển Cây trồng chọn tạo, công nhận sản xuất thử năm 2014 (Đoàn Thanh Quỳnh & cs., 2014) được sử dụng làm giống đối chứng.

Sử dụng 4 chỉ thị phân tử SSR là RM7405; RM7210; RM3400 và qPC7 cho thí nghiệm xác định gen liên quan đến sinh tổng hợp anthocyanin (*Kala1*, *Kala3*, *Kala4* và *Rc*) của các dòng lúa nếp cẩm mới. Tên, trình tự và kích cỡ của các chỉ thị SSR được trình bày tại bảng 2.

Bảng 1. Danh sách các dòng lúa cẩm tham gia thí nghiệm

Tên mẫu giống xử lý đột biến và tổ hợp lai	Số dòng được chọn	Tên dòng	Thế hệ
Đột biến phóng xạ Co60			
Nếp Cẩm nương G472 dạng 1	02	LC1-01, LC1-17	M ₆
Nếp Cẩm nương G472 dạng 2	04	LC2-18, LC2-19, LC2-20, LC2-21	M ₆
Khẩu Chấm Chuối G420 dạng 1	02	LC3-22, LC3-24	M ₆
Nếp Cẩm (QCK)	02	LC4-28, LC4-32	M ₆
Tổng số	10		
Lai hữu tính			
Khẩu Chấm Chuối G420 dạng 2/ĐH6	02	LC5-02, LC5-03	F ₆
Lúa lóc nếp cẩm/ĐH6	02	LC6-08, LC6-09	F ₆
Bách hợp dạng 2/ĐH6	02	LC7-12, LC7-13	F ₆
Nếp Cẩm Pẹ/ĐH6	01	LC8-14	F ₆
Lúa lóc nếp cẩm/ Khẩu Chấm Chuối G472 dạng 2	02	LC9-25, LC9-26	F ₆
Bách hợp dạng 2/ Khẩu Chấm Chuối G420 dạng 2	01	LC10-30	F ₆
Tổng số	10		

Bảng 2. Tên và trình tự của các chỉ thị sử dụng trong phản ứng PCR

Gene	Chỉ thị	Trình tự môi xuôi	Trình tự môi ngược	Kích thước (bp)
<i>Kala1</i>	RM7405	TTGGCTCGCCCATATATAGG	CAGTCAGTCATCACTGGTAGTCG	109
<i>Kala3</i>	RM3400	TCTCTCTCCTCTCTCGCTCG	TAAAACCGAAGTGCTCTCGC	184
<i>Kala4</i>	RM7210	CGTGGTGCCTTCTTCAAAG	AAACAGGCGTAGCAGCAAAG	158
<i>Rc</i>	qPC7	GTGGACCTACAGCCTCCT	CTGCATCACCGTCGACTT	431

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm khảo sát các dòng lúa cẩm mới được tiến hành trong vụ mùa 2022 tại Khu thí nghiệm đồng ruộng của Viện Nghiên cứu và Phát triển Cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Gia Lâm, Hà Nội. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khảo sát tập đoàn, tuần tự không nhắc lại (Gomez & Gomez, 1984) mỗi dòng cấy với diện tích ô 10m². Mật độ cấy 35 khóm/m², cấy 1 dảnh/khóm, bón phân với lượng 80kg N + 80kg P₂O₅ + 80kg K₂O cho 1ha. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp đánh giá theo thang điểm của Viện nghiên cứu Lúa quốc tế (IRRI, 2013).

- Đặc điểm nông sinh học: Thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chiều dài lá đồng, chiều rộng lá đồng, số lá trên thân chính, chiều dài bông, chiều dài cổ bông, mật độ hạt trên bông.

- Khả năng chống chịu: Mức độ nhiễm bệnh sâu hại: cuốn lá, đục thân, rầy nâu; mức độ nhiễm bệnh hại: bạc lá, đạo ôn, khô vằn; khả năng chống đổ: độ cứng cây.

Đánh giá mùi thơm trên nội nhũ bằng KOH 1,7% ở nhiệt độ phòng theo phương pháp của Kibria & cs. (2008). Đánh giá chất lượng gạo, cơm: Phân tích tỷ lệ gạo lứt, tỷ lệ gạo nguyên, kích thước hạt gạo theo TCVN11888:2017; xác định hàm lượng amylose theo TCVN5716-2:2008; đánh giá chất lượng cơm theo TCVN8373:2010. Đo hàm lượng anthocyanin theo phương pháp pH vi sai (Giusti & Wrolstad, 2001).

Xác định bốn gen: *Kala1*, *Kala3*, *Kala4* và *Rc*

- Tách chiết ADN được thực hiện theo quy trình CTAB có cải tiến (De la Cruz, 1997)

- Phản ứng PCR: Các mẫu được thực hiện với 4 marker SSR (McCouch & cs., 2002; Gu & cs., 2011) (Bảng 2). Thành phần phản ứng PCR

(tổng thể tích/1 phản ứng 25μl bao gồm: 10mM tris-HCl với pH 8,2 ở 25°C; 50mM KCl; 1,5mM MgCl₂; 0,01% gelatin; 200μl dNTPs, 60 ng/μl primer, và 1 unit Taq ADN.

- Chu trình nhiệt cho PCR: Biến tính ở 95°C trong 5 phút; sau đó 35 chu kỳ ở 95°C trong 30 giây; ở 55°C trong 1 phút; ở 72°C trong 7 phút.

- Điện di: sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2%, 100V trong 60 phút và nhuộm Ethidium Bromide 0,5 μg/ml sau đó quan sát bằng máy soi gel UV.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được tính toán và xử lý thống kê mô tả bằng chương trình Excel 2021.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số đặc điểm nông sinh học của các dòng lúa cẩm mới

Kết quả đánh giá trong vụ mùa 2022 cho thấy:

Các dòng lúa cẩm có thời gian sinh trưởng (TGST) biến động từ 112 ngày (dòng LC2-19) đến 128 ngày (dòng LC7-12) thuộc nhóm ngắn và trung ngày trong vụ mùa. Đối chứng ĐH6 có TGST 118 ngày.

Đối với tính trạng chiều cao cây, có 7 dòng lúa cẩm và đối chứng ĐH6 (98,2cm) thuộc nhóm thấp cây, 12 dòng lúa cẩm thuộc nhóm có chiều cao cây trung bình (110,3-125,8cm) và 1 dòng thuộc nhóm cao cây LC5-02 (142,5cm).

Chiều dài lá đồng biến động từ 24,7cm (LC4-28) đến 53,3 cm (LC5-03), trong đó 10 dòng: LC4-28; LC9-26; LC8-14; LC6-08; LC1-01; LC2-21; LC6-09; LC3-22; LC9-25; LC10-30 có lá đồng dài hơn lá đồng giống đối

chứng ĐH6 (35,5cm). Chiều rộng lá đòng của các đòng lúa cấy biến động từ 1,8cm (LC4-28) đến 2,7cm (LC5-02), trong đó có 13 đòng chiều rộng lá đòng rộng hơn giống đối chứng ĐH6 chiếm 65%. Số lá của các đòng lúa cấy biến động từ 12,1 lá (LC2-19) đến 16,1 lá (LC4-28) trong đó đối chứng ĐH6 có 14,7 lá. Chiều dài bông của các đòng lúa nếp cấy thuộc loại trung bình, biến động từ 22,7cm (LC2-21) đến 26,5cm (LC7-12) và giống đối chứng ĐH6 có chiều dài bông ngắn nhất chỉ có 22,3cm.

Chiều dài cổ bông của các đòng lúa cấy biến động từ 0,6cm (LC2-21) đến 8,2cm (LC10-30). Mật độ hạt trên bông là chỉ tiêu phản ánh mức độ xếp hạt trên bông. Giá trị mật độ xếp hạt càng lớn, hạt xếp càng xít, tạo ra cấu trúc bông lúa to, hạt chắc lá gọn - (cấu trúc bông

compact) (Panda & cs., 2015). Kết quả đánh giá cho thấy: Mật độ hạt trên bông của các đòng LC5-02; LC6-09; LC2-18; LC2-19; LC3-22; LC3-24; LC9-25; LC10-30 đều cao hơn so với giống đối chứng ĐH6 (6,9 hạt/cm).

3.2. Mức độ nhiễm sâu bệnh trong điều kiện tự nhiên và độ cứng cây của các đòng lúa nếp cấy mới

Trong vụ mùa 2022, các đòng lúa nếp cấy và giống đối chứng ĐH6 đều nhiễm rất nhẹ (điểm 1) đến nhẹ (điểm 3) các loại sâu bệnh như rầy nâu, đục thân, cuốn lá, khô vằn, bệnh đạo ôn và bệnh bạc lá. Sâu cuốn lá xuất hiện trong giai đoạn từ đẻ nhánh đến trổ, gây hại nhẹ (điểm 3) ở các đòng LC6-09; LC9-26; LC4-28.

Bảng 3. Một số đặc điểm nông sinh học của các đòng lúa cấy mới trong vụ Mùa 2022 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài lá đòng (cm)	Chiều rộng lá đòng (cm)	Số lá trên thân chính	Chiều dài bông (cm)	Chiều dài cổ bông (cm)	Mật độ hạt trên bông (hạt/cm)
LC1-01	116	114,9	32,5	2,2	14,5	22,9	1,1	6,3
LC5-02	119	142,5	46,6	2,7	12,3	25,0	3,7	7,5
LC5-03	119	123,1	53,3	2,3	14,2	24,5	1,8	6,8
LC6-08	122	109,6	32,1	1,9	15,2	24,9	0,9	6,4
LC6-09	117	117,7	32,9	2,5	14,1	24,0	3,5	7,2
LC7-12	118	115,3	46,7	1,9	13,1	26,5	2,4	5,8
LC7-13	121	121,4	39,4	1,9	15,8	23,1	2,7	6,1
LC8-14	115	102,8	32,0	2,3	13,5	24,1	5,4	7,3
LC1-17	113	102,7	45,7	2,0	13,7	24,9	3,3	6,0
LC2-18	124	125,8	38,7	2,4	14,4	25,7	3,2	8,0
LC2-19	112	112,8	46,0	2,1	12,1	23,9	2,2	7,9
LC2-20	121	113,5	36,7	2,2	13,1	26,5	3,5	6,5
LC2-21	123	114,7	32,7	2,0	14,3	22,7	0,6	6,2
LC3-22	114	102,4	33,2	2,2	13,6	23,7	4,3	7,6
LC3-24	122	112,5	38,1	2,0	13,9	25,4	5,2	7,4
LC9-25	119	111,4	34,3	2,1	14,2	24,5	3,6	7,2
LC9-26	117	106,0	31,2	2,1	14,1	24,2	2,0	6,0
LC4-28	122	106,8	24,7	1,8	16,1	22,8	2,3	6,0
LC10-30	123	107,1	34,7	2,1	15,1	25,3	8,2	7,3
LC4-32	124	110,3	37,9	2,1	13,8	24,9	3,0	4,9
ĐH6 (Đ/c)	118	98,2	35,3	2,1	14,7	22,3	2,2	6,9

Sâu đục thân và rầy nâu xuất hiện giai đoạn trước và trong khi trổ nhưng hầu như không gây hại cho các dòng lúa nếp cẩm. Đối với bệnh bạc lá (bệnh nguy hiểm cho lúa trong điều kiện vụ mùa ở các tỉnh phía Bắc), hầu hết các dòng nhiễm ở mức nhẹ (điểm 3). Nhìn chung, các dòng lúa nếp cẩm mới có mức độ nhiễm sâu bệnh tương đương với giống đối chứng ĐH6. Khả năng chống đổ của các dòng, giống thể hiện qua chỉ tiêu độ cứng cây, kết quả đánh giá cho thấy 5/20 dòng có độ cứng cây trung bình (điểm 5), các dòng còn lại đều có độ cứng cây tốt (điểm 1), thể hiện cụ thể tại bảng 4.

Kết quả đánh giá các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng lúa nếp cẩm được trình bày tại bảng 4 cho thấy: Số bông/khóm của các dòng biến động khá lớn từ 7,1 bông/khóm (LC1-01) đến 11,8 bông/khóm (LC6-08), trong đó giống đối chứng ĐH6 là 8,0 bông/khóm. Số hạt/bông của các dòng biến động từ 123 hạt/bông (LC4-32) đến 198,4 hạt/bông (LC2-18), giống đối

chứng ĐH6 có số hạt trên bông là 151,2 hạt/bông. Tỷ lệ hạt chắc các dòng biến động lớn từ 55,0% (LC10-30) đến 96,7% (LC4-28), trong đó giống đối chứng ĐH6 có tỷ lệ hạt chắc là 86,5%, thấp hơn so với các dòng LC1-01; LC2-19; LC2-21; LC4-28. Khối lượng 1.000 hạt của các dòng biến động từ 19,8g (LC2-20) đến 31,8g (LC10-30), giống ĐH6 có khối lượng 1.000 hạt là 23,5g. Năng suất lý thuyết của các dòng biến động từ 5,6 tấn/ha (LC1-17) đến 10,6 tấn/ha (LC6-08). Giống đối chứng ĐH6 có năng suất lý thuyết là 7,9 tấn/ha, thấp hơn các dòng LC1-02; LC5-03; LC6-08; LC6-09; LC7-12; LC7-13; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC9-25; LC4-28; LC4-32. Năng suất thực thu của các dòng biến động từ 3,56 tấn/ha (LC1-17) đến 7,84 tấn/ha (LC2-18), trong đó giống đối chứng ĐH6 có năng suất thực thu là 5,96 tấn/ha. Các dòng có năng suất thực thu cao hơn đối chứng là LC1-01; LC5-03; LC6-08; LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC9-25; LC9-26; LC4-28; LC10-30; LC4-32.

Bảng 4. Mức độ nhiễm sâu bệnh và độ cứng cây của các dòng lúa nếp cẩm mới trong vụ mùa 2022 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Sâu hại (điểm)			Bệnh hại (điểm)			Độ cứng cây (điểm)
	Cuốn lá	Đục thân	Rầy nâu	Bạc lá	Đạo ôn	Khô vằn	
LC1-01	1	1	1	1	1	1	1
LC5-02	1	1	1	3	1	1	1
LC5-03	1	1	1	3	1	1	1
LC6-08	1	1	1	3	1	1	5
LC6-09	3	1	1	3	1	1	1
LC7-12	1	1	1	1	1	1	1
LC7-13	1	1	1	3	1	1	1
LC8-14	1	1	1	1	1	1	1
LC1-17	1	1	1	3	1	1	5
LC2-18	1	1	1	1	1	1	1
LC2-19	1	1	1	1	1	1	1
LC2-20	1	1	1	3	1	1	5
LC2-21	1	1	1	1	1	1	1
LC3-22	1	1	1	3	1	1	1
LC3-24	1	1	1	3	1	1	1
LC9-25	1	1	1	1	1	1	1
LC9-26	3	1	1	3	1	1	1
LC4-28	3	1	1	3	1	1	1
LC10-30	1	1	1	3	1	1	5
LC4-32	1	1	1	3	1	1	5
ĐH6 (Đ/C)	1	1	1	3	1	1	1

**Bảng 5. Yếu tố cấu thành năng suất và năng suất
của các dòng, giống lúa cấy trong vụ Mùa 2022 tại Gia Lâm, Hà Nội**

Dòng/Giống	Số bông/khóm	Số hạt/bông	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Khối lượng 1.000 hạt (g)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
LC1-01	7,1	153,0	131	91,4	26,9	8,9	6,81
LC5-02	8,3	167,7	124	74,9	24,8	7,8	5,88
LC5-03	8,4	160,8	129	80,7	25,3	9,0	6,61
LC6-08	11,8	161,6	119	73,8	21,9	10,6	7,35
LC6-09	10,3	163,5	113	69,9	23,0	8,4	5,78
LC7-12	10,0	138,4	118	86,3	25,6	9,8	7,23
LC7-13	9,3	144,7	123	86,1	26,0	9,6	5,36
LC8-14	9,3	162,4	128,4	80,7	27,0	9,4	6,40
LC1-17	8,7	139,3	102	74,3	20,7	5,6	3,56
LC2-18	8,9	198,4	165,7	84,3	22,1	10,3	7,84
LC2-19	8,4	177,2	156	88,7	21,4	9,1	6,13
LC2-20	8,2	156,5	124	80,3	19,8	6,1	5,75
LC2-21	9,1	137,6	128	93,3	20,3	8,1	6,11
LC3-22	8,2	170,3	131	78,0	21,4	6,7	5,90
LC3-24	10,0	172,2	125	73,9	20,1	7,4	5,91
LC9-25	11,6	159,2	131	82,7	20,1	10,4	6,23
LC9-26	8,3	138,0	106	77,5	22,2	6,3	6,29
LC4-28	9,0	144,3	138	96,7	23,7	9,5	6,49
LC10-30	8,8	169,1	92	55,0	31,8	7,8	6,50
LC4-32	9,8	123,0	98	80,1	29,8	9,7	6,82
ĐH6 (đ/c)	8,0	151,2	129,5	86,5	23,5	7,9	5,96

3.3. Một số chỉ tiêu chất lượng của các dòng lúa cấy mới

Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng gạo của các dòng lúa cấy mới được trình bày ở bảng 6: Chiều dài hạt gạo của các dòng lúa cấy biến động từ 6,0mm (LC2-19) đến 7,4mm (LC1-17), giống đối chứng ĐH6 có hạt gạo dài 6,0mm, ngắn nhất so với các dòng trong thí nghiệm. Các dòng LC1-01; LC6-09; LC2-18; LC7-12; LC2-18; LC2-19; LC9-25; LC2-21; LC9-25 và LC4-32 có chiều dài hạt gạo thuộc nhóm trung bình; các dòng còn lại thuộc nhóm hạt gạo dài. Tỷ lệ chiều dài/chiều rộng của các dòng biến động từ 2,2 (LC9-25) đến 4,0 (LC9-26), thuộc nhóm có hình dạng hạt gạo thon đến thon dài (IRRI, 2013). Các dòng LC6-08; LC1-17; LC2-20; LC3-22; LC3-24; LC9-26; LC4-28; LC10-30 thuộc nhóm hạt gạo thon dài; giống đối chứng ĐH6 và các dòng còn lại có hình

dạng hạt gạo thuộc nhóm thon. Màu sắc vỏ cám của các dòng lúa cấy triển vọng trong thí nghiệm được đánh giá trong vụ mùa 2022 thuộc 3 nhóm: nhóm vỏ cám màu tím nhạt (LC5-03; LC6-08; LC1-17; LC2-20; LC4-28); nhóm vỏ cám màu tím (LC1-01; LC5-02; LC7-12; LC7-13; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC3-22; LC3-24; LC9-25; LC10-30); nhóm vỏ cám màu nâu nhạt (LC6-09; LC9-26 và LC4-32).

Đối với các giống lúa cấy, người sản xuất quan tâm đến tỷ lệ gạo xay (gạo lật) vì giá trị sử dụng liên quan đến vỏ cám màu tím (chứa anthocyanin). Tỷ lệ gạo xay của các dòng, giống biến động từ 73,4% (LC7-13) đến 80,9% (LC2-21), giống đối chứng ĐH6 có tỷ lệ gạo xay 79,0%, các dòng LC1-01; LC5-02; LC6-08; LC6-09; LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC9-25; LC4-32 đều có tỷ lệ gạo xay cao hơn giống đối chứng.

Đặc điểm nông sinh học và kiểm tra sự hiện diện gen sinh tổng hợp anthocyanin của một số dòng lúa nếp cẩm mới

Bảng 6. Một số chỉ tiêu chất lượng gạo của dòng lúa cẩm mới trong vụ mùa 2022 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Chiều dài hạt gạo xay (mm)	Tỉ lệ dài/rộng (D/R)	Xếp loại dạng hạt	Tỷ lệ gạo xay (%)	Màu sắc vỏ cám	Mùi thơm nội nhũ (điểm)
LC1-01	6,6	2,5	Trung bình	80,3	Tím	3
LC5-02	7,1	2,6	Trung bình	80,0	Tím	3
LC5-03	6,7	2,7	Trung bình	79,4	Tím nhạt	1
LC6-08	6,6	3,5	Thon dài	79,8	Tím nhạt	1
LC6-09	6,4	2,9	Trung bình	78,5	Nâu nhạt	2
LC7-12	6,8	2,7	Trung bình	80,4	Tím	3
LC7-13	6,7	2,8	Trung bình	73,4	Tím	3
LC8-14	6,7	3,0	Trung bình	80,0	Tím	2
LC1-17	7,4	3,9	Thon dài	76,0	Tím nhạt	1
LC2-18	6,1	2,8	Trung bình	80,5	Tím	1
LC2-19	6,5	3,0	Trung bình	80,0	Tím	1
LC2-20	7,0	3,9	Thon dài	76,0	Tím nhạt	1
LC2-21	6,7	3,5	Thon dài	80,9	Tím	1
LC3-22	6,7	3,5	Thon dài	77,8	Tím	1
LC3-24	6,7	3,5	Thon dài	75,8	Tím	1
LC9-25	6,4	3,6	Thon dài	80,7	Tím	1
LC9-26	6,8	4,0	Thon dài	75,1	Nâu nhạt	1
LC4-28	6,7	3,6	Thon dài	74,9	Tím nhạt	1
LC10-30	6,7	3,5	Thon dài	73,8	Tím	1
LC4-32	6,4	2,8	Trung bình	79,5	Nâu nhạt	1
ĐH6 (đ/c)	6,0	2,6	Trung bình	80,0	Tím	1

Ghi chú: Mùi thơm nội nhũ: điểm 1: Không thơm; điểm 2: Thơm nhẹ; điểm 3: Thơm.

Bảng 7. Hàm lượng amylose và anthocyanin của các dòng, giống lúa cẩm trong vụ Mùa 2022 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng/giống	Độ ẩm (%)	Hàm lượng Amylose (% CK)	Hàm lượng Anthocyanin (mg/100g gạo)
LC1-01	10,45	3,96	653,1
LC7-12	10,74	3,72	528,9
LC8-14	10,87	4,77	632,5
LC2-18	11,02	4,22	252,3
LC2-19	10,80	4,16	455,1
LC2-21	11,00	4,53	438,3
LC9-25	11,08	4,42	284,7
ĐH6 (Đ/C)	10,97	4,28	305,4

Ghi chú: Phân tích tại Phòng Phân tích kiểm định chất lượng sản phẩm cây lương thực và cây thực phẩm (ISO/IEC 17025:2017).

Dựa trên kết quả đánh giá các đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu và chất lượng gạo đã chọn được 07 (bảy) dòng lúa cẩm:

LC1-01; LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC9-12. Các dòng có thời gian sinh trưởng 115-124 ngày (vụ mùa 2022), năng suất

thực thu từ 6,11-7,48 tấn/ha, chiều dài hạt gạo 6,0-7,4mm, tỷ lệ gạo xay 73,4-80,9% đồng thời các dòng hàm lượng anthocyanin 252,3 mg/100g đến 653,1 mg/100g gạo, vỏ cám màu tím. Các dòng triển vọng được chọn là các dòng có năng suất đều cao hơn so với giống đối chứng ĐH6, đây là các dòng đầy triển vọng để đưa vào tiếp tục đánh giá nhờ năng suất thực thu vượt trội, khả năng chống chịu tốt và có hàm lượng anthocyanin ở mức từ trung bình đến cao.

3.4. Kết quả xác định gen liên quan đến hàm lượng anthocyanin của các dòng lúa cấy

Sử dụng chỉ thị RM7405 đặc hiệu cho gen *Kala1*, kích thước dự đoán là 109bp. Sau khi chạy điện di kích thước sản phẩm PCR tạo ra khoảng 109bp các dải rõ ràng và sáng, tương đồng với kích thước dự kiến. Các băng đều xuất hiện rõ ràng trên bảng điện di ở tất cả các giếng mẫu giống ĐH6 (đối chứng) và 7 dòng lúa cấy triển vọng (Hình 1).

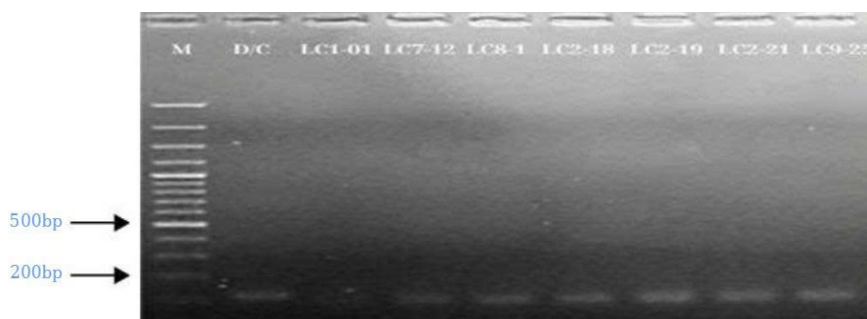
Đối với gen *Kala4*, sử dụng mồi RM7210 tạo ra đoạn kích thước dự kiến 158bp. Trong hình 3, điện di sản phẩm PCR cho thấy: mẫu giống đối

chứng có 3 dải quan sát trong đó có 1 dải kích thước tương ứng 158bp; Các mẫu LC1-01, LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21; LC9-25 cho một dải sáng rõ ràng với kích thước tương ứng 158bp. Như vậy, tất cả 7 dòng lúa cấy triển vọng và giống đối chứng ĐH6 đều mang gen *Kala4*.

Sử dụng chỉ thị RM3400 đặc hiệu cho gen *Kala3*, đoạn mồi RM3400 tạo ra một đoạn kích thước là 184bp. Kết quả thu được cho thấy giống đối chứng ĐH6 và 7 dòng lúa cấy triển vọng đều có duy nhất một dải quan sát kích thước tương ứng 184bp (Hình 2). Như vậy cho thấy tất cả 7 dòng lúa cấy triển vọng và giống đối chứng ĐH6 đều mang gen *Kala3*.

Sử dụng chỉ thị Qpc7 xác định sự có mặt của gen Rc tại kích thước band 431bp. Khi chạy điện di sản phẩm PCR xuất hiện một dải band sáng, rõ ràng kích thước nằm trong khoảng xung quang từ 430bp đến 500bp trên mẫu giống đối chứng ĐH6 và 7 dòng lúa cấy triển vọng (Hình 4).

Từ kết quả đánh giá một số đặc điểm nông sinh học, kết quả phân tích một số chỉ tiêu chất lượng cho thấy: 20 dòng đánh giá trong thí nghiệm vỏ hạt đều có màu tím, tím nhạt và nâu nhạt.



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala1* bằng chỉ thị RM7405 trên các dòng lúa cấy nghiên cứu



Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala3* bằng chỉ thị RM3400 trên các dòng lúa cấy nghiên cứu



Hình 3. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Kala4* bằng chỉ thị RM7210 trên các dòng lúa cẩm nghiên cứu



Hình 4. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *Rc* bằng chỉ thị qPC7 trên các dòng lúa cẩm nghiên cứu

Các loại sắc tố của vỏ hạt này là kết quả sự tổng hợp anthocyanin, trong khi vỏ đỏ là do proanthocyanidin (Gunaratne & cs., 2013; Samyyor & cs., 2017). Bằng cách đo anthocyanin bằng phương pháp phân tích pH vi sai của 7 dòng triển vọng được lựa chọn trong 20 dòng đánh giá, hàm lượng anthocyanin cao nhất là dòng LC1-01 đạt 653,1 mg/100g chất khô. Anthocyanin chịu trách nhiệm cho sắc tố tím, chiếm phần lớn flavonoid có trong gạo tím.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, 7 dòng lúa cẩm triển vọng có vỏ cám màu tím đều mang đủ 3 gen *Kala1*, *Kala3* và *Kala4* phù hợp với kết quả công bố trong nghiên cứu của Maeda & cs. (2014).

4. KẾT LUẬN

Hai mươi dòng lúa cẩm mới trong vụ mùa 2022 tại Hà Nội có thời gian sinh trưởng 115-124 ngày; năng suất thực thu 3,56-7,84 tấn/ha; chiều cao cây 98,2-142,5cm; nhiễm nhẹ sâu bệnh; cứng cây; chiều dài hạt gạo 6,1-7,4mm; tỷ lệ gạo xay 73,4-80,9%.

Từ kết quả đánh giá đặc điểm sinh trưởng phát triển, năng suất và một số chỉ tiêu chất lượng

của 20 dòng lúa cẩm nghiên cứu đã chọn được 07 dòng lúa nếp cẩm triển vọng LC1-01; LC7-12; LC8-14; LC2-18; LC2-19; LC2-21 và LC9-25 có thời gian sinh trưởng 115-124 ngày (vụ mùa 2022), năng suất thực thu từ 6,11-7,48 tấn/ha, chiều dài hạt gạo 6,0-7,4mm, tỷ lệ gạo xay 73,4-80,9%, hàm lượng anthocyanin 252,3 mg/100g đến 653,1 mg/100g gạo, vỏ cám màu tím và đều mang cả 4 gen (*Kala1*, *Kala3*, *Kala4* và *Rc*).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Khoa học và Công nghệ (2008). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV5716-2: 2008. Gạo - xác định hàm lượng amylose.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2017). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV111888: 2017. Gạo trắng - xác định tỉ lệ trắng trong, trắng bạc và độ trắng bạc.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV8373: 2010. Gạo trắng - đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm.
- Cục Trồng trọt (2019). Báo cáo sơ kết sản xuất vụ hè thu, vụ mùa 2019, triển khai kế hoạch sản xuất vụ đông xuân 2019-2020 tại các tỉnh phía Bắc. Hội nghị tổ chức ngày 22/10/2019 tại Hà Nam.

- De la Cruz M., Ramírez F. & Hernández H. (1997). DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Mol. Biol. Rep.* 15: 319-325.
- Đoàn Thanh Quỳnh, Đàm Văn Hưng, Nguyễn Thị Hào, Vũ Thị Bích Hạnh, Trần Văn Quang & Vũ Văn Liết (2014), Kết quả tuyển chọn và khảo nghiệm giống lúa nếp cẩm mới ĐH6. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Chuyên đề giống cây trồng vật nuôi.* (2): 81-87.
- Dittgen C.L., Hoffmann J.F., Chaves F.C., Rombaldi C.V., Filho J.M.C., Vanier & N.L. (2019). Discrimination of genotype and geographical origin of black rice grown in Brazil by LC-MS analysis of phenolics. *Food Chem.* 288: 297-305.
- Furukawa T., Maekawa M., Oki T., Suda I., Iida S. & Shimada H. (2007). The *Rc* and *Rd* genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. *The Plant Journal.* 49: 91-102.
- Ghasemzadeh A., Karbalaii M.T., Jaafar H.Z.E. & Rahmat A (2018). Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chem. Cent. J.* 12: 17.
- Giusti M.M. & Wrolstad R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Smith D, Sporns P editors. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* John Wiley & Sons, Inc; Hoboken, NJ, USA.
- Gomez Kwanchai A. & Arturo A. Gomez (1984). *Statistical procedures for agricultural research*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- Gunaratne A., Wu K., Li D., Bentota A., Corke H. & Cai Y.Z. (2013) Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. *Food chem.* 138(2-3): 1153-1161.
- Gu X.Y., Foley M.E., horvath D.P., Anderson J.V., Feng J., Zhang J., Mowry C.R., Ye H., Suttle J.C., Kadowaki K. & Chen Z. (2011) Association between seed dormancy and pericarp color is controlled by a pleiotropic gene that regulates abscisic acid and flavonoid syn-thesis in weedy red rice. *Genetics.* 189: 1515-1524.
- IRRI (2013). *Standard Evaluation System (SES) for Rice*, International Rice Research Institute P.O. Box 933, 1099 Mainal, Philippines.
- Kabria K., Islam M.M. & Begum S.N. (2008), Screening of aromatic rice lines by phenotypic and molecular markers. *Bangladesh J. Bot.* 37(2): 141-147.
- Kristantini Taryono, Panjisakti Basunanda, Rudi Hari, Murti Supriyanta, Setyorini Widyayanti & Sutarno (2012). Morphological of genetic relationships among black rice landraces from yogyakarta and surrounding areas. *ARNP Journal of Agricultural and Biological Science.* 7(12): 982-989.
- Madhurima (2024). Black rice: an under utilized super food. *Just agriculture*, January. Retrieved from <https://justagriculture.in/files/magazine/2024/january/003%20Black%20Rice.pdf>. on Jan 20, 2025.
- Maeda H., Yamaguchi T., Omoteno M., Takarada T., Fujita K., Murata K. & Ebitani T. (2014). Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. *Breed Sci.* 64: 134-141.
- McCouch Teytelman L. & Xu Y. (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) (supplement). *DNA Res.* pp. 257-279.
- Melini V., Panfili G., Fratianni A. & Acquistucci R. (2019). Bioactive compounds in rice on Italian market: Pigmented varieties as a source of carotenoids, total phenolic compounds and anthocyanins, before and after cooking. *Food Chem.* 277: 119-127.
- Pal S., Bagchi T.B., Dhali K., Kar A., Sanghamitra P., Sarkar S., Samaddar M. & Majumder J. (2019). Evaluation of sensory, physicochemical properties and consumer preference of black rice and their products. *J. Food Sci. Technol.* 56: 1484-1494.
- Promuthai C., Rashid A., Ram H., Zou C., Guilherme L.R.G., Corguinha A.P.B., Guo S., Kaur C., Naem A., Yamuangmorn S., Ashraf M.Y., Sohu V.S., Zhang Y., Martins F.A.D., Jumrus S., Tutus Y., Yazici M.A. & Cakmak I. (2020). Simultaneous Biofortification of Rice With Zinc, Iodine, Iron and Selenium Through Foliar Treatment of a Micronutrient Cocktail in Five Countries. *Front. Plant Sci.* 11: 589835. doi: 10.3389/fpls.2020.58983.
- Rahmawati A., Yuniastuti E. & Nandariyah (2020). Increased anthocyanin content in seven furrows of Cempo Ireng black rice with mutation induction. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 466: 012010.
- Rahman M.M., Lee K.E., Matin E.S., Lee M.N., Yun D.S., Kim J.S. & Kang S.G. (2013). the genetic constitutions of complementary genes *Pp* and *Pb* determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. *J plant Biol.* 56: 24-31
- Samyor D., Das A.B. & Deka S.C. (2017). Pigmented rice a potential source of bioactive compounds: a review. *Int J Food Sci Technol.* 52:1073-1081.
- Sholikhah U., Parjanto P., Handoyo T. & Yunus A. (2019). Genetic diversity of black and aromatic rice cultivar (*Oryza sativa* L.) from various regions in Indonesia using random amplified polymorphic DNA markers (RAPD). *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 9: 1046-1051.
- Tumanian N., Mukhina Z., Esaulova L., Papulova E., Savenko E. & Garkusha S. (2020). Colored rice varieties of Russian breeding in terms of grain quality for development of functional rice varieties. *E3S Web Conf.*, 224, 04021.
- Veni B.K. (2020). Nutrition profiles of different colored rice: A review. *J. Pharmacogn. Phytochem. SP2:* 303-305.