

## SỬ DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ XÁC ĐỊNH CÁC GIỐNG/DÒNG LÚA ĐẶC SẢN CÓ HÀM LƯỢNG AMYLOSE THẤP VÀ PROTEIN CAO

Lê Thị Kim Loan<sup>1</sup>, Trần Lê Vinh<sup>1</sup>,  
Lê Hữu Hải<sup>1</sup> và Nguyễn Minh Thủy<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Lúa có nhiều ưu điểm để được lựa chọn thay thế bột mì trong sản xuất bánh mì không gluten. Hai tính trạng quan trọng để lựa chọn giống lúa thích hợp sản xuất bánh mì không gluten là amylose và protein. Sử dụng các chỉ thị hữu hiệu sẽ phát hiện nhanh những giống lúa có hàm lượng amylose thấp, protein cao. Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ thị R190 khuếch đại một đoạn ADN 100 bp, chỉ thị R21 khuếch đại một đoạn ADN 157 bp đã nhận dạng ra hàm lượng amylose và protein ở các mức khác nhau. Kết hợp việc đánh giá kiểu hình với chỉ thị phân tử đã xác định được giống lúa Cẩm Cai Lậy, Hồng ngọc Óc Eo và D13 có hàm lượng amylose thấp và protein cao. Các giống này bước đầu được chọn cho tiến trình nghiên cứu sản xuất bánh mì không gluten ở các nghiên cứu tiếp theo.

**Từ khóa:** Lúa, chỉ thị, kiểu hình, amylose, protein

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là lương thực chính cho hơn nửa dân số thế giới, cung cấp khoảng 55 - 80% tổng lượng calo cho người dân ở Nam Á, Đông Nam Á và Mỹ Latinh (Farooq *et al.*, 2009). Về mặt dinh dưỡng thì gạo tốt hơn so với các loại ngũ cốc chứa tinh bột. Amylose và amylopectin là hai thành phần chính trong tinh bột. Hàm lượng amylose được

xem là tiêu chí quan trọng nhất ảnh hưởng đến chất lượng của gạo trong quá trình nấu và chế biến (Juliano, 1971). Hàm lượng amylose có ảnh hưởng đến độ dẻo, sự kết dính, màu sắc và độ bóng của hạt khi nấu chín. Đồng thời amylose cũng là một yếu tố quan trọng quyết định đến giá trị của hạt gạo trên thị trường (Larkin *et al.*, 2003). Trên cơ sở hàm lượng amylose, gạo được phân loại thành 4 nhóm: gạo nếp

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

(0 - 5% amylose), amylose thấp (< 20% amylose), amylose trung bình (21 - 25% amylose) và amylose cao (> 25% amylose) (Kongseree and Juliano, 1972). Ngoài việc cung cấp năng lượng chính là tinh bột thì trong gạo còn chứa nhiều dưỡng chất thiết yếu khác như: protein, acid amin tự do, vitamin nhóm B, các chất khoáng, chất xơ. So với protein của các hạt hòa thảo khác, protein của lúa được xem là hoàn thiện. Hàm lượng protein trong gạo càng cao thì phẩm chất hạt càng ngon, giá trị dinh dưỡng càng nhiều. Hàm lượng protein trong gạo chỉ chiếm khoảng 7,4%, nhưng đây lại là nguồn dưỡng chất rất quan trọng do protein trong gạo chứa nhiều acid amin thiết yếu như histidine, leucine, tryptophan,... (Hà Huy Khôi và Từ Giấy, 2009).

Bánh mì là một trong những sản phẩm thực phẩm được sử dụng phổ biến hiện nay ở các quốc gia khác nhau, trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, một số người không hấp thu được lượng gluten trong bột mì nếu sử dụng gluten sẽ dẫn đến tổn thương ruột gây ra bệnh celiac (Ludvigsson *et al.*, 2014). Do đó, nghiên cứu sản xuất bánh mì không gluten và tăng cường giá trị dinh dưỡng của sản phẩm là một chủ đề mới đang thu hút sự chú ý trên toàn thế giới. Trong các loại bột, bột gạo là loại ngũ cốc không gluten có nhiều ưu điểm để lựa chọn thay thế bột mì do bột gạo có hương thơm nhẹ, hàm lượng natri thấp, carbohydrate dễ tiêu hóa, protein tương đối cao và không gây dị ứng. Tùy theo loại gạo mà chất lượng

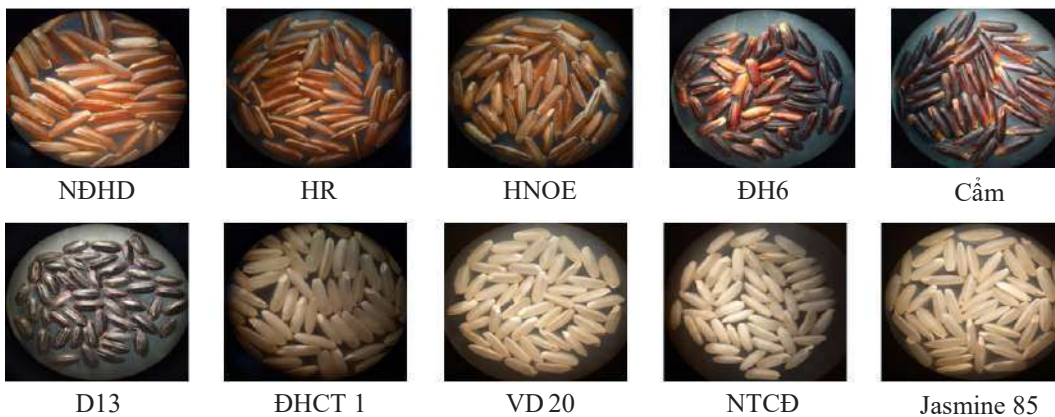
bánh mì được tạo thành khác nhau. Theo Aoki và cộng tác viên (2012), gạo có hàm lượng amylose cao (26%) và nhiệt độ hồ hóa cao làm cho bánh mì cứng gấp 1,3 - 1,4 lần. Ngược lại, bột gạo có hàm lượng amylose và nhiệt độ hồ hóa thấp sẽ cho bánh mì có chất lượng và thể tích tốt. Hàm lượng protein cao trong gạo góp phần nâng cao cấu trúc và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm.

Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền cho phép ứng dụng rộng rãi ADN vào chọn giống với độ chính xác cao và khách quan. Trong số các chỉ thị phân tử, SSR đã được chứng minh đặc biệt có giá trị và được sử dụng tốt trên lúa vì bộ gen lúa có trình tự lặp cao, locus đặc hiệu, dễ sử dụng và hàm lượng thông tin nhiều (Rathi and Sarma, 2012). Bằng việc phân tích kiểu gen kiểm soát các tính trạng, các nhà chọn giống có thể chọn được giống mang nhiều tính trạng mong muốn trong cùng thời điểm. Sử dụng chỉ thị kết hợp với đánh giá kiểu hình trong tuyển chọn giống lúa có hàm lượng amylose thấp, protein cao là công việc cần thực hiện nhằm tìm nguồn nguyên liệu tốt để tạo ra sản phẩm bánh mì không gluten có chất lượng cao.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 10 giống/dòng lúa (Hình 1).



**Hình 1.** Gạo lứt của các giống/dòng lúa thí nghiệm

Các giống lúa được thu thập từ: Hợp tác xã (HTX) Mỹ Thành, huyện Cai Lậy (Cẩm); Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long (Jasmine 85); Cần Đước, Long An (Nàng thơm Chợ Đào: NTCĐ), Trại giống Long An (Huyết Rồng: HR); ruộng lúa của nông dân Danh Văn Dưỡng (Hồng Ngọc Óc Eo: HNOE); HTX Định An, Đồng Tháp (Ngọc Đỏ Hương Dứa: NĐHD); ruộng lúa ở Thanh Hóa (Giống ĐH6), Phòng Nông nghiệp, huyện Gò Công Tây (VD20). Giống lúa ĐHCT 1 (Đại học Cần Thơ 1), D13 được

nghiên cứu từ Bộ môn Di truyền, Trường ĐHTC, Bộ môn Khoa học Cây trồng, Trường Đại học Tiền Giang (ĐHTG). Các giống lúa thu thập về được trồng trong nhà lưới trường ĐHTG trong cùng điều kiện để xác định một số tính trạng nông học cũng như đánh giá chất lượng của gạo.

Các cặp môi: Hai cặp môi (bảng 1) do hãng IDT, Mỹ thiết kế sản xuất và Công ty TNHH BCE Việt Nam nhập khẩu.

**Bảng 1.** Trình tự các cặp mồi sử dụng trong phản ứng PCR

Tên Chỉ thị	Trình tự Primer (5'-3')	Nguồn
RM190	F: 5'-TTTGTCTATCTCAAGACAC-3' R: 5'-TTGCAGATGTTCTTCCTGATG-3'	Fan <i>et al.</i> (2005); Kottearachchi <i>et al.</i> (2014)
RM21	F: 5'- ACAGTATTCGGTAGGCACGG-3' R: 5'- GCTCCATGAGGGTGGTAGAG-3'	Patil <i>et al.</i> (2014)

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Kjeldahl; định lượng amylose theo phương pháp của Juliano (1971). Xác định nhiệt trở hồ, độ bền gel theo phương pháp của IRRI (1996); Đánh giá hàm lượng amylose, protein bằng chỉ thị phân tử gồm các bước: ly trích ADN, thực hiện phản ứng PCR và phân tích bằng điện di trên gel agarose.

Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2016.

**2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4 năm 2018 đến tháng 4 năm 2019 tại trại thực nghiệm, phòng thí nghiệm của Khoa Nông nghiệp và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Tiền Giang và Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, trường Đại học Cần Thơ.

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Thời gian sinh trưởng của các giống/dòng lúa**

Thời gian sinh trưởng của một giống lúa chuyên biệt thường thay đổi theo vùng và mùa (Yoshida *et al.*, 1972). Kết quả cho thấy các giống lúa thí nghiệm có thời gian sinh trưởng từ cực ngắn đến trung mùa và có thể chia bộ giống/dòng lúa thành 4 nhóm:

nhóm cực ngắn ngày (A<sub>0</sub>): HR (88 ngày), Cẩm (85 ngày), D13 (88 ngày); nhóm ngắn ngày (A<sub>1</sub>): NĐHD (90 ngày), Jasmine 85 (90 ngày), HNOE (95 ngày), VD20 (95 ngày), ĐHCT 1 (102 ngày); nhóm tương đối ngắn ngày (A<sub>2</sub>): ĐH6 (110 ngày); nhóm trung mùa (B): NTCD (134 ngày).

**3.2. Năng suất của các giống/dòng lúa**

Năng suất lúa được hình thành và chịu ảnh hưởng trực tiếp bởi bốn yếu tố (số bông trên đơn vị diện tích, số hạt trên bông, tỷ lệ hạt chắc, trọng lượng 1.000 hạt) gọi là bốn thành phần năng suất. Các thành phần này có liên chặt chẽ với nhau. Bốn thành phần này càng tăng thì năng suất lúa càng cao, cho đến lúc bốn thành phần này đạt cân bằng tối hảo thì năng suất lúa sẽ tối đa (Nguyễn Ngọc Đệ, 2008). Kết quả ghi nhận được ở bảng 2 cho thấy năng suất thực tế của các giống/dòng lúa thí nghiệm biến thiên từ 103,88 - 267,68 (g/chậu). Giống có năng suất cao nhất là ĐHCT 1 (267,68 g/chậu) khác biệt có ý nghĩa so với các giống/dòng còn lại. Giống có năng suất thấp nhất là NTCD (103,88 g/chậu). Nguyên nhân ảnh hưởng đến năng suất thấp là do số hạt chắc trên bông thấp và thời gian sinh trưởng dài hơn so với các giống/dòng còn lại.

**Bảng 2.** Năng suất và các thành phần năng suất của các giống/dòng lúa thí nghiệm

Giống/dòng	Số bông/chậu	Số hạt chắc/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Trọng lượng 1.000 hạt (g)	Năng suất thực tế (g/chậu)
ĐHCT	100,67 <sup>ab</sup>	106,40 <sup>de</sup>	94,20 <sup>a</sup>	29,87 <sup>b</sup>	267,68 <sup>a</sup>
HNOE	74,67 <sup>f</sup>	114,60 <sup>cd</sup>	91,30 <sup>ab</sup>	25,97 <sup>d</sup>	194,69 <sup>c</sup>
HR	93,00 <sup>bc</sup>	96,27 <sup>ef</sup>	89,13 <sup>b</sup>	26,40 <sup>d</sup>	190,34 <sup>c</sup>
NTCD	67,67 <sup>f</sup>	87,67 <sup>f</sup>	82,39 <sup>c</sup>	19,66 <sup>e</sup>	103,88 <sup>f</sup>
NĐHD	75,33 <sup>ef</sup>	127,20 <sup>b</sup>	88,73 <sup>b</sup>	30,70 <sup>a</sup>	230,50 <sup>b</sup>
Jasmime 85	86,33 <sup>cd</sup>	117,67 <sup>bc</sup>	92,43 <sup>ab</sup>	29,13 <sup>c</sup>	222,12 <sup>b</sup>
Cẩm	109,33 <sup>a</sup>	96,40 <sup>ef</sup>	95,83 <sup>a</sup>	24,17 <sup>e</sup>	164,18 <sup>d</sup>
D13	77,00 <sup>def</sup>	159,40 <sup>a</sup>	94,93 <sup>a</sup>	20,33 <sup>f</sup>	143,52 <sup>e</sup>
ĐH6	78,00 <sup>def</sup>	128,33 <sup>b</sup>	94,41 <sup>a</sup>	24,33 <sup>e</sup>	200,91 <sup>c</sup>
VD20	85,33 <sup>cde</sup>	123,27 <sup>bc</sup>	87,60 <sup>b</sup>	20,90 <sup>f</sup>	160,14 <sup>d</sup>
F	**	**	**	**	**
CV (%)	6,66	5,36	2,97	1,47	3,54

Ghi chú: Các trung bình nghiệm thức trong cùng một cột mang các chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa; \*\* khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

**3.3. Phẩm chất hạt**

Chất lượng của lúa gạo không chỉ phụ thuộc vào đặc tính cơ bản của giống mà còn chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố khác như môi trường (khí hậu, thời tiết và đất trồng), chế độ canh tác (nước và phân bón), các điều kiện kỹ thuật trong thu hoạch, vận chuyển, làm khô, bảo quản, xay xát và chế biến (Nguyễn Văn Xuân và *ctv.*, 2010). Hạt lúa chỉ có thể đạt được chất lượng cao nhất khi được phát triển trong các điều kiện tối ưu trên.

**3.3.1. Độ trở hồ**

Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy độ trở hồ của các giống/dòng lúa thí nghiệm phần lớn thuộc nhóm thấp. Độ trở hồ của các giống/dòng đạt cấp biến thiên từ 2,3 - 7,0. Các giống có cấp độ trở hồ thuộc phân nhóm cao gồm: ĐHCT 1 (2,3), HNOE (3,4) có nhiệt trở hồ từ 75°C - 79°C, riêng giống NTCD (4,1) có cấp độ trở hồ trung bình tương ứng với nhiệt độ 70°C - 74°C. Những giống/dòng còn lại có cấp độ trở hồ thuộc phân nhóm thấp là: HR (6,6), NĐHD (6,9), Jasmine 85 (6,4), Cẩm (6,6), dòng D13 (6,9), ĐH6 (6,0), VD20 (7,0) có nhiệt độ trở hồ từ 55°C - 69°C.

**Bảng 3.** Độ trở hồ và độ bền gel của các giống/dòng lúa thí nghiệm

Giống/ dòng	Độ bền gel		Độ trở hồ	
	Độ dài gel (mm)	Phân nhóm	Cấp	Phân nhóm
ĐHCT 1	48,3 <sup>d</sup>	Trung bình	2,3 <sup>d</sup>	Cao
HNOE	57,7 <sup>cd</sup>	Trung bình	3,4 <sup>c</sup>	Cao
HR	68,7 <sup>bc</sup>	Mềm	6,6 <sup>ab</sup>	Thấp
NTCD	86,0 <sup>ab</sup>	Rất mềm	4,1 <sup>c</sup>	Trung bình
NĐHD	89,0 <sup>a</sup>	Rất mềm	6,9 <sup>ab</sup>	Thấp
Jasmine 85	77,3 <sup>ab</sup>	Mềm	6,4 <sup>ab</sup>	Thấp
Cẩm	71,0 <sup>abc</sup>	Mềm	6,6 <sup>ab</sup>	Thấp
D13	90,0 <sup>a</sup>	Rất mềm	7,0 <sup>ab</sup>	Thấp
ĐH6	80,3 <sup>ab</sup>	Rất mềm	6,0 <sup>b</sup>	Thấp
VD20	86,0 <sup>ab</sup>	Rất mềm	7,00 <sup>a</sup>	Thấp
F	**		**	
CV (%)	9,61		8,47	

*Ghi chú:* Các trung bình nghiệm thức trong cùng một cột mang các chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa; \*\* khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%.

**3.3.2. Độ bền thể gel**

Độ dài gel của các giống/dòng lúa thí nghiệm biến thiên trong khoảng từ 48,3 - 90,0 mm (đồng thời được thể hiện ở bảng 3). Trong đó, giống ĐHCT 1 (48,3 mm), HNOE (57,7 mm) có độ dài gel ngắn hơn các giống còn lại và đều thuộc phân nhóm trung bình; các giống HR (68,7 mm), Jasmine 85 (77,3 mm), Cẩm (71,0 mm) thuộc phân nhóm trung bình; các giống HR (68,7 mm), Jasmine 85 (77,3 mm), Cẩm (71,0 mm) thuộc phân nhóm mềm và nhóm giống NTCD (86,0 mm), NĐHD (89,0 mm), dòng D13 (90,0 mm), ĐH6 (80,3 mm), VD20 (86,0 mm) thuộc phân nhóm rất mềm theo thang đánh giá của IRRI (1996).

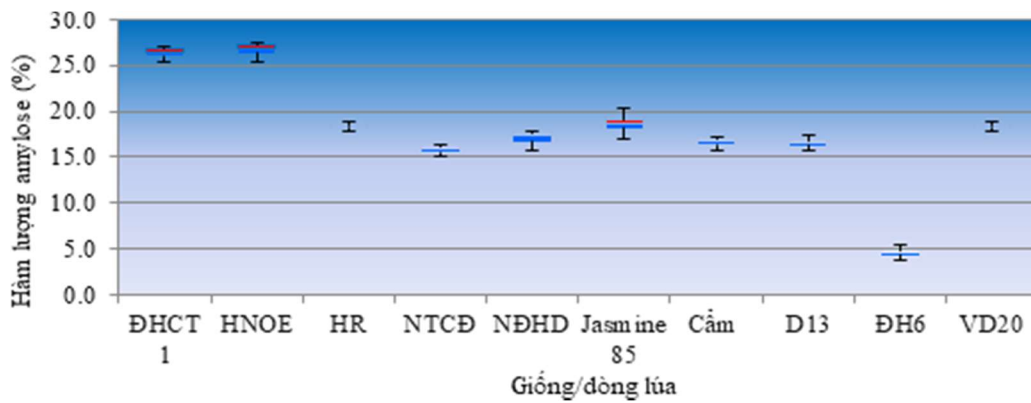
**3.3.3. Đánh giá hàm lượng amylose**

Hàm lượng amylose được coi là chỉ số quan trọng ảnh hưởng đến cấu trúc của sản phẩm làm từ gạo. Hàm lượng amylose phần lớn sẽ quyết định đến sự mềm hay cứng cơm. Gạo có hàm lượng amylose cao sẽ khô, nở, rời rạc và cứng khi để nguội. Ngược lại, gạo có hàm lượng amylose thấp khi nấu cơm mềm, dính và bóng láng (Kottarachchi *et al.*, 2014).

Hàm lượng amylose của 10 dòng/giống nghiên cứu được xác định và thể hiện ở hình 2. Kết quả cho thấy hàm lượng amylose của các giống biến động từ 4,6 - 26,6%. Dựa theo thang đánh giá hàm lượng amylose của Kongseree and Juliano (1972) có thể khẳng định 10 giống lúa nghiên cứu được chia ra làm 3 nhóm: nhóm cao (4), thấp (2) và rất thấp (1). Trong đó, hai giống có hàm lượng amylose cao nhất là lúa ĐHCT 1 (26,3%) và HNOE (26,6%). Nhóm này có hàm lượng amylose thuộc nhóm 4 (> 25% amylose) nên cơm khô, xốp và trở nên cứng khi để nguội. Các giống HR (18,3%), NTCD (15,8%), NĐHD (17,0%), Jasmine 85 (18,6%), Cẩm (16,6%), dòng D13 (16,5%), VD20 (18,3%) được xếp vào nhóm 2 có hàm lượng amylose thấp (gạo dẻo). Nhóm có đặc điểm cơm sau khi nấu chín là ướt và dẻo. Giống ĐH6 (4,6%) có hàm lượng amylose thuộc phân nhóm 1 (rất thấp), do đó cơm rất dẻo và dính (Hình 2).

Sử dụng chỉ thị phân tử RM 190 để xác định hàm lượng amylose của 10 giống lúa nghiên cứu. Chỉ thị RM 190 liên kết chặt với gen *ac6a* trên nhiễm sắc thể (NST) số 6. RM 190 phát hiện sự biến đổi hàm lượng amylose giữa các giống lúa khá hiệu quả. Chỉ thị phân tử này có thể chia hàm lượng amylose làm 2 loại: loại có hàm lượng amylose thấp và loại có hàm lượng amylose cao (Kottarachchi *et al.*, 2014) (Hình 3).





Hình 2. Đồ thị biểu diễn hàm lượng amylose (%) của 10 giống/dòng lúa nghiên cứu



Hình 3. Kết quả chạy điện di các mẫu lúa với chỉ thị RM 190

Ghi chú: Lane 1: thang chuẩn 100bp; lane 2: ĐHCT 1; lane 3: HNOE; lane 4: Cẩm; lane 5: NĐHD; lane 6: VD 20; lane 7: ĐH6; lane 8: HR; lane 9: Jasmine 85; lane 10: D13; lane 11: NTCD.

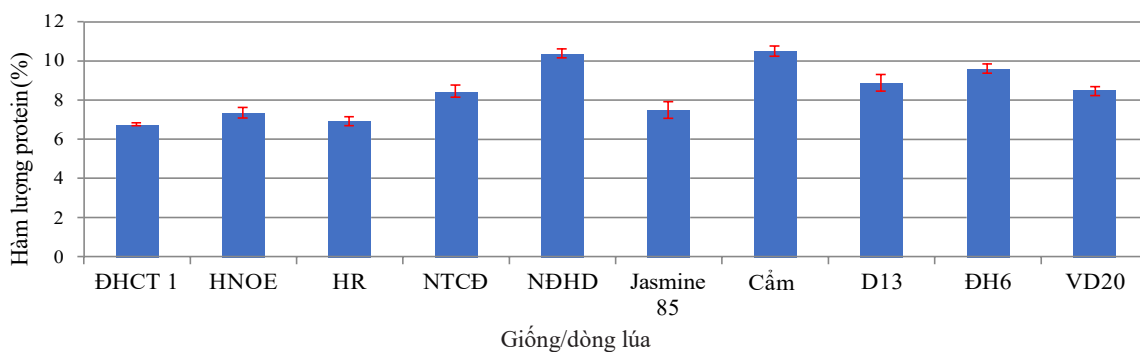
Kết quả phản ứng PCR ở hình 3 cho thấy chỉ có hai giống ĐHCT 1 và HNOE có vị trí band khoảng 100 bp, còn 8 giống: HR, NTCD, NĐHD, Jasmine 85, Cẩm, dòng D13, VD20, ĐH6 đều có các band ở vị trí ngang nhau, cao hơn band của hai giống lúa trên. Điều này chứng tỏ trong 10 giống/dòng lúa nghiên cứu chỉ có giống ĐHCT 1 và HNOE có hàm lượng amylose cao. Các giống lúa còn lại có

hàm lượng amylose thấp hoặc rất thấp. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả xác định hàm lượng amylose theo phương pháp của Juliano (1971) (đã được trình bày ở hình 2). Như vậy RM 190 được chứng minh đã liên kết chặt với gen quy định hàm lượng amylose.

Kết quả đạt được của nghiên cứu này gần như trùng hợp với kết quả nghiên cứu trên các giống lúa ở Trung Quốc (Fan *et al.*, 2005) và châu Phi (Palanga *et al.*, 2016). Như vậy, ứng dụng chỉ thị RM 190 trên các giống lúa nghiên cứu cho thấy đây là một chỉ thị đồng trội, có độ chính xác cao để phân biệt các giống lúa có hàm lượng amylose cao và thấp hoặc rất thấp.

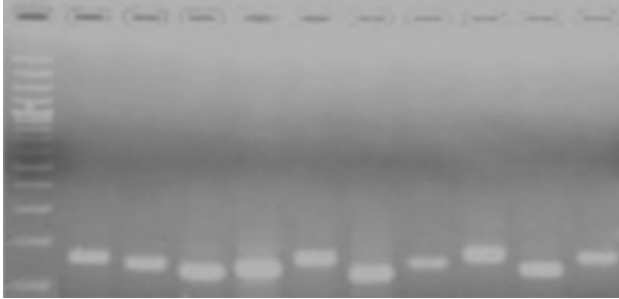
### 3.3.4. Đánh giá hàm lượng protein

Protein là yếu tố quyết định phần lớn giá trị dinh dưỡng của gạo. Protein trong gạo có giá trị cao hơn so với các hạt ngũ cốc khác bởi vì hàm lượng lysine của nó khá cao 3,5 - 4% (Juliano and Villareal, 1993). Hàm lượng protein của các giống ở mức tương đối cao, dao động từ 6,8 - 10,5%, trong đó các giống lúa có hàm lượng protein cao hơn hoặc bằng 9% là giống lúa Cẩm (10,5%), NĐHD (10,4%) và ĐH6 (9,7%), D13 (9%) (Hình 4). So với các giống lúa trên thị trường hiện nay thì các giống lúa nghiên cứu thuộc nhóm có hàm lượng protein khá cao.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn hàm lượng protein (%) của 10 giống/dòng lúa

RM 21 nằm trên NST 11, được khuếch đại ở vị trí kích thước khoảng 157 bp, là chỉ thị phân tử liên kết chặt với hàm lượng protein (Patil *et al.*, 2014). Qua phổ điện di ở hình 5 cho thấy giống lúa HR, NTCĐ, NĐHD, Jasmine 85, VD20, ĐH6 có vị trí band thấp hơn vị trí band chuẩn là 157 bp, như vậy hàm lượng protein của giống lúa này thấp hơn các giống còn lại (nhỏ hơn 9%).



**Hình 5.** Kết quả chạy điện di các mẫu lúa với chỉ thị RM 21

Ghi chú: Lane 1: thang chuẩn 100 bp; lane 2: DHCT1; lane 3: HNOE; lane 4: Cẩm; lane 5: NĐHD; lane 6: VD 20; lane 7: ĐH6, lane 8: HR, lane 9: Jasmine 85; lane 10: D13; lane 11: NTCĐ.

Các giống lúa Cẩm, NĐHD, ĐH6 và dòng D13 (9%) đều có cùng vị trí band 157 bp. Điều này chứng tỏ hàm lượng protein của các giống lúa này đều cao hơn hoặc bằng 9%. Số liệu đạt được đã chứng minh mối quan hệ giữa kiểu gen và kiểu hình để đánh giá hàm lượng protein đạt rất cao (100%). Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Patil và cộng tác viên (2014), tác giả đã sử dụng 25 chỉ thị phân tử SSR để nhận dạng các dòng lúa có hàm lượng protein cao ( $\geq 9,0\%$  protein hạt). Trong đó, R21 có hiệu quả trong việc phân biệt hàm lượng protein cho các dòng lúa tại Chhattisgarh.

Như vậy, từ kết quả hình 3 và hình 5 cho thấy trong 10 giống/dòng lúa nghiên cứu chỉ thì có 7 giống lúa có hàm lượng amylose thấp là HR, NTCĐ, NĐHD, Jasmine 85, Cẩm, dòng D13, VD20 và 4 giống/dòng lúa có hàm lượng protein cao là giống lúa Cẩm, NĐHD, ĐH6 và dòng D13. Để sản phẩm bánh mì không gluten có chất lượng cao cần sử dụng loại lúa có hàm lượng amylose thấp và protein cao. Như vậy, các giống lúa Cẩm, NĐHD và dòng D13 được chọn để tiếp tục nghiên cứu tạo ra sản phẩm bánh mì không gluten có chất lượng tốt.

#### IV. KẾT LUẬN

- Sử dụng chỉ thị RM 190 phân biệt được các giống có hàm lượng amylose thấp hoặc rất thấp so

với các giống có hàm lượng amylose cao. Sử dụng chỉ thị RM 21 đã phân biệt được hàm lượng protein thấp hay cao (hơn 9%). Sử dụng các chỉ thị thích hợp hỗ trợ phát hiện nhanh các tính trạng mong muốn.

- Trong 10 giống lúa nghiên cứu, chỉ có giống Cẩm Cai Lậy, Ngọc đỏ Hương dứa và D13 có hàm lượng amylose thấp, protein cao, có thể ứng dụng trong sản xuất bánh mì không gluten.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Ngọc Đệ, 2008. *Giáo trình cây lúa*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Hà Huy Khôi và Từ Giấy, 2009. *Dinh dưỡng hợp lý và sức khỏe*. Nhà xuất bản Y học.
- Nguyễn Văn Xuân, Trần Văn Khanh, Phan Hiếu Hiền, Phạm Văn Tấn, Đỗ Thị Bích Thủy, Lưu Thị Hoàng Yến, Ngô Văn Giáo, Trịnh Đình Hòa, Nguyễn Đức Cảnh, Phạm Duy Lam, Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Ngọc Đệ và Lê Quang Thông, 2010. *Công nghệ sau thu hoạch lúa gạo ở Việt Nam*. NXB Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.
- Aoki, N., T. Umemoto, S. Hamada, K. Suzuki and Y. Suzuki, 2012. The amylose content and amylopectin structure affect the shape and hardness of rice bread. *J. Appl. Glycosci.*, 59: 75-82.
- Fan, C. C., Yu, X. Q., Xing, Y. Z., Xu, C. G., Luo, L. J. and Zhang Q., 2005. The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population. *Theor. Appl. Genet.*, 110 (8): 1445-1452.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Khaliq, A., and Kobayashi, N., 2009. Rice Seed Invigoration: A Review. *Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants*, 137-175.
- IRRI, 1996. *SES. (Standard evaluation system)*. The international rice research institute, Los Banos, Lgura, Philippine.
- Juliano, B. O., 1971. A simplified assay for milled rice amylose. *Cereal Sci. Today.*, 16 (10): 334-340.
- Juliano, B. O. and C. P. Villareal, 1993. *Grain quality evaluation of world rices*. International rice research institute. Philippines.
- Kongseree, N. and Juliano, B.O., 1972. Physicochemical properties of rice grain and starch from lines differing in amylose content and gelatinization temperature. *J. Sci. Food Agric.*, 20 (3): 714-718.
- Kottarachchi, N. S., Peiris, R. K. and Rebeira, S., 2014. Application of DNA markers for the detection of amylose content in Sri Lankan rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Asian J Agri Biol.*, 2 (1): 44-50.

- Larkin, P.D., Mcglung, A. M., Ayers N. M. and Park, W. D.**, 2003. The effect of the *waxy* locus (granule bound starch synthase) on pasting curve characteristics in specialty rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 134 (2): 243-253.
- Ludvigsson, J. F., D. A. Leffler, J. C, Bai, F. Biagi, A. Fasano, P.H. Green, M. Hadjivassiliou, K. Kaukinen, C. P. Kelly and J. N. Leonard**, 2014. The Oslo definitions for celiac disease and related terms. *Gut*, 62: 43-52.
- Palanga, K.K., Traore, K., Bimpong, K., Jamshed M. and Mkulama, M. A. P.**, 2016. Genetic diversity studies on selected rice varieties grown in Africa based on aroma, cooking and eating quality. *African Journal of Biotechnology*, 15 (23): 1136-1146.
- Patil, H., Premi, V., Sahu, V., Dubey, M., Sahu, G.R. and Chandel, G.**, 2014. Identification of elite rice germplasm lines for grain protein content, SSR based genotyping and DNA fingerprinting. *International journal of plant, animal and environmental sciences*: 3 (2): 127-136.
- Rathi, S. and Sarma, R.N.**, 2012. Microsatellite diversity in indigenous glutinous rice landraces of Assam. *Indian Journal of Biotechnology*, 11: 23-29.
- Yoshida S., J. H. Cock, and F. T. Parao**, 1972. *Physiological aspects of high yields*. In: International Rice Research Institute. Rice Breeding. Los Banos, Philippines.

### **Identification of special rice varieties with low amylose and high protein content by using molecular markers**

Le Thi Kim Loan, Tran Le Vinh,  
Le Huu Hai, Nguyen Minh Thuy

#### **Abstract**

Rice has many advantages for wheat flour alternatives in gluten-free bread production. Two important traits to select suitable rice varieties for gluten-free bread production are amylose and protein. Using effective markers can quickly detect rice varieties with low amylose content and high protein. The study results showed that the R190 marker amplified a 100 bp DNA fragment, R21 amplified a 157 bp DNA fragment for identifying amylose and protein levels at different levels. By combining phenotypic evaluation with molecular markers, the study identified Cam Cai Lay, Hong Ngoc Oc Eo and D13 rice varieties with low amylose content and high protein. These varieties were initially selected for research on gluten-free bread production in further studies.

**Keywords:** Rice, marker, phenotype, amylose, protein

Ngày nhận bài: 11/6/2019  
Ngày phản biện: 17/6/2019

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu  
Ngày duyệt đăng: 11/7/2019