# NGHIÊN CỨU TẠO NGUỒN VẬT LIỆU CHỌN GIỐNG LÚA CHẤT LƯỢNG KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN

Phạm Thiên Thành[1], Tăng Thị Diệp[1], Tống Thị Huyền[1],
Đỗ Thị Hường[1], Lê Thị Thanh[1], Nguyễn Trí Hoàn[1], Dương Xuân Tú[1]


## TÓM TẮT

Nguồn vật liệu gen kháng đa dạng kết hợp với chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen kháng là công cụ hữu hiệu hỗ trợ chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng các nòi nấm đạo ôn đang phổ biến tại các tỉnh phía Bắc (12 nòi) đánh giá tính kháng cho các dòng đẳng gen. Kết quả đã xác định được các gen *Pi1, Pi7(t), Pi9, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pish, Pita, Pita-2 và Piz-5* thể hiện tính kháng hữu hiệu. Trong số 16 chỉ thị sử dụng đánh giá mức độ đa hình giữa giống mang các gen kháng này và giống canh tác, năm chỉ thị SSR cho đa hình phân biệt có thể sử dụng làm công cụ hỗ trợ cho công tác chọn tạo giống (RM527, RM206, RM224, RM1337, RM7102). Các gen kháng này đã được lai chuyển vào giống lúa canh tác BC15 tạo ra 5 dòng triển vọng D2.1, D2.9, D3.2, D3.5, D3.8 mang các gen kháng tương ứng *Pita, Pita2, Pik-h, Piz5* và *Pi1*. Các dòng triển vọng có đặc điểm nông sinh học quý như tiềm năng năng suất cao (66,9 - 71,6 tạ/ha), chất lượng tốt (amylose từ 16,8 - 17,8%), kháng bệnh đạo ôn qua lây nhiễm nhân tạo (điểm 0 - 5). Đây là nguồn vật liệu có nhiều triển vọng cho công tác chọn tạo giống lúa mới kháng bệnh đạo ôn trong tương lai.


**Từ khóa:** Lúa (*Oryza sativa* L.), bệnh đạo ôn, gen kháng, chỉ thị ADN, MAS

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn hại lúa do nấm *Pyricularia oryzae* đã được ghi nhận trên nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Nấm có khả năng gây hại trên cây lúa cả ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng và sinh trưởng sinh thực, mức độ gây hại được đánh giá là nghiêm trọng, thiệt hại về năng suất tới 65% (Li *et al.,* 2007). Để hạn chế thiệt hại do nấm đạo ôn gây ra, nghiên cứu chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn luôn được xem như là biện pháp hữu hiệu, ít tốn kém và ít ảnh hưởng đến môi trường.

Hiện nay trên thế giới có gần 100 gen kháng đạo ôn đã được công bố (Ballini *et al*., 2008; Huang *et al*., 2010; Xiao *et al*., 2011; Su *et al., 2015;* Zheng *et al*., 2016; Zhu *et al*., 2016), trong đó phần lớn là đơn gen trội (Mackill and Bonman, 1992).

Bên cạnh đó cũng có một số ít gen trội không hoàn toàn hoặc gen lặn (Oka and Lin, 1957). Một số gen kháng được các nhà khoa học thuộc Viện nghiên cứu lúa quốc tế IRRI sử dụng tạo dòng đẳng gen trên nền di truyền của 2 giống lúa bản địa là CO39 (20 dòng) và Lijiangxintuanheigu (31 dòng). Các dòng đẳng gen này là nguồn vật liệu quý, có thể sử dụng trong lai tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Tuy nhiên, hai giống lúa bản địa này vẫn còn nhiều điểm hạn chế như tiềm năng năng suất thấp, dạng hình chưa phù hợp với xu hướng chọn giống lúa hiện đại (cứng cây, đẻ khỏe, dạng hình đứng, lá đứng và dày...). Với thành tựu của khoa học công nghệ hiện nay thì kỹ thuật phân tử cho phép chúng ta nhận diện gen kháng mục tiêu trong các giống lúa và được sử dụng như là công cụ hỗ trợ trong quá trình lai chuyển gen kháng và chọn giống theo mục tiêu. Để đa dạng hóa nguồn vật liệu chọn giống, chúng tôi sử dụng giống lúa có nhiều ưu điểm đang được canh tác phổ biến làm nguồn vật liệu nhận gen kháng bệnh đạo ôn từ các dòng đẳng gen.

## II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các dòng đẳng gen kháng bệnh đạo ôn (IRBL30, IRBL23, IRBL26, IRBL19, IR85413, IR85414, IRBL22, IRBL14, IR85423, IR85429, IRBL2, IRBL9, IR85427, IRBL10, IR85411, IR85418, IR85420, IR85421, IR85422, IRBL7, IR93324, IRBL12, IRBL13, IRBL27), 5 dòng giống lúa đang được sử dụng tại Việt Nam (BC15, NB01, BT7, BT7KBL, T3) và 16 chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng (Bảng 1).

Tổng số 12 mẫu nấm bệnh đạo ôn (*Pyricunaria oryzea*) phân lập từ các mẫu bệnh thu thập tại các tỉnh phía Bắc được sử dụng trong lây nhiễm nhân tạo.

[1] Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

**Bảng 1.** Danh sách các chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn

| Gen kháng | NST | Chỉ thị liên kết | Khoảng cách với gen kháng (cM) | Nguồn |
|---|---|---|---|---|
| *Piz5* | 6 | RM527 | 0,3 | Fjellstrom *et al.*, 2006 |
| | 6 | z565962 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 6 | zt56591 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| *Pi1* | 11 | RM224 | 0 | Fuentes *et al.*, 2008 |
| *Pik-h* | 11 | RM224 | 0 | Fuentes *et al.*, 2007 |
| | 11 | RM206 | 0,7 | Sharma *et al.*, 2005 |
| *Pik* | 11 | k39512 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 11 | RM224 | 0,2 | Fjellstrom *et al.*, 2004 |
| | 11 | k6415 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| *Pik-m* | 11 | k6441 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 11 | k4731 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| *Pik-p* | 11 | RM206 | - | Sharma *et al.*, 2010 |
| | 11 | RM224 | - | Sharma *et al.*, 2010 |
| | 11 | k39575 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 11 | k3957 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| *Pita* | 12 | RM1337 | - | Li *et al.*, 2008 |
| | 12 | ta3 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 12 | ta5 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| *Pita2* | 12 | RM7102 | 1,1 - 1,3 | Fjellstrom *et al.*, 2004 |
| | 12 | ta3 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 12 | ta5 | 0 | Hayashi *et al.*, 2006 |
| | 12 | RM155 | 1,8 | Fjellstrom *et al.*, 2004 |
| | 12 | RM1337 | 4,9 | Hayashi *et al.*, 2006 |

*Ghi chú: NST - Nhiễm sắc thể.*

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

***2.2.1. Lây nhiễm nhân tạo***

Lây nhiễm bệnh nhân tạo được thực hiện theo phương pháp nương mạ (IRRI, 2013). Cây mạ ở giai đoạn 21 ngày tuổi được phun dịch bào tử nấm đạo ôn với nồng độ từ 1 × 105 đến 5 × 105 bào tử/ml. Khay mạ được giữ trong điều kiện 20 giờ tối với nhiệt độ 25$^{o}$C, ẩm độ trên 90%. Sau đó đưa cây mạ ra điều kiện nhiệt độ 25 - 30$^{o}$C, độ ẩm trên 90%. Sau lây nhiễm được 7 ngày, đánh giá phản ứng kháng/ nhiễm của giống. Cấp bệnh được ghi nhận trên từng cây, 12 cây/ lần nhắc, lặp lại 3 lần. Phản ứng từ cấp 0 đến cấp 3 được xem là kháng cao, từ cấp 4 - 5 là kháng vừa và cấp 6 - 9 được xem là nhiễm.

***2.2.2. Phương pháp tách chiết ADN***

Tách chiết ADN lá lúa theo phương pháp của Zheng và cộng tác viên (1995).

***2.2.3. Kỹ thuật PCR***

Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 25 µl gồm những thành phần sau: 2 µl ADN genome (25 - 50 ng); 0,2 µM mồi xuôi; 0,2 µM mồi ngược; 100 µM dNTP; 10 mM Tris-Cl (pH 8,3); 50 mM KCl; 1,5 mM $MgCl_2$; 0,1% Triton X-100; 1 đơn vị enzyme Taq polymerase. Chu trình nhiệt bao gồm các bước sau: Bước 1: 94$^{o}$C - 5 phút; Bước 2: 94$^{o}$C - 30 giây; Bước 3: 55$^{o}$C (phụ thuộc vào từng cặp mồi) - 30 giây; Bước 4: 72$^{o}$C - 1 phút; lặp lại 35 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4; Bước 5: 72$^{o}$C - 7 phút, giữ nhiệt độ ở 4$^{o}$C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel polyacrylamide 4% với máy Sequence Gen (BioRad Laboratories Inc., Hercules, California, USA) trong đệm 0,5 × TBE. Hiện hình sản phẩm theo phương pháp nhuộm Bạc (Panaud *et al.*, 1996).

***2.2.4. Phương pháp lai tạo***

Giống mang gen kháng hữu hiệu bệnh đạo ôn được sử dụng làm giống cho gen lai với giống lúa chất lượng (BC15), lai backcross liên tục qua nhiều thế hệ, cá thể backcross $F_1$ được kiểm tra gen kháng đạo ôn đồng thời kết hợp với đánh giá kiểu hình. Các cá thể mang gen kháng đạo ôn và có kiểu hình đẹp được chọn lọc làm thuần.

Thí nghiệm so sánh cấy mật độ 35 khóm/m², cấy 2 - 3 dảnh/khóm.

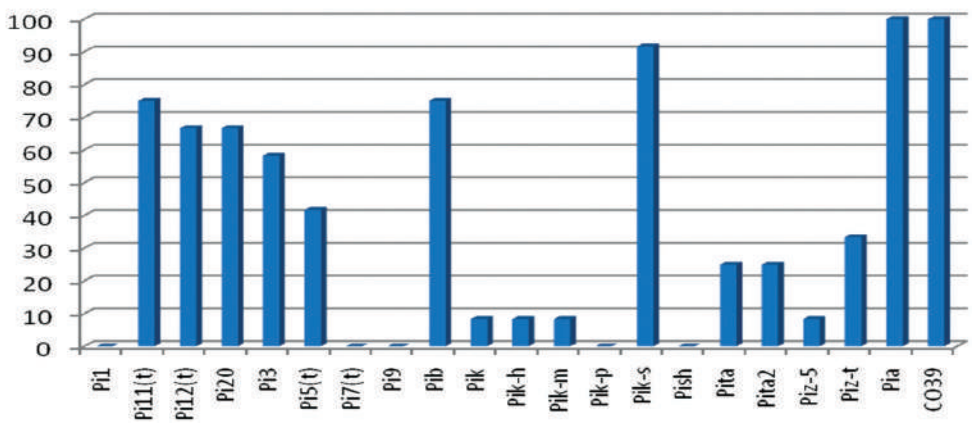
### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01 năm 2015 đến tháng 06 năm 2019 tại Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Xác định gen kháng hữu hiệu với bệnh đạo ôn

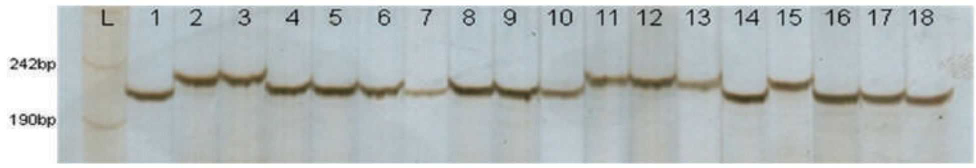
Tổng số 12 mẫu nấm bệnh đạo ôn phân lập từ các mẫu bệnh thu thập tại các tỉnh phía Bắc được sử dụng lây nhiễm bệnh nhân tạo cho 20 dòng đẳng gen. Các dòng thể hiện mức độ kháng/nhiễm rất khác nhau (Hình 1). Các gen *Pi1, Pi7(t), Pi9, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pish, Pita, Pita-2 và Piz-5* thể hiện tính kháng hữu hiệu với các nòi nấm đạo ôn phổ biến tại các tỉnh phía Bắc. Kết quả này phù hợp với công bố của Nguyễn Kiến Quốc và cộng tác viên (2010), gen *Pi1* và *Pita* kháng với các chủng nấm đạo ôn phía Bắc thì vẫn giữ được tính kháng. Tuy nhiên gen *Pi3* và *Pi5* trước kia được đánh giá là kháng với các chủng nấm đạo ôn ở phía Bắc thì hiện tại đã mất dần tính kháng (dòng mang gen *Pi3*, *Pi5* lần lượt nhiễm 7/12 và 5/12 chủng nấm đạo ôn). Một số dòng đẳng gen bị nhiễm với đa số các chủng nấm như dòng mang gen *Pia* (nhiễm 100%), dòng mang gen *Pik-s* (nhiễm 92%).




**Hình 1.** Tỷ lệ nhiễm bệnh của các dòng đẳng gen với các chủng nấm bệnh đạo ôn ở các tỉnh phía Bắc

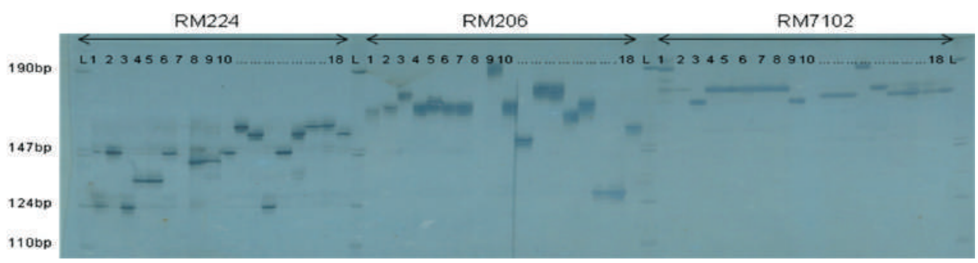
### 3.2. Sàng lọc chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn

Nhằm ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn, chúng tôi sàng lọc chỉ thị phân tử liên kết với các gen kháng (*Piz-5, Pi1, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pita và Pita-2*) đã được công bố trên các tạp chí trong và ngoài nước (Bảng 1). Tổng số 16 chỉ thị được đánh giá mức độ đa hình giữa giống mang gen kháng và giống canh tác. Trong đó 10 chỉ thị SNP (single nucleotide polymorphism) và sáu chỉ thị SSR. Các chỉ thị SNP cho kết quả khuếch đại ADN không sai khác giữa giống mang gen và giống không mang gen (z565962 nhân đoạn 270 bp; zt56591 nhân đoạn 260 bp; k39512 nhân đoạn 100 bp; k6415 nhân đoạn 146 bp; k6441 nhân đoạn 400 bp; k4731 nhân đoạn 170 bp; k39575 nhân đoạn 160 bp; k3957 nhân đoạn 150 bp; ta3 nhân đoạn 172 bp; ta5 nhân đoạn 550 bp). Có một chỉ thị SSR không cho kết quả đa hình giữa giống mang gen và giống không mang gen (RM155 nhân đoạn 90 bp). Năm chỉ thị SSR cho đa hình phân biệt giữa giống mang gen và giống canh tác (Hình 2, 3 và 4, bảng 2). Chỉ thị RM527 liên kết chặt với gen *Piz5* nằm trên nhiễm sắc thể số 6 cho đa hình giữa giống mang gen (226 bp) và giống không mang gen (220 bp) (Hình 2). Chỉ thị RM206 và RM224 liên kết với nhóm gen *Pi1, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p* nằm trên nhiễm sắc thể số 11 (Sharma *et al.*, 2010) cho đa hình phân biệt với giống không mang gen ở mức độ khác nhau (Hình 3, bảng 2). Chỉ thị RM1337 liên kết với nhóm gen *Pita* và *Pita2* cho đa hình phân biệt đồng nhất giữa các dòng đẳng gen và giống canh tác. Chỉ thị RM7102 liên kết với nhóm gen *Pita* và *Pita2* trên nhiễm sắc thể số 12 cho đa hình phân biệt không đồng nhất giữa các dòng đẳng gen và giống canh tác. Chỉ thị SSR (RM527, RM206, RM224, RM1337, RM7102) thể hiện là các chỉ thị đồng trội. Có thể sử dụng chỉ thị này nhận diện kiểu alen của dòng mang gen ở trạng thái đồng hợp tử hay dị hợp tử. Như vậy có thể sử dụng các chỉ thị này trong chương trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn.



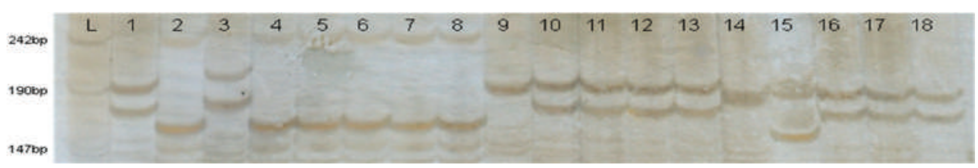

**Hình 2.** Khảo sát đa hình marker RM527 liên kết với gen *Piz5*

*Ghi chú: L: lader; 1: Piz; 2: Piz-5; 3: Piz5; 4: Pi1; 5: Pik-h; 6: Pik; 7: Pik-m: 8: Pik-p; 9: NB01; 10: Pita; 11: Pita: 12: Pita: 13: Pita2: 14: BC15; 15: Pik-p; 16: BT7; 17: BT7KBL; 18: T3.*




**Hình 3.** Khảo sát đa hình marker RM224, RM206 và RM7102

*Ghi chú: L: lader; 1: Piz; 2: Piz-5; 3: Piz5; 4: Pi1; 5: Pik-h; 6: Pik; 7: Pik-m: 8: Pik-p: 9: Pik-p: 10: Pita; 11: Pita: 12: Pita: 13: Pita2: 14: BC15; 15: NB01: 16: BT7; 17: BT7KBL; 18: T3.*




**Hình 4.** Kết quả khảo sát đa hình marker RM1337

*Ghi chú: L: lader;1: Piz; 2: Piz-5; 3: Piz5; 4: Pi1; 5: Pik-h; 6: Pik; 7: Pik-m: 8: Pik-p: 9: Pik-p: 10: Pita; 11: Pita: 12: Pita: 13: Pita2: 14: BC15; 15: NB01: 16: BT7; 17: BT7KBL; 18: T3.*

**Bảng 2.** Kết quả sàng lọc chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng đạo ôn

| TT | Dòng * | Chỉ thị (bp) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ***RM527*** | ***RM224*** | ***RM206*** | ***RM7102*** | ***RM1337*** |
| 1 | IRBL9 (*Piz*) | 220 | 124, 147 | 168 | 190, 182 | 190; 180 |
| 2 | IR85427 (*Piz-5*) | 226 | 147 | 168, 170 | 182 | 170 |
| 3 | IRBL10 (*Piz5*) | 226 | 124 | 178 | 176 | 200; 184 |
| 4 | IR85411 (*Pi1*) | 220 | 136 | 170 | 182 | 170 |
| 5 | IR85418 (*Pik-h*) | 220 | 136 | 172, 170, 168 | 182 | 170 |
| 6 | IR85420 (*Pik*) | 220 | 146 | 170, 168 | 182 | 170 |
| 7 | IR85421 (*Pik-m*) | 220 | 168 | 170, 168 | 182 | 170 |
| 8 | IR85422 (*Pik-p*) | 220 | 140 | 168 | 182 | 170 |
| 9 | IRBL7 (*Pik-p*) | 226 | 140 | 190 | 176 | 190 |
| 10 | IR93324 (*Pita*) | 220 | 146 | 170, 168 | 182 | 190; 180 |
| 11 | IRBL 12 (*Pita*) | 226 | 158 | 150 | 178 | 190; 180 |
| 12 | IRBL 13 (*Pita*) | 226 | 154 | 180 | 178 | 190; 180 |
| 13 | IRBL27 (*Pita-2*) | 226 | 124 | 180 | 190 | 190; 180 |
| 14 | BC15 | 220 | 146 | 166 | 182 | 186 |
| 15 | NB01 | 220 | 154 | 170 | 178 | 186; 150 |
| 16 | BT7 | 220 | 158 | 130 | 178 | 186; 176 |
| 17 | BT7KBL | 220 | 158 | 130 | 178 | 186; 176 |
| 18 | T3 | 220 | 154 | 156 | 178 | 186; 176 |

*Ghi chú: * Trong ngoặc kép là các gen tương ứng với dòng đẳng gen.*

Các chỉ thị SNP sử dụng trong nghiên cứu này đều cho kích thước sản phẩm PCR tương đồng với kết quả nghiên cứu trước (Hayashi *et al.*, 2006). Điều này cho thấy kỹ thuật nhận dạng ADN đảm bảo độ tin cậy cao. Tuy nhiên, các chỉ thị SNP được thiết kế dựa trên sự sai khác trình tự nucleotide giữa giống mang gen và giống Koshihikari (Hayashi *et al.*, 2006) nên khi sử dụng đánh giá nguồn vật liệu trong nghiên cứu này không cho kết quả đa hình. Vì vậy các chỉ thị SNP trên không sử dụng được trong việc hỗ trợ chọn tạo giống kháng bệnh đạo ôn bằng chỉ thị (MAS) với vật liệu là các giống lúa trong thí nghiệm này.

### 3.3. Lai tạo vật liệu cải tiến chứa gen kháng đạo ôn

Giống lúa BC15 đang được canh tác phổ biến trong sản xuất có nhiều đặc điểm tốt: năng suất cao (7 - 8 tấn/ha), chất lượng tốt, tính thích ứng rộng. Tuy nhiên giống lúa này có nhược điểm là nhiễm nặng đạo ôn. Vì vậy chúng tôi lựa chọn giống BC15 làm giống nhận gen kháng bệnh đạo ôn từ các dòng đẳng gen, nhằm mục đích tạo dòng vật liệu kế thừa đặc tính tốt của giống và có khả năng kháng bệnh đạo ôn. Phép lai Backcross được thực hiện liên tục qua nhiều thế hệ ($BC_1$, $BC_2$, $BC_3$, $BC_4$, $BC_5$) để chuyển gen kháng đạo ôn vào giống lúa BC15. Trong quá trình lai backcross, kỹ thuật chỉ thị phân tử được ứng dụng để chọn dòng mang gen kháng. Kết hợp với đánh giá lây nhiễm bệnh nhân tạo nhằm kiểm tra biểu hiện kiểu hình, từ đó chọn được dòng mang gen mục tiêu có độ tin cậy cao. Qua 5 thế hệ lai backcross chọn được 5 dòng ưu tú (Bảng 3).

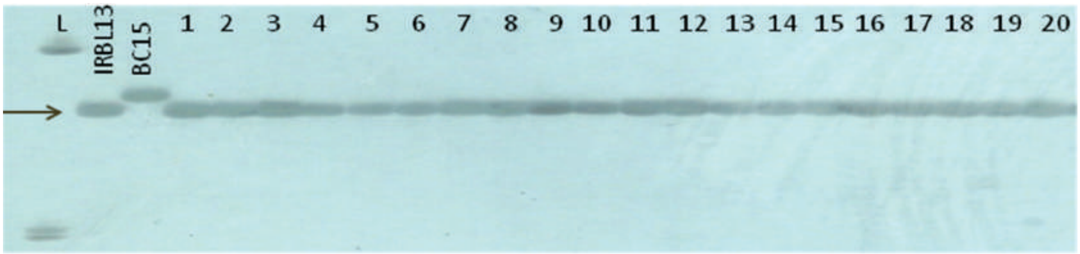
**Bảng 3.** Đặc điểm chính của các dòng lúa mới

| Đặc điểm chính | BC15/ IRBL13 | BC15/ IRBL27 | BC15/ IR85418 | BC15/ IR85427 | BC15/ NB01 |
|---|---|---|---|---|---|
| - Gene | Pita | Pita2 | Pik-h | Piz5 | Pi1 |
| - Dạng hình | V gọn | V gọn | V gọn | V gọn | V gọn |
| - Chiều cao cây (cm) | 100 | 105 | 105 | 108 | 109 |
| - Khả năng đẻ nhánh | TB | TB | TB | TB | TB |
| - Dạng hạt | Bầu | Bầu | Bầu | Bầu | Bầu |
| - Màu sắc hạt | Vàng sáng | Vàng sáng | Vàng sáng | Vàng sáng | Vàng sáng |
| - TGST vụ mùa (ngày) | 115 | 116 | 115 | 116 | 115 |
| - Số hạt/bông | 165 | 175 | 170 | 167 | 170 |
| - Tỷ lệ lép (%) | 15 | 12 | 12 | 11 | 13 |
| - Khối lượng 1000 hạt (g) | 24 | 23 | 23 | 22,5 | 23,5 |
| - Năng suất cá thể (g) | 20,3 | 21,4 | 20,6 | 21,7 | 22,4 |
| - Đặc điểm chất lượng | | | | | |
| + *Tỷ lệ gạo xát (%)* | *67,5* | *67,5* | *67,5* | *65* | *68,8* |
| + *Nhiệt độ hóa hồ* | *Cao* | *Cao* | *Cao* | *Cao* | *Cao* |
| + *Độ ngon (điểm)* | *3* | *3* | *3* | *3* | *3* |
| + *Hàm lượng amylose (%)* | *17,8* | *17,7* | *17,1* | *17,7* | *16,8* |
| - Đánh giá nhân tạo bệnh đạo ôn | 5 | 3 | 3 | 0 | 5 |

Các dòng lúa ưu tú được kiểm tra độ thuần kiểu gen kháng đạo ôn bằng các chỉ thị đa hình. Kết quả đánh giá 5 dòng triển vọng (20 cá thể/dòng) của các tổ hợp lai giữa giống BC15 với các giống mang gen kháng đạo ôn cho thấy; Tất cả các dòng đều thể hiện đồng hợp tử về kiểu gen kháng (Bảng 4, hình 5).

**Bảng 4.** Kết quả sử dụng chỉ thị phân tử kiểm tra gen kháng đạo ôn ở các dòng lúa ưu tú

| TT | Dòng | Nguồn gốc | Thế hệ | Gen kháng | Cá thể đánh giá | Cá thể mang gen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | D2.1 | BC15/IRBL13 | BC5F5 | *Pita* | 20 | 20 |
| 2 | D2.9 | BC15/IRBL27 | BC5F5 | *Pita2* | 20 | 20 |
| 3 | D3.2 | BC15/IR85418 | BC5F5 | *Pik-h* | 20 | 20 |
| 4 | D3.5 | BC15/IR85427 | BC5F5 | *Piz5* | 20 | 20 |
| 5 | D3.8 | BC15/NB01 | BC5F5 | *Pi1* | 20 | 20 |




**Hình 5.** Kết quả điện di sản phẩm PCR các cá thể của dòng D2.1 ở thế hệ $BC_5F_5$ (BC15//IRBL13) với chỉ thị RM7102 liên kết với gen Pita

Các dòng lúa ưu tú được so sánh đánh giá các chỉ tiêu năng suất (Bảng 5). Số bông/khóm của các dòng D2.1, D2.9, và D3.2 tương đương với đối chứng BC15. Dòng D2.1 và D3.5 có số hạt/bông cao hơn đối chứng. Dòng D3.2 có tỷ lệ chắc cao nhất (87%). Năng suất thực thu của các dòng lúa mới đều cao hơn đối chứng, tuy nhiên chỉ có dòng D2.1 cho năng suất cao hơn đối chứng ở mức ý nghĩa $LSD_{0,05}$ trong cả 2 vụ so sánh.

**Bảng 5.** Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các dòng lúa mới

| Dòng | Bông/khóm | | Hạt/bông (hạt) | | Tỷ lệ chắc (%) | | P1000 (g) | | Năng suất TT (tạ/ha) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ***X18*** | ***X19*** | X18 | X19 | X18 | X19 | X18 | X19 | X18 | X19 |
| D2.1 | 7,0 | 7,0 | 208,6 | 207,6 | 85,2 | 85,0 | 24,2 | 24,2 | 71,6 | 70,6 |
| D2.9 | 7,2 | 7,0 | 193,6 | 193,6 | 86,0 | 86,0 | 24,2 | 24,2 | 69,7 | 67,7 |
| D3.2 | 7,0 | 6,9 | 202,6 | 200,6 | 87,5 | 87,0 | 23,5 | 23,5 | 70,6 | 69,6 |
| D3.5 | 6,5 | 6,3 | 205,0 | 203,0 | 84,0 | 84,0 | 25,0 | 25,0 | 68,9 | 66,9 |
| D3.8 | 6,8 | 6,6 | 190,0 | 190,0 | 85,6 | 85,0 | 23,5 | 23,5 | 68,5 | 67,5 |
| BC15 (đ/c) | 7,0 | 7,0 | 186,2 | 180,2 | 84,0 | 84,0 | 23,5 | 23,5 | 67,0 | 63,0 |
| *$LSD_{0,05}$* | | | | | | | | | *3,8* | *5,8* |
| *CV (%)* | | | | | | | | | *5,6* | *5,6* |

Phân tích chất lượng 5 dòng lúa ưu tú cho thấy, hầu hết các dòng có tỷ lệ gạo lật và gạo xát cao hơn đối chứng BC15. Hàm lượng amylose của các dòng đánh giá dao động 16,8 - 17,8%, cơm dẻo, mềm tương đương BC15 (Bảng 6).

Các dòng lúa mới có năng suất cao, chất lượng tốt, mang gen kháng bệnh đạo ôn và thể hiện kháng cao đến kháng vừa với các chủng nấm đạo ôn các tỉnh phía Bắc. Đây là nguồn vật liệu quý có thể sử dụng trong các chương trình lai tạo giống lúa chất lượng kháng bệnh đạo ôn trong tương lai.

**Bảng 6.** Chất lượng của các dòng kháng đạo ôn

| TT | Dòng | Gạo lật (%) | Gạo xát (%) | Dài (mm) | Dài/rộng | Nhiệt độ hóa hồ | Mùi thơm (điểm) | Bạc Bụng (điểm) | Amylose (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | D2.1 | 78,3 | 67,5 | 6,8 | 2,72 | TB | 2 | 0 | 17,8 |
| 2 | D2.9 | 80,0 | 67,5 | 6,5 | 2,71 | TB | 1 | 0 | 17,7 |
| 3 | D3.2 | 77,5 | 67,5 | 6,4 | 2,67 | TB | 2 | 1 | 17,1 |
| 4 | D3.5 | 77,5 | 65,0 | 6,1 | 2,58 | TB | 1 | 1 | 17,7 |
| 5 | D3.8 | 75,0 | 68,8 | 6,2 | 2,58 | TB | 2 | 1 | 16,8 |
| 6 | BC15 (đ/c) | 75,8 | 62,5 | 6,3 | 2,52 | TB | 1 | 0 | 18,8 |

*Ghi chú: TB - Trung bình.*

## IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được gen *Pi1, Pi7(t), Pi9, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pish, Pita, Pita-2 và Piz-5* kháng hữu hiệu với các nòi nấm đạo ôn phổ biến tại các tỉnh phía Bắc.

Đã lựa chọn được 5 chỉ thị phân tử cho đa hình giữa giống mang gen (*Piz-5, Pi1, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pita và Pita-2*) và giống canh tác. Các chỉ thị này có thể ứng dụng hỗ trợ công tác chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn.

Đã tạo được 5 dòng lúa ưu tú (D2.1; D2.9; D3.2; D3.5; D3.8) có tiềm năng năng suất cao (66,9 - 71,6 tạ/ha), chất lượng tốt (amylose 16,8-17,8%), mang gen kháng bệnh đạo ôn (*Pita, Pita2, Pik -h, Piz5* and *Pi1*). Đây là nguồn vật liệu quý cho các chương trình chọn tạo giống lúa chất lượng kháng sâu bệnh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO


**Nguyễn Kiến Quốc, Lã Tuấn Nghĩa và Nguyễn Văn Bích**, 2010. Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ 2006 - 2010.

**Ballini, E., J.B. Morel, G. Droc, A. Price, B. Courtois, J.L. Notteghem and D. Tharreau**, 2008. A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.,* 21: 859-868.

**Fjellstrom, R., C.A. Conaway-Bormans, A.M. McClung, M.A. Marchetti, A.R. Shank and W.D. Park**, 2004. Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple *Pyriculria grisea* pathotypes. *Crop Sci*., 44: 1790-1798.

**Fjellstrom, R., M. Anna, A.M. McClung and A.R. Shank**, 2006. SSR markers closely linked to the *Pi-z* locus are useful for selection of blast resistance in a broad array of rice germplasm. *Molecular Breeding*, 17: 149-157.

**Fuentes, J.L., F.J. Correa-Victoria, F. Escobar, G. Prado, G. Aricapa, M.C. Duque and J. Tohme**, 2008. Identification of microsatellite markers linked to the blast resistance gene *Pi1(t)* in rice. *Euphytica*, 160: 295-304.

**Hayashi, K., H. Yoshida and I. Ashikawa**, 2006. Development of PCR-based allele specific and InDel marker sets for nine rice blast resistance genes. *Theor. Appl. Genet.*, 113: 251-260.

**Huang, H., L. Huang, G. Feng, S. Wang, Y. Wang, J. Liu, N. Jiang, W. Yan, L. Xu, P. Sun, Z. Liu, S. Pan, X. Liu, Y. Xiao, E. Liu, L. Dai and G. Wang**, 2010. Molecular mapping of the new blast resistance genes *Pi47* and *Pi48* in the durably resistant local rice cultivar Xiangzi 3150. *Phytopathology,* 101: 620-626.

**International Rice Research Institute**, 2013. Standard Evaluation System for Rice. P.O. Box 933, 1099 Manila, Philippines.

**Li, W., C. Lei, Z. Cheng, Y. Jia, D. Huang, J. Wang, J. Wang, X. Zhang, N. Su, X. Guo, H. Zhai and J. Wan**, 2008. Identification of SSR markers for a broad-spectrum blast resistance gene *Pi20(t)* for marker-assisted breeding. *Mol. Breeding*, 22: 141-149.

**Li, Y.B., C. J. Wu, G. H. Jiang, L.Q. Wang and Y.Q. He**, 2007. Dynamic analyses of rice blast resistance for the assessment of genetic and environmental effects. *Plant Breed.,*126: 541-547.

**Mackill, D. J., and J. M. Bonman**, 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*, 82: 746-749.

**Oka, H.I., and K.M. Lin**, 1957. Genetic analysis of resistance to blast disease in rice (by biometrical genetic method). *Jpn. Genet*., 32: 20-27.

**Panaud, O., X. Chen and S.R. McCouch**, 1996. *Mol. Gen. Genet*., 252: 597-607.

**Sharma, T., M. Madhav, B. Singh, P. Shanker, T. Jana, V. Dalal, A. Pandit, A. Singh, K. Gaikwad and H. Upreti**, 2005. High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the *Pi-kh* gene of rice, which confers resistance to *Magnaporthe grisea*. *Molecular Genetics and Genomics*, 274: 569-578.

**Sharma, T.R., A.K. Rai, S.K. Gupta and N.K. Singh**, 2010. Broad-spectrum Blast Resistance Gene *Pi-k^h^* Cloned from Rice Line Tetep Designated as *Pi54*. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology*, 19 (1): 87-89.

**Su J., Wang W.J., Han J.L., Chen S., Wang C.Y., Zeng L.X., *et al***. Functional divergence of duplicated genes results in a novel blast resistance gene *Pi50* at the *Pi2*/9 locus. *Theor. Appl. Genet*. 2015; 128:2213–2225. https://doi.org/10.1007/s00122-015-2579-9 PMID:26183036

**Xiao, W.M., Q.Y. Yang, H. Wang, T. Guo, Y.Z. Liu, X.Y. Zhu and Z.Q. Chen**, 2011. Identifiation and fine mapping of a resistance gene to *Magnaporthe oryzae* in a space-induced rice mutant. *Mol. Breed.*, 28: 303-312.

**Zheng W., Wang Y., Wang L., Ma Z., Zhao J., Wang P.**, 2016. Genetic mapping and molecular marker development for *Pi65(t)*, a novel broad–spectrum resistance gene to rice blast using next–generation sequencing. *Theor. Appl. Genet*. 2016; 129:1035-1044. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2681-7PMID:26883042.

**Zheng, K., N. Huang, J. Bennett and G.S. Khush**, 1995. PCR-Based Marker-Assisted Selection in Rice Breeding. *IRRI Discussion Paper Series,* No. 12, International Rice Research Institute, Manila.

**Zhu D., Kang H., Li Z., Liu M., Zhu X., Wang Y., *et al*.** A genome–wide association study of field resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice. *Rice.* 2016; 9: 44. https://doi.org/10.1186/s12284-016-0116-3PMID:27576685.

## Creating materials for rice blast resistance breeding

Pham Thien Thanh, Tang Thi Diep, Tong Thi Huyen,
Do Thi Huong, Le Thi Thanh, Nguyen Tri Hoan, Duong Xuan Tu

**Abstract**

The rice blast disease caused by *Pyricularia oryzae* is one of the most serious diseases in Vietnam. However, this disease can be managed by using resistant rice varieties. Research on breeding sustainable rice varieties with resistance genes has always been considered as effective, inexpensive and environmentally friendly. The diversity of genetic materials in combination with molecular markers closely linked to resistance genes is an effective tool in supporting the rice breeding of blast resistance. In this study, we used 12 popular blast fungus strains in the Northern provinces to assess resistance for near isogenic lines. The results identified genes *Pi1, Pi7(t), Pi9, Pik, Pik-h, Pik-m, Pik-p, Pish, Pita, Pita-2 and Piz-5* exhibiting effective resistance. A total of 16 markers used for polymorphic assessment between cultivars carrying these resistance genes and cultivated varieties, five SSR markers for differentiating polymorphisms could be used as a support tool for breeding (RM527, RM206, RM224, RM1337, RM7102). These resistance genes were transferred to BC15 rice variety to create five promising lines D2.1, D2.9, D3.2, D3.5, and D3.8 carrying the corresponding resistance genes *Pita, Pita2, Pik -h, Piz5* and *Pi1*. The elite lines have precious agronomic characteristics such as high yielding (6.69 - 7.16 tons/ha), good quality (amylose content from 16.8-17.8%) and resistance to blast disease through artificial infection (Scale 0-5). This is a valuable source of material for breeding of new rice varieties resistant to blast in the future.

**Keywords:** Rice (*Oryza sativa* L.), blast, resistance gene, DNA marker, MAS

Ngày nhận bài: 03/9/2020
Ngày phản biện: 20/9/2020
Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu
Ngày duyệt đăng: 02/10/2020

# ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG AMYLOSE, NHIỆT ĐỘ HÓA HỒ VÀ GIẢI TRÌNH TỰ GEN *waxy1* CỦA MỘT SỐ NGUỒN GEN NGÔ ĐỊA PHƯƠNG ĐANG ĐƯỢC BẢO QUẢN TRONG NGÂN HÀNG GEN CÂY TRỒNG QUỐC GIA

Trần Thị Thu Hoài[1], Nguyễn Thị Lan Hoa[1], Bùi Thị Thu Giang[1],
Nguyễn Thị Bích Thủy[1], Đinh Bạch Yến[1]

## TÓM TẮT

Báo cáo này trình bày kết quả nghiên cứu xác định hàm lượng amylose và nhiệt độ hóa hồ của 200 mẫu nguồn gen được lựa chọn từ tập đoàn ngô địa phương. Kết quả cho thấy có sự đa dạng rất lớn về hàm lượng amylose cũng như là nhiệt độ hóa hồ 200 mẫu nguồn gen đánh giá. Hàm lượng amylose dao động từ 1,07 đến 27,99%, trong đó có 39,2% thuộc nhóm ngô nếp với hàm lượng amylose dưới 6,0%. Nhiệt độ bắt đầu hồ hóa của các mẫu nguồn gen biến động từ 63,5 - 71,9$^0$C. Nhóm ngô nếp với hàm lượng amylose thấp có nhiệt độ hóa hồ cao hơn so với các nguồn gen thuộc nhóm ngô tẻ. Giải trình tự gen *waxy1* của 35 nguồn gen ngô đại diện cho thấy, có 4 dạng Haplotype, với tổng số 23 đột biến điểm (SNP) và 13 InDel. Trong số 35 mẫu giải trình tự gen waxy1 có 10 mẫu thuộc Haplotype 1; 3 mẫu thuộc Haplotype 2; 21 mẫu thuộc Haplotype 3 và chỉ có 1 mẫu thuộc Haplotype 4. InDel mất đoạn 15 nucleotide (Haplotype 1) trên exon 10 làm thay đổi trật tự axit amin là xóa 4 axit amin và một stop codon thuộc nhóm giống ngô nếp có hàm lượng amylose thấp. Haplotype 1 có ý nghĩa trong phân tích tương quan kiểu gen waxy1 và hàm lượng amylose thấp (1 - 5%) ở ngô nếp, cần tiếp tục được nghiên cứu sâu hơn nữa.

**Từ khóa:** Hàm lượng amylose, ngô địa phương, nhiệt độ hóa hồ, vùng sinh thái, *waxy1*

[1] Trung tâm Tài nguyên thực vật