

L27, L28, L29 có năng suất cao trên 45,0 tạ/ha (tăng so với đối chứng L14 từ 25,9 - 33,6% tại Bắc Giang và từ 19,1 - 35,0% tại Nghệ An), với các ưu điểm về khối lượng 100 quả đạt trên >150 g, khối lượng 100 hạt đạt từ 56 - 60 g, tỷ lệ hạt/quả cao đạt >71%.

#### 4.2. Đề nghị

Mở rộng diện tích trồng các giống: L23, L18, L27, L28, L29, góp phần nâng cao năng suất và hiệu quả sản xuất lạc cho 02 tỉnh Nghệ An và Bắc Giang nói riêng và các tỉnh vùng Bắc Trung bộ, Trung du miền núi phía Bắc nói chung.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011. QCVN 01-57: 2011/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lạc.

Nguyễn Thị Chinh, Nguyễn Văn Thắng, Trần Đình Long, Nguyễn Xuân Thu, Phan Quốc Gia, Nguyễn Thị Thuý Lương, Nguyễn Xuân Đoan, 2008. Kết quả chọn lọc và khảo nghiệm sản xuất giống lạc L23. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, Số 3/2008.

Nguyễn Văn Thắng, Nguyễn Xuân Thu, Nguyễn Thị Thuý Lương, Phạm Xuân Liêm, Trần Đình Long, 2015. Kết quả chọn tạo giống lạc L27. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, Số 3/2015.

Nguyễn Văn Thắng, Nguyễn Thị Yến, Nguyễn Thị Chinh, Nguyễn Xuân Thu và ctv, 2008. Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống lạc L26. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, Số 12/2008.

Nguyễn Xuân Thu, Nguyễn Xuân Đoan, Trần Thị Trường, Nguyễn Thị Liễu, Nguyễn Thị Hồng Oanh và Nguyễn Chí Thành, 2017. Kết quả chọn tạo giống lạc cho vùng thâm canh. Trong *Kỷ yếu Nghiên cứu và phát triển khoa học công nghệ, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm 2017*.

### Production testing of groundnut for intensive production areas in Nghe An and Bac Giang provinces

Nguyen Xuan Doan, Nguyen Xuan Thu, Tran Thi Truong, Nguyen Van Thang, Nguyen Thi Hong Oanh, Nguyen Chi Thanh, Nguyen Thi Lieu

#### Abstract

Production testing of groundnut varieties for intensive areas was conducted during 2016 - 2017 in Bac Giang and Nghe An provinces. The experiment was designed in 3 replications with 50 m<sup>2</sup> per plot. The result showed that 5 groundnut varieties, including L23, L18, L27, L28, L29 were identified to be suitable for the intensive areas with high yield > 4.5 ton ha<sup>-1</sup>, (higher than control variety L14 from 25.9 to 33.6% in Bac Giang and from 19.1 to 35.0% in Nghe An); 100 pod weigh varied from 151 - 161 g; 100 seed weigh was recorded from 56 to 60 g; the ratio of seed reached over 71% per pod.

**Keywords:** Groundnut, testing, intensive area

Ngày nhận bài: 28/6/2018  
Ngày phản biện: 20/7/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Chinh  
Ngày duyệt đăng: 15/8/2018

### KHẢO SÁT NGUỒN GEN KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN TRÊN MỘT SỐ GIỐNG LÚA BẰNG CHỈ THỊ ADN

Phạm Thiên Thành<sup>1</sup>, Dương Thị Thương<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Giang<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thu<sup>1</sup>, Dương Xuân Tú<sup>1</sup>, Phan Thị Thanh<sup>1</sup>

#### TÓM TẮT

Thu thập 50 nguồn gen lúa đang được canh tác tại các vùng sinh thái lúa của Việt Nam để khảo sát khả năng mang gen kháng bệnh đạo ôn (*Piz5*, *Pik*, *Pik-p*, *Pita* và *Pita2*) dựa trên các chỉ thị phân tử ADN. Kết quả ba chỉ thị phân tử RM527, RM1233 và RM7102 liên kết với 5 gen kháng trên cho đa hình phân biệt tại các locus mục tiêu. Phân tích kiểu gen và đánh giá lây bệnh nhân tạo đã chọn được 40 mẫu giống mang kiểu gen kháng mục tiêu và biểu hiện kiểu hình kháng vừa đến kháng cao với bệnh đạo ôn; trong đó có 11 giống lúa bản địa và 29 giống lúa cải tiến. Các giống lúa này là nguồn vật liệu quý để sử dụng cho các chương trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Thông tin này giúp các nhà chọn giống lúa cải thiện tính kháng đạo ôn bằng ứng dụng chỉ thị phân tử.

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

<sup>1</sup> Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, <sup>2</sup> Học viện Nông nghiệp Việt Nam

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn hại lúa do nấm *Pyricularia oryzae* đã được nhiều quốc gia nghiên cứu, 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. Chính vì vậy mà mức độ gây hại được đánh giá là nghiêm trọng, gây thiệt hại về năng suất tới 65% (Li *et al.*, 2007). Nghiên cứu chọn tạo các giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đặc biệt là các giống lúa kháng bền vững mang đa gen kháng luôn được xem như là biện pháp hữu hiệu, ít tốn kém và ít ảnh hưởng đến môi trường.

Hiện nay có gần 100 gen kháng đã được công bố (Ballini *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2010; Xiao *et al.*, 2011). Trong đó, phần lớn là đơn gen trội (Mackill and Bonman, 1992). Bên cạnh đó cũng có những gen trội không hoàn toàn hoặc gen lặn nhưng rất ít (Oka and Lin, 1957). Mỗi gen chỉ có khả năng kháng với một vài chủng nấm đạo ôn nên phổ kháng hẹp. Thường thì các giống lúa chỉ mang đơn gen kháng, rất ít giống mang đa gen kháng như Tẻ tếp của Việt Nam mang 3 gen kháng: *Pitp(t)* (Barman *et al.*, 2004); *Pi5* (Lee *et al.*, 2009); *Pi-kh/Pi54* (Sharma *et al.*, 2010). Để giống lúa có phổ kháng rộng, chúng cần được quy tụ nhiều gen kháng. 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 là công cụ hỗ trợ trong quá trình quy tụ nhiều gen kháng vào giống mục tiêu.

Các chủng nấm đạo ôn rất đa dạng tại các vùng sinh thái khác nhau và dễ phát sinh chủng mới. Trong khi đó, mỗi gen chỉ có khả năng kháng được một số chủng nấm nhất định. Vì vậy, các nhà khoa học luôn phải nỗ lực tìm ra gen kháng mới hoặc gen kháng trên nguồn vật liệu mới có khả năng kháng được các chủng mới phát sinh. Trên cơ sở thông tin về chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng (*Piz5*, *Pik*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita2*) đã được công bố, nhóm tác giả khảo sát khả năng mang gen mục tiêu trên tập đoàn giống lúa đang được canh tác tại các vùng sinh thái lúa của Việt Nam, từ đó cung cấp thông tin hữu dụng về nguồn gen kháng phục vụ cho các chương trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Năm mươi dòng/giống lúa được thu thập tại các vùng sinh thái (miền núi phía Bắc, Đồng bằng sông Hồng, Bắc Trung bộ và Đồng bằng sông Cửu Long), sau đây được thống nhất gọi là giống lúa.

- Tám dòng đẳng gen nhập nội từ IRRI chứa các gen kháng bệnh đạo ôn [IR85427 (*Piz5*), IRBL10 (*Piz5*), IRBL7 (*Pik-p*), IR85422 (*Pik-p*), IR85420 (*Pik*), IRBL12 (*Pita*), IRBL13 (*Pita*), IRBL27 (*Pita2*)].

- Nguồn nấm đạo ôn phục vụ lây nhiễm nhân tạo do Bộ môn Chẩn đoán giám định dịch hại và thiên địch, Viện Bảo vệ thực vật cung cấp.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp tách chiết ADN

Tách chiết ADN lá lúa theo phương pháp của Zheng và cộng tác viên (1995) có cải tiến: 1 mg lá tươi giai đoạn 4 tuần tuổi được nghiền trong 800 µl dung dịch tách chiết (50 mM NaCl; 1% SDS; 50 mM EDTA-2Na, pH 8.0; 10 mM Tris HCl, pH 8.0). Thêm 400 µl hỗn hợp Phenol : Chloroform : Isolamylalcohol theo tỷ lệ 25 : 24 : 1 (V/V), tiếp đó ly tâm 12.000 vòng/phút trong 30 giây ở 4°C, sau đó thu phần dịch nổi (loại bỏ kết tủa). Thêm 800 µl hỗn hợp Chloroform : Isolamylalcohol theo tỷ lệ 24 : 1 (V/V), ly tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút ở 4°C, thu phần dịch nổi. Cho 800 µl ethanol (96%) vào trộn đều rồi ly tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút ở 4°C. Thu kết tủa, rửa tủa bằng ethanol 70% và làm khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Hòa tan kết tủa bằng 50 µl dung dịch TE (10 mM Tris HCl, pH 8.0 và 1 mM EDTA, pH 8.0), bảo quản ở -20°C.

#### 2.2.2. Kỹ thuật PCR

Gen kháng *Piz5* được phát hiện bằng dùng chỉ thị RM527 (Fjellstrom *et al.*, 2006) với cặp mỗi F 5' GGCTCGATCTAGAAAATCCG 3'; R 5' TTGCACAGGTTGCGATAGAG 3'. Gen *Pik-p*, *Pik* được phát hiện bằng dùng chỉ thị RM1233 (Fjellstrom *et al.*, 2004) với cặp mỗi F 5' TTCGTTTTCTTGGTTAGTG 3'; R 5' ATTGGCTCCTGAAGAAGG 3'. Gen *Pita*, *Pita2* được phát hiện bằng dùng chỉ thị RM7102 (Fjellstrom *et al.*, 2004) với cặp mỗi F 5' CGGCTTGAGAGCGTTTTTAG 3'; R 5' TACTTGGTTACTCGGGTCGG 3'.

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 mỗi xuôi, 0.2 µM mỗi ngược, 100 µM dNTP, 10 mM Tris-Cl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton X-100, 1 đơn vị enzyme Taq polymerase. Chu trình nhiệt bao gồm các bước sau; Bước 1: 94°C - 5 phút; Bước 2: 94°C - 30 giây; Bước 3: 55°C - 30 giây; Bước 4: 72°C - 1 phút; lặp lại 35 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4; Bước 5: 72°C - 7 phút, giữ nhiệt độ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện

di trên gel polyacrylamide 4% với máy Sequence Gen (BioRad Laboratories Inc., Hercules, California, USA) trong đệm 0,5xTBE. Hiện hình sản phẩm theo phương pháp nhuộm Bạc (Panaud *et al.*, 1996).

### 2.2.3. Lây nhiễm nhân tạo

Năm mươi giống lúa thu thập tại Việt Nam và 8 dòng đẳng gen được lây nhiễm bệnh nhân tạo theo phương pháp nương mạ của IRRI, 2013: Gieo cây mạ trên khay ở giai đoạn 21 ngày tuổi, phun dịch bào tử nấm đạo ôn nồng độ  $1 \times 10^5$  đến  $5 \times 10^5$  bào tử/ml. Khay mạ được giữ trong 20 giờ tối ở nhiệt độ 25 °C, ẩm độ trên 90%. Sau đó đưa khay mạ ra điều kiện nhiệt độ 25 - 30 °C, độ ẩm trên 90%.

Sau lây nhiễm được 7 ngày, đánh giá phản ứng kháng/nhiễm của các giống. Cấp bệnh được ghi nhận trên từng cây, mỗi giống 10 cây, nhắc 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.



**Hình 1.** Kết quả khảo sát chỉ thị RM527 liên kết với gen *Piz5* trên 50 giống lúa nghiên cứu

Ghi chú: L: ladder, IR85427 (*Piz-5*), IRBL10 (*Piz5*), BC15 (đối chứng không mang gen mục tiêu), 1 - 50: thứ tự các mẫu giống.

Chỉ thị RM527 liên kết chặt với gen kháng *Piz5* nằm trên nhiễm sắc thể số 6 cho band mục tiêu của giống đối chứng mang gen *Piz5* (IR85427, IRBL10) với kích thước đoạn nhân là 226 bp. Dựa vào hình ảnh điện di, so sánh kích thước các band của 50 giống lúa nghiên cứu với đối chứng mang gen được kết quả tại Bảng 1: trong 50 giống lúa nghiên cứu có 6 giống (OM4325, OM5451, Khẩu mumeeng, Pết mường cánh vàng, Đậu mùng, Lúa nương 3) có kích thước đoạn nhân gen là 226 bp bằng với kích thước đoạn nhân gen của dòng mang gen IR85427 và IRBL10. Vậy, có thể sơ bộ kết luận những giống này có khả năng mang gen *Piz5*. Các giống còn lại (44 giống) cho 3 loại alleles khác với đối chứng. Như vậy, các giống này có khả năng không chứa gen mục tiêu *Piz5*.

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

Thí nghiệm được thực hiện năm 2016 tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Phát hiện gen kháng bệnh bằng chỉ thị phân tử ADN

Để phát hiện khả năng chứa gen kháng *Piz5*, *Pita*, *Pita2*, *Pik-p* và *Pik* trong 50 mẫu giống lúa nghiên cứu, chúng tôi sử dụng các cặp mồi được cho là liên kết với những gen này làm phản ứng PCR. Sản phẩm nhân gen được chạy điện di và so sánh với band mục tiêu của dòng đẳng gen làm đối chứng kháng.

Kết quả khảo sát chỉ thị RM527 liên kết với gen *Piz5* trên 50 giống lúa nghiên cứu được thể hiện ở Hình 1.

Kết quả khảo sát chỉ thị RM1233 liên kết gen kháng *Pik-p*, *Pik* trên 50 giống lúa nghiên cứu ở Hình 2.

Chỉ thị RM1233 liên kết với các gen kháng *Pik-p*, *Pik* nằm trên nhiễm sắc thể số 11 cho kích thước đoạn nhân gen mục tiêu lần lượt là 160 bp và 174 bp. So sánh kết quả các band của từng giống nghiên cứu với kích thước band của dòng đẳng gen làm đối chứng ta thu được: 12 giống có kích thước band là 160 bp, tương đương với kích thước band của dòng đẳng gen IRBL7 và IR85422. Có 3 giống cho kích thước band 174 bp, tương đương kích thước band của dòng đẳng gen IR85420 mang gen kháng *Pik*. Có 25 giống cho kích thước band là 164 bp và 176 bp. Các giống này được cho là không mang gen kháng mục tiêu *Pik-p* và *Pik*. Như vậy, có 15 giống có khả năng mang gen kháng mục tiêu *Pik-p* và *Pik*.



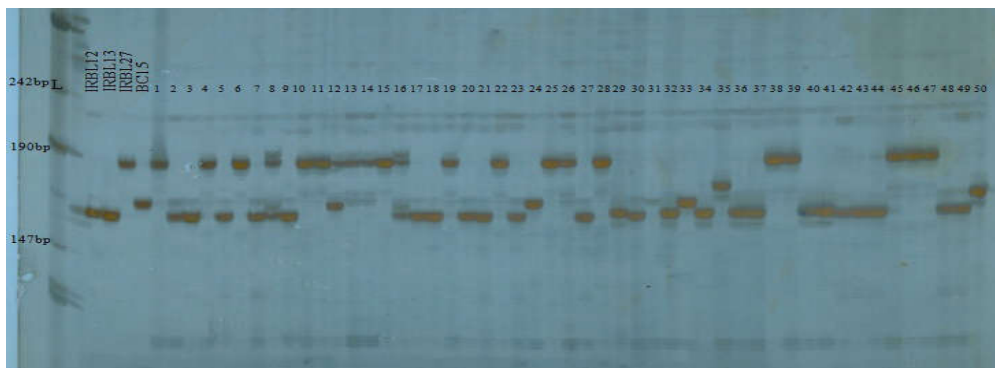
**Hình 2.** Kết quả khảo sát chỉ thị RM1233 liên kết gen kháng *Pik-p*, *Pik* trên 50 giống lúa nghiên cứu

Ghi chú: L: ladder, IRBL7 (*Pik-p*), IR85422 (*Pik-p*), IR85420 (*Pik*), BC15 (đối chứng không mang gen mục tiêu), 1 - 50: thứ tự các mẫu giống.

Kết quả khảo sát chỉ thị RM7102 liên kết gen kháng *Pita*, *Pita2* trên 50 giống lúa nghiên cứu ở Hình 3.

Chỉ thị RM7102 liên kết gen kháng *Pita*, *Pita2* trên nhiễm sắc thể số 12 cho kích thước đoạn nhân gen mục tiêu *Pita* (IRBL12, IRBL13) là 178 bp và *Pita2* (IRBL27) là 190 bp. So sánh kích thước band của 50 giống lúa nghiên cứu với các band của dòng đối chứng mang gen mục tiêu ta thấy: Có 14 giống

cho đoạn nhân gen tương đương với kích thước band của dòng đối chứng mang gen *Pita* là 178 bp. Có 20 giống cho đoạn nhân gen là 190 bp, tương đương với dòng đối chứng mang gen *Pita2*. Có 29 giống cho kích thước band khác đối chứng và một giống lúa (Khẩu mumeeng) không cho đoạn nhân gen nào. Như vậy, sơ bộ kết luận có 14 giống có khả năng mang gen *Pita* và 20 giống có khả năng mang gen *Pita2*.



**Hình 3.** Kết quả khảo sát chỉ thị RM7102 liên kết gen kháng *Pita*, *Pita2* trên 50 giống lúa nghiên cứu

Ghi chú: L: ladder, IRBL12 (*Pita*), IRBL13 (*Pita*), IRBL27 (*Pita2*), BC15 (đối chứng không mang gen mục tiêu), 1-50: thứ tự các mẫu giống.

Qua kết quả kiểm tra gen kháng nhận thấy có 12 mẫu giống mang 2 gen kháng. Trong đó có 2 mẫu giống mang gen *Piz5* và *Pita* (OM4325, OM5451), 3 giống mang 2 gen kháng *Piz5* và *Pik-p* (Pết mừng cánh vàng, Đậu mùng, Lúa nương 3), 4 giống mang 2 gen kháng *Pita2* và *Pik-p* (AC5, SH4, HDT4, HT9), 2 giống mang 2 gen *Pita* và *Pita2* (N46, OM6877), 1 giống mang 2 gen kháng *Pita2* và *Pik* (Q5); 31 giống mang 1 gen kháng: 1 giống mang gen kháng

*Piz5* (Khẩu mumeeng), 10 giống mang 1 gen kháng *Pita* (Hương cốm 2, OM6613, OM6377, ...), 13 giống mang 1 gen kháng *Pita2* (N91, HDT2, OM2517,...), 5 giống mang 1 gen kháng *Pik-p* (Hương cốm 1, IR24, Khẩu mu lai dòng 1, ...), 2 giống mang gen kháng *Pik* (Khẩu mumoong, BT7); 7 giống không có gen kháng nào (BC15, Bèo buột vàng, Lúa nương, Tan nhe 1, Tan nhe 2, A. hung cha, Nếp 98).

### 3.2. So sánh kết quả PCR với lây nhiễm nhân tạo

Các giống lúa thí nghiệm đã được lây nhiễm nhân tạo với chủng nấm đạo ôn. Các dòng đẳng gen cho biểu hiện kháng cao, trong khi đó các giống lúa nghiên cứu cho biểu hiện mức kháng/nhiễm khác nhau. Trong 50 mẫu giống lúa thí nghiệm có 25 mẫu

giống thể hiện tính kháng cao, 21 mẫu giống kháng vừa và 4 mẫu giống nhiễm (AC5, BC15, Hương cốm 1, BT7). Có 43 mẫu giống mang 1 hoặc 2 gen kháng và 7 mẫu giống không mang gen kháng mục tiêu được khảo sát.

**Bảng 1.** So sánh kết quả PCR và lây nhiễm nhân tạo của các giống lúa thí nghiệm

TT	Tên giống	Biểu hiện allen chỉ thị liên kết với gen kháng					Phản ứng của giống với nấm đạo ôn
		<i>Piz5</i>	<i>Pita</i>	<i>Pita2</i>	<i>Pik-p</i>	<i>Pik</i>	
1	AC5	-	-	+	+	-	S
2	Hương cốm 2	-	+	-	-	-	M
3	OM6613	-	+	-	-	-	M
4	SH4	-	-	+	+	-	M
5	OM4325	+	+	-	-	-	M
6	N91	-	-	+	-	-	R
7	OM6377	-	+	-	-	-	R
8	N46	-	+	+	-	-	R
9	LT3	-	+	-	-	-	M
10	HDT2	-	-	+	-	-	M
11	HDT4	-	-	+	+	-	M
12	BC15	-	-	-	-	-	S
13	OM2517	-	-	+	-	-	M
14	P13	-	-	+	-	-	M
15	HDT8	-	-	+	-	-	M
16	OM6877	-	+	+	-	-	M
17	P376	-	+	-	-	-	M
18	HDT7	-	+	-	-	-	M
19	HT9	-	-	+	+	-	R
20	OM5494	-	+	-	-	-	R
21	OM5451	+	+	-	-	-	M
22	OM5626	-	-	+	-	-	M
23	T10	-	+	-	-	-	M
24	Hương cốm 1	-	-	-	+	-	S
25	KG-4900	-	-	+	-	-	R
26	AG-504	-	-	+	-	-	M
27	Tám dự	-	+	-	-	-	R
28	Nghi hương	-	-	+	-	-	M
29	Khẩu mumoong	-	-	-	-	+	R
30	Tan nhe	-	+	-	-	-	R
31	Khẩu mumeeng	+	0	0	-	-	R
32	Bèo buột vàng	-	-	-	-	-	R
33	Lúa nương	-	-	-	-	-	R
34	Khẩu mu lai dòng 1	-	-	-	+	-	R
35	Pết mường cánh vàng	+	-	-	+	-	R

**Bảng 1.** So sánh kết quả PCR và lây nhiễm nhân tạo của các giống lúa thí nghiệm (tiếp)

TT	Tên giống	Biểu hiện allen chỉ thị liên kết với gen kháng					Phản ứng của giống với nấm đạo ôn
		<i>Piz5</i>	<i>Pita</i>	<i>Pita2</i>	<i>Pik-p</i>	<i>Pik</i>	
36	Đậu mùng	+	-	-	+	-	R
37	Lúa nương 3	+	-	-	+	-	R
38	Lúa ngoi	-	-	+	-	-	R
39	Tẻ mèo	-	-	+	-	-	R
40	Tan nhe 2	-	-	-	-	-	R
41	Tan nhe -1	-	-	-	-	-	R
42	Khâm đục	-	-	-	+	-	R
43	A. hung cha	-	-	-	-	-	R
44	BT7	-	-	-	-	+	S
45	KD18	-	-	+	-	-	M
46	Q5	-	-	+	-	+	M
47	HT1	-	-	+	-	-	R
48	IR24	-	-	-	+	-	M
49	Nếp 98	-	-	-	-	-	R
50	Nếp mèo nương	-	-	-	+	-	R
51	IR85427	+					R
52	IRBL10	+					R
53	IRBL12		+				R
54	IRBL13		+				R
55	IRBL27			+			R
56	IRBL7				+		R
57	IR85422				+		R
58	IR85420					+	R

Ghi chú: -: không có gen; +: có gen; R: kháng cao; M: kháng vừa; S: nhiễm.

Trong 25 giống lúa kháng cao với đạo ôn, có 16 giống lúa bản địa (mẫu số 27, 29 - 41, 43, 50) và 9 giống lúa canh tác (mẫu số 6, 7, 8, 19, 20, 25, 42, 47, 49). Trong 16 giống lúa bản địa có 3 giống mang 2 gen kháng, 8 giống mang 1 gen kháng và 5 giống không có gen kháng mục tiêu được khảo sát. Trong 9 giống lúa canh tác có 2 giống mang 2 gen, 6 giống mang 1 gen và 1 giống không mang gen mục tiêu.

Trong 12 mẫu giống có chứa 2 gen kháng có 5 mẫu giống thể hiện tính kháng cao, 6 mẫu giống thể hiện tính kháng vừa và 1 mẫu số 1 nhiễm với chủng nấm đạo ôn.

Có 6 mẫu giống không mang gen kháng mục tiêu được khảo sát nhưng thể hiện tính kháng tốt với chủng nấm đạo ôn (mẫu 32, 33, 40, 41, 43, 49). Các giống lúa này có khả năng mang gen kháng khác cần được tiếp tục nghiên cứu đánh giá về gen kháng để có thể ứng dụng trong các chương trình lai tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn.

Các mẫu giống lúa số 1, 24 và 44 mang kiểu band của gen kháng mục tiêu. Tuy nhiên các giống này biểu hiện kiểu hình nhiễm nấm đạo ôn. Khi phân tích đa hình của chỉ thị phân tử ADN (SSR), biểu hiện alen kháng trên kiểu gen giống mẫu cảm có khả năng xảy ra. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Tacconi và cộng tác viên (2010).

#### IV. KẾT LUẬN

- Ba chỉ thị phân tử RM527, RM1233 và RM7102 liên kết với 5 gen kháng (*Piz5*, *Pik*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita2*) cho đa hình phân biệt tại các locus mục tiêu.

- Có 40 mẫu giống mang kiểu gen kháng mục tiêu và biểu hiện kiểu hình kháng vừa đến kháng cao với bệnh đạo ôn. Trong đó có 11 giống lúa bản địa (mẫu số 29 - 31, 34 - 39, 50) và 29 giống lúa cải tiến.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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.
- Barman, S.R., Gowda, M., Venu, R.C., Chattoo, B.B.** 2004. Identification of a major blast resistance gene in the rice cultivar "Tetep". *Plant Breed.*, 123: 300-302.
- 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 *Pyricularia 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.
- 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.
- Lee S.K., Song M.Y., Seo Y.S., Kim H.K., Ko S., Cao P.J., Suh J.P., Yi G., Roh J.H., Lee S., An G., Hahn T.R., Wang G.L., Ronald P., Jeon J.S.** 2009. Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two coiled-coil-nucleotide-binding-leucine-rich repeat genes. *Genetics*, 181(4): 1627-1638.
- 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. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Gen. Genet.*, 252 (5): 597-607.
- Sharma, T.R., Rai, A.K., Gupta, S.K., and Singh, N.K.** 2010. Broad-spectrum Blast Resistance Gene *Pi-kh* Cloned from Rice Line Tetep Designated as *Pi54.J*. *Plant Biochemistry & Biotechnology*, 19(1): 87-89.
- Xiao, W.M., Q.Y. Yang, H. Wang, T. Guo, Y.Z. Liu, X.Y. Zhu and Z.Q. Chen**, 2011. Identification and fine mapping of a resistance gene to *Magnaporthe oryzae* in a space-induced rice mutant. *Mol. Breed.*, 28: 303-312.
- 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.

## Investigation of rice germplasm for blast resistance gene by DNA markers

Pham Thien Thanh, Duong Thi Thuong, Nguyen Van Giang  
 Nguyen Thi Thu, Duong Xuan Tu, Phan Thi Thanh

## Abstract

50 rice varieties cultivated in rice ecological regions of Vietnam were collected to investigate the ability to carry genes against rice blast disease (*Piz5*, *Pik*, *Pik-p*, *Pita* and *Pita2*) by DNA markers. The results showed that three molecular markers RM527, RM1233 and RM7102 linked to the five resistant genes were polymorphism at the target loci. 40 varieties including 11 local and 29 improved having target genotypes and presenting moderate to high resistance to blast disease were selected based on genotyping at the target loci and artificial inoculation of pathogen. These varieties are valuable materials of blast resistance for rice breeding programs. This information helps rice breeders to improve blast resistance in rice by using molecular marker.

**Keywords:** Rice (*Oryza sativa* L.), *Pyricularia oryzae* resistant gene, DNA marker

Ngày nhận bài: 5/7/2018  
 Ngày phản biện: 11/7/2018

Người phản biện: GS. TS. Phạm Thị Thùy  
 Ngày duyệt đăng: 15/8/2018

## ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH BẠC LÁ VÀ RẦY NÂU CỦA CÁC GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM

Lưu Văn Quyết<sup>1</sup>, Đỗ Thị Hương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Mai Hương<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Phương Nga<sup>1</sup>, Trương Thị Thủy<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Minh<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá (*Xanthomonas oryzae*) và rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) của 200 giống lúa địa phương ở miền Bắc Việt Nam trong điều kiện nhà lưới, cho thấy: không có giống kháng cao với bệnh bạc lá; 1 giống lúa (Tám hoa vàng Bắc Ninh) kháng vừa với nhóm nòi II (isolate 54) có độc tính mạnh, phổ biến phân bố ở các tỉnh phía Bắc; 12 giống lúa (Nếp mùa đỏ Hoà Bình, Tám lùn Hòa Bình, Tám đỏ Sơn Tây, Tám cao Bắc Ninh, ...) kháng vừa với nhóm nòi I (isolate 130) phân bố ở tỉnh Nam Định; 28 giống lúa (Chăn tằm Tây Bắc, Dầu Tuyên Quang, Lin sự nếp Tây Bắc, ...) biểu hiện tính kháng với rầy nâu biotype 3. Đồng thời, đã xác định được giống Tám nhỡ Vĩnh Phúc và giống Tám cao Bắc Ninh vừa kháng với nhóm nòi I của vi khuẩn bạc lá và kháng vừa với rầy nâu. Những giống địa phương kháng với bệnh bạc lá, rầy nâu là vật liệu tốt cho công tác chọn tạo giống lúa kháng sâu bệnh.

**Từ khóa:** Kháng bệnh bạc lá, kháng rầy nâu, giống lúa địa phương

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam được coi là một trong những trung tâm khởi nguyên của cây lúa, tài nguyên di truyền lúa ở nước ta rất phong phú cả về số lượng và chất lượng. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, để đáp ứng nhu cầu lương thực cho xã hội nhiều giống lúa mới có năng suất cao, phẩm chất tốt đưa vào sản xuất thâm canh đã làm mất dần các giống lúa địa phương. Trong khi đó, các giống lúa địa phương do điều kiện chọn lọc tự nhiên thường có ưu thế trong việc chống chịu điều kiện môi trường bất lợi cũng như sinh vật gây hại tại vùng mà chúng đang phát triển.

Hiện nay, trong những sinh vật gây hại làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất, chất lượng trên lúa thì bệnh bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* và rầy nâu *Nilaparvata lugens* là những đối tượng gây hại nghiêm trọng nhất cho sản xuất lúa gạo của nước ta. Theo số liệu thống kê của Cục Bảo vệ thực vật, từ năm 1999 đến năm 2003, bệnh bạc lá làm giảm trung bình từ 6 - 60% năng suất lúa hàng năm. Rầy nâu *N. lugens* không chỉ chích hút nhựa cây, làm cây lúa sinh trưởng phát triển kém, nặng gây cháy rầy, nó còn là môi giới truyền bệnh vi rút vàng lùn lúa, lùn xoắn lá (Phạm Văn Lâm, 2000). Vì vậy, để khai thác và sử dụng nguồn gen kháng sâu bệnh thì việc xác định khả năng kháng bệnh bạc lá và rầy nâu của từng giống lúa địa phương là việc làm rất cần thiết giúp giảm thiểu việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật gây nhiều ảnh hưởng xấu đến con người và môi trường. Bài báo này cung cấp những kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá và rầy nâu trong nhà lưới của 200 giống lúa địa phương ở miền Bắc Việt Nam để xác định nguồn vật liệu phát triển giống lúa chống chịu sâu bệnh ở nước ta.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống lúa: 200 mẫu giống lúa địa phương được cung cấp bởi Trung tâm Tài nguyên thực vật.

- Vi khuẩn bạc lá: Isolate 54 thuộc nhóm nòi II phân bố ở Sóc Sơn, Hà Nội và isolate 130 thuộc nhóm nòi I phân bố ở Yên Đông - Ý Yên - Nam Định (Lưu Văn Quyết và *ctv.*, 2016).

- Rầy nâu: Rầy nâu thu thập trên đồng ruộng ở tỉnh Hải Dương năm 2017 lấy nhiễm trên bộ giống chỉ thị tính kháng rầy nâu và đã xác định rầy nâu thuộc biotype 3. Quần thể rầy nâu biotype 3 được duy trì với số lượng lớn trên giống lúa TN1 để đánh giá cho các mẫu giống lúa.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá theo phương pháp của IRRI năm 2013

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên không lặp lại theo phương pháp khảo sát tập đoàn của IRRI. Mỗi giống cấy 10 khóm, khoảng cách cây cách cây 15 cm, giống cách giống 40 cm. Mỗi khóm cấy 2 - 3 dảnh. Các giống được cấy trên nền phân kích thích bệnh ( $150\text{ N} + 60\text{ P}_2\text{O}_5 + 50\text{ K}_2\text{O}$ ).

Lây nhiễm nhân tạo bệnh bạc lá được tiến hành vào giai đoạn lúa làm đòng bằng phương pháp cắt 3 - 5 cm đầu lá lúa. Dung dịch vi khuẩn lây nhiễm có nồng độ từ  $10^8$  -  $10^9$  bào tử/ml. Cắt toàn bộ số lá trên cây trừ lá già và lá không bình thường. Đánh giá bệnh sau 18 ngày lây nhiễm theo thang 9 cấp của IRRI năm 2013.

<sup>1</sup> Bộ môn Bảo vệ thực vật - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm