

Result of selection of soybean varieties in Yen Dinh, Thanh Hoa

Tran Thi Truong, Trinh Quoc Viet

Abstract

Fourteen soybean varieties were tested and evaluated in winter season 2015 and spring season 2016 in Yen Dinh district, Thanh Hoa province. The results showed that average growth duration of almost soybean varieties was from 86 to 94 days in winter crop and from 89 to 96 days in spring crop. Variety DT2008 had the longest growth duration (118 - 122 days). Five soybean varieties such as ĐT30, ĐT31, ĐT26, 12.01, 2.31.3 were suitable for both winter and spring seasons. Two varieties 12.130.2 and 12.21.7 were well developed in winter season while variety 12.7.7 was well in spring season. These varieties were well developed and slightly infected by rust, powdery mildew and stem borer flies. Their grain yield reached at 2.419 to 2.683 tones/ha, higher than that of the control (1.899 to 1.979 tons/ ha).

Key words: Soybean, selection, high yield, Thanh Hoa province

Ngày nhận bài: 10/12/2016

Ngày phản biện: 19/12/2016

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Chinh

Ngày duyệt đăng: 23/12/2016

LỰA CHỌN CHỈ THỊ PHÂN TỬ PHỤC VỤ CHỌN GIỐNG LÚA KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN

Phạm Thiên Thành¹, Nguyễn Thị Thu¹, Lê Thị Thanh¹,
Nguyễn Thị Hương¹, Đỗ Thị Thanh Thanh¹, Dương Xuân Tú¹,
Nguyễn Trí Hoàn¹, Nguyễn Thế Dương¹, Đỗ Thế Hiếu¹

TÓM TẮT

Bệnh đạo ôn lúa do nấm *Pyricularia grisea* gây ra, được đánh giá là nghiêm trọng ở một số nước trồng lúa, trong đó có Việt Nam. Nghiên cứu chọn tạo các giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đặc biệt là các giống lúa kháng bền vững luôn được xem như là biện pháp hữu hiệu. Bên cạnh những nghiên cứu di truyền về khả năng kháng bệnh đạo ôn, tiến bộ gần đây về hệ gen cây lúa đã cho phép chúng ta sử dụng chỉ thị phân tử ADN hỗ trợ chọn tạo giống lúa kháng bệnh một cách hiệu quả. Trong nghiên cứu này, 16 chỉ thị phân tử ADN liên kết với 8 gen kháng bệnh đạo ôn (*Piz-5*, *Pil*, *Pik*, *Pik-h*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita-2*) được sử dụng để nghiên cứu gen kháng đạo ôn của một số giống lúa. Tổng số 5 chỉ thị phân tử (RM527, RM224, RM206, RM7102, RM1337) cho đa hình giữa giống canh tác và dòng đẳng gen đã được lựa chọn. Thông tin về trình tự và vị trí tương đối của chỉ thị với gen kháng sẽ rất hữu ích với các nhà chọn tạo giống nhằm phát triển giống lúa kháng bệnh đạo ôn.

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

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn lúa do nấm *Pyricularia grisea* gây ra, là một trong những loại bệnh có sức tàn phá mạnh nhất trong các bệnh hại lúa trên toàn thế giới, nó dẫn đến thiệt hại về năng suất tới 65% ở giống lúa mẫn cảm (Li *et al.*, 2007). Sự thiệt hại phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng của cây lúa, mức độ kháng bệnh của giống và điều kiện môi trường. Có hơn 85 quốc gia trồng lúa trên thế giới phát hiện dịch bệnh trong đó có Việt Nam. Nghiên cứu chọn tạo các giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đặc biệt là các giống lúa kháng bền vững luôn được xem như là biện pháp hữu hiệu, ít tốn kém và ít ảnh hưởng đến môi trường trước nguy cơ dịch bệnh luôn có khả năng bùng phát, các loài nấm bệnh mới luôn có khả năng hình thành.

Hiện nay có khoảng 100 gen kháng đạo ôn đã được nhận diện và công bố; trong đó nhóm lúa *japonica* (45%), *indica* (51%), và nhóm khác (4%) (Ballini *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2010; Xiao *et al.*, 2011). Gen kháng đạo ôn phần lớn là đơn gen trội (Mackill and Bonman, 1992). Ngoài ra cũng có những gen trội không hoàn toàn hoặc gen lặn nhưng rất ít (Oka and Lin, 1957). Mỗi gen kháng đạo ôn chỉ có thể kháng với một hoặc vài loài nấm gây bệnh. Thông thường mỗi giống lúa kháng chỉ mang một gen kháng và có thể duy trì khả năng kháng bệnh trong thời gian ngắn sau đó tính kháng của giống bị mất đi do độc tính của nấm đạo ôn thay đổi (Zhou *et al.*, 2007). Vì vậy, muốn giống kháng tốt, bền thì giống phải được quy tụ nhiều gen kháng. Kỹ thuật chồng gen là một

¹ Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

phương pháp phối hợp hai hoặc nhiều gen kháng vào trong cùng một giống và giúp kéo dài hiệu lực của tính kháng, phổ kháng rộng hơn chống lại nhiều nòi phổ biến ở khu vực. Theo truyền thống, phương pháp lấy nhiễm bệnh nhân tạo có thể đánh giá được gen mục tiêu có được chuyển vào giống đích hay không thông qua mức độ biểu hiện kháng nhiễm. Tuy nhiên với phương pháp quy tụ nhiều gen kháng vào một giống thì việc đánh giá lấy nhiễm nhân tạo để xác định sự có mặt của các gen mục tiêu trở nên khó khăn hơn. Trong trường hợp này đã có sự trùng lặp về tính kháng nên gen kháng chính che khuất biểu hiện của gen kháng phụ. Vì vậy, chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng được xác định là công cụ hữu hiệu, giúp các nhà chọn giống xác định sự hiện diện của các gen kháng trong một dòng/giống (Conaway-Bormans *et al.*, 2003).

Ngày nay, nhận diện gen kháng và phân lập nòi nắm đạo ôn yêu cầu hiểu biết sâu hơn ở mức độ phân tử liên quan đến tương tác giữa mầm bệnh với ký chủ và có chiến thuật sử dụng các gen kháng trong các giống lúa thương mại. Trên cơ sở thông tin 8 gen kháng (*Piz-5*, *Pi1*, *Pik*, *Pik-h*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita-2*) còn hiệu lực với các nòi nắm đạo ôn phổ biến trong sản xuất, do bộ môn Bảo vệ thực vật (Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm) xác định để tiến hành nghiên cứu trên các dòng/giống lúa đang phổ biến tại Việt Nam. Để ứng dụng MAS (Marker Assisted Selection) trong chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đã thu thập thông tin về các chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen này đã được công bố trên các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước. Từ đó tìm ra chỉ thị cho đa hình giữa giống mang gen và giống canh tác.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mười ba dòng đạng gen kháng bệnh đạo ôn trên nền di truyền CO39 và LTH do Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI) cung cấp, năm 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, 2).

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 sự (Zheng *et al.*, 1995) có cải tiến. Khoảng 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.

Bảng 1. Các dòng giống lúa vật liệu

TT	Ký hiệu tên dòng	Tên dòng/giống	Gene kháng
1	IRBL 9	IRBLz-Fu	<i>Piz</i>
2	IR85427	IRBLz5-CA[CO]	<i>Piz-5</i>
3	IRBL 10	IRBLz5-CA	<i>Piz5</i>
4	IR85411	IRBL1-CL[CO]	<i>Pi1</i>
5	IR85418	IRBLkh-K3[CO]	<i>Pik-h</i>
6	IR85420	IRBLk-Ku[CO]	<i>Pik</i>
7	IR85421	IRBLkm-Ts[CO]	<i>Pik-m</i>
8	IR85422	IRBLkp-K60[CO]	<i>Pik-p</i>
9	IRBL 7	IRBLkp-K60	<i>Pik-p</i>
10	IR93324	IRBLta-Me[CO]	<i>Pita</i>
11	IRBL 12	IRBLta-K1	<i>Pita</i>
12	IRBL 13	IRBLta-CT2	<i>Pita</i>
13	IRBL 27	IRBLta2-Pi	<i>Pita2</i>
14	BC15	BC15	*
15	NB01	NB01	*
16	BT7	BT7	*
17	BT7KBL	BT7KBL	*
18	T3	T3	*

Ghi chú: *: Không xác định

2.2.2. 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 mỗi xuôi, 0,2 µM mỗi ngược, 100 µM dNTP, 10 mM Tris-Cl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 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 (phụ thuộc vào từng cặp môi) - 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 0,5 × TBE. Hiện hình sản phẩm theo phương pháp nhuộm Bạc (Panaud *et al.*, 1996).

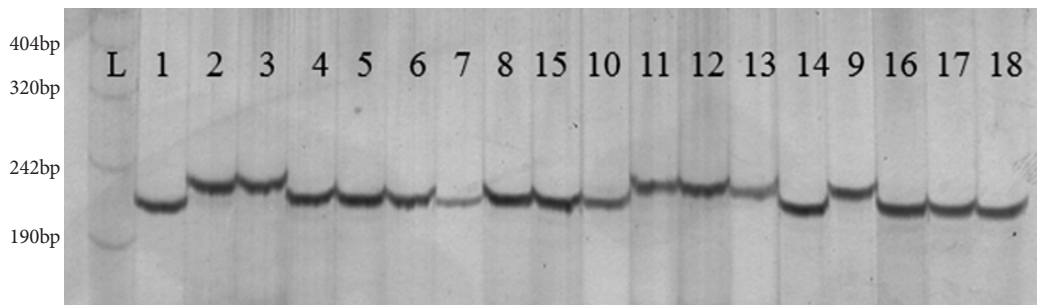
Bảng 2. Danh sách các chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng bệnh đạo ôn

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

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

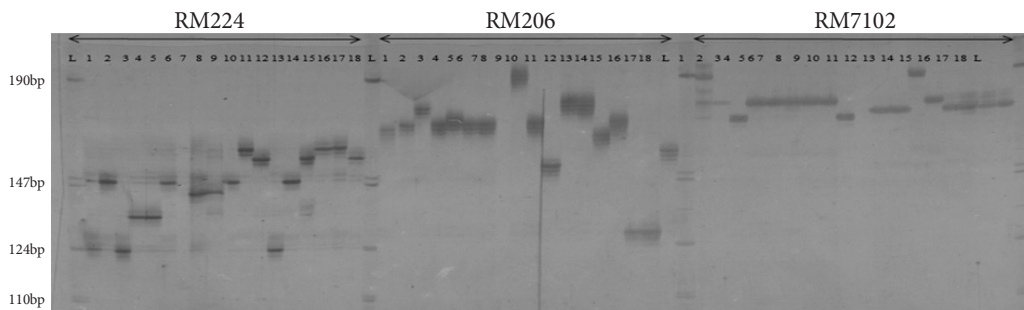
Theo kết quả xác định gen kháng đạo ôn của Bộ môn Bảo vệ thực vật (Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm) cho thấy các gen *Piz-5*, *Pi1*, *Pik*, *Pik-h*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita* và *Pita-2* kháng hữu hiệu với các nòi nấm đạo ôn phổ biến tại các tỉnh phía Bắc. Nhằm ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đã tìm kiếm thông tin chỉ thị phân tử liên kết với các gen kháng này đã được công bố trên các tạp chí trong và ngoài nước (Bảng 2). 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 06 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 1, 2 và 3, bảng 3, bảng 4).



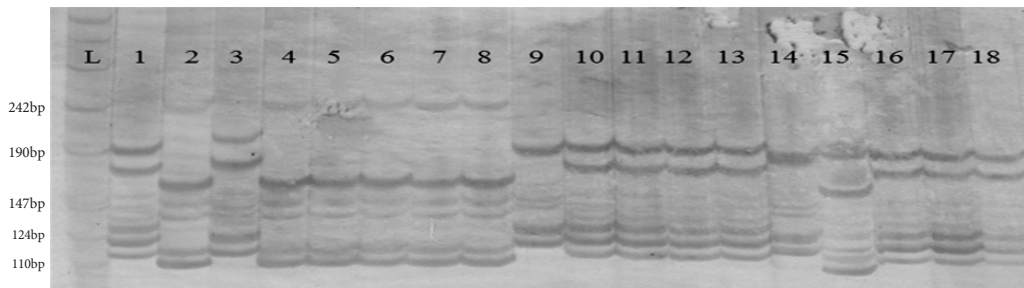
Hình 1. Kết quả khảo sát đa hình marker RM527 liên kết với gen *Piz5*

(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 2. Kết quả khảo sát đa hình marker RM224, RM206 và RM7102

(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 3. Kết quả khảo sát đa hình marker RM1337

(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)

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.

Chỉ thị RM527 liên kết chặt chẽ với gen *Piz5* (bảng 2) nằm trên nhiễm sắc thể số 6 cho đa hình giữa giống mang gen (226 bp) và giống không mang gen (220 bp).

Bảng 3. 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 (<i>Piz</i>)	220	124, 147	168	190, 182	190; 180
2	IR85427 (<i>Piz-5</i>)	226	147	168, 170	182	170
3	IRBL10 (<i>Piz5</i>)	226	124	178	176	200; 184
4	IR85411 (<i>Pi1</i>)	220	136	170	182	170
5	IR85418 (<i>Pik-h</i>)	220	136	172, 170, 168	182	170
6	IR85420 (<i>Pik</i>)	220	146	170, 168	182	170
7	IR85421 (<i>Pik-m</i>)	220	168	170, 168	182	170
8	IR85422 (<i>Pik-p</i>)	220	140	168	182	170
9	IRBL7 (<i>Pik-p</i>)	226	140	190	176	190
10	IR93324 (<i>Pita</i>)	220	146	170, 168	182	190; 180
11	IRBL 12 (<i>Pita</i>)	226	158	150	178	190; 180
12	IRBL 13 (<i>Pita</i>)	226	154	180	178	190; 180
13	IRBL27 (<i>Pita-2</i>)	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 đăng gen

Bảng 4. Thông tin chỉ thị SSR liên kết với gen kháng đạo ôn phục vụ cho MAS

Gene	Chromosome	Vị trí (bp) ^a	Chỉ thị	Trình tự chỉ thị		Vị trí (bp) ^b	
				F (5'-3')	R (5'-3')	Khởi điểm	Kết thúc
<i>Piz5</i>	6	-	RM527	GGCTCGATCTA GAAAATCCG	TTGCACAGGT TGCGATAGAG	9863290	9863522
<i>Pik-h</i>	11	24761902- 24762922	RM206	CCCATGCGTTT AACTATTCT	CGTTCCATCGA TCCGTATGG	22480808	22480980
<i>Pi1</i>	11	26498854- 28374448					
<i>Pik</i>	11	27314916- 27532928					
<i>Pik-m</i>	11	27314916- 27532928					
<i>Pik-p</i>	11	27314916- 27532928	RM224	ATCGATCGATC TTCACGAGG	GTGCTATAAAA GGCATTCGGG	27673251	27673372
<i>Pita</i>	12	10603772- 10609330	RM1337	GCTGAGGAGT ATCCTTTCTC	AC- CATAGGAAGAT CATCACA	11935984	11936165
<i>Pita2</i>	12	10078620- 13211331	RM7102	CGGCTTGA- GAGC GTTTTTAG	TACTTGGT TACTCGGGTC- GG	13213999	13214166

Ghi chú: a: Tanweer et al., 2015; b: The Rice Annotation Project (<http://rapdb.dna.affrc.go.jp/>)

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 2, Bảng 3).

Chỉ thị RM1337 liên kết với nhóm gen *Pita* và *Pita2* cho đa hình phân biệt đồng nhất giữa các dòng đăng 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 đăng 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 (Bảng 4).

Hiện tượng các dòng đăng gen cho kích thước band khác nhau với cùng một chỉ thị (RM206 với gen *Pik-p*; RM7102 với gen *Pita* (Bảng 3) có thể được lý giải bởi nền di truyền của các dòng đăng gen khác nhau (CO39; LTH), hoặc giống cho gen để tạo dòng đăng gen là khác nhau dẫn đến sai khác cấu trúc di truyền tại alen kiểm định.

Tính đa hình của chỉ thị liên kết gen kháng thường chỉ được đánh giá trên vật liệu bố mẹ hoặc với số lượng ít các dòng giống mang kiểu gen kháng và nhiễm. Khi phân tích trên tập đoàn vật liệu lớn hơn như trong thí nghiệm này thì biểu hiện kiểu alen kháng trên kiểu gen giống mẫu cảm thường xảy ra. Kết quả tương tự cũng đã được Tacconi *et al.* (2010) ghi nhận.

IV. KẾT LUẬN

Đã lựa chọn được 5 chỉ thị phân tử SSR (RM527; RM224; RM206; RM1337; RM7102) liên kết cho đa hình giữa các dòng NIL mang gen kháng bệnh đạo ôn (*Piz5*, *Pi1*, *Pik*, *Pik-h*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita-2*) với các dòng giống canh tác. Những chỉ thị này có thể ứng dụng trong các chương trình lai tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn (MAS).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ballini, E., J.B. Morel, G. Droc, A. Price, B. Courtois, J.L. Nottoghem 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.

Conaway-Bormans, C.A., M.A. Marchetti, C.W. Johnson, A.M. McClung and W.D. Park, 2003. Molecular markers linked to the blast resistance gene *Pi-z* in rice for use in marker assisted selection. *Theor. Appl. Genet.*, 107: 1014-1020.

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.

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.

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.
- Tacconi, G., V. Baldassarre, C. Lanzanova, O. Faivre-Rampant, S. Cavigiolo, S. Urso, E. Lupotto and G. Vale,** 2010. Polymorphism analysis of genomic regions associated with broad-spectrum effective blast resistance genes for marker development in rice. *Mol. Breeding*, 26: 595-617.
- Tanweer, F.A., M.Y. Rafii, K. Sijam, H.A. Rahim, F. Ahmed, M.A. Latif,** 2015. Current advance methods for the identification of blast resistance genes in rice. *C. R. Biologies*, 338: 321-334.
- 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.
- Zhou E., Y. Jia, P. Singh, J.C. Correll, F.N. Lee,** 2007. Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AVR-Pita* alters virulence. *Fungal Genet. Biol.*, 44: 1024-1034.

Screening of markers linked to blast resistance genes for rice breeding

Pham Thien Thanh, Nguyen Thi Thu, Le Thi Thanh, Nguyen Thi Huong, Do Thi Thanh Thanh, Duong Xuan Tu, Nguyen Tri Hoan, Nguyen The Duong, Do The Hieu

Abstract

Rice blast is a serious disease caused by a fungal pathogen *Pyricularia grisea*. The use of resistant varieties is considered one of the most efficient ways of crop protection from the disease. In addition to a large amount of information accumulated during the long history of genetic studies on resistance to rice blast, recent progress in rice genomics has enabled us to use DNA markers for breeding resistant varieties. In this research, 16 DNA markers linked to rice blast resistance genes (*Piz-5*, *Pi1*, *Pik*, *Pik-h*, *Pik-m*, *Pik-p*, *Pita*, *Pita-2*) were screened. Total five markers (RM527, RM224, RM206, RM7102, RM1337) giving polymorphism between NIL and cultivation varieties were selected. The study provided information on DNA markers for blast resistance genes, including the sequences of the primer pairs and genetic distances from the resistance genes which will be useful for breeding of blast resistant rice varieties.

Key words: Blast (*Pyricularia grisea*), marker assisted selection (MAS), resistance gene, rice

Ngày nhận bài: 15/01/2017

Ngày phản biện: 18/01/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày duyệt đăng: 24/01/2017

KẾT QUẢ ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ADN TRONG CHỌN TẠO GIỐNG ĐẬU TƯƠNG KHÁNG BỆNH RỈ SẮT

Dương Xuân Tú¹, Nguyễn Văn Lâm¹, Nguyễn Văn Khởi¹, Lê Thị Thanh¹, Nguyễn Thế Dương¹, Lê Huy Nghĩa¹, Nguyễn Huy Chung², Phạm Thị Xuân³

TÓM TẮT

Gen kháng *Rpp2*, *Rpp4* và *Rpp5* trên cây đậu tương đã được xác định là kháng tốt với các nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt đậu tương ở Việt Nam. Các chỉ thị liên kết chặt với các gen kháng này là Satt620 - *Rpp2* = 3,33 cM, Satt288 - *Rpp4* và Sat_275 - *Rpp5* = 4,1 cM đã được công bố và sử dụng trong lai tạo và chọn lọc giống đậu tương kháng rỉ sắt tại Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm từ năm 2013. Từ 1.816 cá thể thuộc 15 tổ hợp lai giữa mẹ là các giống có năng suất cao, ngăn ngày với bố là các giống mang gen kháng rỉ sắt, đến thế hệ F7 đã chọn được 2 giống đậu tương đặt tên là Đ9 và Đ10 mang gen kháng rỉ sắt *Rpp2* cho khảo nghiệm sản xuất. Kết quả khảo nghiệm tại các vùng sinh thái phía Bắc đã khẳng định giống đậu tương Đ9 và Đ10 là giống ngăn ngày (≤ 100 ngày), năng suất đạt từ 28-30 tạ/ha, chống chịu sâu bệnh hại, chống đổ tốt, đáp ứng được mục tiêu chọn tạo đã đề ra, sẽ được phát triển ra sản xuất trong thời gian tới.

Từ khóa: Đậu tương, bệnh rỉ sắt, chỉ thị phân tử, gen kháng

¹ Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm; ² Viện Bảo vệ thực vật; ³ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam