

- 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. Cavigliolo, 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

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, trong những năm vừa qua, sản xuất đậu tương bị giảm sút cả về diện tích và sản lượng, không đáp ứng được nhu cầu sử dụng trong nước. Nguyên nhân chính là do các giống đậu tương trong sản xuất hiện nay chưa có đủ các yêu cầu của sản xuất. Giống có năng suất cao nhưng khả năng chống chịu sâu bệnh kém và ngược lại. Điều này làm cho năng suất đậu tương không cao, hiệu quả sản xuất thấp dẫn đến diện tích đậu tương bị thu hẹp. Do vậy, công tác chọn tạo giống mới có năng suất cao đồng thời có khả năng kháng tốt với sâu bệnh hại là một giải pháp cần thiết để tăng năng suất, hiệu quả sản xuất đậu tương hiện nay.

Trong thời gian vừa qua, tại các tỉnh phía Bắc, một số giống đậu tương mới được chọn tạo và phát triển ra sản xuất theo hướng ngắn ngày như DT84, DT12, Đ9804, DT26... có năng suất trung bình từ 22 - 25 tạ/ha nhưng khả năng chống chịu sâu bệnh, đặc biệt là bệnh rỉ sắt kém. Công tác chọn tạo giống đậu tương ở Việt Nam trong thời gian qua chủ yếu là sử dụng phương pháp lai tạo và chọn lọc truyền thống, do vậy rất khó để chọn được những giống đậu tương đồng thời mang nhiều tính trạng quý, đặc biệt là các tính trạng về khả năng chống chịu sâu bệnh. Hiện nay, chỉ thị phân tử ADN đã được khẳng định như là một công cụ hỗ trợ có hiệu quả trong chọn tạo giống cây trồng. Sử dụng chỉ thị phân tử chọn kiểu gen mục tiêu ngay ở thế hệ sớm đã khắc phục được những hạn chế trong chọn giống truyền thống, nhanh chóng đưa ra được những giống mang được đồng thời các gen qui định tính trạng mong muốn.

Bệnh gỉ sắt đậu tương do nấm *Phakopsora pachyrhizi* Sydow gây ra. Đây là một trong những bệnh hại chính, gây thiệt hại đáng kể về năng suất đậu tương. Các gen kiểm soát tính kháng bệnh rỉ sắt ở đậu tương đã được tìm ra và được định vị trên các nhiễm sắc thể (NST): Gen kháng *Rpp1* trên NSTsố 18 liên kết với chỉ thị Sct_187 và Sat-064 (Hyten *et al.*, 2007); gen kháng *Rpp2* trên NSTsố 16 có 3 chỉ thị liên kết là Sat_225, Satt620 và Satt215 (Abdelnoor *et al.*, 2007); gen kháng *Rpp3* trên NST số 6 với chỉ thị liên kết là Satt460, Sat_263 và Sat_251 (Hyten *et al.*, 2009); gen kháng *Rpp4* trên NST số 18 với chỉ thị liên kết là Satt288 và Sat_191 (Abdelnoor *et al.*,

2007); gen kháng *Rpp5* trên NST số 3 với chỉ thị liên kết là Sat_275 và Sat_280 (Gacia *et al.*, 2008). Ở Việt Nam, Lê Thị Ngọc Vi và Nguyễn Thị Lang (2006) phân tích gen kháng bệnh rỉ sắt đậu tương bằng chỉ thị phân tử microsatellite (SSR) kết hợp với đánh giá kiểu hình bằng lây nhiễm nhân tạo trên 30 giống đậu tương thuộc ngân hàng gen của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Kết quả cho thấy chỉ thị Satt083 và Satt005 liên quan rất chặt với tính kháng bệnh rỉ sắt trên tập đoàn vật liệu nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả tại Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm, đã công bố trên cây đậu tương gen *Rpp2*, *Rpp4* kháng với các nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt tại các vùng trồng đậu tương trong cả nước; gen *Rpp5* kháng với các nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt đậu tương ở khu vực phía Nam. Đồng thời, nhóm tác giả đã công bố kết quả xác định chỉ thị liên kết chặt với các gen kháng này: Satt620-*Rpp2* = 3,33 cM; Satt288-*Rpp4* = 2,1 cM và Sat_275-*Rpp5* = 4,1 cM (Nguyễn Văn Khởi và cs., 2016). Bài báo này đưa ra kết quả sử dụng chỉ thị phân tử đã được xác định liên kết chặt với gen kháng *Rpp2* và *Rpp4* trong chọn lọc giống đậu tương kháng bệnh rỉ sắt cho sản xuất tại các tỉnh phía Bắc Việt Nam theo chỉ tiêu chọn tạo: thời gian sinh trưởng ≤ 100 ngày, năng suất $\geq 2,5$ tấn/ha và kháng tốt với bệnh rỉ sắt.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 1.816 cá thể thế hệ F2 thuộc 15 tổ hợp lai đậu tương giữa mẹ là các giống ngắn ngày, có năng suất cao với bố là các giống đậu tương mang gen kháng bệnh rỉ sắt trong các gen *Rpp2*, *Rpp4* và *Rpp5*, kháng tốt với các nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt đậu tương ở Việt Nam.

- 3 nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt đậu tương đại diện cho các vùng trồng đậu tương ở Việt Nam: IS-15 (Đồng bằng sông Hồng); IS-17 (Bắc Trung bộ) và IS-28 (Tây Nam bộ) được cung cấp bởi Viện Bảo vệ thực vật.

- 3 cặp mỗi chỉ thị liên kết với gen kháng *Rpp2*, *Rpp4* và *Rpp5* cung cấp bởi hãng IDT (Mỹ) sử dụng trong chọn dòng mang gen kháng, được đưa ra trong bảng 1.

Bảng 1. Các cặp môi chỉ thị phân tử liên với gen kháng bệnh rỉ sắt đậu tương

Tên chỉ thị	Gen kháng	Khoảng cách di truyền	Đoạn lặp	Trình tự môi
Satt620	<i>Rpp2</i>	3,33 cM	(ATT)15	F'GCGGGACCGATTAAATCAATGAAGTCA R'GCGCATTTAATAAGGTTTACAAATTAGT
Satt288	<i>Rpp4</i>	2,1 cM	(ATT)17	F'GCGGGGTGATTTAGTGTTTGACACCT R'GCGCTTATAATTAAGAGCAAAAAGAAG
Sat_275	<i>Rpp5</i>	4,1 cM	(AT) 24	F'GGCGGTGGATATGAAACTTCAATAACTACAA R'GGCGGGCTTCAAATAATTACTATAAAACTACGG

Nguồn: Nguyễn Văn Khởi và cs., 2016

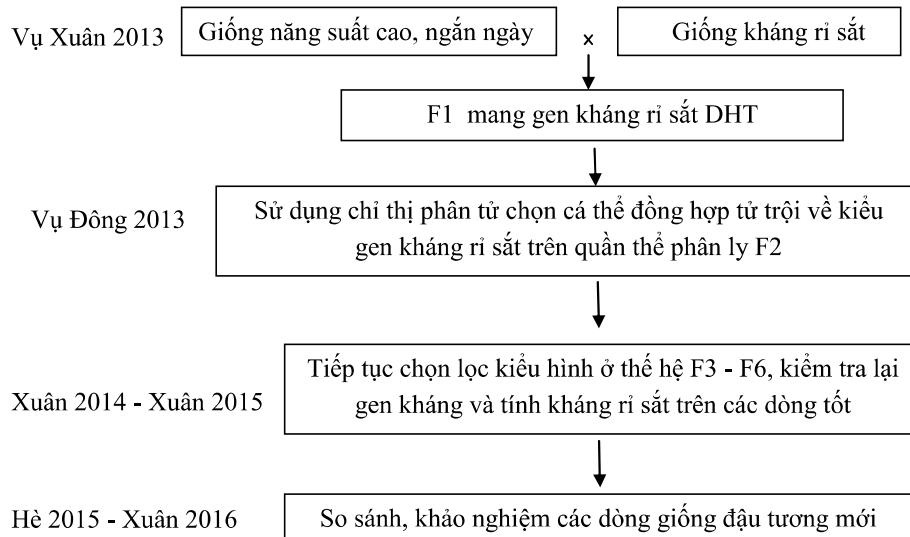
2.2. Phương pháp nghiên cứu

tuần tự không nhắc lại.

2.2.1. Chọn giống theo mục tiêu

- Phương pháp chọn lọc: Phương pháp chọn phả hệ, kết hợp với sử dụng chỉ thị phân tử ADN chọn kiểu gen kháng rỉ sắt ở thế hệ sớm, theo sơ đồ sau:

- Bố trí thí nghiệm: Quần thể F2 được gieo hỗn theo từng tổ hợp. Chọn lọc dòng phân ly được bố trí



2.2.2. Kỹ thuật chỉ thị phân tử xác định gen kháng rỉ sắt

- Điện di sản phẩm PCR

Xác định gen kháng *Rpp2*, *Rpp4* và *Rpp5* trong các cá thể F2.

Sản phẩm PCR được điện di bằng máy điện di mao quản và điện di trên gel agarose 2,5 %, ladder 100bp, điện thế 100V, thời gian 40 phút. Bản gel được nhuộm bằng Ethidium bromide 0,5 µg/ml và được phân tích trên máy chụp hình gel (gel DOC).

- Tách chiết AND: ADN được tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle và cộng sự có cải tiến (Doyle et al., 1987).

2.3. Đánh giá nhân tạo bệnh rỉ sắt đậu tương

- Phản ứng nhân gen (PCR).

Phương pháp nhiễm bệnh nhân tạo và đánh giá tính kháng nhiễm được thực hiện theo quy trình của TS. Nguyễn Thị Bình và cs. (2008). Đánh giá tính kháng bệnh của các dòng, giống được tiến hành sau khi nhiễm bệnh 14 ngày, đánh giá từ 3-4 lần, mỗi lần cách nhau từ 7-10 ngày cho đến khi giống đối chứng đạt cấp bệnh cao nhất. Các giống đậu tương kháng bệnh phải đạt được các tiêu chuẩn sau: Chỉ số AUDPC bằng hoặc thấp hơn so với giống chuẩn kháng; Bào tử hình thành ít hoặc đạt điểm từ 1- 3; Có vết bệnh kiểu RB .

Thành phần phản ứng: Mỗi phản ứng PCR 25µl bao gồm: 8,2µl nước cất hai lần khử ion; 1,5µl đệm PCR 10X + MgCl₂ 25mM; 0,5µl dNTPs 10mM; 0,8µl Taq DNA polymerase 1U/µl; 3µl mỗi xuôi 5µM + Mỗi ngược 5µM; 1,0µl DNA 10 ng/µl.

Chu trình nhiệt: Chương trình PCR trên máy Bio-rad 9800: 95°C - 5 phút; 35 chu kỳ (95°C - 30 giây; 58°C - 1 phút; 72°C - 1,5 phút); 72°C - 5 phút; giữ mẫu ở 4°C.

2.4. So sánh và khảo nghiệm giống đậu tương mới

So sánh và khảo nghiệm giống đậu tương được thực hiện theo QCVN 01-58: 2011/BNNPTNT. Sử dụng bộ giống đối chứng về năng suất là DT96 và DT84 về khả năng kháng/ nhiễm bệnh rỉ sắt là các giống ĐT2000 (đối chứng kháng), V74 và ĐT12 (đối chứng nhiễm).

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên máy vi tính theo chương trình thống kê Excel 5.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn lọc cá thể trên quần thể F2 của 15 tổ hợp lai đơn

Gieo trồng thế hệ F2 của 15 tổ hợp lai đậu tương được lai tạo từ vụ Xuân 2013 với mẹ là các giống ngắn ngày (≤ 100 ngày) có năng suất cao trên 2,5 tấn/ha và bố là các dòng/giống mang gen kháng rỉ sắt (*Rpp2*, *Rpp4* và *Rpp5*), kháng tốt với bệnh rỉ sắt ở Việt Nam. Chọn cá thể F2 trên đồng ruộng theo hướng: ngắn ngày, dạng hình đẹp, tiềm năng năng suất cao (phân nhánh nhiều, nhiều quả, nhiều quả 3 hạt...), chống chịu tốt với sâu bệnh hại. Những cá thể tốt sau khi được chọn, ở giai đoạn kết thúc chụm hoa ngọn, được tiến hành lấy mẫu lá để phân tích kiểu gen kháng. Tiếp tục chọn những cá thể mang gen kháng rỉ sắt đồng hợp. Kết quả thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả chọn lọc cá thể thế hệ F2 trong vụ Đông 2013

TT	Tên tổ hợp	Số cá thể đánh giá	Chọn kiểu gen kháng bệnh rỉ sắt đồng hợp tử			
			Tổng số	<i>Rpp2</i> (Satt620)	<i>Rpp4</i> (Satt288)	<i>Rpp5</i> (Sat_275)
1	Đ8 × ĐT2000	42	10	10	-	-
2	TL7 × ĐT2000	305	23	8	-	15
3	TL7 × DT95	244	29	-	29	-
4	M103 × DT95	50	31	-	31	-
5	DT84 × Nhất Tiến	148	25	17	-	8
6	AK03 × Nhất Tiến	180	31	11	-	20
7	Đ8 × Cao Bằng	-	-	-	-	-
8	DT84 × Cao Bằng	46	29	29	-	-
9	AK03 × ĐT2000	50	15	15	-	-
10	DT84 × ĐT2000	146	21	12	-	9
11	M103 × ĐT2000	154	10	10	-	-
12	AK03 × DT95	300	31	-	31	-
13	TL7 × ĐT92	152	30	30	-	-
14	ĐH4 × ĐT2000	-				
15	TL7 × Cao Bằng 8325	-				
	<i>Tổng số</i>	<i>1.816</i>	<i>285</i>			

Ở thế hệ F2 đã chọn được 285 cá thể tốt, ngắn ngày, tiềm năng năng suất cao, mang gen kháng bệnh rỉ sắt ở trạng thái đồng hợp tử. Các cá thể này được gieo thành dòng để tiếp tục chọn lọc dòng phân ly theo mục tiêu từ thế hệ F3.

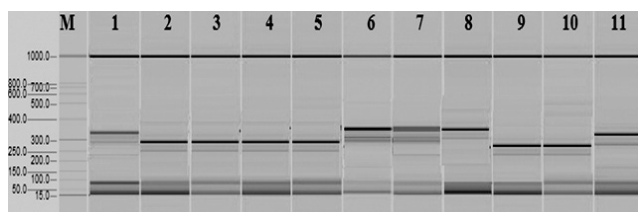
Kết quả chọn lọc đến vụ Xuân 2015 đã chọn được 60 dòng tốt ở thế hệ F6 có độ thuần tương đối cao. Các dòng này được kiểm tra gen kháng bệnh rỉ sắt, đánh giá tính kháng bệnh rỉ sắt nhân tạo. Kết quả

đánh giá, đã chọn được 13 dòng đậu tương ưu tú có thời gian sinh trưởng ngắn từ 86 - 95 ngày, tiềm năng năng suất trên 25 tạ/ha, chống chịu tốt với sâu bệnh hại, mang gen kháng bệnh rỉ sắt và thể hiện tính kháng cao với nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt trong đánh giá nhân tạo. Các dòng đậu tương này được chuyển thí nghiệm so sánh trong vụ Hè 2015 để chọn giống đậu tương triển vọng cho khảo nghiệm sản xuất.

Bảng 3. Kiểm tra gen kháng và phản ứng với các nguồn nấm gây bệnh rỉ sắt của các dòng đậu tương ưu tú được chọn trong vụ Xuân 2015

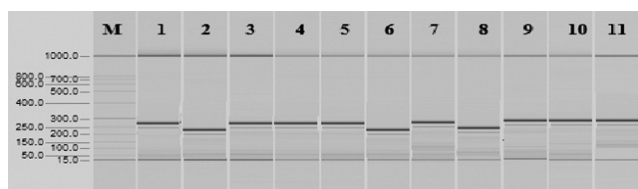
TT	Ký hiệu dòng	Tổ hợp	Đánh giá bệnh rỉ sắt			
			Gen kháng	Phản ứng với nấm bệnh		
				Nguồn IS-15	Nguồn IS-17	Nguồn IS-28
1	VD1-1-1	Đ8 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB
2	VD1-1-2	Đ8 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	MIX	TAN	MIX
3	VD1-2-1	TL7 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB
4	VD1-2-2	TL7 × ĐT2000	<i>Rpp2+Rpp5</i>	RB	RB	MIX
5	VD1-3-1	TL7 × DT95	<i>Rpp4</i>	RB	RB	RB
6	VD1-3-7	TL7 × DT95	<i>Rpp4</i>	RB	RB	RB
7	VD1-4-4	M103 × DT95	<i>Rpp4</i>	RB	RB	RB
8	VD1-9-1	AK03 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB
9	VD1-10-1	DT84 × ĐT2000	<i>Rpp2+Rpp5</i>	RB	RB	RB
10	VD1-10-3	DT84 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB
11	VD1-10-4	DT84 × ĐT2000	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB
12	VD1-12-2	AK03 × DT95	<i>Rpp4</i>	RB	MIX	RB
13	VD1-13-2	TL7 × ĐT92	<i>Rpp2</i>	RB	RB	RB

Ghi chú: RB = kháng; MIX = kháng trung bình; TAN = nhiễm



Satt620 - *Rpp2*:

Giếng 1: Đ8; 2: ĐT2000; 3: VD1-1-2; 4: VD1-2-1; 5: VD1-2-2; 6: VD1-3-1; 7: VD1-3-7; 8: VD1-4-4; 9: VD1-9-1; 10: VD1-10-1 và 11: VD1-10-3



Satt288 - *Rpp4*

Giếng 1: TL7; 2: DT95; VD1-1-1; 3: VD1-1-2; 4: VD1-2-1; 5: VD1-2-2; 6: VD1-3-1; 7: VD1-4-1; 8: VD1-4-4; 9: VD1-9-1; 10: VD1-10-1 và 11: VD1-10-3

Hình 1. Hình ảnh điện di trên máy điện di mao quản sản phẩm PCR nhận diện gen kháng *Rpp2* bằng chỉ thị Satt620 và *Rpp4* bằng chỉ thị Satt288 trong các dòng triển vọng thế hệ F6, vụ Xuân 2015

3.2. Kết quả so sánh 13 giống đậu tương triển vọng thế hệ F7 trong vụ Hè năm 2015

- Kết quả đánh giá đặc điểm hình thái của 13

giống đậu tương triển vọng trong vụ Hè 2015 được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Đặc điểm hình thái của 13 giống triển vọng trong vụ Hè 2015

TT	Tên giống	Hình dạng lá	Màu lá	Màu hoa	Màu vỏ quả	Màu vỏ hạt
1	VD1-1-1	Trứng	Xanh nhạt	Tím	Vàng	Vàng
2	VD1-1-2	Trứng	Xanh nhạt	Trắng	Vàng	Vàng
3	VD1-2-1	Trứng	Xanh nhạt	Tím	Vàng	Vàng sáng
4	VD1-2-2	Trứng	Xanh đậm	Trắng	Nâu	Vàng
5	VD1-3-1	Trứng	Xanh đậm	Trắng	Nâu	Vàng
6	VD1-3-7	Trứng	Xanh đậm	Trắng	Vàng	Vàng
7	VD1-4-4	Trứng	Xanh nhạt	Tím	Vàng	Vàng
8	VD1-9-1	Trứng nhọn	Xanh đậm	Tím	Vàng	Vàng
9	VD1-10-1	Trứng nhọn	Xanh đậm	Tím	Vàng	Vàng sáng
10	VD1-10-3	Trứng	Xanh đậm	Trắng	Nâu	Vàng
11	VD1-10-4	Trứng	Xanh đậm	Trắng	Vàng	Vàng
12	VD1-12-2	Trứng	Xanh nhạt	Tím	Vàng	Vàng
13	VD1-13-2	Tr/ nhọn	Xanh đậm	Tím	Vàng	Vàng sáng

- Đặc điểm sinh trưởng và khả năng chống chịu trên đồng ruộng của 13 giống đậu tương triển vọng trong vụ Hè 2015 trong bảng 5, cho thấy: Các giống

có thời gian sinh trưởng dao động từ 86 - 98 ngày; chiều cao cây từ 34,9 - 58,0 cm; kháng bệnh rỉ sắt tốt (điểm 1); Khả năng chống đổ từ điểm 1 - 2.

Bảng 5. Một số đặc điểm sinh trưởng chính và chống chịu của 13 giống đậu tương triển vọng trong vụ Hè 2015

TT	Tên giống	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Cao cây (cm)	Số cành cấp 1	Bệnh gỉ sắt (điểm1-9)	Chống đổ (điểm1-5)
1	VD1-1-1	92	56,4	2,2	1	1-2
2	VD1-1-2	90	58,0	3,3	1	2
3	VD1-2-1	86	47,0	1,9	1	1
4	VD1-2-2	90	34,9	1,2	1	1
5	VD1-3-1	95	38,1	2,2	1	1
6	VD1-3-7	86	56,7	4,3	1	1-2
7	VD1-4-4	86	56,2	3,8	1	2
8	VD1-9-1	98	47,8	1,8	1	1
9	VD1-10-1	95	47,0	1,4	1	1
10	VD1-10-3	92	38,3	2,2	1	1
11	VD1-10-4	95	56,5	4,3	1	2
12	VD1-12-2	88	56,5	3,8	1	2
13	VD1-13-2	87	48,3	2,2	1	1
	DT84 (đ/c)	90	56,5	2,0	1	2

- Đánh giá về năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của 13 dòng giống đậu tương triển vọng,

kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các giống đậu tương triển vọng trong vụ Hè 2015

TT	Tên giống	Số quả/cây	Khối lượng 1000 hạt (g)	Năng suất cá thể (g/cây)	Năng suất thực thu (tạ/ha)
1	VD1-1-1	35,2	173	10,8	23,5
2	VD1-1-2	33,9	174	11,1	22,4
3	VD1-2-1	39,5	185	11,6	25,5
4	VD1-2-2	23,3	175	10,8	18,9
5	VD1-3-1	34,6	172	11,2	21,8
6	VD1-3-7	38,5	171	11,5	25,1
7	VD1-4-4	39,5	173	10,8	22,2
8	VD1-9-1	40,8	180	11,4	25,8
9	VD1-10-1	32,7	171	10,9	23,2
10	VD1-10-3	29,3	170	11,5	21,8
11	VD1-10-4	39,4	180	11,6	25,2
12	VD1-12-2	33,5	172	11,6	22,2
13	VD1-13-2	30,5	174	10,8	21,2
	DT84 (đ/c)	31,2	172	9,8	21,5
	CV%	8,7		7,6	9,4
	LSD _{.05}	3,1		1,5	2,3

Hầu hết các giống có khả năng cho năng suất và có các yếu tố cấu thành năng suất cao so với giống đối chứng, 2 giống có năng suất cao nhất là VD1-2-1 (Đ9) của tổ hợp lai TL7 × ĐT2000 đạt 25,5 tạ/ha và VD1-9-1 (Đ10) của tổ hợp lai AK03 × ĐT2000 đạt 25,8 tạ/ha được chọn để đưa khảo nghiệm sản xuất từ vụ Xuân 2016.

3.3. Khảo nghiệm sản xuất giống đậu tương triển vọng tại khu vực phía Bắc

Giống đậu tương triển vọng Đ9 và Đ10 được gửi khảo nghiệm quốc gia và khảo nghiệm sản xuất tại các vùng sinh thái phía Bắc trong vụ Xuân và vụ Hè

- Thu 2016.

* Kết quả khảo nghiệm Quốc gia

Trong vụ Xuân 2016, giống đậu tương Đ9 và Đ10 được khảo nghiệm 5 điểm trong mạng lưới khảo nghiệm quốc gia tại các tỉnh Vĩnh Phúc, Hải Dương, Thái Bình và Hà Nội.

- Đặc điểm sinh trưởng và khả năng chống chịu đồng ruộng của giống đậu tương Đ9 và Đ10 được đưa ra trong bảng 7. Thời gian sinh trưởng của giống Đ9 là 101 ngày và giống Đ10 là 105 ngày. Khả năng chống bệnh gỉ sắt, bệnh sương mai và chống đổ ở mức cao, điểm 1 - 3.

Bảng 7. Đặc điểm sinh trưởng và khả năng chống chịu của giống đậu tương Đ9 và Đ10 trong khảo nghiệm Quốc gia vụ Xuân 2016

TT	Tên giống	TGST (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Bệnh gỉ sắt (điểm)	Bệnh sương mai (điểm)	Chống đổ (điểm)
1	Đ9	101	66,4	1-3	1-3	1-2
2	Đ10	105	62,0	1-3	1-3	1-2
3	DT84 (đ/c)	96	55,4	1-3	1-3	1-2

(Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm Giống cây trồng Quốc gia)

- Năng suất của giống Đ9 và Đ10 trong các điểm khảo nghiệm đạt khá cao, trung bình là 25,6 tạ/ha đối với giống Đ9 và 28,3 tạ/ha đối với giống Đ10,

cao hơn hẳn so với giống đối chứng là DT84 (trung bình đạt 21,2 tạ/ha) (Bảng 8).

Bảng 8. Năng suất (tạ/ha) của giống đậu tương Đ9 và Đ10 tại các điểm khảo nghiệm Quốc gia trong vụ Xuân 2016

TT	Tên giống	Điểm khảo nghiệm					Trung bình
		Hà Nội		Hải Dương	Thái Bình	Vĩnh Phúc	
		Từ Liêm	Văn Điển				
1	Đ9	23,5	20,2	25,0	34,7	24,7	25,6
2	Đ10	28,3	25,0	28,0	32,3	27,8	28,3
3	DT84 (đ/c)	18,5	18,7	18,9	29,4	20,4	21,2
	CV%	3,5	6,6	5,0	7,6	6,2	
	LSD _{.05}	1,8	3,1	2,7	5,5	3,4	

(Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm Giống cây trồng Quốc gia)

* Kết quả khảo nghiệm sản xuất xuất tại một số vùng sinh thái phía Bắc như Thái Nguyên, Vĩnh Phúc và Hải Dương. Diện tích mỗi điểm khảo nghiệm là 1000m²/1 giống. Kết quả được đưa ra trong bảng 9 và 10.

Bảng 9. Thời gian sinh trưởng và khả năng chống chịu của giống đậu tương Đ9 và Đ10 tại các điểm khảo nghiệm trong vụ Xuân và vụ Hè - Thu 2016

TT	Giống	Thời gian sinh trưởng (ngày)		Bệnh gỉ sắt (điểm 1-9)		Bệnh sương mai (điểm 1-9)		Chống đổ (điểm 1-5)	
		Xuân	Hè	Xuân	Hè	Xuân	Hè	Xuân	Hè
		1	Đ9	82 - 89	80 - 85	1	1	1 - 3	1
2	Đ10	92- 97	90 - 97	1	1	1	1	1-2	1 - 2
3	DT96 (đ/c)	92 - 95	-	1	-	1 - 3	-	1 - 2	-
4	DT84 (đ/c)	-	85 - 94	-	1	-	1	-	1

Giống đậu tương Đ9 có thời gian sinh trưởng là 80 - 89 ngày, tương đương với thời gian sinh trưởng của giống DT84 (85 - 94 ngày) và ngắn hơn so với thời gian sinh trưởng của giống giống DT96 (90 - 97 ngày). Giống Đ10 có thời gian sinh trưởng 90 - 97 ngày, tương đương với thời gian sinh trưởng của giống DT96 và dài hơn so với giống DT84. Khả năng chống chịu bệnh rỉ sắt, bệnh sương mai và khả năng chống đổ của giống đậu tương Đ9 và Đ10 được đánh

giá ở mức cao, điểm 1 - 3 (Bảng 9).

Năng suất hạt của giống đậu tương Đ9 và Đ10 tại các điểm khảo nghiệm được đánh giá khá cao và tương đối đồng đều trên các điểm khảo nghiệm. Trung bình tại các điểm khảo nghiệm, năng suất của giống Đ9 đạt từ 28,0 - 28,3 tạ/ha và của giống Đ10 đạt 29,4 - 30 tạ/ha/ha, cao hơn hẳn so với giống đối chứng DT96 (25,6 tạ/ha) và DT84 (24,9 tạ/ha) trong cả vụ Xuân và vụ Hè - Thu (Bảng 10).

Bảng 10. Năng suất của giống đậu tương Đ9 và Đ10 tại các điểm khảo nghiệm trong vụ Xuân và vụ Hè - Thu 2016

Mùa vụ	Giống	Thái Nguyên	Vĩnh Phúc	Hải Dương	Trung bình
Xuân	Đ9	27,8	27,6	28,7	28,0
	Đ10	28,7	29,3	30,1	29,4
	DT96 (đ/c)	25,3	25,7	25,9	25,6
Hè - Thu	Đ9	26,5	30,9	27,5	28,3
	Đ10	27,6	33,0	29,5	30,0
	DT84 (đ/c)	24,9	24,8	25,1	24,9

Qua kết quả khảo nghiệm cho thấy giống đậu tương Đ9 và Đ10 có thời gian sinh trưởng ngắn, từ 85 - 97 ngày, khả năng chống chịu tốt với một số loại bệnh hại chính như rỉ sắt, sương mai, chống đổ tốt. Năng suất của 2 giống này đạt khá cao, trung bình từ

28,0 - 30,0 tạ/ha, cao hơn hẳn so với giống đối chứng là DT84 và DT96 (24,9 - 25,6 tạ/ha) trong cả vụ Xuân và vụ Hè - Thu. So với mục tiêu chọn tạo là chọn giống đậu tương có thời gian sinh trưởng ≤ 100 ngày, năng suất ≥ 25 tạ/ha, kháng tốt với bệnh rỉ sắt, chống chịu

đồng ruộng tốt thì giống đậu tương Đ9 và Đ10 đã đáp ứng được mục tiêu chọn tạo. Bên cạnh đó, giống đậu tương Đ9 và Đ10 thích ứng và cho năng suất cao ở cả 3 vụ trồng đậu tương ở các tỉnh phía Bắc là vụ Xuân, vụ Hè - Thu và vụ Đông. Đây cũng là một yêu cầu cho sản xuất hiện nay, vì hiện bộ giống đậu tương của các tỉnh phía Bắc phần lớn không thích ứng trong cả 3 vụ. Giống đậu tương vụ Xuân và vụ Đông phần lớn không cho hạt hoặc năng suất thấp trong vụ Hè và ngược lại. Thực tế sản xuất, do hạt giống đậu tương khó bảo quản cách vụ (thường phải bảo quản trong điều kiện lạnh) người nông dân thường sử dụng hạt giống trồng trong vụ hè (như DT84, ĐT12) chuyển trồng vụ đông nên năng suất thấp.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống đậu tương kháng bệnh rỉ sắt cho các tỉnh phía Bắc, từ vườn dòng 1.816 cá thể F2 của 15 tổ hợp lai trong vụ Xuân 2013 đến vụ Hè 2015 đã chọn được 2 giống đậu tương đặt tên là Đ9 và Đ10 có thời gian sinh trưởng ngắn từ 85 - 95 ngày, năng suất từ 25,6 - 28,3 tạ/ha, mang gen kháng rỉ sắt *Rpp2* cho khảo nghiệm để mở rộng sản xuất. Kết quả khảo nghiệm tại các vùng sinh thái phía Bắc đã khẳng định giống đậu tương Đ9 và Đ10 là giống ngắn ngày (≤ 100 ngày), năng suất đạt từ 28,0 - 30,0 tạ/ha, chống chịu sâu bệnh hại, chống đổ tốt, đáp ứng được mục tiêu chọn tạo đã đề ra. Giống đậu tương Đ9 và Đ10 là giống đậu tương triển vọng, phù hợp với điều kiện sản xuất hiện nay sẽ được phát triển ra sản xuất trong thời gian tới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Lê Thị Ngọc Vi, Nguyễn Thị Lang, 2006. Nghiên cứu gen kháng bệnh rỉ sắt trên cây đậu nành bằng

phương pháp phân tử microsatellite. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, kỳ 1, tháng 9/2006: 36-39.

Nguyễn Thị Bình, 1990. *Nghiên cứu và đánh giá khả năng chống chịu bệnh rỉ sắt (Phacopsora pachyrhizi Sydow) của tập đoàn đậu tương ở miền Bắc Việt Nam*. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội.

Nguyễn Văn Khởi, Dương Xuân Tú, Nguyễn Thanh Tuấn, Nguyễn Văn Lâm, Nguyễn Huy Chung, Đinh Xuân Hoàn, Lê Thị Thanh, Nguyễn Thị Thu và Phan Hữu Tôn, 2016. Nghiên cứu xác định hệ quả của một số gen kháng bệnh rỉ sắt ở đậu tương Việt Nam và chỉ thị phân tử liên kết với chúng. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, số 8 (14), trang 1156 - 1161.

Abdelnoor. R V, Maria Cristina, Kazuhiro Suenaga, Naoki Yamanaka, 2009. Characterization of genes *Rpp2*, *Rpp4*, and *Rpp5* for resistance to soybean rust. *Plant and Animal Genomes XV Conf*, poster 413.

Doyle J.J. and J.L. Doyle, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 11-15.

Garcia A, Calvo ES, de Souza Kiihl RA, Harada A, Hiromoto DM and Vieira LG, 2008. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: Discovery of a novel locus and alleles. *Theor Appl Genet* 117: 545-553.

Hyten D. L, Hartman G. L, Nelson R. L, Frederick R. D, Concibido V. C, Narvel J. M and Cregan P. B, 2007. Map Location of the *Rpp1* Locus That Confers Resistance to Soybean Rust in Soybean. *Crop Sci* 47:837-840.

Hyten D L, Nelson R. L, Frederick R. D, 2009. A High Density Integrated Genetic Linkage Map of Soybean and the Development of a 1536 Universal Soy Linkage Panel for Quantitative Trait Locus Mapping. <http://crop.scijournal.org>.

Application of molecular markers for breeding rust resistant soybean varieties in Vietnam

Duong Xuan Tu, Nguyen Van Lam, Nguyen Van Khoi, Le Thi Thanh, Nguyen The Duong, Le Huy Nghia, Nguyen Huy Chung, Pham Thi Xuan

Abstract

Resistant (R) genes, *Rpp2*, *Rpp4* and *Rpp5* in soybean (*Glycine max*) have been identified to be highly resistant to rust fungus in Vietnam. Three published markers tightly linked to R genes (*Satt620 - Rpp2* = 3,33cM, *Satt288 - Rpp4*, and *Sat_275 - Rpp5* = 4,1cM) were used for breeding rust resistant soybean varieties at the Field Crops Research Institute (FCRI) from 2013. Based on 1,816 individuals of F2 population derived from 15 bi-parental crosses with the male parent carrying rust resistant gene, two new varieties named D9 and D10 of F7 generations carrying rust *Rpp2* genes were selected for production trials. The result of production trials at different ecological regions in Northern Vietnam confirmed that D9 and D10 varieties were of short duration (≤ 100 days) with the yield of 2.8 - 3.0 tons/ha, high resistant to pests and diseases, well-lodging tolerance, meeting the breeding purposes. These two varieties will be developed for wide production in the near future.

Key words: Molecular markers, soybean, rust disease, resistant genes

Ngày nhận bài: 12/01/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Chinh

Ngày phản biện: 16/01/2017

Ngày duyệt đăng: 24/01/2017

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT CANH TÁC CHO GIỐNG LÚA DỰ THƠM TẠI TIỀN HẢI, THÁI BÌNH

Trần Thị Thu Hoài¹, Trần Danh Sứ², Hoàng Thị Nga¹,
Đình Bạch Yến¹, Lê Tuấn Nghĩa¹, Lê Thị Loan¹,
Nguyễn Thị Bích Thủy¹, Lưu Quang Huy¹, Nguyễn Thị Hiền¹

TÓM TẮT

Giống lúa Dự thơm Thái Bình là giống lúa Mùa địa phương có nguồn gốc từ huyện Tiên Hải, tỉnh Thái Bình. Đây là giống lúa có chất lượng cơm thơm ngon, dẻo, vị đậm và có khả năng thích nghi tốt với đất nhiễm mặn ven biển. Giống lúa này hiện vẫn còn được sử dụng trong sản xuất nhưng năng suất thấp, hiệu quả kinh tế không cao. Nghiên cứu này tập trung xác định thời vụ gieo, mật độ cấy và mức phân bón thích hợp cho giống lúa Dự thơm Thái Bình. Các thí nghiệm được tiến hành tại xã Nam Hưng, Tiên Hải, Thái Bình trong 2 năm 2015 và 2016. Kết quả thu được như sau: Ở mật độ 25 khóm/1m² (M3) cho số hạt chắc cao nhất, đạt 1.376-1.393 hạt/khóm; năng suất thực thu cũng đạt cao nhất là từ 38,7-39,7 tạ/ha. Thời vụ gieo từ 4 đến 20 tháng 6 có số hạt chắc cao nhất là 1.458-1.486 hạt/khóm và cho năng suất cao nhất, đạt từ 39,0-41,7 tạ/ha. Mức phân đạm phù hợp cho giống lúa Dự thơm Thái Bình là từ 40-60 kg N/ha, trong đó công thức sử dụng 60N/ha cho số hạt chắc 1.415-1.433 hạt/khóm và năng suất thực thu là cao nhất 39,0-40,1 tạ/ha.

Từ khóa: Giống lúa Dự thơm Thái Bình, biện pháp kỹ thuật, mật độ, mức phân bón, thời vụ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Hồng bao gồm các tỉnh vùng châu thổ sông Hồng được xem là vựa lúa của miền Bắc. Tập đoàn lúa Mùa địa phương của các tỉnh này rất phong phú, trong số đó nhóm lúa Mùa với chất lượng cao như lúa Tám, lúa Dự, lúa Di, lúa Gié được nông dân gieo trồng rất phổ biến trong thập kỷ 80 của thế kỷ trước (Nguyễn Văn Hiến, 1982). Giống lúa Dự thơm Thái Bình là một trong những giống lúa địa phương vẫn còn tồn tại trong sản xuất hiện nay. Đây là giống lúa Mùa thuộc nhóm giống phản ứng nhẹ với ánh sáng ngày ngắn, chỉ gieo cấy ở vụ Mùa; Thời gian sinh trưởng từ 135-140 ngày; Cây cao, hạt nhỏ, khối lượng 1000 hạt từ 14-15g, hàm lượng amylose từ 17-18%, cơm dẻo, ngon và rất thơm. Bên cạnh ưu thế về chất lượng, giống Dự thơm Thái Bình còn có khả năng thích nghi tốt với chân đất phèn mặn ven biển.

Qua quá trình điều tra thực tế tại Thái Bình cho thấy mặc dù giống Dự thơm vẫn còn được người dân sử dụng trong sản xuất nhưng hoàn toàn là trồng quảng canh, dẫn đến năng suất thấp và hiệu quả kinh tế thấp hơn nhiều so với các giống cải tiến hiện nay. Do vậy, cùng với công tác phục tráng giống, để phát triển và mở rộng giống lúa Dự thơm Thái Bình cần thiết phải nghiên cứu nhằm tìm ra các biện pháp kỹ thuật phù hợp giúp phát huy tối đa tiềm năng của giống và nâng cao hiệu quả kinh tế cho sản xuất, từ đó xây dựng được quy trình kỹ thuật canh tác cho giống Dự thơm Thái Bình.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa Dự thơm Thái Bình đã phục tráng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCB) với 3 lần nhắc lại; có 4 công thức đối với các thí nghiệm về phân bón và mật độ, 3 công thức đối với thí nghiệm thời vụ; diện tích mỗi ô thí nghiệm là 10 m² (Đỗ Thị Ngọc Oanh và *ctv.*, 2004).

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu mức phân bón

Thí nghiệm gồm 4 công thức: Công thức 1 (P1): Nền + 40 kg N; Công thức 2 (P2): Nền + 60 kg N; Công thức 3 (P3): Nền + 80 kg N; Công thức 4 (P4): Nền + 100 kg N. Trong đó: Nền: 1 tấn phân hữu cơ vi sinh + 90 kg P₂O₅; 60 kg K₂O.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu mật độ

Các công thức mật độ gồm: Công thức 1 (M1): 16 khóm/m²; Công thức 2 (M2): 20 khóm/m²; Công thức 3 (M3): 25 khóm/m²; Công thức 4 (M4): 30 khóm/m².

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu thời vụ

Các thí nghiệm thời vụ (TV) gieo cách nhau 10 ngày. Năm 2015: TV1: gieo 1/6; TV2: gieo 11/6 và TV3: gieo 21/6. Năm 2016: TV1: gieo 4/6; TV2: gieo 14/6 và TV3: gieo 24/6.

2.2.4. Kỹ thuật gieo trồng

- Thời vụ: Gieo ngày 14/6, cấy ngày 14/7 (Đối với thí nghiệm mật độ và phân bón).

¹ Trung tâm Tài nguyên thực vật; ² Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam