

# NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ADN CHỌN TẠO GIỐNG LÚA KHÁNG BỆNH BẠC LÁ

Phạm Thiên Thành<sup>1</sup>, Tăng Thị Diệp<sup>1</sup>, Đoàn Văn Thảo<sup>1</sup>, Nguyễn Trí Hoàn<sup>1</sup>,  
Dương Xuân Tú<sup>1</sup>, Phan Thị Thanh<sup>1</sup>, Lê Thị Thanh<sup>1</sup>, Phan Thị Vân<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Bệnh bạc lá hại lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra là một trong những bệnh hại rất nghiêm trọng ở Việt Nam hiện nay. Để ngăn ngừa mất năng suất, việc phát triển các giống kháng được đề xuất là phương pháp hiệu quả nhất để kiểm soát bệnh và giảm thiểu tác động đến môi trường. Với sự tiến bộ vượt bậc của ngành công nghệ sinh học, ngày nay chỉ thị phân tử ADN được sử dụng rộng rãi và mang lại hiệu quả cao trong các chương trình lai tạo giống. Gen *Xa7* được xác định là gen kháng hữu hiệu với các chủng vi khuẩn bạc lá ở các tỉnh phía Bắc. Trên cơ sở giống lúa BT7 có nhiều ưu điểm như năng suất kha, chất lượng tốt, khả năng thích ứng rộng, đã sử dụng làm vật liệu lai tạo giống lúa chất lượng kháng bệnh bạc lá. Chỉ thị phân tử M3 liên kết với gen *Xa7* được sử dụng hỗ trợ quá trình lai trở lại (MABC) và chọn lọc cá thể phân ly (MAS). Qua 5 thế hệ backcross, chọn lọc các dòng tự mang đặc điểm ưu tú của giống BT7. Giống lúa triển vọng BT7KBL-01 ở thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> có các đặc điểm nông sinh học tốt; thời gian sinh trưởng 109 ngày trong vụ mùa, năng suất trung bình 5,2-6,5 tấn/ha. Giống BT7KBL-01 có khả năng thích ứng rộng, chất lượng cơm ngon và kháng cao với bệnh bạc lá (điểm ≤ 3). Đây là giống lúa triển vọng mang lại hiệu quả kinh tế cao, giảm thiểu ô nhiễm môi trường từ việc hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật.

**Từ khóa:** Lúa (*Oryza sativa* L.), Xoo, gen kháng bạc lá, MABC, MAS.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) là một trong những bệnh gây hại nghiêm trọng đối với sản xuất lúa [1]. Bệnh được phát hiện đầu tiên ở Fukuoka (Nhật Bản) vào khoảng từ năm 1884-1885. Hiện nay, bệnh đã gây hại phổ biến ở hầu hết các nước trồng lúa trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Đã có rất nhiều ghi nhận về thiệt hại do bệnh gây ra. Mỗi năm bệnh bạc lá làm giảm năng suất 60% - 80% [2, 3], có khi thiệt hại hoàn toàn 100% năng suất [4]. Năm 2017, bệnh gây hại nặng ở các tỉnh đồng bằng sông Hồng. Trong đó Hải Dương có hàng chục nghìn ha lúa bị nhiễm bệnh bạc lá, có vùng thiệt hại tới 60% năng suất [5]. Để ngăn ngừa mất năng suất, việc phát triển các giống kháng được đề xuất là phương pháp hiệu quả nhất để kiểm soát bệnh và giảm thiểu tác động đến môi trường. Đến nay có khoảng 44 gen kháng bệnh bạc lá đã được xác định [6, 7, 8]. Do áp lực đồng tiến hóa và chọn lọc giữa Xoo và cây lúa, các gen kháng này có tính chọn lọc về hiệu quả của chúng đối với các chủng Xoo cụ thể. Theo Lưu Văn Quyết và cộng sự [9], gen *Xa7*

trong tập đoàn dòng đẳng gen được nhập nội từ IRRI thể hiện tính kháng cao với các chủng vi khuẩn bạc lá tại các tỉnh phía Bắc. Đây là nguồn gen quý, có thể sử dụng trong lai tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá. Với thành tựu của khoa học công nghệ hiện nay thì kỹ thuật phân tử cho phép nhân 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.

Giống lúa thuần BT7 đang được canh tác phổ biến ở các tỉnh phía Bắc có nhiều ưu điểm (hạt gạo trong, cơm mềm dẻo, vị đậm và thơm) nên gạo BT7 đã trở thành thương hiệu gạo chất lượng trên thị trường. Tuy nhiên, giống lúa BT7 có hạn chế đó là dễ bị nhiễm sâu bệnh, đặc biệt là bệnh bạc lá (cấp 7-9) dẫn đến nhiều rủi ro trong quá trình canh tác giống lúa này. Để tiếp tục phát huy các đặc tính tốt, đồng thời hạn chế nhược điểm của giống đã sử dụng giống lúa BT7 làm vật liệu lai tạo giống lúa chất lượng kháng bệnh bạc lá có ứng dụng chỉ thị phân tử hỗ trợ quá trình lai tạo và chọn lọc (MABC, MAS), tạo ra giống lúa mới có chất lượng tốt, kháng bệnh bạc lá để phục vụ sản xuất ở các tỉnh phía Bắc.

<sup>1</sup> Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

<sup>2</sup> Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên

Email: thanhptm@gmail.com

**2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**2.1. Vật liệu nghiên cứu**

Giống lúa BT7 đang canh tác phổ biến trong sản xuất được sử dụng làm giống nhân gen. Dòng giống gen kháng bệnh bạc lá IRBB62 nhập nội từ IRRI được sử dụng làm nguồn cho gen.

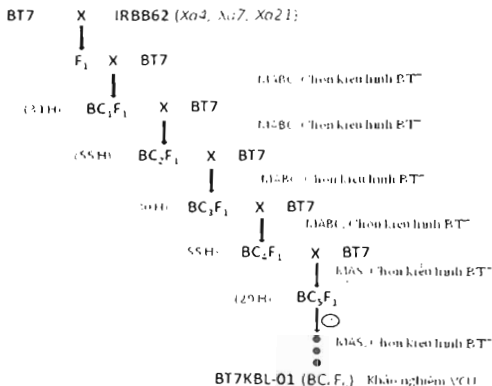
Chi thị phân tử M3 [10] với cặp mồi F 5' CAGCAATTCAGTGGAGTAGTGGTT 3'; R 5' CATCACGGTCACCGCCATATCGGA 3' liên kết với gen *Xa7* kháng bệnh bạc lá trên nhiễm sắc thể số 6. Nhiệt độ gần mỗi 55°C

Isolate vi khuẩn bạc lá 5A [11] đại diện cho nhóm nói II [9] được sử dụng trong lây nhiễm nhân tạo.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

*2.2.1. Phương pháp lai tạo*

Lai tạo theo phương pháp Backcross có ứng dụng chi thị phân tử (MABC) chọn cả thể mang gen mục tiêu kết hợp chọn lọc kiểu hình từ thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>. Cả thể mang gen *Xa7* sẽ được sử dụng lai backcross với giống lúa BT7 đến thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> thì cho tự thụ. Ứng dụng chi thị phân tử (MAS) chọn lọc phân ly phá hệ (Số đó 1).



Số đó 1. Lai tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá, Số trong ngoặc là số cá thể mang gen *Xa7*, H là dị hợp tử gen *Xa7*

*2.2.2. Phương pháp tách chiết ADN*

Tách chiết ADN là lúa theo phương pháp của Zheng và cộng tác viên [12] có cải tiến. Khoảng 1 mg là tươi ở 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 nơi (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 nơi. Cho 800 µl ethanol (95%) vào trộn đều rồi ly

tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút ở 4°C. Thu kết tủa, rửa sạch 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.

*2.2.3. Kỹ thuật PCR*

Gen kháng *Xa7* được phát hiện bằng chi thị M3 [10]. 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 muối, 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 0,5 x TBE. Hiện hình sản phẩm theo phương pháp nhuộm bạc [13].

2.2.4. Lấy nhiễm nhân tạo

Dịch vi khuẩn bạc lá (chủng 5A) được pha ở nồng độ khoảng 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> tế bào/ml. Lấy nhiễm bệnh nhân tạo được thực hiện bằng cách cắt lá ở giai đoạn lúa làm đòng, đánh giá khả năng kháng hay nhiễm bệnh theo phương pháp của IRRRI [14].

2.2.5. Phương pháp đánh giá đặc điểm nông sinh học

- Phương pháp khảo nghiệm thực hiện theo "Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa" (QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT).

- Phân tích tỷ lệ gạo lứt, gạo xát và gạo nguyên theo TCVN 7983-2015; xác định tỷ lệ trắng trong theo TCVN 8372:2010; phân tích nhiệt độ hóa hồ theo TCVN 5715-1993; xác định hàm lượng amyloza theo TCVN 5716-2:2017; chiều dài hạt gạo, tỷ lệ dài/rộng hạt gạo theo TCVN 11888-2017.

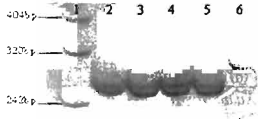
- Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa hình của chỉ thị phân tử ADN

Gen *Xa7* được xác định là gen kháng hữu hiệu với các isolate vi khuẩn bạc lá tại các tỉnh phía Bắc [9]. Để ứng dụng chỉ thị phân tử hỗ trợ quá trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá, đã đánh giá mức độ đa hình của chỉ thị M3 liên kết với gen kháng *Xa7* trên nhiễm sắc thể số 6. Dòng IRBB62 mang gen *Xa7* có kích thước của band liên kết với gen kháng 297 bp, giống BT7 không mang gen *Xa7* cho band

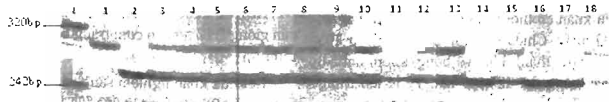
260 bp (Hình 1). Kích thước nhân đoạn gen mục tiêu của chỉ thị M3 ở nghiên cứu này tương đồng với kết quả đã được công bố bởi Porter và cộng sự [10] là 297 bp. Hơn nữa, đây là chỉ thị đồng trội có thể nhận diện gen mục tiêu ở trạng thái dị hợp tử nên khả năng ứng dụng cao.



Hình 1. Khảo sát đa hình chỉ thị M3 liên kết với gen *Xa7* trên giống mang gen IRBB62 và giống BT7 không mang gen (1: Lader; 2-5: BT7; 6: IRBB62)

3.2. Ứng dụng chỉ thị phân tử ADN trong lai tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá

Giống lúa BT7 được lai với dòng đòng gen IRBB62 mang gen *Xa7* kháng bệnh bạc lá. Con lai F<sub>1</sub> được lai trở lại với giống lúa BT7. Quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> được đánh giá kiểu gen *Xa7* bằng ứng dụng chỉ thị phân tử M3 (Hình 2: cá thể số 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15 và 18 mang kiểu gen dị hợp tử). Thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> chọn được 34 cá thể mang gen *Xa7* ở trạng thái dị hợp tử. Số cá thể mang gen mục tiêu này được trồng trong nhà lưới và đánh giá kiểu hình. Cá thể có kiểu hình tương đồng với giống BT7 được chọn làm vật liệu cho backcross ở thế hệ tiếp theo. Chu trình này được thực hiện liên tục. Thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> chọn được 55 cá thể mang gen, thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> chọn được 30 cá thể mang gen, thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> chọn được 55 cá thể mang gen và thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> chọn được 29 cá thể mang gen *Xa7*. Từ thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> cho tự thụ chọn lọc phân ly (Pedigree) có ứng dụng chỉ thị phân tử chọn cá thể mang gen mục tiêu. Đến thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>5</sub> chọn dòng 13-2-2-1-1-50-1, đặt tên là BT7KBL-01 (Số dòng 1). Dòng BT7KBL-01 được gửi khảo nghiệm VCU và khảo nghiệm sản xuất tại các tỉnh phía Bắc từ vụ xuân 2018.



Hình 2. Dùng chỉ thị M3 kiểm tra kiểu gen *Xa7* trong quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> của tổ hợp lai BT7 x IRBB62 (L: lader, 1: IRBB62, 2: BT7, 3-18: các cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>)

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa BT7 đang canh tác phổ biến trong sản xuất được sử dụng làm giống nhân gen. Đồng dạng gen kháng bệnh bạc lá IRBB62 nhập nội từ IRRI được sử dụng làm nguồn cho gen.

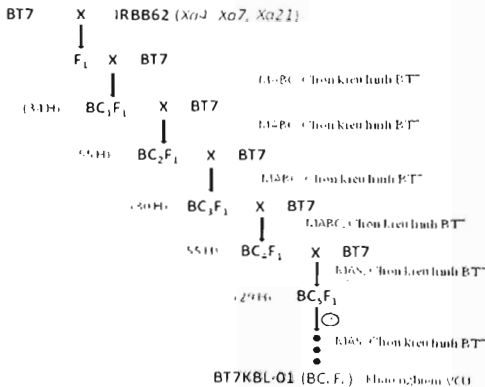
Chỉ thị phân tử M3 [10] với cặp mồi F 5' CAGCAATTCCTGGAGTAGTGGTT 3'; R 5' CATCACGGTCACCGCCATATCGGA 3' liên kết với gen *Xa7* kháng bệnh bạc lá trên nhiễm sắc thể số 6. Nhiệt độ gán mồi 55°C.

Isolate vi khuẩn bạc lá 5A [11] đại diện cho nhóm nội II [9] được sử dụng trong lây nhiễm nhân tạo.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lai tạo

Lai tạo theo phương pháp Backcross có ứng dụng chỉ thị phân tử (MABC) chọn ca thể mang gen mục tiêu kết hợp chọn lọc kiểu hình từ thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>. Ca thể mang gen *Xa7* sẽ được sử dụng lai backcross với giống lúa BT7 đến thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> thì cho tự thụ. Ứng dụng chỉ thị phân tử (MAS) chọn lọc phân ly phá hệ (Số đồ 1).



2.2.2. Phương pháp tách chiết ADN

Tách chiết ADN là lúa theo phương pháp của Zheng và cộng tác viên [12] có cải tiến. Khoảng 1 mg là tron ở 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: Isomylalcohol 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 : Isomylalcohol theo tỷ lệ 24:1 (V/V), ly tâm 12.000vòng/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 sạch 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.

2.2.3. Kỹ thuật PCR

Gen kháng *Xa7* được phát hiện bằng chỉ thị M3 [10]. 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 chuỗi, 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 0,5 x TBE. Hiện hình sản phẩm theo phương pháp nhuộm bạc [13].

2.2.4. Lấy nhiễm nhân tạo

Dịch vi khuẩn bạc lá (chủng 5A) được pha ở nồng độ khoảng 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> tế bào/ml. Lấy nhiễm bệnh nhân tạo được thực hiện bằng cách cấy lá ở giai đoạn lúa làm đòng, đánh giá khả năng kháng hay nhiễm bệnh theo phương pháp của IRRI [14].

2.2.5. Phương pháp đánh giá đặc điểm nông sinh học

- Phương pháp khảo nghiệm thực hiện theo "Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa" (QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT).

- Phân tích tỷ lệ gạo lứt, gạo xát và gạo nguyên theo TCVN 7983-2015; xác định tỷ lệ trắng trong theo TCVN 8372:2010; phân tích nhiệt độ hóa hồ theo TCVN 5715-1993; xác định hàm lượng amyloza theo TCVN 5716-2:2017; chiều dài hạt gạo, tỷ lệ dài/rộng hạt gạo theo TCVN 11888-2017.

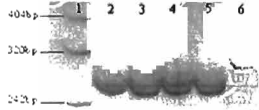
- Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa hình của chỉ thị phân tử ADN

Gen *Xa7* được xác định là gen kháng hữu hiệu với các isolate vi khuẩn bạc lá tại các tỉnh phía Bắc [9]. Để ứng dụng chỉ thị phân tử hỗ trợ quá trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá, đã đánh giá mức độ đa hình của chỉ thị M3 liên kết với gen kháng *Xa7* trên nhiễm sắc thể số 6. Dòng IRBB62 mang gen *Xa7* có kích thước của band liên kết với gen kháng 297 bp, giống BT7 không mang gen *Xa7* cho band

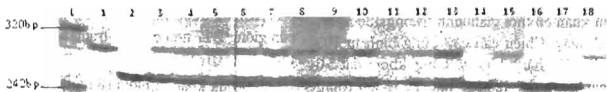
260 bp (Hình 1). Kích thước nhân đoạn gen mục tiêu của chi thị M3 ở nghiên cứu này tương đồng với kết quả đã được công bố bởi Porter và cộng sự [10] là 297 bp. Hơn nữa, đây là chi thị đồng trội có thể nhận diện gen mục tiêu ở trạng thái dị hợp tử nên khả năng ứng dụng cao.



Hình 1. Khảo sát đa hình chỉ thị M3 liên kết với gen *Xa7* trên giống mang gen IRBB62 và giống BT7 không mang gen (1: Lader; 2-5: BT7; 6: IRBB62)

3.2. Ứng dụng chỉ thị phân tử ADN trong lai tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá

Giống lúa BT7 được lai với dòng đòng gen IRBB62 mang gen *Xa7* kháng bệnh bạc lá. Con lai F<sub>1</sub> được lai trở lại với giống lúa BT7. Quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> được đánh giá kiểu gen *Xa7* bằng ứng dụng chỉ thị phân tử M3 (Hình 2: cá thể số 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15 và 18 mang kiểu gen dị hợp tử). Thế hệ BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> chọn được 34 cá thể mang gen *Xa7* ở trạng thái dị hợp tử. Số cá thể mang gen mục tiêu này được trồng trong nhà lưới và đánh giá kiểu hình. Cá thể có kiểu hình tương đồng với giống BT7 được chọn làm vật liệu cho backcross ở thế hệ tiếp theo. Chu trình này được thực hiện liên tục. Thế hệ BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> chọn được 55 cá thể mang gen, thế hệ BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> chọn được 30 cá thể mang gen, thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> chọn được 55 cá thể mang gen và thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> chọn được 29 cá thể mang gen *Xa7*. Từ thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> cho tư thu chọn lọc phân ly (Pedigree) có ứng dụng chỉ thị phân tử chọn cá thể mang gen mục tiêu. Đến thế hệ BC<sub>5</sub>F<sub>5</sub> chọn được dòng 13-2-2-1-1-50-1, đặt tên là BT7KBL-01 (Số đó 1). Dòng BT7KBL-01 được gửi khảo nghiệm VCU và khảo nghiệm sản xuất tại các tỉnh phía Bắc từ vụ xuân 2018.



Hình 2. Dùng chỉ thị M3 kiểm tra kiểu gen *Xa7* trong quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> của tổ hợp lai BT7 x IRBB62 (L: lader, 1: IRBB62, 2: BT7, 3-18: các cá thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>)

3.3. Kết quả khảo nghiệm giống lúa BT7KBL-01

Giống lúa BT7KBL-01 được thử khảo nghiệm quốc gia từ vụ xuân và mùa 2018. Kết quả đánh giá

các đặc điểm nông sinh học và các yếu tố cấu thành năng suất được đưa ra trong bảng 1, 2 và 3.

**Bảng 1. Đặc điểm nông sinh học của giống lúa BT7KBL-01 năm 2018**

Tên giống	Thời gian sinh trưởng (ngày)		Chiều cao cây (cm)		Số bông/ khom		Số hạt/ bông		Tỷ lệ lép (%)		KL 1000 hạt (g)	
	X	M	X	M	X	M	X	M	X	M	X	M
BT7KBL-01	131	109	103,6	105,8	5,5	5,9	138	125	6,4	9,0	20,9	19,3
BT7 (đ/c)	131	107	110,9	107,0	5,3	5,4	155	140	7,0	8,1	19,5	18,8

X: Xuân; M: Mùa

(Nguồn: TTKKN Giống và Sản phẩm cây trồng Quốc gia)

**Bảng 2. Năng suất giống lúa BT7KBL-01 tại các điểm khảo nghiệm Quốc gia năm 2018 (tấn/ha)**

Tên giống	Hưng Yên		Thái Bình		Yên Bái		Hoa Bình		Thanh Hóa		Bình quân	
	X	M	X	M	X	M	X	M	X	M	X	M
BT7KBL-01	7,09	5,61	5,86	4,47	6,63	5,17	6,03	6,21	6,63	4,33	6,45	5,22
BT7 (đ/c)	7,18	5,20	5,75	4,59	6,87	5,40	6,53	6,18	6,26	4,19	6,51	5,11
CV (%)	5,1	5,6	6,1	6,2	4,2	7,6	1,1	5,1	5,2	7,4		
LSD <sub>05</sub>	0,50	0,52	0,73	0,50	0,48	0,66	0,47	0,51	0,60	0,52		

(Nguồn: TTKKN Giống và Sản phẩm cây trồng Quốc gia)

**Bảng 3. Chất lượng của giống lúa BT7KBL-01**

Tên giống	Tỷ lệ gạo lật (%)	Tỷ lệ gạo xát (%)	Tỷ lệ gạo nguyên (%)	Tỷ lệ trắng trong (%)	Nhiệt hóa học (%)	Hàm lượng amyloza (%)	Chiều dài gạo (mm)	Tỷ lệ D/R
BT7KBL-01	76,77	66,30	72,19	61,38	Cao	13,81	5,85	2,74
BT7 (đ/c)	78,28	66,00	72,15	72,37	TB	13,61	5,63	2,64

(Nguồn: TTKKN Giống và Sản phẩm cây trồng Quốc gia, vụ mùa 2018)

**Bảng 4. Năng suất giống lúa BT7KBL-01 tại các điểm khảo nghiệm sản xuất (tấn/ha)**

Địa điểm	Thời gian	Quy mô	BT7KBL-01	BT7 (đ/c)	Tăng so với BT7 (%)
Thái Nguyên	Vụ mùa 2018	1,0 ha	5,82	5,23	11,3
	Vụ xuân 2019	1,0 ha	5,98	5,53	8,1
Nam Định	Vụ mùa 2018	1,0 ha	5,36	4,93	8,7
	Vụ xuân 2019	1,0 ha	5,54	4,03	37,4
Nghệ An	Vụ mùa 2018	1,0 ha	5,40	4,75	13,7
	Vụ xuân 2019	1,0 ha	6,00	5,73	4,7

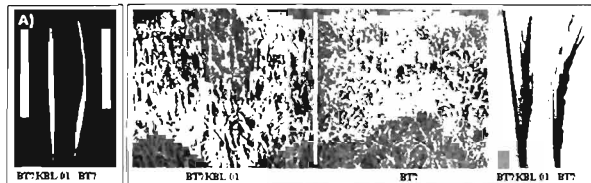
Qua đánh giá giống lúa BT7KBL-01 cho thấy: đây là giống cảm ôn, có thể gieo cấy được cả 2 vụ/năm. Vụ xuân có thời gian sinh trưởng 130 ngày, vụ mùa 109 ngày. Chiều cao cây trung bình từ 105 cm. Khả năng đẻ nhánh khá, số bông/khom đạt 5-6 bông. Số hạt/bông đạt 125-138 hạt. Tỷ lệ lép trung bình từ 6-9%, thời lượng 1000 hạt đạt 20 gram (Bảng 1). Năng suất tại các điểm khảo nghiệm quốc gia dao động từ 4,5 - 7,1 tấn/ha, trung bình đạt 6,5 tấn/ha (Bảng 1, 2). Giống BT7KBL-01 có tỷ lệ gạo lật 76,8%,

gạo xát 66,3%, gạo nguyên 72,2%, tỷ lệ trắng trong 61,4% và hàm lượng amyloza là 13,8%. Giống BT7KBL-01 được kế thừa các đặc điểm chất lượng của giống BT7 nên có cơm trắng bóng, mềm, dẻo và thơm.

Kết quả khảo nghiệm sản xuất tại các vùng sinh thái (Bảng 3) cho thấy, giống lúa BT7KBL-01 có khả năng thích ứng rộng, cho năng suất cao hơn giống gốc BT7 từ 4,7-37,4% (vụ xuân) và từ 8,7-13,7 (vụ mùa).

Giống lúa BT7KBL-01 thể hiện tính kháng cao với bệnh bạc lá; điểm 1-3 trong lấy nhiễm nhân tạo

với chủng vi khuẩn 5A (Hình 3A), điểm 0-1 trong điều kiện đồng ruộng (Hình 3B).



Hình 3. Khả năng kháng bệnh bạc lá của giống BT7KBL-01 và BT7 trong lấy nhiễm nhân tạo (A) và đồng ruộng (B)

BT7KBL-01 có các chỉ tiêu về chất lượng gạo tương đương với giống BT7, có khả năng kháng tốt với bệnh bạc lá và cho năng suất cao hơn giống BT7. Canh tác giống lúa BT7KBL-01 sẽ giảm thiệt hại do bệnh bạc lá gây ra và giảm ô nhiễm môi trường do hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Đây là giống lúa triển vọng có khả năng thay thế giống BT7.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá đã đạt được các kết quả như sau:

Đã lựa chọn được chỉ thị M3 cho đa hình phân biệt giữa giống BT7 và dòng đẳng gen IRBB62. Chỉ thị này được ứng dụng trong quá trình lai chuyển gen kháng *Xa7* từ dòng đẳng gen vào giống lúa canh tác BT7.

Đã chọn tạo được giống lúa triển vọng BT7KBL-01 phù hợp với vụ xuân và vụ mùa ở các tỉnh phía Bắc; thời gian sinh trưởng 130 ngày (vụ xuân), 109 ngày (vụ mùa). Giống có năng suất khá (5,2-6,5 tấn/ha), chất lượng tốt (amyloza 13,8%; thơm), khả năng thích ứng rộng và chống chịu tốt với một số loại sâu bệnh hại, đặc biệt là bệnh bạc lá (điểm ≤ 3).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ou, S. H., 1985. *Rice Diseases*. IRRI.
2. Mew T. W., C. M. Vera Cruz and E. S. Medalla, 1992. Changes in the race frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in response to the planting of rice cultivars in the Philippines. *Plant Dis.* 76,1029-1032.

3. Singh, G. P., M. K. Srivastara, R.V. Singh, and R.M. Singh, 1997. Variation and qualitative losses caused by bacterial blight in different rice varieties. *Indian Phytopath.* 30, 180-185.

4. Zhai, W. X., and L. H. Zhu, 1999. Rice bacterial blight resistance genes and their utilization in molecular breeding. *Adv. Biotech.* 19, 9-15.

5. Trần Tuấn, 2017. Hải Dương: Lúa mùa bị thiệt hại nặng, nhiều nơi mất mùa. Báo Tài nguyên và Môi trường. <https://baotainguyenmoitruong.vn/xa-hoi/hai-duong-lua-mua-bi-thiet-hai-nang-nhieu-noi-mat-mua-1239064.html>

6. Busungu C., S. Taura, J.I. Sakagami, and K. Ichitani, 2016. Identification and linkage analysis of a new rice bacterial blight resistance gene from XM14, a mutant line from IR24. *Breeding Science.* 66(4), 636-645.

7. Dilla-Ermita C. J, E. Tandayu, V.M. Juanillas *et al.*, 2017. Genome-wide association analysis tracks bacterial leaf blight resistance loci in rice diverse germplasm. *Rice* 10:8. <https://doi.org/10.1186/s12284-017-0147-4>

8. Kim, S. M., 2018. Identification of novel recessive gene *xa44(t)* conferring resistance to bacterial blight races in rice by QTL linkage analysis using an SNP chip. *Theoretical and Applied Genetics.* 131, 2733-2743.

9. Lưu Văn Quyết, Nguyễn Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Minh, Nguyễn Thị Phương Nga, Đỗ Thị Hương và Trương Thị Thùy, 2016. Xác định gen kháng bệnh bạc lá hữu hiệu phục vụ chọn tạo giống lúa cho các tỉnh phía Bắc. Tạp chí *Khoa học Công nghệ*, số 10: 13-15.

10. Porter, B. W., J. M. Chittoor, M. Yano, T. Sasaki and F.F. White, 2003. Development and mapping of markers linked to the rice bacterial blight resistance gene *Xa7*. *Journal of Crop Science* 43, 1484-1492.
11. Phan Hữu Tôn, Tống Văn Hải, Nguyễn Văn Hùng, 2012. Nghiên cứu đa dạng di truyền các chủng bệnh bạc lá Việt Nam. Hội thảo Quốc gia bệnh hại thực vật Việt Nam.
12. 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.
13. 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.
14. International Rice Research Institute, 2013. Standard Evaluation System for Rice. P.O. Box 933, 1099 Manila, Philippines.

#### APPLICATION OF DNA MARKER FOR BACTERIAL BLIGHT RESISTANT VARIETY IN RICE (*Oryza sativa* L.)

Pham Thien Thanh<sup>1</sup>, Tang Thi Diep<sup>1</sup>, Doan Van Thao<sup>1</sup>,  
Nguyen Tri Hoan<sup>1</sup>, Duong Xuan Tu<sup>1</sup>, Phan Thi Thanh<sup>1</sup>,  
Le Thi Thanh<sup>1</sup>, Phan Thi Van<sup>2</sup> and Cooperators

<sup>1</sup>Field Crops Research Institute

<sup>2</sup>Thau Nguyen University of Agriculture and Forestry

#### Summary

The rice bacterial blight disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is one of the most serious diseases in Vietnam. To prevent yield loss, the development of resistant varieties is proposed as the most effective method to control disease and minimize environmental impact. Biotechnology has made remarkable progress. Today, the DNA molecule marker is widely used and highly effective in breeding programs. *Xa7* gene was identified as an effective resistance gene for bacterial leaf blight in northern provinces. On the basis of BT7 rice variety having good agronomic characteristics such as pretty yield, good quality and wide adaptability, we used the BT7 as a hybrid maternal for rice breeding programme with high quality and bacterial blight resistance. The M3 marker linked to *Xa7* gene was used to support hybridization (MABC) and segregation selection (MAS). Through five generations of backcrossing, the selected BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> plants were continuously self-pollinated to obtain BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> populations. An elite rice variety BT7KBI-01 in BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> generation has good agronomic characteristics: short growth duration (109 days in summer season), good yielding (5.2-6.5 tons/ha), good quality (13.8% amylose content, fragrance), suitable for many agroecosystems and resistance to rice bacterial blight disease. This is a promising rice variety that brings high economic efficiency, clean agricultural products and minimizes environmental pollution from limiting the use of pesticides.

**Keywords:** Rice (*Oryza sativa* L.), *Xa7*, bacterial blight resistance gene, MABC, MAS.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 19/7/2019

Ngày thông qua phản biện: 20/8/2019

Ngày duyệt đăng: 27/8/2019