

KHẢO SÁT SỰ HIỆN DIỆN CỦA CÁC GEN KHÔNG ĐỘC TRÊN CÁC MẪU PHÂN LẬP NẤM ĐẠO ÔN (*MAGNAPORTHE ORYZAE*) Ở VIỆT NAM

NGUYỄN BẰNG PHƯƠNG

Trường Đại học Quốc tế - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh - phuongnguyenbang@gmail.com

NGUYỄN BẰNG PHI

Trường Đại học Thủ Dầu Một Bình Dương

CHATCHAWAN JANTASIRUYARAT

Trường Đại học Kasetsart, Băng Cốc, Thái Lan

NGUYỄN NGỌC BẢO CHÂU

Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh – chau.nnb@ou.edu.vn

NGUYỄN BẢO QUỐC

Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh – baoquoc@hcmuaf.edu.vn

(Ngày nhận: 06/09/2017; Ngày nhận lại: 18/09/2017; Ngày duyệt đăng: 25/09/2017)

TÓM TẮT

Nấm đạo ôn, *Magnaporthe oryzae*, được xem là tác nhân chính gây bệnh đạo ôn trên lúa và gây nhiều thiệt hại về năng suất tại các vùng trồng lúa trên thế giới. Khả năng chống chịu đối với sự xâm nhiễm của nấm đạo ôn được xác định bằng mối quan hệ giữa gen kháng R của lúa và gen không độc AVR của tác nhân nấm gây bệnh theo thuyết “gen đối gen”. Mục tiêu chính trong nghiên cứu này là xác định sự hiện diện/không hiện diện của các gen AVR ở các chủng nấm đạo ôn tại Việt Nam hiện nay. Kết quả khảo sát ba mươi mẫu phân lập nấm đạo ôn tại các tỉnh miền Nam, miền Trung và miền Bắc Việt Nam bằng phương pháp PCR chỉ ra rằng tỉ lệ hiện diện/không hiện diện của 6 gen AVR khảo sát rất đa dạng trong đó AVR-Pik cùng với trình tự CDS của gen này (AVR-Pik CDS) có mặt gần như trên toàn bộ các mẫu phân lập là 99.67% và thấp nhất là gen AVR-Pizt chỉ chiếm có 36.67%. Kết quả này đóng vai trò rất quan trọng trong việc tìm hiểu sự đa dạng của các gen AVR giúp cho việc chọn lọc và phát triển các giống lúa mang gen kháng R tương ứng có khả năng kháng lại bệnh đạo ôn.

Từ khóa: AVR-Pik CDS; AVR-Pik; gen không độc; *M.oryzae*; Nấm đạo ôn.

Screening the presence of avirulence genes from blast fungal isolates, *Magnaporthe oryzae*, in Vietnam.

ABSTRACT

The rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*, is the causal agent of severe damage in worldwide rice growing area. The resistance to blast infection has been determined by the relationship between the R resistant gene of rice and avirulence gene AVR of phytopathogenic fungi based on the “gene for gene” theory. The main objective of this study was to determine the presence/absence of AVR genes in the rice blast fungal isolates in Vietnam. The screening results of 30 fungal isolates collected from the south, the center and the north of Vietnam by PCR method indicated that the rates of presence/absence of the six avirulent genes varied clearly. In this study, AVR-Pik along with the CDS sequence of this gene (AVR-Pik CDS) was found to be nearly 99.67%, meanwhile the AVR-Pizt was only 36.67%. This result plays an important role in understanding the diversity of the AVR genes in *M.oryzae* that could be helpful in the selection and development of blast resistant rice varieties.

Keywords: Avirulence gene; AVR-Pik CDS; AVR-Pik; *M.oryzae*; Rice blast.

1. Giới thiệu

Nấm sợi với tên khoa học là *Magnaporthe oryzae* được xem là tác nhân chính trong việc gây ra bệnh đạo ôn ở lúa (Couch và Kohn, 2002). Đạo ôn là một trong số những bệnh gây thiệt hại nhiều đến năng suất của lúa và đe dọa đến tính ổn định của sản xuất lúa gạo trên thế giới vì mầm bệnh này có thể nhiễm và gây hại đến lá, đốt thân, cổ bông trên tất cả các giai đoạn phát triển của cây lúa (Zeigler và cộng sự, 1994; Dai và cộng sự, 2010). Một đặc tính nữa của bệnh đạo ôn này đó là các bào tử nấm có thể dễ dàng bị phân tán dẫn đến lây lan trên diện rộng nhờ gió và mưa rào. Do đó, sự lây nhiễm mầm bệnh này thường xảy ra trong thời gian mưa kéo dài hoặc độ ẩm cao (Talbot và Wilson, 2009).

Hiện nay, việc phòng tránh bệnh đạo ôn được thực hiện bằng cách sử dụng giống lúa có khả năng kháng bệnh đóng vai trò trong việc kiểm soát dịch bệnh này. Ở lúa, khả năng kháng lại bệnh đạo ôn được quy định bởi mối liên hệ giữa gen kháng R ở lúa và gen không độc AVR tương ứng trong bộ gen của nấm. Khả năng kháng bệnh của cây chỉ xảy ra khi ở lúa có sự hiện diện gen AVR được xác định bởi sản phẩm tương ứng của các protein gen kháng R (Flor, 1971). Tương tác này được gọi là giả thuyết “gen-đối-gen”.

Cho đến ngày nay ít nhất 25 gen không độc đã được nghiên cứu và mô tả trên nấm (Dioh và cộng sự, 2000) và một số trong các gen này bao gồm *PWL1*, *PWL2*, *AVR1-CO39*, *AVR-Pita* (*AVR2-YAMO*), *ACE1*, *AVR-Pizt*, *AVR-Pia*, *AVR-Pii*, *AVR-Pi9* và *AVR-Pik/km/kp* đã được phát hiện và nghiên cứu ở

mức độ phân tử trong các nghiên cứu trước đây (Kang và cộng sự, 1995; Sweigard và cộng sự, 1995; Farman và Leong, 1998; Orbach và cộng sự, 2000; Bohnert và cộng sự, 2004; Fudal và cộng sự, 2005; Li và cộng sự, 2009). Hiện nay chưa có nhiều khảo sát sự hiện diện của các gen AVR trên các mẫu nấm đạo ôn phân lập trên các vùng trồng lúa chính ở nước ta. Chính vì vậy, mục tiêu trong nghiên cứu này là tiến hành khảo sát sự hiện diện của các gen không độc AVR trên các mẫu phân lập nấm đạo ôn tại Việt Nam để tìm hiểu về sự phân bố các gen AVR trên các mẫu đạo ôn ở các vùng miền khác nhau. Từ đó, điều này sẽ giúp cho việc chọn lựa và sử dụng các giống lúa mang gen kháng R phù hợp cho việc chống chịu sự tấn công của nấm đạo ôn góp phần nâng cao tính bền vững trong sản xuất lúa gạo hiện nay.

2. Vật liệu và phương pháp

Nuôi phát triển mẫu nấm bệnh đạo ôn

Tổng cộng có 30 mẫu phân lập (MPL) nấm đạo ôn được phân lập từ đồng ruộng bị nhiễm bệnh đạo ôn trên lúa tại các tỉnh miền Bắc, Trung và Nam ở Việt Nam (kết quả chưa công bố). Thông tin của các mẫu nấm phân lập được thể hiện trong Bảng 1. Các mẫu phân lập được phát hiện trên lá, cổ bông, và cổ lá lúa có các triệu chứng bệnh đạo ôn điển hình.

Các MPL nấm đạo ôn được nuôi cấy trong môi trường thạch bột gạo (RFA) thành phần gồm 20g bột gạo, 28g agar, 4g yeast extract trong 1L. Mẫu nấm được ủ ở 30°C từ 7 đến 14 ngày sao cho tơ nấm phủ hết bề mặt đĩa thạch. Sau thời gian ủ, mỗi đĩa được kiểm tra lượng và độ sạch của nấm để xác định có thể sử dụng cho thử nghiệm thêm hay không.

Bảng 1

Danh sách mẫu nấm phân lập gây bệnh đạo ôn trên lúa

STT	Mẫu nấm	Giống lúa	Khu vực thu mẫu	Vị trí lấy mẫu	Thời gian phân lập	Tham khảo
1	LCC	Lúa Đá lai	Huyện Củ Chi, TP HCM	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
2	CBTA	OM6976	Tân An, An Giang	Cổ bông lúa	2014	Trong nghiên cứu này
3	CBCC	Lúa đá lai	Huyện Củ Chi, TP.HCM	Cổ bông lúa	2014	Trong nghiên cứu này
4	LVT1	Lúa lai	Châu Pha, Tân Thành, Vũng Tàu	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
5	LVT2	Lúa lai	Châu Pha, Tân Thành, Vũng Tàu	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
6	LDN	Lúa lai, Đài Loan	Tân Hiệp, Long Thành, Đồng Nai	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
7	RGCC	Cỏ lúa	Củ Chi, TP HCM	Lá cỏ	2015	Trong nghiên cứu này
8	CLCC	Lúa đá lai	Củ Chi, TP HCM	Cổ lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
9	LTT	Nàng Hoa	Cần Đước, Long An	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
10	LCT	IR50404	Châu Thành, Tiền Giang	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
11	M11	Lúa Xi	Nghệ An	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
12	M13	Lúa Bắc Thơm Số 7	Thái Bình	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
13	M14	Lúa Khang Dân	Ninh Giang, Hải Dương	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
14	M15	Lúa Nếp	Bắc Ninh	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
15	M42	Lúa Chiêm Râu	Nam Định	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
16	M46	Lúa Tám Thơm	Hà Nam	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
17	M53	Lúa CR203	Nam Định	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
18	M54	Lúa Khang Dân	Nam Định	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
19	M67	Lúa Q5	Nam Định	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
20	M70	Lúa C70	Lạng Sơn	Lá lúa	2014	Trong nghiên cứu này
21	LLH	Nàng Hoa	Cần Đước, Long An	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
22	LNHBL	Nàng Hoa	Bến Lức, Long An	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này

STT	Mẫu nấm	Giống lúa	Khu vực thu mẫu	Vị trí lấy mẫu	Thời gian phân lập	Tham khảo
23	LPY2	Phú Yên 2	Tây Hòa, Phú Yên	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
24	CLLH	Nàng Hoa	Cần Đước, Long An	Cổ lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
25	L BTS	Ma Lâm 48	Hàm Liêm, Bình Thuận	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
26	LBT	Ma Lâm 48	Hàm Liêm, Bình Thuận	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
27	LBT2	Ma Lâm 48	Hàm Liêm, Bình Thuận	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
28	CLTA	OM6976	TP Tân An-tỉnh Long An	Cổ lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
29	LBT1	Ma Lâm 48	Hàm Chính, Bình Thuận	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này
30	LPY1	Phú Yên 1	Phú Thứ, Tây Hòa, Phú Yên	Lá lúa	2015	Trong nghiên cứu này

Ly trích DNA từ tế bào nấm đạo ôn

Tơ nấm trên bề mặt đĩa thạch được cạo ra và dùng để tiến hành ly trích DNA theo phương pháp CTAB (Doyle và Doyle, 1987). Tơ nấm được nghiền thành bột nhờ dung dịch ni tơ lỏng được xem là phương pháp tốt nhất để sử dụng trong ly trích DNA. Tất cả các mẫu nghiền được thêm 700 μ L dung dịch đệm CTAB và thêm 2 μ L dung dịch β -Mercaptoethanol trước khi vortex và ủ ở 60°C trong 1 giờ. Sau giai đoạn ủ, 700 mL dung dịch chloroform: isoamyl (24:1) thêm vào rồi ly tâm ở 12000 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, lớp nước phía trên được lấy và chuyển sang một ống mới và DNA sẽ được kết tủa bằng cách thêm 600 μ L isopropanol lạnh, rồi mẫu được ủ ở 4°C qua đêm. Tiếp theo, tiến hành ly tâm mẫu ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ phần dung dịch và sau đó rửa tiếp bằng 500 μ L ethanol 70% lạnh. Sau đó, ly tâm một lần nữa và loại bỏ dung dịch rồi làm phần lắng bên dưới. Hòa tan DNA với 20 μ L dung dịch đệm TE (10 mM Tris, pH 8, 1 mM EDTA). Lượng DNA từ mẫu nấm ly trích được xác định bằng máy đo Nanodrop rồi sau đó pha loãng để đảm bảo

rằng mỗi mẫu đều có lượng nồng độ DNA là 50 ng/mL.

Xác định nấm đạo ôn bằng phương pháp PCR

Các mẫu DNA được ly trích từ nấm tiến hành xác định xem chúng có phải là *M. oryzae* hay không bằng môi iDM được thiết kế bởi Kasetsoomboon và đồng tác giả (2013), trong đó trình tự môi xuôi: GACCTATGCAATCACCAC và môi ngược: CGTACTCGAGTGTAATCTCG. Phản ứng PCR đã được thực hiện trong 20 μ L master mix (Vivantis, Malaysia) bao gồm: 2 μ L 10X Buffer S, 2 μ L của 7mM dNTP, 0.5 μ L của mỗi loại môi nồng độ 5 μ M, 0.2 μ của Taq polymerase, 13.8 μ L của dH₂O và 1 μ L của DNA nấm. Phản ứng PCR gồm 35 chu kỳ theo chu trình nhiệt bao gồm giai đoạn tiền biến tính: 94°C trong 2 phút; giai đoạn biến tính: 94°C trong 30 giây; giai đoạn bắt cặp của các môi: 56°C trong 30 giây; giai đoạn kéo dài đoạn khuếch đại: 72°C trong 1 phút và giai đoạn kéo dài cuối: 72°C trong 5 phút. Các sản phẩm PCR được chạy trên 1% agarose gel trong dung dịch TBE có chứa gel red và được quan sát dưới máy chụp ảnh gel (Biorad, Hoa Kỳ).

Khảo sát sự có mặt của các gen không độc AVR đối với các MPL nấm đạo ôn ở Việt Nam

Xác định sự hiện diện của các gen không độc AVR trên các MPL nấm đạo ôn được thực hiện bằng phản ứng PCR với các cặp mồi chuyên biệt với từng AVR gen (Bảng 2). Thành phần trong phản ứng PCR tương tự với thí nghiệm xác định nấm đạo ôn gồm 20 μ L master mix (Vivantis, Malaysia) chứa 10X Buffer S, 7mM dNTP, 0.5 μ M của mồi, 0.2 μ L Taq polymerase, 13.8 μ L của dH₂O và 1 μ L

của DNA nấm. Phản ứng PCR gồm 35 chu kỳ theo chu trình nhiệt bao gồm giai đoạn tiền biến tính: 94°C trong 2 phút; giai đoạn biến tính: 94°C trong 30 giây; giai đoạn bắt cặp: thời gian và nhiệt độ được tối ưu hóa với từng loại mồi khác nhau; giai đoạn kéo dài: 72°C trong 1 phút và giai đoạn kéo dài cuối: 72°C trong 5 phút. Các sản phẩm PCR được chạy trên 1% agarose gel trong dung dịch TBE có chứa gel red và được quan sát dưới máy chụp ảnh gel (Biorad, Hoa Kỳ).

Bảng 2

Trình tự mồi của các gen AVR sử dụng trong nghiên cứu này

Tên gen AVR	Trình tự mồi	Kích thước đoạn khuếch đại	Tham khảo
AVR-Pita	F-CAGGCATACATTGGAGAGCC R-CCCTCCATTCCAACACTAAC	1549bp	Selisana và cs., 2017
AVR-Pizt	F-GTTGCGATTATGATCCGTCG R-GTACTCTAGCAAACGACCGG	1144bp	Selisana và cs., 2017
AVR-Pii	F-GGTAGATATCCGCTGACTGG R-ACTGTCCGCCGCTCGTTTGG	839bp	Selisana và cs., 2017
AVR-Pi9	F-CCCATGTGTGCTTATCGCGTG R-GACTTGAGAGAACTGCATGTC	1707bp	Selisana và cs., 2017
AVR-Pik	F-TCCTGCTGCTAACTCCATTC R-TCAACCAAGCGTAAACCTCG	1200bp	Selisana và cs., 2017
AVR-Pik CDS	F-ACATTTCCTTCTCACTTTGGG R-TTGGACCAACTTTCATGTCC	226bp	Selisana và cs., 2017

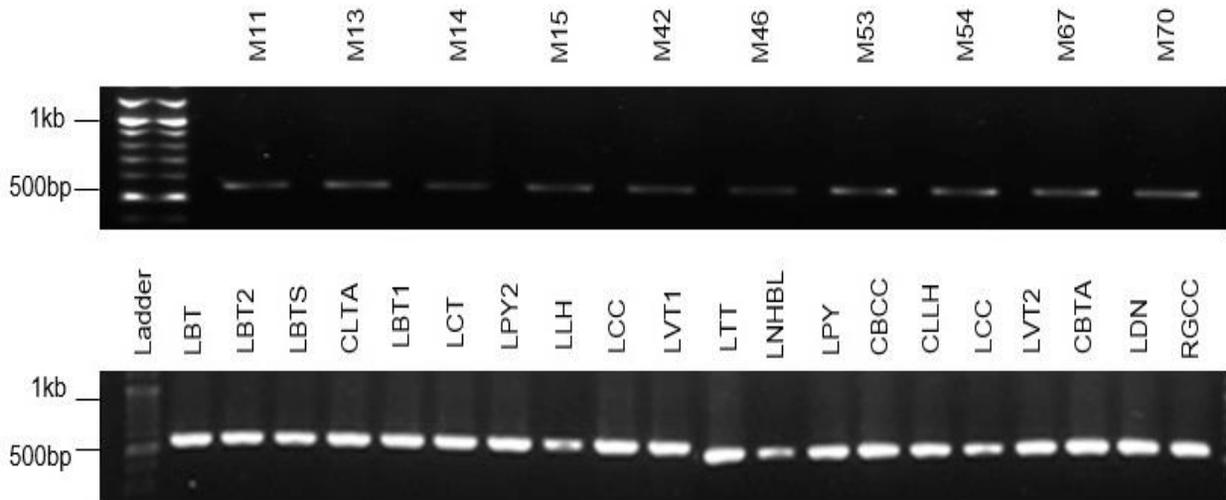
3. Kết quả và thảo luận

Định danh nấm đạo ôn *M.oryzae* bằng phương pháp PCR

Tất cả 30 nấm phân lập trực tiếp từ mẫu lá, cổ bông, cổ lá lúa bị nhiễm đạo ôn từ miền Bắc, Trung, Nam được tiến hành định danh phân tử với cặp mồi chuyên biệt iDM đã được công bố trước đây bằng phương pháp PCR (Kasetsoomboon và cộng sự, 2013). Địa điểm thu mẫu, kí hiệu, vị trí nhiễm bệnh, thời gian thu thập được trình bày ở Bảng 1.

Kết quả PCR chỉ ra rằng sản phẩm PCR

khuếch đại với kích thước 548 bp xuất hiện trên tất cả 30 MPL (Hình 1). Điều này chỉ ra rằng tất cả các mẫu phân lập đều là nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa. Kết quả này tương đồng với kết quả quan sát hình thái bào tử của các mẫu nấm phân lập như trong nghiên cứu trước đây (kết quả chưa công bố). Hơn nữa kết quả trong nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng mồi iDM cùng với mồi Pot2 transposon được xem là hai cặp mồi chuyên biệt trong việc xác định nòi nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa *Magnaporthe oryzae* (Đoàn Thị Hòa và cộng sự, 2016).

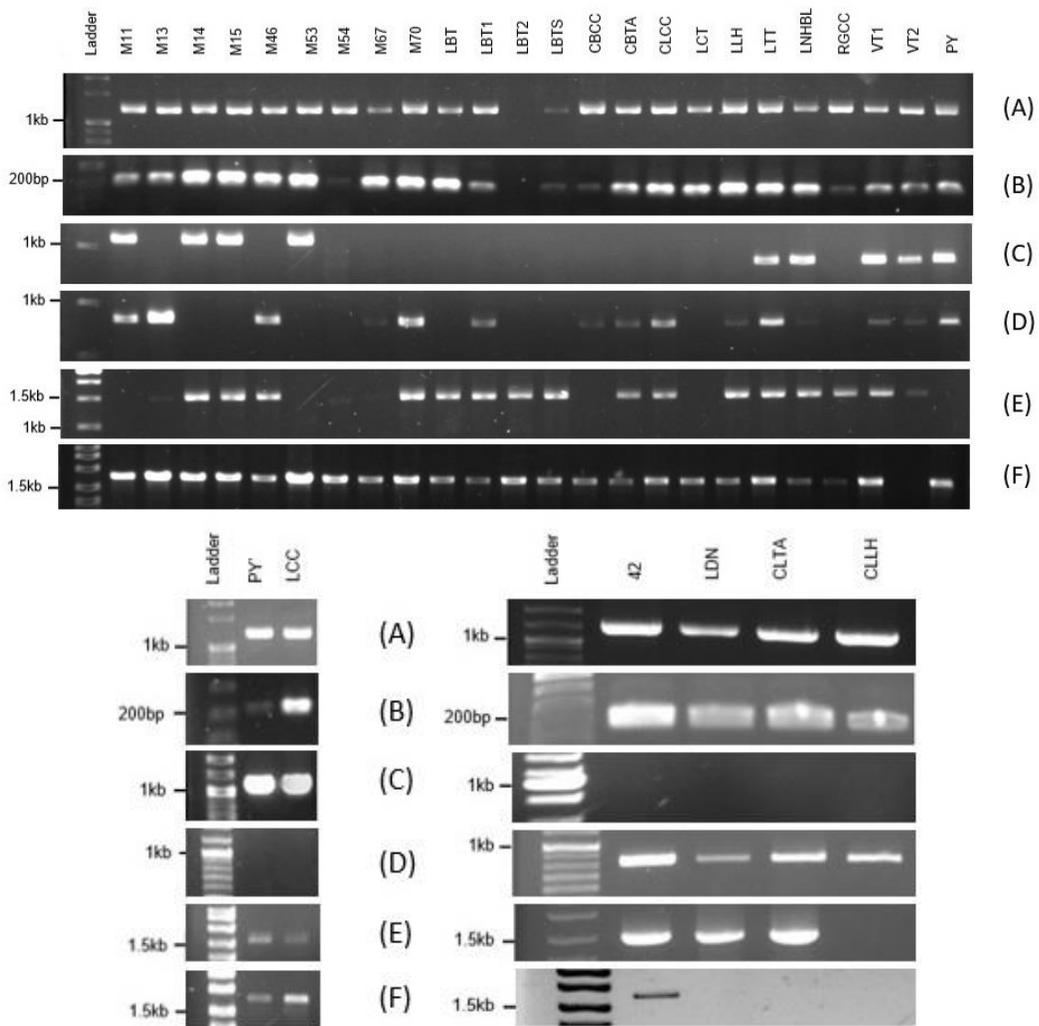


Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi chuyên biệt (iDM) của nấm đạo ôn, *Magnaporthe oryzae*

Khảo sát các gen không độc AVR trên các MPL nấm đạo ôn ở Việt Nam

Mặc dù cho đến ngày hôm nay có hơn 80 gen kháng bệnh đạo ôn đã được xác định trên nhiều giống lúa khác nhau, nhiều gen kháng này mất tính kháng trong một thời gian ngắn vì có sự biến đổi cao của các gen không độc AVR trên các chủng nấm đạo ôn (Ballini và cộng sự, 2008). Điều này chỉ ra sự thích ứng rất nhanh trên thực tế của các chủng nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa (Jia và cộng sự, 2000; Valent and Khang, 2010; McDonald và cộng sự, 2002). Lý do để giải thích điều này là vì các gen AVR có thể bị đột biến thường xuyên bao gồm sự mất đi một số nucleotide tự nhiên, thay thế các nucleotide v.v... ảnh hưởng đến hoạt động của các gen AVR (Dai và cộng sự, 2010). Trong nghiên cứu này, việc khảo sát sự hiện diện của các gen không độc AVR trên các MPL nấm đạo ôn được thực hiện bằng phương pháp PCR với các cặp mồi của các gen AVR-Pita, AVR-Pizt, AVR-Pik, AVR-Pik CDS, AVR-Pii và AVR-Pi9 (Selisana và cs., 2017). Các gen không độc AVR trên được dùng để khảo sát vì chúng có mức độ đa dạng về mặt di truyền rất cao và có

khả năng biến đổi theo hoàn cảnh môi trường (Sirisathaworn và cộng sự, 2017; Yoshida và cộng sự, 2009). Ví dụ như gen AVR-Pii nằm ở vùng di truyền không ổn định có thể dẫn đến đoạn gen bị mất đi hoặc xảy ra quá trình “chuyển gen ngang” (Yasuda và cộng sự, 2006). Kết quả phân tích PCR cho thấy tỷ lệ xuất hiện khác nhau của các gen AVR trên tất cả các MPL nấm đạo ôn (Hình 2). Hai gen không độc AVR-Pik và AVR-Pik CDS với kích thước lần lượt là 1200 bp và 226 bp có mặt ở gần như tất cả các mẫu phân lập nấm đạo ôn thu được ở Việt Nam với tỉ lệ xuất hiện như nhau là 96,67%. Kết quả này xác nhận lại nghiên cứu của Huang và cộng sự (2014) về sự đa dạng di truyền của nhóm gen không độc AVR-Pik luôn cao hơn so với các gen không độc AVR còn lại. Tỉ lệ xuất hiện của các gen không độc theo thứ tự lần lượt là AVR-Pi9 (1707 bp), AVR-Pita (1549 bp), AVR-Pii (839 bp), AVR-Pizt (1144 bp) với tỷ lệ tương ứng là 86,67%, 73,33%, 60% và 36,67% (Bảng 3). Điều này chỉ ra rằng sự đa dạng trong hiện diện và không hiện diện có thể xảy ra ở các vị trí locus AVR trong các MPL nấm đạo ôn này.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR nhằm khảo sát sự hiện diện/không hiện diện của các gen AVR trên 30 mẫu phân lập nấm đạo ôn bằng phương pháp PCR. (A) AVR-Pik, (B) AVR-Pik CDS, (C) AVR-Pizt, (D) AVR-Pii, (E) AVR-Pita, (F) AVR-Pi9.

Bảng 3

Sự hiện diện của các gen không độc kiểm tra trên 30 mẫu nấm đạo ôn ở Việt Nam

Gen không độc (AVR)	Kích thước sản phẩm PCR	Chủng nấm đạo ôn mang gen không độc			Tỷ lệ (Tổng số mẫu nấm đạo ôn là 30 mẫu)
		Các tỉnh miền Bắc Bộ	Các tỉnh miền Nam Trung Bộ	Tổng	
AVR-Pik	1200 bp	10	19	29	96.67%
AVR-Pik CDS	226 bp	10	19	29	96.67%
AVR-Pii	839 bp	6	12	18	60%
AVR-Pizt	1144 bp	4	7	11	36.67%
AVR-Pita	1549 bp	5	17	22	73.33%
AVR-Pi9	1707 bp	10	16	26	86.67%

4. Kết luận

Ngày nay để phòng tránh bệnh đạo ôn trên lúa ngoài các biện pháp canh tác và phòng trừ dịch hại tổng hợp ra, việc sử dụng các giống lúa mang gen kháng phù hợp với gen không độc tương ứng theo thuyết “gen đối gen” cũng được xem là một trong những cách phòng ngừa bệnh đạo ôn một cách hiệu quả. Tuy nhiên dưới áp lực thâm canh cây lúa và những tác động của các biện pháp phòng trừ dịch hại đã dẫn đến sự thay đổi về mặt di truyền của các locus AVR của nấm đạo ôn dẫn đến khả năng phá vỡ tính kháng bệnh trên cây lúa. Chính vì vậy, việc khảo sát sự hiện diện của các gen không độc AVR có ý nghĩa rất lớn trong nghiên cứu cơ bản và

phòng tránh bệnh đạo ôn trên lúa. Kết quả khảo sát này cùng với khảo sát các gen kháng R trên các giống lúa canh tác hiện nay là tiền đề sẽ giúp cho việc đánh giá và khuyến cáo các giống lúa phù hợp với điều kiện và diễn tiến bệnh do nấm đạo ôn gây ra nhằm góp phần vào nền sản xuất nông nghiệp bền vững. Trong những nghiên cứu tiếp theo, nhiều mẫu nấm bệnh đạo ôn sẽ còn tiếp tục được thu thập trên khắp các miền cả nước, từ đó để có thêm một góc nhìn rõ hơn trong sự phân bố của các gen không độc. Đồng thời, khả năng gây bệnh của các chủng nấm đạo ôn mang gen không độc trên giống lúa kháng và lúa mẫn cảm với bệnh đạo ôn cũng sẽ được khảo sát ■

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số “106-NN.03-2015.67” và chương trình trao đổi sinh viên với TS. Chatchawan Jantasuriyarat, Khoa Khoa học, Đại học Kasetsart, Bangkok, Thái Lan.

Tài liệu tham khảo

- Ballini E, Morel JB, Droc G, Price A, Courtois B, Nottoghem JL, Tharreau D. (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(7), 859–868
- Bohnert HU, Fudal I, Diah W, Tharreau D, Nottoghem JL, Lebrun MH (2004). A putative polyketide synthase/peptide synthetase from *Magnaporthe grisea* signals pathogen attack to resistance rice. *Plant Cell*, 16, 2499-2513.
- Couch BC, Kohn LM (2002). A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*. *Mycologia*, 94, 683-693
- Dai Y, Jia Y, Correll J, Wang X, Wang Y. (2010). Diversification and evolution of the avirulence gene AVR-Pita1 in field isolates of *Magnaporthe oryzae*. *Fungal Genet Biol.*, 47(12), 973–980
- Diah W, Tharreau D, Nottoghem JL, Orbach M, Lebrun MH (2000). Mapping of avirulence genes in the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*, with RFLP and RAPD markers. *Mol. Plant Microbe Interact*, 13, 217-227.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Farman ML, Leong SA. (1998). Chromosome walking to the AVR1-CO39 avirulence gene of *Magnaporthe grisea*: discrepancy between the physical and genetic maps. *Genetics*, 150(3), 1049-1058.
- Flor HH. (1971). Current status of the gene for gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9, 275-296.
- Fudal I, Böhnert HU, Tharreau D, Lebrun MH. (2005). Transposition of MINE, a composite retrotransposon, in the avirulence gene of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Fungal Genet Biol*, 42(9), 761-772.
- Hoa DT, Linh VTN, Nhap TT, Phi NB, Chau NNB, Quoc NB. (2016) Application of PCR method for identifying the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Ho Chi Minh City Open University Journal of Science*, 4(49), 104-110.

- Jia Y, McAdams SA, Bryan GT, Hershey HP, Valent B. (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. *EMBO J.*, 19(15), 4004–4014.
- Kang S, Sweigard JA, Valent B (1995). The PWL host specificity gene family in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Mol. Plant Microbe Interact*, 8(6), 939–948.
- Kasetsomboon T, Kate-Ngam S, Sriwongchai T, Zhou B, Jantasuriyarat C. (2013). Sequence variation of avirulence gene AVR-Pital in rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *Mycol Prog.*, 12, 617-628.
- Li W, Wang B, Wu J, Lu G, Hu Y, Zhang X, Zhang Z, Zhao Q, Feng Q, Zhang H. (2009). The *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AvrPiz-t encodes a predicted secreted protein that triggers the immunity in rice mediated by the blast resistance gene Piz-t. *Mol Plant-Microbe Interact*. 22(4), 411-20.
- McDonald BA, Linde C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytopathol.*, 40(1), 349–379.
- Orbach MJ, Farrall L, Sweigard JA, Chumley FG, Valent B. (2000). A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene Pi-ta. *Plant Cell*, 12(11), 2019-2032.
- Selisana SM, yanoria MJ, Quime B, Chaipanya C, Lu G, Oplencia R, Wang GL, Mitchell T, Correll J, Talbot NJ, Leung H, and Zhou B. (2017). Avirulence (AVR) Gene-Based Diagnosis Complements Existing Pathogen Surveillance Tools for Effective Deployment of Resistance (R) Genes Against Rice Blast Disease. *Phytopathology*, 107(6), 711-720.
- Sweigard JA, Carroll AM, Kang S, Farrall L, Chumley FG, Valent B (1995). Identification, cloning, and characterization of PWL2, a gene for host species specificity in the rice blast fungus. *Plant Cell*, 7(8), 1221-1233.
- Talbot NJ, Wilson RA (2009). Under Pressure: Investigating the Biology of Plant Infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nature Reviews Microbiology*, 7, 185-195.
- Sirisathaworn T, Srirat T, Longya A, Jantasuriyarat C. (2017). Evaluation of mating type distribution and genetic diversity of three *Magnaporthe oryzae* avirulence genes, PWL-2, AVR-Pii and Avr-Piz-t, in Thailand rice blast isolates. *Agriculture and Natural Resources*, 51, 7-14
- Valent B, Khang CH. (2010). Recent advances in rice blast effector research. *Curr Opin Plant Biol*. 13(4), 434–441.
- Yasuda N, Tsujimoto-Noguchi M, Fujita Y. (2006). Partial mapping of avirulence genes AVR-Pii and AVR-Pia in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Can. J. Plant Pathol*, 28, 494-498
- Yoshida K, Saitoh H, Fujisawa (2009). Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *Plant Cell*, 21, 1573-1591
- Zeigler RS, Leong SA, Teng PS (1994). Rice Blast Disease. CAB International, Wallingford, UK (1994), 626.