

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ NẤM ĐẠO ÔN HẠI LÚA (PYRICULARIA ORYZAE) Ở THỪA THIÊN - HUẾ

Trương Thị Bích Phượng^{1,2}, Trần Thị Phương Nhi², Dương Thị Thảo Trang^{2,3}, Nguyễn Thị Vân¹, Trần Thị Thu Hà^{1,3}

¹Viện Tài nguyên, Môi trường và Công nghệ sinh học, Đại học Huế

²Trường đại học Khoa học, Đại học Huế

³Trường đại học Nông Lâm, Đại học Huế

TÓM TẮT

Bệnh đạo ôn ở lúa do nấm *Pyricularia oryzae* gây ra, là một trong những nguyên nhân chính ảnh hưởng bất lợi đến sản xuất lúa trên thế giới và ở Việt Nam. Có 65 chủng nấm đạo ôn (*P. oryzae*) được phân lập trên lá và cỏ bông trên các giống lúa trồng ở Thừa Thiên - Huế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khuếch đại DNA nấm đạo ôn bằng kỹ thuật RAPD-PCR với 11 primer ngẫu nhiên đã được chọn lọc. Số liệu được phân tích bằng chương trình UPGMA trong phần mềm NTSYS-pc 2.1. Kết quả nghiên cứu cho thấy số lượng các chủng nấm được khuếch đại bởi các primer khác nhau là không giống nhau. Primer OPA-13 với số lượng các chủng được khuếch đại nhiều nhất (57 chủng nấm), primer PAP-02 chỉ khuếch đại với số lượng các chủng ít nhất (5 chủng nấm). Phản ứng khuếch đại với 11 primer của 65 chủng nấm *Pyricularia oryzae* tạo được 113 băng có kích thước 250 - 3854 bp và đều là băng đa hình. Primer OPA-011 có số băng khuếch đại nhiều nhất, còn hai primer OPA-01 và PAP-02 có số băng được khuếch đại đạt ít nhất. Các chủng nấm đạo ôn trên lúa thí nghiệm ở Thừa Thiên - Huế được chia làm 6 nhóm với hệ số đồng dạng di truyền đạt từ 0,61 đến 1,00. Trong đó, nhóm II và III chiếm ưu thế nhất lần lượt gồm 19 và 39 chủng phân bố trên tất cả các vùng phân lập được ở Thừa Thiên - Huế, chúng có quan hệ di truyền khá gần nhau với hệ số đồng dạng di truyền khoảng 77%. Trong khi đó, nhóm V và VI chỉ có duy nhất 1 chủng phân lập được trên lá giống lúa 13/2 ở Thủy Dương. Kết quả cho thấy tính đa dạng di truyền cao của quần thể nấm đạo ôn hại lúa tại Thừa Thiên - Huế.

Từ khóa: Bệnh đạo ôn, Đa dạng di truyền, Lúa, *Pyricularia oryzae*, RAPD-PCR, Thừa Thiên - Huế

MỞ ĐẦU

Pyricularia oryzae là loài nấm gây bệnh đạo ôn, một trong những nguyên nhân gây thiệt hại nặng nề đối với lúa trồng (Thuan *et al.*, 2006). Đạo ôn là một trong những bệnh hại cây trồng có khả năng gây hại kinh tế rất lớn, khi cây lúa nhiễm đạo ôn có bông 1% thì năng suất có thể bị giảm từ 0,7 - 17,4% tùy thuộc vào các yếu tố liên quan khác. Ở nước ta bệnh gây hại quanh năm, nhất là vụ đông xuân, trên những giống nhiễm, ruộng gieo sạ dày, bón phân đạm cao.

Đối với hầu hết những diện tích trồng lúa trên thế giới, việc quản lý bệnh đạo ôn đều dựa vào sự du nhập thường xuyên của những giống lúa trồng kháng bệnh mới. Tuy nhiên, tính kháng bệnh của các giống lúa không kéo dài hơn hai hoặc ba năm. Một trong những nguyên nhân gây ra tình trạng trên là do sự xuất hiện thường xuyên những thay đổi di truyền của nấm gây bệnh hình thành nên những dạng tính độc tố mới và làm cho các giống kháng trước đó trở nên dễ nhiễm bệnh. Sự đa dạng về nguồn bệnh nấm đạo ôn gây khó khăn trong

việc phân tích cấu trúc quần thể và sự phát triển của nguồn bệnh. Nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể nấm đạo ôn có thể cung cấp thông tin cho hoạt động canh tác ở động ruộng cũng như mang đến những chiến lược mới trong công tác tạo giống (Ngenko *et al.*, 2004).

Đa dạng di truyền quần thể nấm đạo ôn (*Pyricularia oryzae*) đã được nghiên cứu ở Việt Nam (Thuan *et al.*, 2006; Don *et al.*, 1999) và một số nước trên thế giới (Xia *et al.*, 1993; Roumen *et al.*, 1997; Kang *et al.*, 2000; Srinivasachary *et al.*, 2002; Ngenko *et al.*, 2004; Chadha *et al.*, 2005). Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu đều được tiến hành với một số lượng lớn các chủng nấm đạo ôn có nguồn gốc từ các vùng địa lý rộng lớn. Levy và Hamer (1991) đã phân tích 151 chủng thu từ đồng ruộng của 15 giống lúa ở Columbia bằng kỹ thuật in dấu vân tay (DNA fingerprinting). Ngoài ra, Roumen và đồng tác giả (1997) đã nghiên cứu đa dạng di truyền trong 41 chủng nấm đạo ôn của 5 quốc gia trồng lúa ở châu Âu: Pháp, Italy, Portugal, Spain và Hungary bằng kỹ thuật in dấu

DNA với mẫu dò "MGR586". Bên cạnh đó, sự đa dạng của quần thể nấm *Pyricularia grisea* từ lúa phân bố khắp Mỹ cũng được Correll và đồng tác giả nghiên cứu vào năm 2000. Chỉ một ít nghiên cứu trong những năm gần đây được thực hiện ở quy mô địa lý nhỏ ở Việt Nam. Năm 1999, Don và đồng tác giả đã tiến hành nghiên cứu cấu trúc quần thể nấm đạo ôn với tổng số 78 chủng được phân lập trên lúa từ các vùng trồng lúa đồng bằng sông Mê Kông. Vào năm 2006, Nguyễn Thị Ninh Thuận và đồng tác giả đã đánh giá đa dạng di truyền của 114 chủng nấm đạo ôn phân lập từ 11 vùng ở đồng bằng sông Hồng của miền Bắc và 9 chủng từ các vùng khác của Việt Nam.

Nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn bệnh nấm đạo ôn hại lúa trên những vùng nhỏ riêng biệt, nơi bệnh đạo ôn xuất hiện nhiều và có điều kiện khí hậu thích hợp cho nấm đạo ôn phát triển phân tích là rất cần thiết.

Bên cạnh những kỹ thuật RFLP và RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), có rất nhiều loại chỉ thị phân tử được sử dụng để xác định sự khác nhau giữa các quần thể nấm đạo ôn trên các vùng khác nhau như SSR, ISSR, AFLP ... Mặc dù tính ứng dụng của các kỹ thuật này rất đa dạng nhưng tốn thời gian, đắt tiền và chỉ được tiến hành trong phòng thí nghiệm có thiết bị tốt, vì vậy chúng ít được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền của quần thể nấm gây bệnh đạo ôn ở trên thế giới cũng như ở Việt Nam. RAPD là kỹ thuật đơn giản, hiệu quả dựa trên kỹ thuật PCR và gần đây được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể *Pyricularia oryzae*. Rathour và đồng tác giả (2004) sử dụng kỹ thuật RAPD để phân tích cấu trúc quần thể nấm đạo ôn trên lúa ở phía Tây Bắc Himalaya. Năm 2005, Chadha và Gopalakrishna nghiên cứu tính đa dạng di truyền của nấm đạo ôn trên lúa ở Ấn Độ, tổng 171 băng da hình được tạo ra khi khuếch đại với 33 primer chọn lọc ngẫu nhiên trong 20 chủng nấm đạo ôn. Nguyenko RB và đồng tác giả (2004) đã sử dụng kỹ thuật RAPD để phân tích đa dạng di truyền của nấm đạo ôn của một vài vườn ươm của tỉnh Hunan, Trung Quốc.

Chúng tôi thực hiện điều tra tình hình phát sinh phát triển của bệnh đạo ôn trong vụ Đông Xuân năm 2009-2010 ở một số xã trồng lúa của Thừa Thiên - Huế. Trên cơ sở đó tiến hành phân lập các mẫu bệnh trên các vùng xuất hiện bệnh nấm đạo ôn. Sau đó phân tích và đánh giá đa dạng di truyền của quần thể nấm đạo ôn bằng kỹ thuật RAPD.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Nguồn nấm *Pyricularia oryzae* được phân lập từ các vùng trồng lúa nhiễm bệnh đạo ôn của Thừa Thiên - Huế trong vụ Đông Xuân năm 2009 - 2010.

Phương pháp nghiên cứu

Chọn lọc những mẫu bệnh và phân lập nấm đạo ôn

Các mẫu lá và cỏ bông mang triệu chứng điển hình của bệnh đạo ôn được thu thập từ ruộng lúa nhiễm bệnh ở các xã Thủy Dương, Quảng Lợi, Phú Lương, Phong Hiền, Hương Văn của Thừa Thiên - Huế. Cắt rời các vết bệnh, sau đó rửa sạch mẫu với nước cất vô trùng và đặt các mẫu này vào các đĩa petri đã được làm ẩm bởi giấy thấm có nước ở nhiệt độ phòng để kích thích sự hình thành bào tử. Tiến hành phân lập các chủng nấm đạo ôn trên môi trường chọn lọc và làm thuần bằng phương pháp cấy đơn bào tử (Burgess *et al.*, 2008).

Tách chiết DNA tổng số

Hệ sợi nấm sau khi được nuôi cấy trong 10 ngày trên đĩa môi trường PDA (Potato-Dextrose Agar) sẽ được chuyển vào bình tam giác có dung tích 250 mL chứa 100 mL môi trường PDA lỏng và nuôi trong 5 ngày ở 25°C, lắc 100 V/l phút. Sau đó, sợi nấm được thu vào ống eppendorf (0,3 g/l tube). Tách chiết DNA tổng số theo phương pháp Kang và cs (2003) có cải tiến. Cho 500 µL đệm chiết (100 mM Tris.HCl, 100 mM EDTA, 200 mM NaCl, pH 8) vào mỗi ống và vortex mạnh. Bổ sung thêm 100 mL SDS 10% vào và ủ ở 65°C trong 3 h. Chiết DNA 2 lần với một thể tích tương đương của phenol, chloroform phenol: chloroform: iso amyl alcohol (25:24:1). Kết tủa DNA với hai thể tích ethanol 100% ở -20°C và ly tâm 10 000 rpm trong 12 phút ở 4°C, rửa kết tủa DNA bằng ethanol lạnh 70% sau đó để mẫu khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Kết tủa DNA được hòa tan bằng đệm TE (10 mM Tris.HCl pH 8 và 1 mM EDTA) và bảo quản ở -20°C để dùng cho khuếch đại RAPD-PCR. Mỗi phản ứng PCR được tiến hành lặp lại 3 lần.

Dung dịch DNA tổng số được kiểm tra nồng độ trên máy quang phổ (SmartSpec™ 3000, BioRad) ở bước sóng $\lambda_{260/280\text{ nm}}$. Chất lượng DNA được kiểm tra bằng điện di trên agarose gel 0,8% ở 100V. Đệm điện di được sử dụng là 1x TAE (0,04 M Tris.acetate và 0,001 M EDTA). Nhuộm agarose gel 15 phút trong dung dịch EtBr (0,5 µg/L) và phân tích hình

ảnh điện di bằng hệ thống Gel Documentation (BioRad).

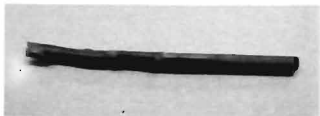
Khuếch đại RAPD-PCR

Sử dụng 11 primer ngẫu nhiên đã được nghiên cứu (Séré *et al*, 2007) để tiến hành phản ứng khuếch đại RAPD-PCR (Bảng 2). Hỗn hợp phản ứng gồm 10 pmol mỗi loại primer ngẫu nhiên; 2 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTP mỗi loại, 0,625 unit Taq DNA polymerase (PCR Master Mix, Fermentas); 25 ng DNA khuôn mẫu trong tổng số dung tích 25 μ L. Khuếch đại PCR (iCycler, BioRad) theo điều kiện sau: 94°C/2 phút; 35 chu kỳ gồm: 94°C/1 phút, 36°C/1 phút, 72°C/2 phút và cuối cùng 72°C/10 phút. Điện di sản phẩm RAPD-PCR trên agarose gel 1,4% trong 5 h ở 40 V và nhuộm bằng Ethidium bromide.

Hình ảnh điện di được quan sát dưới tia UV (Gel Documentation, Biorad, USA).



Hình 1. Mẫu bệnh đạo ôn lá



Hình 2. Mẫu bệnh đạo ôn có bông

Phân tích RAPD-PCR

Tất cả 11 primer ngẫu nhiên được chọn đều cho ra các sản phẩm khuếch đại đối với các chủng nấm phân lập được. Phản ứng khuếch đại với 11 primer của 65 chủng *Pyricularia oryzae* tạo được 113 băng và đều là băng đa hình (Bảng 2) có kích thước 250 - 3854 bp.

Sự khuếch đại những băng DNA riêng biệt cho phép nhận dạng mỗi chủng. Chẳng hạn như băng sản

Phương pháp xây dựng gián đồ phả hệ

Xây dựng gián đồ phả hệ và phân tích cụm theo thuật toán UPGMA bằng phần mềm NTSYSpc, version 2.1 (Exeter Software, USA) dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của các băng trên phổ điện di sản phẩm RAPD-PCR của các mẫu với các primer ngẫu nhiên theo nguyên tắc đánh số "1" nếu có xuất hiện băng và số "0" nếu không xuất hiện băng và được thiết lập theo hệ số di truyền SM (Simple matching).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Chọn lọc các chủng nấm đạo ôn

Tổng số 65 chủng nấm (isolate) đã được phân lập ở 5 vùng bị nhiễm bệnh đạo ôn trên các giống lúa tại Thừa Thiên - Huế (Bảng 1).



Hình 3. Tán nấm *Pyricularia oryzae* trên môi trường PDA.

phẩm có kích thước 2237 bp chỉ xuất hiện ở chủng TD4 khi sử dụng primer OPA-13 để khuếch đại các chủng (Hình 4). Còn đối với một số primer khác như OPA-01, băng 728 bp chỉ xuất hiện ở chủng TD2 và primer OPA-03 băng 3851 bp cũng chỉ được khuếch đại ở chủng này ... Qua phân tích các sản phẩm RAPD-PCR được khuếch đại của 65 chủng nấm đạo ôn bởi 11 primer nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy rằng các chủng TD1, TD2, TD6 khuếch đại với tất cả primer, còn chủng HVCB11 chỉ khuếch đại với primer OPA-13, chủng TD17 chỉ khuếch đại với

OPA-10 và chủng HVCB5 khuếch đại với primer OPA-13. Trong các primer được sử dụng thì primer OPA-13 có số lượng chủng nấm được khuếch đại nhiều nhất (57 chủng nấm), có 8 băng đa hình kích thước từ 371 - 2237 bp, primer PAP-02 có sự khuếch

đại DNA ít nhất (5 chủng nấm). Primer có số lượng băng khuếch đại nhiều nhất là OPA-11 với 16 băng đa hình, ngược lại primer OPA-01 và PAP-03 có số băng khuếch đại ít, chỉ 4 băng kích thước từ 671 - 1328 bp.

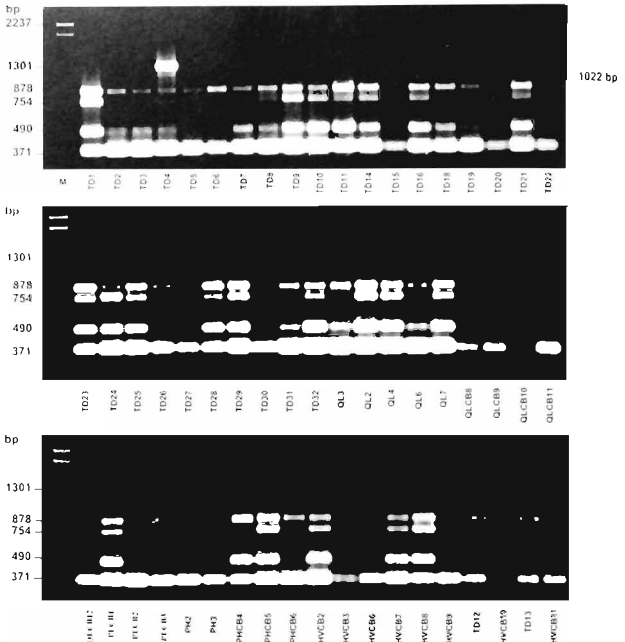
Bảng 1. Các chủng nấm *Pyricularia oryzae* được phân lập trên các vùng bị nhiễm bệnh đạo ôn của Thừa Thiên - Huế.

STT	Ký hiệu chủng	Vị trí thu mẫu trên cây	Giống lúa	Vùng phân lập	STT	Ký hiệu chủng	Vị trí thu mẫu trên cây	Giống lúa	Vùng phân lập
1	TD1	Lá	13/2	Thủy Dương	34	QL2	Lá	Xi23	Quảng lợi
2	TD2	Lá	13/2	Thủy Dương	35	QL3	Lá	HT1	Quảng lợi
3	TD3	Lá	13/2	Thủy Dương	36	QL4	Lá	HT1	Quảng lợi
4	TD4	Lá	13/2	Thủy Dương	37	QL5	Lá	HR1	Quảng lợi
5	TD5	Lá	13/2	Thủy Dương	38	QL6	Lá	HT1	Quảng lợi
6	TD6	Lá	13/2	Thủy Dương	39	QL7	Lá	Khang dân	Quảng lợi
7	TD7	Lá	13/2	Thủy Dương	40	QLCB8	Cổ bông	Xi23	Quảng lợi
8	TD8	Lá	13/2	Thủy Dương	41	QLCB9	Cổ bông	Xi23	Quảng lợi
9	TD9	Lá	13/2	Thủy Dương	42	QLCB10	Cổ bông	Xi23	Quảng lợi
10	TD10	Lá	13/2	Thủy Dương	43	QLCB11	Cổ bông	HT1	Quảng lợi
11	TD11	Lá	13/2	Thủy Dương	44	QLCB12	Cổ bông	HT1	Quảng lợi
12	TD12	Lá	13/2	Thủy Dương	45	QLCB13	Cổ bông	Khang dân	Quảng lợi
13	TD13	Lá	13/2	Thủy Dương	46	PLCB1	Cổ bông	Khang dân	Phù Lương
14	TD14	Lá	13/2	Thủy Dương	47	PLCB2	Cổ bông	Khang dân	Phù Lương
15	TD15	Lá	13/2	Thủy Dương	48	PLCB3	Cổ bông	Khang dân	Phù Lương
16	TD16	Lá	13/2	Thủy Dương	49	PH1	Lá	Khang dân	Phong Hiền
17	TD17	Lá	13/2	Thủy Dương	50	PH2	Lá	Khang dân	Phong Hiền
18	TD18	Lá	13/2	Thủy Dương	51	PH3	Lá	Khang dân	Phong Hiền
19	TD19	Lá	13/2	Thủy Dương	52	PHCB4	Cổ bông	Khang dân	Phong Hiền
20	TD20	Lá	13/2	Thủy Dương	53	PHCB5	Cổ bông	Khang dân	Phong Hiền

21	TD21	Lá	13/2	Thủy Dương	54	PHCB6	Cổ bông	Khang dân	Phong Hiền
22	TD22	Lá	13/2	Thủy Dương	55	HVCB1	Cổ bông	Khang dân	Hương Văn
23	TD23	Lá	13/2	Thủy Dương	56	HVCB2	Cổ bông	Khang dân	Hương Văn
24	TD24	Lá	13/2	Thủy Dương	57	HVCB3	Cổ bông	Khang dân	Hương Văn
25	TD25	Lá	13/2	Thủy Dương	56	HVCB4	Cổ bông	Khang dân	Hương Văn
26	TD26	Lá	13/2	Thủy Dương	59	HVCB5	Cổ bông	Khang dân	Hương Văn
27	TD27	Lá	13/2	Thủy Dương	60	HVCB6	Cổ bông	HT1	Hương Văn
28	TD28	Lá	13/2	Thủy Dương	61	HVCB7	Cổ bông	HT1	Hương Văn
29	TD29	Lá	13/2	Thủy Dương	62	HVCB8	Cổ bông	HT1	Hương Văn
30	TD30	Lá	13/2	Thủy Dương	63	HVCB9	Cổ bông	HT1	Hương Văn
31	TD31	Lá	13/2	Thủy Dương	64	HVCB10	Cổ bông	HT1	Hương Văn
32	TD32	Lá	13/2	Thủy Dương	65	HVCB11	Cổ bông	HT1	Hương Văn
33	QL1	Lá	Xi23	Quảng lợi					

Bảng 2. Trình tự các primer và tổng số băng khuếch đại của mỗi primer.

Tên primer	Trình tự 5'-3'	Số cá thể khuếch đại	Số băng đa hình
OPA-01	5'-CAGGCCCTTC-3'	26	4
OPA-03	5'-AGTCAGCCAC-3'	50	13
OPA-04	5'-AATCGGGCTG-3'	29	14
OPA-07	5'-GGTGACGCAG-3'	55	3
OPA-11	5'-CAATCGCCGT-3'	32	16
OPA-13	5'-CAGCACCCAC-3'	57	8
OPB-04	5'-GGACTGGAGT-3'	15	9
OPB-06	5'-TGCTCTGCCC-3'	29	13
OPB-10	5'-CTGCTGGGAC-3'	28	13
PAP2	5'-TACAACGAGG-3'	5	4
PAP3	5'-TGGATTGGTC-3'	9	10
Tổng			113



Hình 4. Hình ảnh điện di RAPD-PCR của 57 chủng *Piryculana oryzae* với primer OPA-13. M: Lambda DNA HindIII

Phân tích gián đồ phả hệ DNA của các chủng nấm phân lập

Từ kết quả phân tích các băng đa hình khuếch đại bởi kỹ thuật RAPD-PCR của 11 primer ngẫu nhiên trên 65 chủng nấm *Pyricularia oryzae* được sử dụng để xây dựng giản đồ phả hệ (Hình 5).

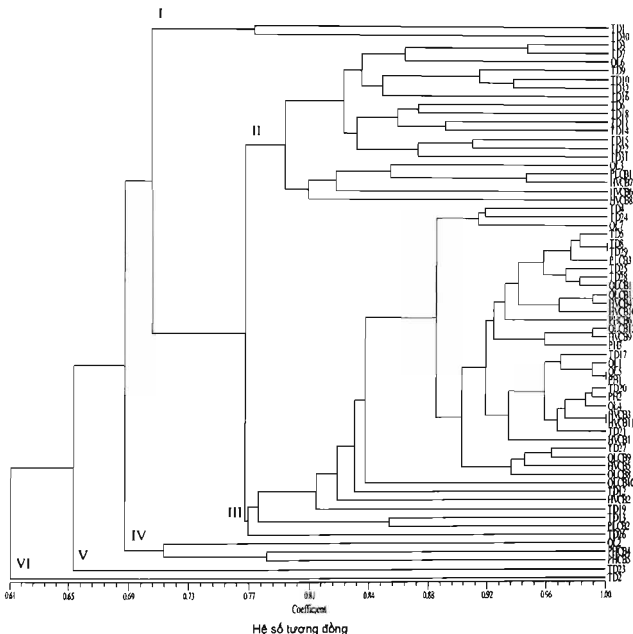
Quản thể nấm đạo ôn ở Thừa Thiên - Huế nhìn chung khá đa dạng, với hệ số đồng dạng di truyền từ 0,61 đến 1,00; có thể chia làm 6 nhóm. Trong đó

nhóm II và III là những nhóm lớn với số lượng các chủng nấm phân lập trong mỗi nhóm lần lượt là 19 và 39 chủng, chúng được phân lập từ lá và cò bông lại hầu hết các vùng nghiên cứu, ngược lại nhóm V và VI chỉ có 1 chủng duy nhất, được phân lập trên lá của giống lúa 13/2 ở Thủy Dương. Tất cả các chủng nấm phân lập được ở Hương Văn được xếp vào hai nhóm II và III, các chủng phân lập ở Phong Hiền xếp vào nhóm III và IV. Điều này có thể cho thấy những chủng nấm được phân lập trên cùng một bộ phận của

cây lúa (cỏ bông) và trên một vùng phân lập có thể được xếp vào những nhóm khác nhau, tương tự với kết quả của Xia và đồng tác giả năm 2003.

Nhóm II và III có mối quan hệ di truyền tương đối gần nhau với mức độ đồng dạng di truyền đạt khoảng 77%, còn nhóm IV, V và VI có quan hệ di truyền khá xa so với các nhóm I, II và III, hệ số đồng

dạng di truyền đạt khoảng từ 0,61 - 0,69 với số lượng chủng nấm ít (có 1 - 3 chủng nấm) phân bố ở Quảng Lợi, Phong Hiền và Thủy Dương. Trong đó, nhóm V và VI với duy nhất 1 chủng nhưng nằm tách riêng thành một nhóm có hệ số đồng dạng di truyền với các nhóm di truyền khác lần lượt là 0,61 và ~0,65.



Hình 5. Gián đồ phả hệ DNA các chủng nấm *Pyricularia oryzae* ở Thừa Thiên Huế.

KẾT LUẬN

Trong 11 primer ngẫu nhiên được chọn đều có sự khuếch đại với 65 chủng nấm *Pyricularia oryzae*

được phân lập ở các vùng trồng lúa Thừa Thiên - Huế và số lượng các chủng nấm được khuếch đại bởi các primer khác nhau là không giống nhau. Primer OPA-13 với số lượng các chủng được khuếch đại

nhieu nhất (57 chủng nấm), primer PAP-02 chỉ khuếch đại với số lượng các chủng ít nhất (5 chủng nấm).

Tổng số 113 băng đa hình được tạo ra, trong đó primer OPA-011 có số băng khuếch đại nhiều nhất, còn hai primer OPA-01 và PAP-02 có số băng được khuếch đại đạt ít nhất.

Quần thể nấm đạo ôn ở Thừa Thiên - Huế khá đa dạng, với hệ số đồng dạng di truyền từ 0,61 đến 1,00; có thể chia làm 6 nhóm chính, trong đó nhóm II và III là những nhóm lớn, bao gồm 19 và 39 chủng nấm trong mỗi nhóm, phân bố trên tất cả các vùng nghiên cứu và có quan hệ di truyền gần nhau với mức độ tương đồng 77%.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp Tỉnh "Xác định một số gen chủ yếu kháng bệnh đạo ôn ở các giống lúa chủ lực tại Thừa Thiên - Huế" (1/2010-12/2011) do Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Thừa Thiên - Huế cấp kinh phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Burgess LW, Knight TE, Tesoriero L, Hien TP (2008) Diagnostic manual for plant diseases in Vietnam. *Australia Centre for International Agricultural Research*.
Chadha S, Gopalakrishna T (2005) Genetic diversity of Indian isolates of rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) using molecular markers. *Curr Sci* 88: 1466-1469.
Correll JC, Hard TL, Guerber JC, Zeigler RS, Liu B, Cartwright RD, Lee FN (2000) Characterization of *Pyricularia grisea* in the United States using independent genetic and molecular markers. *Phytopathology*, 90 (12):

1396-1404.

Don LD, Tosa Y, Nakayashiki H, Mayama S (1999) Population structure of the rice blast pathogen in Viet Nam. *Phytopathol Soc Jpn* 65: 475-479.

Kang S, Lee YH (2000) Population structure and race variation of the rice blast fungus. *Plant Pathol J* 16: 1-8.

McDonald BA (1997) The Population Genetics of Fungi: Tools and Techniques. *Phytopathology*, 87(4): 448-453.

Nguyenko RB, Ying S, Hong-kai W, Fu-cheng L, Tong X (2004) Genetic diversity analysis of *Magnaporthe grisea* from blast nurseries of Hunan province using random amplified polymorphic DNA. *J Zhejiang Univ Sci* 30(4): 355-362.

Roumen E, Levy M, Nottegham JL (1997) Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathogen analysis. *Eur.J.Plant Pathol* 103: 363-371.

Séré Y, Onasanya A, Afolabi A, Mignouna HD, Akator K (2007) Genetic diversity of the blast fungus, *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, in Burkina Faso. *Afr J Biotechnol* 6: 2568-2577.

Srinivasachary, Hittalmani S, Shivayogi S, Vaishali MG, Shashidhar HE, Kumar KG (2002) Genetic analysis of rice blast fungus of southern Karnataka using marker and reaction of popular rice genotypes. *Curr Sci* 82: 732-735.

Thuan NTN, Bigirimama J, Roumen ED, Straten DVD, Hofte M (2006) Molecular and pathotype analysis of the rice fungus in North Vietnam. *Eur J Plant Pathol* 114: 381-396.

Xia JQ, Correll JC, Lee FN, Rhoads DD, Marchetti MA (1993) DNA fingerprint to examine variation in the *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) population in two rice fields in Arkansas. *Phytopathology* 83: 1029-1035.

GENETIC DIVERSITY OF THE RICE BLAST FUNGUS (*PYRICULARIA ORYZAE*) POPULATION IN THUA THIEN - HUE

Trương thị Bích Phượng^{1, 2, *}, Trần Thị Phương Nhi², Duong Thị Thao Trang^{2, 3}, Nguyễn Thị Van¹, Trần Thị Thu Hà^{1, 3}

¹Institute of Resources, Environment and Biotechnology, Hue University

²College of Sciences, Hue University

³College of Agriculture and Forestry, Hue University

SUMMARY

Pyricularia oryzae is a rice blast fungus and one of the essential reasons for low rice crop yield worldwide and in Viet Nam. Sixty five isolates of *P. oryzae* were collected on rice leaves and panicles from various regions in Thua Thien - Hue. We amplified genomic DNA of isolates by 11 selected random primers

* Author for correspondence: Tel/Fax: 84-54-3822934; E-mail: tbphuongdt@gmail.com

Assessment of diversity and genetic relationship of the isolated rice blast pathogen population in Thua Thien - Hue through constructing a UPGMA dendrogram by the computer program NTSYS-pc, version 2.1 (Exeter Software, USA). The results of the study showed that the number of isolates amplified by different primers was not the same. OPA-13 is the best primer for genomic DNA amplification in this study with 57 isolates. There are only 5 isolates amplified by primer PAP-02. PCR amplification with 11 primers from 65 the *P. oryzae* genotypes produced 113 bands, ranging in size from approximately 250 to 3,854 bp. All of 113 amplified fragments, revealed polymorphism among the isolates. Primer OPA-011 has the highest number of amplified bands. Two primers, OPA-01 and PAP-02, have the lowest number of amplified bands. The dendrogram was generated by SM coefficient and the genetic similarity value among the isolates ranged from 0.61 to 1.00. Cluster analysis showed that population of 65 isolates was divided into six genetic groups. Group II and III were predominant, including 19 and 39 isolates, respectively. They were distributed in most of the studied regions of Thua Thien - Hue with the genetic similarity percentage between them being approximately 77%. Meanwhile, there was only one isolate from leaves of 13/2 variety in Thuy Duong in group V and group VI. The obtained results confirmed the high genetic diversity of rice blast fungus in Thua Thien - Hue.

Keywords: Genetic diversity, *Pyricularia oryzae*, RADP-PCR, Rice, Rice blast, Thua Thien - Hue