

CHUYỂN GEN *Xa7* KHÁNG VI KHUẨN BẠC LÁ VÀO DÒNG PHỤC HỒI ĐỂ PHÁT TRIỂN LÚA LAI HAI DÒNG

Dương Đức Huy^{1*}, Nguyễn Văn Hoan²

¹*NCS Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

²*Cố vấn dự án DCG - HUA - JICA, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email*: duongduchuylc@gmail.com

Ngày gửi bài: 07.09.2016

Ngày chấp nhận: 16.12.2016

TÓM TẮT

Giống lúa lai hai dòng LC212 là giống lúa có tiềm năng năng suất cao, thời gian sinh trưởng ngắn, thích ứng rộng với nhiều vùng sinh thái nhưng bị nhiễm bệnh bạc lá. Để cải tiến khả năng kháng bệnh của LC212, gen *Xa7* từ dòng IRBB7 được chuyển vào dòng phục hồi phân R212, là dòng bố của giống lúa lai LC212 bằng phương pháp lai lại. Bằng phương pháp lấy nhiễm nhân tạo và chọn lọc nền di truyền sử dụng chỉ thị phân tử (MAS) đã tạo được 25 dòng R212 ở thế hệ BC2F4 và 8 dòng BC3F3 có kiểu hình tương tự R212, đồng hợp tử gen *Xa7* và kháng cao với 3 chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá. Đây là nguồn vật liệu ban đầu để tiếp tục chọn lọc ở giai đoạn tiếp theo nhằm chọn được dòng R212 mang gen kháng vi khuẩn gây bệnh bạc lá làm dòng bố cải tiến giống lúa LC212.

Từ khóa: Vi khuẩn bạc lá, LC212, R212, gen *Xa7* kháng bạc lá, dòng phục hồi.

Introgression of *Xa7* for Bacterial Blight Resistance to Restorer Line for Development of Two-line Hybrid

ABSTRACT

Two-line hybrid rice variety LC212 is valuable variety with high yielding potential, short growing duration, widely adaptation to environment but susceptible to Bacterial Leaf Blight (BLB). Backcross breeding method was conducted for transferring *Xa7* gene to restorer R212 which is male of hybrid rice variety LC212. The plants which have phenotype similar of R212, high resistance to three typical BLB races, carrying homogenous *Xa7* gene of BC2 and BC3 generation were selected by Pedigree selection. The selected plants were inoculated, similar phenotype was selected and MAS technique were used to identify *Xa7* gene. The 25 lines R212BB of BC2F4 and the 8 lines R212BB of BC3F3 were selected. They are using for father step breeding of R212 restorer resistance to BLB as announced improved rice lines LC212.

Keywords: Bacterial leaf blight, LC212, R212, *Xa7* resistance gene, restorer line.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong sản xuất lúa, các giống lúa lai được sử dụng ngày càng rộng rãi, góp phần làm tăng năng suất một cách đáng kể. Tuy nhiên, hầu hết các giống lúa lai, đặc biệt lúa lai hai dòng tương đối cảm nhiễm với các chủng bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) có mặt ở Việt Nam. Bệnh bạc lá làm giảm diện tích quang hợp, tăng tỉ lệ hạt lép, giảm khối lượng 1.000 hạt

và gây thiệt hại nghiêm trọng trong sản xuất lúa trong những năm gần đây. Vì vậy việc chọn tạo các giống lúa, nhất là lúa lai kháng bệnh bạc lá đang trở thành yêu cầu cấp thiết đặt ra đối với các nhà chọn tạo giống. Giống lúa lai hai dòng LC212 là giống lúa có tiềm năng năng suất cao, thời gian sinh trưởng ngắn, thích ứng rộng với các vùng sinh thái, nhưng không kháng được bệnh bạc lá, do đó việc cải tiến giống lúa lai LC212 kháng được bệnh bạc lá là việc làm hết sức có ý nghĩa, giúp ổn

định và nâng cao hiệu quả sản xuất. Tạo giống kháng mang các gen kháng chính được coi là chiến lược hiệu quả và kinh tế nhất để kiểm soát bệnh và giảm ô nhiễm môi trường (Huang *et al.*, 1997, Jena and Mackill, 2008, Suh *et al.*, 2013).

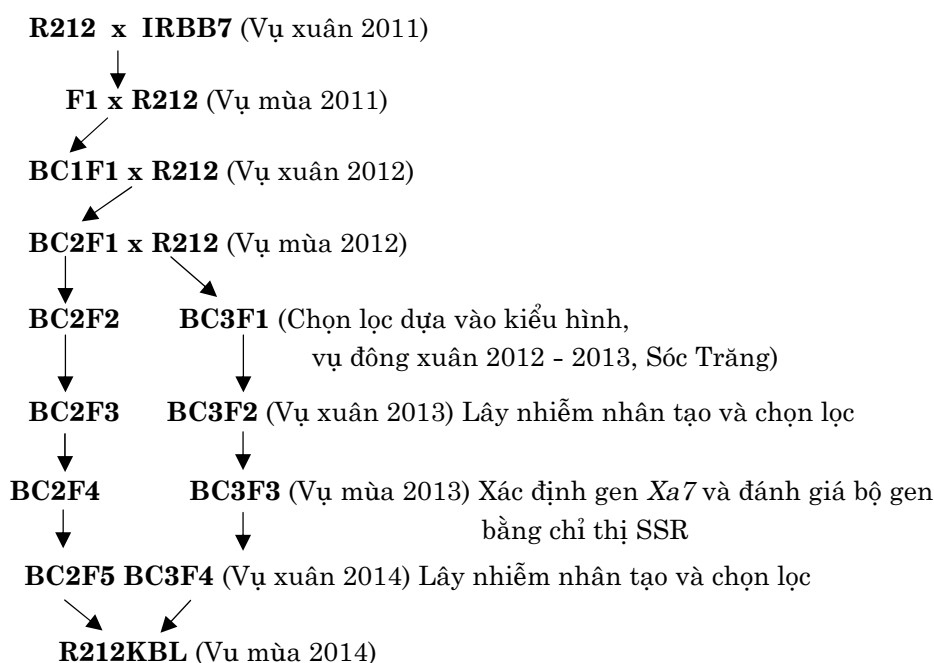
Đến nay, 38 gen kháng bệnh bạc lá từ nhiều nguồn đã được xác định (Bhasin *et al.*, 2012) và một số gen kháng đã được định vị nhờ các chỉ thị liên kết chặt với chúng (Yoshimura *et al.*, 2004; Tian, 2004). Một số ít gen kháng chính như *Xa4* (Khush *et al.*, 1989), *xa5*, *Xa7*, *xa13* và *Xa21* (Perumalsamy *et al.*, 2010) đã được chuyển vào các giống năng suất cao bằng phương pháp chọn giống truyền thống. Tuy nhiên, sự đa dạng của các chủng bạc lá làm cho tính kháng dễ bị mất khi các giống mang gen chính, chẳng hạn *Xa4*, được gieo trồng rộng rãi (Mew *et al.*, 1992). Gen kháng *Xa7*, phát hiện từ nguồn gen lúa của Indonesia, có khả năng kháng bạc lá hiệu quả trong điều kiện nhiệt độ cao (Webb *et al.*, 2010) và biểu hiện phổ kháng rộng với hầu hết các mẫu phân lập ở Việt Nam (Lã Vinh Hoa và cs., 2010). Bằng chỉ thị phân tử Lã Vinh Hoa và cs. (2010) đã phát hiện sự có mặt của gen *Xa7* trên nhiều giống lúa địa phương Việt Nam. Trong nghiên cứu này gen *Xa7* được chuyển từ IRBB7 (dòng đẳng gen

mang gen kháng *Xa7*) vào dòng phục hồi R212 với mục tiêu tăng khả năng kháng bạc lá cho tổ hợp lúa lai LC212.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và quy trình lai lại

Dòng đẳng gen IRBB7 mang gen *Xa7* kháng bạc lá được sử dụng làm thể cho trong phép lai lại với dòng phục hồi phần R212, dòng bố của tổ hợp lúa lai hai dòng LC212. Dòng R212 do Trung tâm Giống nông lâm nghiệp Lào Cai chọn tạo, có đặc điểm sinh trưởng khỏe, thân cứng, đẻ nhánh tốt, cấu trúc bông to, hạt xếp sít, là thể nhận được dùng làm bố mẹ lai lại. Dòng đẳng gen IRBB7 được lai với R212 và cây F1 được lai lại với giống nhận R212. Cây BC1F1 được lựa chọn dựa theo kiểu hình của thể nhận và tiếp tục lai lại để tạo BC2F1. Một phần ở thế hệ BC2F1 được tự thụ để tạo thế hệ BC2F2 và một phần lai lại với giống nhận để tạo BC3F1 được trồng tại Sóc Trăng (vụ đông xuân 2012 - 2013). Tại Sóc Trăng, dựa vào kiểu hình, đã chọn 88 cá thể BC2F2 để đánh giá dòng ở thế hệ BC2F3 và 48 cá thể BC3F1 để đánh giá dòng từ BC3F2 trong vụ xuân 2013. Quá trình lai được tiến hành từ năm 2011 với sơ đồ trình bày trong hình 1.



Hình 1. Sơ đồ lai lại và chọn lọc dòng

2.2. Sàng lọc khả năng kháng bạc lá

88 dòng từ thế hệ BC₂F₃ và 48 dòng từ BC₃F₂ được đánh giá và chọn lọc đối chiếu với kiểu hình của dòng R212 kết hợp khả năng kháng bạc lá thông qua lây nhiễm nhân tạo (Swing and Civerolo, 1995). Ba mẫu phân lập (MPL) vi khuẩn bạc lá, MPL1: HAU 01043, MPL2: HAU 02009 - 2 và MPL 3: HAU 02034 - 6 được nuôi cấy trên môi trường Wakimoto trong 48 h để tạo dung dịch lây nhiễm. Lây nhiễm được tiến hành bằng phương pháp cắt đầu lá ở giai đoạn đông già và đánh giá phản ứng với bệnh theo thang điểm dựa vào chiều dài vết bệnh sau 18 ngày lây nhiễm (Furuya *et al.*, 2002). Dòng IRBB7 được sử dụng làm đối chứng kháng và giống IR24 làm đối chứng nhiễm.

Chiều dài vết bệnh (cm)	Mức độ nhiễm bệnh
> 1	Kháng cao (HR)
1 - 4	Kháng (R)
4,1 - 8	Kháng trung bình (MR)
8,1 - 12	Nhiễm trung bình (MS)
> 12	Nhiễm (S)

Dựa vào kết quả đánh giá lây nhiễm nhân tạo, 81 cá thể ở thế hệ BC₂F₃ và BC₃F₂ đã được lựa chọn để tạo các dòng thế hệ BC₂F₄ và BC₃F₃ để đánh giá sự có mặt của gen *Xa7* trong vụ mùa 2013 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Cặp chỉ thị được sử dụng là RM5509, có trình tự bazơ (F) 5'TGATCCATGCTTTGGCC3' và (R) 5'CCAGCAGAAAGAAGACGC3'. Đối chứng gồm dòng gốc R212, IRBB7, IR24 và IRBB.

Lá non của các mẫu giống lúa được sử dụng để tách chiết DNA và tinh sạch theo phương pháp CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) của Doyle *et al.* (1987) tại phòng thí nghiệm của dự án JICA - HUA. Thể tích cho phản ứng PCR là 20 µl bao gồm 10x buffer, 200 µM dNTPs, 500 µM MgCl₂, 0,2 mM mỗi, 1µl DNA tổng số, 2 unit Taqpolymerase. Chu trình nhiệt được thực hiện: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ tiếp theo gồm 95°C trong 30 giây, 52 - 53°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút 30 giây. Chu kỳ cuối 72°C trong 7 phút và giữ ổn định ở 4°C. Sản phẩm PCR của gen *Xa7* được kiểm tra trên gel

agarose 3% ở hiệu điện thế 60 V trong 1 giờ 15 phút, sau đó nhuộm bằng ethium bromide.

Các dòng đồng hợp tử gen *Xa7* được tự thụ, chọn lọc đến thế hệ BC₂F₅ và BC₃F₄. Tổng số 12 dòng lai lại, trong đó 9 dòng BC₂F₆ và 3 dòng BC₃F₅ được đánh giá các đặc điểm nông học ở vụ mùa 2014.

2.3. Đánh giá các dòng lai lại về đặc điểm nông học

9 dòng lai lại thế hệ BC₂F₆ và 3 dòng thế hệ BC₃F₅ được đánh giá cùng với dòng nhận trong vụ mùa 2014 tại Bát Xát, Lào Cai. Thí nghiệm được bố theo kiểu tập đoàn mỗi dòng 330 cây, diện tích ô thí nghiệm là 10 m². Các đặc điểm nông học được đánh giá gồm: thời gian trổ, thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, tỉ lệ hạt phần hữu dục, số hạt/bông, năng suất và phản ứng với bệnh bạc lá. Phương pháp đánh giá các chỉ tiêu trên theo Nguyễn Thị Lan và Phạm Tiến Dũng (2006).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá và chọn lọc dòng lai lại dựa vào kiểu hình và lây nhiễm nhân tạo

Các thế hệ BC₂F₂ và BC₃F₁ được trồng ở vụ đông xuân 2012 - 2013 tại Sóc Trăng với các cá thể có kiểu hình giống với R212 được chọn lọc. Kết quả chọn lọc được 136 cá thể, trong đó có 88 cá thể BC₂F₂ và 48 cá thể BC₃F₁. Các cá thể này phát triển thành các dòng và được trồng trong vụ xuân tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Tiến hành đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của các dòng. Kết quả lây nhiễm với 3 MPL cùng với đối chứng kháng IRBB7 và đối chứng nhiễm IR24 đã xác định được 6 dòng BC₂F₃ và 2 dòng BC₃F₂ kháng cao với vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa với chiều dài vết bệnh dưới 1 cm (Bảng 1).

Kết quả chọn lọc qua lây nhiễm nhân tạo cho thấy ở các thế hệ lai lại muộn tỷ lệ cây kháng cao thấp hơn, ở BC₂F₃ là 6,8% trong khi ở thế hệ BC₃F₂ chỉ đạt 4,2%. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2003; Hien Vu Thu *et al.*, 2007).

Bảng 1. Số dòng kháng với ba mẫu phân lập vi khuẩn bạc lá

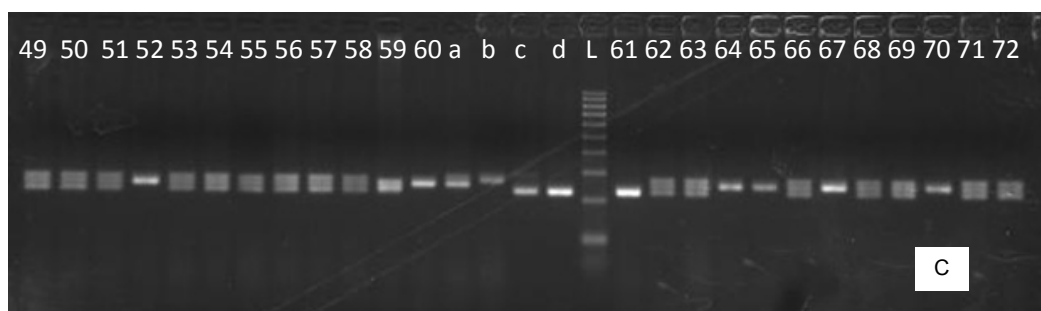
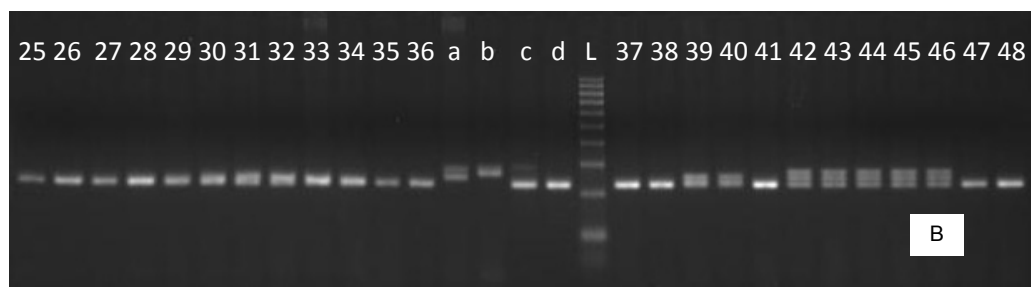
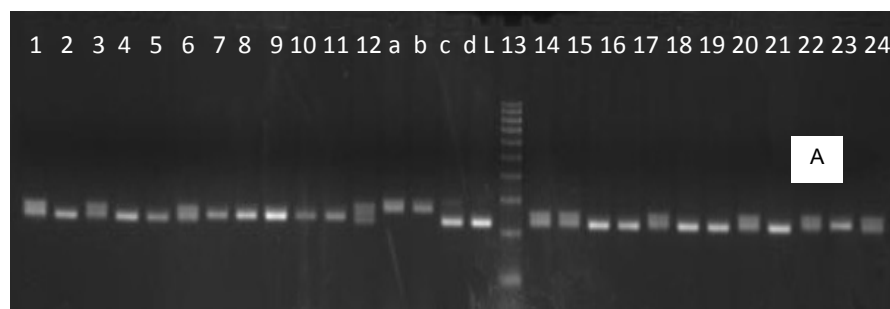
Thế hệ/Đối chứng	Số dòng	Số dòng kháng ở mức cao (HR)			Số dòng kháng cả ba mẫu phân lập
		Mẫu phân lập 1	Mẫu phân lập 2	Mẫu phân lập 3	
BC2F3	88	6	7	7	6
BC3F2	48	2	2	2	2
IRBB7 (ĐC kháng)	1	-	-	-	1
IR24 (ĐC nhiễm)	1	+	+	+	0

Trong 81 cá thể (dòng) kháng bệnh bạc lá, 37 cá thể ở thế hệ BC2F3 và 54 cá thể ở thế hệ BC3F2 được kiểm tra sự có mặt của gen *Xa7* để tiếp tục chọn lọc ở thế hệ BC₂F₄ và BC₃F₃.

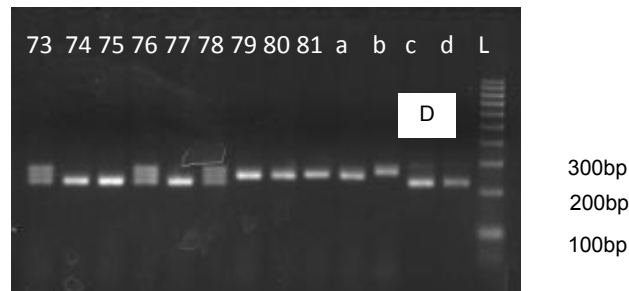
3.2. Sàng lọc dòng lai lại bằng chỉ thị phân tử với gen *Xa7*

Kiểm tra sự có mặt gen *Xa7* bằng chỉ thị RM5509 cho thấy các dòng lai lại thế hệ BC2F4

và BC3F3 mang gen kháng ở trạng thái dị hợp tử hoặc đồng hợp tử (Hình 2, Bảng 2, 3, 4, 5). Kết quả là 33 dòng BC2F4 mang gen đồng hợp tử và 8 cá thể BC3F3 mang gen đồng hợp tử được xác định. Đối chiếu với dòng gốc R212 là giống, ký hiệu R212BB7, trong đó 9 dòng BC2F4 và 3 dòng BC3F3 (Bảng 6) tiếp tục được đánh giá và chọn lọc để tạo dòng bố mang gen *Xa7* kháng bạc lá.



Chuyển gen Xa7 kháng vi khuẩn bạc lá vào dòng phục hồi để phát triển lúa lai hai dòng



Hình 2. Phân tích sản phẩm PCR của bố mẹ, đối chứng và 37 cá thể lai thế hệ BC2F3 và 54 cá thể lai lại thế hệ BC3F2

Bảng 2. Sự có mặt của Xa7 thông qua phân tích PCR với cặp mồi RM5509 của 24 cá thể (1 - 24) hệ BC2F3, hình 2A

Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen	Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen
a	R212	Không mang gen	c	IRBB7	Đồng hợp tử Xa7
b	IR24	Không mang gen	d	IRBB5/7	Đồng hợp tử Xa7 và Xa5
1	501 (1 - 1)	Dị hợp tử	13	521 (1 - 2)	Dị hợp tử
2	501 (1 - 2)	Đồng hợp tử	14	521 (1 - 3)	Dị hợp tử
3	501 (1 - 3)	Dị hợp tử	15	521 (1 - 4)	Đồng hợp tử
4	504 (1 - 1)	Đồng hợp tử	16	521 (1 - 5)	Đồng hợp tử
5	504 (1 - 2)	Đồng hợp tử	17	521 (1 - 6)	Dị hợp tử
6	505 (1 - 1)	Dị hợp tử	18	521 (1 - 7)	Đồng hợp tử
7	520 (1 - 1)	Đồng hợp tử	19	522 (1 - 1)	Đồng hợp tử
8	520 (1 - 2)	Đồng hợp tử	20	522 (1 - 2)	Dị hợp tử
9	520 (1 - 3)	Đồng hợp tử	21	522 (1 - 3)	Đồng hợp tử
10	520 (1 - 4)	Đồng hợp tử	22	522 (1 - 4)	Dị hợp tử
11	520 (1 - 5)	Đồng hợp tử	23	522 (1 - 5)	Đồng hợp tử
12	521 (1 - 1)	Dị hợp tử	24	522 (1 - 6)	Dị hợp tử

Bảng 3. Sự có mặt của Xa7 thông qua phân tích PCR với cặp mồi RM5509 của 24 cá thể (25 - 48) thế hệ BC2F3 (25 - 37) và thế hệ BC3F2 (38 - 48), hình 2B

Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen	Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen
A	R212	Không mang gen	c	IRBB7	Đồng hợp tử Xa7
B	IR24	Không mang gen	d	IRBB5/7	Đồng hợp tử Xa7 và Xa5
25	522 (1 - 7)	Đồng hợp tử	37	575 (1 - 10)	Đồng hợp tử
26	522 (1 - 8)	Đồng hợp tử	38	610 (1 - 1)	Đồng hợp tử
27	522 (1 - 9)	Đồng hợp tử	39	610 (1 - 2)	Dị hợp tử
28	575 (1 - 1)	Đồng hợp tử	40	610 (1 - 3)	Dị hợp tử
29	575 (1 - 2)	Đồng hợp tử	41	610 (1 - 4)	Đồng hợp tử
30	575 (1 - 3)	Đồng hợp tử	42	610 (1 - 5)	Dị hợp tử
31	575 (1 - 4)	Dị hợp tử	43	610 (1 - 6)	Dị hợp tử
32	575 (1 - 5)	Dị hợp tử	44	610 (1 - 7)	Dị hợp tử
33	575 (1 - 6)	Đồng hợp tử	45	610 (1 - 8)	Dị hợp tử
34	575 (1 - 7)	Đồng hợp tử	46	610 (1 - 9)	Dị hợp tử
35	575 (1 - 8)	Đồng hợp tử	47	610 (1 - 10)	Đồng hợp tử
36	575 (1 - 9)	Đồng hợp tử	48	610 (1 - 11)	Đồng hợp tử

Bảng 4. Sự có mặt của *Xa7* thông qua phân tích PCR với cặp mồi RM5509 của 24 cá thể (25 - 48) thế hệ BC3F2 (49 - 72), hình 2C

Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen	Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen
A	R212	Không mang gen	C	IRBB7	Đồng hợp tử <i>Xa7</i>
B	IR24	Không mang gen	D	IRBB5/7	Đồng hợp tử <i>Xa7</i> và <i>Xa5</i>
49	610 (1 - 12)	Dị hợp tử	61	610 (2 - 12)	Đồng hợp tử
50	610 (2 - 1)	Dị hợp tử	62	632 (1 - 1)	Dị hợp tử
51	610 (2 - 2)	Dị hợp tử	63	632 (1 - 2)	Dị hợp tử
52	610 (2 - 3)	Không mang gen	64	632 (1 - 3)	Không mang gen
53	610 (2 - 4)	Dị hợp tử	65	632 (1 - 4)	Không mang gen
54	610 (2 - 5)	Dị hợp tử	66	632 (1 - 5)	Dị hợp tử
55	610 (2 - 6)	Dị hợp tử	67	632 (1 - 6)	Không mang gen
56	610 (2 - 7)	Dị hợp tử	68	632 (1 - 7)	Dị hợp tử
57	610 (2 - 8)	Dị hợp tử	69	632 (1 - 8)	Dị hợp tử
58	610 (2 - 9)	Dị hợp tử	70	632 (1 - 9)	Không mang gen
59	610 (2 - 10)	Dị hợp tử	71	632 (1 - 10)	Dị hợp tử
60	610 (2 - 11)	Không mang gen	72	632 (1 - 11)	Dị hợp tử

Bảng 5. Sự có mặt của *Xa7* thông qua phân tích PCR với cặp mồi RM5509 của 9 cá thể (73 - 81) thế hệ BC3F2, hình 2D

Bảng	Đối chứng/cá thể chọn lọc	Kiểu gen
A	R212	Không mang gen
B	IR24	Không mang gen
C	IRBB7	Đồng hợp tử <i>Xa7</i>
D	IRBB5/7	Đồng hợp tử <i>Xa7</i> và <i>Xa5</i>
73	632 (1 - 12)	Dị hợp tử
74	632 (2 - 1)	Đồng hợp tử
75	632 (2 - 2)	Đồng hợp tử
76	632 (2 - 3)	Dị hợp tử
77	632 (2 - 4)	Đồng hợp tử
78	632 (2 - 5)	Dị hợp tử
79	633 (1 - 1)	Không mang gen
80	633 (1 - 2)	Không mang gen
81	633 (1 - 3)	Không mang gen

3.3. Đặc điểm nông học và năng suất của các dòng lai lại

9 dòng thế hệ BC2F5 và 3 dòng thế hệ BC3F4 cùng với dòng nhận được đánh giá trong vụ mùa 2013, vụ xuân 2014 tại Bát Xát, Lào Cai. Các dòng lai lại (gọi tắt là R212KBL) có đặc điểm nông học như thời gian từ cấy đến

trổ, số nhánh, TGST tương tự bố mẹ lai lại, R212. Tuy nhiên, phần lớn các dòng lai lại có chiều cao cây cao hơn dòng R212 (Bảng 6). Chiều cao cây cao hơn từ 8 - 10 cm cộng với độ hữu dục tương đương là những đặc điểm mong muốn/có ích của dòng bố để tăng khả năng phát tán phấn và thụ phấn cho dòng mẹ trong tổ hợp lai.

Bảng 6. Thời gian qua các giai đoạn sinh trưởng của các dòng R212 KBL trong vụ mùa 2013 tại Bát Xát, Lào Cai (ngày)

Dòng lai lại được chọn	Bắt đầu đẻ nhánh	Đẻ nhánh tối đa	Trở 10%	Trở 80%	Thời gian sinh trưởng	Chiều cao cây (cm)
575 - 1 - 1 - 4	11	29	54	58	99	102,5
632 - 2 - 4 - 2	10	28	58	63	103	105,2
522 - 1 - 1 - 1	10	28	55	59	100	106,6
522 - 1 - 1 - 2	11	30	57	62	102	103,8
610 - 2 - 12 - 1	11	28	53	56	98	106,1
504 - 1 - 1 - 1	10	28	58	64	103	104,0
610 - 1 - 1 - 1	10	28	55	60	100	101,0
520 - 1 - 3 - 1	12	32	57	60	102	106,4
520 - 1 - 1 - 1	12	31	57	61	102	104,4
521 - 1 - 7 - 1	15	43	55	58	100	99,3
521 - 1 - 4 - 1	12	42	56	60	101	102,7
520 - 1 - 5 - 3	12	41	54	57	99	103,2
R212	13	44	56	60	101	91,4
LSD _{0,05}					4,2	5,6

Số hạt/bông và khối lượng 1.000 hạt của phần lớn các dòng lai lại đều cao hơn R212. Năng suất cá thể ở phần lớn các dòng không cao hơn có ý nghĩa so với R212 mặc dù số hạt/bông cao hơn R212, trừ dòng 504 - 1 - 1 - 1 (Bảng 7). Dòng 504 - 1 - 1 - 1 và 575 - 1 - 1 - 4 có khối lượng 1.000 hạt cao và năng suất cá thể cao nhất. Đây có thể là ưu thế của các dòng R212KBL triển vọng trong việc tăng năng suất con lai.

Các dòng lai lại được chọn lọc mang kiểu gen của dòng nhận và chứa gen *Xa7* ở trạng thái đồng hợp tử. Kết quả lây nhiễm nhân tạo 3 chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá phân lập từ Lào Cai, Nam Định và Thanh Hóa trên các dòng trong vụ xuân 2014 tại Bát Xát cho thấy tất cả các dòng R212KBL tuyển chọn đều kháng đến kháng cao với 3 chủng vi khuẩn (Bảng 8). Trong các dòng đánh giá có 4 dòng R212KLB triển vọng kháng cao với cả 3 chủng vi khuẩn là 575 -

Bảng 7. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng R212KBL triển vọng vụ xuân 2014 tại Bát Xát

Dòng lai lại được chọn	Số bông/khóm	Số hạt/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	Khối lượng 1.000 hạt (g)	Năng suất cá thể (g/khóm)
575 - 1 - 1 - 4	5,6	239,4	90,4	27,1	23,0
632 - 2 - 4 - 2	6,0	238,2	90,2	25,5	21,7
522 - 1 - 1 - 1	6,3	204,0	94,9	27,0	23,1
522 - 1 - 1 - 2	4,8	230,5	90,7	26,5	18,8
610 - 2 - 12 - 1	5,3	194,7	93,0	25,0	19,5
504 - 1 - 1 - 1	7,0	238,6	98,2	27,0	29,7
610 - 1 - 1 - 1	5,8	227,7	88,9	24,0	18,6
520 - 1 - 3 - 1	5,1	203,6	90,2	23,8	14,9
520 - 1 - 1 - 1	5,2	223,2	92,4	24,3	17,3
521 - 1 - 7 - 1	4,5	245,6	89,3	25,1	16,8
521 - 1 - 4 - 1	6,1	190,1	93,2	24,8	19,2
520 - 1 - 5 - 3	5,3	205,5	90,8	23,9	16,8
R212	6,6	198,8	93,4	23,0	18,9
LSD _{0,05}	2,3	5,2	3,2	2,3	3,8

Bảng 8. Đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của các dòng lúa R212KBL triển vọng qua lây nhiễm nhân tạo vụ xuân 2014

Dòng lai lai được chọn	Chiều dài vết bệnh (cm)			Mức độ kháng nhiễm		
	Chủng Lào Cai	Chủng Nam Định	Chủng Thanh Hoá	Chủng Lào Cai	Chủng Nam Định	Chủng Thanh Hoá
575 - 1 - 1 - 4	0,4	0,7	0,9	HR	HR	HR
632 - 2 - 4 - 2	0,5	0,6	0,8	HR	HR	HR
522 - 1 - 1 - 1	0,9	2,5	3,1	HR	R	R
522 - 1 - 1 - 2	0,8	3,5	3,4	HR	R	R
610 - 2 - 12 - 1	0,6	0,3	0,4	HR	HR	HR
504 - 1 - 1 - 1	0,7	3,8	3,3	HR	R	R
610 - 1 - 1 - 1	0,2	0,6	0,5	HR	HR	HR
520 - 1 - 3 - 1	6,3	7,6	9,1	MR	MR	MR
520 - 1 - 1 - 1	0,8	3,8	6,6	HR	R	MR
521 - 1 - 7 - 1	3,6	2,9	3,1	R	R	R
521 - 1 - 4 - 1	6,3	7,8	7,5	MR	MR	MR
520 - 1 - 5 - 3	3,9	5,8	7,1	R	MR	MR
R212	10,5	15,8	19,4	S	HS	HS
IR24	22,4	25,7	27,9	HS	HS	HS
IRBB7	0,4	0,8	0,9	HR	HR	HR

Ghi chú: HR: kháng cao; R: kháng; MR: Kháng trung bình; S: Nhiễm

1 - 1 - 4, 632 - 2 - 4 - 2, 610 - 2 - 12 - 1 và 610 - 1 - 1 - 1 (Bảng 8).

4. THẢO LUẬN

Phần lớn các giống lúa lai hai dòng, đặc biệt các giống lúa lai nhập nội từ Trung Quốc khá mẫn cảm với các chủng vi khuẩn bạc lá ở Việt Nam. Do đó việc tạo ra các dòng bố mẹ kháng bệnh bạc lá là cơ sở để cải tiến khả năng kháng bệnh bạc lá của các giống lúa lai. Các kết quả đánh giá ở Việt Nam cho thấy 3 gen *Xa5*, *Xa7* và *Xa21* kháng được phần lớn các chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa ở miền Bắc Việt Nam, trong đó gen *Xa7* được phát hiện trên nhiều giống lúa địa phương (Lã Vinh Hoa và cs., 2010).

Bằng phương pháp lai lại gen *Xa7* được chuyển vào dòng bố (dòng nhận) của tổ hợp lai LC212, một tổ hợp hai dòng có triển vọng ở Lào Cai. Bằng chọn lọc kiểu hình, đánh giá sự phát triển chiều dài của vết bệnh sau lây nhiễm nhân tạo với các mẫu phân lập đại diện sau hai hoặc 3 thế hệ lai lại và tự thụ kết hợp với chỉ thị phân tử có thể chuyển gen kháng *Xa7* vào dòng nhận. Gen *Xa7* chuyển vào các dòng lai chọn lọc thể

hiện khả năng kháng cao với các mẫu phân lập, tương đương với thể cho.

Các dòng phục hồi được chuyển gen kháng có khả năng kháng bạc lá cao hơn hẳn so với dòng gốc R212, sinh trưởng, phát triển tốt trong điều kiện ở Bát Xát, Lào Cai. Chúng có các tính trạng nông sinh học tương đương hoặc tốt hơn so với dạng nguyên bản R212. Thời gian sinh trưởng của các dòng bố có gen kháng bạc lá thuộc nhóm ngắn ngày (dao động từ 98 - 103 ngày). Phần lớn các dòng có chiều cao cây thuộc nhóm bán lùn (dao động từ 99,3 - 106,6 cm), nhưng cao hơn dòng gốc với cấu trúc thân cứng, bông đẹp và khả năng chống đổ tốt. Kết hợp với khả năng phục hồi phần tốt các dòng lai lại, 504 - 1 - 1 - 1, 575 - 1 - 1 - 4, 632 - 2 - 4 - 2, 522 - 1 - 1 - 1 và 610 - 2 - 12 - 1 là những dòng R triển vọng. Dòng R mới có thể sử dụng hiệu quả cho chương trình cải tiến giống lúa lai ở Lào Cai.

5. KẾT LUẬN

Phương pháp lai lại, chọn lọc kiểu hình kết hợp với chọn lọc dựa vào chỉ thị phân tử là phương pháp hiệu quả để chuyển gen kháng

bệnh bạc lá vào dòng bố mẹ của tổ hợp lúa lai hai dòng. Trong nghiên cứu này đã được chuyển gen kháng bạc lá *Xa7* vào dòng phục hồi hạt phấn R212, đồng thời tạo ra được một số dòng với nền di truyền R212 kháng bạc lá cao. Các dòng kháng cao, đồng hợp tử trội với gen *Xa7* đã và đang được lai thử nghiệm với dòng mẹ bất dục di truyền mẫn cảm nhiệt độ để khẳng định khả năng làm dòng phục hồi cho lúa lai hai dòng.

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Nguyễn Văn Hoan, Dự án DCG - HUA - JICA, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và Trung tâm Giống Nông lâm nghiệp Lào Cai đã giúp đỡ tôi thực hiện công trình này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhasin H, Bhatia D, Raghuvanshi S, Lore SJ, Gurpreet K, Sahi KG, Kaur B, Vikal Y, Singh K (2012). New PCR - based sequence - tagged site marker for bacterial blight resistance gene *Xa38* of rice. *Mol Breeding*, 30: 607 - 611. doi: 10.1007/s11032 - 011 - 9646.
- Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2003). Áp dụng chỉ thị phân tử để chọn tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá, Hội thảo Quốc gia bệnh cây và sinh học phân tử, Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 49 - 53.
- Doyle, J.J., Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11 - 15.
- Furuya N., S. Taura, Bùi Trọng Thủy, Phan Huu Ton, Nguyễn Văn Hoan and Yoshimura, A. (2003). Experimental technique for Bacterial blight of rice. HAU - JICA ERCB project, 42 p.
- Hien Vu Thu, Hoan Nguyen Van, Yasui Hideshi and Yoshimura Atsushi (2007). Development of a new thermo - sensitive genic male sterility line with bacterial blight resistance by molecular marker - assisted selection, Hybrid rice and Agro Ecosystem, Hanoi university of agriculture, Vietnam, pp. 45 - 51.
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, Magpantay G, Singh S, Zhang G, Kumaravadevil N, Bennett J, Khush GS. (1997). Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet.*, 95: 313 - 320. doi: 10.1007/s001220050565.
- Jena, K. K., D. J. Mackill (2008). Molecular markers and their use in marker - assisted selection in rice. *Crop Sci.*, 48: 1266 - 1276. doi: 10.2135/cropsci2008.02.0082.
- Khush GS, Mackill DJ, Sidhu GS. (1989). Breeding rice for resistance to bacterial leaf blight. In: IRRI (Ed.). Bacterial blight of rice. Manila, Philippines: IRRI, 989: 207 - 217.
- Lã Vinh Hoa, Tống Văn Hải, Phan Hữu Tôn, Trần Minh Thu, Li Yang Rui (2010). Khảo sát nguồn gen cây lúa mang gen kháng bệnh bạc lá bằng chỉ thị phân tử DNA, Tạp chí Khoa học và Phát triển, 8: 9 - 16.
- Nguyễn Thị Lan, Phạm Tiến Dũng (2006). Giáo trình phương pháp thí nghiệm. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Mew, T. W., C. M. Vera Cruz, 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. doi: 10.1094/PD - 76 - 1029.
- Suh JP, Jeung JU, Noh TH, Cho YC, Park SH, Park HS, Shin MS, Kim CK, Jena KK. (2013). Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad - spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. *Rice*, 6: 5. doi: 10.1186/1939 - 8433 - 6 - 5.
- Swing J.G and Civerolo E. (1995). *Xanthomonas*. 1.4 *Xanthomonas campestris oryzae*, Akinomoto's Medium for Xoo Isolation, Page 47. Springer - Science BussinesMedia. ISBN 978 - 94 - 001 - 1526 - 1 (ebook).
- Tian K.Gu, Yang D.F, Wu L, Sreekala C, Wang.D, Wang.G.L, Yin Z. (2004). High - resolution genetic mapping of *Xa 27* (t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L., *Theor Appl Genet* 108; 800 - 807, <http://www.Springer.com>.
- Yoshimura A, Yasui H, Hoan NV (2004). Pyramiding of genes for resistance to bacterial blight of rice and its application to hybrid rice breeding in Northern part of Vietnam.
- Webb, K. M., I. On~a, J. Bai, K. A. Garrett, T. Mew, C. M. Vera Cruz and J. E. Leach (2010). A benefit of high temperature: increased effectiveness of a rice bacterial blight disease resistance gene, *New Phytologist*, 185: 568 - 576.