

XÁC ĐỊNH NGUỒN GEN KHÁNG RẦY NÂU Ở MỘT SỐ GIỐNG LÚA BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Nguyễn Thị Kim Liên¹, Nguyễn Huy Hoàng¹, Lê Bắc Việt¹, Phan Thị Bích Thu², Nguyễn Huy Chung²

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Bảo vệ thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài: 21.01.2016

Ngày nhận đăng: 20.6.2016

TÓM TẮT

Rầy nâu *Nilaparvata lugens*, là một trong các loại sâu hại nguy hiểm đối với cây lúa đã được ghi nhận tại hầu hết các nước có trồng lúa. Cho đến nay đã xác định được 27 gen kháng rầy nâu ở các giống lúa trồng và lúa hoang dại. Tuy nhiên, mỗi gen kháng chỉ có khả năng kháng với những chủng hoặc biotype rầy nâu nhất định. Việc chọn tạo các giống lúa có khả năng kháng với nhiều biotype rầy nâu đang được các nhà chọn tạo giống hướng đến. Với sự phát triển của chỉ thị phân tử và các kỹ thuật di truyền, các nhà chọn giống đã có thể xác định được các chỉ thị liên kết chặt với các gen kháng rầy nâu, từ đó chọn tạo được giống lúa có thể quy tụ nhiều gen kháng trên một nền di truyền ưu việt nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng kháng rầy nâu của một số dòng giống lúa của Việt Nam và nhập nội bằng phương pháp đánh giá nhân tạo của IRRI và bằng chỉ thị phân tử SSR và STS liên kết với gen kháng rầy nâu *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *Bph9*, *Bph17*. Kết quả đánh giá cho thấy có sự tương đồng cao giữa hai phương pháp, trong số 51 dòng/giống lúa khảo sát có 70,59% và 86,27% (đánh giá theo từng phương pháp) dòng có khả năng kháng, 37,25% số dòng mang từ hai đến ba chỉ thị liên kết với gen kháng. Đây là nguồn nguyên liệu tốt cho các nghiên cứu chọn tạo giống lúa kháng rầy.

Từ khóa: Chỉ thị phân tử, gen kháng rầy nâu *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *Bph9*, *Bph17*, lúa, SSR, STS

MỞ ĐẦU

Lúa là một trong những loại cây lương thực quan trọng nhất và là nguồn cung cấp năng lượng chính cho 1/3 dân số thế giới (Jena, Kim, 2010). Tuy nhiên, lúa cũng thường bị phá hoại bởi nhiều loại sâu bệnh, trong đó rầy nâu (*Nilaparvata lugens*, (Homoptera: Delphacidae)) là đối tượng sâu hại nguy hiểm nhất (Dyck, Thomas, 1979). Khi bị nhiễm nặng, rầy nâu sẽ làm cho cây lúa bị khô héo nhanh chóng gọi là cháy rầy (hopperburn) và không cho thu hoạch (Dyck, 1977). Rầy nâu *Nilaparvata lugens* đã được ghi nhận tại hầu hết các nước trồng lúa như Ấn Độ, Trung Quốc, Indonesia, Thái Lan, Việt Nam, Philippines, Campuchia, Nhật Bản, Nepal, Bangladesh, Sri Lanka, Hàn Quốc, Malaysia, Đài Loan, các quốc đảo vùng Thái Bình Dương như Fiji, Solomon, New Guinea, Masiana.

Theo Ling (1967), ngoài thiệt hại trực tiếp do chích hút gây hiện tượng cháy rầy, rầy nâu còn là vector truyền bệnh một số bệnh virus nguy hiểm như bệnh lúa vàng lùn (VL) và bệnh lúa lùn xoắn lá (LXL). Trong những năm gần đây, rầy nâu đã và

đang gây ra những thiệt hại đáng kể ở Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên, Thái Lan và Việt Nam.

Nghiên cứu và sử dụng gen kháng rầy nâu đã được bắt đầu từ năm 1967 (Pathak *et al.*, 1969). Hiện nay, 27 gen kháng rầy nâu đã được phát hiện: *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *bph4*, *bph5*, *Bph6*, *bph7*, *bph8*, *Bph9*, *Bph10*, *bph11*, *Bph12*, *Bph13*, *Bph14*, *Bph15*, *Bph16*, *Bph17*, *Bph18(T)*, *bph18(t)*, *Bph19(T)*, *bph19(t)*, *Bph20*, *Bph21*, *Bph22(T)*, *bph22(t)*, *Bph23(T)*, *bph23(t)*, *bph24*, *Bph25*, *Bph26* và *Bph27* (Huang *et al.*, 2013). Tuy nhiên, mỗi gen kháng chỉ có khả năng kháng với một hoặc một số chủng hoặc biotype rầy nâu nhất định. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu cho thấy độc tính của rầy nâu luôn có xu hướng thay đổi để vượt qua khả năng chống chịu của các gen kháng. Vì vậy, các nhà chọn tạo giống đang hướng đến việc chọn tạo giống lúa có thể quy tụ nhiều gen kháng nhằm tạo giống lúa có khả năng kháng bền vững.

Tại Việt Nam, rầy nâu cũng là đối tượng sâu hại nguy hiểm và gây ra những thiệt hại đáng kể cho sản xuất lúa. Các đợt dịch rầy nâu lớn ở đồng bằng sông Hồng (ĐBSH) được ghi nhận đầu tiên vào năm

1981-1982 ở Nam Trung Bộ và đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) năm 1990-1991 (Phạm Văn Lâm, 2006). Trong những năm gần đây mức độ gây hại có xu hướng gia tăng và diễn biến phức tạp. Năm 2010, diện tích lúa bị rầy nâu gây hại trên toàn quốc lên tới 1.082.309 ha. Ở các tỉnh Nam Bộ, mặc dù bệnh VL và LXL đã được khống chế nhưng rầy nâu vẫn gây hại trên diện tích 332.941 ha. Ở các tỉnh phía Bắc, diện tích bị thiệt hại do rầy nâu năm 2010 là 708.131 ha, trong đó diện tích bị nhiễm nặng là 95.893 ha (Cục BVTV, 2012). Theo báo cáo của Cục Bảo vệ thực vật tháng 5 năm 2012, hầu hết các giống lúa gieo trồng chủ lực hiện tại ở miền Bắc đều nhiễm rầy và mức độ phá hại của rầy nâu gần đây có xu hướng gia tăng đặc biệt là ở vùng đồng bằng Sông Hồng và Bắc Trung Bộ.

Việc nghiên cứu xác định các gen kháng rầy nâu ở nước ta cũng chỉ mới bắt đầu từ 10 năm trở lại đây. Lưu Thị Ngọc Huyền và đồng tác giả (2001a, b) đã lập bản đồ gen kháng rầy nâu *bphX* trên nhiễm sắc thể số 4 ở giống lúa CR203, đây là giống lúa có tính kháng bền đối với các biotype rầy nâu ở Việt Nam. Thiều Văn Đường và đồng tác giả (2001) đã xác định được 2 locus gen kháng rầy nâu mới *bphY* (ở dòng DG5) và *BphZ* (ở dòng GC9) định vị trên nhiễm sắc thể số 4. Đây là các dòng lúa có phản ứng kháng khá tốt đối với quần thể rầy nâu mới phân lập ở Ô Môn, Cần Thơ.

Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2005) đã sử dụng chỉ thị phân tử liên kết chặt với gen kháng rầy nâu *Bph10* cho chọn giống lúa kháng rầy nâu. Nguyễn Thị Lang và đồng tác giả (2006) ứng dụng chỉ thị STS và SSR để đánh giá tính chống chịu rầy nâu ở nhiều giống lúa. Chỉ thị phân tử STS và SSR cũng được sử dụng trong việc khảo sát tính kháng rầy nâu ở các giống lúa trong nhiều nghiên cứu khác (Nguyễn Thị Diễm Thúy, 2011; Bùi Thị Kim Vi *et al.*, 2011; Phạm Thị Thanh Mai *et al.*, 2012; Lê Xuân Thái *et al.*, 2012).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chỉ thị phân tử SSR và STS để tiến hành xác định nguồn gen kháng rầy nâu ở một số giống lúa địa phương và nhập nội vào Việt Nam nhằm định hướng chọn tạo giống lúa kháng rầy nâu.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu:

Vật liệu sử dụng trong nghiên cứu xác định nguồn gen kháng rầy nâu bao gồm 65 dòng/giống lúa địa phương và lúa nhập nội được cung cấp bởi Viện Bảo vệ thực vật (Bảng 1). Trong số 65 dòng/giống lúa có 14 dòng (ký hiệu từ 59 đến 72) là các dòng/giống mang gen kháng chuẩn và dòng mẫu cảm sử dụng làm đối chứng.

Bảng 1. Các dòng/giống lúa sử dụng trong nghiên cứu.

Ký hiệu	Số đăng ký	Tên giống	Ký hiệu	Số đăng ký	Tên giống
1	TĐOM	OM 2395	43	12670	Nhỏ chùm
2	TĐOM	OM 2517	44	12671	Nàng Tây lớn
3	BL8/12	IR 8	45	12689	Cà đung sớm
4	BL11/12	IR 17494-32-1-1-3-2	46	12690	Cà đung đỏ
5	BL 12/12	IR 32720-138-2-1-1-2	47	12693	Đốc trắng
6	BL 14/12	IR 25587-133-2-2-2	48	12710	Nàng keo xiêm
8		CR203	49	12729	Ba lê
14	RN18/12	IR09A224	50	12966	11-26-2-Red
16	RN20/12	IR09N202	52	BL18/12	IR 54
17	RN23/12	IR09N501	53	BL22/12	IR BB4
18	RN27/12	IR10A115	54	BL32/12	IR 72912-15-1-5
19	RN32/12	IR10N305	55	BL49/12	IR 79585-61-2-3-3
21	1522	K 344	56	ĐO 49/12	CT18599-10-2-1-2-2
22	1526	Nén con	57	RN40/12	IR84675-134-6-1
23	1529	Nàng cá	58		CR84-1
24	3367	Lúa chì	59	CT1	ARC 10550 (ACC 12507)–<i>bph5</i>
25	6115	IR 13475-7-3-2	60	CT2	ASD7 (ACC 6303) – <i>bph2</i>

26	6117	IR 15527-21-2-3	61	CT3	CHINSABA (ACC 33016) – <i>bph8</i>
27	6129	IR 22082-41-2	62	CT4	IR29
28	6171	CN2	63	CT5	IR36 – <i>bph2</i>
29	6179	79-1	64	CT8	TN1 – Dòng miễn cảm
30	7813	Nếp ca tang dạng 1	65	CT9	MILYANG 55
31	8166	NR11	66	CT10	MILYANG 63
32	8167	OM1706	67	CT11	MUDGO (ACC 6663) – <i>Bph1</i>
33	8183	Tài lai mẽ	68	CT12	POKKALI – <i>Bph9</i>
34	8185	OM2031	69	CT13	RATHUHEENATI (ACC 11730) – <i>Bph3, 17</i>
35	8186	OM1490	70	CT14	SWARNALATA (ACC 33964) – <i>Bph6</i>
36	8187	OM21362	71	CT15	T12 (ACC 56989) – <i>bph7</i>
37	8188	OM64B	72	4665	IRRI 62 – <i>Bph3</i>
38	9524	A330	73	26V	Mổ vắn Tuyên quang
39	9607	MTL265	74	30V	Câu Ninh Bình
40	9609	IR1348-9	75	32V	Nếp mùa Hòa Bình
			77	36V	Nếp voi Hòa Bình

Các hóa chất sử dụng cho tách chiết DNA tổng số từ lá lúa, hóa chất cho phản ứng PCR nhân đoạn gen SSR và STS, hóa chất cho điện di trên gel agarose được mua của các hãng Sigma, Thermo, và

một số hóa chất thông dụng của Việt Nam.

Các cặp mồi SSR và STS liên kết với gen kháng rầy nâu được tổng hợp và cung cấp bởi Hãng IDT của Mỹ (Bảng 2).

Bảng 2. Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu.

TT	Tên mồi	Trình tự 5'-3'	Gen liên kết	Kích thước sản phẩm PCR	Tài liệu tham khảo
1	STS9F	AGCGCTGGTCGTTGGGGTTGTAGT	<i>Bph1</i>	536bp	Cha <i>et al.</i> , 2008
	STS9R	ATTAAAAGTGATCGCAGCCGTTCCG			
2	RM1358F	GATCGATGCAGCAGCATATG	<i>bph2</i>	180bp	Liu <i>et al.</i> , 2009
	RM1358R	ACGTGTGGCTGCTTTTGC			
3	RM586F	ACCTCGCGTTATTAGGTACCC	<i>Bph3</i>	186bp	Chen <i>et al.</i> , 2006
	RM586R	GAGATACGCCAACGAGATACC			
4	RM463F	TTCCCTCCTTTTATGGTGC	<i>bph2, Bph9</i>	250bp	Sun <i>et al.</i> , 2006
	RM463R	TGTTCTCCTCAGTCACTGCG			
5	RM8213F	AGCCAGTGATACAAAGATG	<i>Bph17</i>	177bp	Chen <i>et al.</i> , 2006
	RM8213R	GCGAGGAGATACCAAGAAAG			

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá tính kháng rầy nâu

Việc đánh giá tính chống chịu rầy nâu của các giống lúa được thực hiện vào tháng 5 năm 2014, tại Viện Bảo vệ thực vật theo phương pháp của IRRI (2002).

Vật liệu đánh giá: bộ chuẩn Biotype quốc tế (giống chuẩn nhiễm là TN1, giống chuẩn kháng là Ptb33).

Phương pháp của IRRI: các giống sử dụng trong thí nghiệm được ngâm ủ và gieo theo hàng trong khay 50 x 50 x 5 cm, mỗi giống gieo 3 lần lặp lại có bố trí chuẩn kháng Ptb33 và chuẩn nhiễm TN1. Khi cây mạ đến giai đoạn hai lá, tiến hành thả rầy đồng tuổi 1 đến tuổi 2 với mật độ 4-6 con/cây (khoảng 2-3 ngày sau gieo). Sau khi thả rầy từ 7-10 ngày, tiến hành đánh giá theo thang điểm của IRRI (Bảng 3).

Bảng 3. Thang xếp hạng phản ứng rầy nâu theo IRRI (2002).

Điểm	Đánh giá
0	Không bị ảnh hưởng
1	Bị ảnh hưởng rất nhẹ
3	Một hai lá đầu tiên bị vàng
5	10 đến 25% số cây héo hoặc chết, những cây còn lại còi cọc hoặc chết
7	Hơn một nửa số cây bị chết
9	Tất cả các cây đều bị chết

DNA tổng số của các dòng lúa được tách chiết từ lá lúa theo phương pháp của Saghai-Marooof và đồng tác giả (1984).

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 20 µl gồm 10,5 µl nước, 3 µl đệm 10X, 1 µl dNTPs (10mM/µl), 1 µl mỗi mỗi loại (10pmol/µl), 3 µl DNA (10 ng/µl), 0,5 µl Dream Taq. Phản ứng được thực hiện với chu kỳ nhiệt gồm 94°C – 3 phút, 30 chu kỳ (94°C – 1 phút, gắn mỗi ở 56 và 58°C trong 1 phút, 72°C – 1 phút), 72°C – 10 phút.

Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 3,5%, bản gel được nhuộm với EtBr và hiện bằng và chụp ảnh bằng máy GelDoc.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả đánh giá khả năng kháng rầy của các dòng/giống lúa

Kết quả đánh giá khả năng kháng rầy nâu của các dòng giống lúa trong nghiên cứu được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá khả năng kháng nhiễm của các dòng/giống lúa.

KH	Số đăng ký	Tên giống	Tính chống chịu (điểm)	KH	Số đăng ký	Tên giống	Tính chống chịu (điểm)
1	TĐOM	OM 2395	3	35	8186	OM1490	3
2	TĐOM	OM 2517	3	36	8187	OM21362	3
3	BL8/12	IR 8	5	37	8188	OM64B	1
4	BL11/12	IR 17494-32-1-1-3-2	7	38	9524	A330	1
5	BL 12/12	IR 32720-138-2-1-1-2	5	39	9607	MTL265	3
6	BL 14/12	IR 25587-133-2-2-2	5	40	9609	IR1348-9	1
8		CR203	3	43	12670	Nhỏ chùm	5
14	RN18/12	IR09A224	3	44	12671	Nàng Tây lớn	5
16	RN20/12	IR09N202	3	45	12689	Cà đung sớm	3
17	RN23/12	IR09N501	3	46	12690	Cà đung đỏ	7
18	RN27/12	IR10A115	3	47	12693	Đốc trắng	5
19	RN32/12	IR10N305	3	48	12710	Nàng keo xiêm	7
21	1522	K 344	3	49	12729	Ba lê	3
22	1526	Nén con	1	50	12966	11-26-2-Red	1
23	1529	Nàng cá	3	52	BL18/12	IR 54	5
24	3367	Lúa chì	1	53	BL22/12	IR BB4	3
25	6115	IR 13475-7-3-2	5	54	BL32/12	IR 72912-15-1-5	5
26	6117	IR 15527-21-2-3	5	55	BL49/12	IR 79585-61-2-3-3	5
27	6129	IR 22082-41-2	3	56	ĐO 49/12	CT18599-10-2-1-2-2	3
28	6171	CN2	3	57	RN40/12	IR84675-134-6-1	3
29	6179	79-1	3	58		CR84-1	3
30	7813	Nếp ca tang dạng 1	5	73	26V	Mồ vằn Tuyên quang	3
31	8166	NR11	1	74	30V	Câu Ninh Bình	3
32	8167	OM1706	1	75	32V	Nếp mùa Hòa Bình	3
33	8183	Tài lai mẽ	3	77	36V	Nếp voi Hòa Bình	3
34	8185	OM2031	1				

Từ bảng 4 cho thấy, trong số các dòng giống lúa được sử dụng trong nghiên cứu này, ngoài 14 dòng CT mang gen kháng chuẩn, có 9 dòng có khả năng kháng điểm 1 (chiếm 17,65%), 27 dòng có khả năng kháng điểm 3 (chiếm 52,94%), 12 dòng có khả năng kháng điểm 5 (chiếm 23,53%) và 3 dòng điểm 7 (chiếm 5,88%), không có dòng nào có khả năng kháng điểm 9. Kết quả đánh giá này cho thấy trong số 51 dòng/giống lúa được đánh giá, các dòng có điểm kháng 1 và 3 chiếm tỷ lệ 70,59%, đây là nguồn vật liệu có giá trị để chọn và lai tạo giống lúa kháng rầy đáp ứng nhu cầu thực tiễn. Các dòng giống lúa này sẽ tiếp tục được đánh giá bằng chỉ thị phân tử liên kết với các gen kháng đã được công bố.

Tách DNA tổng số các mẫu lúa

DNA tổng số của 65 mẫu lúa sau khi tách chiết sẽ được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%.

Kết quả điện di cho thấy DNA tổng số tách từ mẫu lá lúa đều hiện vạch rõ ràng, không có vết sáng ở dưới chứng tỏ DNA không bị đứt gãy, không bị nhiễm tạp chất và RNA đã bị loại bỏ hết. DNA tổng số này hoàn toàn đủ điều kiện cho các nghiên cứu tiếp theo.

Sau khi tách chiết và điện di kiểm tra, DNA tổng số được lưu giữ, bảo quản trong tủ - 20⁰C để sử dụng lâu dài.

Kết quả kiểm tra gen kháng rầy nâu bằng chỉ thị phân tử SSR và STS

Trong nghiên cứu này, các giống mang gen kháng chuẩn được sử dụng trong nghiên cứu như các dòng đối chứng mang gen (Bảng 1) và giống TN1 được dùng làm đối chứng không mang gen kháng.

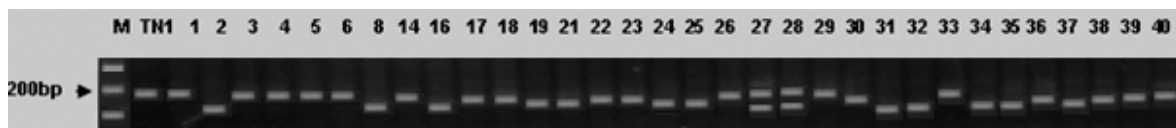
Kết quả kiểm tra gen kháng rầy nâu của các dòng giống lúa với một số chỉ thị phân tử liên kết với các gen kháng *Bph1*, *bph2*, *Bph3* được thể hiện trong hình 1, 2, 3. Hình ảnh điện di kiểm tra với chỉ thị phân tử liên kết với các gen kháng *bph2/Bph9* và *Bph17* không được thể hiện trong bài báo này.

Kết quả điện di cho thấy có 19 dòng mang chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1* là: BL14/12, RN20/12, RN23/12, 1529, 8187, 12670, 12689, 12693, 12729, BL18/12, BL22/12, BL32/12, BL49/12, RN40/12, CT1, CT3, **CT11**, CT12, 30V.

Kết quả điện di cho thấy có 13 dòng mang chỉ thị liên kết với gen kháng *bph2* là: OM2517, **CR203**, RN20/12, RN32/12, 6115, 7813, 8187, 9524, DO49/12, CR84-1, **CT2**, 32V, 36V.



Hình 1. Kết quả điện di trên gel agarose 3,5% sản phẩm PCR của cặp mồi STS 9 liên kết với gen *Bph1* ở các dòng lúa. M: Marker 1 kb.



Hình 2. Kết quả điện di trên gel agarose 3,5% sản phẩm PCR của cặp mồi RM1358 liên kết với gen *bph2* ở các dòng lúa. M: Marker 100 bp.



Hình 3. Kết quả điện di trên gel agarose 3,5% sản phẩm PCR của cặp mồi RM586 liên kết với gen *Bph3* ở các dòng lúa. M: Marker 100 bp.

Kết quả điện di cho thấy có 18 dòng mang chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph3* là: OM2395, OM2517, RN18/12, RN20/12, RN27/12, 6171, 8167, 8185, 8186, 8188, 9607, 9609, 12710, 12966, BL49/12, RN40/12, **4665**, 32V.

Kết quả điện di cho thấy có 9 dòng mang chỉ thị liên kết với gen kháng *bph2* và *Bph9* là: 12671, 12690, 12693, 12966, RN40/12, **CT12**, 30V, 36V. Các dòng mang chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph17* là: BL49/12, BL8/12, CR203, RN23/12, RN27/12, 1522, 6117, 8166, 8183, 8186, 9524, 9609, 12710, 12729, BL18/12, DO49/12, CR84-1, **CT13**, 26V, 30V, 32V.

Trong 51 dòng/giống lúa khảo sát trong nghiên cứu này, đã xác định được 44 dòng mang ít nhất một trong các chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *Bph9* và *Bph17* chiếm tỷ lệ 86,27% (Bảng 5). 19 dòng mang từ hai đến ba chỉ thị liên kết với các gen kháng, chiếm tỷ lệ 37,25%. Trong số các dòng mang hai đến ba chỉ thị có: Một dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1* và *bph2* là 8187; một dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1* và *bph2/Bph9* là 12693; một dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph3* và *bph2/Bph9* là 12966; hai dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph3* và *Bph17* là: RN27/12, 12710; hai dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1* và *Bph17* là RN23/12, BL18/12; ba dòng mang đồng thời hai chỉ thị liên kết với gen kháng *bph2* và *Bph3* là các dòng OM2517, 8186, 9609; bốn dòng mang đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *bph2* và *Bph17* là: CR203, DO49/12, CR84-1, 9524; một dòng mang đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1*, *bph2* và *Bph3* là RN20/12; một dòng mang đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1*, *Bph3* và *Bph17* là BL49/12; một dòng mang

đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *bph2/Bph9*, *Bph3* và *Bph17* là 32V; một dòng mang đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1*, *bph2/Bph9* và *Bph17* là 30V và một dòng mang đồng thời ba chỉ thị liên kết với gen kháng *Bph1*, *bph2/Bph9* và *Bph3* là RN40/12.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi mới chỉ khảo sát các chỉ thị liên kết với năm gen kháng *Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *Bph9* và *Bph17* vì vậy, chưa thể có các đánh giá đầy đủ về mối liên hệ giữa tính chống chịu được đánh giá theo IRRI và số lượng chỉ thị liên kết với các gen kháng rầy. Tuy nhiên, các kết quả bước đầu cũng cho thấy có sự liên hệ ở các dòng/giống có điểm kháng 5 thường mang một chỉ thị liên kết với một trong các gen kháng được khảo sát. Trong khi phần lớn các dòng/giống có điểm kháng 1 và 3 mang hai đến ba chỉ thị liên kết với các gen kháng. Một số dòng có điểm kháng 3 và 1 mang một chỉ thị liên kết với gen kháng điều này có thể là do các dòng/giống này còn mang các chỉ thị liên kết với các gen kháng khác mà chưa được khảo sát. Các kết quả nghiên cứu một lần nữa khẳng định ưu điểm của việc sử dụng chỉ thị phân tử trong việc xác định chính xác các dòng/giống mang gen kháng làm nguồn vật liệu ban đầu cho chọn giống.

KẾT LUẬN

Kết quả đánh giá tính kháng rầy nâu bằng phương pháp nhân tạo của IRRI và bằng chỉ thị phân tử cho thấy trong 51 dòng/giống lúa khảo sát trong nghiên cứu này các dòng/giống có khả năng kháng tương ứng là 70,59% theo phương pháp nhân tạo và 86,27% bằng chỉ thị phân tử. Kết quả kiểm tra gen kháng rầy nâu bằng chỉ thị phân tử đã xác định được 44 dòng mang ít nhất một chỉ thị liên kết với gen kháng (chiếm 86,27%), 19 dòng mang đồng thời hai đến ba chỉ thị liên kết với gen kháng (chiếm 37,25%) bao gồm các dòng: 8187, 12693, 12966, RN27/12,

12710, RN23/12, BL18/12, OM2517, 8186, 9609, CR203, DO49/12, CR84-1, 9524, RN20/12, BL49/12, 32V, 30V, RN40/12. 19 dòng/giống lúa này sẽ là nguồn nguyên liệu tốt cho chọn tạo giống

lúa kháng rầy. Kết quả của nghiên cứu cho thấy có sự tương quan trong việc đánh giá khả năng kháng của các dòng lúa bằng cả hai phương pháp đánh giá nhân tạo của IRRI và bằng chỉ thị phân tử.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra gen kháng rầy nâu bằng chỉ thị phân tử SSR và STS.

K H	Số đăng ký	Mang chỉ thị liên kết với gen kháng					K H	Số đăng ký	Mang chỉ thị liên kết với gen kháng					
		Bph 1	bph 2	Bph 3	bph2/bph 9	Bph1 7			Bph 1	bph 2	Bph 3	bph2/bph 9	Bph1 7	
1	OM 2395			+			35	8186			+			+
2	OM 2517		+	+			36	8187	+	+				
3	BL8/12					+	37	8188			+			
4	BL11/12						38	9524		+				+
5	BL 12/12						39	9607			+			
6	BL 14/12	+					40	9609						+
8	CR203		+			+	43	12670	+					
14	RN18/1 2			+			44	12671				+		
16	RN20/1 2	+	+	+			45	12689						
17	RN23/1 2	+				+	46	12690				+		
18	RN27/1 2			+		+	47	12693				+		
19	RN32/1 2		+				48	12710			+			+
21	1522					+	49	12729						+
22	1526						50	12966			+	+		
23	1529	+					52	BL18/12	+					+
24	3367						53	BL22/12	+					
25	6115		+				54	BL32/12	+					
26	6117					+	55	BL49/12	+		+			+
27	6129						56	ĐO 49/12		+				+
28	6171			+			57	RN40/1 2	+		+	+		
29	6179						58	CR84-1		+				+
30	7813		+				73	26V						+
31	8166					+	74	30V	+					+
32	8167			+			75	32V		+	+	+		+
33	8183					+	77	36V		+		+		
34	8185			+										

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của chương trình Công nghệ sinh học nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Mã số đề tài 949/HĐ-KHCN-CNSH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang (2005) Nghiên cứu và ứng dụng marker phân tử để phát hiện gen kháng rầy nâu trên

- cây lúa (*Oryza sativa* L.). Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc. tr: 165-169.
- Cục bảo vệ thực vật (2012) Báo cáo đánh giá mức độ nhiễm một số sâu bệnh chủ yếu trên các giống lúa chủ lực ở phía Bắc. (Báo cáo tham luận của Cục Bảo vệ thực vật tại hội nghị tư vấn giống lúa kháng rầy cho các tỉnh phía Bắc, Viện BVTV, 17/5/2012).
- Thiều Văn Đường, Lưu Minh Cúc, Lưu Thị Ngọc Huyền, Vũ Đức Quang, Đặng Hữu Lanh (2001) Phân tích di truyền tính kháng rầy nâu của các dòng lúa DG5, GC9. *Tạp chí thông tin Công nghệ sinh học ứng dụng 2*: 20-23.
- Lưu Thị Ngọc Huyền, Lưu Minh Cúc, Nguyễn Thị Tân Phương, Trần Duy Quý, Vũ Đức Quang (2001a) Lập bản đồ phân tử gen kháng rầy nâu ở giống lúa CR203, sử dụng chỉ thị vi vệ tinh. *Tạp chí thông tin Công nghệ sinh học ứng dụng 4*: 29-33.
- Lưu Thị Ngọc Huyền, Nguyễn Thị Tân Phương, Lưu Minh Cúc, Vũ Đức Quang, Trần Duy Quý (2001b) Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống lúa kháng rầy nâu. *Tạp chí thông tin Công nghệ sinh học và ứng dụng 4*: 34-38.
- Nguyễn Thị Lang, Trần Thị Thu Hằng, Phạm Thị Thu Hà, Bùi Thị Dương Khuyên, Phạm Công Thành, Nguyễn Thạch Căn, Bùi Chí Bửu (2006) Ứng dụng STS (Sequence Tagged Sites) và SSR (Simple Sequence Repeats) marker để đánh giá tính chống chịu rầy nâu trên cây lúa *Oryza sativa* L.. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn 4*: 11-15.
- Phạm Văn Lâm (2006) Những điều cần biết về rầy nâu và biện pháp phòng trừ. Nhà Xuất bản Lao động.
- Phạm Thị Thanh Mai, Nguyễn Thị Như Ý, Hoàng Thị Kim Hồng (2012) Xác định sự hiện diện của gen kháng rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal.) ở một số giống lúa (*Oryza sativa* L.). *Tạp chí Khoa học 75a(6)*: 83-90.
- Lê Xuân Thái, Trần Nhân Dũng, Nguyễn Hoàng Khải (2012) Nguồn gen kháng rầy nâu của các giống lúa phổ biến ở đồng bằng sông Cửu Long năm 2008-2011. *Tạp chí Khoa học 22a*: 115-122.
- Nguyễn Thị Diễm Thúy (2011) Khảo sát tính kháng rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal.) trên 31 giống/dòng lúa bằng dấu phân tử RG457 và RM190. Luận văn Thạc sĩ Khoa học chuyên ngành Công nghệ sinh học.
- Bùi Thị Kim Vi, Nguyễn Vũ Linh, Vũ Anh Pháp, Trần Nhân Dũng (2011) Thanh lọc và phân tích di truyền các giống lúa kháng rầy nâu (*Nilaparvata lugens* Stal.) ở thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 17a*: 263-271.
- Cha YS, Ji H, Yun DW, Ahn BO, Lee MC, Suh SC, Lee CS, Ahn EK, Jeon YH, Jin ID, Sohn JK, Koh HJ, Eun MY (2008) Fine mapping of the rice *Bph1* gene, which confers resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal), and development of STS markers for marker-assisted selection. *Mol Cells 26*: 146-151.
- Chen WJ, Wang L, Pang XF, Pan QH (2006) Genetic analysis and fine mapping of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) resistance gene *bph19 (t)*. *Mol Gene Genomics 275*: 321-329.
- Dyck VA (1977) The brown planthopper problem. In Brown Planthopper Symposium, International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Dyck VA, Thomas B (1979) The brown planthopper problem. In: International Rice Research Institute (eds) Brown planthopper: threat to rice production in Asia. IRRI, Los Banos, Philippines pp 3-17.
- Huang D, Qiu Y, Zhang Y, Huang F, Meng J, Wei S, Li R, Chen B (2013) Fine mapping and characterization of *Bph27*, a brown planthopper resistance gene from wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Theor Appl Genet 126(1)*: 219-229.
- Jena KK, Kim SM (2010) Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics. *Rice 3*: 161-171.
- Ling KC (1967) Transmission of viruses in south-east Asia. In The virus diseases of the riceplant. John Hopkins, Baltimore, U.S.A.
- Liu Y, Su CC, Jiang L, He J, Wu H, Peng C, Wan J (2009) The distribution and identification of brown planthopper resistance genes in rice. *Hereditas 146*: 67-73.
- Pathak MD, Cheng CH, Furtono ME (1969) Resistance to *Nephotettix cincticeps* and *Nilaparvatalugens* in varieties of rice. *Nature 223*:502-504.
- Sahai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RM.1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA 81*: 8014-8018.
- Su CC, Zhai HQ, Wang CM, Sun LH, Wan JM (2006) SSR mapping of brown planthopper resistance gene *Bph9* in Kaharamana, an *Indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Acata Genetica Sinica 33(3)*: 262-268.
- Sun LH, Su CC, Wang CM, Zhai HQ, Wan JM (2005) Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. *Breed Sci 55*:391-396.

DETERMINATION OF BROWN PLANTHOPPER RESISTANT GENES IN SOME RICE VARIETIES BY MOLECULAR MARKERS

Nguyen Thi Kim Lien¹, Nguyen Huy Hoang^{1,✉}, Le Bac Viet¹, Phan Thi Bich Thu², Nguyen Huy Chung²

¹*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Plant Protection Research Institute, Vietnam Academy of Agricultural Sciences*

SUMMARY

Brown plant hopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) is the one of dangerous pests for rice that were reported in most of rice growing countries. Twenty seven BPH resistance genes have been detected in cultivated and wild rice. However, each resistance gene is able to resist with only strain or certain biotype. Besides, many studies indicated that the toxicity of BPH strains tend to change and loss the resistance of rice lines. The breeding of rice varieties that resist to many BPH biotypes is being the breeders towards. With helping of the development of molecular markers and genetic engineering, the breeders are hopping to identify the molecular markers that linked tightly with BPH resistance genes and develop the rice varieties can gather many resistance genes in a well genomic platform. In this study, we assessed the resistance of rice lines of Vietnam and imported rice lines. The resistance was determined by using assessment method in the galvanized box and molecular markers linkage with resistance genes (*Bph1*, *bph2*, *Bph3*, *Bph9* and *Bph17*). The results showed that there was a high affinity between the two methods with 70.59% and 86.27% of lines that have the resistance (respectively). Among of 51 surveyed rice lines, 44 lines (86.27%) were determined to have at least one marker linkage with resistance genes. 19 lines (37.25%) harbored two or three markers linkage with resistance genes. These lines will be a good genetic resource for screening and breeding the resistant rice varieties.

Keywords: *Molecular marker, BPH resistance genes, Bph1, bph2, Bph3, Bph9, Bph17, rice, SSR, STS*

✉ *Authors for correspondence: E-mail: nhhoang@igr.ac.vn*