

MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VỀ BỆNH RỈ SẮT TRÊN CÂY ĐẬU NÀNH

Bệnh rỉ sắt do nấm *Phakopsora pachyrhizi* gây ra là một trong những bệnh chính trên cây đậu nành (*Glycine max*) ở Châu Á và gây thiệt hại đáng kể về năng suất ở khắp các nước sản xuất đậu nành. Hầu hết các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới đều ghi nhận có sự xuất hiện của bệnh rỉ sắt đậu nành địa phương (Sinclair, 1989). Ở Đài Loan, bệnh rỉ sắt có thể gây thiệt hại nghiêm trọng trên cây đậu nành không được bảo vệ bằng thuốc trị nấm và ở một số vùng, bệnh rỉ sắt là một yếu tố làm giới hạn việc sản xuất đậu nành vụ xuân. Do sự thiếu thông tin về bệnh rỉ sắt đậu nành ở Tây Bán cầu và nguy cơ tiềm năng ảnh hưởng đến việc sản xuất đậu nành ở Mỹ, Bộ Nông nghiệp Mỹ, Phòng thí nghiệm Nghiên cứu Bệnh Thực vật và Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Rau Châu Á (AVRDC) đã khởi động một dự án hợp tác vào năm 1978 để nghiên cứu dịch tễ học của bệnh rỉ sắt đậu nành. Dự án hợp tác này kéo dài đến năm 1982 và các nghiên cứu về bệnh rỉ sắt đậu nành được tiếp tục tiến hành ở AVRDC cho đến năm 1992.

Ngoài ra, FAO đã thiết lập một mạng lưới nghiên cứu về bệnh rỉ sắt đậu nành liên kết các nước Châu Á (khuyết danh, 1992). Chương trình quốc gia của Thái Lan đã và đang tiến hành các nghiên cứu về bệnh rỉ sắt đậu nành với các chương trình lai giống chủ động kéo dài hơn 10 năm qua (Nuntapunt và cs., 1984; 1994). Ở Indonesia, bệnh rỉ sắt được xem là loại bệnh nghiêm trọng nhất trên cây đậu nành và đã lan rộng, xuất hiện cả ở mùa mưa và mùa khô. Các hoạt động nghiên cứu ở Indonesia bao gồm cải thiện tính kháng cây ký chủ, thử nghiệm thuốc trị nấm, sự tồn lưu của hạ bào tử trên đồng ruộng, quản lý bệnh rỉ sắt thông qua trồng thử nghiệm và các nghiên cứu về sự phát tán bào tử. Trong khi đó ở Úc, bệnh rỉ sắt đã được nghiên cứu rất sâu, tuy nhiên kinh phí nghiên cứu bị giới hạn nên các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào việc sàng lọc các quần thể hồi giao tạo thành bằng cách lai giữa đậu nành và *G. tomentella*.

1. Ảnh hưởng của môi trường và sự trưởng thành của cây ký chủ lên sự phát triển của bệnh rỉ sắt

1.1. Nước tưới và lượng mưa

Ở Đài Loan, bệnh rỉ sắt nghiêm trọng hơn vào mùa xuân và mùa thu khi nhiệt độ ôn hoà và đủ độ ẩm. Mùa hè bất lợi hơn cho sự phát triển của bệnh rỉ sắt do nhiệt độ cao hơn và lượng mưa nhiều. Mùa đông thì quá lạnh và khô. Trong một khảo nghiệm về vùng trồng và mùa vụ, sự phát triển của bệnh rỉ sắt thay đổi tùy theo biểu đồ lượng mưa thông thường và phát triển nhanh nhất tại các vùng có biểu đồ lượng mưa không đồng đều (Tschanz, 1982). Vào các mùa có lượng mưa thấp, sự phát bệnh của bệnh rỉ sắt bị trễ và tốc độ phát triển bệnh chậm lại. Việc có mưa hằng ngày thúc đẩy bệnh rỉ sắt phát triển sớm và nhanh. Các nghiệm thức được tưới từ trên ngọn cây bị bệnh rỉ sắt nhiều hơn so với những cây trong các nghiệm thức tưới theo rãnh hoặc không tưới nước. Cần có mưa cho sự phát triển sớm của bệnh rỉ sắt dù cây đậu nành đã được tưới từ trên ngọn. Kết quả cho thấy lượng mưa là yếu tố cần thiết hơn để tăng cường bệnh rỉ sắt so với tần suất và cường độ của thời kỳ nhiễm bệnh.

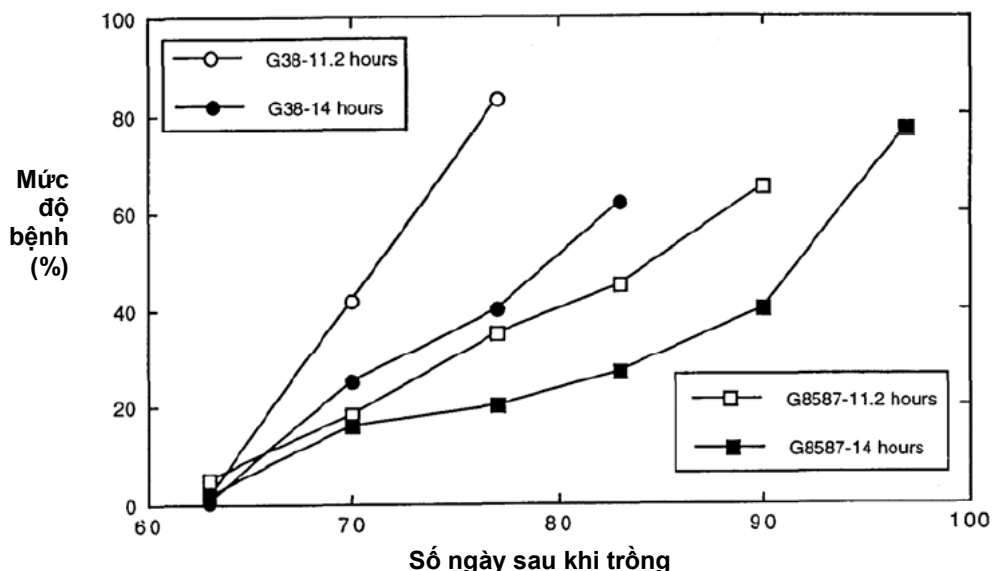
1.2. Sự trưởng thành của cây đậu nành

Sự phát triển bệnh rỉ sắt được theo dõi Ba dòng nhạy cảm và một dòng kháng trung bình (PI 230971, G8587) tại AVRDC, Hualien, Pingtung, Taichung và Taitung. Tỷ lệ nhiễm biểu kiến nằm trong khoảng 0,1114 – 0,2197 và khác biệt không đáng kể giữa các dòng ở một vùng và giữa các vùng khác nhau (Tschanz và Wang, 1980). Đường cong tiến triển bệnh cho thấy sự phát triển của bệnh rỉ sắt ở dòng G8587 chậm hơn so với các dòng khác. Do đó dòng G8587 được xem là có tính kháng trung bình và có thể có một hay nhiều gene quy định tính kháng chuyên biệt dòng làm cho sự phát bệnh bị chậm lại. Tuy nhiên, do tỷ lệ nhiễm biểu kiến giữa các dòng nhạy cảm là tương đương nhau, nên sự chậm phát bệnh ở dòng G8587 có liên quan đến việc quá trình trưởng thành của nó kéo dài hơn so với các dòng nhạy cảm.

Để xác định ảnh hưởng của sự trưởng thành lên sự phát triển của bệnh rỉ sắt đậu nành, người ta trồng hai dòng G8587 và G38 dưới điều kiện thời gian ngày trung bình ngoài đồng là 11,2 tiếng và điều kiện thời gian ngày 14 tiếng bằng cách kéo dài thời gian ngày tự nhiên nhờ đèn

tungsten (Tschanz và Tsai, 1982). Dưới điều kiện thời gian ngày dài hơn (14 tiếng), các giai đoạn sinh trưởng từ R1 đến R8 tiến triển chậm hơn ở cả hai dòng, tốc độ phát triển của bệnh rỉ sắt bị trì hoãn và có một sự tương quan rất chặt ($P=0,01$) giữa tốc độ phát triển bệnh rỉ sắt và số ngày sau khi trồng.

Dưới điều kiện đồng ruộng (11,2 tiếng), các dòng trưởng thành sớm bị bệnh rỉ sắt ở mức độ nguy hại sớm hơn và tốc độ phát triển bệnh cao hơn so với các dòng trưởng thành muộn. Sự tương tác giữa sự phát triển của cây ký chủ và tiến triển của bệnh rỉ sắt xảy ra trên tất cả các thí nghiệm đồng ruộng và làm cho việc phân loại bệnh rỉ sắt giữa các dòng trở nên khó khăn.



Hình 1. Mức độ bệnh của hai dòng đậu nành được trồng dưới điều kiện thời gian ngày trung bình 11,2 tiếng và thời gian này 14 tiếng

Việc đánh giá và so sánh sự phát triển của bệnh rỉ sắt trên cây đậu nành mà không hiệu chỉnh những khác biệt về sự trưởng thành của cây ký chủ có thể dẫn đến những kết luận sai lầm về tính kháng của cây ký chủ và các thông số môi trường liên quan để sự phát triển bệnh. Một phương pháp để hiệu chỉnh những khác biệt này về sự trưởng thành của cây ký chủ đã dùng thời gian đời sống tương đối (relative life time, RLT) như là một yếu tố thời gian phân bố từ 0 đến 100 (Tschanz và Tsai, 1982). Thời gian từ lúc trồng đến lúc trưởng thành được chuyển đổi thành hệ số phần trăm của vòng đời hoàn chỉnh của cây đậu nành.

2. Tính biến chủng

Ba dạng nhiễm đã được mô tả gồm: (1) thương tổn TAN là các đốm màu nâu nhạt có kích thước khoảng $0,4 \text{ mm}^2$ và mang 2 – 4 cụm hạ bào tử; (2) thương tổn RB là các đốm màu nâu đỏ kích thước khoảng $0,4 \text{ mm}^2$ và mang 0 – 2 cụm hạ bào tử; và (3) không có các dấu hiệu hay triệu chứng nhìn thấy được (Bromfield, 1984). Dựa trên các kiểu nhiễm này, các nòi gây bệnh đã được mô tả và Yeh (1983) đã xác định ba nòi thông qua nuôi cấy 50 cụm hạ bào tử đơn. Ngoài ra, có ít nhất một nòi từ Đài Loan được ghi nhận là có mang ba gene gây độc tính (Bromfield, 1981; Bromfield và Melching, 1982).

Trong một nghiên cứu khác (AVRDC, 1985), 42 thể phân lập đã tinh sạch được nhiễm lên các dòng Ankur, PI 200492, PI 230970, PI 230971, PI 239871A, PI 239871B, PI 459024, PI 459025, TK-5, TN-4 và Wayne. Hầu hết các thể phân lập đều gây thương tổn TAN trên ít nhất bảy dòng và những thể này được phân loại thành chín nòi khác nhau. Số liệu cho thấy các nòi áp đảo có đặc tính phức tạp và những nòi này có nhiều yếu tố gây độc để có thể tương hợp với hầu hết các dòng cây ký chủ. Các thể phân lập khác từ Đài Loan cũng được ghi nhận là gây bệnh rỉ sắt trên tất cả các nguồn giống đã biết hoặc nghi ngờ mang tính kháng chuyên biệt bao

gồm PI 200492, PI 230970, PI 339871, PI 459025 và PI 462312 (Tschanz và cs., 1986). Việc *P. pachyrhizi* mang nhiều gene độc tính là không bình thường bởi vì không có dòng đậu nành đã biết nào mang nhiều hơn một gene kháng chuyên biệt (Tschanz và cs., 1986). Sự hiện diện của nhiều gene độc tính trong quần thể gây bệnh và việc không có nhiều gene kháng chuyên biệt trong cây ký chủ có thể làm cho các kỹ thuật như xoay vòng gene hoặc chuyển nạp lần lượt nhiều gene kháng chuyên biệt trở nên không hiệu quả.

3. Đáp ứng của cây ký chủ

Việc xác định tính kháng bệnh rỉ sắt của cây đậu nành là một mục tiêu quan trọng của AVRDC với hơn 9000 accession đậu nành đã được sàng lọc. Cả tính kháng làm giảm tốc độ phát triển, tính kháng chuyên biệt và tính chống chịu đều xuất hiện trên chất mầm (germ plasm) cây đậu nành (Tschanz và Tsai, 1982; Tschanz và cs., 1980). Ngoài ra, gần 300 accession các chi *Glycine* lưu niên hoang dại đã được đánh giá tính kháng (Hartman và cs., 1992).

3.1. Tính kháng bệnh rỉ sắt chuyên biệt

Có sáu gene trội độc lập gồm:

- *Rpp1*: PI 200492, Tainung-3, Tainung-4, L85-2378
- *Rpp2*: PI 230970, L86-1752, PI 197182, PI 230971, PI 417125
- *Rpp3*: PI 462312
- *Rpp4*: PI 459025, L87-0482,
- *Rpp5*, 6...: Abura, PI 200487, Shiranui, PI 416819, PI 417503, PI 416810, PI 417115, PI 417421, PI 423966, GC84058-21-4

Ba dòng đậu nành Tainung-4, PI 459024 và PI 459025 và một dòng *G. soja* (PI 339871) được ghi nhận là có thêm khác gene kháng chuyên biệt khác (Hartwig và Bromfield, 1983; McLean và Byth, 1980). Không một gene đơn nào trong số các gene này được đưa vào các giống thương mại do có nhiều nòi gây bệnh khác nhau. Các nghiên cứu bổ sung cho thấy dòng PI 339871, PI 459024, PI 459025 TK-5 và Tainung-4 có thể có các gene đơn trội quy định tính kháng. Ngoài ra, tính kháng chuyên biệt cũng đã được ghi nhận ở các loài *Glycine* spp. hoang dại và một vài trong số đó đã được dùng làm cây ký chủ để xác định các kiểu gây bệnh rỉ sắt (Burdon và Speer, 1984).

3.2. Tính kháng một phần bệnh rỉ sắt

Các dòng mang tính kháng một phần hoặc các dòng chậm bị bệnh rỉ sắt đã được xác định và mô tả dựa trên thời gian ủ bệnh và số lượng cụm hạ bào tử có trong một thương tổn (Hartman và cs., 1991). Bảng 1 liệt kê một số dòng mang tính kháng một phần được xác định dựa trên số lượng nốt. Trở ngại chính trong phát triển các dòng mang tính kháng làm giảm tốc độ phát triển bệnh là làm sao để đánh giá được các dòng này từ các quần thể phân ly hoặc từ các accession có tính trường thành khác nhau.

Ngoài những khác biệt sinh lý liên quan để tính trường thành, các điều kiện môi trường cũng có thể thay đổi khi cây trường thành trong các khoảng thời gian khác nhau. Một phương pháp đánh giá có độ chính xác tương đối cho các khác biệt về tính trường thành của cây ký chủ sử dụng RLT và chuyển logit của độ độc bệnh rỉ sắt để xác định mức độ kháng làm giảm tốc độ phát bệnh bằng cách so sánh hệ số góc của các đường hồi quy.

3.3. Tính chống chịu bệnh rỉ sắt đậu nành

Tính chống chịu ở đây được định nghĩa là khả năng cho năng suất tương đối của cây dưới áp lực của bệnh rỉ sắt. Để so sánh năng suất tương đối, người ta so sánh một dòng được trồng trên ô được và không được bảo vệ bằng thuốc trừ nấm. Mặc dù cần có thêm diện tích ruộng, tính chống chịu cần được đánh giá vào mỗi mùa vụ chứ không giống như việc thu thập dữ liệu đường cong tiến triển bệnh, sự rụng lá và đếm nốt bệnh cho tính kháng gây giảm tốc độ phát bệnh.

Dựa trên quy trình chọn lọc này, nhiều dòng đã được chọn và sàng lọc thử nghiệm tính chống chịu bệnh rỉ sắt ở Đài Loan và Thái Lan (Nuntapunt và cs., 1994; Tschanz và Tsai, 1983; Tschanz và cs., 1985). Dựa trên phần trăm gia tăng năng suất khi so sánh giữa các dòng, người ta xác định được các dòng mang tính chống chịu cao và có thể là tính kháng một phần khi được mô tả đầy đủ. Thiệt hại năng suất của các dòng chống chịu này thường ít hơn so với các dòng có năng suất cao khác (bảng 1).

Bảng 1. Năng suất và trọng lượng 100 hạt của 12 dòng đậu nành ở các ô được bảo vệ bằng thuốc diệt nấm và các ô bị gây nhiễm *Phakopsora pachyrhizi*

Dòng	Năng suất (kg/ha)			Trọng lượng 100 hạt (g)		
	Ô bảo vệ	Ô nhiễm rỉ sắt	Thiệt hại (%)	Ô bảo vệ	Ô nhiễm rỉ sắt	Thiệt hại (%)
AGC 129	2800	837	70	16.1	7.5	53
AGC181	2279	766	66	17.1	10.0	42
AGC302	2400	1050	57	21.2	12.5	41
OC 81118-8-4	2819	471	83	17.3	6.2	64
GC 82345-20-2	2864	726	75	19.5	7.8	59
OC 82349-6-1	3440	837	76	22.5	14.3	36
KS 8	3498	528	86	29.8	11.1	63
SRE B-iSA	2386	1076	54	17.4	10.4	40
SRE C-56A	2567	1818	29	25.5	18.0	29
SRE C-56e	2656	1804	31	20.7	13.6	34
SRE D-14C	2804	1514	46	23.5	16.6	29
SRE D-14D	2605	1502	41	25.0	16.4	34

Xu hướng tương tự cũng xảy ra ở những dòng bị giảm sút ở chỉ tiêu trọng lượng 100 hạt. Các dòng được phát triển tính chống chịu bệnh rỉ sắt có diện tích lá bị bệnh nhỏ nhất và được cho là có tính kháng một phần dựa trên số lượng vết bệnh trên mặt lá (bảng 2). Gần đây, cùng với phần trăm tăng năng suất, chỉ tiêu chống chịu stress đã được áp dụng trong đánh giá tính chống chịu bệnh rỉ sắt bằng cách sử dụng các ô ba chiều để chia các nguyên liệu khảo nghiệm ra thành bốn nhóm. Mặt phẳng X-Y (X = tính độc bệnh, Y = năng suất phần trăm) được chia thành bốn đoạn bằng cách vẽ các đường phân cắt tại điểm chính giữa của trục X và trục Y. Trục Z thể hiện mức độ chống chịu stress mà một dòng có được ở bất kỳ nhóm nào trong bốn nhóm.

Bảng 2. Diện tích lá bị bệnh, sự rụng lá, tổng số vết bệnh trên cây, trên lá và tại đốt thứ 7 trên 12 dòng đậu nành được gây nhiễm *Phakopsora pachyrhizi* ở giai đoạn phát triển R5 – R6 của cây

Dòng	Diện tích lá nhiễm (%)	Sự rụng lá (%)	Tổng số vết vệnh	Số vết bệnh / lá	Số vết bệnh ở đốt thứ 7
AGS 129	45	28	1776	41	104
ASG 191	76	41	3849	130	87
AGS 302	43	20	2209	66	53
GC811118-8-4	54	29	2541	61	80
GC82345-20-2	66	34	5934	168	176

GC92349-6-1	53	41	2108	49	150
KS 8	64	36	2715	76	107
SRE B-15A	44	29	2272	70	83
SRE C-56A	25	24	803	23	25
SRE C-56E	31	24	709	19	29
SRE D-14C	35	18	2159	58	17
SRE D-14d	34	16	2100	54	51
Trung bình	47	28	2431	68	78
LSD (P=0.05)	6	13	973	28	44

3.4. Các loài hoang dại

Trong giai đoạn ba năm, 294 accession đại diện cho 12 loài *Glycine* spp. lưu niên đã được sàng lọc tính kháng nấm *P. pachyrhizi* (Hartman và cs., 1992). Trong đó, 23% accession mang tính kháng, 18% kháng trung bình và 58% nhạy cảm.

Ở hai thí nghiệm khác, 59% và 40% accession của loài *G. tabacina* ($2n = 80$) mang tính kháng. Tính kháng đối với *P. pachyrhizi* đã được xác định trên các accession của các loài *G. aryrea*, *G. canescens*, *G. latifolia*, *G. mucrophylla*, *G. clandestine* và *G. tomentella* nhưng không có trên các accession của các loài *G. arenaria*, *G. cyrtoloba*, *G. curvata* và *G. tomentella* đã được lai và hồi giao với cây đậu nành trồng thử nghiệm ở Úc (Singh và cs., 1993).

4. Sự phát triển của bệnh rỉ sắt và những thiệt hại về năng suất

4.1. Đường cong tiến triển bệnh

Việc kiểm tra bệnh dịch rỉ sắt đã cung cấp những thông tin quan trọng về cách thức bệnh phát triển. Có nhiều cách sắp xếp khác nhau để xếp hạng bệnh rỉ sắt, bao gồm sử dụng hệ thống ghi chú ba con số (Yang, 1977), hệ thống chia độ Horsfall-Barratt (Tschanz và Wang, 1980) và phần trăm diện tích lá bị nhiễm (Hartman và cs., 1991).

Ngoài cách đánh giá trên lá, các đánh giá dựa trên sự rụng lá cũng rất quan trọng. Các cách đánh giá này thường được tiến hành bằng cách đếm số đốt có và không có lá trên các ô đối chứng và các ô bị bệnh rỉ sắt. Một số báo cáo đã sử dụng mô khoẻ mạnh hay diện tích lá xanh để so sánh giữa các nghiệm thức (Hartman và cs., 1991; Yang và cs., 1991). Việc đánh giá phải được thực hiện nhiều lần trong suốt mùa sinh trưởng để có đủ số liệu cho phân tích tiến triển bệnh. Hầu hết các báo cáo đều sử dụng các dữ liệu về tiến triển diện tích lá bệnh hoặc lá xanh để xác định diện tích bên dưới đường cong (hay chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian AUDPC) để đưa ra các so sánh thống kê giữa các nghiệm thức có hoặc không sử dụng thuốc diệt nấm hay kiểm tra các đồng / giống khác nhau. Dựa trên chu kỳ sương và nhiệt độ, người ta thiết lập một mô hình mô phỏng để đánh giá bệnh dịch rỉ sắt đậu nành (Yang và cs., 1991).

2. Những thiệt hại về năng suất

Thiệt hại về năng suất đến 80% đã được ghi nhận vào những vụ trồng khảo nghiệm ở nhiều nước ở Châu Á và ở Úc. Những cây bị nhiễm nặng có ít quả hơn và hạt nhẹ hơn (Hartman và cs., 1991; Yang và cs., 1991). Năng suất thị trường thậm chí còn thấp hơn do chất lượng hạt kém (Tschanz và Wang, 1980).

Các thông số bệnh và thành phần năng suất: một số xuất bản đã hướng đến việc xác định các thông số bệnh như diện tích lá bị nhiễm, sự rụng lá, số vết bệnh, và chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian tác động đến thành phần năng suất. Yang và cộng sự (Yang và cs., 1991) đã chuyển ngược diện tích tương đối phía dưới đường cong tiến triển bệnh thành tỉ lệ sinh trưởng của hạt, khoảng thời gian sinh trưởng của hạt từ giai đoạn R4 – R7 và năng suất. Hartman và cộng sự (Hartman và cs., 1991) đã chuyển đổi diện tích lá bị nhiễm ở giai đoạn R6 và chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian thành năng suất phần trăm của các ô được bảo vệ bằng thuốc diệt nấm.

Dịch tễ học bệnh rỉ sắt đậu nành đã được nghiên cứu hàng chục năm qua và đã đạt được một số phát hiện quan trọng liên quan đến sự tương tác giữa các giống đậu nành, *P. pachyrhizi* và môi trường. Tuy nhiên, nhiều câu hỏi phức tạp vẫn chưa được giải đáp. Ví dụ như người ta vẫn chưa biết được sự khởi nhiễm từ mùa này qua mùa khác bắt nguồn từ đâu, những nơi nào chiếm ưu thế trong một bệnh dịch hoặc có thể có bao nhiêu gene gây độc tính trong cùng một quần thể và chính xác là thông số môi trường nào gây nên sự bùng phát bệnh rỉ sắt. Vì việc kiểm soát di truyền có ảnh hưởng rất sâu sắc nên các dòng đậu nành mới được đưa ra trong tương lai nên có tính kháng hoặc tính chống chịu bệnh rỉ sắt đã được xác định rõ thông qua các kỹ thuật xác định và định lượng tốt hơn các tính kháng một phần và tính chống chịu. Sự du nhập tính kháng từ các loài *Glycine* spp. lưu niên hoang dại là việc cần làm với các dòng lai hữu tính giữa *G. max* x *G. tomentella* và các thể hệ hồi giao hữu tính cải tiến đã được tạo ra.

5. Đa dạng di truyền của một số giống đậu nành có khả năng kháng bệnh rỉ sắt ở Việt Nam

Hiện nay ở Việt Nam, mặc dù cây đậu nành (*Glycine max* (L.) Merrill) chiếm một vị trí quan trọng trong nền nông nghiệp và nền kinh tế quốc dân, nhưng diện tích trồng và sản lượng vẫn còn rất thấp so với các nước trên thế giới. So với năm 2001, diện tích trồng đậu nành ở nước ta trong năm 2005 tăng 24,16%, sản lượng tăng 29,10%. Nhưng đáng chú ý là năng suất đậu nành gần như không tăng hoặc tăng không đáng kể, do nhiều nguyên nhân như hạn chế về giống và điều kiện canh tác, bên cạnh đó là các bệnh sương mai, phấn trắng, rỉ sắt... là những loại bệnh thường xuyên xuất hiện gây ảnh hưởng nghiêm trọng tới tình hình sản xuất đậu nành. Thực tiễn này đòi hỏi phải có sự đánh giá, lựa chọn các giống đậu nành mới có năng suất cao, chất lượng tốt đồng thời có khả năng kháng được các bệnh, đặc biệt là bệnh rỉ sắt (Vũ Thanh Trà và cộng sự, 2006). Trong những năm gần đây, các công trình nghiên cứu về bệnh rỉ sắt đậu nành đã được tiến hành nhiều nơi trên thế giới và ở Việt Nam (Nguyễn Thị Bình, 1990; Rosseto, 2004; Vyas và cộng sự, 1997), tuy nhiên việc nghiên cứu một các hệ thống về bệnh rỉ sắt và khả năng kháng bệnh này ở cây đậu tương còn ít được đề cập đến. Trong bài viết này, chúng tôi trình bày một số nghiên cứu về tính kháng bệnh rỉ sắt trên cây đậu nành.

Trong nghiên cứu của Vũ Thanh Trà và cộng sự (2006), mười một giống đậu nành bao gồm các giống nhập nội như DT2000 (có khả năng kháng bệnh rỉ sắt), DT12, VX92 và VX93 (có năng suất cao), các giống địa phương như Cúc Vàng, Vàng Mười Khương và CBU8325 (có khả năng chịu sâu, nấm và chịu hạn tốt) và các giống tạo ra từ bằng phương pháp đột biến như DT84, DT95, M103 và DT96, con lai của DT84 và DT90 (có khả năng kháng bệnh rỉ sắt) được đánh giá khả năng kháng bệnh rỉ sắt dựa trên chỉ số tích lũy bệnh theo thời gian AUDPC kết hợp các phân tích về phản ứng bệnh, khả năng tạo bào tử và tạo quả. Kết quả (bảng 3) cho thấy, các giống DT95 và CBU8325 có chỉ số AUDPC thấp khả năng kháng bệnh rỉ sắt gần tương đương với giống kháng đối chứng (DT2000). Hạt giống của các giống này được tiếp tục nghiên cứu về chất lượng hạt trên phương diện hoá sinh và cho thấy chúng có hàm lượng protein và lipid từ trung bình đến cao, có mặt đầy đủ các loại protein dự trữ chính, đảm bảo là nguồn cung cấp thực phẩm có chất lượng dinh dưỡng cao cho con người và gia súc.

Bảng 3. Phản ứng của một số giống đậu nành đối với bệnh rỉ sắt

Tên giống	Bào tử	Quả vàng	Phản ứng bệnh	Giá trị AUDPC
DT95	Ít	Không	Kháng	59,66 h ± 0
DT2000	Ít	Không	Kháng	55,44 i ± 0,51
DT96	Nhiều	Rộng	Trung gian	71,66 bc ± 0
CBU8325	Trung bình	Trung bình	Kháng	55,77 iv ± 0,2
Cúc Vàng	Nhiều	Rộng	Nhiễm	69,77 ed ± 0,4
Vàng MK	Nhiều	Rộng	Nhiễm	64,44 g ± 0,19
VX92	Nhiều	Rộng	Nhiễm	68,66 ef ± 0,88
DT12	Nhiều	Rộng	Nhiễm	74,55 a ± 1,6

VX93	Nhiều	Rộng	Nhiễm	72,55 b ± 0,77
DT84	Nhiều	Rộng	Nhiễm	70,88 cd ± 0,83
M103	Trung bình	Rộng	Trung gian	68,33 f ± 0

Để thúc đẩy phát triển đậu nành, vấn đề quan trọng là chọn tạo được những giống cây phù hợp với điều kiện sinh thái, khí hậu của nước ta và đặc biệt là có khả năng kháng bệnh rỉ sắt. Cho đến nay, việc chọn tạo giống đậu nành năng suất cao và kháng bệnh tốt chủ yếu được thực hiện bằng phương pháp truyền thống như dựa vào kiểu hình để đánh giá kiểu gen. Vì vậy, hiệu quả chọn tạo giống chưa cao. Việc ứng dụng dấu chuẩn phân tử trong nghiên cứu đánh giá phản ứng đối với bệnh rỉ sắt của các giống đậu tương đã khắc phục được những thiếu sót và hạn chế của phương pháp truyền thống trước đây. Trong đó, chỉ thị SSR (simple sequence repeats) được xem là hiệu quả hơn các chỉ thị khác bởi trình tự đơn giản lặp lại đặc trưng cho từng loài. Ứng dụng kỹ thuật này, Vũ Thanh Trà và Trần Thị Phương Liên (2006) đã nghiên cứu sự đa dạng di truyền của một số giống đậu nành có phản ứng khác nhau với bệnh rỉ sắt, nhằm bước đầu cung cấp thông tin di truyền, góp phần lưu giữ và duy trì nguồn gene của một số giống đậu nành địa phương vùng núi phía bắc cũng như giống được trồng đại trà ở Việt Nam.

Kết quả phân tích trên 12 cặp môi SSR cho thấy chỉ có tám dấu chuẩn cho sự đa dạng di truyền giữa các giống (bảng 4) bao gồm tất cả 32 allele, bốn dấu chuẩn còn lại (Satt005, Satt009, Satt042 và Satt489) chưa phát hiện được sự đa dạng. Trong đó, dấu chuẩn Satt009 có hệ số đa dạng cao nhất (0,781), Satt150 có hệ số đa dạng thấp nhất (0,406) và biên độ giao động giữa hệ số đa dạng của các dấu chuẩn là tương đối hẹp.

Bảng 4. Kết quả phân tích sự đa dạng di truyền sử dụng các SSR liên quan đến tính đa dạng

STT	SSR	Dạng SSR	Số allele	Hệ số đa dạng (H)
1	Satt009	(ATT) ₁₄	5	0,781
2	Satt146	(ATT) ₁₇	4	0,656
3	Satt150	(ATT) ₂₀	3	0,406
4	Satt175	(ATT) ₁₆	4	0,718
5	Satt373	(ATT) ₂₁	4	0,718
6	Satt431	(ATT) ₂₁	5	0,750
7	Satt557	(ATT) ₁₇ GAT	4	0,718
8	Satt567	(ATT) ₁₄	3	0,612

Tám giống đậu nành nghiên cứu cũng được phân thành các nhóm khác nhau theo hệ số DICE bằng kiểu phân nhóm UPGMA với hệ số tương đồng trong khoảng 0,583 – 0,813. Sự khác biệt về di truyền này dẫn đến khả năng kháng bệnh rỉ sắt khác nhau, gồm nhóm các giống kháng (DT95 và DT2000), nhóm các giống kháng trung bình (CBU8325, M103 và DT96) và nhóm các giống mẫn cảm với bệnh (VMK, DT12 và VX92). Điều này phù hợp với những khảo sát về kiểu hình vì hai giống DT95 và DT2000 có khả năng kháng bệnh rỉ sắt tương đương nhau.

Việc ứng dụng SSR để xác định nhanh mối quan hệ di truyền giữa các giống đậu nành rất có ý nghĩa kinh tế trong việc chọn tạo giống cây trồng vì giúp lựa chọn các dạng bố mẹ khác xa nhau về mặt di truyền cho các cặp lai.

Riêng đối với các tỉnh đồng bằng Sông Cửu Long, những năm gần đây ngành nuôi trồng thủy sản phát triển với nhiều kết quả rất đáng khích lệ giúp tăng nguồn thu nhập cho người nông dân. Trong khi đó, cây đậu nành được xem là nguồn nguyên liệu chính để chế biến thức ăn chăn nuôi, nên nhu cầu về cây đậu nành tăng cao. Tuy nhiên, giống và chất lượng giống đậu nành hiện chưa đủ đáp ứng nhu cầu trên. Nguyễn Đức Thuận và Nguyễn Thị Lang (2006) đã nghiên cứu khai thác vật liệu lai thông qua đa dạng hoá nguồn gene cây đậu nành bằng phương pháp chọn lọc nhờ dấu chuẩn phân tử RAPD. Nghiên cứu được tiến hành trên 30

giống đậu nành sưu tập tại ngân hàng gene của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long với 13 bộ mỗi dòng để đánh giá đa dạng di truyền.

Kết quả cho thấy có chín bộ mỗi cho sản phẩm khuếch đại thể hiện sự đa hình của 30 giống đậu nành. Những dữ liệu này được dùng để thiết lập cây phả hệ dựa vào chỉ số tương ứng giản đơn SM và chia 30 giống này thành bốn nhóm chính gồm:

- Nhóm A: có một giống OMDN 64 có mức độ tương đồng nằm trong khoảng 0,82 – 0,83
- Nhóm B: có 23 giống có mức độ tương đồng di truyền nằm trong khoảng 0,86 – 0,98; trong đó hai giống OMDN 112 và MTD176 có khả năng cho ưu thế lai với các giống khác rất khả quan
- Nhóm C: có hai giống OMDN 31 và OMDN 85 với mức tương đồng về di truyền với các nhóm khác nằm trong khoảng 0,80 – 0,89; trong đó giống OMDN 31 được phát triển bằng dấu chuẩn phân tử nên không bị ảnh hưởng bởi môi trường
- Nhóm D: có bốn giống với hệ số tương đồng giữa các giống nằm trong khoảng từ 0,83 – 0,95

Những dữ liệu này cho thấy các giống có sự đa dạng cao về mặt di truyền và khi lai tạo với nhau có thể tạo ra nhiều cá thể với nhiều đặc tính mong muốn, do khoảng cách di truyền càng xa thì khả năng cho ưu thế lai càng cao (Bùi Chí Bửu, 2002).

Ở một nghiên cứu khác, Lê Thị Ngọc Vi và Nguyễn Thị Lang (2006) cũng phân tích gene kháng bệnh rỉ sắt đậu nành bằng phương pháp dấu chuẩn phân tử microsatellite (SSR) trên 30 giống đậu nành thuộc ngân hàng gene của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Các giống này trước tiên được đánh giá kiểu hình bằng cách gây nhiễm nhân tạo với nấm *Phakopsora pachyrhizi* ngoài vườn ươm. Sau mười ngày, kết quả được ghi nhận với năm giống kháng bệnh rỉ sắt đậu nành gồm ATF15, OMDN 31, OMDN 29, OMDN 33 và OMDN 176 và ba giống kháng nhẹ gồm OMDN 115, OMDN 34 và OMDN 109. Những giống trên có thể được đưa vào chương trình lai tạo giống đậu nành. Tuy nhiên, việc xác định tính kháng dựa trên kiểu hình chịu nhiều ảnh hưởng của các yếu tố môi trường với số lượng dấu chuẩn hạn chế và chỉ thể hiện ở những giai đoạn nhất định của quá trình phát triển cá thể (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2004).

Do đó, những giống này tiếp tục được đánh giá kiểu gene thông qua dấu chuẩn phân tử SSR Satt005 và Satt083. Kết quả cho thấy đối với dấu chuẩn Satt083, có năm giống OMDN 32, OMDN 109, OMDN 29, OMDN 112 và OMDN 33 mang allele đại diện cho gene kháng với bệnh rỉ sắt đậu nành. Trong khi đối với dấu chuẩn Satt005, bảy giống ATF15, OMDN 31, OMDN 87, OMDN 86, OMDN 115, OMDN 34 và OMDN 29 được ghi nhận là mang gene kháng bệnh.

Các kết quả trên được dùng để đánh giá sự tương đồng của kiểu hình và kiểu gene thông qua kiểm tra ManTel với phương pháp Mxcomp từ chương trình MTSYS-pc và cho thấy có sự tương đồng cao giữa hai phương pháp chọn lọc trên ($r = 0,7$) đối với các giống có gene kháng bệnh rỉ sắt, gồm ATF 15, OMDN 31, OMDN 29, OMDN 33, OMDN 109 và OMDN 115. Những giống này có thể được dùng để tạo thành các quần thể lai phục vụ cho việc tìm kiếm fine mapping cho gene kháng bệnh rỉ sắt đậu nành trên cơ sở các dấu chuẩn trên.

Nhìn chung, việc phát triển các giống đậu nành mang tính kháng đối với bệnh rỉ sắt ở nước ta còn chậm và chủ yếu dựa vào phương pháp chọn tạo truyền thống mất nhiều thời gian. Việc áp dụng các kỹ thuật hiện đại như chọn tạo nhờ dấu chuẩn phân tử MAS còn hạn chế, mới chỉ giới hạn ở những nghiên cứu bước đầu. Do đó, cần đẩy mạnh và tiến hành các nghiên cứu sâu và toàn diện hơn nhằm phát triển các giống đậu nành có năng suất cao và có khả năng kháng bệnh rỉ sắt để đáp ứng nhu cầu ngày càng cao trong sản xuất công nghiệp làm thực phẩm cho con người, lấy dầu và làm thức ăn cho chăn nuôi.

6. Tài liệu tham khảo

Anonymous (1992) Planning workshop of the establishment of the Asian component of a global network on tropical and subtropical soybeans. Chiang Mai, Thailand, March 2-7, 1992

- Asian Vegetable Research and Development Center (1985) Annual report, AVRDC, 1983, Shanhua, Tainan, Taiwan, Republic of China (ROC)
- Bromfield KR (1981) Differential reaction of some soybean accessions to *Phakopsora pachyrhizi*. Soybean Rust Newsl. 4:2
- Bromfield KR (1984) Soybean Rust. Monograph No. 11, APS Press, Inc., St. Paul, Minnesota, U.S.A., 65p
- Bromfield KR & Melching JS (1982) Sources of specific resistance to soybean rust. (Abstr.) Phytopathology 72:706
- Bùi Chí Bửu (2002) Cơ sở di truyền tính kháng sâu bệnh hại cây trồng. NXB Nông Nghiệp, Tp. Hồ Chí Minh: 11-53, 89-108, 183-195
- Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang (2004) Di truyền phân tử. NXB Nông Nghiệp
- Burdon JJ & Speer SS (1984) A set of differential hosts for the identification of pathotypes of *Phakopsora pachyrhizi* Syd. Euphytica 33:891-896
- Hartman GL, Wang TC & Hymowitz T (1992) Sources of resistance to soybean rust in perennial *Glycine* species. Plant Dis. 76: 396-399
- Hartman GL, Wang TC & Tschanz AT (1991) Soybean rust development and the quantitative relationship between rust severity and soybean yield. Plant Dis. 75:596-600
- Hartwig EE & Bromfield KR (1983) Relationships among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. Crop Sci. 23:237-239
- Lê Thị Ngọc Vi và Nguyễn Thị Lang (2006) Nghiên cứu gen kháng bệnh rỉ sắt trên cây đậu nành bằng phương pháp phân tử microsatellite. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, kỳ 1, tháng 9/2006: 36-39
- McLean RJ & Byth DE (1980) Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. Aust. J. Agric. Res. 31:951- 956
- Nguyễn Đức Thuận và Nguyễn Thị Lang (2006) Đánh giá đa dạng di truyền của đậu nành bằng phương pháp RAPD marker phân tử. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, kỳ 1 tháng 3/2006: 65-68, 87
- Nguyễn Thị Bình (1990) Nghiên cứu và đánh giá khả năng chống chịu bệnh gỉ sắt (*Phakopsora pachyrhizi* sydow) của tập đoàn đậu tương Miền Bắc Việt Nam. Luận án Tiến sĩ Sinh học, Hà Nội
- Nuntapunt M, Surin P & Achavasmit P (1984) Evaluation of rate-reducing rust resistance and tolerance in advanced soybean lines. Journal of Agriculture Research and Extension (Thailand) 2:15-19
- Nuntapunt M, Surin P, Kejeetaveep R & Kajornmalee V (1994) Current research on soybean rust in Thailand. J. Agric. Res. Extension (Thailand) 2:805-812
- Rosseto JA & BD (2004) Evaluation of fungicides for control of soybean rust of soyeam Itaberá, Sau Paulo, Brazil. Olson Dow AgroSciences LLC 9330 Zionsville Rd. Indianapolis, IN 46268
- Sinclair JB (1989) Threats to production in the tropics: Red leaf blotch and leaf rust. Plant Dis. 73:604-606
- Singh RJ, Kollipara KP & Hymowitz T (1993) Backcross (BC2-BC4)-derived fertile plants from *Glycine max* and *Glycine tomentella* intersubgenetic hybrids. Crop Sci. 33:1002-1007
- Tschanz AT (1982) Soybean rust epidemiology (final report). Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan, Republic of China, 157p
- Tschanz AT & Tsai BY (1982) Effect of maturity on soybean rust development. Soybean Rust Newsl. 5:38-4 1

- Tschanz AT & Tsai MC (1983) Evidence of tolerance to soybean rust in soy beans. *Soybean Rust Newsl.* 6:28-31
- Tschanz AT & Wang TC (1980) Soybean rust development and apparent infection rates at five locations in Taiwan. *Prot. Ecol.* 2:247-250
- Tschanz AT, Wang TC, Cheng YH, Montha N & Chen CM (1985) International screening trials for soybean rust tolerance. *Soybean Rust Newsl.* 7:22-25
- Tschanz AT, Wang TC & Hu LF (1980) Epidemic development of soybean rust and a partial characterization of resistance to soybean rust. *Soybean Rust Newsl.* 3:35-41
- Tschanz AT, Wang TC & Tsai BY (1986) Recent advances in soybean rust research at Asian Vegetable Research and Development Center. pp. 237-245. In: *Soybeans in Tropical and Subtropical Cropping Systems*. S. Shanmugasundaram and E. W. Sulzberger, Eds., Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan
- Vũ Thanh Trà và Trần Thị Phương Liên (2006) Nghiên cứu sự đa dạng di truyền của một số giống đậu tương có phản ứng khác nhau với bệnh rỉ sắt bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, kỳ 1 tháng 11/2006: 3032, 43
- Vũ Thanh Trà, Trần Thị Phương Liên và Vũ Hoài Thu (2006) Đánh giá chất lượng hạt của một số giống đậu tương Việt Nam có khả năng kháng bệnh rỉ sắt khác nhau. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, kỳ 2 tháng 10/2006: 33-37
- Vyas SC, Rajasekaran G & Geetha M (1997) Soybean rust. *SOPA Digest*, 5: 33-41
- Yang CY (1977) The IWGSR rust rating system. *Soybean Rust Newsl.* 1:4-6
- Yang XB, Dowler WM & Tschanz AT (1991) A simulation model for assessing soybean rust epidemics. *J. Phytopathology* 133:187-200
- Yang XB, Tschanz AT, Dowler WM & Wang TC (1991) Development of yield loss models in relationships of components of soybean infected with *Phakopsora pachyrhizi*. *Phytopathology* 81:1420-1426
- Yeh CC (1983) Physiological races of *Phakopsora pachyrhizi* in Taiwan. *J. Agric. Res. (China)* 32:69-74