

## ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN

Nguyễn Kiến Quốc<sup>1</sup>, Lã Tuấn Nghĩa<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Bích<sup>1</sup>

### SUMMARY

#### Rice breeding for resistance to blast disease via the marker assisted selection

The Pi - 1 and Pi - 5 genes were identified to be highly effective resistance to blast disease in the North Vietnam. These genes were contained in the C101LAC (Pi - 1 gene) and Moroberekan (Pi - 5 gene) lines respectively; They are belonged to the NILs (Near Isogenic Lines) carrying the genes resistance to blast fungus which provided by IRRI. The Pi - 1 and Pi - 5 genes were pyramided into DT7 rice line using backcross method. Over several crosses, the NB - 01 rice line was selected by using MAS to be showing the high yield (~7.5 ton/ha/crop in the trial experiment) and good resistance to blast disease.

**Key words:** Rice breeding for resistance to blast disease, marker assisted selection, gene pyramiding, Pi - 1 and Pi - 5 resistance genes.

### I. MỞ ĐẦU<sup>1</sup>

Lúa gạo là nguồn cung cấp lương thực chính cho hơn một phần ba dân số thế giới (Utami *et al.*, 2008) và là cây lương thực số một tại Việt Nam. Lúa được trồng rộng rãi ở khắp nơi, đặc biệt ở các nước Châu Á. Việt Nam có diện tích trồng lúa khoảng 7,5 triệu hecta; Trong đó hai vùng sản xuất chính là Đồng bằng sông Cửu Long (~3,8 triệu hecta) và Đồng bằng sông Hồng (~1,2 triệu hecta).

Tuy nhiên, việc sản xuất lúa gạo ở nước ta luôn gặp những cản trở của thiên tai, dịch bệnh; Bệnh đạo ôn do nấm *Pyricularia grisea* Sacc. gây ra là một loại bệnh có phổ phân bố rộng và gây tác hại nghiêm trọng đối sản xuất lúa (Rossman *et al.*, 1990). Trong quản lý bệnh đạo ôn việc sử dụng giống kháng đang là sự ưu tiên và lựa chọn hàng đầu hiện nay (Lê Lương Tề và CS., 1998).

Để đáp ứng nhu cầu về sử dụng giống kháng, các nhà chọn tạo giống và bệnh học thực vật đã xây dựng một chiến lược phát triển giống kháng lâu bền thông qua việc tổ hợp nhiều gen kháng vào cùng một giống lúa hay còn gọi là quy tụ gen (Gene Pyramiding). Việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn đã và đang được tiến hành mạnh mẽ ở trên thế giới (Yi *et al.*, 2004).

Hiện nay, ở Việt Nam việc ứng dụng công nghệ chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn đã được tiến hành và bước đầu đã đạt được những kết quả rất khả quan; Thông qua chọn tạo giống sử dụng chỉ thị phân tử các nhà khoa học đã chọn được những dòng lúa mang gen kháng đạo ôn làm vật liệu ban đầu cho công tác chọn tạo giống lúa kháng bệnh (Lã Tuấn Nghĩa và CS., 2008). Để góp phần vào việc quản lý bệnh đạo ôn thông qua chọn tạo giống kháng, trong nghiên cứu này chúng tôi đã tiến hành xác định khả năng kháng bệnh của một số gen được cung cấp bởi IRRI với các chủng nấm bệnh của Việt Nam và quy tụ gen kháng hiệu quả vào các giống lúa để chọn tạo những dòng lúa mang gen kháng phục vụ cho sản xuất.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Vật liệu

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu gồm: Các chủng nấm đạo ôn được cung cấp bởi Bộ môn vi sinh, viện Thổ nhưỡng Nông hóa. Các cặp mồi gồm: Mồi **JJ80 - T3** (sử dụng để phát hiện gen Pi - 5): **5'** TTA TGA GAT TAG GAG TGT AT **3'** (*mồi xuôi*), **5'** ATG TAA AGG CAA AAG CTG AT **3'** (*mồi ngược*) và mồi **PR10F** (sử dụng để phát hiện gen Pi - 1): **5'** AGG GAG ATT TGA CCA TCG TG **3'** (*mồi xuôi*), **5'** CCT GAT TGC AAG AGG TAG GC **3'** (*mồi ngược*).

<sup>1</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp.

Bộ giống lúa mang gen kháng đạo ôn do IRRI cung cấp gồm: C101LAC (mang gen Pi - 1); C101PKT (mang gen Pi - ta); C104PKT (mang gen Pi - 3); C101A51 (mang gen Pi - 2); Moroberekan (mang gen Pi - 5). và các giống/dòng lúa đang sử dụng trong sản xuất gồm: DT7, Bắc thơm 7, Khang dân 18, Q5, CR203, Hương cốm, Tè tếp.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá khả năng kháng bệnh của các giống/dòng lúa được tiến hành theo phương pháp do IRRI xây dựng (SES, 1997; SES, 2002). Phương pháp Tách chiết ADN lúa thực hiện theo mô tả của Keb - Llanes (2002); Phương pháp PCR sử dụng mỗi SSR tiến hành theo phương pháp của McCouch *et al.*, (2002). Quy tụ gen kháng đạo ôn vào các giống/dòng lúa theo phương pháp lai hồi quy (backcross) và sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết chặt với gen để chọn lọc các giống/dòng lúa mang gen được quy tụ ở mỗi thế hệ lai. Đặc điểm nông học của giống/dòng lúa được đánh giá theo phương pháp của IRRI (2002).

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 1. Đánh giá khả năng kháng bệnh của các giống lúa

Nghiên cứu đã sử dụng 23 chủng nấm đạo ôn thu thập ở các vùng sinh thái của Việt Nam để lây nhiễm lên các giống lúa mang gen kháng đạo ôn do IRRI cung cấp và các giống/dòng lúa đang trồng phổ biến nhằm xác định và chọn lọc ra các giống/dòng lúa (các gen) có khả năng kháng tốt với các chủng nấm. Đối với thí nghiệm trong nhà lưới được tiến hành trên các cây lúa ở tuổi mạ 21 ngày (hình 1); Đối với thí nghiệm sử dụng ống nghiệm được tiến hành khi lúa đạt 14 - 21 ngày tuổi, cây lúa có 3 - 5 lá (hình 1).

Sau khi được phun dung dịch bào tử nấm các cây lúa được giữ trong điều kiện ẩm (90 - 100%) thường xuyên và nhiệt độ thích hợp (25 - 30°C), để bệnh phát triển trong 7 ngày. Mức độ kháng/nhiễm bệnh của các dòng lúa được đánh giá theo thang điểm chuẩn; Những giống được xem là kháng có điểm đánh giá  $\leq 3$ , những giống được xem là nhiễm bệnh có điểm đánh giá từ 4 - 9.

Kết quả đánh giá được tổng kết và thể hiện trong bảng 1; Qua kết quả này đã cho thấy các giống đối chứng nhiễm là: Co39 (giống của IRRI) và CR203 (giống của Việt Nam) đã bị nhiễm với đa số các chủng nấm; Giống Co39 nhiễm với 21 chủng, giống CR203 nhiễm với 16 chủng trên tổng số 23 chủng được sử dụng để lây nhiễm, tỷ lệ kháng tương ứng của hai giống là 9% và 30%. Các giống đối chứng kháng Moroberekan (giống của IRRI) và giống Tè tếp (có nguồn gốc Việt Nam) kháng với đa số các chủng nấm, tương ứng là 18 (tỷ lệ kháng 78%) và 19 (tỷ lệ kháng là 82%) chủng trên tổng số 23 chủng sử dụng để lây nhiễm.

Trong số các giống lúa mang gen của IRRI, giống C101LAC mang gen Pi - 1 có khả năng kháng rộng nhất, kháng được 19 trong số 23 chủng nấm, tỷ lệ kháng là 82%; Tiếp đó giống Moroberekan mang gen Pi - 5 kháng được 18 (tỷ lệ kháng là 78%) trên 23 chủng nấm. Hai giống lúa C101PKT và C104PKT mang gen Pi - 4 và Pi - 3 có khả năng kháng tương ứng với 15 và 14 chủng trên 23 chủng, tỷ lệ kháng tương ứng là 65% và 60%.

Các giống và dòng lúa: CR203; Khang dân 18; Q5; DT5; DT7 phần lớn bị nhiễm với các chủng nấm, tỷ lệ kháng của chúng với các chủng nấm <50%. Các giống lúa này cần được cải tạo chuyển gen kháng vào chúng.

TT	Gen	Nằm trên nhiễm sắc thể	Chỉ thị liên kết với gen	Khoảng cách từ gen đến chỉ thị (cM)	Cây chủ
1	Pi - 1	11	PR10F	0	C101LAC
2	Pi - 5	9	JJ80 - T3	0	Moroberekan

Qua thí nghiệm lây nhiễm để xác định các gen kháng ở trên, chúng tôi thấy rằng gen Pi - 1; Pi - 5; Pi - 3; Pi - 4 đều kháng tốt với các chủng nấm ở các vùng sinh thái nông nghiệp miền Bắc, tỷ lệ kháng với các chủng nấm của chúng trên

60%. Các gen kháng nói trên sẽ được sử dụng để quy tụ vào giống/dòng lúa để cải tạo tính kháng của chúng.

Qua kết quả đánh giá khả năng kháng bệnh của các gen đối với nấm đạo ôn thu thập ở miền Bắc Việt Nam; Chúng tôi đã chọn hai gen Pi - 1 và gen Pi - 5 có khả năng kháng bệnh tốt nhất (tương ứng là 82% & 78%) để sử dụng lai quy tụ vào dòng lúa DT7. Hai gen Pi - 1 và Pi - 5 tương ứng nằm trên 2 nhiễm sắc thể số 11 và 9.

Bảng 1. Kết quả lây nhiễm các chủng nấm đạo ôn lên các giống/dòng lúa

Chủng nấm	Giống lúa													Tỷ lệ R/S
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11	K12	K13	
H1	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	6/6
H2	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	6/6
H3	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	8/4
H4	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	3/9
H5	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	5/7
H6	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	R	5/7
H7	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	6/6
H8	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	8/4
H9	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	7/5
H10	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	5/7
H11	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R	4/8
H12	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	3/9
H13	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	8/4
H14	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	3/9
H15	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	R	R	6/6
H16	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	10/2
H17	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	6/6
H18	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	6/6
H19	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	S	R	7/5
H20	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	5/7
H21	S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	3/9
H22	R	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	8/4
H23	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	8/4
Tỷ lệ R/S	19/4	15/8	14/9	12/11	18/5	19/4	2/21	7/16	5/18	7/16	10/13	9/14	20/3	
	82%	65%	60%	52%	78%	82%	9%	30%	22%	30%	43%	39%	87%	

Ghi chú: K1: C101LAC (Pi - 1) ; K2: C101PKT (Pi - ta); K3: C104PKT (Pi - 3); K4: C101A51 (Pi - 2); K5: Moroberekan (Pi - 5); K6: Tẻ tếp; K7: CO39; K8: CR203; K9: KD 18; K10: Q5; K11: DT5; K12: DT7; K13: Dòng NB - 01. R (Resistance): Kháng bệnh; S (Susceptible): Nhiễm bệnh. Từ H1 - H23 là các chủng nấm đạo ôn.

## 2. Quy tụ và chọn tạo dòng lúa mang gen kháng đạo ôn Pi - 1 và Pi - 5

*\*Quy tụ gen kháng Pi - 1 và Pi - 5 vào dòng lúa DT7:*

Mục tiêu của quy tụ gen là đưa gen kháng vào giống/dòng lúa có năng suất và phẩm chất tốt để nâng cao khả năng kháng bệnh và đồng thời không làm mất đi những đặc tính quý của giống.

Để đạt được mục tiêu nói trên, phương pháp lai hồi quy (Backcross, BC), sẽ giúp chúng ta đưa trở lại dần những đặc tính quý của cây vào các thế hệ con cháu; Tuy nhiên muốn lựa chọn những cây mang gen ở các thế hệ, chúng ta phải sử dụng chi thị phân tử liên kết với gen để chọn lựa những cây mang gen kháng; Những cây mang gen kháng sau đó được sử dụng phát triển cho các thế hệ tiếp theo.

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tiến hành lai quy tụ hai gen Pi - 1 và Pi - 5; Hai gen này qua đánh giá đã cho khả năng kháng rất cao và rộng với các chủng nấm của Việt Nam vào dòng lúa DT7, quy trình lai thể hiện ở sơ đồ hình 2.

Dòng lúa DT7 được chọn tạo ra qua đột biến giống lúa Bắc thơm 7 bằng phóng xạ tia gama Cobalt 60 (Co<sup>60</sup>) và được chọn lọc qua một số thế hệ. Dòng lúa DT7 gieo cấy được cả 2 vụ/năm. Vụ xuân có thời gian sinh trưởng 125 - 130 ngày. Vụ mùa có thời gian sinh trưởng 115 - 120 ngày. Chiều cao cây trung bình 120 - 130 cm; Chịu thâm canh trung bình, khả năng chống chịu một số sâu bệnh tốt; Tuy nhiên bị nhiễm bệnh đạo ôn (bảng 1). Năng suất trung bình của dòng lúa DT7 đạt 60 - 65 tạ/ha. Gạo trong, cơm mềm thơm nhẹ do kế thừa được chất lượng của giống lúa Bắc thơm số 7.

Theo sơ đồ hình 2, chúng tôi tiến hành lai quy tụ gen kháng Pi - 1 và Pi - 5 vào dòng lúa DT7 tới thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub>; Quá trình lai đưa hai gen vào dòng lúa DT7 được tiến hành theo hai phép lai riêng rẽ. Ở thế hệ lai F<sub>1</sub> do tất cả các cây lai có cùng kiểu gen nên chọn ngẫu nhiên một số cây có khả năng sinh trưởng phát triển tốt để sử dụng làm cây mẹ trong phép lai ở thế hệ lai tiếp theo. Từ thế hệ BC<sub>1</sub> trở đi cây nhận gen ban đầu (dòng lúa DT7) được sử dụng làm bố trong phép lai để đưa (lai) dần và làm tăng "hàm lượng kiểu gen" của nó vào các thế hệ tiếp theo. Tuy nhiên khi "hàm lượng gen" của dòng lúa DT7 tăng lên thì khả năng các gen kháng sẽ bị mất (do bị đẩy ra ngoài trong quá trình lai). Vì vậy, ở mỗi thế hệ lai chúng tôi đã sử dụng chỉ thị phân tử JJ80 - T3 để chọn cây lúa mang gen Pi - 5 và chỉ thị PR10F để chọn cây lúa mang gen Pi - 1 (hình 4).

Qua phương pháp lai quy tụ và lựa chọn như vậy, chúng tôi đã chọn được những cây lúa BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> vừa mang gen kháng đạo ôn Pi - 1 và Pi - 5 vừa có "hàm lượng kiểu gen" ưu tú của dòng lúa DT7 chiếm đa số (theo lý thuyết nó chiếm khoảng 96,875% ở thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>).

Ở mỗi thế hệ tiến hành sử dụng chỉ thị phân tử SSR để chọn lựa những cây có kiểu gen *Pi - 1*.

\* Quy tụ tổ hợp 2 gen *Pi - 1* và *Pi - 5* vào một cây lúa:

Sau khi đồng thời quy tụ và chọn lọc được thế hệ cây lai BC<sub>4</sub> qua quy tụ 2 gen kháng đạo ôn Pi - 1 và Pi - 5 (hình 2). Tới thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> chúng tôi cho chúng tự thụ để thu thế hệ BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub>, sau đó sử dụng chỉ thị phân tử JJ80 - T3 và PR10F để chọn những cây lúa mang gen Pi - 5 và Pi - 1 đồng hợp tử.

Khi đã có được 2 cá thể BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub> một mang gen Pi - 5 và một mang gen Pi - 1 đồng hợp tử. Chúng tôi đã tiến hành lai tạo đưa 2 gen Pi - 1 và Pi - 5 vào cùng một cá thể, sau khi được thế hệ F<sub>1</sub> cho chúng tự thụ để được thế hệ F<sub>2</sub> (hình 3). Trong thế hệ F<sub>2</sub>, chúng tôi đã đồng thời dùng chỉ thị JJ80 - T3 và PR10F để chọn lựa các cá thể mang cả hai gen Pi - 1 và Pi - 5 ở dạng đồng hợp tử gen kháng (hình 5).

### 3. Đánh giá một số đặc điểm nông học của dòng lúa NB - 01

Qua lai quy tụ gen và chọn lọc như mô tả ở trên, chúng tôi đã chọn được một dòng lúa mang cả hai gen kháng đạo ôn Pi - 1 & Pi - 5 và đặt tên là: NB - 01. Để hiểu biết về tiềm năng của dòng lúa này, chúng tôi đã tiến hành đánh giá một số đặc điểm nông học của nó như sau:

- **Khả năng kháng bệnh đạo ôn:** Tiến hành đánh giá tính kháng/nhiễm bệnh đạo ôn của dòng lúa NB - 01 bằng phương pháp lây nhiễm nhân tạo. Kết quả cho thấy dòng lúa NB - 01 có khả năng kháng bệnh đạo ôn tốt, đạt mức điểm đánh giá ≤ 3 (bảng 1).

- **Đặc điểm nông học:** Qua đánh giá cho thấy NB - 01 là dòng lúa cảm ôn, có thể gieo cấy được cả 2 vụ/năm. Vụ xuân có thời gian sinh trưởng 125 - 130 ngày. Vụ mùa có thời gian sinh trưởng 115 - 120 ngày. Chiều cao cây trung bình 125 - 130 cm, dạng hình cây gọn, lá đồng đứng có chiều dài trung bình từ 24 - 26 cm, rộng 1,3 - 1,6 cm, màu xanh nhạt; Khả năng đẻ nhánh khá, số bông/khóm đạt 6 - 8 bông/khóm, chịu thâm canh trung bình, khả năng chống chịu sâu bệnh tốt hơn giống đối chứng Bắc thơm 7 (bảng 2, hình 6);

Bảng 2. Một số đặc điểm nông học của dòng lúa NB - 01

Thời gian sinh trưởng (ngày)	Cao cây (cm)	Dài lá đòng (cm)	Rộng lá đòng (cm)	Số bông/khóm	Chiều dài bông (cm)
Vụ xuân: 125 - 130 Vụ mùa: 115 - 120	127,1 ± 3,15	25,16 ± 1,14	1,46 ± 0,35	6,06 ± 1,35	27,40 ± 1,02
Số gié	Tổng số hạt	Số hạt lép	Số hạt mảy	P <sub>1000</sub> (g)	Năng suất thực thu (tạ/ha)
16,31 ± 1,30	264,06 ± 3,45	37,88 ± 2,32	226,18 ± 3,35	23,05 ± 1,32	65 - 70

Về khối lượng 1000 hạt (P<sub>1000</sub>) đạt từ 23,5 - 24 g, bông to, dài (đạt 26 - 28 cm), số gié trên bông đạt 15 - 17 gié/bông, số hạt trên bông 265 - 270 hạt/bông, đặc biệt có những bông số hạt lên tới trên 400 - 480 hạt/bông (bảng 2, hình 6), năng suất trung bình đạt 65 - 70 tạ/ha; Cá biệt đạt 75 - 80 tạ/ha. Về màu sắc vỏ trấu có màu vàng sẫm, do kế thừa được chất lượng của giống lúa Bắc thơm 7 nên có gạo trong, cơm mềm thơm nhẹ (bảng 2, hình 6).

NB - 01 là dòng lúa có triển vọng; Có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt; Có tiềm năng năng suất và chất lượng cao; Có khả năng thích ứng và chống chịu tốt với một số sâu bệnh hại.

#### IV. KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn có năng suất chất lượng cao bằng chỉ thị phân tử; Chúng tôi đã đạt được một số kết quả như sau:

(1) Đã xác định được 2 gen Pi - 1 và Pi - 5 thuộc bộ gen do IRRI cung cấp có khả năng kháng cao và rộng với các chủng nấm đạo ôn thu thập từ các vùng sinh thái miền Bắc Việt Nam;

(2) Đã quy tụ được 2 gen Pi - 1 và Pi - 5 vào dòng lúa DT7 và sử dụng chỉ thị phân tử liên kết với các gen đã chọn được dòng lúa mang cả 2 gen kháng nói trên; Được đặt tên là dòng lúa NB - 01;

(3) NB - 01 là dòng lúa có triển vọng, có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt, có tiềm năng năng suất và chất lượng cao, thích ứng và chống chịu tốt với một số sâu bệnh hại và có khả năng kháng bệnh đạo ôn ở mức điểm ≤ 3.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Lã Tuấn Nghĩa (2008), "Nghiên cứu lập bản đồ QTL tính kháng đạo ôn ở lúa", Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam, số 4 (9)/2008, tr. 50 - 56.

Lê Lương Tề (1988), "Bệnh đạo ôn hại lúa", NXB. Nông nghiệp.

Quy phạm khảo nghiệm giống lúa (2004), NXB. Nông nghiệp, 39 trang.

Jian - li W., Menchu B., Jie - yun Z., Kang Z., Hei L. (2004), "Tagging Blast Resistance Gene Pi - 1 in Rice (*Oryza sativa*) Using Candidate Resistance Genes", International Rice Research Institute (IRRI), Metro Manila, Philippines pp. 251 - 254.

Keb - Llanes *et al.* (2002), "Plant DNA Extraction Protocol", Plant Molecular Biology Reporter 20: 299a - 299e.

McCouch S. R., Teytelman L., Xu Y., Lobos K. B., Clare K., Walton M., Fu B., Maghirang R., Li Zh., Xing Y., Zhang Q., Kono I., Yano M., Fjellstrom R., DeClerck G., Schneider D., Cartinhour S., Ware D. and Stein L. (2002), "Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.)" DNA Research 9: pp. 199 - 207.

Nguyen T. N. T., Bigirimana J., Roumen E., Straeten D. V. and Hofte M., (2006), "Molecular and Pathotype Analysis of the Rice Blast Fungus in North Vietnam", European Journal of Plant Pathology, Vol 114: pp. 381 - 396.

Rossmann A. Y., Howard R. J., Valent B., (1990), "*Pyricularia grisea* Sacc. the correct name for the rice blast disease fungus", Mycologia 82: pp. 509 - 512.

Rohlf F.J., (2001), "NTSYS - pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System", Applied Biostatistics Inc., Setauket, New York.

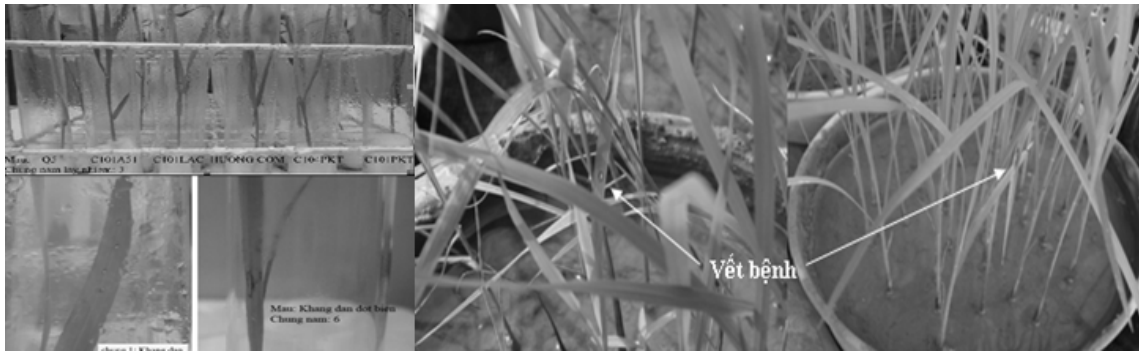
Standard Evaluation System for rice (SES), International Rice Research Institute - IRRI (1997), P. O. Box 933 - 1099, Metro Manila, Philippines.

Standard Evaluation System for rice (SES), International Rice Research Institute - IRRI (2002), Metro Manila, Philippines.

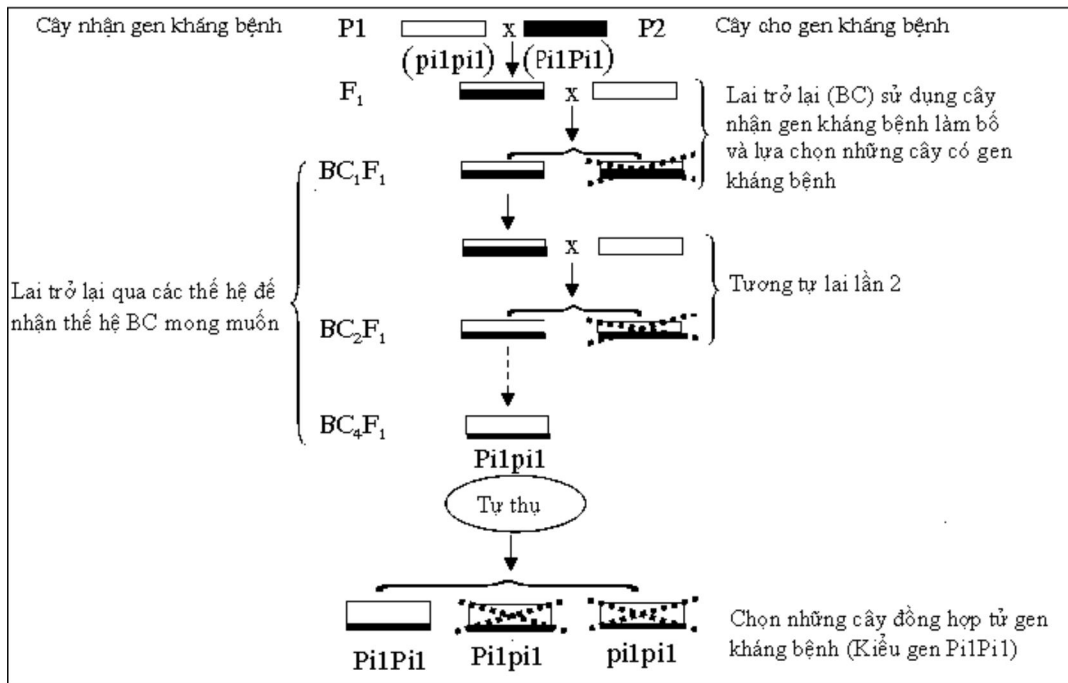
Utami D. W., Moeljopawiro S., Aswidinnoor H., Setiawan A. and Hanarida I., (2008), "Blast resistance genes in wild rice *Oryza rufipogon* and rice cultivar IR64", Indonesian journal of Agriculture 1(2), 2008: pp. 71 - 76.

Yi G., Lee S. K., Hong Y. K., Cho Y. C., Nam M. H., (2004), "Use of Pi5 (t) markers in Marker Assisted Selection to screen for cultivars with resistance to *Magnaporthe grisea*", pp. 979 - 985.

PHỤ LỤC

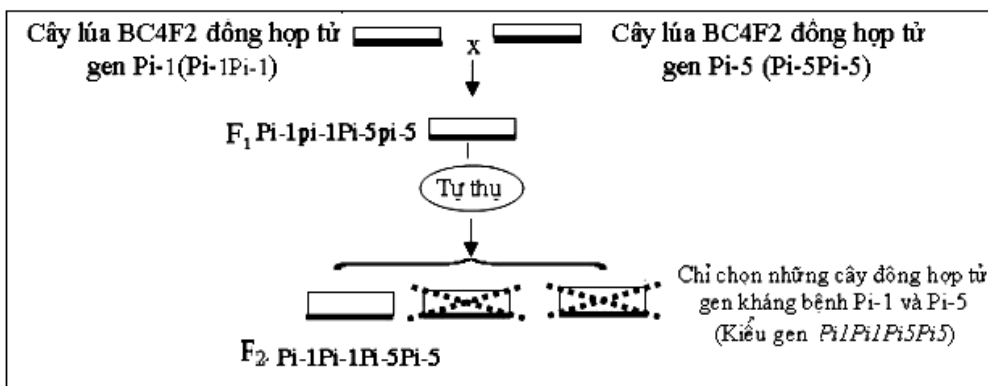


Hình 1. Hình ảnh lúa nhiễm đạo ôn trên các giống lúa

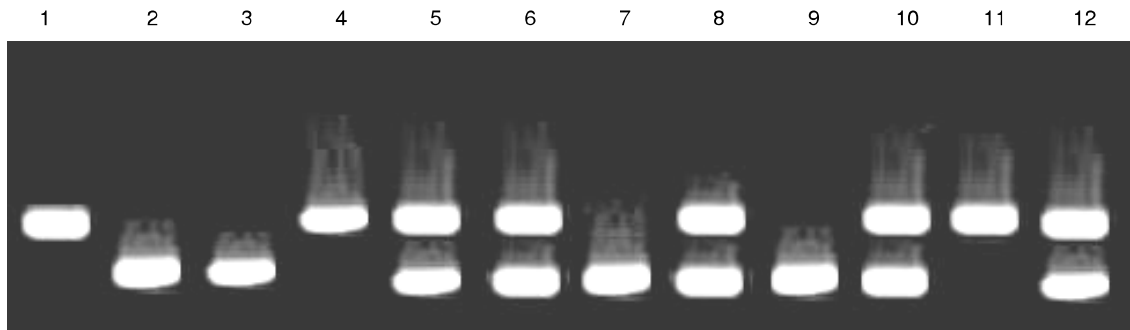


Hình 2. Sơ đồ quy tụ và lựa chọn cây lúa mang gen kháng đạo ôn nhờ chỉ thị phân tử

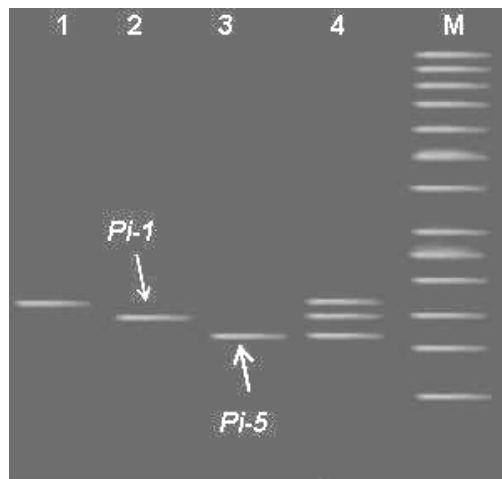
Ghi chú: P1: Cây nhận gen kháng ban đầu (đồng lúa DT7); P2: Cây cho gen kháng đạo ôn; Pi - 1pi - 1 và Pi - 1Pi - 1 là đồng hợp tử lặn và trội về gen kháng đạo ôn Pi - 1. Các phân màu trắng và màu đen tượng trưng cho “hàm lượng kiểu gen” của cây nhận gen và cho gen kháng đạo ôn ban đầu.



Hình 3. Sơ đồ quy tụ 2 gen kháng Pi - 1 và Pi - 5 vào cùng một cá thể



Hình 4. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng chỉ thị PR10F để chọn lựa những cây lúa mang gen kiểu gen  $Pi - 1pi - 1$  ở thế hệ BC4F. (Trong đó: 1: Dòng lúa DT7; 2: Giống C101LAC; 3 - 12: Các dòng lúa BC4F1)



Hình 5. Hình ảnh sử dụng chỉ thị phân tử để lựa chọn dòng lúa mang cả hai gen  $Pi - 1$  &  $Pi - 5$ . 1: Dòng lúa DT7; 2: Giống C101LAC (mang gen  $Pi - 1$ ); 3: Giống Moroberekan (mang gen  $Pi - 5$ ); 4: Dòng lúa NB - 01 (mang hai gen kháng  $Pi - 1$  &  $Pi - 5$ ); 5: Marker trọng lượng phân tử.



Hình 6. Hình ảnh dòng lúa NB - 01 trồng thử nghiệm vụ mùa 2009.  
BT7: Giống lúa đối chứng Bắc thom 7