

# THANH LỘC VÀ PHÂN TÍCH DI TRUYỀN CÁC GIỐNG LÚA KHÁNG RẦY NÂU (*NILAPARVATA LUGENS* STAL.) Ở THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Bùi Thị Kim Vi<sup>1</sup>, Nguyễn Vũ Linh<sup>1</sup>, Vũ Anh Pháp<sup>2</sup> và Trần Nhân Dũng<sup>1</sup>

## ABSTRACT

The research to evaluate the resistance to BPH of 100 kinds of rice varieties collected in Can Tho City was studied and to apply marker in analysing DNA in order to identify the anti-BPH genes. BPH resistance of rice varieties was tested by using standard seedbox screening based on scales of IRRI (IRRI, 1996). For a total of 102 rice varieties including TN1, the standard susceptible variety, and PTB33, the standard resistant variety. The result showed that 8 moderate resistant varieties (scale 3), 43 moderate susceptible varieties (scale 5), 39 susceptible varieties (scale 7) and 10 very susceptible varieties (scale 9). The results recorded the amplification of molecular markers RG457FL/RL linked to the resistant gene *Bph-10* was generated to distinguish resistance and susceptibility of 43 rice germplasm accessions obtained from the screening including TN1 and PTB33, these products could be digested with *HinfI* to reveal polymorphism. The final results identified 4 varieties with resistant heterozygote, 7 varieties with resistant homozygote (including PTB33), and the last 34 varieties without resistant genes. Therefore the screening and DNA analysis determined 10 varieties resistant to BHP equivalent *Bph-10* gene.

**Keywords:** Brown planthopper (BPH), *Bph-10*, resistant variety, heterozygote, homozygote

**Title:** Screening for the resistance to brown planthopper of cultivars rice in Can Tho city and DNA analysis

## TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá tính kháng rầy nâu của 100 giống lúa ở Thành phố Cần Thơ và ứng dụng marker phân tử trong phân tích DNA để xác định gen kháng rầy nâu. Các giống lúa lọc ra từ Ngân hàng gen cây lúa của Viện Nghiên cứu & Phát triển Đồng bằng Sông Cửu Long được thử nghiệm cùng với giống chuẩn nhiễm TN1 và giống chuẩn kháng PTB33 tiến hành đánh giá tính chống chịu rầy nâu trong nhà lưới bằng phương pháp hộp mạ của IRRI có cải tiến, theo thang điểm 9 cấp (IRRI, 2002). Kết quả xác định 8 giống hơi kháng (cấp 3), 43 giống hơi nhiễm (cấp 5), 39 giống nhiễm (cấp 7) và 10 giống rất nhiễm (cấp 9). Từ kết quả thanh lọc trong nhà lưới chọn 43 giống lúa để kiểm tra sự hiện diện gen kháng rầy nâu bằng cặp mồi (primer) RG457FL/RL liên kết chặt chẽ với gen *Bph-10* (theo công bố của IRRI), sản phẩm PCR, sau đó, được cắt bằng enzyme cắt giới hạn *HinfI* để tìm ra sự đa hình về kiểu gen của các giống lúa thực nghiệm. Kết quả cuối cùng cho thấy, có 4 giống mang kiểu gen dị hợp tử kháng, 7 giống đồng hợp tử (gồm cả giống đối chứng PTB33), 34 giống còn lại không mang gen kháng. Như vậy, qua kết quả thanh lọc hộp mạ và marker phân tử đã xác định được 10 giống mang gen kháng rầy nâu *Bph-10*.

**Từ khóa:** Rầy nâu, *Bph-10*, giống kháng, đồng hợp tử, dị hợp tử

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển CNSH, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu phát triển DBSCL, Trường Đại học Cần Thơ

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam có thể nói lúa gạo là cây lương thực chính đóng vai trò quan trọng trong đời sống và phát triển kinh tế xã hội, đặc biệt là ở nông thôn. Sản phẩm lúa gạo xuất khẩu của Việt Nam đứng hàng thứ hai trên thế giới nhiều năm liền, trong đó đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) được xem là vựa lúa lớn nhất nước. Chính vai trò quan trọng của cây lương thực này đã thúc đẩy người dân trồng lúa 2-3 vụ/năm và canh tác nhiều năm liền để tăng sản lượng lúa nhằm đáp ứng nhu cầu thị trường. Theo dự đoán, nếu dân số thế giới tiếp tục gia tăng trong vòng 20 năm tới mà chủ yếu ở các nước sử dụng gạo là lương thực chính thì sản lượng lúa gạo phải tăng 80% mới bảo đảm an ninh lương thực cho thế giới. Tuy nhiên, nghề trồng lúa luôn gặp phải những trở ngại và thách thức, do điều kiện thâm canh hiện nay với các giống lúa mới cao sản ngắn ngày, khi bón phân đạm kết hợp với khí hậu mùa nóng ẩm quanh năm sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho dịch hại phát triển. Rầy nâu là côn trùng gây hại lớn nhất đối với cây lúa ở nước ta cũng như các nước trồng lúa ở Châu Á. Chúng chích hút gây bệnh cháy lá lúa và truyền virus gây bệnh vàng lùn và lùn xoắn lá (*Rice ragged stunt virus*) làm giảm năng suất đến 70% hoặc làm mất trắng khi nhiễm rầy nặng và trên diện tích lớn (Lương Minh Châu *et al.*, 2006)

Để đáp ứng nhu cầu lương thực ngày càng tăng nhưng diện tích đất lại thu hẹp, nông dân buộc phải tăng vụ và thực hiện thâm canh cũng như sử dụng kém đa dạng, chỉ một số giống lúa thích nghi cho năng suất, hiệu quả kinh tế cao là được ưa chuộng. Vì vậy, phòng trừ rầy nâu cần kết hợp nhiều biện pháp như giống kháng, kỹ thuật canh tác, phòng trừ sinh học và hóa học. Trong đó, giống kháng luôn được quan tâm hàng đầu.

Đã có nhiều nghiên cứu về các giống lúa kháng rầy trên thế giới chủ yếu dựa vào các kỹ thuật sinh học phân tử như SSR (Simple Sequence Repeats), PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism), STS (Sequence Tagged Sites) làm cơ sở cho việc phân lập các hệ gen kháng rầy. Trong đó dấu STS tỏ ra hữu hiệu trong việc xác định gen kháng rầy trên lúa, đặc biệt là gen *Bph-10*, gen kháng quần thể rầy nâu loại hình sinh học 2 và 3 (Nguyễn Thị Lang *et al.*, 2006). Trong bài báo này, chúng tôi thanh lọc các giống lúa kháng rầy ở thành phố Cần Thơ nhằm đánh giá khả năng kháng của các gen kháng, phục vụ cho công tác chọn giống.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu thí nghiệm

#### 2.1.1 Dụng cụ

Bộ dụng cụ dùng trong nhà lưới: lồng lưới (có kích thước 60x60cm) để nuôi rầy; chậu trồng lúa mùa cho rầy ăn; giống lúa mùa làm thức ăn cho rầy; ống nghiệm để thu thập rầy ngoài đồng (các ruộng lúa ở thành phố Cần Thơ: Viện lúa Ô môn, Cờ Đỏ, Phong Điền,...), bể chứa nước bảo vệ rầy và cung cấp nước cho lúa; hộp mạ (khay nhựa có kích thước 50x50cm để làm khay bùn gieo mạ thử nghiệm và lồng lưới để giữ rầy).

2.1.2 Hóa chất

Extraction buffer (1M Tris-HCl pH 8, 5M NaCl, 0.5M EDTA pH 8), Isopropanol (Merck), CTAB (1M Tris pH 7.5, 5M NaCl, 0.5M EDTA pH 8) (Merck), Cloroform (Merck), Isoamylalcohol (Merck), Ethanol (Merck), Agarose, Ethidium Bromide (Bio-Rad), *Taq* DNA polymerase (BiRDI), Oligos (Invitrogen), BiH<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub> (Merck), dNTPs (Invitrogen), PCR buffer ABgen 10X, *Hinf*I (Invitrogen), SDS 10% (w/v), TE 10X (1M Tris pH 8, 0.5M EDTA pH 8)

2.1.3 Nguyên vật liệu

Giống lúa: 100 giống lúa (Bảng 1) được cung cấp từ Ngân hàng Gen, Viện Nghiên cứu Phát triển ĐBSCL - Trường Đại học Cần Thơ

**Bảng 1: Danh sách các giống lúa**

STT	Tên giống	Ký hiệu	STT	Tên giống	Ký hiệu
1	Ấn ngọc hoàng	1	53	Nâu cao	53
2	Ba bông 1	2	54	Nếp ruồi trui	54
3	Ba bông 2	3	55	Nếp thái 1	55
4	Ba bông (nút đít)	4	56	Thang ích	56
5	Ba bông mấn 2	5	57	Thơm lùn mùa	57
6	Ba bụi 1	6	58	Thơm mấn	58
7	Bà rịa	7	59	Trà lòng 1	59
8	Bà rông	8	60	Trà lòng 2	60
9	Ba thiết 2	9	61	Trăm bông 1	61
10	Bông cụt	10	62	Trắng một bụi	62
11	Bông đá	11	63	Trắng xạo	63
12	Chùm ruột trắng 2	12	64	Ngọc nữ	64
13	Cù lự 2	13	65	Ba trắng	65
14	Đen lự 1	14	66	Trắng tròn	66
15	Đỏ lự	15	67	Nếp dài	67
16	Hai mâu	16	68	Tét hành đột biến	68
17	Huyết rồng 4	17	69	Năm tài	69
18	IR42 lự	18	70	Vàng 3 danh	70
19	Lua lừ	19	71	Trắng tròn	71
20	Lúa thơm 1	20	72	Ngọc nữ đột biến	72
21	Lùn cần 4	21	73	Trắng tròn	73
22	Lùn cần dài	22	74	Nàng từng chùm	74
23	Lùn hậu giang 1	23	75	Tài nguyên (đục)	75
24	Lùn hậu giang 2	24	76	Trắng ngọc nữ	76
25	Lùn phóng	25	77	Lùn mấn	77
26	Lùn trắng	26	78	Lùn trắng phều	78
27	Lùn vàng 2	27	79	Trắng bà lớn	79
28	Má bậy	28	80	Lùn cần	80
29	Móng chim rơi 2	29	81	Tét hành tím	81
30	Móng chim vàng 4	30	82	Vàng thất họng	82
31	Một bụi 5	31	83	Trắng một bụi	83
32	Một bụi bờ địa 1	32	84	Tài nguyên	84
33	Một bụi cao 1	33	85	Trắng sữa	85
34	Một bụi trắng	34	86	Không rõ tên	86
35	Một bụi vàng 1	35	87	Trắng ngọc nữ	87

36	Một bụi vàng 2	36	88	Tét hành cao (1 bụi cao)	88
37	Mười luyến	37	89	Vàng lùn	89
38	Năm lùn	38	90	Nếp	90
39	Năm tài 1	39	91	Trắng chùm	91
40	Năm tài 2	40	92	Trắng bồ câu	92
41	Nanh chòn	41	93	Kiên giang 2	93
42	Nàng co đò 2	42	94	10 hà	94
43	Nàng cùm 1	43	95	Tài nguyên	95
44	Nàng dứt 1	44	96	MTL495	96
45	Nàng gáo 2	45	97	OM6600	97
46	Nàng gáo 4	46	98	OM4498	98
47	Nàng gáo trắng	47	99	OM6073	99
48	Nàng già 2	48	100	Jasmine 85	100
49	Nàng quớt diêm	49	101	TN1 (đối chứng nhiễm)	101
50	Nàng quớt nhuyễn	50	102	PTB33 (đối chứng kháng)	102
51	Nàng quớt tây	51			
52	Nàng từng	52			

## 2.2 Phương pháp

### 2.2.1 Phương pháp đánh giá kiểu hình

- **Chuẩn bị lúa cho rầy ăn:** Lúa Tài Nguyên mùa được 10 ngày tuổi thì bón phân theo công thức 200kg N (hòa nước tưới) để cho cây lúa phát triển nhanh và tốt, khi lúa được khoảng 25-30 ngày tuổi có thể dùng cho rầy ăn.

- **Nuôi rầy:** Rầy nâu trưởng thành được bắt đem về nuôi trong lồng lưới để sinh sản trứng và khi trứng nở thành rầy cám 1-2 tuổi, đồng thời với lúa ở giai đoạn 2 lá mầm (cao khoảng 2,0 cm).

- **Giống lúa:** Sử dụng giống chuẩn kháng (PTB33) và giống chuẩn nhiễm (TN1) làm đối chứng và các giống lúa muốn thử tính kháng rầy. Tiến hành đánh giá theo phương pháp đánh giá hộp mạ của IRRI có cải tiến. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Dùng kẹp cây hạt lúa vừa nảy mầm cho vào khay bùn mịn có kẻ hàng (mỗi khay gieo 7 hàng), mỗi lặp lại là một hàng gồm 10 hạt cách nhau 2,0 cm, mỗi hàng cách nhau 4,0 cm với các giống thử nghiệm, một giống chuẩn nhiễm TN1, một giống chuẩn kháng PTB33 (hình 1). Khay bùn được đậy kín để giúp mầm lúa phát triển đều đạt chiều cao 2,0 cm. Khi mạ được 2-3 lá mầm (khoảng 7-10 ngày sau gieo) tiến hành thả rầy 1-2 tuổi với mật độ 4-6 con/cây và theo dõi đánh giá.



Hình 1: Khay nhựa được kẻ hàng để cấy lúa

### Chỉ tiêu theo dõi

- Khi tất cả những cây của giống chuẩn nhiễm (TN1) vừa chết hết do rầy gây hại, tiến hành đánh giá tính kháng của các giống thử nghiệm.
- Đánh giá sự gây hại của rầy nâu theo thang điểm chín cấp của IRRI (1996).

#### 2.2.2 Phương pháp đánh giá kiểu gen

##### Ly trích DNA

Sau khi có kết quả thanh lọc kiểu hình các giống lúa, tiến hành xác định kiểu gen. Hạt giống đem ủ khoảng 5-7 ngày (đến khi mầm lúa dài khoảng 3,0-4,0cm) thì đem phân tích.

Thực hiện qui trình ly trích DNA được mô tả bởi Rogers và Bendich (1988) (qui trình CTAB) có hiệu chỉnh. Thu lấy lá non của các giống lúa, cắt lá lúa và cho vào các tuýp với lượng khoảng 0,1g/tuýp. Ngâm các tuýp và dụng cụ nghiền mẫu trong nitor lỏng khoảng 15 phút. Nghiền mẫu bằng máy: nghiền 3-4 lần, mỗi lần 30 giây. Thêm 1ml dung dịch trích (10ml EB + 7,0µl β-Mercaptoethanol) và 50 µl SDS 10% (w/v), ủ trong nước 65<sup>0</sup>C/30 phút. Ly tâm 13000 vòng/phút, trong 10 phút. Chuyển 800µl dịch trong vào tuýp mới và thêm lượng tương đương isopropanol vào tuýp, lắc đều, ủ ở -20<sup>0</sup>C trong 2 giờ. Ly tâm 13000 vòng/phút, trong 15 phút, bỏ nước, lấy phần kết tủa, thêm 400µl TE 0,1X và 7 µl RNase, ủ 25 phút ở 37<sup>0</sup>C. Sau đó thêm vào 400 µl CTAB, ủ 20 phút ở 65<sup>0</sup>C. Thêm 800 µl chloroform/isoamylalcohol (tỉ lệ 24:1), đảo nhẹ tuýp vài lần. Ly tâm 13000 vòng/phút, trong 10 phút. Lấy 700 µl phần trong chuyển sang tuýp mới. Cho vào 1,4 ml ethanol 96% làm lạnh, lắc nhẹ, để yên 15 phút ở nhiệt độ phòng (khoảng 27<sup>0</sup>C). Ly tâm 13000vòng/phút, trong 10 phút, bỏ nước, lấy phần kết tủa. Cho vào tuýp 700 µl ethanol 70% lắc nhẹ. Ly tâm 13000 vòng trong 10 phút, bỏ nước, lấy phần kết tủa (bước này lặp lại 2 lần). Sấy chân khô ở 45<sup>0</sup>C trong 10 phút. Thêm vào 150 µl TE 0,1X và trữ ở âm 20<sup>0</sup>C.

DNA được kiểm tra trên gel agarose 0,8% với sự hiện diện của ethidium bromide (EtBr), điện di ở hiệu điện thế 100V trong 15 phút (5V/cm) để kiểm tra sản phẩm đã ly trích. Sau khi điện di, hình gel được chụp dưới ánh sáng đèn cực tím bởi máy đọc gel và chụp hình gel Bio-Rad UV 2000.

##### Phản ứng PCR (DNA STS)

Thực hiện PCR với cặp mồi chuyên biệt RG457FL/RL với trình tự mồi xuôi và mồi ngược theo Lang *et al.* (1999) như sau:

RG457FL: 5'GCAGTGGCAGATGGGATCGT 3',

RG457RL: 5'GCTCCGAAATCCCAAGCGAT 3'.

Thể tích phản ứng PCR 25µl bao gồm: 16,0µl BiH<sub>2</sub>O, 3µl Buffer ABgen 10X, 1µl dNTPs 20mM, 1,5µl MgCl<sub>2</sub> 25mM, 1µl *Taq* Polymerase (5U/µl), 0,25µl mỗi primer xuôi và ngược 100 pmol/µl, 2µl DNA 50 ng/µl với chu kỳ gia nhiệt của phản ứng PCR ở 94<sup>0</sup>C trong 5 phút, sau đó lặp lại 35 chu kỳ như sau: biến tính DNA ở 94<sup>0</sup>C trong 1 phút, gắn mồi vào khuôn ở 62<sup>0</sup>C trong 45 giây, kéo dài ở 72<sup>0</sup>C trong 2 phút. Cuối cùng phản ứng được duy trì ở 72<sup>0</sup>C trong 7 phút.

Các sản phẩm của phản ứng PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,5%, với sự hiện diện của ethidium bromide 2,0 µl/100 ml với hiệu điện thế 50Volt trong 35 phút (5Volt/cm) trong dung dịch TE 1X. Sau đó chụp hình gel bằng máy Bio-Rad UV 2000.

**Cắt bằng enzyme giới hạn**

Sản phẩm PCR (DNA STS) được cắt bằng enzyme *HinfI* với công thức được thể hiện như sau: 8µl DNA STS, 3µl enzyme *HinfI* 10U/µl (Invitrogen), 2µl RC buffer (50mM Tris-HCl pH 7.5, 0.1mM EDTA, 10mM 2-mercaptoethanol, 500µg/ml BSA, 50% (v/v) glycerol), thêm BiH<sub>2</sub>O vào cho đủ thể tích 20µl, rồi đem ủ ở 37°C trong 16 giờ.

Kiểm tra sản phẩm cắt enzyme bằng gel agarose 2,0%.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Đánh giá tính kháng rầy bằng phương pháp hộp mạ theo SES (IRRI, 1996)**

**Tổng hợp kết quả đánh giá kiểu hình 100 giống lúa**

GIỐNG THU THẬP (100 GIỐNG)	MỨC ĐỘ KHÁNG CỦA CÁC GIỐNG				
	K	KV	NV	N	NN
	8	43	39	10	

*Ghi chú: (\*)*: **K**: kháng; **KV**: kháng vừa; **NV**: nhiễm vừa; **N**: nhiễm, **NN**: nhiễm nặng

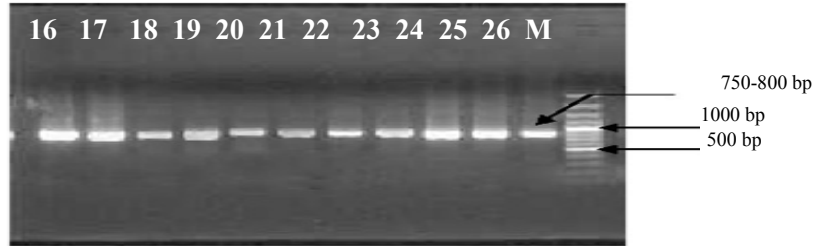
- Cấp 0 (Rất kháng): Cây phát triển bình thường, không bị hại.
- Cấp 1 (Kháng): Rất ít bị thiệt hại.
- Cấp 3 (Kháng vừa): Lá thứ 1 và 2 của hầu hết các cây bị vàng một phần (nhuộm vàng).
- Cấp 5 (Nhiễm vừa): Vàng và lùn rõ rệt, 10-25 % số cây đang héo hay chết, những cây còn lại còi cọc và kém phát triển.
- Cấp 7 (Nhiễm): Trên 50 % đang héo (hoặc cây chết).
- Cấp 9 (Nhiễm nặng): 100 % cây chết.

Từ kết quả thanh lọc kiểu hình của 100 giống lúa trên, ta chọn ra được 43 giống thích hợp (các giống đều có cấp độ kháng từ cấp 5 trở xuống) để tiến hành ly trích DNA và đánh giá kiểu gen kháng rầy trên các giống này bằng marker phân tử.

**3.2 Kết quả đánh giá kiểu gen bằng sinh học phân tử**

Các mẫu DNA sau khi ly trích được kiểm tra trên gel agarose 0.8%, các mẫu DNA đều cho một vạch sáng rõ, không bị gãy, các mẫu DNA này sẽ được lưu trữ cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

3.2.1 Kết quả thực hiện phản ứng PCR

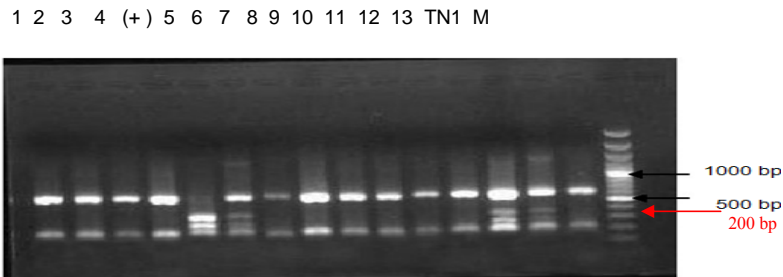


**Hình 2: Phổ điện di sản phẩm PCR với cặp mồi RG457FL/RL**

M: ladder 100bp DNA, số ký hiệu tại các giếng là số ký hiệu mẫu

Kết quả PCR trên gel agarose 1,5% với M là thang chuẩn 100 bp, ta thấy các giống lúa (tương ứng với các số trên giếng) đều tạo ra một băng sáng có kích thước tương đương khoảng 750-800 bp (Hình 2). Tuy nhiên, kết quả này không thể hiện được sự đa hình giữa các giống lúa, do đó không thể phân biệt được giống kháng rầy nâu và giống nhiễm rầy nâu. Vì vậy, cần tiến hành cắt sản phẩm PCR với enzyme *Hin*I để tìm ra sự đa hình giữa các giống lúa.

3.2.2 Kết quả cắt bằng enzyme giới hạn *Hin*I



**Hình 3: Sản phẩm PCR với cặp mồi RG457FL/RL được cắt bằng enzyme *Hin*I**

M: Ladder 100 bp, số ký hiệu tại các giếng là số ký hiệu mẫu, (+) đối chứng dương, TN1 đối chứng âm

Sau khi kiểm tra và đánh giá sự khác biệt của các băng tạo ra giữa 43 giống lúa trên gel agarose 2%, với TN1 là giống chuẩn nhiễm, các giống lúa còn lại (là số ký hiệu tại các giếng) ta thấy có xuất hiện sự đa hình (Hình 3). Theo Lang *et al.* (1999) sau khi khuếch đại DNA của các giống lúa với cặp mồi RG457FL/RL, kiểm tra trên gel sẽ xuất hiện các băng có kích thước từ 750-800 bp. Sau khi cắt với enzyme *Hin*I, giống mang kiểu gen đồng hợp kháng sẽ có kích thước khoảng 200 bp, 250 bp, 350 bp, giống mang kiểu gen đồng hợp nhiễm có kích thước là 200 bp và 600 bp, đối với những giống mang gen kháng rầy dị hợp tử có kích thước là 200 bp, 250bp, 350 bp và 600 bp.

Theo kết quả nghiên cứu của Lang *et al.* (1999), tiến hành phân loại kiểu gen của các giống lúa dựa vào kết quả kiểm tra trên gel agarose 2% như sau:

- Giống 5, 12, 13, 25: có kiểu gen dị hợp tử kháng với các băng có kích thước lần lượt là 200 bp, 250bp, 350bp và 600bp.
- Giống 18, 23, 24, 26, 35, 36: có kiểu gen đồng hợp tử kháng có kích thước lần lượt là 200bp, 250bp và 350bp.

- Các giống còn lại đều có hai băng rõ nét thể hiện trên hình gel với kích thước khoảng 200bp và 600bp. Đây đều là các giống không mang gen kháng rầy.

Từ kết quả đánh giá kiểu hình, so sánh và đối chiếu với kết quả đánh giá kiểu gen chọn lọc được 10 giống (Bảng 2) có mang kiểu gen kháng đối với rầy nâu. Có thể tiếp tục sử dụng những giống này lai tạo phục vụ cho công tác chọn tạo giống kháng rầy nâu sau này.

**Bảng 2: So sánh kết quả đánh giá kiểu hình và kiểu gen**

TÊN	CẤP ĐỘ KHÁNG RẦY	Kiểu GEN
Thơm lùn mùa	3	+-
Năm tài 2	3	+-
Thơm mẫn	3	+-
OM6073	5	+-
Lùn trắng phều	5	++
Nếp	3	++
10 hà	5	++
MTL495	3	++
Vàng 3 danh	3	++
Ngọc nữ đột biến	3	++

\* Ghi chú: ++: đồng hợp tử; +-: dị hợp tử

Từ kết quả đánh giá kiểu hình và kiểu gen của 10 giống lúa (Bảng 2) ta nhận thấy các giống: OM6073, giống Lùn Trắng Phều và giống 10 hà cho kết quả đánh giá kiểu hình với cấp độ là 5 (nhiễm vừa) nhưng kết quả đánh giá kiểu gen dựa trên chỉ thị phân tử RG457FL/RL thì cho kết quả là mang gen đồng hợp tử kháng (đối với giống Lùn trắng phều và giống 10 hà) và dị hợp tử mang gen kháng với rầy nâu (giống OM6073).

Ishii *et al.* (1994) đã thiết lập bản đồ RFLP và xác định gen *Bph-10* kháng biotype 2 và 3, định vị trên nhiễm sắc thể 12 liên kết với RG457. Cặp primer được thiết kế từ RG457 (chỉ thị STS) đã phát hiện được gen kháng rầy nâu *Bph-10* với khoảng cách di truyền 1.7cM trên quần thể lúa hoang *Oryza australiensis* và những dòng con lai có xuất xứ từ loài lúa hoang này (Lang *et al.*, 1999).

Do vậy, với chỉ thị phân tử RG457FL/RL chỉ phát hiện được những giống lúa có mang gen *Bph-10*, kết quả đánh giá kiểu hình thì cho thấy các giống lúa đã bị nhiễm với rầy nâu. Có thể thấy những giống lúa hiện tại đang được sử dụng để kháng với rầy nâu thì không mang lại kết quả cao, có thể đã xuất hiện loại hình rầy nâu mới ở ĐBSCL không chỉ là loại biotype 2 và 3 như đã được biết trước đây.

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu ghi nhận được 10 giống lúa mang gen kháng rầy nâu *Bph-10* trong đó: Bốn giống mang gen dị hợp tử kháng: Thơm lùn mùa, Năm tài 2, Thơm mẫn và OM6073, Bảy giống mang gen đồng hợp tử kháng: Lùn trắng phều, Nếp, 10 Hà, MTL495, Vàng 3 danh, Ngọc nữ đột biến và PTB33 (ĐC).

Chỉ thị phân tử RG457FL/RL chỉ tỏ ra hữu hiệu trong việc xác định giống lúa mang gen *Bph-10* kháng với rầy nâu loại hình sinh học 2 và 3. Nhưng theo thực tế



hiện nay, thì nòi rầy nâu có thể đã phát sinh những quần thể rầy nâu mới (biotype 1 và 4), do vậy cần có những nghiên cứu trên những chỉ thị phân tử khác để xác định các gen kháng khác trên các giống đối với rầy nâu cũng như tìm hiểu và xác định loại hình rầy nâu mới xuất hiện ở ĐBSCL.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Lang, Trần Thị Thu Hằng, Phạm Thị Thu Hà, Bùi Thị Dương Khuyên, Phạm Công Thành, Nguyễn Thạch Cân và 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*, số 4, tr. 11-15.
- Lương Minh Châu, Lương Thị Phương và Bùi Chí Bửu. 2006. “Đánh giá tính kháng của các tổ hợp lúa năng suất cao, phẩm chất tốt đối với quần thể rầy nâu tại Đồng Bằng Sông Cửu Long 2003-2005”. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, kỳ 2, tr. 16-20.
- Ishii T, Brar DS, Multani DS, Khush GS. 1994. Molecular tagging of gene for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice *Oryza sativa*. *Genomie* 7:217-221
- Lang N. T., Brar D. S., Gurdev S., Khush N. H. and Bui Chi Bui. 1999. Development of STS marker to identify brownplanthopper resistance in a segregating population. *Omon rice* 7, pp. 26-34.
- Rogers S.O. and Bendich A.J. 1988. Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual A6*: 1 - 10.