

# THANH LỘC CÁC GIỐNG LÚA MANG GEN KHÁNG RẦY NÂU BẰNG DẤU PHÂN TỬ DNA

Nguyễn Văn Tú, Nguyễn Vũ Linh, Trương Trọng Ngôn và Trần Nhân Dũng<sup>1</sup>

## ABSTRACT

RG457 marker (STS marker) was indicated to be the closest linkage to Bph10 gene on the chromosome 12 of rice cultivars with distance with 1.7 cM. To screen rice cultivars with brown plant hopper resistant gene, 169 of the rice cultivars were used to isolating DNA and DNA samples were amplified with RG457FL/RL primer pairs. The size of PCR products from 750 bp to 800 bp were digested by *HinfI* enzyme. Restriction site for *HinfI* depends on the rice cultivars which are heterozygotes or homozygotes. Fragments were resolved on agarose gels. The band pattern was classified into three groups such as: the heterozygotes with the size of about 200, 250, 350, and 600 bp fragments; the resistant homozygotes with the size of about 200, 250 and 350 bp fragments, and the infected homozygotes with the size of about 600 and 200 bp fragments. In addition, single nucleotide polymorphism also used to identify the variation among rice cultivars at nucleotide level. There was polymorphism of Bph10 gene among twenty-nine rice cultivars containing gene for the resistance to brown planthopper biotypes 2 and 3.

**Keywords:** RG457 marker, Bph10 gene, PCR, Screen, Brown Planthopper

**Title:** Screening brown planthopper resistant genes of rice cultivars based on DNA molecular markers

## TÓM TẮT

Dấu phân tử RG457 (STS) được xác định là liên kết gần nhất với gen Bph10 trên NST số 12 của lúa với khoảng cách 1,7cM. Để thanh lọc các giống lúa mang gen kháng rầy nâu (thuộc loại hình sinh học 2 và 3), 169 giống lúa được sử dụng để ly trích DNA và các mẫu DNA được khuếch đại với cặp mồi RG457FL/RL. Sản phẩm PCR thu được có kích thước khoảng 750bp-800bp, chúng được cắt bằng enzyme cắt giới hạn *HinfI* với trình tự cắt là G/ANTC. Vị trí cắt của enzyme *HinfI* khác nhau tùy vào giống mang kiểu gen dị hợp hoặc đồng hợp tử. Trong đó, giống mang kiểu gen dị hợp tử gồm các băng với kích thước khoảng 200, 250, 350 và 600bp; giống mang kiểu gen đồng hợp kháng rầy nâu gồm các băng với kích thước khoảng 200, 250 và 350 bp; giống mang kiểu gen đồng hợp nhiễm rầy nâu gồm các băng với kích thước khoảng 600 và 200 bp. Ngoài ra, tính đa hình nucleotide đơn (SNP) cũng được dùng để xác định mức độ biến dị nucleotide giữa các giống. Sự đa hình của gen Bph10 được xác định ở 29 giống lúa thể hiện tính kháng rầy nâu loại hình 2 và 3.

**Từ khóa:** Dấu RG457, gen Bph10, phản ứng chuỗi, thanh lọc, rầy nâu

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước nông nghiệp, phần lớn diện tích đất canh tác là trồng lúa. Riêng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) được xem là một trong những vựa lúa lớn của cả nước. Trước đây, khi nông dân trồng một vụ lúa trong năm thì rầy nâu rất ít xuất hiện. Ngày nay, theo đà phát triển và nhu cầu ngày càng tăng về năng suất và chất lượng nông sản của xã hội, số vụ trong năm cũng tăng dần, từ một vụ lên hai

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

rồi ba vụ. Đây là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của rầy nâu về số lượng cũng như về chủng loại. Hơn nữa, nước ta nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới, quanh năm ẩm ướt cũng là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của rầy nâu. Trong thời gian gần đây, ở phía nam mà đặc biệt là vùng ĐBSCL, rầy nâu cùng với bệnh vàng lùn, lùn xoắn lá xuất hiện ngày càng nhiều và có lúc đã trở thành dịch, cao điểm là đại dịch. Điều này làm cho hàng trăm ngàn ha lúa bị tàn phá, gây thiệt hại rất lớn về năng suất (Luong Minh Châu *et al.*, 2006). Điều này tiềm ẩn nguy cơ sẽ có nhiều đợt dịch mới xuất hiện, khó kiểm soát. Do đó, việc chọn tạo các giống lúa vừa có chất lượng cao, vừa kháng rầy nâu ở giai đoạn hiện nay được xem là vấn đề cấp bách và mang ý nghĩa quan trọng về mặt chiến lược. Do đó việc “Thanh lọc các giống lúa mang gen kháng rầy nâu bằng dấu phân tử DNA” là rất cần thiết và cấp bách hiện nay.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu thí nghiệm

#### 2.1.1 Giống lúa

169 giống lúa được cung cấp từ Viện lúa ĐBSCL, Viện Nghiên cứu Phát triển ĐBSCL – Trường Đại học Cần Thơ (Bảng 1).

**Bảng 1:** Danh sách các giống lúa thu thập

STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	A0-OM4059	86	IR 81166-60-3-1-2
2	A0-OM4097	87	IR 81178-29-2-3-2
3	A0-OM4101	88	IR 81346-22-1-1-1
4	A0-OM4244	89	IR 81347-10-2-3-3
5	A0-OM4940	90	IR 81348-122-2-2-3
6	A0-OM5451	91	IR 81873-31-2-2-2
7	A0-OM5453	92	IR 81879-71-3-3-1
8	A0-OM6072	93	IR 81935-33-1-2-1
9	A0-OM6511-1	94	IR 82148-34-2-1-3
10	A0-OM6839	95	IR 82197-19-2-3
11	A1-OM 5199	96	IR 82198-24-2-2
12	A1-OM2494	97	IR 83141-11
13	A1-OM3689	98	IR 83142-12
14	A1-OM3955	99	IR 83242-6-2-16-1-4-1
15	A1-OM5464	100	Lúa phi (3)
16	A1-OM5472	101	MILYANG 46
17	A1-OM5628	102	MILYANG 55
18	A1-OM5636	103	MILYANG 63
19	A1-OM5976	104	Một bụi vàng (14)
20	A1-OM6072	105	MTL495
21	A1-OM6297-53	106	MTL513
22	A1-OM6377	107	MTL549
23	A2-OM 5239	108	MTL574
24	A2-OM2474	109	MTL575
25	A2-OM2478	110	MTL608
26	A2-OM3960	111	MUT NS1
27	A2-OM4095	112	Nàng Hương (17)

28	A2-OM4590	113	Nanh chồn (1)
29	A2-OM4928	114	OM4088
30	A2-OM5472	115	OM4218
31	A2-OM5651	116	OM4498
32	A2-OM6367	117	OM5930
33	A2-OM6369	118	OM6561-12
34	ASD 7 (ACC 6303)	119	OM2395
35	CSR-90IR-2	120	OM2397
36	Cừu Long (4)	121	OM2488
37	Hầu Trâu Siêu TQ (11)	122	OM2514
38	HĐ1 (19)	123	OM3536(10)
39	IR 13146-45-2-3	124	OM3960
40	IR 31917-45-3-2	125	OM4059
41	IR 42568-4-5-3-8-3	126	OM4214-4
42	IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC RC 106)	127	OM4900
43	IR 64	128	OM4926
44	IR 64683-87-2-2-3-3 (PSB RC82)	129	OM4940
45	IR 71677-161-2-3	130	OM4944
46	IR 71701-28-1-4	131	OM4993
47	IR 72164-186-5	132	OM5087
48	IR 72890-81-3-2-2	133	OM5199
49	IR 75286-107-3-1-1	134	OM5241
50	IR 75299-94-1-2-2	135	OM5242
51	IR 75386-14-3-2-2	136	OM5243
52	IR 77186-148-3-4-3	137	OM5451
53	IR 77504-36-3-3	138	OM5453
54	IR 77724-8-2-3-2-2	139	OM5464
55	IR 78126-1-2-1	140	OM5490
56	IR 78566-1-2-1-2	141	OM5625
57	IR 78581-12-3-2-2	142	OM5628
58	IR 78585-28-1-5-1	143	OM5637
59	IR 78629-57-3-3-2	144	OM5756
60	IR 79193-83-1-1-1	145	OM5790
61	IR 79242-28-3-2-3	146	OM5794
62	IR 79242-5-1-1-5	147	OM5884
63	IR 79247-107-1-2-1	148	OM5900
64	IR 79482-106-2-2-1	149	OM5930(5)
65	IR 79515-25-1-6-1	150	OM5943
66	IR 79525-20-2-2-2	151	OM5972
67	IR 79534-122-2-5-5-1	152	OM6054
68	IR 79584-38-2-1-4	153	OM6072
69	IR 79637-2-3-2-1	154	OM6073
70	IR 80255-82-1-3-2-1	155	OM6511-1
71	IR 80312-6-B-3-2-B	156	OM6512
72	IR 80340-23-B-12-6-B	157	OM6517
73	IR 80376-19-3-3-2	158	OM6561
74	IR 80376-4-1-2-2	159	OM6677
75	IR 80381-73-1-2-2	160	OM6882
76	IR 80655-30-1-3-1	161	OM7924
77	IR 80655-33-3-2-1	162	POKKALI
78	IR 80658-270-3-2-3	163	Siêu TQ (16)

79	IR 80692-64-3-2-1	164	Thơm 90 ngày (7)
80	IR 80694-150-3-2-2	165	Trắng tếp
81	IR 80860-53-1-3	166	Trắng tếp
82	IR 80864-57-1-5-3	167	VND95-20 (18)
83	IR 80894-43-2-3-3	168	TN1 (ĐC: Nhiễm chuẩn)
84	IR 80901-32-3-3-2	169	Ptb33 (ĐC: Kháng chuẩn)
85	IR 81159-45-1-4-2-6		

\* Ghi chú: Các giống OM và IR được cung cấp từ Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long, các giống còn lại từ Viện Nghiên cứu Phát triển ĐBSCL, Trường Đại học Cần Thơ

### 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, *Hinfl* (Invitrogen), SDS 10%

### 2.1.3 Thiết bị

Máy đo quang phổ Beckman Couter DU 640, máy li tâm Eppendorf Concentrator 5417C, máy PCR Bio-Rad C1000, máy đọc gel và chụp hình gel Bio-Rad UV 2000, máy nghiền mẫu Resch MM200, máy sấy chân không Eppendorf Concentrator 5301, bộ điện di một chiều.

## 2.2 Phương pháp

### 2.2.1 Ly trích DNA

Ly trích DNA được thực hiện theo qui trình CTAB, mô tả bởi Rogers và Bendich (1988) có hiệu chỉnh. Sau khi tách chiết DNA, tiến hành đo quang phổ xác định nồng độ DNA ở bước sóng 260nm và 280nm và điện di trên gel agarose 0,8% với sự hiện diện của Ethidium Bromide (EtBr) để kiểm tra chất lượng DNA. Những mẫu DNA có độ tinh sạch đạt sẽ được lưu trữ ở -20<sup>0</sup>C.

### 2.2.2 Phản ứng PCR (DNA STS)

Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR Bio-Rad C1000. Thành phần của phản ứng như sau: 50-100ng DNA, 3μl PCR buffer ABgen 10X, 2μl MgCl<sub>2</sub> 25mM, 1μl dNTP (0,2 mM mỗi loại), 0,2μl của mỗi loại mỗi (primer) nồng độ 100pmol/μl- trình tự mỗi được mô tả bởi Lang *et al.* (1999): mỗi xuôi 5'GCAGTGGCAGATGGGATCGT 3' và mỗi ngược 5'GCTCCGAAATCCCAAGCGAT 3', 0,25μl *Taq* DNA polymerase (5U/μl). Thêm nước cất vô trùng cho đủ thể tích 25μl.

Phản ứng khuếch đại được tiến hành ở 95<sup>0</sup>C trong 5 phút, sau đó lặp lại 30 chu kỳ với các bước như sau: biến tính ở 94<sup>0</sup>C trong 1 phút, bắt cặp mỗi vào khuôn ở 65<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 72<sup>0</sup>C trong 7 phút.

### 2.2.3 Phân tích sản phẩm PCR

Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được phân tích bằng điện di gel agarose 1 – 2% trong dung dịch đệm TE và chụp bằng máy chụp hình gel Biorad UV 2000. Thang

chuẩn 100bp của công ty Invitrogen đã được sử dụng để ước lượng kích thước đoạn sản phẩm PCR. Nếu các mẫu sản phẩm PCR cho băng sáng rõ và đều trên gel agarose, ta tiến hành lưu trữ để thực hiện phản ứng cắt bằng enzyme *HinfI*.

#### 2.2.4 Phản ứng cắt sản phẩm PCR

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  $\text{BiH}_2\text{O}$  vào cho đủ thể tích 20µl, rồi đem ủ ở 37°C trong 16 giờ.

Sản phẩm của phản ứng cắt DNA STS được kiểm tra bằng điện di gel agarose 1,5%. Dựa vào số băng và kích thước của các băng thể hiện qua phổ điện di gel agarose để xác định các giống lúa mang kiểu gen đồng hợp hoặc dị hợp mang gen *Bph10*.

#### 2.2.5 Phân tích tính đa hình của gen *Bph10*

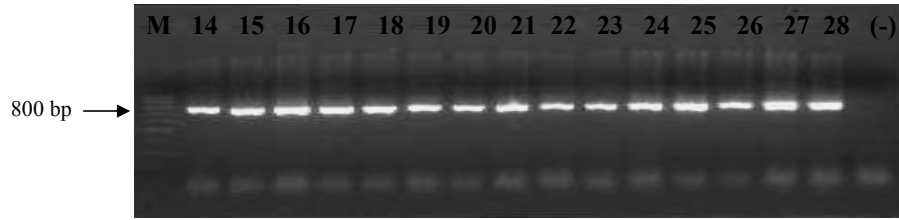
Chọn ngẫu nhiên ba mẫu đại diện cho ba nhóm giống lúa (mang kiểu gen đồng hợp kháng, đồng hợp nhiễm và dị hợp mang gen kháng) để tiến hành giải trình tự. Tiến hành phản ứng cycle sequencing (PCR gắn huỳnh quang) và tinh sạch sản phẩm PCR theo bộ kit Invitrogen. Bên cạnh, có sử dụng các chuỗi mã của đoạn DNA được khuếch đại từ các giống đối chứng là TN1 (giống nhiễm chuẩn) và Ptb33 (giống kháng chuẩn), cũng như chuỗi mã của giống lúa *Oryza sativa* đoạn chuỗi mã từ vị trí nucleotide thứ 28393 đến 29113 trên nhiễm sắc thể số 12. Các chuỗi trình tự được phân tích để xác định mối quan hệ di truyền giữa các giống bằng cách kết hợp với dữ liệu hiện có trên trang web <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> đồng thời tiến hành phân tích tính đa hình của gen *Bph10* bằng chỉ thị SNPs dựa vào phần mềm DNASP version 5.10.01.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Kết quả phản ứng PCR

Các mẫu DNA sau khi ly trích được kiểm tra trên gel agarose 0.8% với sự hiện diện của Ethidium Bromide, kết quả cho thấy các mẫu DNA đều cho một vạch sáng rõ, không bị lẫn các tạp chất khác, các mẫu DNA được lưu trữ cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

Thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi STS (RG457FL/RL) với M là thang chuẩn 100bp, các giống lúa (tương ứng với số kí hiệu tại các giếng) cho băng thể hiện trên gel có kích thước khoảng 750-800bp (Hình 1). Tuy nhiên, chỉ dựa vào sản phẩm PCR với dấu phân tử STS thì không thể xác định được giống lúa nào là kháng hay nhiễm rầy nâu vì kết quả của phản ứng không thể hiện được sự đa hình. Vì vậy, sử dụng enzyme cắt giới hạn *HinfI* để thực hiện phản ứng cắt sản phẩm PCR nhằm mục tiêu phát hiện ra sự đa hình của các giống lúa, từ đó xác định được các giống lúa là kháng hoặc nhiễm rầy nâu.

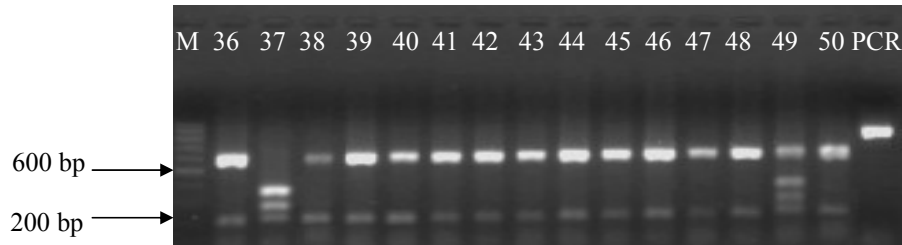


**Hình 1: Phổ điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5%**

*M: thang chuẩn 100bp; số kí hiệu tại các giếng chính là số kí hiệu mẫu; (-): đối chứng âm*

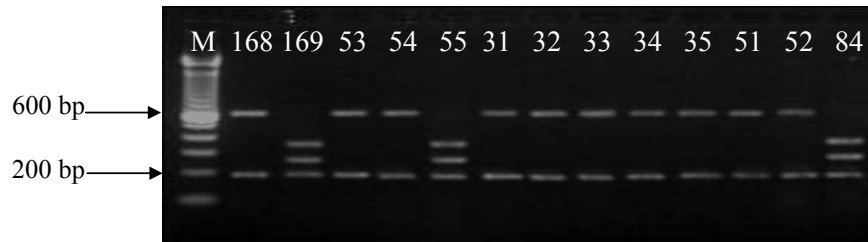
**3.2 Kết quả phản ứng cắt sản phẩm PCR (DNA STS)**

Phản ứng cắt enzyme thể hiện trên gel agarose chia thành 3 nhóm như sau: Nhóm I có 4 băng với kích thước khoảng 200, 250, 350 và 600bp; nhóm II có 3 băng thể hiện với kích thước khoảng 200, 250 và 350bp; nhóm III có 2 băng thể hiện với kích thước khoảng 200 và 600bp so với thang chuẩn (Hình 2). Đặc biệt, sự thể hiện băng của giống kháng chuẩn Ptb33 (kí hiệu 169) và giống nhiễm chuẩn TN1 (kí hiệu 168) lần lượt trùng khớp với sự thể hiện băng của các giống thuộc nhóm II (có 3 băng) và nhóm III (có 2 băng) (Hình 3).



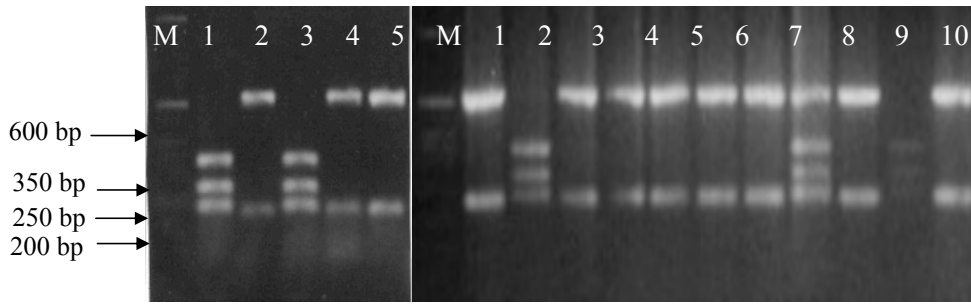
**Hình 2: Kết quả cắt DNA STS theo công thức ổn định**

*M: Thang chuẩn 100bp; Giếng kí hiệu PCR không có sự hiện diện của enzyme trong phản ứng cắt*



**Hình 3: Kết quả cắt DNA STS theo công thức ổn định**

*M: Thang chuẩn 100bp; 168: giống nhiễm chuẩn TN1, 169: giống kháng chuẩn Ptb33*



**Hình 4: Sản phẩm cắt DNA STS**

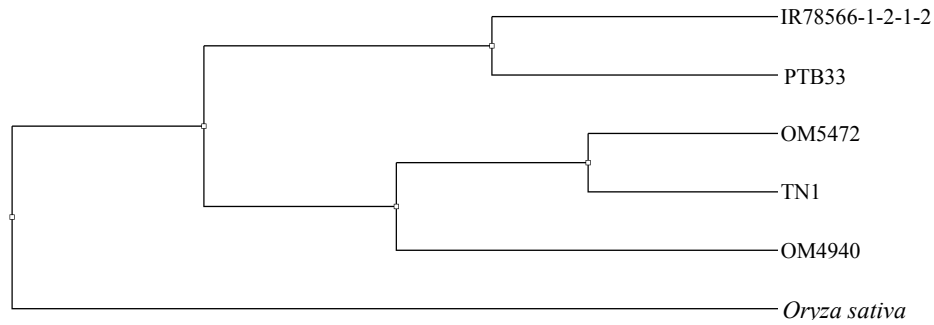
*M: Thang chuẩn 1Kb; (A). 1: IR54742, 2: IR31917-45-3-2, 3: IR65482-4-136-2, 4: IR 65482-7-216, 5: IR65482-13-539; (B). 1: IR54742, 2: IR31917-45-3-2, các mẫu 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 các cá thể thuộc quần thể F<sub>2</sub> của tổ hợp lai từ cha – mẹ là IR54742/IR31917-45-3-2 (Lang et al., 1999)*

Theo Lang *et al.* (1999), sau khi khuếch đại DNA của các giống lúa với cặp mồi RG457FL/RL thì cho kết quả một băng rõ nét trên gel có kích thước khoảng 750–800bp. Sản phẩm PCR (DNA STS) được cắt bằng enzyme *HinfI* thì sản phẩm của phản ứng cắt trên hình gel như sau: kiểu gen đồng hợp kháng có ba băng với kích thước khoảng 200 bp, 250 bp, 350 bp; kiểu gen đồng hợp nhiễm có hai băng với kích thước khoảng 200 bp và 600 bp; kiểu gen dị hợp mang gen kháng bao gồm các băng thành phần của kiểu gen đồng hợp kháng và kiểu gen đồng hợp nhiễm (Hình 4).

Theo kết quả của Lang *et al.* (1999) thì 169 giống lúa nghiên cứu trong đề tài thanh lọc bằng dấu phân tử STS RG457, có 14 giống mang kiểu gen đồng hợp kháng rầy nâu: giống 37, 55, 64, 84, 101, 106, 107, 118, 121, 122, 129, 138, 139 và 148; 15 giống có kiểu gen dị hợp tử mang gen kháng: giống 15, 27, 49, 61, 66, 67, 68, 72, 79, 93, 103, 115, 116, 127 và 128 giống không có mang gen kháng rầy nâu.

### 3.3 Phân tích mối liên kết di truyền của gen Bph10

Giải trình tự 3 giống đại diện các nhóm có kiểu gen đồng hợp nhiễm: 31 (A2-OM5472); giống có kiểu gen dị hợp kháng: 27 (OM4940) và giống có kiểu gen đồng hợp kháng: 107 (IR 78566-1-2-1-2) và 2 giống đối chứng là giống nhiễm chuẩn: 168 (TN1) và giống kháng chuẩn: 169 (Ptb33). Các chuỗi trình tự được phân tích và so sánh với ngân hàng dữ liệu trên trang <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, mối quan hệ giữa chúng được thể hiện như hình 5.



**Hình 5: Mối quan hệ di truyền giữa các giống lúa được giải trình tự với giống đối chứng và giống *Oryza sativa***

Theo hình 5 ta nhận thấy, các giống lúa đều có nguồn gốc từ giống *Oryza sativa*. Đặc biệt giống IR 78566-1-2-1-2 và giống kháng chuẩn PTB33 (hoặc giống A2-OM5472 và giống nhiễm chuẩn TN1) đều có kiểu gen là đồng hợp tử nhưng giữa chúng chỉ có mối quan hệ họ hàng gần gũi – có nghĩa là chúng vẫn có sự khác biệt.

Kết quả phân tích với phần mềm DNASP version 5.10.01 cho thấy: Các dạng biến dị di truyền (đột biến) của các chuỗi trình tự gồm thay thế nucleotide cùng nhóm, thay thế nucleotide khác nhóm và indel nucleotide (thêm, mất nucleotide) tại những vị trí nhất định trên mỗi chuỗi. Trong đó, phổ biến nhất là dạng thay thế nucleotide (bảng 2). Do đó, giữa các giống mang kiểu gen đồng hợp kháng hoặc đồng hợp nhiễm hoặc kiểu gen dị hợp đều có sự khác biệt về chuỗi mã của gen *Bph10* ở một số vị trí nào đó. Đây cũng là cơ sở để giải thích vì sao mặc dù các giống có kiểu gen giống nhau nhưng phản ứng kháng với rầy nâu là khác nhau.

**Bảng 2: Các dạng biến dị di truyền của gen kháng rầy nâu *Bph10***

Vị trí SNP	Dạng đột biến		Chuỗi mã của giống				
			107	31	27	168	169
213		A/C	A	C	A	A	A
219	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/A	T	A	T	T	T
220		T/A	T	A	T	T	T
222	Thay thế nucleotide cùng nhóm	G/A	G	A	G	G	G
223	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/A	T	A	T	T	T
228	Indel	A	-	A	A	A	-
234	Thay thế nucleotide khác nhóm	G/C	C	G	G	G	C
265, 281	Thay thế nucleotide cùng nhóm	G/A	A	G	G	G	A
283, 284	Thay thế nucleotide khác nhóm	G/C	C	G	G	G	C
285		G/A	A	G	G	G	A
286	Thay thế nucleotide cùng nhóm	T/C	C	T	T	T	C
287		C/A	A	C	C	C	A
291	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/A	A	T	T	T	A
295,299		C/A	A	C	C	C	A
300		A/G	G	A	A	A	G
303	Thay thế nucleotide cùng nhóm	C/T	T	C	C	C	T
304		A/T	T	A	A	A	T
305		A/C	C	A	A	A	C
306	Thay thế nucleotide khác nhóm	G/C	C	G	G	G	C
309		A/C	C	A	A	A	C



311		C/A	A	C	C	C	A
316	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/G	G	T	T	T	G
317	Thay thế nucleotide cùng nhóm	T/C	C	T	T	T	C
319		C/A	A	C	C	C	A
320	Thay thế nucleotide khác nhóm	C/G	G	C	C	C	G
322, 324		G/T	T	G	G	G	T
326		A/G	G	A	A	A	G
327	Thay thế nucleotide cùng nhóm	T/C	C	T	T	T	C
328	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/A	A	T	T	T	A
329	Thay thế nucleotide cùng nhóm	C/T	T	C	C	C	T
331		T/C	C	T	T	T	C
332	Thay thế nucleotide cùng nhóm	G/A	A	G	G	G	A
334, 335	Thay thế nucleotide khác nhóm	A/T	T	A	A	A	T
336, 337	Thay thế nucleotide cùng nhóm	A/G	G	A	A	A	G
339	Indel	T	-	T	T	T	-
342	Thay thế nucleotide khác nhóm	C/A	A	C	C	C	A
343	Thay thế nucleotide cùng nhóm	A/G	G	A	A	A	G
348, 349	Thay thế nucleotide khác nhóm	T/G	G	T	T	T	G
355	Thay thế nucleotide cùng nhóm	C/T	T	T	C	C	C
357		C/A	A	C	C	C	A
358		T/A	A	T	T	T	A
360	Thay thế nucleotide khác nhóm	A/C	C	A	C	A	A
361		G/T	T	G	G	G	T
363	Thay thế nucleotide cùng nhóm	A/G	G	A	A	A	G
364	Thay thế nucleotide khác nhóm	A/T	T	A	A	A	T
401	Thay thế nucleotide cùng nhóm	G/A	A	G	G	G	A
410, 411, 415, 416		A	-	A	A	A	-
417, 418, 419	Indel	T	-	T	T	T	-
420, 421		A	-	A	A	A	-
432		C/T	T	C	C	C	T
452, 461	Thay thế nucleotide cùng nhóm	T/C	C	T	T	T	C
496, 497		C/T	C	T	C	C	C
498	Thay thế nucleotide khác nhóm	A/T	A	T	A	A	A
500		T	-	T	-	-	-
540, 541, 542	Indel	T	-	T	T	T	-
548	Thay thế nucleotide cùng nhóm	T/C	T	T	T	T	C
558		A	-	A	A	A	-
559		G	-	G	G	A	-
560		A	-	A	A	A	-
561	Indel	C	-	C	C	C	-
562, 563, 564, 565		A	-	A	A	A	-

#### 4 KẾT LUẬN

- Ứng dụng dấu phân tử STS RG457 và enzyme cắt giới hạn *HinfI* đã thanh lọc được 29/169 giống lúa mang gen *Bph10* có khả năng kháng loại rầy nâu có

kiểu hình sinh học 2 và 3. Trong đó 14 giống mang gen đồng hợp kháng với rầy nâu.

Các giống kháng mang gen đồng hợp			Các giống kháng mang gen dị hợp		
Số TT	Tên giống	Kí hiệu	Số TT	Tên giống	Kí hiệu
1	A1-OM5976	37	1	A1-OM6377	15
2	OM5972	55	2	A0-OM4940	27
3	IR 31917-45-3-2	64	3	OM5087	61
4	Hầu Trâu Siêu TQ (11)	84	4	OM4940	66
5	IR 72164-186-5	101	5	OM6073	67
6	IR 77186-148-3-4-3	106	6	IR 64	68
7	IR 78566-1-2-1-2	107	7	OM4993	72
8	IR 79637-2-3-2-1	118	8	Thom 90 ngày (7)	79
9	IR 80376-19-3-3-2	121	9	A0-OM4244	83
10	IR 80376-4-1-2-2	122	10	IR 75286-107-3-1-1	103
11	IR 80860-53-1-3	129	11	IR 79525-20-2-2-2	115
12	IR 81348-122-2-2-3	138	12	IR 79534-122-2-5-5-1	116
13	IR 81873-31-2-2-2	139	13	IR 80692-64-3-2-1	127
14	IR 64683-87-2-2-3-3 (PSB RC82)	148	14	IR 80694-150-3-2-2	128

- Dấu SNPs tỏ ra hữu hiệu trong việc dự đoán tính đa hình giữa các giống lúa mang kiểu gen dị hợp hoặc đồng hợp kháng rầy nâu, thanh lọc được có tính đa hình cao.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lang N.T., D. Barr, G.S. Khush, Ning Huang, and B.C. Buu. 1999. Development of STS Markers to Identify Brown Planthopper resistance in a Segregating Population. *Omonrice 7*: 27-38.
- Rogers S.O. and A.J. Bendich. 1988. Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Molecular Biology Manual A6*: 1 - 10.
- Lương Minh Châu, Lương Thị Phương và Bùi Chí Bửu. 2006. Đánh giá tính kháng của các tổ hợp giống lúa năng suất cao, phẩm chất tốt đối với quần thể rầy nâu tại ĐBSCL từ 2003 – 2005. *Tạp chí NN và PTNN 82*: 16-18.
- <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>