

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG CÁC CHỦNG BẠC LÁ VIỆT NAM CỦA TẬP ĐOÀN CHỈ THỊ CHỨA GEN CHỐNG BỆNH KHÁC NHAU Resistance to the races of bacterial leaf blight of Vietnam of the differential

Phan Hữu Tôn¹ và Bùi Trọng Thủy²

SUMMARY

Artificial inoculation of the seven bacterial leaf blight (BLB) isolates from Northern Vietnam onto the 11 isogenic lines at the flowering stage was carried out. The results showed that xa-5, xa-7, xa-13 and xa-21 containing isogenic lines were strongly resistant to almost isolates. These effective genes are recommended to use in the BLB resistant breeding program.

Keywords: Bacterial leaf blight, isolates, resistance.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, ở Việt Nam bệnh bạc lá (do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra) đã phá hoại mạnh trên nhiều giống lúa khác nhau, đặc biệt là những giống lúa lai nhập từ Trung quốc trong cả vụ mùa và vụ xuân. Vì vậy biện pháp phòng trừ bệnh bạc lá bằng việc chọn tạo ra các giống lúa chống bệnh đang trở nên cấp thiết. Cho đến nay trên thế giới người ta đã xác định được 15 gen chống bệnh bạc lá trong các tập đoàn giống lúa địa phương, trong đó có 12 gen trội: xa-1, xa-2, xa-3, xa-4, xa-6, xa-7, xa-9, xa-10, xa-11, xa-12, xa-14 và xa-21 và 3 gen lặn là: xa-5, xa-13 và xa-8. Tác giả Phan Hữu Tôn (2000) khi dùng kỹ nghệ PCR để điều tra sự có mặt của 3 gen chống bệnh bạc lá: xa-5, xa-13 và xa-21 trong 145 giống lúa địa phương của Việt Nam đã thu được 12 giống chứa alen 1 của gen xa-5 chống bệnh, nhưng không có giống nào trong đó chứa gen xa-13 và xa-21 (Gen xa-21 là gen chống bệnh được chuyển vị nhiễm sắc ổn định từ loài lúa dại *O.*

longisminata sang loài lúa trồng *O. Sativa*). Theo Ikeda *et al.* (1990) và Khush (1991) mỗi vùng sinh thái trồng lúa thường tồn tại một số chủng bệnh nhất định. Ở Philipin đã phát hiện được 6 chủng, ở Nhật Bản 12 chủng và ở Ấn Độ 9 chủng. Mỗi gen của cây lúa lại có phản ứng khác nhau đối với mỗi chủng và có thể chống được chủng này nhưng lại bị nhiễm bởi chủng khác, hoặc một gen có thể chống được nhiều chủng khác nhau. Để chọn tạo thành công một giống chống bệnh bền vững và lâu dài trên đồng ruộng thì giống đó phải chứa được nhiều gen chống được nhiều chủng bệnh khác nhau đang tồn tại ở khu vực phổ biến giống tương lai. Trong bài viết này chúng tôi đề cập đến kết quả đánh giá khả năng chống bệnh của từng gen trong tập đoàn gen do trường Kyushu cung cấp đối với 7 chủng bệnh phân lập ở Miền bắc Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu gồm 11 dòng đẳng gen do GS.TS. A. Yoshimura, Đại học Kyushu Nhật bản cung cấp có ký hiệu: IRBB1, IRBB2, IRBB3,

¹ Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Nông học

² Bộ môn Bệnh cây- Nông dược, Khoa Nông học

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG CÁC CHỦNG BỆNH BẠC LÁ...

IRBB4, IRBB5, IRBB7, IRBB10, IRBB11, IRBB14 và IRBB21 lần lượt chứa các gen chống: *Xa-1, Xa-2, Xa-3, Xa-4, xa-5, Xa-7, Xa-10, Xa-11, Xa-14* và *Xa-21*. Giống IR24 là giống cho nền gen nhân dùng làm đối chứng và 3 dòng lúa có triển vọng mới được chọn tạo là: TN13-4, TN13-5 và TN21-1.

Mẫu lá bệnh bạc lá được thu thập từ các vùng và giống lúa khác nhau ở miền Bắc Việt Nam, trong năm 2001. Chọn vết bệnh điển hình, cắt lá cho vào túi nylon có chứa silica-Gel để giữ khô rồi bỏ ngay vào tủ đá lạnh. Cắt lấy mẫu lá, đoạn giữa vết bệnh và mô lá khỏe, dài khoảng 1 cm, khử trùng, phân lập đơn bào tử theo phương pháp của N. Furuya và cộng sự (2002). Lây nhiễm bệnh nhân tạo bằng phương pháp cắt kéo gồm các bước: (1) Nuôi cấy vi khuẩn trong ống nghiệm mặt nghiêng chứa môi trường PSA theo Wakimono (1955) trong 48 giờ, sau đó dùng nước cất vô trùng pha nồng độ dung dịch lây nhiễm chứa 100 triệu tế bào vi khuẩn/ml. (2) Đổ vào ống nghiệm khoảng 10 ml dung dịch trên và nhúng một chiếc kéo vào ngập trong dung dịch, kéo dùng riêng cho mỗi chủng. (3) Ruộng lây nhiễm trong nhà lưới, cấy theo hàng rộng 30 X 40 cm, bón đạm 150kg N/ha, cấy 1 đánh, lây nhiễm khi lúa đang có đòng già là thời kỳ lúa bắt đầu mẫn cảm với bệnh bạc lá nhất, mỗi cây lây nhiễm 1 chủng (vụ xuân 2002).

Dùng kéo cắt đầu các lá xanh dài 2 - 5 cm, sau 21 ngày lây nhiễm, đo chiều dài vết bệnh, đo từ mép cắt đầu lá xuống phía dưới và chia ra các mức trên cơ sở chiều dài vết bệnh nhiễm: Chiều dài vết bệnh < 4 cm - Kháng bệnh cao (HR);

Chiều dài vết bệnh từ 4 - 8 cm - kháng vừa (R)

Chiều dài vết bệnh từ 8 - 12 cm - nhiễm (S)

Chiều dài vết bệnh > 13 cm - nhiễm nặng (HS)

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Kết quả thu thập mẫu bệnh và phân lập các chủng bệnh bạc lá lúa được trình bày ở Bảng 1 cho thấy: trong số 7 chủng phân lập được từ mẫu bệnh trên các giống trồng ở các tỉnh Hà Nội, Hải Dương và Nghệ An thì có 4 chủng gây hại trên giống lúa lai Tạp giao 1 và Nhị ưu 838. Qua điều tra quan sát, thu mẫu bệnh ở 3 tỉnh trên đều thấy hầu hết các diện tích lúa lai bị nhiễm và bị nhiễm rất nặng, nhiều nơi bệnh cháy khô và nhiễm nặng trong cả vụ xuân và vụ mùa. Điều này có thể do các giống lúa lai nhập từ Trung quốc không chứa gen chống bệnh hoặc nếu có thì chứa những gen không chống được các chủng bệnh của Việt nam, tuy nhiên để khẳng định điều này cần có những nghiên cứu chi tiết hơn.

Kết quả lây nhiễm và đánh giá được trình bày ở các Bảng 2 và Bảng 3.

Bảng 1. Danh sách các chủng bệnh phân lập, giống và địa điểm thu thập

Tên chủng phân lập	Tên giống	Địa điểm thu thập
HAU02001	Tạp giao 1	Gia Lâm, Hà Nội
HAU02004	Tạp giao 1	Cẩm Giàng Hải Dương
HAU02008	Nhị Ưu 838	Quỳnh Giao Quỳnh Lưu, Nghệ An
HAU02009	Tạp giao 1	Quỳnh Thiện, Quỳnh Lưu Nghệ An
HAU02011	Nhị ưu 838	Diễn Hồng, Diễn Châu, Nghệ An
HAU02015	Xi-21	Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội
HAU02016	T1-S	Đa Tốn, Gia Lâm, Hà Nội

Bảng 2. Kết quả lây nhiễm các chủng bệnh bạc lá trên các giống triển vọng và các tester chứa gen chống bệnh khác nhau, vụ mùa 2002

Tên tester	Chứa gen	Chiều dài vết bệnh sau 21 ngày lây nhiễm (cm)						
		HAU 02001	HAU 02004	HAU 02008	HAU 02009	HAU 02011	HAU 02015	HAU 02016
IR24	Check	15,8	26,5	24,0	26,0	19,5	24,8	12,0
IRBB1	<i>Xa-1</i>	17,5	23,5	20,5	19,0	21,0	22,0	5,5
IRBB2	<i>Xa-2</i>	22,5	27,7	28,8	28,5	26,0	23,7	12,5
IRBB3	<i>Xa-3</i>	20,0	21,5	19,5	23,4	27,3	24,5	13,0
IRBB4	<i>Xa-4</i>	1,7	2,7	18,0	2,8	13,7	2,0	4,0
IRBB5	<i>xa-5</i>	1,5	1,5	1,3	1,3	1,5	1,7	0,7
IRBB7	<i>Xa-7</i>	1,7	0,8	0,8	1,0	6,5	1,3	3,5
IRBB10	<i>Xa-10</i>	29,6	29,5	25,5	33,5	26,5	25,0	19,0
IRBB11	<i>Xa-11</i>	25,7	24,0	24,4	27,0	24,0	23,0	11,5
IRBB14	<i>Xa-14</i>	18,4	19,5	23,4	21,5	19,5	23,0	15,0
IRBB21	<i>Xa-21</i>	8,0	2,3	2,0	3,8	2,7	1,8	1,3
TN13-4	?	8,1	3,3	14,4	3,5	15,6	2,4	4,0
TN13-5	?	8,5	4,3	18,0	3,0	20,0	1,5	2,3
TN21-1	?	8,5	3,2	16,5	2,0	22,0	2,5	2,1
C70	?	10,8	5,2	15,4	17,2	14,3	4,7	5,8

Ghi chú: ? gen chưa được xác định

Trong số các dòng tester đem lây nhiễm chúng tôi thấy có 4 dòng tester là IRBB5 (chứa gen lặn *xa-5*), IRBB7 (chứa gen *Xa-7*), IRBB4 (chứa gen *Xa-4*) và IRBB21 (chứa gen *Xa-21*), có biểu hiện chống rất mạnh được hầu hết các chủng bệnh bạc lá phân lập của Việt Nam. Đây là những gen quý nên sử dụng trong chương trình chọn tạo giống lúa chống bệnh bạc lá sau này. Giống TN13-5 tỏ ra chống khoẻ với 4 chủng HAU02004, HAU02009, HAU02015 và HAU 02016, nhưng nhiễm nhẹ với chủng HAU02001 và bị nhiễm bởi chủng HAU02008 và HAU02011. Trên cơ sở chiều dài vết bệnh và cấp phân chia theo GS. TS. Taura, Đại học Kyushu Nhật bản, chúng tôi

đánh giá khả năng chống lại các chủng bệnh của các test theo các cấp như ở Bảng 3.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy gen *xa-5*, một gen lặn chống bệnh đã tìm thấy bằng phương pháp PCR (Phan Hữu Tôn, 2000) ở nhiều giống địa phương của Việt Nam, tỏ ra chống rất khoẻ đối với cả 7 chủng phân lập. Điều này phân nào có thể giải thích tại sao từ khi chúng ta thay các giống lúa mới bắt đầu từ IR8 và đặc biệt nhập các giống lúa lai Trung quốc vào trồng thì bệnh bạc lá phá hại nghiêm trọng vì các giống mới này không chứa gen chống bệnh *xa-5*. Theo nghiên cứu của Ikeda *et al.* 1990 và Khush *et al.* 1991 cho thấy gen *xa-5* chống được 4 trong số 6 chủng của

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG KHÁNG CÁC CHỦNG BỆNH BẠC LÁ...

Bảng 3. Kết quả đánh giá khả năng chống các chủng bệnh bạc lá khác nhau

Tên tester	Chứa gen	HAU 02001	HAU 02004	HAU 02008	HAU 02009	HAU 02011	HAU 02015	HAU 02016
IR24	Check	S	S	S	HS	S	HS	R
IRBB1	<i>Xa-1</i>	S	S	S	S	S	HS	R
IRBB2	<i>Xa-2</i>	S	S	S	HS	HS	HS	R
IRBB3	<i>Xa-3</i>	S	S	S	HS	HS	HS	S
IRBB4	<i>Xa-4</i>	HR	HR	S	HR	S	R	R
IRBB5	<i>xa-5</i>	HR	HR	HR	HR	HR	HR	HR
IRBB7	<i>Xa-7</i>	HR	HR	HR	HR	R	HR	HR
IRBB10	<i>Xa-10</i>	S	S	HS	HS	HS	HS	S
IRBB11	<i>Xa-11</i>	S	S	HS	HS	HS	HS	R
IRBB14	<i>Xa-14</i>	S	S	HS	HS	HS	HS	S
IRBB21	<i>Xa-21</i>	R	HR	HR	HR	HR	HR	HR
TN21-1	<i>Gen ?</i>	R	HR	S	HR	S	HR	HR
TN13-4	<i>Gen ?</i>	R	HR	S	HR	S	HR	HR
TN13-5	<i>Gen ?</i>	R	HR	S	HR	S	HR	HR
C70	<i>Gen ?</i>	R	R	S	HS	S	R	R

HR : Kháng cao; *R*: Kháng; *S*: Nhiễm; *HS*: Nhiễm nặng
Gen ?: gen chưa được xác định

Philippin, mà điều kiện thời tiết khí hậu của Philippin và Việt Nam gần giống nhau, vậy có khả năng các chủng của Việt Nam được dùng để lây nhiễm trong thí nghiệm này có trùng với các chủng của Philippin hay không. Nếu vấn đề này được làm sáng tỏ sẽ rất có ý nghĩa trong công tác kiểm dịch thực vật và nhập nội nguồn gen từ IRRI vào Việt nam. Các gen trội (*Xa-4*, *Xa-7* và *Xa-21*) chống chủng bệnh Việt nam được phát hiện trong nghiên cứu này rất có ý nghĩa trong chương trình chọn tạo giống cả lúa lai và lúa thuần của Việt nam. Tuy nhiên rất tiếc là gen *xa-5*, đây là một gen lặn nên khó được sử dụng trong công tác chọn giống ưu thế lai lúa, nhưng lại thuận lợi cho công tác chọn giống lúa thuần vì chỉ cần chọn

cây chống bệnh một lần từ quần thể phân ly F2.

Lời cảm ơn

Tác giả xin chân thành cảm ơn dự án HAU-JICA đã tài trợ vật tư, hoá chất để thực hiện nghiên cứu này. Cảm ơn các chuyên gia Nhật bản GS. TS. A. Yoshimura (Đại học Kyushu), đã cung cấp tập đoàn các dòng chỉ thị tester, GS. TS. S. Taura và PGS. TS. Furuya đã chuyển giao và giúp đỡ các kỹ thuật nghiên cứu chống bệnh bạc lá lúa. Cảm ơn kỹ sư Tống Văn Hải cùng các em sinh viên lớp chọn giống và BVTV K43 đã giúp đỡ hoàn thành nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

- Khush et al., 1990, RGN 7: 121 - 122.
- Ikeda R. Khush GS. Tabien RE., 1990. *Jpn. J. Breed.* 40 (Suppl. 1): 280 - 281.
- Naruto Furuya, Satoru Taura, Bui Trong Thuy, Masaru Matsumoto, Seint San Aye and Phan Huu Ton, 2002. Isolation and Preservation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from Vietnam in 2001 - 2002. *Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture Kyushu University*, Vol 25, 2002, phương pháp. 43 - 50.
- Phan Huu Ton, 2000. Application of PCR-based markers to identify rice bacterial blight resistance genes, xa-5, xa-13 and Xa-21 in Vietnamese germplasm collection. No 1, 9/2000, *Journal of Agricultural Sciences and Technology*, Hanoi Agricultural University.
- Wakimoto, S., 1955. Studies on multiplication of OP1 phage (*Xanthomonas oryzae* bacteriophage). One-step growth experiment under various conditions. *Sci. Bull. Fac. Kyushu Univ.* 15: 151 - 160 (in Japanese with English summary).