

**KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH BẠC LÁ CỦA CÁC DÒNG LÚA CHỈ THỊ  
(TESTER) CHỨA ĐA GEN KHÁNG VỚI MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN  
*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* GÂY BỆNH BẠC LÁ LÚA PHỔ BIẾN Ở  
MIỀN BẮC VIỆT NAM**

**Resistance to *Bacterial Leaf Blight* of tester rice lines containing multiple genes  
resistant to several pathogenic strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* bacteria  
commonly found in Northern Vietnam**

Bùi Trọng Thủy<sup>1</sup> và Phan Hữu Tôn<sup>2</sup>

A total of 16 pyramiding rice lines containing *Bacterial Leaf Blight* resistant genes were artificially inoculated with 7 prevailing pathogen types collected from several rice growing regions in Northern Vietnam in the Autumn rice season of 2003. It was found that the pyramiding lines containing xa5 gene were most strongly resistant to the 7 pathogen types. The next strongly resistant gene was Xa7, a dominant gene in any gene combination lines, such as: IRBB7/10, IRBB3/7 and IRBB 1/7. Two genes which were very resistant to Bacterial Leaf Blight were Xa3 and Xa7 in the Rice Seed Program in Northern Vietnam. Three other genes, viz. Xa1, Xa10 and Xa11, were also found resistant to all the 7 pathogen types used in the present study.

**Keywords:** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; Isolate; Pathogen; Tester; Pyramiding line

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *ryzae* gây ra là một trong những bệnh hại nguy hiểm nhất không những đối với Việt Nam mà còn cả với nhiều nước châu Á (Ezuka & Kaku, 2000). Những năm gần đây ở các tỉnh phía Bắc, bệnh bạc lá lúa đã thực sự trở thành đối tượng gây hại chủ yếu, phổ biến trên diện rộng với mức độ gây hại rất nặng, nhất là trên các giống lúa lai có nguồn gốc từ Trung Quốc. Biện pháp phòng chống có hiệu quả nhất là sử dụng giống lúa chống chịu bệnh bạc lá. Đến nay, Viện Nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI) và các nhà khoa học đã xác định được hơn 20 gen đơn và nhiều tổ hợp gen khác nhau có khả năng kháng 6 race ở Philippin, 12 pathotype ở Nhật Bản, 9 type ở Ấn Độ của loài vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, gây bệnh bạc lá lúa (Furuya & ctv, 2002). Theo Noda & ctv, 1999 ở Việt Nam đã xác định được 6 race phân bố ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, miền Nam Trung Bộ và các tỉnh phía Bắc. Kết quả nghiên cứu bước đầu của Trường Đại học Nông nghiệp I trong 3 năm 2001-2003 (Furuya & ctv, 2002) cho thấy: chỉ riêng ở các tỉnh phía Bắc đã có ít nhất 10 chủng (Pathotype) *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Điều đó chứng tỏ rằng loài vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa ở miền Bắc Việt Nam rất đa dạng, có nhiều chủng gây

---

<sup>1</sup> Bộ môn Bệnh cây, Khoa Nông học

<sup>2</sup> Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Nông học

bệnh có độc tính khác nhau. Vì vậy, việc tiến hành nghiên cứu khả năng kháng bệnh bạc lá lúa của tập đoàn các giống lúa có chứa 2, 3 hoặc 4 gen trong các tổ hợp lai nhập nội từ IRRI, từ Nhật bản với các chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa phổ biến ở miền Bắc Việt Nam là rất có ý nghĩa cho các chương trình chọn tạo giống lúa chống chịu bệnh bạc lá.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Các chủng (Pathotype) *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

Nguồn gốc các chủng vi khuẩn được trình bày ở bảng 1; các mẫu bệnh bạc lá được thu thập trong 3 năm (2001-2003) ở 9 tỉnh, được phân lập, nuôi cấy trên môi trường Wakimoto, theo phương pháp đơn khuẩn lạc ở 28 °C, bảo quản trong môi trường sữa-mì chính ở -30°C (Furuya & ctv.). Sử dụng kỹ thuật chuỗi phản ứng liên kết men (PCR) để xác định loài vi khuẩn *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* bằng 2 gen môi (primer): XOR-R2 và XOR-F đặc hiệu (Adachi & ctv.2000)

Bảng 1. Nguồn gốc các chủng *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* phổ biến được sử dụng trong nghiên cứu

Ký hiệu HAU của các Isolate	Chủng Y và tỷ lệ (%)	Thu thập trên giống lúa	Vùng phân bố chủ yếu
HAU 01043	Y1 (1,2%)	TN.13-4	Hà Nội và đồng bằng sông Hồng
HAU 02036-1	Y5 (27,3%)	Nếp tan	Sơn La, Nghệ An, Yên Bái
HAU 020 21-2	Y6 (36,9%)	Nếp thơm	Hải Dương, Yên Bái, Nghệ An, Sơn La
HAU 02009-2	Y7 (9,5%)	Tạp giao 1	Hải Dương, Nghệ An
HAU 02035-1	Y8 (13,1%)	Tạp giao 5	Sơn La, Hòa Bình
HAU 02024-6	Y9 (4,8%)	Khang dân	Hưng Yên, Hoà Bình, Hà Nội, Tuyên Quang
HAU 02034-6	Y10 (1,2%)	Nhị ưu - 838	Yên Bái, Nghĩa Lộ

Chú thích: HAU: Trường Đại học Nông nghiệp I, Y: Yoshimura, A.

Chủng Y5 được phân lập trên giống lúa nếp tan ở Sơn La, chiếm 27,3% và Y6 phân lập trên giống nếp thơm ở Hải Dương chiếm 36,9%. Đây là 2 chủng rất quan trọng. Chúng phổ biến gây hại ở vùng núi Tây bắc, khu IV cũ và đồng bằng sông Hồng. Chủng Y8 gây hại trên giống lúa Tạp giao-5; phân bố chủ yếu ở các tỉnh miền núi Tây Bắc. Chủng Y10 phân lập trên giống Nhị ưu-838 ở vùng núi Yên Bái, Nghĩa Lộ. Chủng Y1 phổ biến chủ yếu ở vùng đồng bằng sông Hồng. Chủng Y9 được phân lập trên giống lúa thuần Khang Dân, chiếm 4,8% gây hại ở cả đồng bằng và miền núi miền Bắc Việt Nam.

### 2.2. Môi trường nuôi cấy vi khuẩn *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

Thành phần môi trường khoai tây bán tổng hợp Wakimoto (Schaad & ctv. 2000) : Khoai tây: 300gam; đường Sacarose: 15gam, Peptone: 5gam; Thạch Agar: 17 gam; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O: 2 gam; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O: 0,5 gam; nước cất: 1000ml; pH: 6,8 – 7,0.

Môi trường Wakimoto được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong ống nghiệm, thời gian 20 phút, tạo mặt thạch nghiêng.

Thành phần môi trường Skim-Milk Glutamate Natri (Furuya et al, 2002): Sữa tách bơ: 1,5 gam; mì chính: 0,25 gam; nước cất: 100 ml. Hấp khử trùng ở 121°C trong các ống nghiệm nhỏ, trong thời gian 20 phút.

### 2.3. Các dòng lúa đa gen (*Pyramiding line*)

Đặc điểm, nguồn gốc 16 dòng lúa đa gen của IRRI-Nhật Bản được sử dụng làm cây chỉ thị (Tester) trong thí nghiệm này được trình bày ở bảng 2: 15 dòng lúa chứa tổ hợp 2 gen đều là dòng số 93 KUX (KU: Kyushu; X: *Xanthomonas*) đời F3 và là tổ hợp lần lượt của các gen trội Xa1, Xa3, Xa4, Xa7, Xa10, Xa11 và gen lặn xa5 (Yoshimura & ctv. 1985).

Bảng 2. Nguồn gốc của các dòng lúa đa gen được dùng trong nghiên cứu

STT	Dòng lúa đa gen	Nguồn gốc	Gen kháng
1	IR-24 (Đối chứng)	93KUXF3	Không
2	IRBB 1/5	93KUXF3	7-1-1 Xa1/xa5
3	IRBB 1/7	93KUXF3	8-1-1 Xa1/Xa7
4	IRBB 1/10	93KUXF3	9-2-2 Xa1/Xa10
5	IRBB 1/11	93KUXF3	24-6-4 Xa1/11
6	IRBB 3/7	93KUXF3	21-6-3 Xa3/Xa7
7	IRBB 3/10	93KUXF3	22-1-8 Xa3/Xa10
8	IRBB 4/5	93KUXF3	11-3-1 Xa4/xa5
9	IRBB 4/7	93KUXF3	2-2-6 Xa4/Xa7
10	IRBB 4/10	93KUXF3	12-1-1 Xa4/Xa10
11	IRBB 4/11	93KUXF3	23-3-2 Xa4/Xa11
12	IRBB 5/7	93KUXF3	3-4-3 xa5/Xa7
13	IRBB 5/10	93KUXF3	1-1-1 xa5/Xa10
14	IRBB 5/11	93KUXF3	26-6-5 xa5/Xa11
15	IRBB 7/10	93KUXF3	4-2-2 Xa7/Xa10
16	IRBB 10/11	93KUXF3	28-3-1 Xa10/Xa11
17	IRBB 4/5/13	NH36	36-1-44-4 Xa4/xa5/Xa13

Dòng IRBB4/5/13 chứa 3 gen kháng Xa4/xa5/Xa13. Đây là những gen kháng bệnh bạc lá lúa rất có ý nghĩa đã được IRRI xác định vị trí trên các nhiễm sắc thể của cây lúa nước: Xa1/nhiễm sắc thể (NST) số 4, xa5/NST số 5, Xa7/NST số 6, Xa13/NST số 8 và các gen Xa3, Xa4, Xa10/nhiễm sắc thể số 11 (Furuya & ctv.2003).

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

+ Thí nghiệm được tiến hành trong nhà lưới Bộ môn Di truyền - Giống, Trường Đại học Nông nghiệp I.

Ngày gieo mạ: 19/6/2003; ngày cấy: 11/7/2003; cấy 1 dảnh; 34 cây/1 dòng lúa; khoảng cách: 30 cm x 22 cm.

Phân bón: 120N+120P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>+60K<sub>2</sub>O/ha. Trước khi lây bệnh 10 ngày, sử dụng 1/4 lượng đạm bón đón đồng để cây lúa xanh đậm, chứa nhiều lượng đạm tự do thuận lợi cho việc xâm nhiễm của vi khuẩn.

+ Phương pháp lây bệnh (Furuya & ctv. 2003)

Lây bệnh theo phương pháp cắt 3-5 cm đầu lá lúa ở giai đoạn lúa có đòng-trỗ. Mỗi chủng vi khuẩn chỉ sử dụng 1 kéo vô trùng cắt ngọn của 10 - 13 lá lúa/ 1 dòng lúa. Nguồn vi khuẩn bảo quản trong môi trường sữa ở -30°C được cấy truyền sang môi trường Wakimoto ở 28°C sau 48-72 giờ tuổi, sau đó tạo ra dung dịch vi khuẩn để lây bệnh bằng nước cất vô trùng với mật độ: 10<sup>8</sup> CFU/ml. Ngày lây bệnh: 27 - 28/ 8/2003. Đo chiều dài vết bệnh (cm) của 10 lá lúa sau 18 ngày lây bệnh nhân tạo. Đánh giá mức độ kháng bệnh (R), kháng vừa (M) và nhiễm bệnh bạc lá (S) của các dòng lúa đa gen theo qui định của IRRI (Furuya & ctv).

<u>Chiều dài vết bệnh (cm)</u>	<u>Mức độ phản ứng</u>
< 8	Kháng bệnh: R
8-12	Kháng vừa: M
> 12	Nhiễm bệnh: S

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khảo sát mức độ kháng, nhiễm bệnh bạc lá của 16 dòng lúa đa gen của IRRI đối với 7 chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* trong vụ mùa 2003 được trình bày ở bảng 3 cho thấy:

Bảng 3. Phản ứng khác nhau của 16 dòng lúa đa gen với 7 chủng *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Tên dòng lúa	Gen kháng	Phản ứng đối với các chủng vi khuẩn						
		Y1	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10
IR24(Đ/C)	Không	S	S	S	S	S	S	S
IRBB 1/5	Xa1/xa5	R	R	R	R	R	R	R
IRBB 1/7	Xa1/Xa7	R	R	R	R	R	S	R
IRBB 1/10	Xa1/Xa10	S	S	S	S	S	S	S
IRBB 1/11	Xa1/11	S	S	S	S	S	S	S
IRBB 3/7	Xa3/Xa7	R	R	R	R	R	S	R
IRBB 3/10	Xa3/Xa10	R	M	S	S	S-M	S	S
IRBB 4/5	Xa4/xa5	R	R	R	R	R	R	R
IRBB 4/7	Xa4/Xa7	R	R	R	R	R	S	R
IRBB 4/10	Xa4/Xa10	S	R	S	R	R	S	S
IRBB 4/11	Xa4/Xa11	S	R	S	R	R	S	S
IRBB 5/7	xa5/Xa7	R	R	R	R	R	R	R
IRBB 5/10	xa5/Xa10	R	R	R	R	R	R	R
IRBB 5/11	xa5/Xa11	R	R	R	R	R	R	R
IRBB 7/10	Xa7/Xa10	R	R	R	R	R	S	R
IRBB 10/11	Xa10/Xa11	S	S	S	S	S	S	S
IRBB 4/5/13	Xa4/xa5/Xa13	R	R	R	R	R	R	R

- 6 Tổ hợp gen: IRBB 4/5/13; IRBB 5/11; IRBB 5/10; IRBB 4/5, IRBB 1/5 và IRBB5/7 đều kháng (R) đối với 7 chủng vi khuẩn lây nhiễm: Y1; Y5; Y6, Y7, Y8; Y9; Y10.

- 4 tổ hợp gen: IRBB 1/7; IRBB 3/7; IRBB 4/7; IRBB 7/10 có phản ứng kháng (R) với các chủng Y1; Y5; Y6; Y7; Y8; và chủng Y10, nhưng chúng bị nhiễm chủng Y9, chủng này phân bố rộng ở các tỉnh Hà Nội, Hưng Yên, Hoà Bình và Tuyên Quang trên giống lúa Khang Dân, có thể nói đây là chủng vi khuẩn có độc tính mạnh.

- Tổ hợp gen: IRBB 4/11 và IRBB 4/10 kháng được các chủng Y5; Y7; và Y8; tổ hợp lai IRBB3/10 kháng được chủng Y1, kháng vừa với chủng Y5 và có phản ứng không rõ ràng với chủng Y8 (M-S).

- Các tổ hợp gen IRBB1/10; IRBB 1/11; Xa10/11 cũng như dòng đối chứng IR24 đều có phản ứng nhiễm (S) với tất cả 7 chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa phổ biến ở miền Bắc Việt Nam.

#### 4. KẾT LUẬN

1. Tất cả các tổ hợp gen chứa gen xa5 đều có khả năng kháng mạnh đối với 7 chủng vi khuẩn *X. oryzae pv. oryzae* gây bệnh bạc lá lúa phổ biến ở các tỉnh miền bắc Việt Nam. Trong đó chủng Y9 là chủng có độc tính rất cao, có thể lây nhiễm cho nhiều dòng lúa chứa các gen kháng bệnh bạc lá khác nhau. Gen xa5 là gen lặn, chỉ thể hiện phản ứng kháng ở trạng thái đồng hợp tử, do vậy rất có lợi cho công tác chọn các giống lúa thuần chống bệnh bạc lá nhưng ít có giá trị đối với chương trình tạo giống lúa lai.

2. Các tổ hợp gen có chứa gen Xa7, như: Xa1/Xa7; Xa3/Xa7; Xa4/Xa7 và xa5/Xa7 có khả năng kháng các chủng Y1, Y5, Y6, Y7, Y8 và Y10. Đây là những chủng vi khuẩn có phạm vi phân bố rộng ở vùng đồng bằng sông Hồng, khu IV cũ, các tỉnh miền núi phía Bắc, nhưng có phản ứng nhiễm với chủng Y9, chủng này phân bố ở Hà Nội, Hưng Yên, Hoà Bình và Tuyên Quang.

3. Các tổ hợp gen Xa1/Xa10; Xa1/Xa11 và Xa10/Xa11 có phản ứng nhiễm (S) với tất cả 7 chủng vi khuẩn *X. oryzae pv. oryzae* phổ biến ở miền bắc Việt Nam, tương tự như dòng lúa đối chứng IR24 không chứa gen kháng trong nghiên cứu này. Đây là vấn đề cần chú ý khi sử dụng 3 tổ hợp gen này trong việc tạo giống lúa kháng bệnh bạc lá ở miền Bắc Việt Nam.

4. Trong công tác lai tạo, chuyển gen để tạo ra các giống lúa chống bệnh bạc lá thì việc tổ hợp giữa một gen kháng, như gen Xa7, Xa3, Xa21, xa5 với các gen nhiễm các chủng vi khuẩn phổ biến ở miền Bắc Việt Nam không làm thay đổi khả năng kháng (R) của các gen đó.

#### Tài liệu tham khảo chính

- Naruto Furuya, Bui Trong Thuy, Matsaru Matsumoto, Seint San Aye & Phan Huu Ton, (2002). "Isolation and preservation of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* from VietNam in 2001-2002". *Kyushu Uni. Institute of Tropical Agricultural, Bull.* Vol.25, p.43-50, Japan.
- Adachi,N.& Oku,T. (2000). "PCR-Mediated detection of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* by amplification of 16S-23r DNA spacer region sequence". *Journal of Gen. Plant Pathology*, No.66. p.303-309.
- Ezuka,A. & Kaku,H. (2000). " A historical review of Bacterial Blight of Rice". *Bull. Natl. Isnt. Agribiol. Resour.* No.15:p. 1-207.

- Furuya, N.; Taura, S. ; Bui Trong Thuy; Phan Huu Ton; Nguyen Van Hoan & Yoshimura, A. (2003). “ Experimental technique for Bacterial Blight of Rice”. *HAU-JICA ERCB Project*, Hanoi, 2003, p.42.
- N.W. Schaad; J.B. Jones & W. Chun, (2000). *Plant Pathogenic Bacteria*. ASP Press, USA, 2000, Third Edition, p. 154-185.
- Noda,T.; Pham Van Du; Lai Van E; Hoang Dinh Dinh & Kaku, H. (1999). “Pathogenicity of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* strains in Vietnam”, *Phytopathology, Soc. Japan*, 1999, No. 65. p.
- A. Yoshimura; T. Omura; T.W. Mew & G.S. Khush, (1985). “Genetic behavior of resistance to Bacterial Blight in differential rice cultivars in the Philippines”.*Bull. Inst. Trop. Agri. Kyushu. Uni.* No.8. p.1-54. Japan. p.