

Chọn tạo giống lúa chống chịu nóng bằng phương pháp hồi giao cải tiến nhờ chỉ thị phân tử

Nguyễn Thị Lang^{1*}, Phạm Thị Thu Hà¹, Phạm Công Trứ¹
Cho Young Chan², Trần Bảo Toàn³, Bùi Chí Bửu⁴

¹Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long (CLRRI)

²Viện Quốc gia về khoa học cây trồng Hàn Quốc (NICS)

³Công ty TNHH MTV Công nghệ sinh học PCR (Cần Thơ)

⁴Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp miền Nam (IAS)

Ngày nhận bài 2/6/2016, ngày chuyển phản biện 10/6/2016, ngày nhận phản biện 1/8/2016, ngày chấp nhận đăng 8/8/2016

Trong nghiên cứu này, chỉ thị phân tử SSR bao gồm RM3586, RM160 trên nhiễm sắc thể (NST) số 3 và RM3735, RM3471, RM3687, RM3536 trên NST số 4 được sử dụng để chọn lọc các dòng lúa triển vọng từ các quần thể con lai hồi giao. Các cá thể thuộc quần thể hồi giao BC_3F_2 , BC_4F_1 và 50 cá thể chọn lọc của BC_4F_2 cùng với nguồn vật liệu bố mẹ được trồng trong vụ xuân hè của năm 2013 và 2014 tại Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long, dưới điều kiện nhiệt độ nóng tự nhiên ở ngoài đồng ruộng và điều kiện nhân tạo trong phytotron để đánh giá tính chống chịu nóng trong giai đoạn lúa trổ đến thu hoạch. Kết quả, 4 dòng lúa bao gồm HTL1 của tổ hợp lai OM5930/N22, HTL2 của OM5930/Dular, HTL3 của AS996/N22 và HTL4 của AS996/Dular, đã được chọn thành công bằng phương pháp hồi giao cải tiến nhờ chỉ thị phân tử (MAB) thông qua chỉ thị RM3586 và RM3735. Các dòng lúa này đang được đưa vào khảo nghiệm quốc gia.

Từ khóa: chống chịu nóng, lúa, phương pháp hồi giao cải tiến nhờ chỉ thị phân tử (MAB).

Chỉ số phân loại 4.6

Rice breeding for heat tolerance using marker-assisted backcrossing in Vietnam

Summary

The microsatellite markers RM3586, RM160 on chromosome 3 and RM3735, RM3471, RM3687, RM3536 on chromosome 4 were used to select promising rice lines from backcrossing populations. The selected lines from BC_3F_2 and BC_4F_1 , 50 plants of BC_4F_2 , and their parents were planted in 2013 and 2014 dry seasons at the Cuu Long Delta Rice Research Institute (CLRRI) field under natural heat stress and green house to evaluate heat tolerance during the reproductive stage. Four genotypes as HTL1, HTL2, HTL3, HTL4 from OM5930/N22, OM5930/Dular, AS996/N22 and AS996/Dular, respectively, via RM3586 and RM3735 were successfully selected to be in national yield trials.

Keywords: heat tolerance, marker-assisted backcrossing, rice.

Classification number 4.6

Đặt vấn đề

Nhiệt độ là yếu tố ngoại cảnh có ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Đặc biệt, trong thời kỳ phát dục, cây lúa bị ảnh hưởng nghiêm trọng nhất bởi tác động của stress nhiệt [1, 2]. Nhiệt độ ở ngưỡng 35°C trở lên vào giai đoạn lúa trổ được xem là yếu tố gây ảnh hưởng tiêu cực đến phản ứng khác nhau của các giống lúa thể hiện qua tỷ lệ hạt có thể thụ tinh được, hạt có thể tích lũy chất khô và năng suất lúa [3, 4]. Vì vậy, các stress do nóng gây ra trong giai đoạn lúa trổ đến thu hoạch làm giảm mạnh năng suất [5, 6].

Biến đổi khí hậu đang và sẽ dẫn đến những tác động cực đoan của khô hạn, nhiệt độ nóng và sâu bệnh hại gia tăng ở Việt Nam. Trong đó, vùng canh tác lúa thuộc Duyên hải

*Tác giả liên hệ: Email: ntlang@hcm.vnn.vn

Nam Trung Bộ của nước ta có nhiệt độ nóng xảy ra vào lúc lúa trở bông ở vụ hè thu. Điều này đã làm gia tăng tỷ lệ hạt lép của lúa nghiêm trọng trong những năm gần đây. Ngoài ra, tốc độ hạt vào chắc (GFR - grain filling rate) cũng bị ảnh hưởng [7], làm tăng tỷ lệ hạt lửng, lép, giảm khối lượng 1.000 hạt. GFR là tốc độ vận chuyển chất khô từ lá vào bông, tính bằng mg chất khô/bông/ngày. Vì vậy, nghiên cứu về cơ chế di truyền học và sinh lý học của tính chống chịu nóng ngày càng trở thành nhu cầu quan trọng phục vụ cho việc cải tiến giống lúa chống chịu nóng.

Chọn giống nhờ chỉ thị phân tử (MAS) được phát triển với MAB là một quy trình sử dụng vài chỉ thị phân tử chủ lực. Chúng đã được nghiên cứu trước, có liên quan đến tính trạng chống chịu stress nào đó như tính chịu nhiệt độ nóng. Nội dung được thực hiện theo trình tự như sau: (1) Điều tra đa hình ADN trên giống đối chứng chống chịu và nhiễm; (2) Xây dựng bản đồ di truyền; (3) Thực hiện "fine-map"; (4) So sánh kiểu gen và kiểu hình [8-10]. Đây là một công cụ hữu ích trong cải tiến giống lúa, đã và đang được phát triển thành công trong những năm đầu của thế kỷ XXI [11]. Mức độ thành công của phương pháp này tùy thuộc vào sự phát triển các chỉ thị phân tử liên kết chặt chẽ với các loci quyết định tính trạng số lượng (QTL: quantitative trait loci). Nó còn tùy thuộc vào mức độ phân giải trên vùng giả định của gen đích hoặc loci có gen ứng cử viên; đặc biệt là những công cụ thuộc về máy tính, phần mềm chuyên dụng [11].

Avise (2007) đã tập hợp nhiều công trình nghiên cứu về mức độ thành công của ứng dụng di truyền phân tử, đặc biệt là MAS trong chọn tạo giống [12]. Thành công của gen đích lấy từ lúa hoang dại chuyển vào giống lúa trồng, với phương pháp làm giảm thiểu được bất lợi của liên kết gen không mong muốn (linkage drags) cũng được ghi nhận với sự giúp đỡ của chỉ thị phân tử [13]. Cuối cùng, người ta phải xác định được kiểu gen mong muốn theo kế hoạch chọn tạo giống [14].

Trong nghiên cứu này, 310 cá thể con lai thuộc quần thể BC₂F₂ của tổ hợp lai OM5930/N22 được sử dụng để lập bản đồ di truyền thông qua 264 chỉ thị SSR đa hình [15]. Những chỉ thị RM3586, RM160 trên NST 3 và RM3735 trên NST 4 đã được khuyến cáo sử dụng cho MAS. Đây là kết quả nghiên cứu của đề tài cấp bộ (thực hiện từ năm 2011 đến 2014) do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quản lý. Đề tài tiếp tục

được thực hiện thông qua dự án hợp tác với Tổng cục Phát triển nông thôn Hàn Quốc (đứng đầu là tiến sỹ Cho Young Chan) với mục tiêu chọn các dòng lúa cao sản triển vọng chống chịu nóng ở phía Nam thông qua phương pháp MBA phục vụ cho sản xuất lúa ở Duyên hải Nam Trung Bộ - Việt Nam [15, 16].

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Giống lúa *indica* OM5939 (loại hình cao sản, nhạy cảm với nhiệt độ nóng), giống lúa loại hình *aus* là N22 (nguồn cho gen chống chịu nóng) được sử dụng để xây dựng bản đồ QTL [15]. Phương pháp MAB được thực hiện trên quần thể hồi giao của tổ hợp lai OM5939/N22, AS996/N22, AS996/Dular và Gayabeyo/N22. Chọn ít nhất 50 cá thể trong từng thế hệ hồi giao có băng alen trùng với băng N22 hoặc Dular.

36 chỉ thị SSR được sử dụng cho MAS, đặc biệt là chỉ thị RM3586, RM160 trên NST 3 và RM3735, RM3471, RM3687 trên NST 4.

Cá thể được chọn nhờ chỉ thị phân tử có nguồn gốc từ quần thể BC₃F₂, BC₄F₁, 50 BC₄F₂ cùng với bố mẹ đã được trồng trong vụ xuân hè năm 2013-2014 tại đồng ruộng của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Số liệu khí tượng được thu thập nhờ công cụ của Đài khí tượng đặt ngay trên ruộng và được xử lý bằng phần mềm chuyên dụng.

Điểm chống chịu nóng (HT) căn cứ trên phần trăm hạt lép theo thang điểm như sau: 0 (0-10%), 1 (10-15%), 3 (15-20%), 5 (20-25%), 7 (25-30%) và 9 (>30%).

Tách chiết ADN và thực hiện kỹ thuật PCR

Sử dụng phương pháp CTAB để tách chiết ADN [17]. Lá non được nghiền và tách chiết trong dung dịch có 400 µl dung môi (50 mM tris-HCl pH = 8,0; 25 mM EDTA, 300 mM NaCl và 1% SDS).

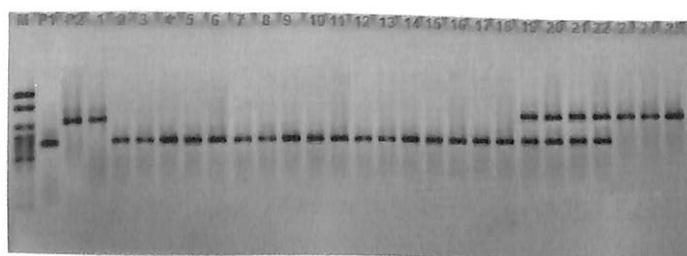
Thực hiện PCR với chỉ thị phân tử SSR được khuếch đại và ghi nhận kết quả trong dung môi 10 mM Tris-HCl (pH = 8,3), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 1 TAKARA *Taq*, 4 nmole dNTP, 10 pmole của primer. Chu trình PCR được thực hiện 35 chu kỳ, biến tính ở 94°C (1 phút), bắt cặp 55°C (1 phút) và kéo dài mỗi ở 72°C (2 phút, lần cuối 5 phút). Điện di được thực hiện trên 3% agarose gel có chứa thuốc nhuộm ethidium bromide và quan sát trên tia cực tím.

Kết quả và thảo luận

Kết quả chọn giống lúa nhờ chỉ thị phân tử trên NST 4 (bảng 1)

Bảng 1: kết quả điện di trên NST 4 thuộc quần thể BC₄F₂ của 3 tổ hợp lai

STT	Locus	AS996/N22	OM5930/N22	Gayabeyo/N22
1	RM537	Đa hình	Đa hình	Đa hình
2	RM335	Đơn hình	Đa hình	Đa hình
3	RM2416	Đa hình	Đa hình	Đơn hình
4	RM2811	Đơn hình	Đơn hình	Đa hình
5	RM8213	Đơn hình	Đa hình	Đa hình
6	RM6475	Đơn hình	Đơn hình	Đơn hình
7	RM3471	Đa hình	Đa hình	Đa hình
8	RM4835	Không rõ	Không rõ	Không rõ
9	RM401	Đa hình	Đa hình	Đa hình
10	RM5900	Đa hình	Đa hình	Đa hình
11	RM5687	Không rõ	Không rõ	Không rõ
12	RM16745	Đa hình	Đơn hình	Đơn hình
13	RM6314	Đơn hình	Đa hình	Đa hình
14	RM471	Đa hình	Đa hình	Đa hình
15	RM417	Đơn hình	Đơn hình	Đơn hình
16	RM3735	Đơn hình	Đa hình	Đa hình
17	RM241	Đơn hình	Đa hình	Đa hình
18	RM6457	Đơn hình	Đơn hình	Đơn hình
19	RM2441	Không rõ	Không rõ	Không rõ
20	RM317	Đa hình	Đơn hình	Đơn hình
21	RM6148	Đa hình	Đa hình	Đa hình
22	RM3217	Đa hình	Đa hình	Đa hình
23	RM255	Đa hình	Đơn hình	Đơn hình
24	RM3687	Đa hình	Đa hình	Đa hình



Hình 1: sản phẩm PCR tại locus RM3735 trên NST 4 được quan sát trong quần thể BC₄ của tổ hợp lai OM5930/N22. Đường P1: OM5930 (200 bp); P2: N22 (220 bp) với 12 dòng được chọn (đường 1, 23, 24, 25, 41, 42, 43, 44, 45, 48, 49 và 50)

Sản phẩm PCR tại locus RM3735 trên NST 4 của quần thể BC₄F₁ từ tổ hợp lai OM5930/N22 cho thấy có 15 dòng được chọn biểu hiện alen đồng hợp tử với N22; quần thể BC₄F₁ của Gayabeyo/N22 có 24 dòng được chọn. Trong khi đó, sản phẩm PCR tại locus RM3687 trên NST 4 của quần thể BC₄F₂ từ tổ hợp lai OM5930/N22 có 6 dòng được chọn biểu hiện alen đồng hợp tử với N22 (hình 1).

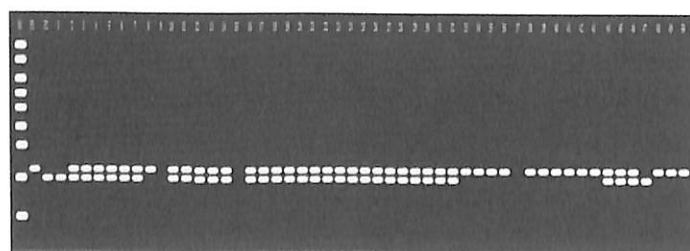
Các dòng hồi giao tại thế hệ BC₄F₁ biểu hiện khả năng chịu nóng cao hơn hẳn so với giống mẹ tái tục OM5930 trong cùng điều kiện đồng ruộng. Quan sát quần thể BC₄F₂ (quần thể tự thụ từ thế hệ BC₄F₁) biến động kiểu hình tính trạng hạt lép vẫn còn rất cao cho phép tiếp tục chọn lọc cá thể.

Trong quần thể BC₄F₂ của OM5930/N22 có 5 dòng được chọn là BC4-1-10-1, BC4-5-8, BC4-5-9-4, BC4-6-3 và BC4-5-6 theo kết quả điện di tại loci RM3687, RM3471, RM3735 và RM3586.

Kết quả chọn giống lúa nhờ chỉ thị phân tử trên NST 3

Sản phẩm PCR tại locus RM3586 trên NST 3 của quần thể BC₂F₂ thuộc OM5930/N22 có 15 dòng được chọn biểu hiện alen đồng hợp tử với N22; AS996/N22 không chọn được vì các băng ở trạng thái dị hợp tử biểu hiện kiểu hình chống chịu nóng cần được tiếp tục đánh giá ở thế hệ con lai. Trong quần thể của AS996/Dular có 2 dòng được chọn.

Sản phẩm PCR tại locus RM3586 trên NST 3 của quần thể BC₂F₂ thuộc AS996/N22 biểu thị đa số các băng ở trạng thái dị hợp tử, đối với kiểu hình chống chịu nóng (hình 2). Trong quần thể BC₄F₂ của AS996/Dular có 5 dòng được chọn, biểu hiện alen đồng hợp tử với Dular.



Hình 2: sản phẩm PCR tại locus RM3586 trên NST 3 được quan sát trong quần thể BC₂ của tổ hợp lai AS996/N22. Đường P1: AS996 (220 bp); P2: N22 (200 bp) với 2 dòng được chọn ở đường 1, 47

Các dòng triển vọng nhờ chỉ thị phân tử kết hợp với kiểu hình chấp nhận được

Bảng 2: tổng hợp kết quả chạy PCR tại loci RM3687, RM3471, RM3735 và RM3586 trên quần thể BC₄F₂ của OM5930/N22

TT	Dòng hồi giao	RM3687	RM 3471	RM3735	RM3586	Phản ứng với stress nóng
Mẹ	P1: OM5930	230	215	200	220	S
Bố	P2: N22	200	200	210	210	R
1	BC4-1-10-1	200	215	210	220	R
2	BC4-2-4-6-	230	215	200	210/220	S
3	BC4-5-8	230	215	210	220	R
4	BC4-5-9-4	230	215	210	220	R
5	BC4-9-10	230	215	200	220	S
6	BC4-5-10	230	215	200	220	S
7	BC4-34-15	230	215	200	220	S
8	BC4-16	230	215	200	220	S
9	BC4-19	230	200/215	200	220	S
10	BC4-21	230	200/215	200	220	S
11	BC4-31-15	230	200/215	200	220	S
12	BC4-25-10	230	200/215	200	220	S
13	BC4-16-15	230	200/215	200	220	S
14	BC4-7-17	230	200/215	200	220	S
15	BC4-9-19	230	215	200	220	S
16	BC4-8-6	230	215	200	220	S
17	BC4-7-29	230	215	200	220	S
18	BC4-28-10	230	215	200	220	S
19	BC4-7-5	230	215	200	220	S
20	BC4-6-1	230	215	200	220	S
21	BC4-6-3	230	215	210	220	R
22	BC4-5-6	230	215	210	220	R

R: kháng; S: nhiễm

Kết quả hình 3 cho thấy, giống OM8108, OM10040 và 4 dòng lúa được chọn tạo nhờ chỉ thị phân tử (HTL1, HTL2, HTL3 và HTL4) có alen đồng hợp tử giống như N22. Đây là minh chứng khá rõ ràng về hiệu quả chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử đối với tính trạng chống chịu nóng. Biến thiên kiểu hình được giải thích bởi QTL tại quãng giữa 2 marker RM3586-RM160. Riêng đối với chỉ thị RM3735 trên NST 4 giải thích được 32,28%, 20,73% và 9,95% biến thiên kiểu hình trên các quần thể hồi giao OM5930/N22, AS996/N22 và AS996/Dular theo thứ tự (OM4900 và IR64 được sử dụng làm đối chứng) [15]. Trong quần thể BC₄F₂ của OM5930/N22 có 5 dòng được chọn là BC4-1-10-1 (HTL1), BC4-5-8 (HTL2), BC4-5-9-4 (HTL3), BC4-6-3 (HTL4) và BC4-5-6 (HTL5) theo kết quả điện di tại loci RM3687, RM3471, RM3735, RM3586.

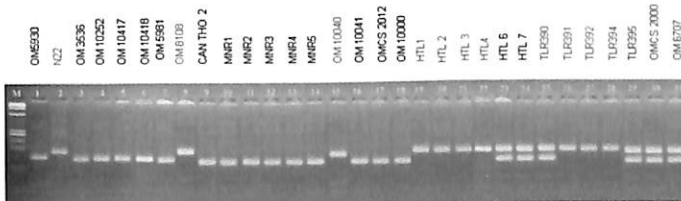
Bảng 4: nguồn gốc các dòng chống chịu nóng có dạng hình chấp nhận được thông qua chọn lọc bằng chỉ thị phân tử (hình 3)

Dòng	Tổ hợp	Dòng hồi giao
HTL1	OM 5930/N22	BC4-1-10-1
HTL2	OM5930/Dular	BC4-5-8
HTL3	AS996/N22	BC4-5-9-4
HTL4	AS996/Dular	BC4-6-3
HTL5	Gayabeyo/N22	BC4-5-6
HTL6	HT114/IR66	BC3-4
HTL7	H111/IKO547	BC3-21

Dòng HTL1, HTL2, HTL3 và HTL4 biểu hiện alen đồng hợp với alen của giống cho gen chống chịu nóng N22; dòng HTL6 và HTL7 biểu hiện alen dị hợp tử cần phải tiếp tục chọn cá thể ưu việt. Bảng 3 cho thấy, năng suất cao nhất thuộc về dòng lúa BC4-5-8 (HTL2) của quần thể hồi giao OM5930/N22; kế đến là BC4-5-9 (HTL3), BC4-6-3 (HTL4). Trong quần thể hồi giao OM5930/Dular có dòng BC3F2-1-9 cho năng suất triển vọng. Dòng HTL1 (BC4-4-10-1) cho năng suất thấp nhất trong bộ giống quan sát (2013) và năng suất trung bình khá (6,21 tấn/ha) trong bộ giống so sánh sơ khởi. Dòng HTL2 (BC4-5-8) vẫn cho năng suất cao nhất (7,63 tấn/ha) trong bộ giống so sánh sơ khởi, kế đến là dòng HTL3, HTL4 và HTL1.

Kết luận

Có 4 dòng lúa cao sản (HTL1, HTL2, HTL3 và HTL4) chống chịu nóng được chọn nhờ chỉ thị phân tử trong quần thể hồi giao. 4 dòng này đang được đưa vào khảo nghiệm giống quốc gia.



Hình 3: sản phẩm PCR tại locus RM3735 trên NST 4 cho thấy 9 mẫu giống lúa biểu hiện alen đồng hợp tử với N22 (OM5930: 200 bp, N22: 220 bp)

Bảng 3: năng suất và tình trạng nông học các dòng được chọn (vụ xuân hè 2014; nhiệt độ ban ngày lúc trở đến thu hoạch 37-40°C) - bộ giống so sánh sơ khởi (PYT)

Dòng	TGST (ngày)	Cao cây (cm)	Bông/m ²	Hạt chắt/bông	Khối lượng 1.000 hạt (g)	Năng suất (tấn/ha)
HTL2	97	97 cd	350 a-d	80 c	29,0 a	7,63 a
HTL3	100	99 bc	370 ab	93 ab	26,5 ab	6,93 b
HTL4	105	105 a	380 a	98 a	26,5 ab	6,90 b
HTL14	90	90 e	370 ab	92 ab	27,0 ab	6,53 bc
HTL1	98	96 cd	340 b-e	91 ab	28,0 ab	6,21 c
HTL15	103	103 ab	340 b-e	89 ab	28,0 ab	5,72 d
OM4900 (C)	100	94 de	360 abc	90 ab	26,0 ab	5,64 de
HTL5	98	97 cd	350 a-d	85 bc	24,8 b	5,62 de
HTL7	96	97 cd	320 de	89 ab	26,0 ab	5,61 de
HTL13	100	99 bc	360 abc	93 ab	26,0 ab	5,61 de
HTL10	100	101 bc	310 e	86 bc	26,0 ab	5,44 de
HTL6	95	94 de	330 cde	92 ab	28,5 a	5,20 e
HTL12	100	99 bc	350 a-d	87 bc	27,0 ab	4,51 f

Ghi chú: DMRT ở mức độ 0,05 với 3 lần nhắc lại; HTL: heat tolerance lines (dòng chịu nóng); TGST: thời gian sinh trưởng

Chi thị phân tử SSR cho kết quả so sánh giữa kiểu gen và kiểu hình đạt hiệu quả cao nhất là RM3735 trên NST 4 và RM3586 trên NST 3.

Tài liệu tham khảo

- [1] D.J. Mackill, W.R. Coffman, J.N. Rutger (1982), "Pollen shedding and combining ability for high temperature tolerance in rice", *Crop Science*, **22**, pp.730-733.
- [2] H.C. Kuang, S.S. Wen, G.M. Liu (2002), "Studies on the heat tolerance of Luhui 17 and its cross II You 7 at head sprouting", *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, **15**, pp.106-108.
- [3] S. Matsushima, H. Ikewada, A. Maeda, S. Honma, N. Niki (1982), "Studies on rice cultivation in the tropics 1: yielding and ripening responses of the rice plant to the extremely hot and dry climate in Sudan", *Japan J. Trop Agri.*, **26**, pp.19-25.
- [4] C.D. Li (2003), "Analysis on a large of empty grains of rice due to high temperature", *Shanxi J. Agric. Sci.*, **49**, p.4547.
- [5] S. Morita S, J.I. Yonemaru, J.I. Takanashi (2005), "Grain growth and endosperm cell size under high night temperatures in rice (*Oryza sativa* L.)", *Annals of Botany*, **95**, pp.695-701.
- [6] S.B. Peng, J.L. Huang, J.E. Sheehy, R.C. Laza, R.M. Visperas, X.M. Zhong, G.S. Centeno, G.S. Khush, K.G. Cassman (2004), "Rice yields decline with high temperature from global warming", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, pp.9971-9975.
- [7] T.L. Nguyen, T.T.H. Pham, C.T. Pham, T.Q. Tran, T.M. Luong, H.G. Ly, V.B. Hoang, T.D.P. Tran, T.G. Nguyen, T.H. Nguyen, V.H. Truong, B.N. Mai, B.C. Bui (2015), "Rice lines with heat tolerance via marker-assisted selection", *Vietnam Science and Technology Review*, **1(3)**, pp.53-59.
- [8] S.D. Tanksley, N.D. Young, A.H. Paterson, M.W Bonierbale (1989), "RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science", *Biotechnology*, **7**, pp.257-263.
- [9] S.D. Tanksley, S.R. McCouch (1997), "Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild", *Science*, **277**, pp.1063-1066.
- [10] A. Gur, D. Zamir (2004), "Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding", *PLoS Biol*, **2**, pp.245.
- [11] Y. Xu, J.H. Couch (2008), "Marker-assisted selection in plant breeding: from publication to practice", *Crop Sci.*, **48**, pp.391-407.
- [12] J.C. Avise (2007), *Molecular markers, natural history and evolution*, University of Georgia.
- [13] N.D. Young, S.D. Tanksley (1989), "RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the *Tm-2* locus of tomato during backcross breeding", *Theor Appl Genet*, **77**, pp.353-359.
- [14] S. Hurni, S. Brunner, D. Stirnweis, G. Herren, D. Peditto, R.A. McIntosh, et al (2014), "The powdery mildew resistance gene *Pm8* derived from rye is suppressed by its wheat ortholog *Pm3*", *Plant Journal*, **79**, pp.904-913.
- [15] B.C. Bui, T.T.H. Pham, P.T. Bui, T.N. Tran, V.H. Nguyen, T.P. Nguyen, T.M. Luong, H.G. Ly, N.T. Nguyen (2014), "Quantitative trait loci associated with heat tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)", *Plant Breeding and Biotechnology*, **2(1)**, pp.14-24.
- [16] B.C. Bui, P.T. Thu Ha, B.P. Tam, C.T. Nha, N.T. Nguyen (2013), "Study on genetic variation of heat tolerance trait in BC population of rice (*Oryza sativa* L.)", *J. Agric Rural Dev*, **2**, pp.10-15.
- [17] T.L. Nguyen (2002), *Protocol for basic biotechnology*, Agricultural Publisher, Ho Chi Minh City, Vietnam.