# Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa thơm kháng bệnh bạc lá cho các tỉnh phía Bắc

**Dương Xuân Tú*, Phạm Thiên Thành, Tăng Thị Diệp, Tống Thị Huyền, Lê Thị Thanh, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Trí Hoàn**

*Viện Cây lương thực và cây thực phẩm, VAAS*

Ngày nhận bài 24/8/2017; ngày chuyển phản biện 28/8/2017; ngày nhận phản biện 12/10/2017; ngày chấp nhận đăng 20/10/2017

***Tóm tắt:***

**Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa thơm kháng bệnh bạc lá được thực hiện tại Viện Cây lương thực và cây thực phẩm (CLT&CTP) từ năm 2010. Kết quả nghiên cứu đã đưa ra chỉ thị 4 mồi (ESP, IFAP, INSP và EAP) được sử dụng để nhận diện gen mùi thơm (*fgr*) với độ chính xác 95%; các chỉ thị Npp181, RG556 và P3 nhận diện các gen *Xa4, xa5* và *Xa7* kháng với vi khuẩn gây bệnh bạc lá ở các tỉnh phía Bắc với độ chính xác lần lượt là 96, 93 và 97%. Kết quả của việc sử dụng phương pháp chọn tạo giống bằng đánh giá kiểu hình kết hợp với chỉ thị phân tử chọn kiểu gen mục tiêu đã chọn được giống lúa thơm HDT10 thích hợp cho gieo trồng trong vụ xuân và vụ mùa tại các tỉnh phía Bắc đáp ứng mục tiêu chọn tạo như thời gian sinh trưởng ngắn (105 ngày trong vụ mùa), năng suất đạt 6,0-6,5 tấn/ha, thể hiện tính kháng với bệnh bạc lá. Qua khảo nghiệm quốc gia tại các tỉnh phía Bắc, giống lúa HDT10 đã được đánh giá cao, được công nhận cho sản xuất thử tại các tỉnh phía Bắc từ năm 2017.**

***Từ khóa:*** ***Bệnh bạc lá, cây lúa, chỉ thị phân tử, gen mục tiêu, mùi thơm.***

***Chỉ số phân loại:*** *4.6*

## Mở đầu

Lúa thơm chất lượng cao là một hướng ưu tiên nhằm nâng cao tính cạnh tranh của sản phẩm và hiệu quả kinh tế trong sản xuất lúa gạo của Việt Nam hiện nay. Tuy nhiên, bộ giống lúa thơm chất lượng hiện đang được sản xuất tại các tỉnh phía Bắc còn đơn điệu, các giống lúa thơm chất lượng vẫn phổ biến là các giống lúa được nhập nội từ Trung Quốc (BT7, HT1) và các giống lúa chọn tạo trong nước (T10, AC5, TL6...) là những giống lúa chất lượng, ngắn ngày, nhưng khả năng thích ứng kém, khả năng chống chịu kém với một số sâu bệnh hại chính như rầy nâu, đạo ôn, đặc biệt là bệnh bạc lá..., do vậy khi sản xuất mang tính rủi ro cao, hiệu quả thấp, khó mở rộng diện tích. Bệnh bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) là loại bệnh hại nguy hiểm nhất đối với cây lúa ở khu vực châu Á, gây thiệt hại về năng suất từ 50 đến 80% [1]. Ở Việt Nam, bộ giống lúa thơm chất lượng cao được trồng phổ biến hiện nay ở các tỉnh phía Bắc như BT7, AC5, T10 nhiễm bệnh bạc lá rất nặng. Đây là nguyên nhân làm hạn chế mục tiêu tăng sản lượng lúa chất lượng tại các tỉnh phía Bắc trong những năm qua. Chọn tạo giống lúa thơm chất lượng cao, năng suất khá, kháng bệnh bạc lá là cần thiết cho sản xuất lúa chất lượng ở các tỉnh phía Bắc nước ta.

Hiện nay, chỉ thị phân tử ADN được sử dụng như là một công cụ hỗ trợ cho lai tạo (MABC - Molecular Assissted Backcrossing) và chọn lọc (MAS - Molecular Assissted Selection) đã được khẳng định có hiệu quả trong các chương trình chọn giống cây trồng. Bằng phân tích kiểu gen kiểm soát các tính trạng, các nhà chọn giống có thể chọn được giống mang nhiều tính trạng mong muốn trong cùng thời điểm. Đối với mùi thơm ở cây lúa, chất 2-acetyl-1-pyrroline (2Ap) được kiểm soát bởi gen *fgr* nằm trên nhiễm sắc thể số 8 đã được công bố là chất chính tạo nên mùi thơm ở các giống lúa thơm, đặc trưng là mùi thơm của giống Jasmine và Basmati [2]. Gen *fgr* đã được tìm ra nhờ các chỉ thị liên kết với những khoảng cách di truyền khác nhau [3, 4]. Đối với bệnh bạc lá, cho đến nay đã phát hiện có trên 36 gen kháng chính với các chủng vi khuẩn gây bệnh tại các vùng trồng lúa trên thế giới. Trong đó, 28 gen đã được định vị trên các nhiễm sắc thể và có chỉ thị liên kết đã được đưa ra [5]. Nhóm tác giả Dương Xuân Tú và cs thuộc Viện CLT&CTP đã tiến hành đề tài "Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa thơm kháng bệnh bạc lá" từ năm 2010. Kết quả nghiên cứu đã lựa chọn được chỉ thị 4 mồi (ESP, IFAP, INSP và EAP) nhận diện gen thơm *fgr* có độ chính xác 95%. Kết quả nghiên cứu cũng đã khẳng định gen *Xa4, xa5, Xa7* và *Xa21* kháng cao hữu hiệu với các nguồn vi khuẩn gây bệnh bạc lá lúa ở các tỉnh phía Bắc. Các chỉ thị phân tử Nbp181, RG556, P3 cũng đã được lựa chọn để nhận diện các gen kháng *Xa4, xa5* và *Xa7* với độ chính xác tương ứng là 97, 76 và 92% giữa gen kháng tính kháng [6].

Trong bài báo này, chúng tôi công bố kết quả ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa thơm, kháng bệnh bạc lá tại Viện CLT&CTP theo mục tiêu: Thời gian sinh

*Tác giả liên hệ: Email: duongtu390@hotmail.com

# Application of molecular markers in the breeding of aromatic rice varieties with resistance to bacterial leaf blight

**Xuan Tu Duong*, Thien Thanh Pham, Thi Diep Tang, Thi Huyen Tong, Thi Thanh Le, Thi Thu Nguyen, Tri Hoan Nguyen**

*Field Crops Research Institute (FCRI)*

Received 24 August 2017; accepted 20 October 2017

***Abstract:***

**From the results of the study, four markers as: ESP, IFAP, INSP, and EAP could be applied to identify the fragrant gene (*fgr* gene) with the accuracy of 95%; the markers Npp181, RG556, and P3 could be applied to select the *Xa4, xa5*, and *Xa7* genes which control the resistance to bacterial races causing leaf blight on rice plants in the Northern Vietnam with the accuracy of 96, 93, and 97%, respectively. The result of the breeding protocol with the combination of phenotypic selection and MAS to select target genes had released an aromatic rice variety, named HDT10 suitable for late spring and early summer seasons in the Northern Vietnam with major characteristics as follows: Short growth duration (105 days in summer season); 6.0-6.5 tons/ha in yield; good quality and resistance to bacterial leaf blight disease. Through the system of national trials in the Northern provinces of Vietnam since 2015, the HDT10 variety has been released in large-scale production in the Northern Vietnam since 2017.**

***Keywords:*** ***Bacterial leaf blight, fragrance, molecular markers, rice, target genes.***

***Classification number:*** ***4.6***

trưởng ≤ 115 ngày (vụ mùa), năng suất đạt 6,0-6,5 tấn/ha, có mùi thơm, hàm lượng amylose ≤ 22%, cơm mềm, ngon; có tính kháng với bệnh bạc lá tại các vùng sản xuất ở các tỉnh phía Bắc.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### *Vật liệu nghiên cứu*

Vật liệu sử dụng trong các phép lai gồm các giống lúa thơm: HT1, HDT8, BT7, Nghi hương, SH8, AC15, N46; các giống lúa năng suất cao: KD18, ĐB6; các giống lúa kháng bệnh bạc lá: TQuynh, các dòng đẳng gen IRBB5, IRBB7, IRBB5/7...

Mồi chỉ thị phân tử liên kết với gen thơm *fgr* trên nhiễm sắc thể số 8, gồm 4 mồi: ESP, IFAP, INSP và EAP được đưa ra bởi Bradbury và cs [4].

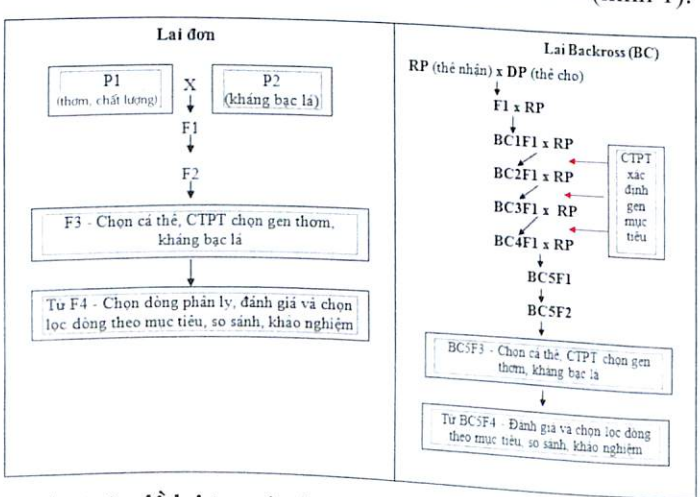
| Tên mồi | Trình tự mồi | Kích thước băng (pb) |
|---|---|---|
| ESP | 5'-TTGTTTGGAGCTTGCTGATG-3' | 580 |
| FAP | 5'- CATAGGAGCAGCTGAAATATATACC-3' | 257 |
| INSP | 5'-CTGGTAAAGTTTATGGCTTCA-3 | 355 |
| EAP | 5'-AGTGCTTTACAGCCCGC-3' | 580 |

Mồi chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng bệnh bạc lá: Nbp181 liên kết với gen *Xa4* [7], RG556 liên kết với gen *xa5* và P3 liên kết với gen *Xa7* [8] được đưa ra như sau:

| Gen kháng | Tên chỉ thị | Vị trí (nhiễm sắc thể) | Trình tự mồi | Kích thước băng (pb) | Tác giả |
|---|---|---|---|---|---|
| *Xa4* | Npb181 | 11 | 5' ATC GAT CGA TCT TCA CGA GG 3'<br>5' GTG CTA TAA AAG GCA TTCGGG 3' | 150 | [7] |
| *xa5* | RG556 | 5 | 5' TAG CTG CTG CCG TGC TGT GC-3'<br>5' AAT ATT TCA GTG TGC ATC GGA 3' | 500 | [9] |
| *Xa7* | P3 | 6 | 5' CAG CAA TTC ACT GGA GTA GTG GTT 3'<br>5' CAT CAC GGT CAC CAC CAT ATC GGA 3' | 250 | [8] |

### *Phương pháp nghiên cứu*

*Phương pháp chọn lọc:* Phương pháp chọn lọc phả hệ có cải tiến kết hợp với chỉ thị thị phân tử chọn kiểu gen thơm và gen kháng bệnh bạc lá (MAS). Chọn lọc cá thể được tiến hành từ quần thể phân ly $F_2$ - $F_3$ của các tổ hợp lai, chọn những cá thể có dạng hình đẹp, thời gian sinh trưởng ngắn, chống chịu sâu bệnh, có khả năng đáp ứng được mục tiêu chọn tạo về năng suất. Đồng thời, các cá thể chọn này được lấy mẫu ADN để chọn gen mục tiêu. Các cá thể mang gen mục tiêu ở trạng thái đồng hợp tử sẽ được gieo thành dòng, tiếp tục chọn lọc phân ly theo mục tiêu chọn giống ở các thế hệ tiếp theo. Sơ đồ lai tạo và chọn lọc như sau (hình 1).




**Hình 1. Sơ đồ lai tạo và chọn lọc lúa thơm kháng bệnh bạc lá bằng ứng dụng chỉ thị phân tử** (CTPT).

*Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng:* Chọn dòng phân ly được bố trí tuần tự không nhắc lại. Thí nghiệm so sánh giống được bố trí theo khối ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại.

*Kỹ thuật sử dụng và phương pháp đánh giá:*

* Xác định gen mùi thơm và gen kháng bệnh bạc lá:

Tách chiết ADN: ADN được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB của Doyle có cải tiến [10].

Phản ứng nhân gen (PCR): Chương trình phản ứng PCR gồm 94°C trong 5 phút; 94°C trong 45 giây, 55°C trong 1 phút và 72°C trong 1 phút, 37 chu kỳ lặp lại; 72°C trong 8 phút và sau đó giữ lạnh ở 4°C.

Điện di sản phẩm PCR: Sản phẩm PCR được điện di bằng máy điện di mao quản và điện di trên gel agarose 2%, ladder 100 bp, hiệu điện thế 100 V, thời gian 40 phút. Bản gel được nhuộm bằng Ethidium bromide 0,5 ug/ml trong 30 phút. Hình ảnh điện di được phân tích trên máy chụp hình gel (gel DOC).

* Phân tích chất lượng gạo:

Mùi thơm: Đánh giá theo Nguyễn Thị Lang và Bùi Chí Bửu (2004) [11]. Cụ thể, mỗi cá thể lấy 15 hạt được bóc vỏ trấu và nghiền nhỏ, sau đó đặt trong đĩa petri, cho vào 0,5 ml dung dịch KOH pha loãng (1,7%) sau đó đậy lại, đặt trong điều kiện 30°C trong 30 phút. Các hộp được mở ra lần lượt để đánh giá mùi thơm theo cảm quan 3 mức (không thơm, thơm nhẹ và thơm).

Hàm lượng amylose: Phân tích và phân loại theo Kumar và Khush (1986), Sadavisam và Manickam (1992) [12, 13].

Nhiệt hóa hồ: Phân tích và đánh giá theo phương pháp của IRRI (1996), [14].

## Kết quả lai tạo và chọn lọc

***Kết quả lai chuyển gen kháng bệnh bạc lá vào các giống lúa thơm***

Các giống lúa thơm được sử dụng để cải tạo tính kháng bệnh bạc lá gồm: HDT8, SH8 và BT7. Thông qua lai backcross để chuyển các gen kháng bệnh bạc lá hữu hiệu ở các tỉnh phía Bắc (*xa5, Xa7*) nhằm cải tiến tính kháng bệnh bạc lá của các giống lúa HDT8, SH8 và BT7. Sử dụng chỉ thị phân tử để kiểm tra gen mục tiêu của con lai từ BC1F1 đến BC4F1 để xác định cây nhận trong các lần lai lại. Thực hiện từ vụ xuân 2011 đến 2014, chúng tôi đã tạo được hạt lai của BC5F1. Vụ mùa 2014, con lai BC5F1 được đánh giá và kiểm tra gen mục tiêu bằng chỉ thị phân tử. Kết quả đã chọn được 72 cây BC5F1 mang gen thơm, đồng thời mang 1-2 gen kháng bệnh bạc lá trong các gen *Xa4*, *xa5* và *Xa7*, trong đó 25 cây mang nền di truyền HDT8, 22 cây mang nền di truyền SH8 và 24 cây mang nền di truyền của giống BT7 (bảng 1). Các cây BC5F1 mang gen mục tiêu được cho tự thụ đến F3. Tiến hành chọn chọn cá thể mang gen mục tiêu đồng hợp tử từ thế hệ BC5F3 trong vụ xuân 2015. Các cá thể được chọn gieo thành dòng, tiếp tục chọn lọc các dòng phân ly dựa trên các đặc điểm nông sinh học theo mục tiêu, từ vụ mùa 2015.

**Bảng 1. Kết quả đánh giá con lai BC5F1 trong vụ mùa 2014.**

| Tổ hợp lai | Thế hệ | Con lai F1 mang gen thơm *fgr* và gen kháng bệnh bạc lá dị hợp tử | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *fgr, xa5* | *fgr, Xa7* | *fgr, Xa4, xa5* | *fgr, xa5, Xa7* |
| (HDT8/IRBB4-5)////HDT8 | BC5F1 | 7 | - | 4 | - |
| (HDT8/IRBB5-7)////HDT8 | BC5F1 | 6 | 3 | - | 5 |
| (SH8/IRBB4-5)////SH8 | BC5F1 | 3 | - | 2 | - |
| (SH8/IRBB5-7)////SH8 | BC5F1 | 5 | 7 | - | 6 |
| (BT7/IRBB7)////BT7 | BC5F1 | - | 12 | - | - |
| (BT7/IRBB5-7)////BT7 | BC5F1 | 7 | - | - | 5 |

***Kết quả chọn lọc từ nguồn vật liệu của các tổ hợp lai đơn***

Trong phần này, chúng tôi trình bày kết quả chọn dòng lúa thơm từ các thế hệ phân ly của các tổ hợp lai đơn được khởi tạo từ vụ xuân 2010. Con lai của các tổ hợp lai được tự thụ đến thế hệ F3. Từ thế hệ F3 tiến hành chọn những cá thể đẹp, đồng thời sử dụng chỉ thị phân tử chọn kiểu gen thơm và gen kháng bệnh bạc lá ở trạng thái đồng hợp tử (bảng 2).

**Bảng 2. Kết quả chọn cá thể mang kiểu gen thơm và gen kháng bạc lá đồng hợp tử trên quần thể phân ly F3 vụ xuân 2011.**

| Tên tổ hợp lai | Thế hệ | Chọn cá thể | Chọn cá thể mang kiểu gen thơm *fgr* và gen kháng bạc lá đồng hợp tử |
|---|---|---|---|
| HT1/IRBB7 | F3 | 67 | 5 *(fgr+Xa7)* |
| HT1/(KN1/KH18) | F3 | 70 | 10 *(fgr)* |
| Nghi Hương/CSR90R | F3 | 45 | 7 *(fgr)* |
| HDT8/D604 | F3 | 95 | 12 *(fgr)* |
| AC15/IR72046 | F3 | 15 | 4 *(fgr)* |
| SH8/IRBB7 | F3 | 75 | 3 *(fgr+Xa7)* |
| N46/ĐB6 | F3 | 150 | 18 *(fgr)* |
| Nghi Hương/IRBB7 | F3 | 50 | 1 *(fgr+Xa7)* |
| BT7/IRBB5 | F3 | 68 | 6 *(fgr+xa5)* |
| Tổng số | | 635 | 66 |

Ở thế hệ F3, chọn được 66 cá thể mang gen mục tiêu ở trạng thái đồng hợp tử, trong đó có 51 cá thể mang gen mùi thơm *fgr*; 15 cá thể mang gen thơm *fgr* và 1-2 gen kháng bệnh bạc lá. Các cá thể được chọn tiếp tục được gieo thành dòng và tiến hành chọn lọc dòng phân ly từ thế hệ F4, theo mục tiêu về thời gian sinh trưởng, dạng hình, tiềm năng

năng suất. Ở thế hệ F6, các dòng chọn có độ thuần cao được kiểm tra gen thơm, gen kháng bệnh bạc lá, đánh giá mùi thơm và tính kháng bệnh bạc lá (bảng 3).

**Bảng 3. Kiểm tra gen mùi thơm và gen kháng bệnh bạc lá, đánh giá mùi thơm và tính kháng bệnh bạc lá các dòng chọn ở thế hệ F6 trong vụ xuân 2013.**

| TT | Tên dòng | Nguồn gốc | Gen mục tiêu | | Kháng bệnh bạc lá | Mùi thơm |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *Thế hệ F3* | *Thế hệ F6* | | |
| 1 | D19-9-1 | HT1/IRBB7 | *fgr, Xa7* | *fgr, Xa7* | R | Thơm nhẹ |
| 2 | D19-5-3 | HT1/IRBB7 | *fgr, Xa7* | *fgr* | M | Không thơm |
| 3 | D199-1-5 | HT1/(KN1/KD18) | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 4 | D18-10-1 | Nghi Hương/CSR90R | *fgr* | *fgr* | M | Thơm |
| 5 | D4-2-1 | HDT8/D604 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 6 | D4-3-4 | HDT8/D604 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 7 | D4-6-10 | HDT8/D604 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 8 | D9-13-7 | AC15/IR72046 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm |
| 9 | D9-9-5 | AC15/IR72046 | *fgr* | *fgr* | S | Thơm |
| 10 | D142-5-7 | SH8/IRBB7 | *fgr, Xa7* | *fgr, Xa7* | M | Không thơm |
| 11 | D248-5-7 | N46/ĐB6 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 12 | D248-7-1 | N46/ĐB6 | *fgr* | *fgr* | M | Thơm nhẹ |
| 13 | D248-9-3 | N46/ĐB6 | *fgr* | - | M | Không thơm |
| 14 | D27-5-3 | Nghi Hương/IRBB7 | *fgr, Xa7* | *fgr* | S | Thơm |
| 15 | D6-1-1 | BT7/IRBB5 | *fgr, xa5* | *fgr, xa5* | R | Thơm nhẹ |
| | BT7 | | *fgr* | - | - | Thơm |

8 dòng lúa có mùi thơm, kháng và nhiễm nhẹ với bệnh bạc lá là dòng D19-9-1, D199-1-5, D18-10-1, D4-3-4, D4-6-10, D9-13-7, D248-5-7 và D6-1-1 được đưa vào thí nghiệm so sánh trong vụ mùa 2013 và vụ xuân 2014 để chọn dòng ưu tú đưa khảo nghiệm sản xuất.

***Kết quả so sánh một số dòng lúa thơm, kháng bệnh bạc lá triển vọng***

*Đặc điểm hình thái và sinh trưởng:* Dạng cây của các dòng triển vọng đều có dạng hình gọn, thân cứng, chống đổ tốt. Chiều cao cây ở mức trung bình, dao động từ 100 đến 115 cm. Thời gian sinh trưởng của các dòng triển vọng là 100-110 ngày trong vụ mùa và 130-135 ngày trong vụ xuân, tương đương với các đối chứng BT7. Các dòng có thời gian sinh trưởng ngắn, phù hợp với cơ cấu thời vụ tại các tỉnh phía Bắc hiện nay.

*Phản ứng với sâu bệnh hại trên đồng ruộng:* Đối với một số sâu bệnh hại chính như rầy nâu, bệnh đạo ôn, khô vằn và bệnh bạc lá, các dòng lúa triển vọng thể hiện ở mức nhiễm nhẹ (điểm 0-3) so với đối chứng BT7 ở mức nhiễm nhẹ đến nhiễm (điểm 3-5).

*Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất:* Các yếu tố cấu thành năng suất: Số bông/khóm, số hạt/bông, tỷ lệ lép, khối lượng 1.000 hạt và năng suất thực thu (NSTT) được tính dựa trên năng suất của ô thí nghiệm được đưa ra trong bảng 4.

**Bảng 4. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng lúa trong thí nghiệm so sánh (vụ mùa 2013 và xuân 2014).**

| TT | Tên dòng | Số bông/khóm | | Số hạt/bông | | Tỷ lệ lép (%) | | Khối lượng 1.000 hạt (g) | | NSTT (tạ/ha) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* |
| 1 | D248-5-7 | 5,2 | 5,5 | 190 | 185 | 10,5 | 12,4 | 21,0 | 20,4 | 64,5 | 60.0 |
| 2 | D19-9-1 | 5,0 | 5,0 | 168 | 160 | 12,5 | 13,6 | 23,5 | 23,0 | 62,8 | 58.0 |
| 3 | D6-1-1 | 5,2 | 5,0 | 164 | 150 | 15,6 | 18,0 | 21,4 | 21,0 | 54,2 | 49.0 |
| 4 | D199-1-5 | 5,0 | 5,0 | 170 | 160 | 15,0 | 15,2 | 24,5 | 24,0 | 60,2 | 57.6 |
| 5 | D18-10-1 | 4,8 | 5,0 | 165 | 158 | 17,0 | 17,6 | 24,5 | 24,2 | 56,0 | 52.0 |
| 6 | D4-6-10 | 5,0 | 5,2 | 170 | 160 | 14,4 | 15,0 | 24,0 | 24,0 | 61,2 | 57.0 |
| 7 | D4-3-4 | 5,0 | 5,0 | 165 | 160 | 14,5 | 14,8 | 23,8 | 23,5 | 60,0 | 56.8 |
| 8 | D9-13-7 | 4,8 | 5,2 | 160 | 150 | 15,6 | 18,0 | 24,0 | 24,0 | 56,8 | 52.6 |
| 9 | BT7 (đ/c) | 4,8 | 5,0 | 155 | 145 | 9,5 | 10,8 | 20,0 | 19,5 | 54,5 | 50.2 |
| | *CV (%)* | | | | | | | | | *8,2* | *6.4* |
| | $LSD_{05}$ | | | | | | | | | *6,4* | *5.8* |

Dòng D248-5-7 có năng suất cao hơn giống đối chứng BT7 ở cả trong vụ xuân và vụ mùa, đồng thời đạt được năng suất đặt ra theo mục tiêu là từ 60 tạ/ha trong vụ mùa và 65 tạ/ha trong vụ xuân.

*Chất lượng gạo:* Chất lượng gạo của các dòng lúa triển vọng được đánh giá sơ bộ theo hàm lượng amylose và chất lượng ăn nếm. Kết quả đánh giá được đưa ra trong bảng 5.

**Bảng 5. Chất lượng gạo của các dòng lúa trong thí nghiệm so sánh (vụ mùa 2013 và xuân 2014 tại Viện CLT&CTP).**

| TT | Tên dòng | Hàm lượng amylose (%) | Đánh giá chất lượng | |
|---|---|---|---|---|
| | | | *Đánh giá cảm quan* | *Độ ngon* |
| 1 | D248-5-7 | 15,5 | Gạo trắng, ít bạc bụng, cơm mềm, thơm nhẹ | 3 |
| 2 | D19-9-1 | 24,5 | Gạo trắng, bạc bụng, cơm hơi cứng, thơm nhẹ | 1 |
| 3 | D6-1-1 | 18,8 | Gạo trắng, ít bạc bụng, cơm mềm, bóng, thơm nhẹ | 3 |
| 4 | D199-1-5 | 22,3 | Gạo trắng, ít bạc bụng, cơm hơi mềm, thơm nhẹ | 2 |
| 5 | D18-10-1 | 16,8 | Gạo trắng đục, cơm mềm, thơm, đậm | 3 |
| 6 | D4-6-10 | 18,5 | Gạo trắng mờ, bạc bụng, cơm mềm, thơm nhẹ | 2 |
| 7 | D4-3-4 | 25,1 | Gạo trắng, gẫy, cơm cứng, thơm nhẹ | 1 |
| 8 | D9-13-7 | 14,6 | Gạo trắng mờ, ít bạc bụng, cơm mềm, thơm nhẹ | 2 |
| 9 | BT7 | 15,2 | Gạo trắng, ít bạc bụng, cơm mềm, thơm | 3 |

Từ kết quả so sánh, chúng tôi rút ra dòng D248-5-7 đáp ứng được các tiêu chí trong mục tiêu chọn tạo về thời gian sinh trưởng, năng suất, chất lượng và khả năng chống chịu sâu bệnh hại, được đưa khảo nghiệm sản xuất từ vụ mùa 2014 và được đặt tên là giống HDT10.

***Kết quả khảo nghiệm giống HDT10***

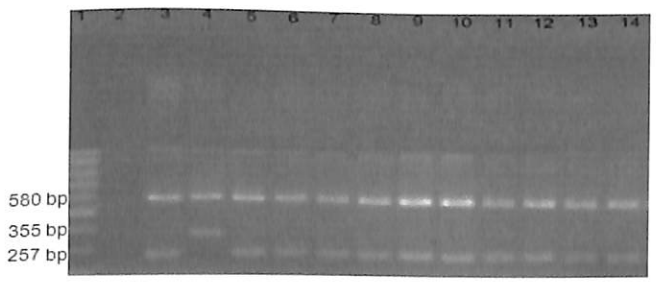
Giống lúa HDT10 được đưa khảo nghiệm quốc gia và khảo nghiệm sản xuất từ vụ mùa 2014 đến vụ mùa 2016. Đặc điểm của giống HDT10 được miêu tả trong bảng 6.

**Bảng 6. Đặc điểm giống lúa khảo nghiệm HDT10 trong so sánh với một số giống khác.**

| Đặc điểm chính | HDT10 | N46 | ĐB6 |
|---|---|---|---|
| Dạng hình | V gọn | V gọn | V gọn |
| Chiều cao cây (cm) | 107 | 105 | 95 |
| Khả năng đẻ nhánh | Trung bình | Trung bình | Trung bình |
| Dạng hạt | Thon dài | Thon dài | Tròn |
| Màu sắc hạt | Nâu nhạt | Nâu | Vàng sậm |
| Thời gian sinh trưởng vụ mùa (ngày) | 105 | 110 | 105 |
| Số hạt/bông | 180-85 | 155-165 | 160-170 |
| Tỷ lệ lép (%) | 12-13 | 17-18 | 10-12 |
| Khối lượng 1.000 hạt (g) | 21 | 23 | 25 |
| Năng suất (tấn/ha) | 6,0-6,5 | 5,4-6,2 | 6,2-7,0 |
| Đặc điểm chất lượng[1] | | | |
| *+ Hàm lượng amylose (%)* | *15,5* | *16,8* | *17,5* |
| *+ Hàm lượng protein* | *9,5* | *8,7* | *9,1* |
| *+ Gen thơm fgr* | + | + | - |
| *+ Mùi thơm (điểm)* | *2* | *2* | *1* |
| *+ Độ ngon (điểm)* | *3* | *3* | *1* |
| Phản ứng với sâu bệnh hại[2] | | | |
| *+ Bệnh bạc lá* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* |
| *+ Bệnh đạo ôn* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* |
| *+ Rầy nâu* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* | *Nhiễm vừa* |

[1]Phân tích chất lượng được thực hiện tại phòng phân tích, Viện CLT&CTP; [2]Đánh giá sâu bệnh hại nhân tạo thực hiện tại Viện Bảo vệ thực vật.

Đặc điểm kiểu gen thơm của giống HDT10 được chọn bằng chỉ thị 4 mồi, gồm: 2 mồi ngoại biên ESP và EAP nhân cả vùng gen thơm và không thơm cho kích thước băng 580 bp; 2 mồi nội biên là IFAP nhân vùng gen thơm cho kích thước băng 257 bp và mồi INSP nhân vùng gen không thơm cho cho kích thước băng 355 bp (hình 2).




**Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm PCR sử dụng chỉ thị 4 mồi, trên gel agarose 2%, ladder 100 bp để kiểm tra gen thơm *fgr* của giống lúa HDT10** (1: Size marker 1.000 bp; 2: Nước; 3: BT7; 4: Q5; từ 5 đến 14 là 10 cây mẫu của giống HDT10).

*Kết quả khảo nghiệm quốc gia giống HDT10:*

Độ thuần đồng ruộng và các yếu tố cấu thành năng suất: Giống lúa HDT10 có độ thuần cao (mức 1); số bông/khóm ở mức trung bình, từ 4,7 (vụ xuân) đến 5,0 bông/khóm (vụ mùa); số lượng hạt/bông tương đối lớn, từ 184 (vụ xuân) đến 190 hạt/bông (vụ mùa), tỷ lệ lép từ 12,2 (vụ xuân) đến 13,4% (vụ mùa); dạng hạt nhỏ thon dài, khối lượng 1.000 hạt là 20,7 (vụ xuân) và 20,2 g (vụ mùa) (bảng 7).

**Bảng 7. Độ thuần đồng ruộng và các yếu tố cấu thành năng suất của giống lúa HDT10 trong khảo nghiệm quốc gia vụ mùa 2014 và xuân năm 2015.**

| TT | Tên giống | Độ thuần (điểm) | | Số bông/ khóm | | Số hạt/bông | | Tỷ lệ lép(%) | | Khối lượng 1.000 hạt (g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* | *Xuân* | *Mùa* |
| 1 | HDT10 | 1 | 1 | 4,7 | 5,0 | 184 | 190 | 12,2 | 13,4 | 20,7 | 20,2 |
| 2 | BT7 | 1 | 1 | 4,9 | 4,9 | 158 | 148 | 10,8 | 9,5 | 19,5 | 18,5 |
| 3 | HT1 | 1 | 1 | 4,4 | 4,8 | 163 | 162 | 13,2 | 18,3 | 24,2 | 23,5 |

(Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia).

Mức độ nhiễm sâu bệnh trên đồng ruộng: Qua kết quả khảo nghiệm quốc gia cho thấy, giống lúa HDT10 có khả năng kháng tốt với sâu bệnh hại trên đồng ruộng: Đối với bệnh bạc lá, ở mức kháng (điểm 1-3), trong khi giống BT7 ở mức điểm 3-5. Các loại sâu bệnh khác (như sâu cuốn lá, khô vằn, rầy nâu), HDT10 có mức nhiễm (điểm 0-1) nhẹ hơn đối chứng BT7 (điểm 3-5).

Năng suất tại các điểm khảo nghiệm: Kết quả khảo nghiệm cho thấy, năng suất bình quân của giống HDT10 tại các điểm khảo nghiệm đạt 54,18-57,69 tạ/ha, cao hơn hẳn năng suất của giống lúa BT7 (47,76-51,49 tạ/ha) và tương đương với năng suất của giống HT1 (55,92-56,73 tạ/ha). Tại điểm khảo nghiệm Hưng Yên, năng suất của giống HDT10 đạt 60,89-67,42 tạ/ha, cao hơn hẳn năng suất của giống lúa HT1 ở cả vụ xuân và vụ mùa (bảng 8).

**Bảng 8. Năng suất của giống lúa HDT10 tại các điểm khảo nghiệm quốc gia**

Vụ xuân 2015

| Tên giống | Điểm khảo nghiệm | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Hưng Yên* | *Hải Dương* | *Thái Bình* | *Bắc Giang* | *Hòa Bình* | *Thanh Hóa* | *Nghệ An* | *Hà Tĩnh* | *Bình quân* |
| HDT10 | 67,42 | 65,99 | 55,24 | 60,77 | 52,33 | 56,53 | 61,73 | 41,53 | 57,69 |
| BT7 | 55,0 | 59,59 | 49,01 | 45,38 | 54,00 | 49,97 | 63,33 | 35,67 | 51,49 |
| HT1 | 64,56 | 64,56 | 51,77 | 52,32 | 55,67 | 60,90 | 63,47 | 40,60 | 56,73 |
| *CV (%)* | *6,3* | *5,4* | *5,7* | *4,1* | *5,3* | *7,6* | *4,3* | *6,4* | |
| $LSD_{0,05}$ | *6,61* | *6,07* | *4,83* | *3,73* | *4,92* | *6,98* | *4,85* | *4,13* | |

Vụ mùa 2015

| Tên giống | Điểm khảo nghiệm | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Hưng Yên* | *Hải Dương* | *Thái Bình* | *Bắc Giang* | *Hòa Bình* | *Yên Bái* | *Thanh Hóa* | *Nghệ An* | *Bình quân* |
| HDT10 | **60,89** | 56,49 | 59,48 | 53,00 | 48,33 | 48,00 | 56,17 | 51,07 | 54,18 |
| BT7 | 48,00 | 49,72 | 45,09 | 40,36 | 52,00 | 48,00 | 48,30 | 50,60 | 47,76 |
| HT1 | 59,96 | 56,68 | 59,62 | 47,41 | 53,33 | 61,60 | 53,07 | 55,67 | 55,92 |
| *CV (%)* | *5,9* | *5,0* | *5,7* | *3,7* | *3,7* | *5,9* | *3,9* | *4,4* | |
| $LSD_{0,05}$ | *5,58* | *4,81* | *5,18* | *3,03* | *3,10* | *5,61* | *3,31* | *4,00* | |

(Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia).

Đặc điểm về chất lượng: Giống lúa HDT10 có hạt gạo thon dài, hàm lượng amylose khoảng 15,5%, tỷ lệ gạo lật, gạo sát, tỷ lệ trắng trong cao hơn gạo của giống BT7 và HT1. Chất lượng ăn nếm được đánh giá ở mức khá (15,5 điểm), tương đương BT7, có mùi thơm nhẹ hơn mùi thơm của BT7 (bảng 9).

**Bảng 9. Chất lượng của giống lúa HDT10 khảo nghiệm quốc gia (vụ mùa 2015).**

Chất lượng hạt theo phân tích trong vụ mùa 2015

| TT | Tên giống | Tỷ lệ gạo lật (%) | Tỷ lệ gạo xát (%) | Tỷ lệ gạo nguyên (%) | Tỷ lệ trắng trong (%) | Nhiệt hóa hồ (%) | Hàm lượng amylose (%) | Dài (mm) | Rộng (mm) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | HDT10 | 80,97 | 70,96 | 86,30 | 83,85 | Trung bình | 15,49 | 5,7 | 2,78 |
| 2 | BT7 | 77,34 | 67,81 | 89,38 | 48,85 | Trung bình | 14,6 | 5,79 | 2,94 |
| 3 | HT1 | 79,79 | 68,98 | 72,59 | 62,28 | Trung bình | 16,86 | 6,41 | 3,12 |

Chất lượng ăn nếm đánh giá trong vụ mùa 2015

| TT | Tên giống | Mùi thơm (điểm) | Độ mềm (điểm) | Độ trắng (điểm) | Vị ngon (điểm) | Điểm tổng hợp | Xếp hạng |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | HDT10 | 3 | 4 | 5 | 3,5 | 15,5 | Khá |
| 2 | BT7 | 4 | 4 | 5 | 3,5 | 16,5 | Khá |
| 3 | HT1 | 3 | 4 | 5 | 3 | 15 | Trung bình |

(Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia).

Từ kết quả khảo nghiệm quốc gia, giống HDT10 đã được Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống và sản phẩm cây trồng quốc gia kết luận là giống có triển vọng, có nhiều đặc điểm tốt và đề nghị mở rộng ra sản xuất.

*Kết quả khảo nghiệm sản xuất giống lúa HDT10:*

Từ vụ xuân 2015 đến vụ xuân 2017, giống lúa HDT10 đã được đưa trồng thử nghiệm tại các vùng đại diện cho khu vực phía Bắc: Thái Nguyên, Hải Dương, Thái Bình, Bắc Giang, Nam Định, Ninh Bình, Hà Nội, Thanh Hóa, Nghệ An. Tổng diện tích thử nghiệm là 120 ha. Năng suất trung bình của giống lúa HDT10 trong sản xuất thử đạt từ 63,0 tạ/ha (vụ mùa) đến 69 tạ/ha (vụ xuân), cao hơn 30-34% so với năng suất của giống BT7 và 15-20% so với năng suất của giống HT1. Chất lượng gạo của giống HDT10 được người sản xuất đánh giá tại các điểm khảo nghiệm: Hạt gạo đẹp, trắng trong, thon dài; tỷ lệ gạo xát và gạo nguyên cao; cơm mềm dẻo, thơm nhẹ, có vị đậm, ăn ngon tương đương BT7, vượt trội so với chất lượng của giống HT1. Qua đánh giá tại các vùng thử nghiệm cho thấy, giống HDT10 có độ ổn định tương đối tốt, khả năng thích ứng rộng. Người sản xuất đánh giá cao về giống HDT10 với một số đặc điểm vượt trội BT7 như năng suất, sức sống tốt, chống đổ và khả năng chống chịu.

## Kết luận

Sử dụng các chỉ thị phân tử trong lai tạo (MABC) để chuyển gen kháng bệnh bạc lá *Xa4*, *xa5* và *Xa7* vào các giống lúa thơm chất lượng đang trồng phổ biến hiện nay: Kết quả đến vụ mùa 2014 đã tạo 72 cây BC5F1 từ các giống lúa HDT8, SH8 và BT7 mang từ 1 đến 2 gen kháng trong các gen *Xa4*, *xa5* và *Xa7*. Các cá thể này được cho tự thụ để chọn dòng thuần lúa thơm mang gen kháng bệnh bạc lá từ các thế hệ phân ly.

Sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn lọc (MAS) để chọn các giống lúa thơm, kháng bệnh bạc lá: Kết quả chọn tạo đã đưa ra được giống lúa HDT10 cho sản xuất. Qua kết quả khảo nghiệm quốc gia và khảo nghiệm sản xuất cho thấy, giống lúa HDT10 có thời gian sinh trưởng ngắn (105 ngày trong vụ mùa), thích ứng tốt cho sản xuất tại các tỉnh phía Bắc, năng suất trung bình đạt 6,0-6,5 tấn/ha, kháng khá với bệnh bạc lá và các sâu bệnh hại khác, chất lượng khá (15,5 điểm), gạo trắng đẹp, cơm mềm, có mùi thơm. Giống lúa HDT10 đã đáp ứng được mục tiêu chọn tạo, được người sản xuất đánh giá cao và đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận cho sản xuất thử từ tháng 7/2017.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO


[1] T.W. Mew, A.M. Alvarez, J.E. Leach, J. Swings (1993), "Focus on bacterial blight of rice", *Plant Dis.*, **77**, pp.5-12.

[2] L.M.T. Bradbury, T.L. Fitzgerald, R.J. Henry, Q. Jin, D.L.E. Waters (2005), "The gene for fragrance in rice", *Plant Biotechnol. J.*, **3**, pp.363-370.

[3] S.N. Ahn, C.N. Bollich, S.D. Tanksley (1992), "RFLP Tagging of a Gene for Aroma in Rice", *Theoretical and Applied Genetics*, **84**, pp.825-828.

[4] L.M.T. Bradbury, T.L. Fitzgerald, R.J. Henry, Q. Jin, R.F. Reinken, D.L.E. Waters (2005), "A perfect marker for fragrance genotyping in rice", *Molecular Breeding*, **16**, pp.279-283.

[5] X. Chun, H. Chen, X. Zhu (2012), "Identification, Mapping, Isolation of the Genes Resisting to Bacterial Blight and Application in Rice", *Molecular Plant Breeding*, **3(12)**, pp.121-131.

[6] Dương Xuân Tú (2015), "Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lúa thơm kháng bệnh bạc lá", *Luận án tiến sỹ*, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

[7] S. Yoshimura, A. Yoshimura, R. Nelson, T.W. Mew, N. Iwata (1992), "RFLP analysis of introgressed chromosomal segments in three near isogenic lines of rice for bacterial blight resistance genes, *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*", *Jpn. J. Breed*, **67**, pp.29-37.

[8] S. Taura, T.T. Bui, M. Matsumoto, S.S. Aye, H.T. Phan (2004), "Gene distribution resistance to bacterial blight in North Vietnam rice varieties", *Abstract of the fist international Conference on Bacterial Blight of rice*, pp.42-46.

[9] S. Yoshimura, et al. (1998), "Expression of *Xa1*, a bacterial blight resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **95**, pp.1663-1668.

[10] J.J. Doyle (1990), "Isolation of plant DNA from fresh tissue", *Focus*, **12**, pp.13-15.

[11] Nguyễn Thị Lang, Bùi Chí Bửu (2004), "Xác định gen *fgr* điều khiển tính trạng mùi thơm bằng phương pháp Fine Mapping với microsatellites", *Hội nghị quốc gia về chọn tạo giống lúa*, tr.192-200.

[12] I.S.H. Kumar, G.S. Khush (1986), "Genetics of amylose content in rice (*Oryza sativa* L.)", *J. Genet.*, **65**, pp.1-11.

[13] S. Sadasivam, A. Manickam (1992), *Biochemical Methods for Agricultural Sciences*, Wiley Eastern Ltd., New Delhi.

[14] International Rice Research Institute (1996), *Standarrd Evaluation System for Rice*.