

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ADN CHỌN TẠO GIỐNG LÚA BC15-02 KHÁNG BỆNH ĐẠO ÔN

Phạm Thiên Thành^{1*}, Tăng Thị Diệp¹, Nguyễn Trí Hoàn¹

Dương Xuân Tú¹, Tống Thị Huyền¹, Lê Thị Thanh¹

TÓM TẮT

Bệnh đạo ôn hại lúa do nấm *Pyricularia oryzae* gây ra là một trong những bệnh hại rất nghiêm trọng ở Việt Nam hiện nay. Có nhiều biện pháp quản lý bệnh hại, trong đó việc sử dụng giống lúa mang gen kháng bệnh được xem như là biện pháp hữu hiệu, ít tốn kém và bảo vệ môi trường. Ngày nay, với tiến bộ của công nghệ sinh học, chỉ thị phân tử ADN được sử dụng hỗ trợ quá trình lai tạo và chọn lọc rất hiệu quả. Gen *Pita* được xác định là gen kháng hữu hiệu với các chủng nấm đạo ôn ở các tỉnh phía Bắc. Trên cơ sở giống lúa BC15 có nhiều ưu điểm như năng suất cao, chất lượng tốt, khả năng thích ứng rộng, đã sử dụng làm vật liệu nhận gen *Pita* nhằm tạo giống lúa mới. Chỉ thị phân tử RM7102 được sử dụng hỗ trợ quá trình lai trở lại (MABC) và chọn lọc cá thể phân ly. Qua 5 thế hệ hồi giao, chọn lọc các dòng tự thụ mang đặc điểm ưu tú của giống BC15 gốc. Giống lúa triển vọng BC15-02 ở thế hệ BC₅F₅ qua 3 vụ khảo nghiệm quốc gia được đánh giá có các đặc điểm nông sinh học tốt. Thời gian sinh trưởng 113 ngày trong vụ mùa. Năng suất trung bình 65-75 tạ/ha, thâm canh tốt có thể đạt 80 tạ/ha. Khả năng thích ứng rộng, phù hợp cho sản xuất vụ xuân và vụ mùa tại các tỉnh phía Bắc. Chất lượng gạo trắng trong, ít bạc bụng, tỷ lệ gạo xát cao (69%), hàm lượng amylose 17,5%, cơm mềm dẻo, đậm, ngon có mùi thơm nhẹ. Đây là giống lúa triển vọng mang lại hiệu quả kinh tế cao, giảm thiểu ô nhiễm môi trường từ việc hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Giống lúa BC15-02 được công nhận sản xuất thử theo Quyết định số 330/QĐ-TT-BNN, ngày 10 tháng 10 năm 2019.

Từ khóa: Lúa (*Oryza sativa* L.), gen kháng đạo ôn, MABC.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn hại lúa do nấm *Pyricularia oryzae* đã được ghi nhận trên nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Nấm có khả năng gây hại trên cây lúa cả ở giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng và sinh trưởng sinh thực, mức độ gây hại được đánh giá là nghiêm trọng, thiệt hại về năng suất tới 65% [1]. Để hạn chế thiệt hại do nấm đạo ôn gây ra, nghiên cứu chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn luôn được xem như là biện pháp hữu hiệu, ít tốn kém và ít ảnh hưởng đến môi trường.

Cho đến nay, các nhà khoa học đã xác định và lập bản đồ khoảng 100 gen kháng bệnh đạo ôn trên các vùng nhiễm sắc thể khác nhau của cây lúa, thông qua phân tích liên kết và di truyền rộng, trong đó, phần lớn là đơn gen trội [2-7]. Bên cạnh đó, cũng có một số ít gen trội không hoàn toàn hoặc gen lặn [8]. Một số gen kháng được các nhà

khoa học thuộc Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI) sử dụng tạo dòng đẳng gen trên nền di truyền của 2 giống lúa bản địa là CO39 (20 dòng) và Lijiangxintuanheigu (31 dòng). Các dòng đẳng gen này là nguồn vật liệu quý, có thể sử dụng trong lai tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Với thành tựu của khoa học công nghệ hiện nay thì kỹ thuật phân tử cho phép nhận diện gen kháng mục tiêu trong các giống lúa và được sử dụng như là công cụ hỗ trợ trong quá trình lai chuyển gen kháng và chọn giống theo mục tiêu.

Giống lúa thuần BC15 là một trong các giống lúa thuần chủ lực ở các tỉnh phía Bắc, sinh trưởng mạnh, đẻ nhánh khỏe, tái sinh mạnh, có dạng hình bông to, nhiều bông, năng suất cao, trung bình từ 65 đến 75 tạ/ha, nếu thâm canh tốt có thể đạt 80 - 85 tạ/ha. Giống lúa BC15 có khả năng thích ứng rộng và ổn định trên nhiều chân đất, chống chịu chua, úng trũng và rét khá, có khả năng phục hồi mạnh sau thiên tai (rét hoặc lụt), cấy được cả hai vụ xuân và mùa (ở miền Bắc) và đông xuân - hè thu (ở miền Trung), có chất lượng hạt gạo trong,

¹ Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

*Email: thanhptm@gmail.com

com dẻo và ngon, được người tiêu dùng ưa chuộng. BC15 đã trở thành giống lúa có giá trị hàng hóa, tăng thu nhập cho bà con nông dân. Tuy nhiên, giống lúa BC15 có nhược điểm là nhiễm nặng đạo ôn trong vụ xuân (cấp 7 - 9) dẫn đến nhiều rủi ro trong quá trình canh tác giống lúa này. Để tiếp tục phát huy các đặc tính tốt, đồng thời hạn chế nhược điểm của giống, đã sử dụng giống lúa BC15 làm vật liệu lai tạo, ứng dụng chỉ thị phân tử trong quá trình chọn lọc, tạo ra giống lúa mới có năng suất cao, chất lượng tốt, kháng bệnh đạo ôn để phục vụ sản xuất ở các tỉnh phía Bắc.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lúa BC15 được canh tác phổ biến trong sản xuất. Dòng đăng gen IRBL12 (IRBLta-K1 mang gen *Pita* kháng bệnh đạo ôn) nhập nội từ Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI). Chỉ thị phân tử RM7102 nhận diện gen *Pita* [9].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lai tạo

Lai tạo theo phương pháp hồi giao có ứng dụng chỉ thị phân tử (MABC) chọn cá thể mang gen mục tiêu kết hợp chọn lọc kiểu hình. Cá thể mang gen *Pita* được sử dụng lai backcross với giống lúa BC15 đến thế hệ BC₅F₁ thì cho tự thụ. Ứng dụng chỉ thị phân tử chọn lọc phân ly phả hệ.

2.2.2. Phương pháp tách chiết ADN

Tách chiết ADN lá lúa theo phương pháp của Zheng và cs (1995) [10] có cải tiến. Khoảng 1 mg lá tươi ở giai đoạn 4 tuần tuổi được nghiền trong 800 μ l dung dịch tách chiết (50 mM NaCl; 1% SDS; 50 mM EDTA-2Na, pH 8,0; 10 mM Tris HCl, pH 8,0). Thêm 400 μ l hỗn hợp Phenol : Chloroform : Isolamylalcohol theo tỷ lệ 25 : 24 : 1 (V/V), tiếp đó ly tâm 12.000 vòng/phút trong 30 giây ở 4°C, sau đó thu phần dịch nổi (loại bỏ kết tủa). Thêm 800 μ l hỗn hợp Chloroform : Isolamylalcohol theo tỷ lệ 24 : 1 (V/V), ly tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút ở 4°C, thu phần dịch nổi. Cho 800 μ l ethanol (96%) vào trộn đều rồi ly tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút ở 4°C. Thu kết tủa, rửa sạch bằng ethanol 70% và làm khô tự nhiên ở nhiệt

độ phòng. Hòa tan kết tủa bằng 50 μ l dung dịch TE (10 mM Tris HCl, pH 8,0 và 1 mM EDTA, pH 8,0), bảo quản ở -20°C.

2.2.3. Kỹ thuật PCR

Gen kháng *Pita* được phát hiện bằng chỉ thị RM7102 [11]. Phản ứng PCR được tiến hành với tổng thể tích 25 μ l gồm những thành phần sau: 2,5 μ l ADN genome; 15,4 μ l H₂O; 2,5 μ l 10X DreamTaq Buffer; 1 μ l mỗi xuôi; 1 μ l mỗi ngược; 2,5 μ l dNTPs; 0,1 μ l Taq polymerase. Chu trình nhiệt bao gồm các bước sau: Bước 1: 94°C - 5 phút; bước 2: 94°C - 30 giây; bước 3: 55°C - 30 giây; bước 4: 72°C - 1 phút; lặp lại 35 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4; bước 5: 72°C - 7 phút, giữ nhiệt độ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel polyacrylamide 4% với máy Sequence Gen (BioRad Laboratories Inc., Hercules, California, USA) trong đệm 0,5 x TBE và hiện sản phẩm điện di bằng phương pháp nhuộm bạc [12].

2.2.4. Lấy nhiễm nhân tạo

Lấy nhiễm bệnh nhân tạo được thực hiện theo phương pháp nướng mạ [13]. Cây mạ ở giai đoạn 21 ngày tuổi được phun dịch bào tử nấm đạo ôn với nồng độ từ 1×10^5 đến 5×10^5 bào tử/ml. Khay mạ được giữ trong điều kiện 20 giờ tối với nhiệt độ 25°C, ẩm độ trên 90%. Sau đó đưa cây mạ ra điều kiện nhiệt độ 25 - 30°C, độ ẩm trên 90%. Sau lấy nhiễm được 7 ngày, đánh giá phản ứng kháng/nhiễm của giống. Cấp bệnh được ghi nhận trên từng cây, 12 cây/lần nhắc, lặp lại 3 lần. Phản ứng từ cấp 0 đến cấp 3 được xem là kháng cao, từ cấp 4 - 5 là kháng vừa và cấp 6 - 9 được xem là nhiễm [13].

2.2.5. Phương pháp đánh giá đặc điểm nông sinh học

- Phương pháp khảo nghiệm thực hiện theo “Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa” [14].

- Phân tích tỷ lệ gạo lật, gạo xát và gạo nguyên theo TCVN 7983-2015 [15]; xác định tỷ lệ trắng trong theo TCVN 8372: 2010 [16]; phân tích nhiệt độ hóa hồ theo TCVN 5715-1993 [17]; xác định hàm lượng amylose theo TCVN 5716-2: 2017 [18]; đánh giá chất lượng cảm quan cơm theo TCVN 8373: 2010 [19].

- Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa hình của chỉ thị phân tử ADN

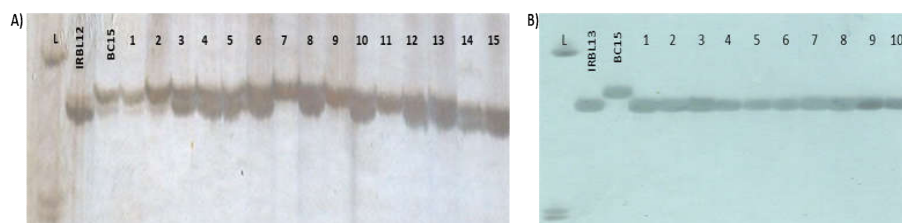
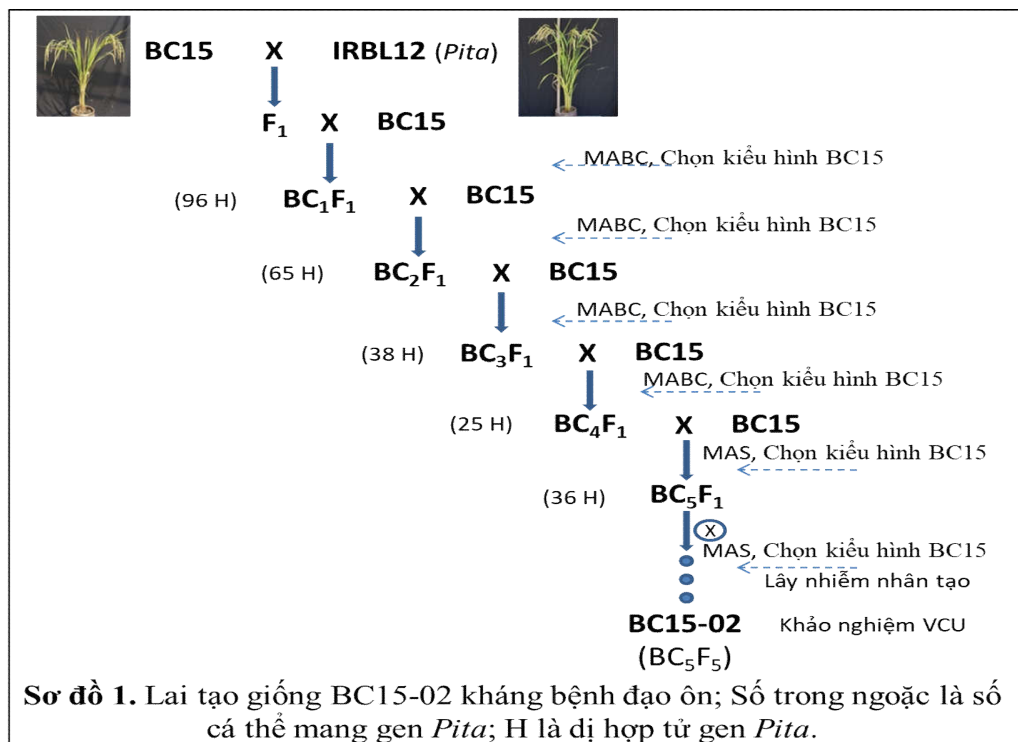
Gen *Pita* được xác định là gen kháng hữu hiệu với các chủng nấm đạo ôn tại các tỉnh phía Bắc [20]. Để ứng dụng chỉ thị phân tử hỗ trợ quá trình chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn, đã đánh giá mức độ đa hình của chỉ thị RM7102 liên kết với gen kháng *Pita* trên nhiễm sắc thể số 12. Chỉ thị RM7102 cho kích thước đoạn nhân gen mục tiêu *Pita* trên dòng mang gen IRBL12 là 178 bp, còn trên giống BC15 không mang gen *Pita* là 182 bp (Hình 1). Chỉ thị RM7102 là đồng trội có thể nhận

diện gen mục tiêu ở trạng thái dị hợp tử nên khả năng ứng dụng cao.



Hình 1. Đánh giá đa hình chỉ thị RM7102 liên kết với gen *Pita* trên giống mang gen IRBL12 và giống BC15 không mang gen (L: Lader; 1-5: BC15; 6-7: IRBL12)

3.2. Ứng dụng chỉ thị phân tử ADN lai tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn



Hình 2. Dùng chỉ thị RM7102 kiểm tra kiểu gen *Pita* trong quần thể BC₁F₁ (A) và BC₅F₅ (B) của tổ hợp lai BC15/IRBL12 (L: lader; IRBL12; BC15; A: 1-15 các cá thể BC₁F₁; B: 1-10 cá thể BC₅F₅)

Giống lúa BC15 được lai với dòng đẳng gen F₁ được lai trở lại với giống lúa BC15. Quần thể IRBL12 mang gen *Pita* kháng bệnh đạo ôn. Con lai BC₁F₁ được đánh giá kiểu gen *Pita* bằng ứng dụng

chỉ thị phân tử RM7102 (Hình 2A: cá thể số 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 14 và 15 mang kiểu gen dị hợp tử). Thế hệ BC₁F₁ đã chọn được 96 cá thể mang gen *Pita* ở trạng thái dị hợp tử. Số cá thể mang gen mục tiêu này được trồng trong nhà lưới và đánh giá kiểu hình. Cá thể có kiểu hình gần tương đồng với giống BC15 được chọn làm vật liệu cho lai trở lại ở thế hệ tiếp theo. Chu trình này được thực hiện liên tục. Thế hệ BC₂F₁ chọn được 65 cá thể mang gen, thế hệ BC₃F₁ chọn được 38 cá thể mang gen, thế hệ BC₄F₁ chọn được 25 cá thể mang gen và thế hệ BC₅F₁ chọn được 36 cá thể mang gen *Pita*. Từ thế hệ BC₅F₁ đã cho tự thụ chọn lọc phân ly (Pedigree) có ứng dụng chỉ thị phân tử chọn cá thể mang gen mục tiêu. Quần thể BC₅F₂ được lấy nhiễm bệnh đạo ôn kết hợp xác định kiểu gen mục tiêu (*Pita*). Đến thế hệ BC₅F₅ chọn được dòng 70-1-1-1-11-3 đồng hợp tử gen *Pita*, đặt tên là BC15-02 (Sơ đồ 1, Hình 2B). Giống BC15-02 được gửi khảo nghiệm VCU và khảo nghiệm diện rộng tại các tỉnh phía Bắc từ vụ xuân 2018.

3.3. Kết quả khảo nghiệm giống lúa BC15-02

Giống lúa BC15-02 được gửi khảo nghiệm quốc gia từ vụ xuân 2018. Kết quả đánh giá các đặc điểm nông sinh học và các yếu tố cấu thành năng suất cho thấy đây là giống cảm ôn, có thể gieo cấy

được cả 2 vụ/năm. Thời gian sinh trưởng (TGST) thuộc nhóm trung ngày (vụ xuân 137 ngày, vụ mùa 113 ngày). Chiều cao cây trung bình từ 115-120 cm. Khả năng đẻ nhánh khá, số bông/khóm đạt 5,3 - 5,7 bông. Số hạt/bông đạt 180 - 200 hạt. Tỷ lệ lép trung bình từ 12 - 17%. Khối lượng 1.000 hạt đạt 24 g. Năng suất giống lúa BC15-02 tại các điểm khảo nghiệm diện hẹp vụ xuân năm 2018 dao động từ 66 - 79 tạ/ha, cao hơn năng suất của giống lúa BC15 (68,9 tạ/ha) và đạt năng suất bình quân trong vụ mùa là 59,5 tạ/ha, trong khi giống BC15 chỉ đạt 57 tạ/ha. Trong vụ xuân năm 2019, năng suất bình quân của giống BC15-02 đạt 66,68 tạ/ha, giống BC15 đạt 64,4 tạ/ha (Bảng 1). Giống BC15-02 có tỷ lệ gạo lứt 81%, gạo xát 69%, tỷ lệ trắng trong 75-88%, nhiệt độ hóa hồ trung bình và hàm lượng amylose là 17%. Giống BC15-02 được kế thừa các đặc điểm chất lượng của giống BC15 nên có cơm trắng, mềm, đậm và có mùi thơm nhẹ (Bảng 2 và 3). Bên cạnh đó, khi được tích hợp gen *Pita* thì giống lúa BC15-02 thể hiện tính kháng bệnh đạo ôn tốt hơn hẳn giống gốc BC15. Giống BC15-02 có khả năng kháng bệnh đạo ôn điểm 3 trong lây nhiễm nhân tạo, điểm 0-1 trong điều kiện đồng ruộng (Bảng 4, hình 3).

Bảng 1. Năng suất khảo nghiệm diện hẹp giống lúa BC15-02

Tên giống	Điểm khảo nghiệm					
	Hưng Yên	Thái Bình	Yên Bái	Hòa Bình	Thanh Hóa	Bình quân
Vụ xuân năm 2018						
BC15-02	68,4	66,0	79,8	70,3	70,3	71,0
BC15	71,6	60,3	70,3	71,0	74,1	68,9
CV (%)	4,5	6,0	3,7	4,6	4,1	
LSD _{0,05}	5,15	7,17	4,09	5,03	4,5	
Vụ mùa năm 2018						
BC15-02	58,08	53,84	68,0	70,0	47,6	59,50
BC15	62,52	41,68	67,33	64,93	48,97	57,09
CV (%)	5,6	6,5	6,2	6,2	6,5	
LSD _{0,05}	5,86	4,76	6,96	7,00	5,29	
Vụ xuân năm 2019						
Giống	Hưng Yên	Thái Bình	Yên Bái	Nghệ An	Thanh Hóa	Bình quân
BC15-02	66,52	69,03	72,60	67,77	57,47	66,68

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

BC15	65,3	70,51	74,23	60,53	51,9	64,40
CV (%)	5,6	5,2	5,5	6,4	5,2	
LSD _{0,05}	7,0	6,33	7,52	8,13	4,9	

Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia.

Bảng 2. Chất lượng gạo BC15-02

Tên giống	Tỷ lệ gạo lật (%)	Tỷ lệ gạo xát (%)	Tỷ lệ trắng trong (%)	Nhiệt độ hóa hồ	Hàm lượng amylose (%)
Vụ xuân năm 2018					
BC15-02	81,26	69,56	77,09	TB	17,87
BC15	80,99	67,75	78,56	TB	17,52
Vụ mùa năm 2018					
BC15-02	81,26	69,07	88,12	TB	17,47
BC15	81,63	67,71	80,52	TB	17,70
Vụ xuân năm 2019					
BC15-02	81,04	61,33	75,84	TB	16,68
BC15	81,31	72,35	70,1	TB	16,32

Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia.

Bảng 3. Chất lượng ăn nếm của giống lúa BC15-02

Tên giống	Mùi thơm (điểm)	Độ mềm (điểm)	Độ trắng (điểm)	Vị ngon (điểm)	Điểm tổng hợp	Xếp hạng
BC15-02	2,0	4,1	5,0	3,1	14,2	Trung bình
BC15	2,0	4,1	5,0	3,1	14,1	Trung bình

Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia, vụ xuân 2019.

Bảng 4. Mức độ nhiễm sâu, bệnh của giống lúa BC15-02

Giống	Đạo ôn	Bạc lá	Rầy nâu
BC15-02*	3	7	7
BC15-02**	1	1	1

Nguồn: * Lấy nhiễm nhân tạo, Viện Bảo vệ Thực vật. ** Đánh giá đồng ruộng, Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia.



Hình 3. Mức độ kháng bệnh đạo ôn trên đồng ruộng của giống BC15-02 ở giai đoạn đẻ nhánh và trổ bông

Ghi chú: Giống BC15 nhiễm nặng đạo ôn lá và cổ bông, giống BC15-02 kháng cao với đạo ôn lá và cổ bông.

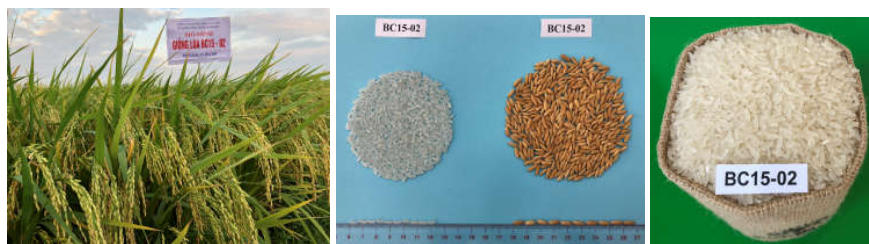
Trong điều kiện khảo nghiệm diện rộng, giống lúa BC15-02 thể hiện ưu thế hơn giống đối chứng BC15. Năng suất vụ mùa năm 2018 đạt 64 - 68,8 tạ/ha, cao hơn đối chứng 8,1 - 9,7%. Vụ xuân

năm 2019 giống BC15-02 cho năng suất 71,3 tạ/ha, cao hơn giống đối chứng BC15 (64,6 tạ/ha) là 10,4% (Bảng 5, hình 4).

Bảng 5. Kết quả khảo nghiệm diện rộng

Địa điểm	BC15-02		BC15		% năng suất vượt đối chứng
	TGST (ngày)	Năng suất (tạ/ha)	TGST (ngày)	Năng suất (tạ/ha)	
Vụ mùa năm 2018					
Điện Biên	115	68,8	115	62,7	9,7
Hải Dương	113	64,0	113	59,2	8,1
Nghệ An	110	65,8	110	60,2	9,3
Trung bình		66,2		60,7	9,1
Vụ xuân năm 2019					
Điện Biên	138	72,8	138	66,7	9,1
Hải Dương	140	71,0	140	62,2	14,1
Nghệ An	130	70,2	130	65,0	8,0
Trung bình		71,3		64,6	10,4

Nguồn: Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia.



Hình 4. Khảo nghiệm diện rộng, hình thái hạt thóc và hạt gạo giống lúa BC15-02

4. KẾT LUẬN

Đã lai tạo được giống lúa BC15-02 mang gen *Pita* kháng bệnh đạo ôn bằng phương pháp lai backcross có ứng dụng chỉ thị phân tử RM7102. Giống lúa BC15-02 có thời gian sinh trưởng 129-137 ngày trong vụ xuân và 113 ngày trong vụ mùa, năng suất trung bình từ 65 - 75 tạ/ha, gạo trắng trong, ít bạc bụng, tỷ lệ gạo xát cao (69,5%), hàm lượng amylose 17,5%, cơm mềm dẻo, đậm, ngon có mùi thơm nhẹ.

Giống lúa BC15-02 có khả năng thích ứng rộng, kháng bệnh đạo ôn, phù hợp cho sản xuất vụ xuân và vụ mùa tại các tỉnh phía Bắc. Giống lúa BC15-02 được công nhận sản xuất thử theo quyết định số 330/QĐ-TT-BNN, ngày 10 tháng 10 năm 2019.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Li, Y. B., C. J. Wu, G. H. Jiang, L. Q. Wang and Y. Q. He (2007). Dynamic analyses of rice blast resistance for the assessment of genetic and environmental effects. *Plant Breed.*, 126: 541-547.
2. Ballini, E., J. B. Morel, G. Droc, A. Price, B. Courtois, J. L. Notteghem and D. Tharreau (2008). A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 21: 859-868.
3. Carrillo M. G. C., F. Martin, M. Variar, J. C. Bhatt, A. L. Perez-Quintero, H. Leung, J. E. Leach and C. M. Vera Cruz (2021). Accumulating candidate genes for broad-spectrum resistance to

- rice blast in a drought-tolerant rice cultivar. *Sci Rep.* Nov 2;11(1):21502. doi: 10.1038/s41598-021-00759-9. PMID: 34728643; PMCID: PMC8563964.
4. Dong L., S. Liu, M. S. Kyaing, P. Xu, D. Tharreau, W. Deng, X. Li, Y. Bi, L. Zeng, J. Li, J. Zhou, D. Tao and Q. Yang (2020). Identification and Fine Mapping of *Pi69(t)*, a New Gene Conferring Broad-Spectrum Resistance Against *Magnaporthe oryzae* From *Oryza glaberrima* Steud. *Front Plant Sci.* 11:1190. doi: 10.3389/fpls.2020.01190. PMID: 32849738; PMCID: PMC7426465.
 5. Huang, H., L. Huang, G. Feng, S. Wang, Y. Wang, J. Liu, N. Jiang, W. Yan, L. Xu, P. Sun, Z. Liu, S. Pan, X. Liu, Y. Xiao, E. Liu, L. Dai and G. Wang (2010). Molecular mapping of the new blast resistance genes *Pi47* and *Pi48* in the durably resistant local rice cultivar Xiangzi 3150. *Phytopathology*, 101: 620-626.
 6. Xiao, W. M., Q. Y. Yang, H. Wang, T. Guo, Y. Z. Liu, X. Y. Zhu and Z. Q. Chen (2011). Identification and fine mapping of a resistance gene to *Magnaporthe oryzae* in a space-induced rice mutant. *Mol. Breed.*, 28: 303-312.
 7. Mackill, D. J., and J. M. Bonman (1992). Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*, 82: 746-749.
 8. Oka, H. I., and K. M. Lin (1957). Genetic analysis of resistance to blast disease in rice (by biometrical genetic method). *Jpn. Genet.*, 32: 20-27.
 9. McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.* 9[Suppl]: 257-279.
 10. Zheng, K., N. Huang, J. Bennett and G.S. Khush (1995). PCR-Based Marker-Assisted Selection in Rice Breeding. *IRRI Discussion Paper Series No. 12*, International Rice Research Institute, Manila.
 11. Koide, Y., N. Kobayashi, D. Xu and Y. Fukuta (2009). Resistance Genes and Selection DNA Markers for Blast Disease in Rice (*Oryza sativa* L.). *JARQ* 43 (4), 255-280.
 12. Panaud, O., X. Chen and S. R. McCouch (1996). Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Gen. Genet.*, 252 (5): 597-607.
 13. International Rice Research Institute (2013). Standard Evaluation System for Rice. P.O. Box 933, 1099 Manila, Philippines.
 14. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-55: 2011/BNNPTNT, 2011. Khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lúa.
 15. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7983: 2015. Gạo - Xác định tỉ lệ thu hồi tiềm năng từ thóc và gạo lật. Quyết định số 3976/QĐ-BKHCHN.
 16. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8372: 2010. Gạo trắng - Xác định tỷ lệ trắng trong, trắng bạc và độ trắng bạc. Quyết định số 2093/QĐ-BKHCHN.
 17. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5715: 1993, 1993. Gạo - Phương pháp xác định nhiệt độ hóa hồ qua độ phân hủy kiềm. Quyết định số 2920/QĐ-BKHCHN.
 18. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 5716-2: 2017. Gạo - Xác định hàm lượng amylose - Phần 2: Phương pháp thông dụng. Quyết định số 3889/QĐ-BKHCHN.
 19. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8373: 2010. Gạo trắng - đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm. Quyết định số 2093/QĐ-BKHCHN.
 20. Phạm Thiên Thành, Tăng Thị Diệp, Tống Thị Huyền, Đỗ Thị Hương, Nguyễn Trí Hoàn, Dương Xuân Tú, Nguyễn Thị Thu, Phan Thị Thanh (2019). Nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử ADN chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Số 15: 11-16.

**APPLICATION OF DNA MOLECULAR MARKERS IN RICE BREEDING BC15-02
RESISTANT TO BLAST DISEASE**

**Pham Thien Thanh¹, Tang Thi Diep¹, Nguyen Tri Hoan¹,
Duong Xuan Tu¹, Tong Thi Huyen¹, Le Thi Thanh¹**

¹Field Crops Research Institute

Summary

Rice blast, caused by *Pyricularia oryzae*, is one of the most serious diseases in Vietnam. However, this disease can be managed by using resistant rice varieties. Research on breeding sustainable rice varieties with resistance genes has always been considered as effective, inexpensive and environmentally-friendly. Based on the famous commercial variety BC15 which has good agronomic characteristics such as high productivity, good quality and wide adaptability, but susceptible to blast, we targeted to introgress *Pita* gene from donor, IRBL12, into BC15 by several backcrossing in order to improve blast resistance ability in BC15. The SSR marker RM7102 was applied in MABC process. The selected BC₅F₁ plants were self-pollinated to obtain BC₅F₂ plants. Segregation selection was applied to select plants having good agronomic characteristics similar to BC15. In BC₅F₅ generation, an elite line BC15-02 has been selected. The BC15-02 had the same agronomic characteristics as the original BC15 and expressed high resistance to blast through artificial infection. The BC15-02 was sent to national testing from spring season in 2018. Through preliminary assessment, this variety had good agronomic characteristics: short growth duration (113 days in summer season), high yielding (6.5-7.5 metric tons/ha), good quality (17.5% amylose content), suitable for many agroecosystems and resistance to rice blast. This is a promising rice variety that brings high economic efficiency, clean agricultural products and minimizes environmental pollution from limiting the use of pesticides. Rice variety BC15-02 was recognized for trial production under Decision No. 330/QĐ-TT-BNN, dated October 10, 2019.

Keywords: *Rice (Oryza sativa L.), blast resistance gene, MABC.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Minh Nguyệt

Ngày nhận bài: 3/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 13/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/8/2023