

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ADN TRONG CHỌN TẠO GIỐNG LÚA LAI HAI DÒNG KHÁNG BỆNH BẠC LÁ

Applying DNA Molecular Markers in Breeding Two Line Hybrid Rice Resistance to Bacterial Leaf Blight

Nguyễn Văn Giang¹, Tống Văn Hải¹, Phan Hữu Tôn¹, Nguyễn Chí Thành²

¹Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

²Học viên cao học, khoá 17, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên lạc: tvhai@hua.edu.vn

Ngày gửi đăng: 23.12.2010; Ngày chấp nhận: 08.3.2011

TÓM TẮT

Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* gây nên, là một trong những bệnh nguy hiểm nhất đối với cây lúa, đặc biệt là lúa lai. Để phòng chống bệnh này, việc sử dụng giống kháng bệnh đem lại hiệu quả kinh tế cao nhất, không gây ô nhiễm môi trường do việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và tạo ra sản phẩm sạch, an toàn. Để chọn tạo thành công giống lúa lai 2 dòng kháng bệnh bạc lá, dòng TGMS và dòng bố chứa gen kháng đóng vai trò rất quan trọng. Nghiên cứu này ứng dụng chỉ thị phân tử DNA để xác định và sàng lọc gen *tms* trong các dòng TGMS và trong quần thể phân ly F₂, gen *Xa* trong các cá thể mang gen *tms*. Kết quả thu được dòng 103S, Pai 64S và 25S chứa gen *tms2*. Từ các quần thể phân ly chọn được các cá thể chứa đồng thời 2 gen dạng đồng hợp từ *tms2tms2* và *Xa*.

Từ khóa: Bệnh bạc lá, chỉ thị phân tử DNA, dòng TGMS, gen kháng bạc lá *Xa*(4,7), gen *tms*

SUMMARY

Bacterial leaf blight disease causes by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is one of the most important diseases in rice-cultivating areas of Vietnam. To prevent this disease, the use of resistance varieties offers the most economical alternative. However, in order to succeed in breeding resistant two line hybrid rice varieties, the TGMS lines and the parental lines which contain resistant genes play a very important role. In this study, DNA markers were applied to determine and screen *tms* gene and bacterial leaf blight resistance gene in TGMS lines. The results show that 103S, Peiai 64S and 25S lines possess *tms2* gene. The individuals which have both of *tms2* gene and homozygote resistance genes were selected in F₂ population.

Key words: Bacterial leaf blight, DNA marker, hybrid rice, TGMS line, *tms* gene, *Xa* resistance gene.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* gây nên, là một trong những bệnh nguy hiểm nhất đối với cây lúa, đặc biệt là lúa lai. Để phòng chống bệnh này thì việc sử dụng giống kháng bệnh đem lại hiệu quả kinh tế cao nhất, không gây ô nhiễm môi trường do việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và tạo ra sản phẩm sạch, an toàn. Chính vì

vậy, nghiên cứu chọn tạo giống lúa lai hai dòng kháng bệnh bạc lá, đã trở thành mối quan tâm của nhiều nhà khoa học. Để chọn tạo thành công, trước hết cần phải phát hiện nhiều dòng mang gen *tms* có ngưỡng nhiệt độ chuyển hoá hữu dục và bất dục ổn định, đồng thời mang gen kháng cao đối với hầu hết các nhóm chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae*.

Trong lúa lai, để chọn tạo ra tổ hợp lai có khả năng kháng bệnh bạc lá chỉ cần một trong 2 bố mẹ phải chứa gen kháng nếu là gen trội, hoặc cả bố mẹ đều chứa gen nếu là gen lặn. Theo Phan Hữu Tôn và cs. (2005), miền Bắc Việt Nam đang tồn tại 10 chủng bệnh bạc lá chính và các gen *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *Xa21* kháng được hầu hết các chủng bệnh bạc lá trên. Đây là những gen quý làm tiền đề để chọn giống kháng bệnh bạc lá ở miền Bắc Việt Nam.

Để chọn tạo được TGMS chứa gen kháng bệnh bạc lá trước tiên phải tiến hành lai giữa dòng TGMS với dòng chứa gen kháng, sau đó trồng và chọn lọc trong quần thể phân ly F_2 . Đối với gen TGMS phải chọn lọc trong điều kiện ngưỡng nhiệt độ bất dục sau đó cắt gốc, chăm sóc ở ngưỡng nhiệt độ hữu dục để thu hạt. Đối với gen kháng bạc lá, chọn lọc gen bằng lây nhiễm nhân tạo chủng bệnh đặc thù. Tuy nhiên phương pháp này tốn nhiều thời gian và công sức, thậm chí không chính xác do tác động của điều kiện môi trường. Với sự phát triển của công nghệ sinh học, dựa trên kĩ thuật di truyền phân tử, các nhà khoa học đã định vị được chính xác các gen trên nhiễm sắc thể nào, liên kết với chỉ thị DNA. Theo Reddy và cs. (2000), gen *tms4* liên kết với chỉ thị RM257 trên nhiễm sắc thể (NST) số 9. Lopez và cs. (2003) xác định chỉ thị RM11 và RM2 liên kết với gen *tms2*. Tuy nhiên, theo Wang và cs. (2003), gen *tms5* lại liên kết với chỉ thị G277-1 trên NST số 7. Yoshimura và cs. (1992); Couch và cs. (1991); Furuya và cs.

(2003); Ronal và cs. (1992) đã lần lượt định gen *Xa-4* liên kết với RFLP ở locus XNpb181 và XNpb78 trên NST số 11, với khoảng cách liên kết đều là 1,7 cM. Gen *xa-5* liên kết với chỉ thị RZ390, RG556 và RG207 trên NST số 5, với khoảng cách liên kết 0-1 cM Gen *Xa-7* nằm trên NST số 6 liên kết với chỉ thị Mp3 với khoảng cách di truyền 2,5 cM và gen *Xa21* liên kết với chỉ thị pTA818 và pTA248 với khoảng cách di truyền 0-1cM. Ngoài ra, các tác giả cũng đã xác định được các primer đi kèm để nhận các chỉ thị trên. Như vậy, sử dụng kỹ thuật PCR có thể phát hiện và chọn lọc được các gen mong muốn trong các dòng, giống cũng như các thể hệ phân ly một cách chính xác, không tốn nhiều thời gian và công sức. Nghiên cứu này đã ứng dụng các chỉ thị phân tử trên để phát hiện, chọn lọc gen bất dục TGMS và gen kháng bệnh bạc lá ở các dòng TGMS và trong quần thể phân li F_2 .

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật gồm 7 dòng TGMS có nguồn gốc từ Việt Nam: 103S, 25S, 27S, 36S₂, Kim 76S, Peiải 64S và Kim S77; 5 quần thể phân ly F_2 : Tổ hợp lai 93 F₂ (103S x N46), 94F₂ (103S x IRBB7), 95F₂ (103S x N91), 98F₂ (103S x T23) và 103F₂ (103S x IRBB5) (Bảng 1).

Bảng 1. Các dòng vật liệu nghiên cứu

| Chỉ thị | Gen liên kết | Khoảng cách | Trình tự mỗi | Tài liệu tham khảo |
|---------|--------------|-------------|--|------------------------|
| RM11 | tms2 | | F: 5' -TCT CCT CTT CCC CCG ATC -3' R: 5'-ATA GCG GGC GAG CTT AG -3' | M.T.Lopez và cs., 2003 |
| RM2 | tms2 | | F: 5'- ACG TGT CAC CGC TTC CTC -3' R: 5'- ATG TCC GGG ATC TCA TCG -3' | M.T.Lopez và cs., 2003 |
| G227-1 | tms5 | | F: 5'ACC ATC AGC AAC AAT TCA TCT AC-3' R: 5' AAC AGC ATT TCC CCC TAC TAC A- 3' | Wang và cs., 2003 |
| RM257 | tms4 | | F: 5'- CAG TTC CGA GCA AGA GTA CTC -3' R: 5'- GGA TCG GAC GTG GCA TAT G - 3' | Reddy và cs., 2000 |
| XNpb181 | Xa4 | | R: 5'GTG CTA TAA AAG GCA TTC GGG 3' F: 5'ATC GAT CGA TCT TCA CGA GG 3' | Yoshimura và cs., 1992 |
| P3 | Xa7 | | F: 5' CAG CAA TTC ACT GGA GTA GTG GTT R: 5' CAT CAC GGT CAC CGC CAT ATC GGA 3' | Furuya. N và cs., 2003 |

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết tách DNA

Quy trình chiết tách DNA theo Furuya và cs. (2003) có cải tiến: Mẫu lá lúa được cắt và nghiền nhỏ trong 800 µl dung dịch chiết tách DNA (50mM Tris-HCl pH=8.0; 0,25mM EDTA pH=8.0; 300mM NaCl; 1% SDS). Hút 500 µl dịch chiết vào ống eppendorf và thêm 400 µl dung dịch 25:24:1 (Phenol: chlorofom: isoaminalcohol) cho ly tâm với tốc độ 13.000 vòng/phút trong 5 phút, hút phần dịch phía trên chuyển sang ống nghiệm mới. Thêm vào ống nghiệm này 400 µl dung dịch 24:1 (chlorofom : isoaminalcohol) và cho ly tâm với tốc độ 13.000 vòng/phút trong 5 phút, thu dịch phía trên. Kết tủa DNA tổng số bằng 800 µl ethanol hoặc isopropanol, sau đó ly tâm 5 phút với tốc độ 13000 vòng/phút, đổ phần dung dịch phía trên, giữ lại phần kết tủa dưới đáy ống nghiệm. Đợi cồn bay hơi, hoà tan kết tủa bằng 50 µl dung dịch TE rồi bảo quản ở nhiệt độ -20°C hoặc 4°C.

Phản ứng PCR phát hiện các gen *tms*, gen kháng bạc lá *Xa4*, *Xa7*

Thành phần 20 µl dung dịch phản ứng PCR gồm có: 12,24 µl nước cất; 0,1 µl *Taq* DNA polymerase (5 unit/µl); 2,0 µl 10X buffer; 1,5 µl của 50 mM MgCl₂; 0,16 µl của dNTPs 25 mM; 1 µl mỗi mẫu; 1 µl DNA. PCR của gen *Xa4* và *Xa7* được thực hiện theo chu kỳ nhiệt như sau: 94°C trong 4 phút, 34 chu kỳ: 94°C trong 1 phút, 56°C trong 1 phút, 72°C trong 2 phút, và 72°C trong 8 phút. PCR của gen *tms* được thực hiện theo chu kỳ nhiệt như sau: 94°C trong 7 phút, 34 chu kỳ: 94°C trong 1 phút, 58°C trong 1 phút, 72°C trong 2 phút và 72°C trong 7 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%. Bản gel được nhuộm bằng Ethidium bromide, chụp ảnh dưới tia UV.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định gen *tms* sử dụng chỉ thị phân tử DNA

Hiện nay có rất nhiều dòng TGMS, tuy nhiên chúng chứa gen *tms* nào thì chưa thể khẳng định. Bởi vậy, để phục vụ công tác

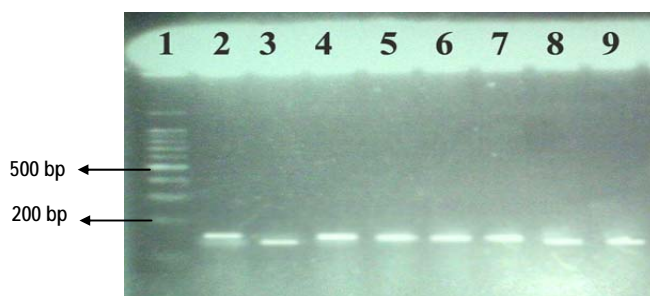
chọn tạo giống lúa lai hai dòng cần phải xác định những dòng TGMS hiện có chứa gen *tms* gì. Theo Lopez và cs. (2003), chỉ thị RM11 và RM2 liên kết với gen *tms2*. Theo Wang và cs. (2003), chỉ thị C365-1 và G227-1 liên kết gen *tms5*. Theo Reddy và cs. (2000) chỉ thị liên kết với gen *tms4* là RM257. Nghiên cứu này sử dụng các chỉ thị trên để định gen *tms* ở các dòng TGMS sau: 103S, 25S, 27S, Kim 76S, Kim S77, P.ái 64S và 36S₁.

Xác định gen *tms2* sử dụng chỉ thị RM11 và RM2

Theo M.T.Lopez và cs. (2003), chỉ thị RM11 liên kết với gen *tms2* với khoảng cách là 5cM. Vệt băng của giống chứa gen *tms2tms2* (dạng lặn) có kích thước khoảng 150 bp. Còn vệt băng của giống chứa gen *Tms2Tms2* (dạng trội) có kích thước 170 bp. Kết quả, có 3 dòng mang gen *tms2* với kích thước khoảng 150 bp là: 103S, P.ái 64S và 25S (giếng 3, 8 và 9). Các dòng còn lại gồm Kim 76S, Kim S77, 27S và 36S₁ (giếng 4, 5, 6 và giếng 7 tương ứng) đã không chứa gen *tms2* (kích thước khoảng 170 bp). Kết quả này cũng phù hợp với giống IR24 đối chứng âm (giếng 2). Đối với chỉ thị RM2 cũng cho kết quả tương tự chỉ thị RM11. Tuy nhiên, khoảng cách của chỉ thị RM2 với gen *tms2* quá lớn (16cM) cho nên trong một số trường hợp lai có thể xảy ra hiện tượng trao đổi chéo. Điều đó có nghĩa là khi sử dụng chỉ thị phân tử RM2 để xác định gen *tms2* thì vẫn xuất hiện vệt băng với kích thước khoảng 150 bp nhưng thực chất giống đó có thể không chứa gen *tms2*. Khi sử dụng chỉ thị để chọn lọc gen trên thì cần phải tìm chỉ thị liên kết chặt hơn như RM11 (Hình 1).

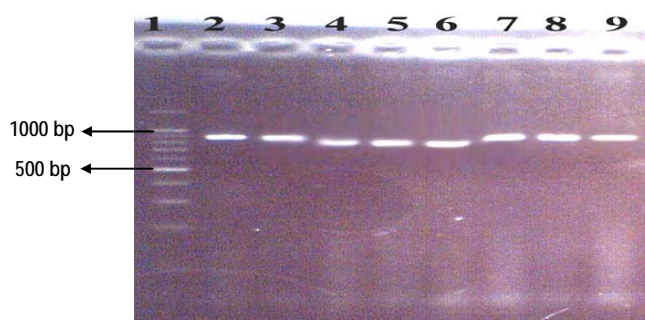
Xác định gen *tms5* sử dụng chỉ thị G227-1

Chỉ thị G227-1 liên kết với gen *tms5* ở khoảng cách là 2,08 cM. Vệt băng chứa gen *tms5* có kích thước 800 bp, vệt băng không chứa gen *tms5* có kích thước 870 bp (Hình 2). Trong 7 dòng TGMS phát hiện được 3 dòng là Kim 76S, Kim S77 và 27S (giếng 4, 5 và 6) chứa gen *tms5* với kích thước khoảng 800 bp. Các dòng còn lại là 103S, 36S₁, P.ái 64S và 25S (giếng 3, 7, 8 và 9) không mang gen *tms5*, vệt băng có kích thước khoảng 870 bp.



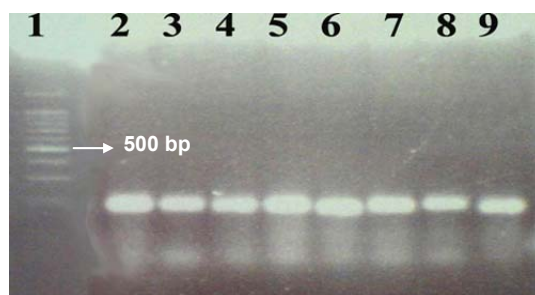
Hình 1. Điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *tms2*, chỉ thị RM11

1. Marker, 2. IR24 (đối chứng âm), 3. 103S, 4. Kim 76S
5. Kim S77, 6. 27S, 7. 36S₁, 8. Pei'ai 64S, 9. 25S



Hình 2. Điện di sản phẩm PCR phát hiện gen *tms5* bằng chỉ thị G227-1

1. Marker, 2. IR24, 3. 103S, 4. Kim 76S, 5. Kim S77, 6. 27S, 7. 36S₁, 8. Pei'ai 64S, 9. 25S



Hình 3. Ảnh điện di phát hiện gen *tms4* chỉ thị RM257

1. Marker, 2. IR24, 3. 103S, 4. Kim 76S, 5. Kim S77, 6. 27S, 7. 36S₁, 8. Pei'ai 64S, 9. 25S.

Xác định gen *tms4* sử dụng RM257

Chỉ thị RM257 liên kết với gen *tms4* với khoảng cách di truyền là 6.2 cM. Vệt băng chứa gen *tms4* có kích thước 250 bp, vệt băng không chứa gen *tms4* có kích thước 200 bp (Hình 3).

Kết quả phân tích sản phẩm PCR cho thấy, tất cả các dòng TGMS đều có kích thước khoảng 200 bp trùng với đối chứng IR24

không chứa gen *tms4*. Như vậy tất cả các giống nghiên cứu đều không chứa gen *tms4*. Kết luận của nghiên cứu này tương tự với kết quả của các tác giả nghiên cứu về gen *tms4*, gen này chỉ tìm thấy ở những giống thuộc loài phụ Japonica, không tìm thấy ở loài phụ Indica. Các giống được sử dụng trong nghiên cứu này đều thuộc loài phụ Indica (Reddy và cs, 2000).

3.2. Chọn lọc cá thể chứa gen *tms2* trên quần thể phân ly F_2

Từ kết quả các thí nghiệm, nghiên cứu đã xác định được chỉ thị RM11 liên kết với gen *tms2* và chỉ thị này được sử dụng ngay để chọn lọc gen *tms2* trong quần thể phân ly F_2 . Gen *tms2* là gen lặn đơn, để tính trạng bất dục TGMS thể hiện thì kiểu gen phải ở trạng thái đồng hợp tử lặn *tms2tms2*. Trong mỗi quần thể F_2 , nghiên cứu này chọn 30 cây tốt, có kiểu hình đẹp và cắm cọc, đánh số thứ tự từ 1 - 30.

Đối với quần thể $93F_2$ (103S x N46) chọn được 3 cây 93F2- 7, 93F2-13 và 93F2-19 chứa kiểu gen đồng hợp tử lặn *tms2tms2* (giống 3, 8 và 9). Các cây này sẽ được trồng trong điều kiện nhiệt độ thấp cho tự thụ đến F_5 hoặc F_6 , sau đó tách dòng sẽ thu được dòng TGMS mới.

Tương tự ở quần thể F_2 của tổ hợp lai $94F_2$ (103S x IRBB7), nghiên cứu đã chọn được 5 cá thể 94F2-8, 94F2- 9, 94F2-19, 94F2-20 và 94F2-23 chứa kiểu gen đồng hợp tử lặn *tms2tms2*. Từ quần thể F_2 của tổ hợp lai $95F_2$ (103S x N91), chọn được 4 cá thể 95F2- 3, 95F2- 7, 95F2- 8 và 95F2- 13. Quần thể F_2 của tổ hợp lai $98F_2$ (103S x T23) chọn được 3 cá thể 98F2-4, 98F2-6 và 98F2-22. Quần thể F_2 của tổ hợp lai $103F_2$ (103S x IRBB5) chọn được 2 cá thể $103F_2$ -5 và $103F_2$ -6 chứa kiểu gen đồng hợp tử lặn *tms2tms2*.

Như vậy bằng chỉ thị RM11, nghiên cứu đã chọn được những cá thể trong các quần thể phân li F_2 chứa gen *tms2* dạng đồng hợp tử. Tuy nhiên, những cá thể này cần được

trồng trong điều kiện nhiệt độ bất dục để chọn chính xác cá thể chứa gen *tms2* thể hiện bất dục (Hình 4).

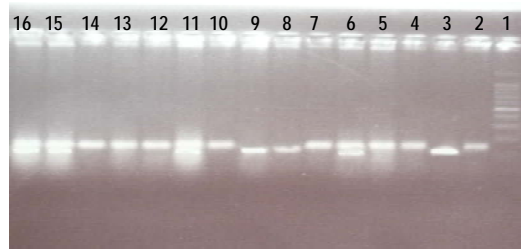
3.3. Chọn lọc gen *Xa4* và *Xa7* ở các cá thể chứa gen *tms2*

Theo Phan Hữu Tôn và cs. (2005), các gen kháng bệnh bạc lá trội *Xa₄*, *Xa₇* và *Xa₂₁* có khả năng kháng tốt đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh bạc lá ở Việt Nam và có thể sử dụng rộng rãi trong sản xuất lúa lai. Nghiên cứu này tiếp tục chọn lọc *Xa₄* và *Xa₇* trong các dòng chứa gen *tms2* đã được chọn từ các quần thể phân ly F_2 ở trên. Trong 5 tổ hợp lai $93F_2$ (103S x N46), $94F_2$ (103S x IRBB7), $95F_2$ (103S x N91), $98F_2$ (103S x T23) và $103F_2$ (103S x IRBB5), 2 tổ hợp có bố chứa gen kháng bệnh bạc lá *Xa4* là N91 và T23; 2 tổ hợp có bố chứa gen *Xa7* là N46 và IRBB7. Điều này làm cơ sở để phát hiện được gen kháng bạc lá *Xa4* và *Xa7*.

Chọn lọc gen *Xa4*

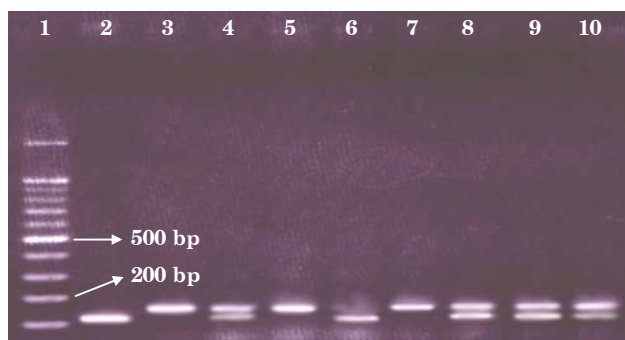
Từ quần thể phân ly F_2 : $95F_2$ (103S x N91) và $98F_2$ (103S x T23) chúng tôi chọn được 7 cá thể mang gen *tms2tms2*. 7 cá thể này tiếp tục được sử dụng để chọn lọc gen kháng bệnh bạc lá *Xa4*.

Xa4 là gen trội, trên bản điện di vết bằng đồng hợp trội kích thước 150bp, vết bằng đồng hợp lặn kích thước 130 bp (Yoshimura *et al*, 1992). Trong 7 cá thể chứa gen *tms2tms2* chúng tôi xác định được 2 cá thể mang gen *Xa4* đồng hợp trội là $95F_2$ -7 và $95F_2$ -13 (giống 5 và 7), các cá thể còn lại chứa gen đồng hợp lặn hoặc dị hợp (Hình 5).



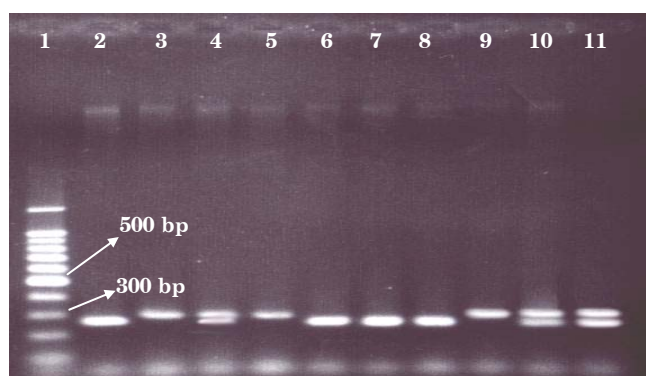
Hình 4. Chọn lọc gen *tms2* sử dụng RM11 trên quần thể phân ly $94F_2$ (103S x IRBB7)

1. Marker; 2. Bố IRBB7 kiểu gen *Tms2Tms2*; 2. mẹ 103S kiểu gen *tms2tms2*, 6, 11, 15 và 16 dạng dị hợp *Tms2Tms2*; 4, 5, 7, 10, 12, 13, 14 đồng hợp tử trội *Tms2Tms2*; 3, 8 và 9 dạng đồng hợp tử lặn *tms2tms2*



Hình 5. Ảnh điện di chọn lọc gen kháng Xa4 trong các cá thể chứa gen *tms2*

1. Marker; 2. 103S (đối chứng âm, đồng lặn); 3. T23 (đối chứng dương, đồng trội);
4. 95F2-3 (dị hợp); 5. 95F2-7 (đồng trội); 6. 95F2-8 (đồng lặn); 7. 95F3-13 (đồng trội);
8. 98F2-4; 9. 98F2-6; 10. 98F2-22 (dị hợp)



Hình 6. Ảnh điện di chọn lọc gen kháng Xa4 trong các cá thể chứa gen *tms2*

1. Marker; 2. 103S (d/c âm, đồng lặn); 3. IRBB7 (d/c dương, đồng trội); 4. 94F2-8 (dị hợp);
5. 94F2-9 (đồng trội); 6. 94F2-19; 7. 94F3-20 và 8. 93F2-7 (đồng lặn);
9. 94F2-23 (đồng trội); 10. 93F2-13 và 11. 93F2-19 (dị hợp)

Chọn lọc gen *Xa7*

Ở trên, từ quần thể phân ly F2: 93 F2 (103S x N46), 94 F2 (103S x IRBB7) nghiên cứu đã chọn được 8 cá thể mang gen *tms2tms2*. Xác định gen kháng *Xa7* trong 7 cá thể này chọn được cá thể 94 F2-9 (giống 5) và 94 F2-23 (giống 9) mang gen đồng hợp trội *Xa7* (Hình 6). *Xa7* là gen trội, vệt băng đồng trội có kích thước khoảng 280 bp, vệt băng đồng lặn có kích thước khoảng 250 bp (Furuya và cs., 2003).

Như vậy, bằng chỉ thị phân tử ADN có thể chọn chính xác sự hiện diện của gen *tms2* và kháng bệnh bạc lá *Xa4*, *Xa7* dạng đồng hợp tử trên cùng một cá thể. Các cá thể

này sẽ được trồng trong điều kiện nhiệt độ hữu dụng, cho tự thụ 4 - 5 đời, sau đó tách dòng sẽ thu được các dòng TGMS mới, chứa gen kháng bệnh bạc lá. Có một vấn đề là gen *tms2tms2* có mặt trong dòng 103S ngưỡng chuyển hóa bất hữu dụng là 23°C nhưng khi gen này chuyển sang nền gen mới thì ngưỡng nhiệt độ chuyển hóa bất dụng có thay đổi hay không vẫn chưa được làm rõ, cần được nghiên cứu tiếp.

4. KẾT LUẬN

Sử dụng các chỉ thị phân tử DNA liên kết với gen *tms* xác định được 3 dòng TGMS

là 103S, P.ái 64S và 25S chứa gen bất dục *tms2*, 3 dòng TGMS là Kim 76S, Kim S77 và 27S chứa gen *tms5* và không có dòng nào chứa gen *tms4* trong tổng số 10 dòng TGMS.

Sử dụng chỉ thị RM11 chọn lọc được 17 cá thể chứa gen *tms2tms2* trong 5 quần thể phân ly.

Sử dụng chỉ thị XNpb181 chọn lọc được 2 các thể mang gen *tms2* chứa gen *Xa4* và chỉ thị P3 chọn lọc được 2 cá thể mang gen *tms2* chứa gen *Xa7*. Đây là nguồn vật liệu vô cùng quý giá để tạo ra dòng TGMS mới chứa gen kháng bệnh bạc lá, phục vụ cho chọn tạo giống lúa lai 2 dòng kháng bệnh bạc lá.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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, 42 pages.
- McCouch, S.R., Abenes, M.L., Angeles, R., Khush, G.S. & Tanksley, S.D. (1991). Molecular tagging of a recessive gene *xa5*, for resistance to bacterial blight of rice. Rice Genet. Newsl., 8: 143-145.
- M.T. Lopez et al (2003). Microsatellite Makers Flanking the *tms2* Gene Facilitated Tropical TGMS Rice Line Development. *Crop sci* Vol43.
- Phan Hữu Tôn (2005). Phân bố, đặc điểm gây bệnh các chủng vi khuẩn bạc lá lúa và phát hiện nguồn gen kháng bằng kỹ thuật PCR. Khoa học công nghệ và phát triển nông thôn 20 năm đổi mới, tập1, tr 311-325.
- Redy, O.U.K.; Siddiq, E.A.; Sarma, N.P.; Ali, J.; Husain, A.J. (2000). Genetic analysis of temperature-sensitive male sterility in rice. Abstract, v.100, p.794-801.
- Ronald, P.C., Albano, B., Tabien, R., Abenes, L., Wu, K., McCouch, S.R. & Tanksley, S.D. (1992). Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight resistance locus, *Xa21*. *Mol. Gen. Genet.*, 236: 113-120.
- Yang Z, Sun X, Wang S, Zhang Q (2003). Genetic and physical mapping of a new gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet*, No.106, pp1467–1472.
- Yoshimura, S., Yoshimura, A., Saito, A., Kishimoto, N., Kawase, M., Yano, M., Nakagahra, M., Ogawa, T. & Iwata, N. (1992). RFLP analysis of introgressed chromosomal segments in three near-isogenic lines of rice bacterial blight resistance genes, *Xa1*, *Xa3* and *Xa4*. *Jpn. J. Genet.*, 67: 29-37.
- Wang YG, Xing QH, Deng QY, Liang FS, Yuan LP, Weng ML, Wang B (2003). Fine mapping of the rice thermo-sensitive genic male-sterile gene *tms5*. *Theor Appl Genet* 107:917–921.