

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐỘC CỦA CÁC CHỦNG NẤM GÂY BỆNH ĐẠO ÔN Ở VÙNG NAM TRUNG BỘ

Study on Genetic Diversity and Virulence Evaluation of Blast Rice (*Pyricularia grisea*) in The South Central Region

Nguyễn Thị Thu Thủy* và Trương Thị Hồng Hải

Khoa Nông học, trường Đại học Nông lâm Huế

Ngày nhận bài: 24.9.2015

Ngày chấp nhận: 10.11.2015

Abstract

Genetic diversity and genetic relationships among 18 *Pyricularia grisea* isolates collected from South Central of Vietnam was revealed by using 12 RAPD markers. Based on genetic distance, 18 *P. grisea* isolates were divided into 4 major groups. While group A included four *P. grisea* isolates, which had genetic similarity ranged from 0.58 to 0.77; group B included four *P. grisea* isolates having a range of genetic similarity coefficient from 0.58 to 0.76 and divided into two minor groups; group C included eight *P. grisea* isolates, which had genetic similarity ranged from 0.63 to 0.74 and divided into three minor groups, group D included two *P. grisea* isolates having a genetic similarity coefficient of 0.74. Total of 9 isolates representing the four genetic groups and different locations were selected to evaluate their virulence. The results showed that isolate QN4, which was collected from Que Son, Quang Nam, had highest virulence and following was isolate QNG2, which was collected from Son Tinh, Quang Ngai. The lowest virulence was observed in isolates BD2, which was collected from Phu Cat, Binh Dinh. The information found in this study may be useful in rice breeding program for blast resistance in South Central region.

Keywords: Blast rice, virulence, rice, *Pyricularia grisea*, South Central.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn ở lúa do nấm *Pyricularia grisea* gây ra, là một trong những nguyên nhân làm giảm năng suất lúa gạo nghiêm trọng nhất ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Khi cây lúa bị nhiễm bệnh, tất cả các mô lá có thể bị nấm tấn công, đặc biệt là khi bệnh gây hại trên bông có thể dẫn đến mất năng suất hoàn toàn. Sản lượng lúa bị thiệt hại do bệnh đạo ôn gây ra khoảng 10 - 30%, trong khi đó 10% sản lượng lúa đủ cung cấp lương thực cho 60 triệu người mỗi năm (Valent, 1990), ở những vùng nhiễm nặng, có thể mất hoàn toàn năng suất (Cruz - Vazquez và cs., 2007). Đối với hầu hết các vùng trồng lúa ở châu Á, châu Phi và Nam Mỹ, biện pháp chính hiện nay để kiểm soát bệnh đạo ôn là sử dụng các giống lúa kháng bệnh (Don và cs., 1999). Tuy nhiên, việc sử dụng giống kháng để quản lý bệnh đạo ôn ngày càng gặp nhiều khó khăn vì sự hình thành các chủng gây bệnh mới đã làm cho các giống kháng bệnh đạo ôn chỉ có hiệu lực trong vòng 2-3 năm (Bonman và cs., 1992). Hơn nữa, đối với nấm đạo ôn trong điều kiện tự nhiên, các chủng không độc (avirulence) có xu hướng chuyển thành các chủng mang tính độc

(virulence) (Lau và Ellingboe, 1993). Sự thay đổi đó đã làm cho chiến lược chọn tạo giống kháng bệnh đạo ôn gặp rất nhiều khó khăn. Để hiểu được cơ chế kháng của giống kháng bệnh đạo ôn, các nghiên cứu về mức độ đa dạng di truyền của quần thể nấm *P. grisea* trong một vùng sinh thái cụ thể là rất quan trọng (Levy và cs., 1993). Ở Việt Nam, tính đa dạng di truyền của quần thể nấm gây bệnh đạo ôn ở Bắc bộ và Nam bộ đã được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu, tuy nhiên ở miền Trung cho đến hiện nay chưa có báo cáo chi tiết nào về phân loại các chủng nấm *P. grisea*, việc "Nghiên cứu đa dạng di truyền và xác định tính độc của một số chủng nấm gây bệnh đạo ôn ở Nam Trung bộ" sẽ cung cấp thông tin về sự đa dạng nguồn gen và tính độc của các chủng nấm, phục vụ công tác tạo giống kháng tại các tỉnh Nam Trung bộ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm đạo ôn: 120 mẫu bệnh đạo ôn được thu thập từ 3 tỉnh miền Nam Trung bộ (Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định) trên các giống khác nhau. Kết quả phân lập được 84 mẫu

bệnh, 18 mẫu phân lập khác nhau về vùng địa lý và trên các giống lúa khác nhau (bảng 1) được chọn để đánh giá đa dạng di truyền.

Mỗi RAPD: 12 mỗi RAPD biểu hiện đa hình (bảng 2) được sử dụng để đánh giá kiểu gen của các chủng vi khuẩn

Giống lúa: tập đoàn 32 dòng lúa mang gen kháng bệnh đạo ôn khác nhau do viện lúa IRRI

cung cấp và giống LTH (giống chuẩn nhiễm) (bảng 3) được sử dụng để đánh giá tính độc của các chủng nấm đạo ôn.

- Địa điểm: khoa Nông học, trường Đại học Nông Lâm Huế.

- Thời gian: từ tháng 12/2014 đến tháng 8/2015.

Bảng 1. Địa điểm thu thập các chủng nấm gây bệnh đạo ôn

STT	Ký hiệu	Ký chủ	Địa điểm
1	QN1	BC15	Xã Tam Hiệp, huyện Núi Thành, tỉnh Quảng Nam
2	QN2	Xi23	Xã Tam Thái, huyện Phú Ninh, tỉnh Quảng Nam
3	QN3	OM4900	Xã Bình An, huyện Thăng Bình, tỉnh Quảng Nam
4	QN4	SV181	Xã Quế Phú, huyện Quế Sơn, tỉnh Quảng Nam
5	QN5	KD18	Xã Bình Trung, huyện Thăng Bình, tỉnh Quảng Nam
6	QN6	BC15	Xã Hương An, huyện Quế Sơn, tỉnh Quảng Nam
7	QNG1	Thơm 1	Xã Bình Chánh, huyện Bình Sơn, tỉnh Quảng Ngãi
8	QNG2	KD18	Xã Tịnh Phong, huyện Sơn Tịnh, tỉnh Quảng Ngãi
9	QNG3	Q5	Xã Bình Thạnh, huyện Bình Sơn, tỉnh Quảng Ngãi
10	QNG4	BC15	Xã Nghĩa Thương, huyện Tư Nghĩa, tỉnh Quảng Ngãi
11	QNG5	BC15	Xã Đức Chánh, huyện Mộ Đức, tỉnh Quảng Ngãi
12	QNG6	KD18	Xã Đức Hiệp, huyện Mộ Đức, tỉnh Quảng Ngãi
13	BĐ1	BC15	Xã Phước An, huyện Tuy Phước, tỉnh Bình Định
14	BĐ2	KD28	Xã Cát Hạnh, Huyện Phù Cát, tỉnh Bình Định
15	BĐ3	BC15	Xã Ân Tường Tây, huyện Hoài Ân, tỉnh Bình Định
16	BĐ4	KD28	Xã Phước Lộc, huyện Tuy Phước, tỉnh Bình Định
17	BĐ5	Khang dân đột biến	Xã Nhơn Thọ, thị xã An Nhơn, tỉnh Bình Định
18	BĐ6	Q5	Xã Nhơn Tân, thị xã An Nhơn, tỉnh Bình Định

Bảng 2. Tên các môi RAPD sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền

STT	Tên môi	Trình tự môi
1	UBC#308	AGCGGCTAGG
2	UBC#310	GAGCCAGAAG
3	UBC#312	ACGGCGTCAC
4	UBC#317	CTAGGGGCTG
5	UBC#318	CGGAGAGCGA
6	UBC#338	CTGTGGCGGT
7	UBC#354	CTAGAGGCCG
8	UBC#364	GGCTCTCGCG
9	UBC#365	TAGACAGAGG
10	UBC#366	CCTGATTGCC
11	UBC#368	ACTTGTGCGG
12	UBC#383	GAGGCGCTGC

Bảng 3. Danh sách các dòng lúa mang đơn gen kháng tham gia thí nghiệm

STT	Giống	Gen kháng	Giống cho gen kháng	STT	Giống	Gen kháng	Giống cho gen kháng
1	IRBLa-A	<i>Pia</i>	AICHI ASAHI	17	IRBLsh-B	<i>Pish</i>	BL 1
2	IRBLa-C	<i>Pia</i>	CO 39	18	IRBL1-CL	<i>Pi1</i>	C101LAC
3	IRBLi-F5	<i>Pii</i>	FUJISAKA 5	19	IRBL3-CP4	<i>Pi3</i>	C104PKT
4	IRBLks-F5	<i>Pik-s</i>	FUJISAKA 5	20	IRBL5-M	<i>Pi5(t)</i>	RIL 249 (Moro.)
5	IRBLks-S	<i>Pik-s</i>	SHIN 2	21	IRBL7-M	<i>Pi7(t)</i>	RIL 29 (Moro.)
6	IRBLk-ka	<i>Pik</i>	KANTO 51	22	IRBL9-W	<i>Pi9</i>	WHD-1S-75-1-127
7	IRBLkp-K60	<i>Pik-p</i>	K 60	23	IRBL12-M	<i>Pi12(t)</i>	RIL 10
8	IRBLkh-K3	<i>Pik-h</i>	K 3	24	IRBL19-A	<i>Pi19</i>	AICHI ASAHI
9	IRBLz-Fu	<i>Piz</i>	FUKUNISHIKI	25	IRBLkm-Ts	<i>Pik-m</i>	TSUYUAKE
10	IRBLz5-CA	<i>Pi2(t)</i>	C101A51	26	IRBL20-IR24	<i>Pi20</i>	ARL 24
11	IRBLzt-T	<i>Piz-t</i>	TORIDE 1	27	IRBLta2-Pi	<i>Pita2</i>	Pi No. 4
12	IRBLta-K1	<i>Pi4(t)</i>	K1	28	IRBLta2-Re	<i>Pita2</i>	REIHO
13	IRBLta-CT2	<i>Pita</i>	C105TTP2L9	29	IRBLta-CP1	<i>Pita</i>	C101PKT
14	IRBLb-B	<i>Pib</i>	BL 1	30	IRBL11-Zh	<i>Pi11(t)</i>	ZHAIYEQING
15	IRBLt-K59	<i>Pit</i>	K 59	31	IRBLz5-CA	<i>Piz5</i>	C101A51
16	IRBLsh-S	<i>Pish</i>	SHIN 2	32	Lijiangxintuanheigu (LTH)		Giống chuẩn nhiễm

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp thu thập mẫu bệnh, phân lập và nuôi cấy nấm đạo ôn P. grisea:*

Các mẫu lá và cỏ bông mang triệu chứng điển hình của bệnh đạo ôn sẽ được thu thập từ các ruộng lúa bị nhiễm bệnh tại các tỉnh Nam Trung Bộ (Quảng Nam, Quảng Ngãi và Bình Định). Tiến hành phân lập các chủng nấm đạo ôn trên môi trường PDA và làm thuần bằng phương pháp cấy đơn bào tử (Burgess *et al.*, 2008)

- *Phương pháp đánh giá đa dạng di truyền các chủng nấm đạo ôn P. grisea:*

Tách chiết ADN tổng số của nấm theo phương pháp Kang và cs. (2003) có cải tiến. Sử dụng 12 mỗi RAPD với chu trình nhiệt PCR: bước 1 gồm 1 chu kỳ ở 94°C trong 3 phút; bước 2 gồm 40 chu kỳ: 94°C/ 1phút, 37°C/1phút, 72°C/ 2phút; bước 3 gồm 1 chu kỳ ở 72°C/7phút và cuối cùng ủ ở 4°C. Điện di sản phẩm RAPD - PCR trên agarose gel 1% và nhuộm bằng SYBGR (10.000X).

Chỉ tiêu theo dõi: Số mỗi biểu hiện đa hình, tổng số băng được khuếch đại của mỗi chỉ thị đa hình RAPD, tổng số băng biểu hiện đa hình của mỗi chỉ thị đa hình RAPD, tổng số băng biểu hiện đa hình của mỗi chủng.

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu RAPD được ghi nhận dựa vào thang chuẩn 100bp. Tiêu chuẩn hóa sản phẩm RAPD theo quy ước: "1"

xuất hiện phân đoạn DNA, "0" không xuất hiện phân đoạn DNA. Các số liệu này sẽ được đưa vào chương trình NTSYS-pc để tính ma trận tương đồng giữa các đôi mẫu.

- *Phương pháp lây nhiễm nhân tạo*

- 18 chủng nấm *P. grisea* thu thập ở 3 tỉnh Quảng Nam, Quảng Ngãi và Bình Định nuôi cấy trên môi trường Agar- bột gạo ở nhiệt độ 28°C/ 7 ngày để thu bào tử. Bào tử được thu bằng nước cất vô trùng có bổ sung thêm Gelatin (1%) để tăng khả năng bám dính các bào tử trên lá. Nồng độ dụng dịch bào tử được sử dụng để lây nhiễm là 10⁵ bào tử/ml.

- Bố trí thí nghiệm:

- + 32 dòng lúa đơn gen được trồng trong các chậu nhựa với kích thước 20 x 20cm và bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD) với 3 lần nhắc lại.

- + Lây nhiễm bằng phương pháp phun: Cây con ở 4 tuần tuổi của các dòng đơn gen được trồng trong các chậu nhựa. Sử dụng bình phun có áp lực khoảng 3atm/cm² để phun cho lúa. Đặt các chậu nhựa trong nhà lưới, phun giữ ẩm thường xuyên trong khoảng 16-24h, và giữ nhiệt độ khoảng 24-26°C/6 ngày. Cây lúa sẽ được kiểm tra sau 7 ngày lây nhiễm, dựa trên thang điểm đánh giá của Kato (1993):

- + Cấp 0: Không có vết bệnh, kháng cao (HR)

- + Cấp 1: Vết bệnh là một chấm nhỏ bằng đầu kim, kháng (R)

- + Cấp 2: Vết bệnh to hơn màu nâu nhạt đến nâu tối, kháng (R)
- + Cấp 3: Vết bệnh to hơn và có màu xám ở giữa, nhiễm (S)
- + Cấp 4: Vết bệnh đặc trưng hình thoi, nhiễm nặng (HS)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đánh giá đa dạng di truyền của các chủng nấm đạo ôn *P. grisea*

Tổng 12 mỗi RAPD biểu hiện đa hình được sử dụng để đánh giá kiểu gen của 18 chủng nấm đạo ôn. Số đoạn DNA được khuếch đại dao động từ 30 → 67 đoạn, tổng số DNA khuếch đại là 681 đoạn (bảng 4).

Bảng 4 cho thấy trong số 12 mỗi RAPD, số đoạn ADN khuếch đại của 18 chủng nấm đạo ôn với mỗi UBC#354 là nhiều nhất (67 đoạn) và mỗi UBC#318 là ít nhất (30 đoạn). Trong 18 chủng nấm thì chủng thu thập ở Thăng Bình, Quảng Nam (QN3) có nhiều đoạn ADN khuếch đại nhất (49 đoạn) và chủng QNG3 (thu tại Bình Sơn, Quảng Ngãi) có số đoạn khuếch đại ít nhất (23 đoạn). Tính đa hình thể hiện sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn DNA khi so sánh giữa các chủng nấm với nhau trong cùng 1 mỗi. Ở đây, các chủng nấm thu thập tại các tỉnh Nam Trung Bộ cho thấy sự đa hình hoàn toàn giữa các chủng (tỷ lệ

các đoạn DNA khuếch đại đạt 100%).

Quan hệ di truyền giữa các giống lúa nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm NTSYS 2.1, từ đó xác định hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các chủng nấm (hình 2).

Kết quả thu được dựa trên sơ đồ cây phân nhóm cho thấy nếu xét mức độ tương đồng di truyền của 18 chủng nấm đạo ôn ở 0,53 thì sẽ được chia thành 4 nhóm chính và các nhóm phụ như sau:

*Nhóm A: gồm 4 chủng thu thập từ các vùng trồng lúa ở Quảng Ngãi (QNG1, QNG3, QNG4, QNG5) có mức độ tương đồng nằm trong khoảng 0,58 – 0,77. Trong nhóm A các chủng lại được chia thành 2 nhóm phụ với khoảng cách di truyền gần hơn như sau:

- Nhóm A1: gồm 2 chủng QNG1 và QNG3 có hệ số tương đồng cao nhất là 0,77. Hai chủng này thu được trên 2 giống lúa khác nhau (Thơm-Q5) nhưng đều từ một vùng sinh thái (Bình Sơn, Quảng Ngãi) nên quan hệ di truyền của chúng khá gần gũi;

- Nhóm A2: Nằm trong khoảng tương đồng từ 0,71-0,72 bao gồm 2 chủng QNG4 và QNG5 được thu thập từ 2 huyện khác nhau của tỉnh Quảng Ngãi là Mộ Đức và Tư Nghĩa, tuy nhiên trên cùng một đối tượng ký chủ là giống lúa BC15 nên vẫn gần nhau về mặt di truyền.

Bảng 4. Tổng số đoạn ADN được khuếch đại của 18 chủng nấm đạo ôn khi phân tích với 12 mỗi RAPD

Mỗi	QNG1	QNG2	QNG3	QNG4	QNG5	QNG6	QN1	QN2	QN3	QN4	QN5	QN6	BD1	BD2	BD3	BD4	BD5	BD6	Tổng số đoạn AND khuếch đại
UBC#308	3	6	1	3	2	3	3	6	3	4	3	1	5	3	6	5	4	2	63
UBC#310	2	5	0	1	3	6	2	3	2	2	1	2	2	2	2	3	5	3	46
UBC#312	4	3	3	2	3	2	2	4	5	4	4	2	4	2	4	3	4	4	60
UBC#317	3	2	3	2	2	3	2	3	4	4	4	2	4	2	4	3	3	3	53
UBC#318	1	1	0	2	2	4	1	0	2	3	1	2	1	3	3	2	1	1	30
UBC#338	1	4	3	4	4	3	3	2	6	6	4	6	4	6	6	0	1	3	66
UBC#354	3	4	1	4	6	3	3	3	4	6	2	6	5	6	4	3	4	0	67
UBC#364	4	4	5	4	4	3	3	4	3	1	4	3	3	5	3	4	4	2	63
UBC#365	3	2	4	3	1	5	4	1	3	3	2	3	0	3	3	2	3	2	47
UBC#366	0	3	0	4	6	4	4	3	5	4	2	4	3	2	2	3	5	5	59
UBC#368	0	3	3	3	4	4	4	1	6	4	4	5	3	7	5	0	2	3	61
UBC#383	1	3	0	5	6	4	4	4	6	5	2	4	3	2	2	4	6	5	66
Tổng	25	40	23	37	43	45	35	34	49	46	33	40	37	43	44	32	42	33	681

* *Nhóm B*: gồm 4 chủng có mức tương đồng từ 0,58 - 0,76, được chia thành 2 nhóm phụ:

- *Nhóm B1*: có 3 chủng QNG2, QNG6, QN2, trên nhóm này trừ chủng QN2 (Quảng Nam) nằm riêng một nhánh, mức độ tương đồng với 2 chủng kia (Quảng Ngãi) là khá xa, và ghi nhận hệ số tương quan di truyền là 0,66 – 0,76;

- *Nhóm B2*: chỉ gồm một chủng QN2 với mức độ tương đồng là 0,59

**Nhóm C*: gồm 8 chủng, có mức tương đồng từ 0,63 - 0,74 và được chia thành 3 nhóm phụ với khoảng cách di truyền gần hơn như sau:

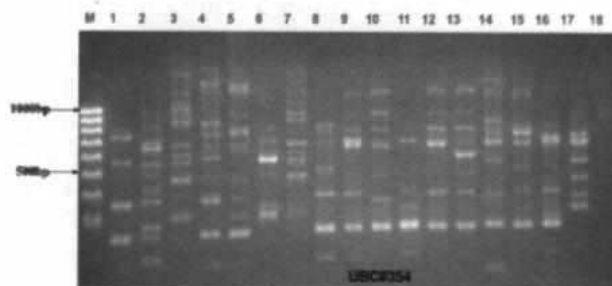
- *Nhóm C1*: có mức độ tương đồng di truyền nằm trong khoảng 0,69 – 0,70 gồm các chủng QN3 và QN5, đây là 2 chủng thu thập được trên 2 giống lúa khác nhau nhưng cùng một vùng sinh thái (Thăng Bình, Quảng Nam) nên chúng có quan hệ di truyền khá gần nhau;

- *Nhóm C2*: gồm các chủng QN4 (Quế Sơn, Quảng Nam), BÐ1 (Tuy Phước, Bình Định) và BDD4 (Tuy Phước, Bình Định), trong nhóm này QN4 nằm riêng một nhánh, có mối quan hệ di truyền với hai chủng kia khá xa nhau (0,67). Hai chủng BÐ1 và BÐ4 đều được thu thập từ cùng một vùng sinh thái nên có hệ số tương đồng di truyền khá gần nhau 0,72 – 0,73;

- *Nhóm C3*: gồm 3 chủng QN6 (Quế Sơn, Quảng Nam), BÐ2 (Phù Cát, Bình Định) và BÐ3 (Hoài Ân, Bình Định), hệ số tương đồng trong nhóm này giao động 0,67 – 0,72. Trong đó, chủng nấm QN6 nằm riêng một nhánh với sự tương đồng với 2 chủng còn lại khá thấp (0,67), 2 chủng BÐ2 và BÐ3 được thu thập cùng một vùng sinh thái nên có mức độ tương đồng di truyền cao hơn (0,72).

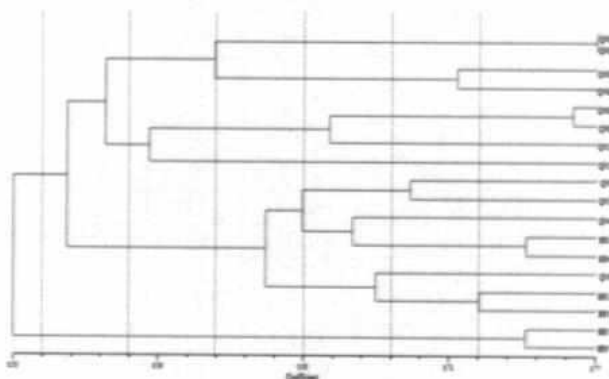
**Nhóm D*: gồm 2 chủng BÐ5 và BÐ6 (An Nhơn, Bình Định) với độ tương đồng là 0,74. 2 chủng này thu thập trên 2 giống lúa khác nhau nhưng từ một vùng sinh thái nên quan hệ di truyền của chúng khá gần gũi.

Qua các kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy các chủng nấm *P. grisea* được phân lập trên các giống lúa khác nhau tại các tỉnh Nam Trung bộ có sự khác biệt khá lớn về mặt di truyền, điều này góp phần làm cơ sở cho chiến lược nghiên cứu lai tạo giống kháng bệnh đạo ôn tại các tỉnh Nam Trung bộ.



Hình 1. Kết quả PCR 18 chủng nấm đạo ôn với UBC#338

(M: 100bp DNA ladder; 1-QNG1, 2-QNG2, 3-QNG3, 4-QNG4, 5-QNG5, 6-QNG6, 7-QN1, 8-QN2, 9-QN3, 10-QN4, 11-QN5, 12-QN6, 13-BÐ1, 14-BÐ2, 15-BÐ3, 16-BÐ4, 17-BÐ5, 18-BÐ6).



Hình 2. Quan hệ về di truyền giữa 18 chủng nấm đạo ôn dựa trên hệ số tương đồng di truyền

3.2 Đánh giá tính độc của các chủng nấm đạo ôn

Để phục vụ cho công tác chọn tạo giống chống bệnh đạo ôn thì trước hết cần phải xác định được tính độc của các chủng nấm, có thể các chủng nấm đều được phân lập từ mẫu cây bệnh, có sợi nấm và bào tử giống nhau nhưng tính độc khác nhau nên khả năng gây bệnh cũng sẽ khác nhau. Dựa vào cây di truyền (hình 2) chúng tôi chọn 9 chủng nấm (isolate) thuộc các nhóm di truyền khác nhau để tiến hành lây nhiễm nhân tạo nhằm mục đích đánh giá tính độc của các chủng nấm này. Kết quả lây nhiễm và đánh giá được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Tính độc của các chủng nấm gây bệnh đạo ôn

TT	Giống	Gen kháng	Chủng nấm đạo ôn								
			QN2	QN4	QN6	QNG2	QNG3	QNG5	BD1	BD2	BD6
1	IRBLa-A	<i>Pia</i>	S	S	S	S	R	S	S	R	S
2	IRBLa-C	<i>Pia</i>	R	S	S	S	S	S	S	HS	S
3	IRBLi-F5	<i>Pii</i>	R	R	R	S	S	R	R	S	R
4	IRBLks-F5	<i>Pik-s</i>	R	S	S	R	S	R	S	S	R
5	IRBLks-S	<i>Pik-s</i>	R	S	S	S	R	S	S	S	S
6	IRBLk-ka	<i>Pik</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R
7	IRBLkp-K60	<i>Pik-p</i>	R	S	S	R	R	R	R	R	R
8	IRBLkh-K3	<i>Pik-h</i>	R	R	S	R	R	R	R	R	R
9	IRBLz-Fu	<i>Piz</i>	R	R	R	S	R	S	R	S	S
10	IRBLz5-CA	<i>Piz5</i>	R	S	HR	R	R	R	R	HR	R
11	IRBLzt-T	<i>Piz-t</i>	S	S	S	R	R	R	R	R	R
12	IRBLta-K1	<i>Pita</i>	HS	S	S	S	S	S	S	R	S
13	IRBLta-CT2	<i>Pita</i>	R	S	R	HR	R	R	R	R	S
14	IRBLb-B	<i>Pib</i>	S	S	R	R	HR	HR	R	R	S
15	IRBLt-K59	<i>Pit</i>	HR	R	HR	R	R	S	S	R	R
16	IRBLsh-S	<i>Pish</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S
17	IRBLsh-B	<i>Pish</i>	R	R	R	S	R	R	S	R	R
18	IRBL1-CL	<i>Pi1</i>	S	S	S	R	R	R	R	R	R
19	IRBL3-CP4	<i>Pi3</i>	S	S	S	S	S	R	R	R	S
20	IRBL5-M	<i>Pi5(t)</i>	S	S	S	R	R	R	R	HR	R
21	IRBL7-M	<i>Pi7(t)</i>	S	R	R	S	R	R	R	HR	R
22	IRBL9-W	<i>Pi9</i>	R	HR	R	S	R	R	S	R	S
23	IRBL12-M	<i>Pi12(t)</i>	S	HS	S	R	R	R	R	R	R
24	IRBL19-A	<i>Pi19</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	S
25	IRBLkm-Ts	<i>Pik-m</i>	R	R	R	S	S	R	R	S	S
26	IRBL20-IR24	<i>Pi20</i>	HS	S	S	S	S	S	S	S	S
27	IRBLta2-Pi	<i>Pita2</i>	R	R	R	R	S	R	R	HR	R
28	IRBLta2-Re	<i>Pita2</i>	S	S	R	S	R	HR	R	R	R
29	IRBLta-CP1	<i>Pita</i>	R	HR	S	S	R	S	R	R	HR
30	IRBL11-Zh	<i>Pi11(t)</i>	R	R	S	S	S	R	S	R	R
31	IRBLz5-CA	<i>Piz5</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	R
Tỷ lệ R/S			19/11	14/17	15/16	14/17	21/10	21/10	20/11	23/8	18/13
32	LTH		HS	HS	HS	HS	HS	HS	HS	HS	HS

Kết quả ở bảng 5 cho thấy các chủng nấm có mức độ nhiễm trên các dòng lúa mang gen kháng rất khác nhau phụ thuộc vào xuất xứ của vùng sinh thái cũng như giống lúa (các ký chủ) khác nhau. Trong đó, các chủng nấm được phân lập tại Quảng Nam có độc tính cao nhất với tỷ lệ kháng/nhiễm thấp giao động từ 14R/17S đến 19R/11S, tiếp đến là các chủng nấm được phân lập tại Quảng Ngãi, các chủng nấm phân lập từ Bình Định có độc tính thấp nhất với tỷ lệ kháng/nhiễm cao (18R/13S – 23R/8S). Trong số 9 chủng nấm sử dụng trong thí nghiệm lây nhiễm, chúng có độc tính mạnh nhất là QN4

(Quế Sơn, Quảng Nam) và QNG2 (Sơn Tịnh, Quảng Ngãi), chủng có độc tính thấp nhất là BD2 (Phù Cát, Bình Định).

Qua so sánh sự phân nhóm về kiểu gen và độc tính của các chủng nấm nghiên cứu, ta thấy các chủng có sự sai khác về kiểu gen thì độc tính của chúng cũng không giống nhau (bảng 5, hình 2). Kết quả này cho thấy có sự liên kết giữa kiểu gen và kiểu hình liên quan đến tính đa dạng di truyền của các chủng nấm đạo ôn phân lập ở Nam Trung Bộ.

4. KẾT LUẬN

- Sử dụng 12 môi RAPD đa hình để nghiên

cứu đa dạng di truyền của 18 chủng nấm *P. grisea* đã cho thấy các chủng nấm có sự đa dạng di truyền cao thể hiện qua số băng ADN trung bình/mỗi là 56,75.

- 18 chủng nấm nghiên cứu đã được phân nhóm thể hiện ở cây phân loại dựa trên hệ số tương đồng. 18 chủng nấm đạo ôn được chia thành 4 nhóm chính và nhiều nhóm phụ, có mức độ tương đồng dao động từ 0,53 – 0,77. Trong đó, các nhóm A2, C2 và D có hệ số tương đồng khá cao.

- Bằng phương pháp lây nhiễm nhân tạo sử dụng 9 chủng nấm đạo ôn cho thấy 2 chủng nấm QN4 (Quế Sơn, Quảng Nam) và QNG2 (Sơn Tịnh, Quảng Ngãi) có độc tính cao nhất, chủng có độc tính thấp nhất là BD2 (Phù Cát, Bình Định).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bonman J.M., Khush G.S., Nelson R.J., 1992. Breeding rice for resistance to pests. *Annu Rev Phytopathol* 30:507–528.
2. Burgess L.W., Knight T.E., Tesoriero L., Hien T.P., 2008. Diagnostic manual for plant disease in Vietnam, *Australia Center for International Agricultural Research*.

3. Cruz-Vazquez C., Ramos-Parra M., Vitela-Mendoza I., Garcia-Vazquez Z., Quintero-Martinez M.T., 2007. Relationships between stable fly infestation with some physical facility characteristics and sanitation practices in several dairy farms in the State of Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol* 149 (3-4):246-250. doi: S0304-4017(07)00427-X [pii]10.1016/j.vetpar.2007.08.020.
4. Don L.D., Kusaba M., Urashima A.S., Tosa Y., Nakayashiki H., Mayama S., 1999. Population structure of rice blast fungus in Japanese examined by DNA fingerprint. *Ann Pathopathol Soc Jpn* 65:15–24.
5. IRRI, 1997. Laboratory manual. In: A workshop on gene cloning, transformation and molecular analysis of transgenic rice. *Plant Breeding, Genetics and Biochemistry division, IRRI*.
6. Kato 1993. *Plant diseases* 77. P: 1211 - 1216.
7. Lau G.W. and Ellingboe A.H., 1993. Genetic analysis of mutations to increased virulence in *Magnaporthe grisea*. *Phytopathology* 83:1093–1096.
8. Levy M., Ramao J., Marchetti M.A., Hamer J.E., 1991. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in rice blast fungus. *Plant Cell* 3:95–102.
9. Valent B., 1990. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology* 80 (1JLN-321):33-36.

Phản biện: TS. Ngô Vĩnh Viễn

PHÁT HIỆN, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH LOÀI NẤM *Trichoderma asperellum* ĐỐI KHÁNG VỚI VI KHUẨN GÂY BỆNH HÉO XANH VI KHUẨN *Ralstonia solanacearum* HẠI ỚT Ở VÙNG THỪA THIÊN HUẾ

Isolation, Selection and Identification of Antagonistic *Trichoderma asperellum* to Bacterial Wilt Disease *Ralstonia solanacearum* on Chilli Pepper in Thua Thien Hue Region

Trần Thị Thu Hà¹, Võ Thị Mai Hương² và Hoàng Thị Hồng Quế¹

Ngày nhận bài: 10.11.2015

Ngày chấp nhận: 26.11.2015

Abstract

Three strains of bacterial wilt (R1, R2 and R3) caused by *R. solanacearum* were isolated from typical symptom disease of chilli pepper plants and tested pathogenicity of these three strains by artificial inoculation. The selected strain *R. solanacearum* R1 with the highest pathogenicity was tested antagonistic ability to the isolated strains of *Trichoderma*. One hundred twelve strains of *Trichoderma* were isolated from 16 soil samples from Thua Thien Hue, Quang Nam and Binh Dinh province. Of which, number of strain with high

1. Trường Đại Học Nông Lâm, Đại Học Huế
2. Trường Đại Học Khoa Học, Đại Học Huế