

và miền Trung Việt Nam. Đây là vật liệu ban đầu quan trọng cho các nghiên cứu sinh học phân tử của virus này.

2. Đã phân lập, dòng hóa và giải trình tự toàn bộ phân đoạn S10 của 13 mẫu virus LSĐPN thu tại miền Bắc và miền Trung Việt Nam.

3. So sánh trình tự và phân tích phá hệ cho thấy phân đoạn S10 của các mẫu virus Việt Nam có mức độ đồng nhất trình tự nucleotide từ 98-99% so với nhau và với mẫu virus của Trung Quốc.

4. Dựa trên phân đoạn S10, mặc dù các mẫu virus Việt Nam và Trung Quốc phân thành ít nhất 3 nhóm phân biệt, song sự xuất hiện xen kẽ của các mẫu giữa Việt Nam và Trung Quốc cho thấy chúng là một quần thể virus duy nhất trong cùng một khu vực địa lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hà Viết Cường, Nguyễn Việt Hải, Vũ Triệu Mân (2009). *Xác định nguyên nhân lúa lùn sọc đen (lùn lụi) trên lúa mùa năm 2009 tại miền Bắc*. Tạp chí BVTV, 6: 24-31.
2. Ngô Vĩnh Viễn, Phạm Thị Vượng, Nguyễn Như Cường, Tạ Hoàng Anh,

Nguyễn Thị Me, Phan Bích Thu, Phạm Hồng Hiền, Hà Viết Cường và nnk (2009), *Kết quả chẩn đoán bệnh virus lúa lùn sọc đen ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam*. Tạp chí BVTV, 6: 8-18.

3. Dodds, J.A., Morris, T.J., Jordan, R.L. (1984) *Plant viral double-strand RNA*. Annual Review of Phytopathology, **22**:151-168.
4. Hogenhout, S.A., Ammar, E.D., Whitfield, A.E. and Redinbaugh, M.G. (2008). *Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses*. Annual Review of Phytopathology, 46:327-59.
5. Milne, R.G., del Vas M., Harding, R.M., Marzachi, R. and Mertens, P.P.C. (2005). Genus Fijivirus. In: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L.A. (eds). *Virus taxonomy. Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier Academic Press, San Diego, pp 534-542.

Ngày nhận bài: 22/4/2013

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Văn Tuất,
ngày 12/5/2013

Ngày duyệt đăng: 3/6/2013

ĐÁNH GIÁ TÍNH KHÁNG NHIỄM ĐẠO ÔN CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA VỚI CÁC DÒNG (ISOLATE) NẤM ĐẠO ÔN PHÂN LẬP Ở VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thanh Nga, Nguyễn Văn Bích,
Nguyễn Văn Bôn, Giang Thị Mai,
Nguyễn Công Công, Nguyễn Bảo Quốc.

SUMMARY

Evaluate the resistance and susceptibility of the blast with some rice blast fungus strains isolated in Vietnam

Based on characteristics of *Pyricularia* caused the blast disease on the rice, we had collected and isolated 12 strains of *Pyricularia* in the main rice-growing areas of the country. Results determined resistance and infectivity with several strains of *Pyricularia* blast on some rice cultivars varieties

such as BC15, Bac thom 7, Q5 and OM6976 are susceptible to all *Pyricularia* isolates representing the Red River delta, the central and Mekong delta, especially rice varieties are most susceptible BC15. Rice varieties Ishikari Shiroke resistant to *Pyricularia* strains of the Red River Delta region and central but still susceptible strains of the rice blast fungus from Mekong Delta.

Keywords: *Pyricularia*, blast disease, BC15, Bac thom 7, Q5 and OM6976.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đạo ôn ở lúa do nấm *Pyricularia grisea* Sacc. (Rossman và cs, 1990) gây ra, được ghi nhận và mô tả ở Trung Quốc vào năm 1637, tiếp đó tại các nước khác như Nhật Bản (1704), Ý (1828), Hoa Kỳ (1876),... bệnh phân bố rộng, gây thiệt hại nghiêm trọng về năng suất lúa. Hiện có khoảng hơn 80 quốc gia khác nhau có lúa bị nhiễm đạo ôn. Đặc biệt, những quốc gia có khí hậu ôn hòa, độ ẩm cao, sẽ tạo ra môi trường thuận lợi cho nấm bệnh phát tán và phát triển mạnh.

Trên thế giới, bệnh đạo ôn cũng ảnh hưởng rất lớn đến năng suất lúa. Theo Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế, mỗi năm Ấn Độ mất hơn 266.000 tấn lúa hay khoảng 0,8% tổng sản lượng do bệnh đạo ôn. Ở Nhật Bản, bệnh này có thể nhiễm cho 865.000ha lúa. Còn tại Philippines, hàng nghìn hecta lúa mất hơn 50% sản lượng. Chúng đặc biệt gây hại ở các quốc gia nóng ẩm như Việt Nam, Thái Lan và nhiều nước trồng lúa khác.

Ở Việt Nam, bệnh đạo ôn lúa là bệnh gây hại nghiêm trọng nhất trên cây lúa, còn được gọi là bệnh cháy lá. Những giống lúa kháng cũng chỉ có tác dụng trong thời gian ngắn sau lại mất cảm với nấm bệnh đạo ôn. Điều này cho thấy nấm bệnh đạo ôn đã có những biến đổi để xâm nhiễm vào các giống lúa và biến đổi để thích hợp với điều kiện thời tiết như hiện nay.

Năm 2013 dịch bệnh đạo ôn bùng phát tại các tỉnh Thái Bình, Hải Phòng,

Hải Dương, Hưng Yên từ rất sớm, đặc biệt tại Thái Bình và Hải Phòng bệnh đạo ôn gây bệnh ngay từ giai đoạn mạ và sau cấy nên đã gây ảnh hưởng không nhỏ trong quá trình cấy giống của bà con nông dân. Một số giống lúa trước đây có biểu hiện kháng với nấm đạo ôn như Si23 thì năm nay đã bắt đầu bị nhiễm đạo ôn chứng tỏ đã có xuất hiện các biến chủng mới của nòi đạo ôn giúp chúng xâm nhiễm vào các giống kháng này. Ở các tỉnh phía Nam như Đồng Tháp, Long An, Sóc Trăng, Đồng Nai... trong các năm gần đây bệnh đạo ôn phát triển rất mạnh ở cả 3 vụ trong năm và chúng xâm nhiễm hầu hết trên các giống lúa. Biểu hiện kháng của các giống lúa mới cũng chỉ có hiệu quả trong một thời gian ngắn để sau đó chúng đều bị nhiễm bệnh.

Hiện nay, nông dân dựa chủ yếu vào thuốc đặc hiệu để không chế bệnh, và với cách phòng trừ này họ đã và đang chịu tổn thất ngược lại là ảnh hưởng đến sức khỏe, môi trường và hiệu quả kinh tế. Do đó, để quản lý bệnh hại một cách tốt nhất nên duy trì một nền sản xuất bền vững, đa dạng về chủng loại giống, trong đó cần thiết sử dụng những giống năng suất cao, phẩm chất tốt, có đặc tính chống chịu và ổn định đối với sâu bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu bệnh đạo ôn trên cây lúa được thu thập tại một số vùng trồng lúa chính của cả nước: Đồng bằng sông Hồng, miền Trung và đồng bằng sông Cửu Long.

Các giống lúa phục vụ cho nghiên cứu: BC15, Bắc thơm số 7, Q5 được cung cấp bởi Bộ môn Công nghệ Vi sinh, Viện Di truyền Nông nghiệp. Giống lúa OM6976 được cung cấp bởi Bộ môn Di truyền Chọn giống, Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long. Giống lúa kháng bệnh đạo ôn Ishikari shiroke được cung cấp bởi tiến sĩ Yukio Tosa, trường đại học Kobe, Nhật Bản.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập nấm gây bệnh đạo ôn theo Le Dinh Don và cộng sự, năm 1999.

Phương pháp lây nhiễm nhân tạo và đọc kết quả theo Nga và cộng sự, năm 2009.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

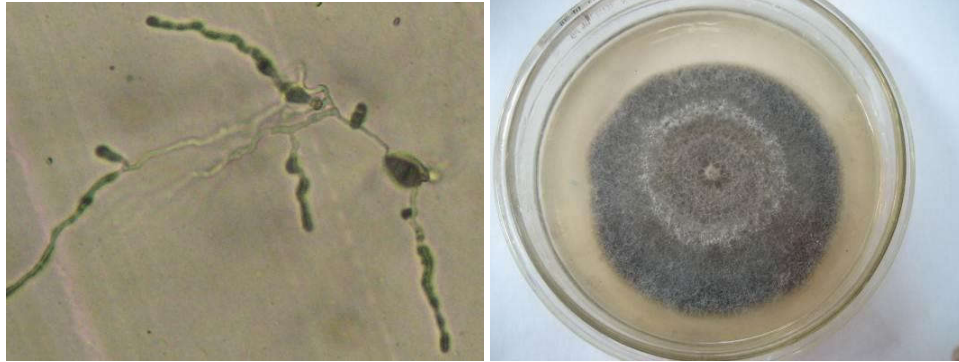
1. Thu thập và phân lập nấm gây bệnh đạo ôn tại một số vùng trồng lúa

Mẫu bệnh đạo ôn được thu tại một số vùng trồng lúa chính: Đối với các tỉnh phía Bắc đã thu thập mẫu tại Nam Định, Thái Bình, Hải Phòng, Hưng Yên, Hải Dương, Hà nội ở vụ Đông Xuân năm 2012. Năm

2012 có nhiều đợt rét kéo dài cùng mưa phùn gây độ ẩm cao đã là điều kiện tốt cho nấm gây bệnh đạo ôn phát triển mạnh. Ở các tỉnh phía Bắc, dịch bệnh đạo ôn trên cây lúa phát triển sớm và gây bệnh nặng từ tháng 2 đến giữa tháng 4. Do đây là thời gian đẻ nhánh và phân hóa đòng nên đã có ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng phát triển của cây lúa, nhiều ruộng bị bệnh nặng đã bị loại bỏ. Ở miền Bắc, bệnh đạo ôn xuất hiện chủ yếu trên các giống lúa nếp, Bắc thơm số 7, Q5, đặc biệt trên giống lúa BC15 thì bệnh đạo ôn gây bệnh hầu hết cho các ruộng trồng giống lúa này. BC15 là giống lúa của Tổng công ty Giống cây trồng Thái Bình là giống có năng suất cao, gạo ngon nên được nhiều người dân lựa chọn tuy nhiên đây là giống rất mẫn cảm với bệnh đạo ôn. Đặc điểm của vết bệnh là vết bệnh hình mắt én lớn màu xanh có viền vàng nâu, biểu hiện cây mẫn cảm lớn với bệnh đạo ôn (Hình 1). Vụ Đông Xuân năm 2013, lần đầu tiên bệnh đạo ôn đã xuất hiện trên giống lúa Si23 trồng tại Hải Phòng và Thái Bình. Giống lúa Si23 là giống trước đây có biểu hiện kháng với nấm gây bệnh đạo ôn. Như vậy sự biến chủng của nấm gây bệnh này đã phá vỡ tính kháng của giống Si23.



Hình 1: Hình ảnh mẫu bệnh đạo ôn trên lúa và hình thái bào tử và cuống sinh bào tử của nấm *Pyricularia* dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 1000 lần



Hình 2: Hình ảnh bào tử đơn nấm *Pyricularia* nảy mầm dưới kính hiển vi với độ phóng đại 400 lần và khuẩn lạc nấm đạo ôn trên môi trường PDA

Đã tiến hành thu thập các bệnh đạo ôn trên cây lúa của các tỉnh phía Nam: Cần Thơ, Long An, Tiền Giang, Đồng Tháp, Đồng Nai, Sóc Trăng, Bạc Liêu. Ở các tỉnh này bệnh đạo ôn tấn công cả 3 vụ trong năm và trên rất nhiều giống lúa như: IR50404, Nàng hoa 9, OM4900, OM5451, OM7053, OM8010, Jasmine 85, OM4218, OM7347,... Bệnh thường tấn công ngay từ giai đoạn mạ và thời gian đẻ nhánh nên đã ảnh hưởng rất nhiều đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây trồng. Ở các vùng này có đặc điểm là hầu hết các giống mới ra ban đầu có biểu hiện kháng bệnh đạo ôn song chỉ sau một vài vụ thì chúng lại chuyển sang mất cảm với nấm gây bệnh đạo ôn. Điều này chứng tỏ các chủng

nấm đạo ôn đã có những biến chủng rất nhanh để thích hợp cho việc xâm nhiễm vào các giống lúa mới và gây hại. Mặt khác do đặc điểm cây trồng liên tiếp 3 vụ trong một năm, khí hậu gần như không thay đổi đã tạo điều kiện cho nấm gây bệnh đạo ôn tồn tại và gây hại ở tất cả các vụ trong năm.

Mỗi chủng nấm gây bệnh đạo ôn được phân lập từ các mẫu và được nuôi cấy từ tế bào đơn đảm bảo chủng nấm thu được có sự thuần nhất về mặt di truyền (Hình 2).

Đã phân lập được 14 chủng nấm gây bệnh đạo ôn từ một số vùng trồng lúa chính của Việt Nam và thống kê trong bảng sau:

Bảng 1. Các chủng nấm gây bệnh đạo ôn phân lập được từ một số vùng trồng lúa chính của Việt Nam

STT	Tên chủng nấm	Nơi thu thập	Trên giống lúa	Người thu thập
1	NDOS 1-1	Nam Định	Bắc thom 7	N.T.T. Nga
2	TBOS 1-1	Thái Bình	BC15	N.T.T. Nga
3	HPOS 1-1	Hải Phòng	BC15	N.T.T. Nga
4	HDOS 3-1	Hải Dương	BC15	N.T.T. Nga
5	HYOS 2-2	Hưng Yên	Nếp	N.T.T. Nga

6	HNOS 1-1	Hà Nội	Nếp	N.T.T. Nga
7	THOS 2-1	Thanh Hóa	BC15	N.T.T. Nga
8	CTOS 5-1	Cần Thơ	IR50404	N.T.T. Nga
9	LAOS 3-1	Long An	Nàng hoa 9	N.T.T. Nga
10	TGOS 1-1	Tiền Giang	OM5451	N.T.T. Nga
11	ĐTOS 5-2	Đồng Tháp	OM4900	N.T.T. Nga
12	ĐNOS1-1	Đồng Nai	OM	N.T.T. Nga
13	STOS3-1	Sóc Trăng	IR50404	N.T.T. Nga
14	BLOS4-1	Bạc Liêu	OM4900	N.T.T. Nga

2. Xác định tính độc của một số chủng nấm gây bệnh đạo ôn trên một số giống lúa của Việt Nam

Thí nghiệm được tiến hành trên một số giống lúa đang được trồng ở các tỉnh thuộc đồng bằng sông Hồng như: Bắc thom số 7, BC15, Q5; giống lúa OM6976 của Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long và giống lúa Ishikari shiroke làm đối chứng có mang gen kháng Pi-i đã được nghiên cứu có khả năng đối kháng với các chủng nấm bệnh đạo ôn của Việt Nam.

Tiến hành thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo 5 chủng nấm bệnh đạo ôn được phân lập từ khu vực đồng bằng sông Hồng, miền Trung và đồng bằng sông Cửu Long gồm các chủng: TBOS1-1-1, HDOS3-1-1, THOS2-1-1, CTOS5-1-1 và TGOS1-1-1 với 5 giống lúa trên.

5 chủng nấm gây bệnh đạo ôn trên được nuôi cấy trên môi trường oat meal trong 6-7 ngày trước khi loại bỏ sợi khí sinh và chiếu dưới đèn UV. Sau khi bào tử của các chủng nấm bệnh đạo ôn thành trên bề mặt đĩa nuôi cấy thì được hòa loãng trong nước cất vô trùng và chuẩn ở mật độ $1-1,5 \times 10^5$ bào tử/ml có bổ sung 0.01% Tween 20.

Dịch bào tử được phun dạng giọt sương nhỏ lên mặt trước của lá cây con 25-28

ngày tuổi và ủ trong điều kiện tối trong 24 giờ, độ ẩm 100%, nhiệt độ 25⁰C. Sau 24 giờ cây ủ bệnh sẽ lấy ra và đặt dưới điều kiện chiếu sáng 12 giờ/ ngày.

Kết quả thu được như sau: Sau 4, 5 ngày đã có thể quan sát thấy các vết bệnh xuất hiện trên lá cây của các giống lúa Việt Nam. Đối với chủng nấm TBOS1-1-1 thì chúng biểu hiện độ độc cao đối với các giống lúa thí nghiệm đặc biệt là giống lúa BC15, vết bệnh biểu hiện ở mức 4G sau 6 ngày ủ lây nhiễm, đây là mức mẫn cảm cao nhất so với các giống lúa khác. Bên cạnh đó các giống Bắc thom số 7, OM6976 và giống Q5 cũng biểu hiện mẫn cảm với chủng TBOS1-1-1. giống Ishikari shiroke đã có kết quả đối kháng với nấm bệnh TBOS1-1-1 ở cấp bệnh 1-2B. Chủng nấm bệnh HDOS3-1-1 chúng có đặc điểm gây bệnh cho các giống lúa giống với chủng nấm TBOS1-1-1.

Đối với chủng nấm bệnh đạo ôn THOS2-1-1 chúng đã gây bệnh nặng cho giống lúa BC15 với các vết bệnh có màu xanh và đã phát triển thêm khi đọc kết quả ở ngày thứ 6. Song với hai giống Bắc thom số 7 và Q5 vết bệnh có nhỏ hơn và có sự phản ứng của cây cho vết bệnh màu nâu biểu hiện có sự phản ứng với sự tấn công của nấm gây bệnh. Trong khi đó tất cả các

mẫu đối chứng không phun nấm bệnh cho kết quả là 0, không có vết bệnh. Giống lúa đối chứng mang gen kháng cũng có biểu hiện đối kháng đối với chủng nấm này, sau 4, 5 và 6 ngày lây nhiễm chúng biểu hiện bệnh ở mức 1-2B.

Các giống lúa đều có biểu hiện miễn cảm đối với các chủng nấm phân lập được từ Cần Thơ (CTOS5-1-1) và Tiền Giang (TGOS1-1-1)

Kết quả cho thấy giống BC15 là giống miễn cảm cao với hầu hết các chủng nấm bệnh đạo ôn. Kết quả này cũng giải thích cho việc hầu hết các ruộng trồng giống lúa BC15 đều nhiễm bệnh đạo ôn và nặng

nhất là tại Thái Bình, Nam Định, Thanh Hóa và Hưng Yên cũng như các vùng trồng lúa khác. Trong khi các giống lúa khác như Bắc thơm số 7, Q5, và OM6976 đều có biểu hiện bị nhiễm bệnh từ nhẹ đến trung bình với các chủng nấm bệnh đạo ôn thì giống lúa mang gen kháng Ishikari shiroke đã có phản ứng kháng bệnh. Kết quả thu được cho thấy gen kháng này rất có khả năng kháng tốt (bảng 2), rất cần có được những nghiên cứu chuyên gen kháng này vào một số giống lúa nhiễm bệnh của Việt Nam.

Bảng 2. Biểu hiện kháng nhiễm của các giống lúa khi có sự xâm nhiễm của mỗi chủng nấm bệnh đạo ôn

STT	Tên giống	TBOS1-1-1	HDOS3-1-1	THOS2-1-1	CTOS5-1-1	TGOS1-1-1
1	BC15	4G	4G	4Gb	3-4Gb	3-4Gb
2	Bắc thơm số 7	2-3Gb	2-3Gb	2-3GB	3Gb	2-3Gb
3	Q5	2-3Gb	2-3Gb	2-3GB	3Gb	2-3Gb
4	OM6976	2-3Gb	2-3Gb	2-3Gb	2-3Gb	2-3Gb
5	Ishikari Shiroke	1-2B	1-2B	1-2B	3Gb	3Gb

Chú thích: 1: Vết bệnh là các chấm nhỏ có đường kính 1mm
 2: Vết bệnh là các chấm trung bình có đường kính 2mm
 3: Vết bệnh lớn có đường kính 3-4mm
 4: Vết bệnh có đường kính 5-6mm
 G: Green, vết bệnh có màu xanh, g: xanh nhạt
 B: Brown, vết bệnh có màu nâu hoặc viền màu nâu, b: nâu nhạt

IV. KẾT LUẬN

1. Kết quả thu thập: Giống lúa BC15 miễn cảm với tất cả các chủng nấm đạo ôn của các vùng đồng bằng sông Hồng, miền Trung và đồng bằng sông Cửu Long.

2. Kết quả phân lập, lây nhiễm: Các giống lúa BC15, Bắc thơm số 7, Q5, OM6976 đều có biểu hiện miễn cảm với chủng nấm bệnh đạo ôn của khu vực đồng bằng sông Hồng, miền Trung và đồng bằng sông Cửu Long.

3. Giống Ishikari Shiroke có biểu hiện kháng với các chủng nấm đạo ôn của khu vực đồng bằng sông Hồng và miền Trung

song vẫn bị miễn cảm với chủng nấm gây bệnh đạo ôn của Cần Thơ và Tiền Giang.

Như vậy các chủng nấm đạo ôn của khu vực đồng bằng sông Cửu Long có biểu hiện độc đối với các giống lúa trên. Các chủng nấm đạo ôn của khu vực đồng bằng sông Hồng có biểu hiện không độc đối với giống lúa Ishikari Shiroke.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bonman JM, KhusGS and Nalson RJ. 1992. *Breeding rice for resistant to pests*. Annu. Rev. Phytopatholo 30:507-528.

2. Le Dinh Don, Motoaki KUSABA, Alfredo S. URASHIMA, Yukio TOSA, Hitoshi NAKAYASHIKI and Shigeyuki MAYAMA. 1999. *Population Structure of the Rice Blast Fungus in Japan Examined by DNA Fingerprinting*. Phytopathological Society of Japan Vol. 65(1): 15-24.
3. Kato, H., Yamamoto, M., Yamaguchi-ozaki, T., Kadouchi, H., Iwamoto, Y., Nakayashiki, H., Tosa, Y., Mayama, S., and Mori, N. 2000. *Pathogenicity, mating ability and DNA restriction fragment length polymorphisms of Pyricularia populations isolated from Gramineae, Bambusideae and Zingiberaceae plants*. J. Gen. Plant Pathol. 66: 30-47.
4. Kozaka, T., and Kato, H. 1980. *Characteristics of the blast fungus*. Pages 47-93 in: *Rice Blast Disease and Breeding for Resistance*. Y. Yamazaki and T. Kozaka, eds. Hakuyusha, Tokyo (in Japanese).
5. Nga N.T.T., Hau V.T.B., Tosa Y., 2009. *Identification of genes for resistance to a Digitaria isolate of Maganaporthe grisea in common wheat cultivars*. Genome 52(9): 801-809.

Ngày nhận bài: 3/4/2013

Người phản biện: TS. Lã Tuấn Nghĩa,
ngày 10/4/2013

Ngày duyệt đăng: 3/6/2013