

CÔNG NGHỆ SINH HỌC & BẢO VỆ THỰC VẬT NGHIÊN CỨU TÌNH HUỐNG TRÊN CÂY LÚA (*Oryza sativa* L.)

GS TS Bùi Chí Bửu

Viện trưởng Viện KHKTNN Miền Nam

Những thách thức cho an ninh lương thực toàn thế giới và Việt Nam tập trung vào các sự kiện như sau: (i) sự thay đổi khí hậu toàn cầu làm ấm lên khí quyển trái đất, (ii) thiếu nước tưới cho cây trồng, (iii) nguy cơ thiếu hụt lương thực trước tình trạng đất nông nghiệp giảm và dân số tăng, (iv) stress phi sinh học ngày càng biểu hiện nghiêm trọng, đặc biệt khô hạn. Bên cạnh đó, sâu bệnh hại ngày càng phát triển do cách thức ứng xử của con người trong nông nghiệp thâm canh theo xu hướng kém bền vững, cân bằng sinh học trên đồng ruộng bị phá vỡ. Có nơi tính hệ thống trong nông nghiệp không còn nữa. Ứng dụng công nghệ sinh học kết hợp với phương pháp truyền thống đang là giải pháp được khuyến khích. Trong bài này, chúng tôi chỉ tập trung vào hai đối tượng chính là rầy nâu và bệnh đạo ôn trên cây lúa.

I. THÀNH TỰU CỦA KHOA HỌC CÂY TRỒNG

Trong Đại Hội Quốc tế về Khoa học Cây trồng lần thứ năm tại Hàn Quốc, Giáo sư Jerry Nelson (2008) thuộc ĐH Missouri, Hoa Kỳ đã bắt đầu với bài phát biểu quan trọng về “Khoa học cây trồng và sự đáp ứng nhu cầu cho tương lai”. Sự phát triển của Trung Quốc và Ấn Độ như quốc gia đầy tiềm năng về kinh tế đã làm thay đổi quan điểm toàn cầu, từ “giúp đỡ” sang “cạnh tranh”. Nông nghiệp và khoa học cây trồng tuy đạt nhiều thành tựu rực rỡ, với sự đầu tư ngày càng nhiều của tổ chức tư nhân tại các nước đang phát triển; nhưng nông dân có thể sẽ đối diện gay gắt với quyền sở hữu trí tuệ, quyền tác giả. Khoa học cây trồng không thể đứng riêng một mình mà đang xem xét cẩn thận các yếu tố kinh tế, xã hội, môi trường, chính trị, trong đó bao gồm thị trường năng lượng sinh học, thương mại hóa toàn cầu, chúng ta sẽ phải nhấn mạnh đặc biệt về chất lượng và sự an toàn lương thực, thực phẩm nhiều hơn so với yếu tố môi trường và xã hội. Sản xuất lương thực sẽ không đáp ứng nhu cầu trong tương lai; như vậy chúng ta phải xem xét lại “môi trường” một cách cởi mở hơn, nhấn mạnh đến phân tích các tính trạng có tính chất tăng thêm giá trị (added-value traits) đối với chất lượng sống của con người (Nelson 2008).

Lúa nước trời chiếm hơn 50% diện tích canh tác trên thế giới, nhưng sản lượng thóc chỉ đóng góp khoảng 25%; đây là vùng sản xuất lúa của những người nghèo nhất thế giới, đầy rủi ro do lũ lụt, hạn hán, xâm nhập mặn. Tiềm năng về năng suất ở đây còn có thể khai thác thêm so với năng suất đã đạt ở vùng lúa nước tưới. Giải pháp về cây lúa C4 đang là phương hướng đang được thực hiện trong chiến lược lâu dài kết hợp với thanh tựu trong khai thác ưu thế lai F1. Người ta đang phát triển cây lúa C3 sang cây C4 theo mô hình GECROS do Yin và Struik đề xuất từ năm 2008 (Zeigler 2008). Hiện nay, Bill and Melinda Gate Foundation đã tài trợ cho IRRI thực hiện tạo ra giống lúa C4, giai đoạn 2009 - 2012.



Giáo sư Ronald Phillips thuộc ĐH Minnesota, Hoa Kỳ, người vừa được giải thưởng International Food Prize 2007, đã có một tổng quan rất đáng chú ý về công nghệ sinh học trong cây trồng. Trước tình hình dân số tăng bình quân 1 tỷ người trong 14 năm, và diện tích nông nghiệp chỉ còn 1,5 tỉ ha trong năm 2050; sản lượng lương thực toàn cầu sẽ phải tăng gấp đôi so với hiện nay. Giải pháp nào? Việc giải mã bộ gen cây mô hình có thể giúp ích gì cho cải tiến giống cây trồng (bao gồm cây lúa)? Cây mô hình *Arabidopsis thaliana* đã được sử dụng cho nhiều loài cây khác tham khảo. Tương tự, cây mô hình *Brachyopium* được ứng dụng cho mẽ cốc vùng ôn đới, cây *Lotus japonicus* là mô hình cố định đạm, *Medicago truncatula* là mô hình cho cây họ Đậu, lúa *Oryza sativa* là mô hình sinh học cho mẽ cốc, cây *Populus* được ứng dụng để nghiên cứu sinh học và di truyền của giống cây rừng. Nhiều ý tưởng mới đã thực sự trở thành hiện thực nhờ thí nghiệm trên cây mô hình. Thí dụ: tính kháng tuyến trùng gây bệnh sưng rễ nhờ phân tử RNA can thiệp ứng dụng trên cây *Arabidopsis*, sản xuất vaccine dịch tả trên cây lúa, và cây bắp có gen “colicinogenic”. Bộ gen vô cùng phức tạp của cây bắp đã gần như được giải mã hoàn toàn, do đó, bây giờ người ta có thể xem nó như cây mô hình vào cuối năm 2009 (Phillip 2008).

Ở Trung Quốc, Giáo Sư QiFa Zhang thuộc ĐH Nông Nghiệp Huazhong, cùng với các đồng nghiệp đang thực hiện chương trình quốc gia khá nổi tiếng, đó là phát triển giống lúa “Green Super Rice”. Thách thức toàn cầu trước sự kiện thâm canh lúa là (i) sự phát triển sâu bệnh hại quyết liệt hơn + sử dụng thuốc không đúng, (ii) áp lực tăng năng suất + bón phân không đúng, (iii) thiếu nước tưới nghiêm trọng, (iv) đất thâm canh không còn mở rộng được nữa. Ba mục tiêu rõ ràng của Green Super Rice là: giảm đầu vào, tăng sản lượng, môi trường tốt. Giống lúa theo chiến lược này là: kháng nhiều sâu bệnh hại, hiệu quả sử dụng phân N cao, kháng hạn. Gen đáp ứng yêu cầu hiệu quả hấp thu dinh dưỡng cao đã được công bố: Gen điều khiển NUE (N uptake efficiency) được khai thác từ ngân hàng gen (với 64.000 mẫu giống lúa cổ truyền) + thư viện các dòng mutants để tìm kiếm gen cho NUE, bao gồm 270.000 transformants độc lập, và 20.000 flanking sequences trong thư viện T-DNA (Zhang 2008).

Các nhà khoa học quan sát sự thể hiện gen OsPTF1 điều khiển hiệu quả hấp thu lân, định vị trên nhiễm sắc thể số 6. Phát hiện sự đáp ứng rất sớm với N bằng kỹ thuật microarray. Hiệu quả sử dụng phân đạm đã giảm nghiêm trọng trên nhiều vùng trồng lúa. Nghiên cứu xu hướng năng suất lúa N giảm dần (dự án yield declining) của Cassman và ctv. 1996 và tài liệu của Li 1991, cho thấy ở Philippines, để sản xuất được 1kg thóc, cần bón 15 - 18kg N, ở Trung Quốc là 15 - 20kg N trong giai đoạn 1958 - 1963, nhưng giảm xuống 9,1 kg N ở giai đoạn 1981 - 1983, và hiện nay là 5,0kg N (Zhang 2008). Bảo vệ cây trồng trên quan điểm tổng hợp: dinh dưỡng cây trồng, di truyền tính kháng của cây chủ, di truyền gen độc tính của pathogen, môi trường sinh thái nơi cây trồng tăng trưởng. Mối quan hệ ấy được kết hợp trong một chương trình lúa “green super” ở Trung Quốc là một mẫu mực cho các nước trồng lúa như Việt Nam, tập hợp được nhiều nhà khoa học đầu ngành với một chương trình mang tính quốc gia, quốc tế, đa lĩnh vực. Kết quả như sau:

Những gen “ammonium transporter” trong cây lúa đã được phân lập thuộc họ gen OsAMT.



Gen đồng hoá ammonium bao gồm glutamine synthetase (GS1, GS2), glutamate synthase (NADH-GOGAT, Fd-GOGAT) và glutamate dehydrogenase (GDH)

Gen có chức năng “ammonium transport” và “ammonium transfer” bao gồm aspartate aminotransferase (AspAT) và asparagine synthetase (AS)

Gen đáp ứng với yêu cầu kháng hạn trên cơ sở chống chịu và thoát hạn của các quần thể RILs, T-DNA mutant library, trong đó IRAT109 được xem xét như nguồn cho gen kháng và các DNA mục tiêu dùng trong chuyển nạp là CBF3, LOSS, SOS2, TPS, HVA1, NPK1, ZAT, NCRD3, NHX1, CodA (Zhang 2008).

Các nhà khoa học đã nghiên cứu gen điều khiển “trehalose” là một diglucoside không khử, vừa có chức năng dự trữ carbohydrate, vừa có chức năng bảo vệ cây trồng chống lại stress. Cây lúa được kết luận rằng nó chống chịu với sự tổng hợp trehalose nhiều hơn những cây trồng hai lá mầm.

Suha Jabajj (2008) thuộc ĐH McGill, Canada, nghiên cứu lộ trình của gen mã hóa enzyme thuộc nhóm phenylpropanoid và isoflavones trong cây đậu nành non; chức năng của chúng đối với nấm hại *Rhizoctonia solani*. Hệ thống kích kháng (SAR) được quan tâm đặc biệt. Hoạt động của Np-R làm thay đổi thành tế bào giúp rễ cây bảo vệ chống lại *Rhizoctonia*. Hoạt động np-BNR làm giảm sự xâm nhiễm của pathogen ở trên lá cây đậu và cây bông vải. Các enzyme thuộc nhóm isoflavones rất quan trọng trong cơ chế đè nén sự phát triển của bệnh nhờ np-BNR.

Rouf Mian (2008) thuộc USDA-ARS, và ĐH Ohio, Hoa Kỳ nghiên cứu tính kháng của đậu tương đối với rầy mềm (*Aphis glycines*). Rầy mềm làm mất 50% năng suất đậu tương tại Minnesota, là nguồn vectơ truyền bệnh siêu vi trùng SMV, SDV, và AMV. Tính kháng aphid được kiểm soát bởi gen chủ lực. Có 2 gen chính đang được thực hiện bản đồ di truyền. Giống đậu nành PI243540, PI567301B và PI567324 được ghi nhận là giống kháng aphid, với cơ chế antibiosis thuộc về PI243540 và cơ chế antixenosis thuộc về PI567301B và PI567324. Hai gen Rag và Rag 1 của giống Dawling và Jackson, theo thứ tự đã được phân lập. Gen Rag2 được phân lập trên PI243540 trên nhóm liên kết F, định vị giữa hai marker kế cận là Satt34 và Sct_033.

Myoung Rae Cho và ctv. (2008) thuộc chương trình UMB, Malaysia, nghiên cứu về tác hại của tuyến trùng trên cây trồng ở vùng Đông Nam Á, bao gồm Việt Nam. Tuyến trùng gây thiệt hại trung bình 12% sản lượng cây trồng, biến thiên 3-21%. Chúng có khoảng 200 loài tấn công trên 2.000 loài cây trồng. Trong đó đáng kể nhất là tuyến trùng gây bệnh sưng rễ (*Meloidogyne*) trên hầu hết cây trồng cạn. Tiến bộ mới nhất là sử dụng RNAi trong giống kháng tuyến trùng, tài liệu được công bố trên PNAS 103 (39) của Huang và ctv. 2006. Kỹ thuật thanh lọc cây gốc ghép được ứng dụng phổ biến trên cây hoa hồng. Kỹ thuật luân canh với cây bông vụn thò, cây điền thanh thân sần (*Sesbania rostrata*), bón phân hữu cơ, phun thuốc,.. đã được đề cập. Nhóm tác giả này còn phân lập được đối tượng gây hại trên từng cây trồng như lúa, chuối, cây vải, dứa ở Malaysia và Việt Nam.



II. DI TRUYỀN PHÂN TỬ TRONG BẢO VỆ CÂY LÚA (*Oryza sativa* L.)

2.1. Ứng dụng công nghệ sinh học và tin sinh học

Bản đồ gen cây lúa đã được giải mã thành công. Trình tự DNA chất lượng cao của genome cây lúa chiếm 95%, với độ lớn phân tử 389 Mb, phủ trên tất cả các vai nhiễm và 2 tâm động của 12 nhiễm sắc thể. Tổng số nguyên tố chuyển vị hiện được xác định là 37.544 nguyên tố, chúng liên quan đến các gen mã hóa protein quan trọng. Có khoảng 50% số gen chưa biết chức năng.

Một dự án hợp tác quốc tế mới, có tính chất lịch sử, đánh dấu sự phát triển công nghệ sinh học cây lúa, đó là «Rice Annotation Project 1» (RAP1) từ năm 2004, bao gồm các nội dung: đặt tên và cho ký hiệu thống nhất trong ngân hàng dữ liệu, nghiên cứu genome học có tính chất so sánh với genome khác, ứng dụng thành tựu của genome học chức năng.

Các phần mềm chuyên dụng như Fgenesh, Genscan, Glocate, BlatRice đang được khuyến khích sử dụng để tìm kiếm gen mục tiêu, sau giai đoạn giải mã gen cây lúa thành công vang dội. Phương pháp tìm kiếm mỏ gen mục tiêu (allele mining) cũng được tập trung khai thác locus mới hoặc alen mới (Ebaka và Yano, Trung Tâm nghiên cứu tài nguyên genome cây lúa, Nhật) (<http://www.rgrc.dna.affrc.go.jp>)

Một dự án quốc nổi tiếng khác, đó là OMAP (Oryza Map Alignment Project) đã được triển khai khá thành công. Nhiễm sắc thể số 3 của cây lúa được chọn làm mục tiêu xem xét đầu tiên và có kết quả bước đầu, với kết quả so sánh giữa *O. sativa* và *O. nivara* [Genome Research 15:1284 (2005)], so sánh giữa lúa và ngô [Plant Cell 17:343 (2005)]

Rod Wing (ĐH Arizona, USA) xem xét ở mức độ chi tiết hơn trên nhiễm sắc thể số 1, 3 và 10, nhằm xác định chức năng của gen trong genus *Oryza* bao gồm 2 loài lúa trồng và 22 loài hoang dại, đại diện cho 10 kiểu genome khác nhau (<http://www.OMAP.org>). OMAP được thực hiện trên cơ sở 12 thư viện BAC chất lượng cao, đặc trưng cho 10 kiểu genome của *Oryza*. Chuỗi trình tự “BAC end” có độ lớn phân tử 724 Mb thuộc 10-12 thư viện BAC đã được sử dụng với ngân hàng dữ liệu “SnaPshot fingerprint”. OMAP đã công bố 5 bản đồ vật lý của *O. nivara* [AA], *O. rufipogon* [AA], *O. glaberrima* [AA], *O. punctata* [BB], *O. brachyantha* [FF]. Việc sắp xếp trình tự của gen nằm trên đường thẳng như vậy sẽ tạo ra một array cực lớn với cách xếp đặt giống như genome của Nipponbare, cung cấp cho chúng ta hình ảnh khá hoàn chỉnh về sự tiến hóa của genus *Oryza*. Khai thác các gen kháng sâu bệnh hại chính từ lúa hoang khá thành công từ đầu thế kỷ 21, nhờ những tiến bộ khoa học như vậy.

Ken McNally và ctv. (2009, 2006), thiết kế ra những marker phân tử mới dựa trên cơ sở đa hình từ một nucleotide bằng đột biến điểm (SNPs) cho genome cây lúa. SNPs rất phổ biến cho genome người, nhưng khá hạn chế trong genome cây lúa. Đây có thể được xem như sự kiện quan trọng trong công nghệ sinh học cây lúa. Công trình này là một hợp tác quốc tế giữa IRRI và Công ty Perlegen Sciences, Inc., thực hiện SNP cho cả genome bằng cách chạy sequencing của nhiều giống lúa



khác nhau, thông qua lai DNA-DNA trên array mức độ cao, với những nucleotides. Kết quả rất đáng chú ý với mật độ mỗi SNP / 100 bp.

Tính kháng bền vững, phổ kháng rộng đối với bệnh hại là nội dung quan trọng. Tuy nhiên, cho đến nay cơ chế tính kháng và lộ trình hoạt động của gen số lượng vẫn chưa được biết rõ. Thông thường, đó là những gen đáp ứng lại cơ chế tự bảo vệ của cây, thí dụ như oxalate oxidase, chitinase, PR1, v.v.... Còn lại những gen khác vẫn chưa được biết rõ chức năng của chúng.

Công tác chọn tạo giống lúa trong tương lai giống như công việc theo dõi dấu vết của những đoạn phân tử cực nhỏ trên mỗi nhiễm sắc thể của quần thể con lai đang phân ly, rồi tiến hành lựa chọn các tính trạng trên cơ sở đánh giá kiểu gen nhờ marker phân tử, kiểm tra lại kiểu hình trên các vùng sinh thái khác nhau.

Genomics có tính so sánh là nội dung quan trọng trong thời gian qua và trong tương lai với những ứng dụng cực kỳ nhanh chóng của nó. Từ công trình của Moore và ctv. vào năm 1995 đến công trình của Paterson và ctv. vào năm 2004 cho thấy: genome cây lúa không phải đơn giản, nó được xem là genome tổ tiên của các mẽ cốc khác, với 62% transcriptome có tính chất lặp đoạn (duplicated). Lặp đoạn ở đây bao gồm sự mất gen và sự chuyên biệt hóa, thông qua nghiên cứu “Oxford Grid”. Hướng ưu tiên cho ngành tin sinh học [bioinformatics] được đặc biệt nhấn mạnh: (1) khả năng phân biệt gen với những sequence khác; (2) so sánh các chuỗi trình tự giữa các loài với ngân hàng dữ liệu có sẵn; (3) phân tích “datapoints” có tính chất phức tạp và khối lượng cực kỳ to lớn; (4) tìm thấy các hợp phần của gen (Phillip 2008).

2.2. Genome học trong tính kháng rầy nâu

Rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) là đối tượng gây hại lúa rất nghiêm trọng ở Đồng bằng sông Cửu Long. Hiện có 18 gen đã được phân lập, có 10 gen trội và 8 gen lặn. Gen lặn *bph2* liên kết với *Bph1*, và *bph4* liên kết với *Bph3* (Yang và ctv. 2004). Các gen chủ lực định vị trên các nhiễm sắc thể đã được ghi nhận như sau:

- Nhiễm sắc thể 12: *Bph1*, *bph2*, *Bph9*, *Bph10*
- Nhiễm sắc thể 4: *Bph3*, *bph12*, *Bph14*
- Nhiễm sắc thể 6: *bph4*
- Nhiễm sắc thể 11: *Bph6*
- Nhiễm sắc thể 3: *bph11*, *Bph13*, *Bph15*
- Nhiễm sắc thể 12: *Bph18*

Hai gen kháng rầy nâu *Bph1* và *Bph10* được tìm thấy liên kết rất chặt chẽ với RFLP marker, C185 và RG457 trên nhiễm sắc thể số 12 (Jena và ctv. 1991, Ishii và ctv. 1994, Hirabayashi và Ogawa 1996, Lang và Bửu. 2003). Quần thể lúa hoang *Oryza australiensis* được phát hiện có mang gen *Bph-10* và *Bph-18*.

Tuy nhiên, tính kháng rầy nâu của cây lúa được điều khiển bởi những gen đơn như vậy thường không bền vững (Xu và ctv. 2002). Sự phá vỡ tính kháng rầy nâu của giống lúa mang gen *Bph-1* và *bph-2* trong sản xuất lúa được ghi nhận. Cùng



trong một nguồn vật liệu cho gen kháng rầy nâu, người ta có thể xác định giá trị rất lớn của tính kháng số lượng, nhưng hiểu biết về lĩnh vực này vẫn còn nhiều hạn chế, bởi vì tính chất di truyền của những gen thứ yếu rất khó khai thác, và đòi hỏi nghiên cứu phức tạp hơn rất nhiều.

Nguồn gen kháng rầy nâu từ lúa hoang đã được khai thác thành công là:

- *Oryza australiensis*: Bph10, Bph18
- *Oryza officinalis*: bph11, bph12, Bph13, Bph14, Bph15
- *Oryza latifolia*: Bph12

Hiện có 4 loại hình sinh học đã được công bố: BPH1 và BPH2 có ở Đông Nam Á, BPH3 có ở trong IRRI lab do Saxena định danh, BPH4 chỉ được ghi nhận ở Nam Á (Ấn Độ, Bangladesh). Tuy nhiên, thế giới đã thay đổi quan điểm biotype bằng quần thể rầy nâu, và thay đổi thuật ngữ thay đổi độc tính rầy nâu bằng thuật ngữ thích nghi (fitness).

Ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), lúa hoang đã được khai thác với 7 gen kháng. Đó là gen Bph10 của *Oryza australiensis*; bph11, bph12, Bph13, Bph14, Bph15 của *O. officinalis*; Bph12 của *O. latifolia*. Một gen mới được phân lập trên *O. australiensis* là Bph12 định vị trên vai dài của nhiễm sắc thể số 12, nhưng không liên kết với gen Bph10 (gen đã được Viện Lúa dòng hóa vào năm 2005) (Bửu và Lang 2005, Lang và ctv. 2008, 2007). Tuy chúng ta đang phấn đấu đa dạng nguồn di truyền tính kháng rầy nâu; nhưng nó mới chỉ phát huy ở mức độ nghiên cứu; thực tế sản xuất cho thấy, giống chủ lực ở ĐBSCL có nguồn gốc kháng từ nguồn vật liệu rất đơn điệu: chủ yếu từ CR94-13 và Babawee. Với gen lặn điều khiển tính kháng, chúng ta phải lưu ý nhiều hơn đến tính đồng hợp tử trong khuyến cáo sử dụng hạt giống xác nhận. Ngân hàng gen lúa Việt Nam cũng rất thiếu nguồn cung cấp giống kháng. Quần thể lúa hoang chưa được nghiên cứu, nhưng rất triển vọng để khai thác.

Sự phá vỡ tính kháng rầy nâu của các giống lúa hiện nay do sự kiện thích nghi của rầy (sinh vật bậc cao, chỉ cần 2 vòng đời tạp giao, mất khoảng 60 ngày, rầy có thể tạo ra quần thể mới thích nghi với cây chủ; nếu áp lực quần thể rầy quá cao trên đồng ruộng).

Sự đóng góp tương đối của con lai đối với thế hệ kế tiếp là “fitness” (thích nghi). Chọn lọc đạt kết quả tốt làm thay đổi tần suất kiểu gen trong con lai, điều đó cần một thay đổi về tần suất gen trong giao tử của quần thể bố mẹ. Chọn lọc trong quần thể bố mẹ có thể được thực hiện ở mức độ kiểu hình hơn là ở mức độ giao tử, làm phát sinh vấn đề phải xác định kiểu gen bố mẹ để có loại giao tử mong muốn. Hiện tượng thích nghi của một cá thể là sự đóng góp của những gen tạo ra thế hệ kế tiếp, hoặc tạo ra một số lớn con lai của nó trong thế hệ kế tiếp (Bửu và Lang 2003).

Khi giá trị fitness trung bình được xem xét với góc độ như vậy, người ta sẽ giả định rằng quần thể không bị hạn chế bởi yếu tố môi trường.

Nếu chúng ta không có những ruộng cung cấp nguồn rầy nâu với mật độ cao (thí dụ như Jasmine 85, các giống nếp, v.v...) giá trị thích nghi trung bình sẽ không



thay đổi, tính kháng rầy nâu sẽ có thể ổn định, với bộ giống đang canh tác tương đối đa dạng về di truyền của cây chủ. Những biện pháp tác động về môi trường như “Ba Giảm, Ba Tăng”, “IPM” sẽ rất tốt cho biện pháp quản lý như vậy.

Nông dân sử dụng hạt giống xác nhận là khâu có tính quyết định trong quản lý tính kháng rầy nâu trong trường hợp gen kháng là gen lặn.

Khai thác gen mới Bph-18 trên nguồn vật liệu IR65482-7-216-1-2 (dẫn xuất của *O. australiensis*), nhờ marker RM6217, trên NST số 12 (Jena và ctv. 2006). Hai gen Bph10 và Bph18 được phân tích alen, cho thấy đó là hai gen gen liên kết theo kiểu lặp đoạn (phân ly 15:1) trên cùng nhiễm sắc thể 12 (Jena và ctv. 2006). Các giống triển vọng: OM4498, OM5930, OM2395, OM6055, OM5625, OM5936, OM5628, OM5799, OM7347, OM6840 đã được khai thác hai gen Bph10 và Bph18 theo hướng này (chọn lọc nhờ chỉ thị phân tử).

Gen kháng Bph15 trên nhiễm sắc thể số 4 cũng được lưu ý. Nguồn cho là lúa hoang *O. officinalis*, quần thể được thu thập tại Trung Quốc. Nó định vị ở quãng giữa 2 marker: C820-S11182 (trong đó có 22 SSR và 25 STS). Nó định vị gần tâm động, rất khó lập bản đồ, khả năng tái tổ hợp thấp, do cấu trúc dị nhiễm sắc. Sử dụng BAC clones cho thấy trên 47 kb chiều dài đoạn phân tử mục tiêu, có sự hiện diện của 11 ORFs [phân tích Genscan], với khoảng cách vật lý 1Mb/ \varnothing di truyền 1 cM (thay vì 260 kb/cM như bình thường). Do đó, chúng ta phải thực hiện fine mapping thật chi tiết để dò tìm marker tương ứng (Yang và ctv. 2004).

Gen kháng Bph14 trên nhiễm sắc thể số 3, và Bph15 trên nhiễm sắc thể số 4 được đặt tên mới trong chương trình Green Super Rice ở Trung Quốc là Qbph1 và Qbph2, do tính kháng phổ rộng của chúng (Zhang 2008).

2.3. Genome học trong tính kháng bệnh đạo ôn

Trước sự kiện đồng tiến hoá của ký chủ và ký sinh [gen R của cây lúa + gen avir của ký sinh] (Wang và Leung 1999), người ta đưa ra các giải pháp sau:

- Gia tăng khả năng ngăn cản mạnh mẽ sự phát sinh nòi (pathogen)
- Sử dụng tính kháng số lượng: làm suy giảm sự kéo dài giai đoạn sinh sản của pathogen
- Dòng hoá (cloning) gen kháng thành công là tiền đề khẳng định cơ sở phân tử và hoá sinh của gen kháng theo hướng bền vững
- Phân tích di truyền của pathogen: xác định gen của ký sinh là tín hiệu cơ sở; xác định yếu tố phát sinh bệnh là công cụ tìm gen kháng

2.3.1. Phân tích di truyền của *Magnaporthe grisea*

Đối với nấm gây bệnh đạo ôn, Ralph A. Dean và ctv. (2005) thuộc ĐH North Carolina State đã công bố kết quả nổi tiếng về giải mã bộ gen nấm, đăng trên tạp chí Nature. Sau đó, Ma và ctv. (2006), Chen và ctv. (2007) nghiên cứu toàn bộ genome của vi nấm *Magnaporthe grisea*, gen và bệnh lý học, hiện tượng synteny (gen tương đồng với gen của genome khác). Độ lớn của genome vi nấm này là 40Mb,



với 7 nhiễm sắc thể. Năm 1998, người ta thành lập một consortium quốc tế với tên gọi là "International Rice Blast Genome" (IRBGC) để hợp tác nghiên cứu bệnh đạo ôn trên các vùng trồng lúa toàn thế giới. Số lượng gen có trong genome của vi nấm là 11.109 gen, phân bố theo tỉ lệ 1/3,5 kb, bao gồm 45% số gen có mã di truyền được xác định. Phân tích Signalp-2.0 (PSORT) cho thấy, số protein chưa được biết gắn với khu vực chitin là 1.258. Các DNA có tính chất lặp lại không phân bố ngẫu nhiên trong genome mà phân bố theo nhóm, không có hiện tượng synteny. Theo kết quả hợp tác quốc tế của consortium này, người ta đã thiết lập được microarray chất lượng cao, có tính khả thi về mặt thương mại. Những phân tích "knockout" và thể hiện gen đối với gen mục tiêu đã cung cấp cho chúng ta nhiều kiến thức về biến dưỡng protein, sự điều chỉnh nitrogen của vi nấm trong quá trình phát sinh bệnh trên lúa. Đặc điểm của gen định vị telomere sẽ rất khó tìm marker đồng phân ly. Gen AvrPit liên kết với chỉ thị phân tử m355-366 (2,3 cM), gen ArvPia liên kết với S487 (3,5 cM). Chúng đều định vị tại telomere của nhiễm sắc thể số 1 và 7, theo thứ tự (Chen và ctv. 2007). Do đó, việc tìm marker liên kết với chúng không phải là điều dễ dàng.

Trong *M. grisea* hai gen PMK1 và CON7 đại diện cho lớp gen mới, phát sinh bệnh khác với kiểu truyền thống. Cả hai gen PMK1 và CON7 đều có tính chất hoại sinh. Chúng không ký sinh trên tế bào chủ ngay cả trường hợp chúng đã xâm nhập vào rồi thông qua vết thương. Xu và Hamer (1996) cho rằng PKM1 mã hóa "MAP kinase", điều này có thể kích hoạt gen tạo ra đĩa bám có tính chất chuyên biệt, và tạo ra sinh tổng hợp thành tế bào mới, hình thành áp lực tạo bướu. Khi vào được tế bào cây chủ, PKM1 cần có một tín hiệu của hàng loạt gen khác, phục vụ cho sinh trưởng kiểu ký sinh. Khác với PKM1, gen CON7 là một gen điều hòa (nó làm nhiệm vụ điều tiết có tính chất chuyển mã). Nó điều khiển hiện tượng ký sinh từ kiểu hoại sinh (saprophytic) sang kiểu ký sinh (parasitic) của pathogen (Shi 1995).

Gen CON7 có thể điều khiển nhiều gen mục tiêu khác về mặt chuyển mã di truyền, rất cần cho quá trình xâm nhập theo cơ chế "invasion" vào cây chủ.

Gen CON1 là một gen phát triển khác của cơ chế này, được người ta phát hiện trong đột biến gen gây ra thay đổi về hình thái của nấm, từ bào tử dạng hình quả lê chuyển thành dạng hình kim (Shi và Leung 1994). Phân tích chuỗi mã di truyền của CON1 cho thấy không có một sự tương đồng nào về chuỗi ký tự như trong số liệu bảo quản (database). Người ta không biết: có phải CON1 là một gen điều hòa hay chỉ là một chuỗi mã đơn giản giúp cho việc xác định các thành phần cấu trúc trong hình thái học tế bào.

Liu và Dean (1997) chứng minh rằng sự đột phá của một gen mã hoá "G-protein" thuộc thể "-subunit" (gen magB) đã làm suy giảm sự nhiễm bệnh và khả năng định cư của nấm, nhưng có những biểu hiện khiếm khuyết đã được phát sinh trong cả hai giai đoạn tăng trưởng và ký sinh của pathogen. Những nghiên cứu như vậy chỉ ra rằng các gen điều hòa phát triển rất cần thiết cho nấm, trong quá trình điều tiết sự ký sinh của chúng.

Đối với nấm *M. grisea*, có hai loại hình gen chuyên tính đã được clone hóa với kỹ



thuật "map-based cloning" (Valent và Chumley 1994). Gen chuyên tính AVR2-YAMO của giống lúa điều khiển sự hoạt động có tính chất không tương hợp (incompatible interaction) trong giống lúa Yashiro-mochi. Protein của AVR2-YAMO có 223 amino acid và thể hiện mô típ "zinc-protease". Người ta giả định rằng: AVR2-YAMO bản thân nó cũng là "elicitor", còn chức năng "protease" của nó sẽ có thể sản sinh ra thể "elicitor" sau cùng. Nhóm thứ hai của gen chuyên tính là PWL (viết tắt từ chữ pathogenicity on weeping lovegrass) điều khiển tính chất ghi nhận trên cây chủ *Eragrostis curvula* (tiếng Anh gọi nó là cây weeping lovegrass) (Sweigard và ctv. 1995). Hàng loạt các tương đồng của gen PWL đã được clone hóa từ các isolate của nấm *M. grisea* ký sinh trên một giống cỏ hòa bản (Kang và ctv. 1995). Dạng hình ban đầu của gen PWL2 mã hóa protein ưa nước, giàu glycine, thể hiện mô típ của chuỗi ký tự mang tín hiệu bí mật trong sinh vật eukaryote. Những thay đổi từ bản chất không độc sang gây độc có thể thấy trong trường hợp đột biến gốc base của chuỗi mã di truyền, hoặc trong trường hợp thay đổi vùng promoter, thay đổi hệ điều khiển, làm mất khả năng thể hiện gen (Kang và ctv. 1995). Leong và ctv. (1997) đã thực hiện kỹ thuật cloning gen avr có liên quan đến tính chất chuyên biệt trên giống lúa Co39, phân tích chuỗi ký tự cho thấy không có một sự tương đồng nào với những gen avr được biết trước đây. AvrCo39 có ba khung đọc mã (ORF), thí nghiệm đột biến cho thấy ORF1 và ORF3 rất cần thiết để phục vụ chức năng "avirulence".

2.3.2. Phân tích di truyền gen kháng bệnh đạo ôn của cây lúa

Nghiên cứu di truyền tính kháng bệnh đạo ôn có thể nói được bắt đầu từ khi Goto thiết lập hệ thống giống chuẩn nội đối với nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa ở Nhật vào đầu thập niên 1960 (Ou 1985).

Có khoảng 50 gen chủ lực được ghi nhận (Chen và ctv. 2005), tất cả là gen trội chỉ trừ pi-21 là gen lặn (Jeung et al. 2007). Người ta đã dòng hoá được 7 gen Pib, Pita, Pi36, Pi9, Pi2, Pid2, Piz-t (Liu et al. 2007).

Yoshimichi Fukuta (2008) thuộc chương trình hợp tác JIRCAS và IRRI về bệnh đạo ôn trên lúa đã nghiên cứu các điều kiện để có tính kháng bệnh đạo ôn lúa trở nên bền vững. Có trên 80 gen và QTL điều khiển tính kháng bệnh đạo ôn đã được báo cáo, nhưng nhiều gen được tìm thấy trên cùng loci. Không ai có thể định tính và phân biệt từng gen kháng riêng lẻ. Hiện trạng nghiên cứu về di truyền tính kháng vẫn còn phức tạp. Một trong những lý do đó là thiếu hệ thống giống chuẩn kháng trên những nội chuẩn (blast isolates). Cần phải làm rõ tính chất gây bệnh của các isolates và tính kháng của cây chủ. Giải pháp: bộ giống chuẩn kháng quốc tế mới đang được phát triển bởi IRRI và Nhật. Những giống chuẩn kháng này mang một gen đơn và phủ trên 24 kiểu gen khác. Điều đó sẽ tạo thuận lợi cho việc điều tra ngân hàng gen, phát triển hệ thống chuẩn kháng, và làm rõ sự khác biệt của nội (isolates). Hạn chế: một quốc gia hay một tổ chức không thể hoàn chỉnh nội dung nêu trên mà cần tổ chức mang tính quốc tế sâu rộng, có mạng lưới hợp tác nghiên cứu, chia sẻ thông tin, vật liệu ngân hàng gen, nguồn pathogen. Một dự án nghiên cứu đã được thành lập có tên là "Blast Research Network for Stable Rice Production" (Fukuta 2008).



Trong một tương tác giữa ký sinh và ký chủ có tính chất đồng tiến hóa cao, tính kháng bệnh có thể được chia ra thành hai dạng: (1) tính kháng về chất lượng (qualitative) đề cập đến khả năng ngăn cản mạnh mẽ sự phát sinh các nòi chuyên tính (strain) của "pathogen", ngăn cản sự sinh sản của pathogen, trong khi tính kháng số lượng (quantitative) làm suy giảm sự kéo dài giai đoạn sinh sản của "pathogen", theo khái niệm tương tác cơ bản; (2) tính kháng chuyên tính đối với nòi (race) được dùng để diễn tả một phản ứng kháng bệnh đối với một kiểu gen của một pathogen chuyên biệt nào đó, và tính kháng không chuyên tính là phản ứng kháng trong tất cả kiểu gen khác nhau (Wang và Leung 1999).

Gen định vị trên các nhiễm sắc thể cũng được báo cáo với ít nhất 18 loci liên quan đến tính kháng số lượng (Kinoshita 1995, Yu và ctv. 1991, Mackill và Bonman 1992, Zhu và ctv 1993, Wang và ctv. 1994, Naqvi và Chattoo 1996).

Tuy nhiên, cho đến nay việc cloning thành công gen kháng đạo ôn vẫn chưa được ghi nhận, một số gen Pi-b, Pi-ta, Pi-ta2, Pi-5, Pi-7 đang được hoàn thiện một cách tích cực tại nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới (Tsunoda và ctv. 1998, Wang và ctv. 1998b, Chen và ctv. 1998), gen Pi36 trên nhiễm sắc thể số 8 (Liu và ctv. 2007), gen Pi40(t) thuộc môđíp NBS-LRR trên nhiễm sắc thể số 6 (Jeung và ctv. 2007), sự tiến hoá Pi-ta locus của *Oryza rufipogon* (Huang và ctv. 2008) cũng được công bố gần đây.

Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long thực hiện khai thác lúa hoang, Tẻ Tép, Sóc Nâu làm nguồn cung cấp gen kháng và dòng hoá gen Pi2, định vị giữa 2 RFLP marker là RG64 (phân cắt bằng XbaI) và LPO111-112 (phân cắt bằng BglII) trên nhiễm sắc thể số 6 và tìm kiếm gen mới kháng dòng nấm có độc tính mạnh nhất trong bộ sưu tập là OMP1 (Bửu 2002, Bửu và Lang 2003, 2007, 2008, Lang và Bửu 2002, 2003, Brar và ctv. 2005)

Gen Pi-ta2 và Pi-ta liên kết rất chặt, hoặc có thể xem đó là hai alen khác nhau định vị trên cùng một locus, hai gen này đã được thiết lập bản đồ di truyền, định vị ở tâm động của nhiễm thể số 12 (Wu và ctv. 1996, Nakamura và ctv. 1997). Bên cạnh đó, Wu và ctv. (1996) đã thiết lập bản đồ di truyền và bản đồ vật lý bằng cách sử dụng BAC clone, quét rất kỹ khu vực gen Pi-ta, với 3 marker phân tử liên kết chặt trong khoảng 0,5 cM. Tương tự như vậy, Nakamura và ctv. (1997) đã thiết lập một "contig map", với qui mô quét 300 kb, và marker liên kết với gen Pi-ta2 trong khoảng 0,3 cM. Tuy nhiên, vùng tâm động là nơi thể hiện rất thấp khả năng tái tổ hợp và thể hiện tần suất cao của chuỗi mã lặp lại. Điều này đặt ra cho chúng ta những khó khăn trong việc tiếp cận với gen mục tiêu bằng kỹ thuật "chromosome walking". Gần đây, Rybka và ctv.(1997) đã xác định gen Pi-ta2 liên kết với hai marker kế cận với khoảng cách di truyền khoảng 0,3 cM. Gen Pi-ta được định vị trên bản đồ ở vị trí chồng lấp với Pi-ta2 bằng phương pháp phân tích kiểu gen theo giản đồ (graphical genotype) của một dòng đẳng gen. Kết quả gợi ra cho chúng ta khái niệm: hai gen này có quan hệ với nhau về chức năng, tương tác allelic, hoặc ít nhất chúng liên kết với nhau rất chặt, và chúng có thể có cùng một nguồn gen tổ tiên (Rybka và ctv. 1997).



GS Jean-Loup Nottoghem (CIRAD, Pháp) là một chuyên gia rất nổi tiếng về bệnh đạo ôn trên cây lúa. Ông đã chứng minh được có sự kết hợp giữa di truyền quần thể và di truyền phân tử để nghiên cứu giống lúa chống chịu bệnh này. Trợ lý của Giáo sư là Dr. Jean Benoit Morel đã bắt đầu từ nghiên cứu gen Pi-1, Pi-2 để xem xét sự tiến hóa của pathogen làm phá vỡ tính kháng bệnh đạo ôn trên cây lúa ở khu vực Đông Nam Á. Sự tiến hóa di truyền quần thể của *Magnaporthe grisea* được nghiên cứu trên gen Pi-33 và dòng hóa của nó, gen Pi-33 + Pi-1 + Pi-2 cho thấy một phối hợp tốt cho tính kháng bền vững, trong đó gen Pi-33 biểu hiện phổ kháng bệnh đạo ôn rất rộng. Sự tương tác của 30 gen thuộc hệ thống tự vệ của cây lúa cũng được ghi nhận. Họ nghiên cứu rất sâu về transcriptomics và chức năng của gen thông qua đột biến làm mất chức năng (với 70 mimic mutants), T-DNA và kỹ thuật TILLING. Họ nêu ra lý thuyết rất ấn tượng là làm thế nào ngăn chặn được sự tiến hóa của pathogen để nó không phá vỡ tính kháng. Kết quả thể hiện qua phân tích “regulator”. Nếu regulator phản ứng dương tính: có nghĩa là pathogen mất chức năng (không hoạt động), nếu regulator phản ứng âm tính: có nghĩa là pathogen phục hồi lại chức năng. Nottoghem và cộng sự sẵn sàng chia sẻ kết quả trên “OryzaGenes DB”.

Việc phân lập gen kháng có khi ít quan trọng bằng việc xác định tính không hiệu quả về nông học của các gen đã được lập bản đồ và được clone hóa. Sự phối hợp lại các gen kháng sẽ giúp cho tính kháng trở nên ổn định hơn.

Tính đa hình DNA của 181 isolates nấm gây bệnh đạo ôn ở ĐBSCL được ghi nhận, với 181 kiểu gen tương ứng với 181 haplotype nấm (Dư và Loan 2009). Các gen Pi-1, Pi-5(t), Pi-3, Pi-4(t) kháng tốt với các nòi nấm ở miền Bắc. Trong khi đó trong 24 gen thử nghiệm với 158 isolates của 3 nhóm nấm gây bệnh hại chính; không có gen nào biểu thị hiệu lực hoàn toàn ở vùng đồng bằng sông Cửu Long. Trong đó, hai gen Pi-z, Pik-m có tỷ lệ isolates nấm gây bệnh đạo ôn tấn công thấp nhất (Dư và Loan 2009). Một giống lúa triển vọng ở ĐBSCL thường bị phá vỡ tính kháng trong vòng 2-3 vụ lúa sau đó, thể hiện một sự phát triển kém bền vững trong sản xuất độc canh 2-3 vụ lúa liên tục trong năm, thâm canh cao, sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và phân N chưa hợp lý, gieo sạ dày.

Với hệ thống di truyền tuyệt hảo của *M. grisea*, người ta có thể xem xét giá trị thích nghi của pathogen đối với gen kháng chuyên tính. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, điều này có thể được thực hiện bằng cách hoàn thiện những nghiên cứu về thay đổi gen, thể hiện trong thể đột biến avr chuyên tính, chúng được thay vào loại hình nguyên thủy. Giá trị đột biến như vậy được ước đoán bằng cách so sánh trực tiếp giữa dòng đột biến và dòng nguyên thủy. Người ta phải chuẩn bị một bộ giống NIL (gần như đẳng gen) với một gen kháng đơn hoặc đa gen kháng để xác định về mặt di truyền giá trị nông học của những gen kháng này. Thông tin về lĩnh vực như vậy sẽ cung cấp cho chúng ta cơ sở khoa học của chiến lược chồng gen kháng (pyramiding) một cách có hiệu quả.

Tính kháng số lượng từ lâu được xem như một loại hình lý tưởng của tính kháng ổn định do bản chất không chuyên tính đối với nòi của nó. Vì gen chính có ảnh hưởng che khuất (masking), nên chúng ta rất khó khăn trong chọn lọc tính kháng



số lượng khi có những gen chính xuất hiện. Nhờ kỹ thuật phân tích marker phân tử, tính kháng ổn định đối với bệnh đạo ôn của của giống lúa Moroberekan được điều khiển bởi cả hai nhóm gen: gen chính và gen số lượng (quantitative trait loci = QTL) (Wang và ctv. 1994). Người ta tìm thấy ở 10 đoạn trong bộ nhiễm thể có ảnh hưởng di truyền để hình thành số vết bệnh đạo ôn. Ba trong số những marker nghiên cứu về QTL điều khiển tính kháng không hoàn toàn (partial) liên kết với gen kháng hoàn toàn bệnh đạo ôn, đã được công bố trước đây. Theo nhóm tác giả này, kiểu gen và kiểu hình QTL được ghi nhận trong nhà lưới là những dự đoán rất tin cậy về tính kháng bệnh đạo ôn trên đồng ruộng ở hai địa điểm khảo sát (Wang và ctv. 1994). Như vậy, về lý thuyết, chọn giống nhờ marker phân tử (MAS = marker-assisted selection) có thể được áp dụng để kết hợp gen đơn có tính kháng mạnh với gen số lượng không chuyên tính nòi. Tuy nhiên, vấn đề chung nhất của bản đồ QTL là: hầu hết những marker gắn với QTL còn cách biệt quá xa với nhau, chưa đủ sức dự đoán chính xác một chương trình chọn lọc giống hiệu quả (Tanksley và Nelson 1995). Cho nên, hiện nay chưa có một chương trình chọn giống nào thành công theo chiến lược MAS về tính kháng số lượng trên cây lúa.

III. GIẢI PHÁP NÀO CHO GIỐNG LÚA Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

- Công nghệ sinh học nông nghiệp và khoa học cây trồng tuy đạt nhiều thành tựu, nhưng nông dân sẽ còn phải đối diện gay gắt với rầy nâu, bệnh đạo ôn trong chặng đường tới. Công nghệ sinh học phải kết hợp với những phương pháp truyền thống, đảm bảo yếu tố hệ thống trong tự nhiên: giữa ký chủ và ký sinh, giữa ký sinh và thiên địch, giữa ký chủ, ký sinh với môi trường canh tác lúa.

- Những thách thức trong thâm canh lúa ở ĐBSCL: phát triển sâu bệnh hại quyết liệt hơn, áp lực tăng năng suất cộng với mùa vụ gieo trồng liên tục làm thay đổi hệ thống sinh thái truyền thống, hiệu quả bón phân đạm thấp (30-40%), ảnh hưởng của thay đổi khí hậu bắt buộc chúng ta phải tiến hành những nghiên cứu có tính chất hệ thống tổng hợp, đa ngành, đáp ứng mục tiêu: (1) giảm đầu vào [phân bón, thuốc BVTV], (2) sản lượng tiếp tục tăng, (3) môi trường an toàn. Muốn giảm phân N bón vào, việc chọn tạo giống có gen điều khiển tăng cường khả năng hấp thu ammonium một cách hiệu quả, (cũng như vậy đối với phân P và K) là điều cần thiết.

- Bảo vệ cây lúa trên cơ sở dinh dưỡng cây trồng, di truyền tính kháng của cây chủ, di truyền gen độc tính của pathogen, môi trường sinh thái nơi cây lúa tăng trưởng. Tính kháng bền vững, phổ kháng rộng đối với bệnh hại là nội dung quan trọng. Tuy nhiên, cho đến nay cơ chế tính kháng và lộ trình hoạt động của gen số lượng vẫn chưa được biết rõ. Phương pháp phân tích QTL các gen thứ yếu (minor); từ vùng giả định đến gen ứng cử viên, từ gen ứng cử viên đến gen mục tiêu cần được cải tiến.

- Công tác chọn tạo giống lúa trong tương lai giống như công việc theo dõi dấu vết của những đoạn phân tử cực nhỏ trên mỗi nhiễm sắc thể của quần thể con lai đang phân ly, rồi tiến hành lựa chọn các tính trạng trên cơ sở đánh giá kiểu gen nhờ chỉ thị phân tử, kiểm tra lại kiểu hình trên các vùng sinh thái khác nhau, theo nguyên tắc MAS.



- Sự phá vỡ tính kháng rầy nâu của các giống lúa hiện nay do sự kiện thích nghi của rầy, khai thác gen mới Bph10 và Bph18 từ nguồn lúa hoang có phổ kháng rộng là nội dung cần chú ý. Bên cạnh, chúng ta phải quản lý được quần thể rầy nâu trên đồng ruộng, không để bộc phát với mật độ cao.

- Chọn tạo giống lúa nhờ chỉ thị phân tử [MAS] phải kết hợp với đánh giá kiểu hình truyền thống. Liên kết giữa marker và gen mục tiêu có chặt chẽ đến đâu thì kỹ thuật fine mapping vẫn là nội dung then chốt, bởi vì có thể trong khoảng cách di truyền 1cM (tương đương từ 0,25 đến 1 Mb) sẽ có sự hiện diện của nhiều ORFs [các gen chưa rõ chức năng cùng nằm trong vùng ấy]. Rà soát kỹ marker liên kết với gen kháng là việc làm không thừa. Sự công bố kết quả "Rice SNPs" của Ken McNally (2009) là sự kiện quan trọng phục vụ fine mapping tốt hơn.

- Sự kiện nổi tiếng về giải mã bộ gen nấm *Magnaporthe grisea* là hướng nghiên cứu di truyền ngược lại trong quản lý giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Những phân tích "knockout" và thể hiện gen của nấm đối với gen mục tiêu đã cung cấp cho chúng ta nhiều kiến thức về biến dưỡng protein, sự điều chỉnh nitrogen của vi nấm trong quá trình phát sinh bệnh trên lúa. Sự đột phá của một gen mã hoá "G-protein" thuộc thể "-subunit" (gen magB) đã làm suy giảm sự nhiễm bệnh và khả năng định cư của nấm. Đây là những kết luận rất đáng quan tâm.

- Xét về tính kháng số lượng: các gen định vị trên các nhiễm sắc thể với ít nhất 18 loci được ghi nhận có liên quan đến tính kháng số lượng (Tanksley và Nelson 1995). Tuy nhiên, vấn đề chung nhất của bản đồ QTL là: hầu hết những marker gắn với QTL còn cách biệt quá xa với nhau, chưa đủ sức dự đoán chính xác một chương trình chọn lọc giống hiệu quả. Việc thực hiện chọn giống nhờ chỉ thị phân tử trong trường hợp này là thách thức quá lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bui chi Buu, Nguyen thi Lang. 2003. Application of molecular markers in rice breeding in the Mekong Delta of Vietnam. In *Advances in Rice Genetics*. GS Khuch, DS Brar, B. Hardy (Eds). IRRI, Philippines, 216-220
- Bùi chí Bửu, Nguyễn thị Lang. 2005. Nghiên cứu và ứng dụng marker phân tử để phát hiện gen kháng rầy nâu trên cây lúa (*Oryza sativa* L.). Hội nghị khoa học toàn quốc 2005. Công nghệ sinh học trong nghiên cứu cơ bản, Hướng 8.2. Bộ Khoa Học và CN, Chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên. Hà Nội. Tr. 165-169
- Bui chi Buu, Nguyen thi Lang. 2007. Rice conventional and molecular breeding at CLRRRI (1977-2007). *OMonRice* 15:1-11
- Bùi chí Bửu, Nguyễn thị Lang. 2008. Giáo trình Di Truyền Phân Tử. Nhà Xuất Bản Nông nghiệp in lần thứ Ba, 629 trang.
- Bùi chí Bửu. 2002. Tương tác giữa ký sinh và ký chủ trong bệnh cây trên cơ sở sinh học phân tử. Bùi chí Bửu (Ed.): Cơ sở di truyền tính kháng sâu bệnh hại cây trồng. Nhà XB Nông nghiệp. Trang11-52

