



DOI:10.22144/ctujos.2023.167

ĐÁNH GIÁ BIỂU HIỆN CỦA PHÂN TỬ MICRORNA *OSA-MIR162A* TRÊN CÁC GIỐNG LÚA CHỐNG CHỊU VÀ Mẫn CẢM VỚI NẤM GÂY BỆNH ĐẠO ÔN - *Magnaporthe oryzae*

Nguyễn Bằng Phi^{1,2*}, Nguyễn Đoàn Nguyên Phương^{1,3}, Nguyễn Ngọc Bảo Châu⁵ và Nguyễn Bảo Quốc⁴

¹Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương

³Viện Khoa học Sự sống Nano, Đại học Kanazawa, Nhật Bản

⁴Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

⁵Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Bằng Phi (email: phinb@tdmu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/12/2022

Ngày nhận bài sửa: 10/01/2023

Ngày duyệt đăng: 06/02/2023

Title:

Expression profiles of *osa-miR162a* involving in *Magnaporthe oryzae* resistance and non-resistance of Vietnamese rice cultivars

Từ khóa:

Bệnh đạo ôn, *Magnaporthe oryzae*, microRNA, *osa-miR162a*, qRT-PCR

Keywords:

Magnaporthe oryzae, miRNA, *osa-miR162a*, qRT-PCR, rice blast

ABSTRACT

Magnaporthe oryzae has been considered a causal agent of the rice blast disease, leading to great yield loss of rice production worldwide, particularly in Vietnam. Recently, the role of microRNA known as small non-coding RNAs has been described as their involvement in plant development and abiotic stress tolerance. The previous study showed that *osa-miR162a* negatively regulates rice immunity against the blast fungus, *M. oryzae* by suppressing the expression of the endoribonuclease *dicer* homolog 1 gene (*DCL1*). In this study, the expression levels of *osa-miR162a* were evaluated in *M. oryzae* susceptible and non-susceptible rice cultivars grown in Vietnam using real-time qRT-PCR method. Despite various expression levels of *osa-miR162a* across rice cultivars at different hours post infection (hpi), the increased expression of *osa-miR162a* in *M. oryzae* non-susceptible rice cultivars at 48 hpi and 72 hpi represented a statistically significant difference compared with *M. oryzae* susceptible rice cultivars. These results indicated that *osa-miR162a* is a potential marker in discriminating the susceptibility and non-susceptibility to *M. oryzae* of rice cultivars in Vietnam.

TÓM TẮT

Nấm *Magnaporthe oryzae* được xem là tác nhân chính gây bệnh đạo ôn trên lúa và gây thiệt hại rất lớn về năng suất. Gần đây, vai trò của microRNAs được mô tả là có liên quan đến khả năng chống chịu của cây trồng với các tác nhân gây hại. Trong nghiên cứu này, sự biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa thuộc nhóm mẫn cảm và chống chịu với nấm *M. oryzae* trồng phổ biến tại Việt Nam được phân tích bằng kỹ thuật real-time qRT-PCR. Mặc dù có sự đa dạng trong biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa ở các thời điểm sau lây nhiễm (hpi) khác nhau, sự biểu hiện tăng của *osa-miR162a* trên các giống lúa chống chịu bệnh đạo ôn ở thời điểm 48 và 72 hpi thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các giống lúa mẫn cảm. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng phân tử microRNA *osa-miR162a* hứa hẹn là một chỉ thị phân tử tiềm năng trong việc phân biệt tính kháng với nấm *M. oryzae* của các giống lúa trồng tại Việt Nam.

1. GIỚI THIỆU

Lúa (*Oryza sativa*) được xem là cây lương thực chính của hơn một nửa dân số trên thế giới (Li et al., 2014). Tuy nhiên, bệnh đạo ôn do nấm *Magnaporthe oryzae* gây ra là một trong những bệnh gây thiệt hại nghiêm trọng đến năng suất và sản lượng lúa trên toàn thế giới. Khả năng miễn dịch của cây lúa được thể hiện thông qua hai lớp bảo vệ bao gồm sự nhận biết các PAMPs và ETI (Liu et al., 2014). Các nghiên cứu gần đây cho thấy microRNA có vai trò chính trong việc điều hòa hệ thống miễn dịch ở cây lúa (Tang & Chu, 2017). Cho đến nay, có hơn 60 miRNAs đáp ứng khác biệt về mặt biểu hiện với sự xâm nhiễm của *M. oryzae* trên các giống lúa chống chịu và miễn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn đã được xác định dựa trên kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới. Một số miRNA như *osa-miR162a* được mô tả là điều hòa tăng đối với tính kháng nấm *M. oryzae* của lúa (Li et al., 2020). Trên lúa, *osa-miR162* là một họ microRNA với 2 thành viên bao gồm *osa-miR162a* và *osa-miR162b*, có gen đích là *OsDCL1*. Do vậy, *osa-miR162* còn đóng vai trò điều hòa ngược quá trình tạo ra các miRNA khác. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, biểu hiện tăng *osa-miR162* làm tăng khả năng kháng nấm *M. oryzae* thông qua sự ức chế gen đích *OsDCL1*, đồng thời *osa-miR162* làm tăng mức độ biểu hiện của các gen kháng và tăng nồng độ H₂O₂ giúp cây lúa chống lại nấm *M. oryzae* tại vị trí xâm nhiễm. Tuy nhiên, khi biểu hiện tăng *osa-miR162a* lại làm giảm sản lượng lúa (Li et al., 2020). Do đó, có thể nhận định *osa-miR162a* có vai trò cân bằng khả năng kháng nấm *M. oryzae* và sản lượng lúa. Hầu hết các nghiên cứu trước đây về mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* đều tiến hành so sánh giữa 01 giống lúa kháng và 01 giống lúa miễn cảm, mà chưa đánh giá trên nhiều giống lúa khác, cũng như các giống lúa trồng tại Việt Nam. Trong nghiên cứu này, mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* được đánh giá trên 10 giống lúa thuộc hai nhóm miễn

cảm và chống chịu với *M. oryzae* ở các thời gian sau lây nhiễm (hours post infection, hpi) bằng phương pháp real-time qRT-PCR. Phân tích thống kê cho thấy mức độ biểu hiện tăng của *osa-miR162a* được quan sát ở giai đoạn 48 hpi và 72 hpi trên các giống lúa thuộc nhóm chống chịu *M. oryzae* so với các giống lúa thuộc nhóm miễn cảm với *M. oryzae*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Các giống lúa, mẫu nấm gây bệnh đạo ôn và môi trường nuôi cấy

Nghiên cứu sử dụng 10 giống lúa bao gồm năm giống lúa cho mỗi nhóm chống chịu và miễn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn *M. oryzae* (Bảng 1). Nguồn mẫu nấm gây bệnh đạo ôn *M. oryzae* LBT2 được lấy từ bộ sưu tập mẫu nấm gây bệnh đạo ôn *M. oryzae* tự phân lập (Hòa và ctv., 2016), được thu thập ở các vùng trồng lúa thuộc các tỉnh thành miền Bắc, miền Trung và miền Nam Việt Nam. Thí nghiệm chủng bệnh trên các giống lúa được thực hiện bằng mẫu nấm phân lập *M. oryzae* LBT2 theo quy trình như sau: Các giống lúa được trồng thành cây con 14 ngày tuổi, mẫu nấm *M. oryzae* LBT2 được nuôi cấy trên môi trường oatmeal agar và kích thích bào tử nảy mầm dưới đèn Blacklight tạo UV trong thời gian 2-3 ngày ở 25°C. Tiếp theo, bào tử nấm *M. oryzae* LBT2 được pha loãng ở mật số 1×10⁵ - 5×10⁵ bào tử/mL và trộn với dung dịch Tween20 0,1%, sau đó phun sương huyền phù bào tử này lên lá lúa 14 ngày tuổi. Các bào tử của chủng nấm LBT2 này có tỉ lệ nảy mầm và hình thành giác bám xâm nhiễm đạt hiệu quả sau 8 giờ trên bề mặt nhân tạo và lá lúa, chủng này có khả năng phá vỡ tính kháng của các giống lúa có khả năng kháng như IR50404 (Quoc et al., 2021). Do đó, việc xác định sự thay đổi tích lũy biểu hiện của *osa-miR162a* trong nghiên cứu được đánh giá ở các thời điểm 24, 48 và 72 giờ sau lây nhiễm.

Bảng 1. Danh sách các giống lúa sử dụng trong nghiên cứu

Nhóm lúa	Tên giống lúa	Đặc điểm	Nguồn mẫu
Nhóm lúa chống chịu với nấm <i>M. oryzae</i>	RVT	Lúa thơm	Đồng bằng sông Cửu Long
	ST5	Lúa thơm	Đồng bằng sông Cửu Long
	IR 50404	Lúa thường	IRRI
	OM9582	Lúa thơm	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	Tè Tép	Lúa thường	Đồng bằng sông Cửu Long
Nhóm lúa miễn cảm với nấm <i>M. oryzae</i>	Jasmine 85	Lúa cao sản	IRRI
	OM4900	Lúa lai	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	OM7347	Lúa lai	Đồng bằng sông Cửu Long
	OM3440	Lúa cao sản	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	OM5760	Lúa cao sản	Đồng bằng sông Cửu Long

Việc đánh giá nhóm chống chịu và miễn cảm *M. oryzae* của các giống lúa sử dụng trong thí nghiệm này đã được chọn dựa trên kết quả của nghiên cứu trước đây dựa trên kết quả đánh giá mức độ nhiễm bằng phần mềm Access 2.0 (Quoc et al., 2019).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất RNA

RNA tổng số (bao gồm miRNA) của mẫu lá nhiễm bệnh ở các thời điểm sau lây nhiễm khác nhau (24, 48 và 72 hpi) được chiết xuất bằng Trizol theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Thermo Fisher Scientific, USA). Nồng độ RNA tổng số sau khi chiết xuất sẽ được đo bằng thiết bị NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). Tất cả các mẫu RNA được xử lý với Dnase I, Amplification Grade (Invitrogen, USA) để phân hủy các DNA dư. Cuối cùng, 1 µg RNA tổng được hòa tan với buffer DNase I 1X để cho ra dung tích là 50 µL, tiếp đó thêm DNase (200 U/ml) và ủ ở 37°C trong 10 phút. Để bất hoạt phản ứng, EDTA 0,5M được thêm vào và ủ ở 75°C trong 10 phút.

2.2.2. Phân tích mức độ biểu hiện tương đối của *osa-miR162a* bằng phương pháp qRT-PCR

Mức độ biểu hiện tương đối của *osa-miR162a* được thực hiện bằng phương pháp qRT-PCR với kit SensiFAST SYBR No-ROX (Bioline, UK) và các môi chuyên biệt cho *osa-miR162a* với trình tự (F: 5'GCGAATTTCTTTGAGAGGGTG3', R: 5'ACTGGATGCAGAGGTTTATCG3') như trong mô tả của các nghiên cứu trước đây (Quoc et al., 2019). Phản ứng real-time PCR được thực hiện bằng thiết bị Mygo Pro (IT-IS Life Science Ltd, UK) ở chu trình như sau: biến tính ban đầu 95°C trong 2 phút, 40 chu kỳ bao gồm (biến tính 95°C trong 10 giây, bắt cặp ở 65°C trong 10 giây, kéo dài ở 72°C trong 20 giây) và bảo quản sản phẩm lạnh ở nhiệt độ 10°C. Gen *OsUbi1* được sử dụng làm đối chứng vì sự biểu hiện ổn định ở mọi tác động (Bhattacharyya et al., 2012). So sánh tương đối mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* được ước lượng dựa trên giá trị $2^{-\Delta Ct}$ (Quoc et al., 2019; Phi et al., 2021). Giá trị chu kỳ ngưỡng (threshold cycle – C_t) là con số chu kỳ mà ở đó giá trị C_t tương quan ngược với nồng độ mẫu ban đầu. Điều đó có nghĩa là nếu mẫu có nồng độ DNA ban đầu thấp thì nó sẽ có C_t cao. Tương tự, mẫu với nồng độ ban đầu cao thì C_t thấp. Mức độ biểu hiện được đánh giá bằng phương pháp $2^{-\Delta Ct}$ với $\Delta C_t = C_t$ của mẫu *osa-miR162a* – C_t của *OsUbi1*.

2.2.3. Phân tích thống kê

Các dữ liệu được thể hiện ở dạng trung bình (mean) ± độ lệch chuẩn (standard deviation). Phân tích biểu đồ hộp (Box plot) được thực hiện dựa trên phương pháp so sánh T-test. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng phép thử T-test và ý nghĩa thống kê được xác định ở $P < 0,05$. Các thí nghiệm đã được thực hiện với 3 lần lặp lại.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

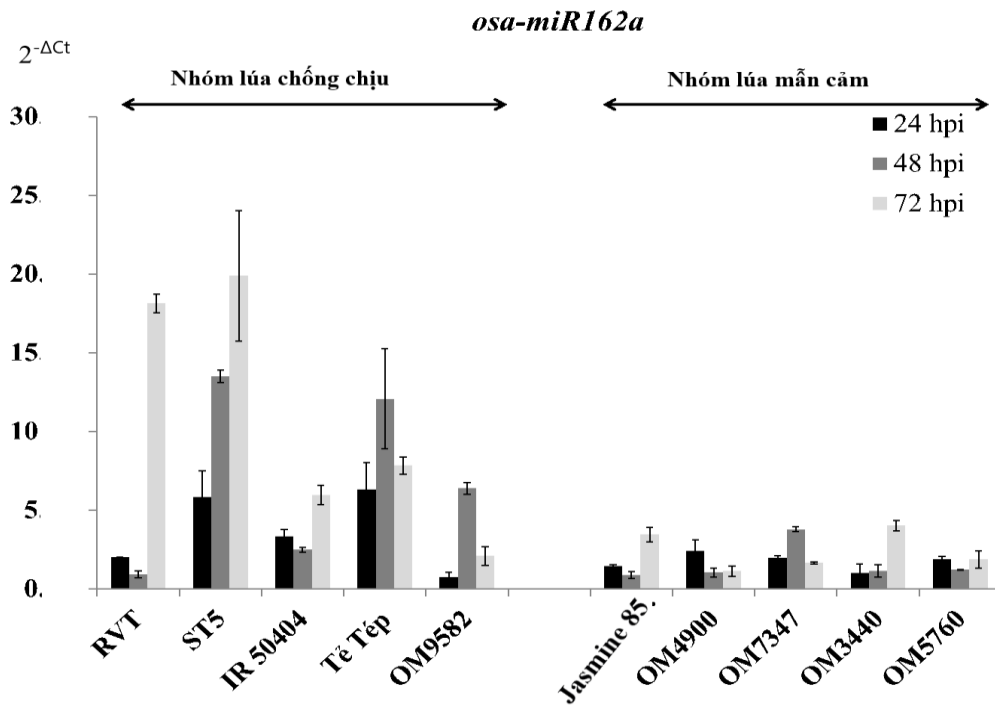
3.1. Mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa chống chịu và miễn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn, *M. oryzae*

Trong nghiên cứu này, để đánh giá mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa bị lây nhiễm *M. oryzae*, phản ứng qRT-PCR được thực hiện với các mẫu lá lúa sau khi lây nhiễm ở 24, 48 và 72 hpi. Mặc dù có sự đa dạng về mức độ tích lũy biểu hiện của *osa-miR162a* giữa các giống lúa ở các thời điểm sau lây nhiễm khác nhau và giữa các thời điểm sau lây nhiễm khác nhau ở mỗi giống, song kết quả cho thấy sự biểu hiện tăng của *osa-miR162a* được quan sát trên tất cả các giống lúa chống chịu đặc biệt là trên 3/6 (ST5, Tè Tép, OM9582) và 4/6 (RVT, IR50404, ST5, Tè Tép) giống lúa chống chịu nấm *M. oryzae* ở các thời điểm lần lượt là 48 hpi và 72 hpi so với nhóm miễn cảm (Hình 1). Kết quả này có sự tương đồng so với các nghiên cứu trước đây khi cho rằng biểu hiện tăng *osa-miR162a* có sự gia tăng biểu hiện một cách rõ rệt được ghi nhận trên giống kháng tại thời điểm 24 hpi. Mức độ tích lũy cao của *osa-miR162a* làm tăng tính kháng nấm *M. oryzae* song lại làm giảm năng suất của lúa (Li et al., 2020). Đồng thời, ở các thời điểm 0 hpi và 12 hpi, sự thay đổi tích lũy biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa là không có sự khác biệt hoặc khá thấp, không rõ ràng và cũng không đồng nhất giữa các chủng *M. oryzae* khác nhau. Tuy nhiên, Li et al. (2020) cũng nhận thấy mức độ tích lũy cũng bắt đầu gia tăng tại thời điểm 12 hpi trở đi và đạt đỉnh ở 24 hpi khi thay đổi chủng bệnh bằng một giống nấm đạo ôn khác. Điều này cũng cho thấy sự đáp ứng về tích lũy biểu hiện của *osa-miR162a* của các giống lúa đặc biệt là các giống lúa chống chịu có thể khác nhau đối với các chủng nấm *M. oryzae* khác nhau song khuynh hướng biểu hiện vẫn gia tăng khi các hệ thống phòng thủ thực vật được kích hoạt. Đối với chủng đạo ôn LBT2 trong nghiên cứu này kết quả cũng cho thấy khuynh hướng gia tăng biểu hiện tương tự trên các giống lúa chống chịu kể từ thời điểm 24 hpi trở đi so với các giống lúa miễn cảm. Qua đó cho thấy sự tích lũy biểu hiện của *osa-*

miR162a cũng liên quan đến tính kháng nấm đạo ôn của các giống lúa đang canh tác tại Việt Nam.

Osa-miR162a đã được nhiều nghiên cứu chứng minh là một yếu tố giúp cân bằng giữa sinh trưởng cũng như phòng thủ của cây trồng đối với nấm *M. oryzae*. Các gen *DCL1* (Dicer-like 1) vốn là mục tiêu của *osa-miR162a* đóng vai trò quan trọng trong quá trình tạo ra miRNA cũng như các gen liên quan đến năng suất cây trồng, khi *DCL1* bị mất chức năng khiến năng suất cây trồng giảm do mắc các bệnh lùn, héo lá hay rể và chồi phát triển bất thường (Kumar

et al., 2022). Sự tương tác giữa *osa-miR162a* và *OsDCL1* đến hình thái bệnh được thực hiện thông qua các gen liên quan đến sự tích tụ H₂O₂ và sự cân bằng nồng độ các gốc tự do (Reactive oxygen species), giúp tăng cường tính kháng đối với tác nhân gây bệnh (Kumar et al., 2022; Li et al., 2014). Do đó, sự biểu hiện quá mức của *osa-miR162a* trên các giống kháng sẽ làm gia tăng hàm lượng H₂O₂, giúp tăng cường khả năng phòng thủ của lúa đối với nấm *M. oryzae*, và là một dấu ấn sinh học tiềm năng trong việc xác định tính kháng của lúa với nấm bệnh đạo ôn.



Hình 1. Các mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa thuộc nhóm chống chịu và mẫn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn, *M. oryzae*

3.2. Phân tích giá trị chẩn đoán mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* trên các giống lúa chống chịu và mẫn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn, *M. Oryzae*

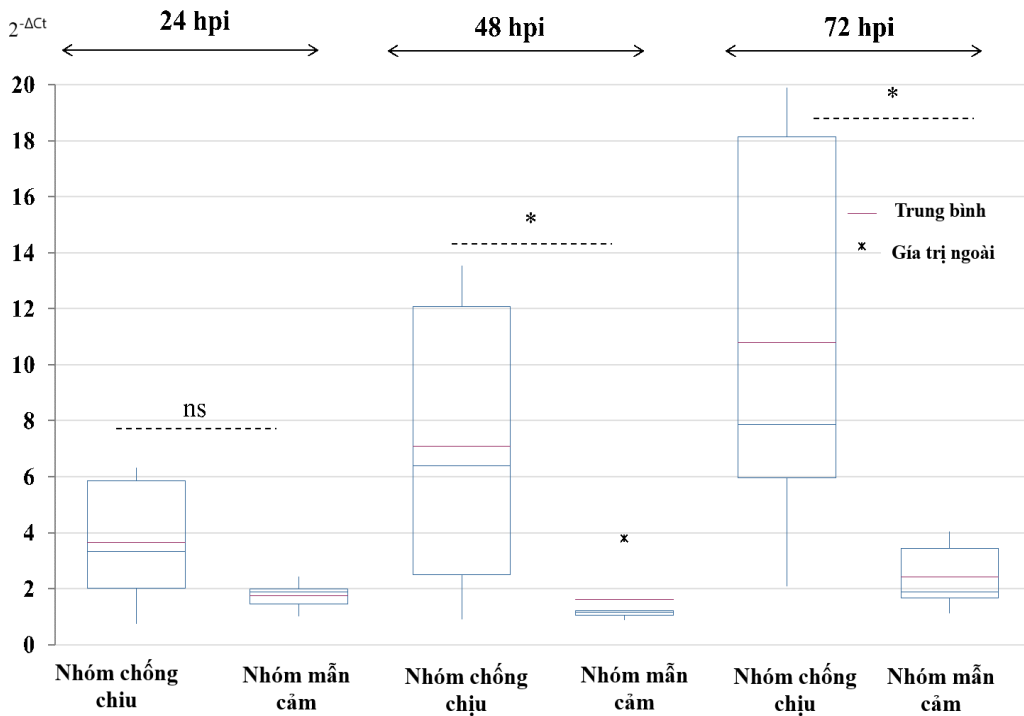
Phân tích biểu đồ hộp (box plot) các giá trị 2^{-ΔCt} của *osa-miR162a* được thực hiện với 10 giống lúa của cả 2 nhóm chống chịu và mẫn cảm với *M. oryzae* ở các thời gian sau nhiễm khác nhau (24, 48 và 72 hpi). Kết quả chỉ ra rằng mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* đều tăng ở các thời điểm 24 hpi, 48 hpi và 72 hpi trên các giống lúa thuộc nhóm chống chịu (Hình 2). Tuy nhiên, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* giữa hai nhóm giống lúa chỉ thể hiện ở 48 hpi và 72 hpi, trong

khí đó sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 24 hpi (Hình 2).

Kết quả phân tích cho thấy mức độ gia tăng giá trị 2^{-ΔCt} của *osa-miR162a* trên nhóm lúa chống chịu cao hơn 4,4 lần so với nhóm lúa mẫn cảm ở cả 48 hpi và 72 hpi (Bảng 2). Ở thời điểm 0 hpi, giá trị biểu hiện 2^{-ΔCt} của *osa-miR162a* trên nhóm lúa chống chịu cao gấp 1,33 lần so với nhóm mẫn cảm song sự khác biệt này là không có ý nghĩa thống kê. Sự gia tăng biểu hiện tiếp tục được duy trì trên các giống lúa chống chịu ở thời điểm 24 hpi, đồng thời trên các giống lúa mẫn cảm cũng cho thấy sự giảm biểu hiện của *osa-miR162a* so với thời điểm 0 hpi. Kết quả này càng khẳng định rõ hơn vai trò của *osa-miR162a* liên quan đến khả năng điều hòa của cây

lúa trước *M. oryzae* và khuynh hướng biểu hiện trên các giống lúa chống chịu, miễn cảm trong nghiên cứu. Ở 48 hpi, giá trị $2^{-\Delta Ct}$ của *osa-miR162a* nằm trong khoảng 0,92 - 13,52 (ở nhóm lúa kháng) và 0,89 - 3,8 (ở nhóm lúa miễn cảm), trong khi ở 72 hpi giá trị $2^{-\Delta Ct}$ của *osa-miR162a* nằm trong khoảng 2,1 - 19,89 (ở nhóm lúa chống chịu) và 1,13 - 4,02 (ở nhóm lúa miễn cảm) (Bảng 2). Kết quả phân tích này cũng thể hiện tính tương đồng một phần với nghiên cứu trước đây của Li et al. (2020) vốn cho rằng mức độ tích lũy *osa-miR162a* ở giống lúa kháng (IRBLKM-Ts) cao hơn giống lúa miễn cảm (LTH) ở thời điểm 48 hpi và nghiên cứu chỉ dừng lại ở thời điểm 48 hpi. Hơn nữa, nghiên cứu của Li et al. (2020) cũng chỉ đánh giá trên 2 giống lúa là LTH (giống miễn cảm) và IRBLKM-Ts (giống kháng), nên có thể thấy việc đánh giá mức độ tích lũy *osa-miR162a* trên lúa chưa được thể hiện toàn diện. Trong nghiên cứu trước *osa-miR7695* đã cho thấy

vai trò liên quan đến tính kháng nấm *M. oryzae* (Quoc et al., 2019), qua đó cho thấy tầm quan trọng của miRNA trong điều hòa khả năng phòng thủ trước *M. oryzae* trên cây lúa, song vẫn còn rất nhiều miRNA tham gia vào quá trình này bởi sự tương tác của miRNA mang tính mạng lưới. Trong nghiên cứu này, kết quả đã cho thấy sự tăng biểu hiện của *osa-miR162a* làm tăng khả năng kháng nấm *M. oryzae* trên lúa ở thời điểm 48 hpi và 72 hpi. Qua đó, có thể thấy thêm *osa-miR162a* cũng là một yếu tố trong mạng lưới điều hòa, dựa vào mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* có thể đánh giá được tính kháng nấm đạo ôn của cây lúa bằng cách đánh giá biểu hiện sau phiên mã. Kết quả cho thấy *osa-miR162a* là một chỉ thị phân tử tiềm năng hỗ trợ cho việc sàng lọc và phân biệt các giống lúa chống chịu hoặc miễn cảm với nấm *M. oryzae* ở Việt Nam bên cạnh các miRNA khác đã công bố như *osa-miR7695*.



Hình 2. Phân tích biểu đồ hộp (box plot) các giá trị biểu hiện của *osa-miR162a* trên 10 giống lúa thuộc hai nhóm chống chịu và miễn cảm với *M. oryzae* ở các thời điểm sau xâm nhiễm khác nhau (24, 48 và 72 hpi)

Dấu * chỉ mức độ khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa 2 nhóm lúa ($P < 0,05$); ns: không có ý nghĩa

Bảng 2. Phân tích biểu đồ hộp (box plot) mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* giữa nhóm lúa chống chịu và mẫn cảm với *M. oryzae* ở các thời điểm sau lây nhiễm

Hpi	Nhóm lúa	Số lượng	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Tứ phân vị Q1	Trun g vị	Tứ phân vị Q3	Giá trị lớn nhất
0 hpi	Nhóm lúa chống chịu	5	3,18	1,83	2,35	2,57	3,55	5,53
	Nhóm lúa mẫn cảm	5	2,38	0,30	0,7	1,28	3,55	6,06
24 hpi	Nhóm lúa chống chịu	5	3,65	0,75	2,01	3,33	5,85	6,3
	Nhóm lúa mẫn cảm	5	1,75	1,03	1,44	1,87	1,99	2,41
48 hpi	Nhóm lúa chống chịu	5	7,08	0,92	2,5	6,39	12,08	13,52
	Nhóm lúa mẫn cảm	5	1,62	0,89	1,04	1,16	1,22	3,8
72 hpi	Nhóm lúa chống chịu	5	10,79	2,1	5,97	7,85	18,14	19,89
	Nhóm lúa mẫn cảm	5	2,43	1,13	1,66	1,88	3,45	4,02

Ghi chú: hpi: giờ sau khi nhiễm *M. oryzae*

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đánh giá được mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* trên 10 giống lúa thuộc 2 nhóm lúa chống chịu và mẫn cảm với nấm *M. oryzae* ở các thời điểm 24, 48 và 72 hpi. Ở thời điểm 0 hpi và 24 hpi, mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nhóm lúa chống chịu và mẫn cảm với *M. oryzae*. Ở thời điểm 48 hpi

và 72 hpi, mức độ biểu hiện của *osa-miR162a* của nhóm lúa chống chịu cao hơn 4,4 lần so với nhóm lúa mẫn cảm với nấm *M. oryzae*. Kết quả đạt được trong nghiên cứu này cho thấy *osa-miR162a* có thể được sử dụng như một chỉ thị liên quan đến khả năng chống chịu và mẫn cảm với nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa, hứa hẹn là một công cụ hữu ích cho các công tác đánh giá và lai tạo lúa ở nước ta hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhattacharyya, J., Chowdhury, A. H., Ray, S., Jha, J. K., Das, S., Gayen S., Chakraborty, A., Mitra, J., Maiti, M., Basu, A., & Sen S.K. (2012), "Native polyubiquitin promoter of rice provides increased constitutive expression in stable transgenic rice plants". *Plant cell Reports*, 31(2), 271-279.
<https://doi.org/10.1007/s00299-011-1161-4>
- Hòa, Đ. T., Linh, V. T. N., Nhật, T. T., Phi, N. B., Châu, N. N. B., & Quốc, N. B. (2016). Ứng dụng phương pháp PCR trong việc xác định nấm gây bệnh đạo ôn trên lúa, *Magnaporthe oryzae*. *Tạp chí Khoa học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh-Kỹ thuật và Công nghệ*, 11(1), 12-18.
- Kumar, K., Mandal, S. N., Neelam, K., & De Los Reyes, B. G. (2022). MicroRNA-mediated host defense mechanisms against pathogens and herbivores in rice: balancing gains from genetic resistance with trade-offs to productivity potential. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1-16.
<https://doi.org/10.1186/s12870-022-03723-5>
- Li, X. P., Ma, X. C., Wang, H., Zhu, Y., Liu, X. X., Li, T. T., Zheng, Y. P., Zhao, J. Q., Zhang, J. W., & Huang, Y. Y. (2020). *Osa-miR162a* fine-tunes rice resistance to *Magnaporthe oryzae* and yield. *Rice*, 13(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1186/s12284-020-00396-2>
- Li, Y., Lu, Y. G., Shi, Y., Wu, L., Xu, Y. J., Huang, F., Guo, X. Y., Zhang, Y., Fan, J., & Zhao, J. Q. (2014). Multiple rice microRNAs are involved in immunity against the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Plant Physiology*, 164(2), 1077–10920.
<https://doi.org/10.1104/pp.113.230052>
- Liu, W., Liu, J., Triplett, L., Leach, J. E., & Wang, G.L. (2014). Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 52(1), 213–241.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- Quoc, N. B., Phuong, N. D. N., Trang, H. T. T., Phi, N. B., & Chau, N.N.B. (2019). Expression of *osa-miR7695* against the blast fungus *Magnaporthe oryzae* in Vietnamese rice

- cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, 155(1), 307–317.
<https://doi.org/10.1007/s10658-019-01772-5>
- Quoc, N. B., Trang, H. T. T., Phuong, N. D. N., Chau, N. N. B., & Jantasuriyarat, C. (2021). Development of a SCAR marker linked to fungal pathogenicity of rice blast fungus *Magnaporthe Oryzae*. *International Microbiology*, 24(2), 149-156.
<https://doi.org/10.1007/s10123-020-00150-0>
- Phi, N. B., Phuong, N. D. N., Dat, V. H. X., Chau, N. N. B., & Quoc, N. B. (2021). Expression profiles of OsNramp6 transcript variants involving in *Magnaporthe oryzae* resistance and non-resistance of Vietnamese rice cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, 161(4), 907-916.
<https://doi.org/10.1007/s10658-021-02375-9>
- Tang, J., & Chu, C. (2017). MicroRNAs in crop improvement: fine-tuners for complex traits. *Nature Plants*, 3(7), 1–11.
<https://doi.org/10.1038/nplants.2017.77>