

PHÁT HIỆN GEN KHÁNG BỆNH BẠC LÁ LÚA *Xa7*, *Xa21* Ở CÁC DÒNG BỐ BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Detection of Bacterial Blight Resistance Genes *Xa7*, *Xa21* in Male lines of Rice by Molecular Markers

Vũ Hồng Quảng¹, Nguyễn Thị Phương Thảo², Nguyễn Thị Thủy²
Phạm Thị Thu Hằng², Nguyễn Văn Hoan¹

¹Viện Nghiên cứu lúa lai - Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

²Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên lạc: thaohau@yahoo.com

Ngày gửi đăng: 11.01.2011; Ngày chấp nhận: 01.3.2011

TÓM TẮT

Các dòng bố: 9311BB, D42BB, R308BB được tạo ra bằng phương pháp lai hồi quy giữa các dòng lúa 9311, D42, R308 với các dòng chuẩn kháng bệnh bạc lá mang gen *Xa7* và *Xa21*. Chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen *Xa21*, *Xa7*: pTA248, RM5509 tương ứng đã được sử dụng để phát hiện các gen này trên 3 dòng bố 9311BB, D42BB, R308BB. Kết quả kiểm tra cho thấy: dòng bố R308BB có 90% số cá thể của mang gen kháng *Xa21* đồng hợp tử, 10% số cá thể mang gen dị hợp tử; dòng bố D42BB có 10% số cá thể mang gen kháng dị hợp tử, dòng bố 9311BB có 100% số cá thể mang gen *Xa7* và tất cả các cá thể này đều đồng hợp tử về gen *Xa7*. Kết quả này phù hợp với kết quả lây nhiễm nhân tạo tại thế hệ lai BC₃F₁ của các dòng 9311BB và R308BB với 3 nòi vi khuẩn: HAU 01043, HAU 02009-2, HAU 02034-6 ngoại trừ dòng D42BB. Điều này chứng minh rằng marker phân tử là một công cụ quan trọng trong việc phát hiện chính xác các gen mong muốn nhằm phục vụ công tác chọn tạo giống.

Từ khoá: Bệnh bạc lá lúa, pTA248, RM5509, *Xa7*, *Xa21*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

SUMMARY

Three male lines 9311BB, D42BB, R308BB were developed by crossing parental lines 9311, D42, R308 with the near-isogenic lines of rice carrying *Xa7* and *Xa21* resistance genes using backcross breeding program. The markers pTA248, RM5509 linked tightly with *Xa21* gene, *Xa7* gene, respectively were used to detect bacterial blight resistance genes. The result showed that 90% individuals of R308BB were homozygous for *Xa21* gene and 10% individuals were heterozygous while the D42BB have 10% heterozygote for *Xa21* gene and 100% individuals of 9311BB were homozygous for *Xa7* gene. This result coincides well with the artificially infected result on BC₃F₁ of 9311BB and R308BB except for D42BB. The research demonstrated that molecular marker is a useful tool for the detection of the target genes.

Key words: Bacterial blight, *Xa7*, *Xa21*, pTA248, RM5509, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* là một trong những bệnh hại làm giảm nghiêm trọng năng suất ở các vùng trồng lúa của châu Á (Mew, 1987; Mew, 1993). Cho đến

nay có trên 30 gen kháng bệnh bạc lá đã được phát hiện ở lúa trồng và lúa dại (Ninox-Lui và cs., 2006; Singh và cs., 2007; Wang và cs., 2009). Trong số các gen kháng bệnh bạc lá thường có mặt trong các giống lúa địa phương của Việt Nam: *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *Xa10*, *xa13*, *Xa14* thì gen kháng

Xa7, Xa21 có vai trò quan trọng trong tạo giống kháng bệnh vì chúng kháng được hầu hết các chủng vi khuẩn gây bạc lá ở Việt Nam (Bùi Trọng Thủy và cs., 2004). Các chỉ thị phân tử liên kết chặt với các gen kháng bệnh đã được xác định như: chỉ thị RZ390, RG556 và RG207 liên kết với gen xa5 (McCouch và cs., 1991), gen Xa21 được xác định thuộc nhiễm sắc thể (NST) số 11 và liên kết chặt với chỉ thị pTA248 (Ronald và cs., 1992)... Với các phát hiện trên, nhiều nhà chọn tạo giống trên thế giới đã sử dụng marker phân tử để phát hiện ra các gen quan tâm. LUO Yan-chang và cs. (2004) sử dụng chỉ thị pTA248 và RM248 xác định gen Xa21, Siriporn Korinsak và cs. (2009) sử dụng chỉ thị SSR (RM30, RM7243, RM5509, RM400) để phát hiện gen kháng bệnh bạc lá.

Ở Việt Nam, Nguyễn Thị Pha và cs. (2004) sử dụng các chỉ thị STS (RG556, RG136, pTA248..), SSR (RM21, RM114, RM122, RM164, RM190) để phát hiện các gen Xa21, xa5, xa13 trên các giống lúa địa phương và dòng bố mẹ lai, Lã Vinh Hoa và cs. (2010) đã sử dụng các chỉ thị Npb 181, P3 và RG 556 để phát hiện các gen Xa4, Xa7, xa5 tương ứng trong 150 mẫu giống lúa thu thập từ các địa phương miền Bắc Việt Nam.

Nghiên cứu này đã sử dụng phương pháp lấy nhiễm nhân tạo và các chỉ thị SSR: RM5509 phát hiện gen Xa7 và chỉ thị STS: pTA248 xác định gen Xa21 trong các dòng bố

9311BB, D42BB, R308BB được tạo ra bằng phương pháp lai hồi quy giữa dòng lúa 9311, D42, R308 với các dòng chuẩn kháng bệnh bạc lá mang gen Xa7 và Xa21: IRBB4/7, IRBB4/5/13/21, IRBB21 tương ứng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Vật liệu thực vật

- Các dòng bố:
 - + Dòng 9311 nhập nội từ Trung Quốc 2003
 - + Dòng R308 được tạo ra từ tổ hợp C70/Javanica lá trôn năm 1988 do Bộ môn Di truyền và Chọn giống cây trồng, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội chọn tạo.
 - + Dòng D42 được chọn từ tổ hợp Indica/Javanica từ năm 1996 do Bộ môn Di truyền và Chọn giống cây trồng, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội chọn tạo.
- Các dòng đẳng gen: IRBB4/7, IRBB21, IRBB4/5/13/21 (từ IRRI).
- Các dòng chuẩn kháng IRBB21 (mang gen Xa21), IRBB4/7 (mang gen Xa7), IRBB7 (mang gen Xa7) và chuẩn nhiễm IR24 (IRRI).
- Các dòng bố thuần về kiểu hình được tạo ra bằng phương pháp lai hồi quy: 9311BB- 1 (R75), 9311-2 (R75), 9311BB-3 (R75), D42BB và R308BB.

Bảng 1. Các cá thể kiểm tra gen Xa21, Xa7

TT	Dòng, giống	Số lượng cá thể phân tích	Nguồn gốc các dòng bố và đối chứng	Gen kiểm tra	Ký hiệu dòng bố kháng bệnh
1	Dòng 9311BB -1(R75)	10	9311/IRBB4/7	Xa4/Xa7	R75-1 → R75-10
2	Dòng 9311BB -2(R75)	10	9311/IRBB4/7	Xa4/Xa7	R75-2-1 → R75-2-10
3	Dòng 9311BB -3(R75)	10	9311/IRBB4/7	Xa4/Xa7	R75-3-1 → R75-3-10
4	Dòng D42BB	10	D42/IRBB 4/5/13/21	Xa4/xa5 /xa13/Xa21	D42BB-1 → D42BB-10
5	Dòng R308BB	10	R308/IRBB21	Xa21	R308BB-1 → R308BB-10
6	IR24	5	Đ/C: Chuẩn nhiễm	Không gen kháng	IR24-1 → IR24-5
7	IRBB4/7	5	Đ/C: Chuẩn kháng	Xa4/Xa7	IRBB4/7-1 → IRBB4/7-10
8	IRBB7	5	Đ/C: Chuẩn kháng	Xa7	IRBB7-1 → IRBB7-5
9	IRBB21	5	Đ/C: Chuẩn kháng	Xa21	IRBB21-1 → IRBB21-10

Bảng 2. Các nòi vi khuẩn *xanthomonas oryzae*

TT	Nhóm nòi	HAU Isolate	Nguồn
1	Nòi 1 (Race 1)	HAU 01043	
2	Nòi 2 (Race 2)	HAU 02009-2	Bùi Trọng Thủy và cs. (2003)
3	Nòi 3 (Race 3)	HAU 02034-6	

Bảng 3. Các cặp mồi sử dụng kiểm tra gen Xa21, Xa7

Chỉ thị		Trình tự mồi	Gen kiểm tra	Tài liệu tham khảo
pTA248	F	5'-AGA CGC GGA AGG GTG GTT CCC GGA-3'	Xa21	LUO Yan-chang (2004)
	R	5'-AGA CGC GGTGTA ATC GAA AGA TGA AA-3'		
RM5509 (SSR)	F	5'TGATCCATGCTTTGGCC3'	Xa7	McCouch (2002)
	R	5'CCAGCAGAAAGAAGACGC3'		

2.1.2. Vật liệu vi khuẩn

Các nòi vi khuẩn gây bệnh bạc lá dùng để lây nhiễm nhân tạo được thể hiện trong bảng 2.

2.1.3. Cặp mồi kiểm tra gen Xa7, Xa21 (Bảng 3)

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp lây nhiễm, đánh giá tính kháng bệnh bạc lá

Tạo dung dịch vi khuẩn lây nhiễm với mật độ 10^8 CFU/ml và tiến hành lây nhiễm nhân tạo trước khi lúa trổ khoảng 18 ngày: Dùng kéo đã khử trùng nhúng vào dung dịch chứa vi khuẩn gây bạc lá, rồi cắt lên đầu lá lúa khoảng 2- 5 cm, cứ 3- 5 lá lại nhúng kéo vào dung dịch vi khuẩn 1 lần. Lây nhiễm mỗi khóm 3 chủng vi khuẩn có độ tổ đại diện trên tất cả các cá thể của các dòng. Sau 18 ngày lây nhiễm tiến hành đo chiều dài vết bệnh và phân cấp mức độ kháng nhiễm (Furuya và cs., 2003) như bảng sau:

Chiều dài vết bệnh trung bình (cm)	Phản ứng kháng, nhiễm bệnh	K ý hiệu
Chiều dài vết bệnh < 4,0 cm	Kháng bệnh cao	HR
Chiều dài vết bệnh 4,0 -8,0cm	Kháng	R
Chiều dài vết bệnh 8,0 > 12,0 cm	Kháng trung bình	MR
Chiều dài vết bệnh > 12,0 cm	Nhiễm	S

2.2.2. Phương pháp chiết tách DNA

Mô lá non của các dòng, giống được thu và chiết tách theo quy trình của Zhang và cs. (1985), sản phẩm chiết tách được điện di trên gel agarose 0,8%. ADN chiết tách được bảo quản ở -20°C .

2.2.3. Phương pháp PCR và kiểm tra sản phẩm

- Thể tích 1 phản ứng là 20ul bao gồm: 10x buffer, 200 μM dNTPs, 500 μM MgCl_2 0,2 mM mỗi, 1ul DNA tổng số, 2 unit Taq polymerase (Dream Taq polymerase).

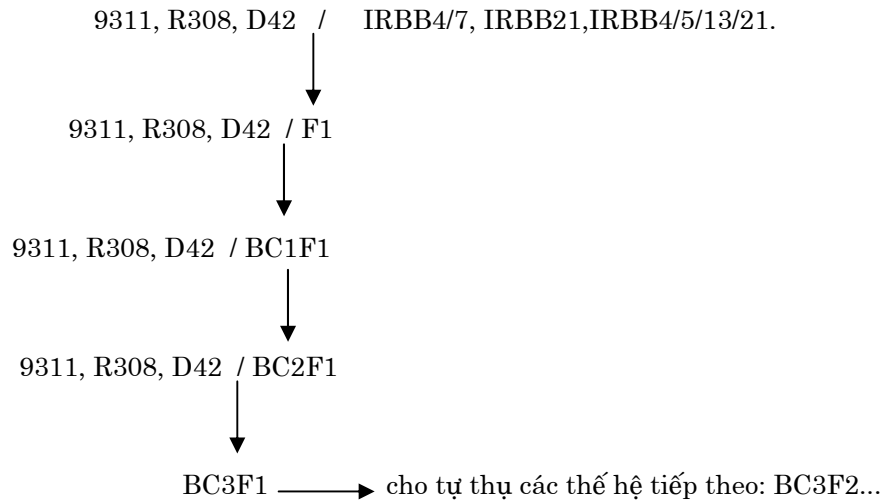
- Chu trình nhiệt được thực hiện: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ tiếp theo gồm 95°C trong 30 giây, $52 - 53^{\circ}\text{C}$ trong 30 giây, 72°C trong 1 phút 30 giây. Chu kỳ cuối 72°C trong 7 phút và giữ ổn định ở 4°C .

- Sản phẩm PCR kiểm tra gen xa7 được kiểm tra trên gel agarose 3% và 1,5% cho gen xa21 ở hiệu điện thế 60V trong 1 giờ 15 phút, sau đó nhuộm bằng Ethium bromide để phát hiện.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ cây kháng bệnh, nhiễm bệnh của ba dòng bố trên quần thể BC3F1

Các dòng nhận gen: 9311, R308, D42 được lai với các dòng chứa gen kháng IRBB4/7, IRBB21, IRBB4/5/13/21 để tạo ra F1, F1 sẽ được lai hồi qui với dòng mẹ tương ứng theo sơ đồ lai sau:



Quá trình lai hồi quy được tiến hành đến thế hệ BC3F1 và cho tự thụ. Thế hệ BC3F₁ đã đạt được kiểu hình giống như ban đầu của ba dòng bố. Để xác định khả năng kháng bệnh của các dòng tại thế hệ lai BC3F₁, nghiên cứu sử dụng 3 nồi vi khuẩn *Xanthomonas oryzae*: nồi 1, nồi 2, nồi 3 để tiến hành lây nhiễm nhân tạo và đánh giá cấp bệnh: chiều dài vết bệnh <12: kháng, chiều dài vết bệnh >12: nhiễm. Tỷ lệ kháng bệnh của các dòng bố tại thế hệ lai BC3F₁ được thể hiện tại bảng 4.

Kết quả lây nhiễm nhân tạo 3 nồi vi khuẩn đại diện cho vùng trung du miền núi phía Bắc, đồng bằng Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ trong vụ mùa 2007 cho thấy khả năng kháng bệnh bạc lá của các dòng nhận gen 9311, D42, R308 tại thế hệ lai BC3F₁ tăng lần lượt từ 33,3% - 95,81%, 0 - 99,4%, 0 - 100%. Điều này chứng tỏ các dòng 9311, D42, R308 đã thừa hưởng được tính kháng bệnh từ các dòng chứa gen kháng: IRBB4/7, IRBB4/5/13/21, IRBB21 tương ứng. Trong đó, thế hệ BC3F₁-R308BB có 100% cá thể kháng bệnh và kháng được cả 3 nồi vi khuẩn lây nhiễm. Những cá thể kháng bệnh và có đặc tính nông sinh học như 3 dòng bố được tự thụ để tạo dòng thuần. Kết quả sơ bộ đã xác lập được 3 dòng thuần mang gen kháng bệnh là: 9311BB (mang gen Xa7), D42BB, R308BB (mang gen Xa21).

3.2. Kiểm tra gen kháng được chuyển bằng chỉ thị phân tử

Sau khi tạo được dòng thuần mang tính kháng bệnh bằng phương pháp lai hồi quy, mỗi dòng bố mang gen kháng bệnh được kiểm tra sự có mặt của gen kháng bằng chỉ thị phân tử.

3.2.1. Kết quả kiểm tra gen Xa21 trên 2 dòng bố D42BB và R308BB sử dụng cặp môi pTA248

Sử dụng cặp môi pTA248 đã phát hiện được 10/10 cá thể R308BB (chiếm tỷ lệ 100%) và 1/10 cá thể D42BB (chiếm tỷ lệ 10%) mang gen Xa21. Trong đó dòng bố R308BB có 9 cá thể: R308BB- 1, R308BB- 3, R308BB-4, R308BB- 5, R308BB- 6, R308BB-7, R308BB- 8, R308BB- 9, R308BB- 10 xuất hiện một băng DNA duy nhất giống đối chứng IRBB21 (có gen) và R308BB- 2 cùng với D42BB-1 xuất hiện hai băng một tương ứng với IRBB21 và băng còn lại tương ứng với IR24 (đối chứng không gen). Như vậy, trong tổng số 10 cá thể mang gen Xa21 của dòng bố R308BB có 9 cá thể mang gen Xa21 đồng hợp tử chiếm tỷ lệ 90%, 1 cá thể mang gen Xa21 dị hợp tử, trong khi dòng D42BB có 10% cá thể mang gen kháng dị hợp tử. Các dòng mang gen Xa21 đồng hợp tử này sẽ tiếp tục được đánh giá về các tính trạng nông sinh học khác để đưa vào hệ thống sản xuất lúa lai.

Bảng 4. Tỷ lệ kháng bệnh bạc lá của dòng bố tại thế hệ lai BC3F1 vụ mùa 2007

STT	Dòng, giống	Nòi 1		Nòi 2		Nòi 3		Tổng R/S	Tỷ lệ kháng (%)
		Kháng (R)	Nhiễm (S)	Kháng (R)	Nhiễm (S)	Kháng (R)	Nhiễm (S)		
1	BC3F1-9311	40	0	35	0	40	5	115/5	95,81
2	BC3F1-D42	298	5	298	0	298	0	894/5	99,4
3	BC3F1-R308	50	0	55	0	55	0	160/0	100
4	Dòng bố 9311 nguyên bản	2	0	0	2	0	2	2/6	33,3
5	Dòng bố D42 nguyên bản	0	2	0	2	0	2	0/6	0
6	Dòng bố R308 nguyên bản	0	2	0	2	0	2	0/6	0
7	IRBB7 (chuẩn kháng)	2	0	2	0	2	0	6/0	100
8	IRBB21 (chuẩn kháng)	2	0	2	0	2	0	6/0	100
9	IR24 (chuẩn nhiễm)	0	2	0	2	0	2	0/6	100

Bảng 5. So sánh tỷ lệ kháng bệnh bạc lá của dòng bố bằng lây nhiễm nhân tạo và chỉ thị phân tử tại thế hệ lai BC3F1 vụ mùa 2007

TT	Dòng, giống	Tỷ lệ cá thể có kiểu hình kháng bằng lây nhiễm nhân tạo (%)		Tỷ lệ cá thể mang gen kháng bằng chỉ thị phân tử (%)	
		Xa7	Xa21	Xa7	Xa21
1	BC3F1-9311 (R75)	95,81		100	
2	BC3F1-R308 (R308BB)		100		90
3	BC3F1-D42 (D42BB)		99,4		10

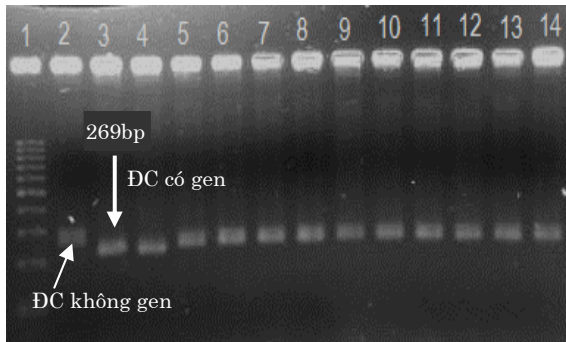
3.2.2. Kết quả kiểm tra gen Xa7 sử dụng cặp môi RM5509

Kết quả kiểm tra gen Xa7 sử dụng cặp môi RM5509 cho thấy, tất cả các cá thể kiểm tra đều có gen Xa7 và đều ở trạng thái đồng hợp tử về gen Xa7 (đoạn nhân lên có kích thước 267, giống đối chứng có gen IRBB7).

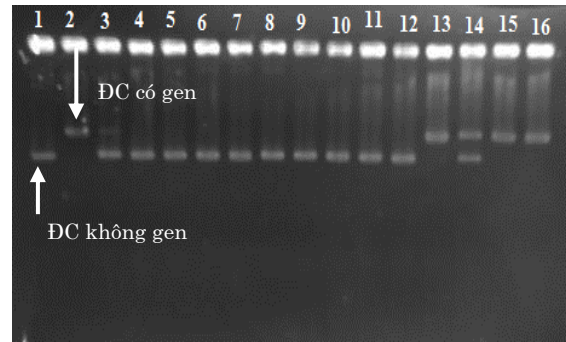
Như vậy sử dụng chỉ thị phân tử để kiểm tra các gen Xa21, Xa7 đã chỉ ra rằng: các dòng bố 9311, D42, R308 có khả năng nhân gen kháng khác nhau. Trong đó dòng 9311BB (R75) có 100% cá thể kiểm tra có gen kháng, R308BB có 90% cá thể kiểm tra có gen kháng. Kết quả này tương đối trùng khớp với kết quả lây nhiễm nhân tạo bằng vi khuẩn trên hai dòng bố kháng bệnh là R75 và R308BB. Riêng dòng D42BB chỉ có 10% cá thể kiểm tra có gen kháng bệnh ở trạng thái dị hợp tử. Sự khác biệt giữa kết quả lây nhiễm nhân tạo và kết quả kiểm tra gen kháng của dòng D42BB có thể giải thích là do gen Xa21 tuy có phổ kháng rộng nhưng thường bị mất khả năng kháng trong thời gian

ngắn do sự phát triển nhanh chóng của các chủng gây bệnh (Mew và cs., 1992), đồng thời quá trình lây nhiễm nhân tạo chịu ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh: nhiệt độ, độ ẩm... (Bảng 5).

Cũng sử dụng marker phân tử để xác định gen kháng bệnh bạc lá, LUO Yan-chang và cs. (2004) đã tiến hành kiểm tra gen Xa21 trên 200 cá thể F₂ bằng chỉ thị pTA248. Kết quả cho thấy, có 47 cá thể mang gen kháng đồng hợp tử, 98 cá thể mang gen kháng dị hợp tử. Tất cả các cá thể này có mức độ kháng trung bình với chủng X-03 (LUO Yan-chang và cs., 2004). Siriporn Korinsak (2009) sử dụng chỉ thị SSR: RM5509 để phát hiện gen Xa7 trên quần thể F₂. Cả 2 gen Xa7 và Xa21 đều là gen trội có phổ kháng rộng (Sidhu, 1978), liên kết chặt với gen mục tiêu (Siriporn Korinsak và cs., 2009; Ronal và cs., 1992) và ở trạng thái đồng hợp tử có khả năng kháng tốt hơn trạng thái dị hợp tử (Zhang và cs., 2006). Do đó chỉ thị phân tử giúp chọn lọc chính xác cá thể mang gen mong muốn (Hình 1, Hình 2).



Hình 1. Kết quả kiểm tra gen *Xa7* sử dụng cặp mồi RM5509 (đoạn nhân lên có kích thước 269bp)



Hình 2. Kết quả kiểm tra gen *Xa21* sử dụng cặp mồi pTA 248

STT	Hình 1	Hình 2
1	Marker	IR24 (Đối chứng không gen)
2	IR24 (Đối chứng không gen)	IRBB21 (Đối chứng có gen)
3	IRBB7 (Đối chứng có gen)	D42BB1
4	IRBB4/7	D42BB2
5	R75-2-1	D42BB3
6	R75-2-2	D42BB4
7	R75-2-3	D42BB5
8	R75-2-4	D42BB6
9	R75-2-5	D42BB7
10	R75-2-6	D42BB8
11	R75-2-7	D42BB9
12	R75-2-8	D42BB10
13	R75-2-9	R308BB1
14	R75-2-10	R308BB2
15		R308BB3
16		R308BB4

4. KẾT LUẬN

Các chỉ thị phân tử RM5509 và pTA248 đã được sử dụng thành công để phát hiện gen kháng bạc lá tương ứng là *Xa7* và *Xa21* ở ba dòng bố 9311BB, D42BB, R308BB- kết quả lai hồi quy giữa các dòng mẹ 9311, D42 và R308 với các dòng bố đẳng gen IRBB4/7, IRBB4/5/13/21, IRBB21 tương ứng. Kết quả kiểm tra PCR với các cặp mồi đặc hiệu cho thấy: dòng bố R308BB có 90% số cá thể mang gen kháng *Xa21* đồng hợp tử, 10% số cá thể mang gen dị hợp tử; dòng bố D42BB có 10% số cá thể mang gen kháng dị hợp tử; dòng bố 9311BB có 100% số cá thể mang gen *Xa7* và tất cả các cá thể này đều đồng hợp tử về gen kháng *Xa7*. Kết quả này trùng khớp

với kết quả lây nhiễm nhân tạo 3 nồi vi khuẩn đại diện cho 3 vùng: trung du miền núi phía Bắc, đồng bằng Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ trên quần thể lai BC3F₁ của các dòng 9311BB và R308BB, ngoại trừ dòng D42BB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Trọng Thủy, Phan Hữu Tôn (2004). Khả năng kháng bệnh bạc lá của các dòng lúa chỉ thị (Tester) chứa đa gen kháng với một số chủng vi khuẩn *Xanthomonas oryzae pv oryzae* gây bệnh bạc lá lúa phổ biến ở miền Bắc Việt Nam, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật nông nghiệp*, 2(2), tr.109.
- Lã Vinh Hoa, Tống Văn Hai, Phan Hữu Tôn, Trần Minh Thu, Li Yang Rui (2010). Khảo

- sát nguồn gen trên cây lúa mang gen kháng bệnh bạc lá bằng chỉ thị phân tử, *Tạp chí Khoa học và phát triển*, tập 8, số 1: 9-10.
- Furuya N., S. Taura, Bui Trong Thuy, Phan Huu Ton, Nguyen Van Hoan & Yoshimura, A (2003). Experimental technique for Bacterial blight of rice. HAU- JICA ERCB project, 42p.
- LUO Yan-chang, WANG Shou-hai, LI Cheng-quan, WU Shuang, WANG De-zheng, DU Shi-yun (2004). Improvement of Resistance to Bacterial Blight by Marker-Assisted Selection in a Wide Compatibility Restorer Line of Hybrid Rice. Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China, 11 (5-6): 231-237.
- McCouch S. R., L. Teytelman, Y. Xu (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research, vol. 9: 199–207.
- Mew T. W. (1987). Current status and future prospects of research on bacterial blight of rice. *Annu. Rev. Phytopathol*, 25:359-382.
- Mew T. W., A. M. Alvarez, J. E. Leach, and J. Swings (1993). Focus on bacterial blight of rice. *Plant Dis*, 77: 5-12.
- Mew T. W., C. M. Vera Cruz, E. S. Medalla (1992). Changes in race frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in response to the planting of rice cultivars in Philippines. *Plant Dis*, 76: 1029–1032.
- Nguyen Thi Pha, Nguyen Thi Lang (2004). Marker assisted selection in rice breeding for Bacteria leaf blight. *Omonrice*, 12: 19-26.
- Ninox-Lui D. O., P. C. Ronald and A. J. Bogdanove (2006). Pathogen profile *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. *Molec. Plant Pathol*, 7: 303-324.
- Ronald P. C., B. Albano, R. Tabien, M. L. P. Abenes, K. S. Wu, S. R. McCouch and S. D Tanksley (1992). Genetic and physical analysis of the rice bacterial blight disease resistance locus Xa-21. *Mol. Gen. Genet*, 236: 113-120.
- Sidhu G. S. and G. S. Khush (1978). Dominance reversal of a bacterial blight resistance gene in some rice cultivars, *Phytopathol*, 68: 461-463.
- Singh K., Y. Vikal, Mahajan, R. K. K. Cheema, D. Bhatia, R. Sharma, J. S. Lore, and T. S. Bharaj (2007). Three novel bacterial blight resistance genes identified, mapped and transfer to cultivated rice *O.sativa* L. Proceedings of the 2nd International Conference on Bacterial Blight of Rice, Nanjing, China, 82-84.
- Singh S. P., R. M. Sundaram, S. K. Biradar, M. I. Ahmed, B. C. Viraktamath, E. A. Siddiq (2006). Identification of simple sequence repeat markers for utilizing wide-compatibility genes in inter-subspecific hybrids in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet. Aug* 113(3): 509-17.
- Siriporn Korinsak, Saengchai Sriprakhon, Pattama Sirithanya, Jirapong Jairin, Siripar Korinsak, Apichart Vanavichit, and Theerayut Toojinda (2009). Identification of microsatellite markers (SSR) linked to a new bacterial blight resistance gene xa33(t) in rice cultivar 'Ba7' Maejo Int. *J. Sci. Technol*, 3(02): 235-240.
- Wang C., G. Wen, X. Lin, X. Liu, and X. Zhang (2009). Identification and fine mapping of a new bacterial blight resistance gene, *Xa31(t)* in rice. *Eur. J. Plant Pathol*, 123: 235-240.
- Yoshimura S., A. Yoshimura, N. Iwata, S. R. McCouch, M. L. Abenes, M. R. Baraoidan, T. W. Mew, and R. J. Neson (1995). Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Mol Breed*, 1: 375-378.
- Zhang J., L. Xi, G. Jiang, Y. Xu, and Y. He (2006). Pyramiding of *Xa7* and *Xa21* for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice, *Plant Breed*, 125: 600-605.