

- Kết quả khảo nghiệm cơ bản cho thấy giống GL2-5 sinh trưởng, phát triển tốt, sâu bệnh hại ở mức nhẹ. Đặc biệt ở cây 3 năm tuổi chiều dài cành hoa đạt 25,3 cm, số hoa trên cành 33,8 hoa. Tỷ lệ ra mầm hoa (62,5%) và độ bền hoa (26 ngày).

- Kết quả khảo nghiệm sản xuất giống GL2-5 cho thấy cây sinh trưởng, phát triển khỏe, ổn định ở các địa phương với chiều dài lá đạt 19,3 - 21,4 cm và chiều rộng lá đạt 4,9 - 5,1 cm, bệnh thối nhũn, đốm lá gây hại ở mức nhẹ, chất lượng hoa cao chiều dài cành hoa đạt từ 25,1 - 27,5 cm, số hoa/cành đạt 33 - 36 hoa, độ bền hoa đạt từ 24 - 26 ngày.

#### 4.2. Đề nghị

Hoàn thiện quy trình sản xuất cho giống lan Đại châu GL2-5 và mở rộng sản xuất ở điều kiện sinh thái miền Bắc Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2010. QCVN 01-38:2010/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.
- Nguyễn Văn Hiến, 2000. *Chọn giống cây trồng*. NXB Giáo dục, Hà Nội.
- Trần Hợp, 1990. *Phong lan Việt Nam*, Tập 1 - 2. NXB Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
- Distabanjong, K., Distabanjong, C., Ruengwiset, 2010. *In vitro* propagation and conservation of *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. In *Proceedings of the 48<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference*. Kasetsart, 3-5 March, 2010. Subject: Plants 2010 pp.
- Leonid V. Averyanov and Anna L. Averyanova, 2003. *Updated checklist of the orchids of Vietnam*. Vietnam National University Publishing House, Hanoi.

### Breeding and testing of GL2-5 rhynchostylis hybrid orchid variety

Chu Thi Ngoc My, Dinh Thi Dinh, Dang Van Dong

#### Abstract

GL2-5 Rhynchostylis hybrid orchid was selected by the Research Institute of Fruit and Vegetable and developed from hybrid combination (♀ĐC01 × ♂ĐC04) in the direction of new colors, healthy growth and development, less pest and disease and high yield and quality of flowers. Through the process of line evaluation, basic testing and production testing showed that the GL2-5 Rhynchostylis hybrid orchid variety had many outstanding characteristics compared to the control variety such as the number of leaves reached 7.0 - 7.1. Flowering rate was high and reached 59.5 - 65.5%; flower cluster length was 25.1 - 27.5 cm; flower diameter was 2.8 cm; flower durability was up to 24 - 26 days.

**Keywords:** GL2-5 orchid variety, breeding, testing

Ngày nhận bài: 16/4/2019

Ngày phản biện: 24/4/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Tiến

Ngày duyệt đăng: 15/5/2019

### CHỌN TẠO DÒNG ỚT CHỈ THIÊN KHÁNG BỆNH HÉO RŨ MANG GEN BẮT DỤC ĐỤC TẾ BÀO CHẤT

Trần Ngọc Hùng<sup>1</sup>, Trịnh Thị Nhất Chung<sup>1</sup>, Đặng Thị Mai<sup>1</sup>

#### TÓM TẮT

Hàng năm nước ta trồng khoảng 25 - 30.000 ha ớt, phần lớn là giống F<sub>1</sub>, quả chỉ thiên. Bắt dục đục tế bào chất được ứng dụng rất hiệu quả trong sản xuất hạt lai F<sub>1</sub>, do toàn bộ các cây dòng mẹ không phải khử đục. Mặt khác, bệnh chết rũ ớt do nấm *Phytophthora capsici* gây hại rất phổ biến trên nhiều vùng sản xuất ớt hàng hóa mà biện pháp phòng trừ bằng thuốc hóa học rất kém hiệu quả. Hiện nay chưa ghi nhận bất kể giống ớt cay thương mại nào kháng bệnh chết rũ ở Việt Nam. Nghiên cứu này dựa vào sự trợ giúp của chỉ thị phân tử, lây bệnh nhân tạo kết hợp với chọn lọc truyền thống đã tạo được dòng ớt quả chỉ thiên kháng bệnh chết rũ có kiểu gen phục hồi (NR/Rf), duy trì (Nr/rf) và dòng bắt dục đục tương ứng (Sr/rf) nhằm phục vụ cho tạo giống ớt ưu thế lai F<sub>1</sub> dựa trên hệ thống bắt dục đục tế bào chất.

**Từ khóa:** Ớt (*Capsicum annuum* L.), bắt dục đục tế bào chất, bệnh héo rũ (*Phytophthora capsici*)

#### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây nhu cầu lượng hạt giống ớt F<sub>1</sub> của Việt Nam khoảng 5000 - 5500 kg để gieo

trồng trên diện tích 25.000 - 30.000 ha. Sản xuất ớt hàng hóa tập trung ở 3 vùng chính: Đồng bằng sông Hồng với diện tích khoảng 4.000 ha, Nam Trung bộ

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Rau Quả

11.000 ha, và Nam bộ 14.000 ha, trong đó diện tích gieo trồng nhóm ớt chỉ thiên luôn chiếm tỉ trọng áp đảo.

Ớt (*Capsicum annuum* L.) là cây tự thụ phấn, nhưng ở đồng ruộng tỉ lệ giao phấn là 7 - 37%, chủ yếu nhờ ong (Ahmed *et al.*, 2001; Tanksley 1984, Odland and Poter, 1941). Do tính ưu việt của ưu thế lai nên giống F<sub>1</sub> được sử dụng rất phổ biến. Tuy nhiên, chi phí để sản xuất hạt lai rất lớn nếu phải khử đục dòng mẹ.

Bất dục đục tế bào chất (Cytoplasmic Male Sterility - CMS) do kết quả của sự tương tác gen nhân và gen tế bào chất được Peterson phát hiện ở chi *Capsicum* (1958). CMS là tính trạng di truyền theo hệ mẹ, cây bất dục không sản sinh ra hạt phấn. Tính ưu việt của hệ thống CMS là cây bất dục có thể tạo ra thế hệ sau bất dục đồng nhất, đây là đặc điểm vô cùng quan trọng mang ý nghĩa kinh tế quyết định trong sản xuất hạt giống lai F<sub>1</sub> do không phải khử đục bằng tay. Tuy nhiên, đặc điểm bất dục thường không ổn định khi nhiệt độ thấp (Novak *et al.*, 1971; Shifriss and Frankel, 1971; Shifriss and Guri, 1979). Bất dục đục tế bào chất được sử dụng rộng rãi để tạo giống ớt lai ở Ấn Độ, Trung Quốc (Kumar *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 2015). Ở Hàn Quốc, hầu hết các giống ớt cay F<sub>1</sub> đều được sản xuất dựa trên hệ thống bất dục CMS, bao gồm 3 dòng: dòng A (*Srfrf*), dòng B (*Nrfrf*), dòng C (*N(S)RfRf*) (Yoo, 1990).

Bệnh chết rũ ớt do nấm *Phytophthora capsici* được phân lập đầu tiên ở Mỹ (Leonian, 1922), nay đã phân bố ở nhiều nước, trong đó có Việt Nam. Các vùng trồng ớt tập trung tại Hải Dương, Bắc Ninh, Hải Phòng..., bệnh gây chết hủy diệt trên quy mô lớn, và nấm bệnh tồn tại lâu dài trong đất. Thuốc hóa học hầu như không có hiệu quả phòng trừ bệnh này. Tạo giống kháng bệnh là hướng đi đang được ưu tiên. Nấm *P. capsici* có khả năng sinh sản hữu tính và rất thay đổi về độc tính nên chọn giống kháng bệnh phải thực hiện cho từng khu vực, lãnh thổ cụ thể. Tính kháng bệnh *P. capsici* được tìm thấy trên một số mẫu giống ớt 'AC2258', 'AC311', 'Criollo de Morelos-334', 'CM334', 'Fyuco', 'Line29', 'P51', 'PI 123469', 'PI 201232', 'PI 201234' và 'PI 201238' (Kimble and Grogan, 1960; Kim *et al.*, 2010).

Nhằm nâng cao hiệu quả chọn lọc dòng ớt bất dục, nhiều nghiên cứu về chỉ thị phân tử đã được thực hiện. Chỉ thị đồng trội (SCAR<sub>130/140</sub>) được xác định rất phù hợp để xác định kiểu S/N tế bào chất. Chỉ thị CRF-S<sub>870</sub> liên kết với gen *Rf*. Đây là công cụ

hữu hiệu để xác định kiểu gen liên quan đến bất dục đục tế bào chất (Yeh *et al.*, 2016).

Nghiên cứu chọn tạo giống ớt của Việt nam bắt đầu được thực hiện vào những năm 90, từ thu thập, đánh giá giống địa phương, chọn tạo dòng thuần, đến tạo giống lai F<sub>1</sub>. Các giống mới được tạo ra thuộc nhóm quả chỉ địa, sản xuất hạt giống lai sử dụng kỹ thuật khử đục bằng tay do đó rất hạn chế phát triển ngoài sản xuất: chi phí sản xuất hạt giống cao, chất lượng hạt giống thấp.

Trước các thực trạng trên, mục đích của nghiên cứu này là tạo được dòng ớt chỉ thiên kháng bệnh héo rũ, phục vụ sản xuất hạt lai theo hệ thống bất dục đục tế bào chất (CMS).

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện với 21 mẫu giống ớt, trong đó sử dụng giống CM334 làm đối chứng kháng bệnh. Giống ớt vàng Hà Nội và giống ớt Chia vôi của Thừa Thiên - Huế, và các giống ớt thương mại chính cũng tham gia thí nghiệm. Các mẫu giống khác là các dòng chọn tạo theo hướng kháng bệnh đang ở F<sub>7</sub>, F<sub>9</sub>.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Xác định dòng ớt kháng bệnh héo rũ do nấm *Phytophthora capsici*

Nấm *P. capsici* được phân lập từ cây ớt bị bệnh tại Viện Nghiên cứu Rau Quả. Nuôi cấy trên môi trường PDA và V8. Lây bệnh nhân tạo bằng bọc bào tử động, với nồng độ ~5 × 10<sup>3</sup> bọc bào tử/ml dịch lây bệnh.

Hạt giống trước khi gieo được xử lý bằng dung dịch Javen 1%, sau đó gieo trên khay 50 lỗ, mỗi mẫu giống dùng 20 cây, lây bệnh ở giai đoạn sau gieo 30 ngày (~ 4 - 5 lá thật). Mỗi cây được lây 5 ml dung dịch bào tử. Sau khi lây bệnh 10 - 15 ngày sẽ đánh giá mức độ nhiễm bệnh từng cây theo thang sau: điểm 1 - cây không có triệu chứng bệnh, điểm 2 - cây có triệu chứng lá hơi vàng nhưng không héo, điểm 3 - có trên một lá héo, điểm 4 - cây héo, chết.

#### 2.2.2. Đánh giá tính hữu thụ

Kiểm tra số lượng hạt phấn bằng phương pháp nhuộm màu sau đó soi dưới kính hiển vi. Mỗi cây nhuộm 10 - 12 bao phấn bằng dung dịch KI 1%, 20 cây/dòng. Hạt phấn hình tròn, bắt màu đậm là hạt phấn hữu dục. Trái lại, hạt phấn nhẵn, dị hình bắt màu kém là hạt phấn bất dục.

### 2.2.3. Xác định kiểu gen nhân và tế bào chất liên quan đến bất dục đực

Sử dụng bộ kit chiết DNA từ mô lá non theo phương pháp tách chiết của Kit (Plant/Fungi DNA isolation kit). DNA tinh sạch được bảo quản trong đệm TBE ở  $-20^{\circ}\text{C}$  để dùng cho các phản ứng PCR.

Xác định gen phục hồi trong nhân (Rf) (Gulyas *et al.*, 2006): Chỉ thị CRF-SCAR có trình tự như sau: 5'-GTACACACCACTCG-TCGCTCCT-3', 5'-TTCTTGGGTCCCTTT-CTTCCAA-3'. Mẫu giống mang gen Rf sẽ xuất hiện band 870 bp, mẫu giống mang gen rf không xuất hiện band.

Xác định gen bất dục đực tế bào chất bằng chỉ thị phân tử SCAR130, có trình tự là: 5'-TTA CGG CTC GTT ACC GCA GCG-3', 5'-CAA TTG ACC GAC CCG CCA T-3' (Ji *et al.*, 2014). Phản ứng PCR được thực hiện với 10 phút biến tính DNA ở  $95^{\circ}\text{C}$ , sau đó với 34 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm  $95^{\circ}\text{C}$  30 giây,  $55^{\circ}\text{C}$  45 giây,  $72^{\circ}\text{C}$  45 giây. Chu kỳ kéo dài ở  $72^{\circ}\text{C}$  trong 5 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên acrylamide gel 6%, trong dung dịch đệm TBE 0,5X, nhuộm bằng ethidium bromide. Dòng có kiểu gen S tế bào chất sẽ xuất hiện band 130 bp, dòng có kiểu gen N xuất hiện band 140 bp.

### 2.2.4. Lai tạo chọn dòng ốt duy trì, dòng phục hồi, chỉ thiên, kháng bệnh héo rũ

Dòng 94BS71 (94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1) ( $F_9$ ) được xác định kháng cao với bệnh héo rũ, quả chỉ địa, kiểu gen dòng duy trì (*Nrfrf*) làm dòng mẹ lai với giống lai thương mại quả chỉ thiên. Sau đó, thế hệ  $F_1$  tạo ra được lai lại với dòng kháng bệnh (94BS71) tạo ra thế hệ  $BC_1F_1$ . Lây bệnh nhân tạo chọn lọc cây kháng kháng bệnh héo rũ ở thế hệ  $BC_1F_1$ , tự thụ các cây chọn lọc, hạt thu riêng tạo ra  $BC_1F_2$ . Ở thế hệ  $BC_1F_2$  xuất hiện cây mang quả chỉ thiên, lây bệnh nhân tạo để chọn cây kháng bệnh, tự thụ cây chọn lọc để tạo ra thế hệ  $BC_1F_3$ . Để nâng cao độ thuần và tính ổn định của các dòng chọn lọc, các chu kỳ chọn lọc tiếp theo cũng được thực hiện tương tự đến thế hệ  $BC_1F_6$ . Trong nghiên cứu này sẽ xác định kiểu gen duy trì/ phục hồi liên quan đến tính bất dục đực tế bào chất của 23 dòng  $BC_1F_6$ , chỉ thiên, kháng kháng bệnh héo rũ.

### 2.2.5. Lai tạo dòng CMS kháng bệnh héo rũ, quả chỉ thiên

Cây bất dục đực tế bào chất có thể dễ dàng bắt gặp trong quần thể phân ly  $F_2$  của các giống chỉ thiên, thương mại. Hạt phấn của dòng  $BC_1F_6$  quả chỉ

thiên, kháng bệnh héo rũ, có kiểu gene duy trì bất dục, được lai với cây bất dục đực CMS. Quá trình lai này liên tục lặp lại qua 4 thế hệ và đã tạo ra 6 dòng CMS. Báo cáo này sẽ thể hiện tính ổn định bất dục đực của các dòng CMS, quả chỉ thiên, kháng *P. capsici*.

### 2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Tính kháng bệnh của từng mẫu dòng/giống được xác định thông qua chỉ số bệnh và được tính từ kết quả trung bình của 20 cây/ mẫu dòng (giống), có xử lý thống kê sinh học.

## 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2008 đến 2018 tại Viện Nghiên cứu Rau Quả.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Xác định dòng ốt kháng bệnh héo rũ do nấm *Phytophthora. capsici*

Triệu chứng bệnh bắt đầu thể hiện sau lây bệnh 5 - 7 ngày. Cây nhiễm bệnh héo rũ, cổ rễ thối đen. Số cây nhiễm bệnh ngày càng tăng và đạt ổn định sau 15 ngày lây bệnh. Biểu hiện tính kháng bệnh héo rũ của các dòng/giống được thể hiện trên bảng 1. Chỉ số bệnh trong thí nghiệm sai khác rõ rệt giữa các dòng/ giống, điều đó phản ánh tính kháng bệnh là đặc điểm di truyền. Lee và cộng tác viên (2012) cho rằng tính kháng bệnh này do đa gen quy định, trong đó có 1 gen trội. Tương tự, theo Ariadna và Paul (2008), tính kháng bệnh héo rũ do ít nhất 5 locus trong bộ gen *C. annuum*. Đó là cơ sở để thực hiện phương pháp chọn tạo giống kháng bệnh này.

Mẫu giống CM334 không xuất hiện bệnh. Kết quả này tương tự nhiều nghiên cứu trước và đã chỉ ra rằng mẫu giống này là nguồn gen tốt phục vụ cho tạo giống kháng bệnh héo rũ (Kim *et al.*, 2010). Tuy nhiên, mẫu giống này có rất nhiều lông trên thân, lá, và khó đậu quả ở nhiệt độ cao. Vì vậy sẽ cần nhiều thời gian lai tạo để loại bỏ tính trạng này trên các giống lai. Các dòng ốt nhóm 94B cũng thể hiện tính kháng bệnh cao, tương tự CM334. Khác với CM334 có dạng cây bụi, các dòng 94B sinh trưởng khỏe, vươn cao và rất ít lông. Các dòng ốt kháng bệnh 94B đều có quả chỉ địa. Tất cả các mẫu giống địa phương và giống lai thương mại ( $F_1$ ) nhiễm bệnh nặng, cây không thể sống sót. Như vậy, nghiên cứu này đã xác định được 8 dòng kháng cao với bệnh héo rũ và tiếp tục được xác định kiểu gene liên quan đến bất dục đực tế bào chất.

**Bảng 1.** Tính kháng bệnh héo rũ của các mẫu dòng/ giống ớt cay

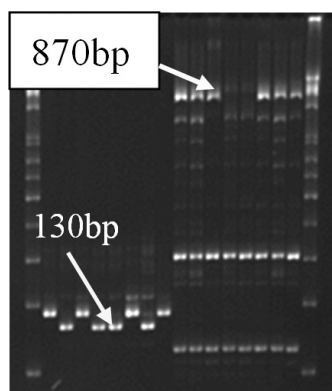
TT	Dòng/ giống	Chỉ số bệnh	Tính kháng bệnh sương mai	Đặc điểm quả
1	94BS71-1-2-3-8-2-1-2-2	1,0a	Kháng	Chỉ địa
2	94BS71-1-2-3-8-2-1-2-3	1,2a	Kháng	Chỉ địa
3	94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1	1,1a	Kháng	Chỉ địa
4	94BS71-1-2-3-8-2-3-1-2	1,0a	Kháng	Chỉ địa
5	94BA19-1-1-2-3-3-2-4-2	1,2a	Kháng	Chỉ địa
6	94BA19-1-1-2-3-3-2-4-4	1,2a	Kháng	Chỉ địa
7	94BA20-1-1-3-1-1-6-4-2	1,3a	Kháng	Chỉ địa
8	94BS5-3-4-2-8-1-6-2-1	1,0a	Kháng	Chỉ địa
9	CM334	1,0a	Kháng	Chỉ địa
10	Vàng Hà Nội	3,8cd	Nhiễm	Chỉ địa
11	Chia vôi (Huế)	4,0d	Nhiễm	Chỉ địa
12	Sùng bò (Thái Bình)	3,7cd	Nhiễm	Chỉ địa
13	PVR6	3,6c	Nhiễm	Chỉ địa
14	PVR11	3,7cd	Nhiễm	Chỉ địa
15	KC1033-1-2-1	3,6c	Nhiễm	Chỉ thiên
16	PBC483	3,8cd	Nhiễm	Chỉ thiên
17	14PE08	2,2b	Chống chịu	Chỉ thiên
18	DEMON (F <sub>1</sub> )	3,7cd	Nhiễm	Chỉ thiên
19	207 (F <sub>1</sub> )	3,6c	Nhiễm	Chỉ thiên
20	Tiela (F <sub>1</sub> )	3,8cd	Nhiễm	Chỉ thiên
21	Chánh nông 1 (F <sub>1</sub> )	4,0d	Nhiễm	Chỉ thiên

Ghi chú: Số theo sau bởi chữ giống nhau nghĩa là không sai khác ở  $\alpha = 0,05$ .

### 3.2. Xác định kiểu gen liên quan đến bất dục đực tế bào chất các dòng ớt kháng bệnh héo rũ

#### 3.2.1. Khảo sát chỉ thị phân tử

Trước khi kiểm tra các gen liên quan đến bất dục đực các dòng ớt chọn tạo, chỉ thị SCAR130 và chỉ thị CRF đã được khảo sát trên các dòng ớt có kiểu hình hữu dục và bất dục.



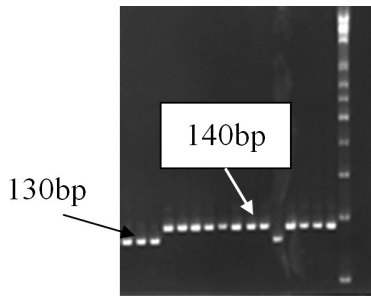
**Hình 1.** Khảo sát chỉ thị phân tử SCAR130 và CRF trên các dòng ớt hữu dục và bất dục

Ghi chú: Giếng 1: ladder, từ giếng 2 - 9 với chỉ thị SCAR130, từ giếng 10 - 17 với chỉ thị CRF, giếng 5 - 6 và 13 - 14 là dòng CMS.

Qua hình 1 cho thấy: với chỉ thị SCAR130 các giống 2, 4, 7, 9 xuất hiện band 140 bp. Mặt khác, các giống 3, 5, 6, 8 xuất hiện band 130 bp. Đối với chỉ thị CRF, chỉ có giống 13 và 14 không xuất hiện band 870 bp, đây là 2 giống tương ứng với mẫu của giống 5 và 6. Điều đó chứng tỏ các dòng bất dục có kiểu gen là *S/rfrf*. Trái lại, các dòng hữu dục có 2 kiểu gen là *N/RfRf* hoặc *S/RfRf*. Sự thống nhất giữa kết quả xác định kiểu gen bằng chỉ thị phân tử và kiểu hình cho thấy độ chính xác của 2 chỉ thị trên và được ứng dụng để đánh giá các mẫu giống nghiên cứu.

#### 3.2.2. Kiểu gen tế bào chất và gen nhân liên quan đến bất dục đực tế bào chất của các dòng ớt kháng bệnh sương mai và giống ớt lai thương mại

Ảnh điện di thu được từ sản phẩm PCR của chỉ thị SCAR130 cho thấy các giống lai thương mại xuất hiện band 130 bp, nghĩa là có kiểu gen tế bào chất là *S*. Trái lại, tất cả các dòng kháng bệnh héo rũ đều có kiểu gen *N*. Kết hợp với kết quả xác định gen nhân trong bảng 2 cho thấy các giống lai F<sub>1</sub> đều có kiểu gen là *SRf-*, phần lớn các dòng kháng bệnh héo rũ có kiểu gen phức hồi (*NRfRf*), chỉ có 2 dòng 94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1 và 94BS71-1-2-3-8-2-3-1-2 có kiểu gene duy trì *Nrfrf*.



**Hình 2.** Kiểu gen S/N của giống ớt lai thương mại và dòng ớt kháng bệnh héo rũ

Ghi chú: Từ trái qua phải - giếng 1, 2, 3: Giống ớt lai thương mại (Demon, 207, Tiela), 4 - 11: 8 dòng ớt kháng PC, giếng cuối cùng bên phải: Ladder.

**Bảng 2.** Kiểu gen liên quan đến bất dục đực tế bào chất của các dòng ớt kháng bệnh héo rũ

TT	Tên mẫu giống	Chỉ thị SCAR130	Chỉ thị CRF	Kiểu gene
1	Demon (F <sub>1</sub> )	130 bp	870 bp	SRf-
2	207 (F <sub>1</sub> )	130 bp	870 bp	SRf-
3	Tiela (F <sub>1</sub> )	130 bp	870 bp	SRf-
4	94BS71-1-2-3-8-2-1-2-2	140 bp	870 bp	NRfRf
5	94BS71-1-2-3-8-2-1-2-3	140 bp	870 bp	NRfRf
6	94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1	140 bp	-	Nrfrf
7	94BS71-1-2-3-8-2-3-1-2	140 bp	-	Nrfrf
8	94BA19-1-1-2-3-3-2-4-2	140 bp	870 bp	NRfRf
9	94BA19-1-1-2-3-3-2-4-4	140 bp	870 bp	NRfRf
10	94BA20-1-1-3-1-1-6-4-2	140 bp	870 bp	NRfRf
11	94BS5-3-4-2-8-1-6-2-1	140 bp	870 bp	NRfRf

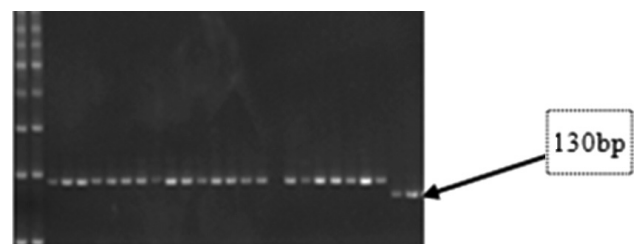
**3.3. Chọn tạo dòng ớt chỉ thiên phục hồi, duy trì bất dục đực, kháng bệnh héo rũ**

Từ kết quả xác định kiểu gen liên quan đến bất dục đực tế bào chất, tính kháng bệnh héo rũ và đặc điểm quả (chỉ thiên/chỉ địa), dòng 94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1 có kiểu gene duy trì bất dục (dòng B), kháng cao với bệnh sương mai, quả chỉ địa được lai với giống lai thương mại quả chỉ thiên. Do quả chỉ địa là tính trạng trội hoàn toàn nên tất cả các cá thể trong thế hệ F<sub>1</sub> đều có quả chỉ địa. Thông qua lây bệnh nhân tạo chọn cây kháng bệnh héo rũ có nhiều đặc điểm hình thái tương tự giống thương mại sẽ lai lại với dòng 94BS71-1-2-3-8-2-3-1-1 (94BS71) tạo ra quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>. Tiếp tục chu kỳ chọn lọc cây kháng bệnh héo rũ. Cây có nhiều đặc điểm tương tự giống lai thương mại được tự thụ tạo ra quần thể BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub>. Chọn cây chỉ thiên trong quần thể này, tự thụ để tạo

ra các dòng BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>5</sub>, BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub>. Dưới đây là kết quả xác định kiểu gen liên quan đến bất dục đực tế bào chất của 23 dòng BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub>.

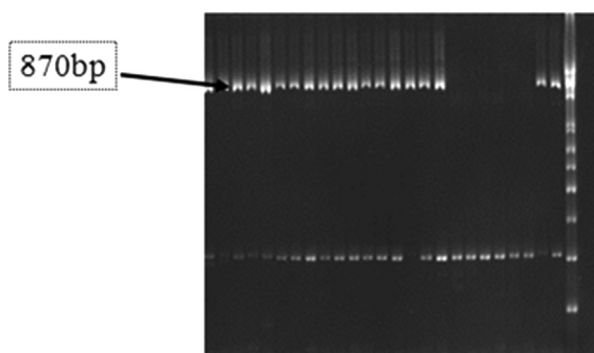
**Bảng 3.** Kiểu gen liên quan đến bất dục đực tế bào chất của các dòng ớt chỉ thiên kháng bệnh héo rũ

TT	Dòng	Chỉ thị SCAR130	Chỉ thị CRF	Kiểu gene
1	17-BC-01	140 bp	870 bp	NRfRf
2	17-BC-02	140 bp	870 bp	NRfRf
3	17-BC-03	140 bp	870 bp	NRfRf
4	17-BC-04	140 bp	870 bp	NRfRf
5	17-BC-05	140 bp	870 bp	NRfRf
6	17-BC-06	140 bp	870 bp	NRfRf
7	17-BC-07	140 bp	870 bp	NRfRf
8	17-BC-08	140 bp	870 bp	NRfRf
9	17-BC-09	140 bp	870 bp	NRfRf
10	17-BC-10	140 bp	870 bp	NRfRf
11	17-BC-11	140 bp	870 bp	NRfRf
12	17-BC-12	140 bp	870 bp	NRfRf
13	17-BC-13	140 bp	870 bp	NRfRf
14	17-BC-14	140 bp	870 bp	NRfRf
15	17-BC-15	140 bp	870 bp	NRfRf
16	17-BC-16	140 bp	870 bp	NRfRf
17	17-BC-17	140 bp	870 bp	NRfRf
18	17-BC-18	140 bp	-	Nrfrf
19	17-BC-19	140 bp	-	Nrfrf
20	17-BC-20	140 bp	-	Nrfrf
21	17-BC-21	140 bp	-	Nrfrf
22	17-BC-22	140 bp	-	Nrfrf
23	17-BC-23	140 bp	-	Nrfrf
24	Tiela	130 bp	870 bp	SRf-
25	Demon	130 bp	870 bp	SRf-



**Hình 3.** Kiểu gen S/N của các dòng ớt chỉ thiên BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> kháng bệnh héo rũ

Ghi chú: 2 giếng ngoài cùng bên phải: Ladder, tiếp theo tương ứng với số thứ tự các dòng, giống ở bảng 3.



**Hình 4.** Kiểu gen Rf của các dòng ớt chỉ thiên BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> kháng bệnh héo rũ

Ghi chú: Từ trái qua phải tương ứng với số thứ tự các dòng, giống ở bảng 3, giếng cuối cùng: Ladder.

Kết quả bảng 3 và hình 3, 4 cho thấy đã tạo được 17 dòng phục hồi (R), chỉ thiên, kháng bệnh héo rũ, và 6 dòng duy trì (B). Các dòng duy trì được lai với cây bất dục để tạo ra dòng CMS.

**3.4. Xác định tính bất dục ổn định của các dòng CMS**

Các dòng có kiểu gen duy trì (*Nrfrf*) được xác định bằng chỉ thị phân tử lai hồi quy liên tục 4 lần với cây bất dục tế bào chất (*Srfrf*). Bảng 4 cho thấy hạt phấn có hình tròn, bắt màu đậm xuất hiện ở 4 dòng CMS tạo ra từ các dòng duy trì 17BC18, 17BC19, 17BC21, 17BC23, chỉ có dòng 17-BC-20 và 17-BC-22 tạo ra dòng bất dục tuyệt đối. Nhiều nghiên cứu cũng cho rằng yếu tố nhiệt độ có liên quan đến tính bất dục dục (Novak *et al.*, 1971; Shifriss and Frankel, 1971; Shifriss and Guri, 1979). Như vậy dòng duy trì 17-BC20, 17BC22 và dòng bất dục dục tương ứng 17-BC20-CMS, 17-BC22-CMS được tạo ra có thể ứng dụng trong chọn tạo giống ớt lai, chỉ thiên kháng bệnh héo rũ.

**Bảng 4.** Độ bất dục của các dòng CMS được duy trì bằng dòng ớt chỉ thiên kháng bệnh héo rũ

TT	Dòng CMS	Tỉ lệ hạt phấn hữu dục (%)	Mức độ bất dục
1	17-BC-18-CMS	24,5 ± 5,2	Không hoàn toàn
2	17-BC-19-CMS	12,3 ± 2,3	Không hoàn toàn
3	17-BC-20-CMS	0,0	Hoàn toàn
4	17-BC-21-CMS	5,7 ± 0,5	Không hoàn toàn
5	17-BC-22-CMS	0,0	Hoàn toàn
6	17-BC-23-CMS	10,5 ± 1,5	Không hoàn toàn

**IV. KẾT LUẬN**

Nghiên cứu đã tạo được các dòng ớt chỉ thiên, kháng bệnh héo rũ do nấm *P. capsici*, trong đó: 17 dòng phục hồi có kiểu gene *NRfRf* và 2 dòng duy trì *Nrfrf*. Dòng 17-BC20-CMS và 17-BC22-CMS bất dục hoàn toàn ổn định được tạo từ 2 dòng duy trì. Đây là cơ sở tiền đề để tạo hệ thống sản xuất hạt giống ớt lai 3 dòng dựa trên hệ thống bất dục tế bào chất.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Ahmed E A, Daubeze A M, Lafortune D, IDepestre T, Nono- Womdim R, Duranton C, Berke T, Gaddagimath N B, Nemouchi G, Phaly T, Palloix A., 2001. Constructing multiresistant genotypes of sweet pepper for cultivation in the tropics. In: XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. *Antalya (Turquie)*. pp. 296-297.

Ariadna M B. and Paul W. B., 2008. Genetic analysis of phytophthora root rot race specific resistance in chile pepper. *J. Amer. Soc.Hort. Sci.*, 133(6): 825-829.

Gulyas G, Pakozdi K, Lee JS, Hirata Y., 2006. Analysis of fertility restoration by using cytoplasmic male sterile red pepper (*Capsicum annuum* L.) lines. *Breeding Science*, 56: 331-334.

Jiao-Jiao Ji, Wei Huang, Yan-Xu Yin, Zheng Li, Zhen-Hui Gong, 2014. Development of a SCAR marker for early identification of S-cytoplasm based on mitochondrial SRAP analysis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Mol Breeding* (2014) 33: 679-690.

Kim JS, Kim WI, Jee HJ, Gwang JG, Kim CK, Shim CK., 2010. Evaluation of resistance in hot pepper germplasm to Phytophthora blight on biological assay. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, 28: 802-809.

Kimble KA, Grogan RG., 1960. Resistance to Phytophthora root rot in pepper. *Plant Dis. Rep.* 44: 872-873.

Kumar R, Kumar S, Dwivedi N, Rai A., 2009. Validation of SCAR markers, diversity analysis of male sterile (S-) cytoplasm and isolation of an alloplasmic S-cytoplasm in *Capsicum*. *Sci Hort* 120: 167-172.

Lee J., Lee W.P, Kang B.C, Yoon J.B., 2012. Inheritance of resistance to phytophthora root rot in chili pepper depending on inoculum density and parental genotypes. *Kor. J. Breed. Sci.*, 44(4): 503-509.

Leonian, L.H., 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology*, 12: 401-408.

Novak, F, Betlach, J. and Dubovsky, J., 1971. Cytoplasm male sterility in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Z. Pflanzenzcht*, 65: 129-140.

- Odland M L, Potter A M.,** 1941. A study of natural crossing in peppers (*Capsicum frutescens*). *Proceeding of American Society Horticultural Science*, 38: 585-588.
- Peterson PA.,** 1958. Cytoplasmically inherited male sterility in *Capsicum*. *Am Nat*, 92: 111-119.
- Reddy MK, Srivastava A, Lin SW, Kumar R, Shieh HC, Ebert AW, Chawda N, Kumar S.,** 2015. Exploitation of AVRDC's chili pepper (*Capsicum* spp.) germplasm in India. *Journal of Taiwan Society of Horticultural Sciences*, 61: 1-9.
- Shifriss C., Guri A.,** 1979. Variation in stability of cytoplasmic male sterility in *C. annuum* L. *J Amer Soc Hort Sci*, 104: 94-96.
- Shifriss, C. and Frankel, R.,** 1971. New sources of cytoplasmic male sterility in cultivated peppers. *J. Hered.*, 62: 254-256.
- Tanksley, S. D.,** 1984. High rates of cross-pollination in chile pepper. *Hort Science* 19: 580-582.
- Yeh T., Lin S, Shieh H, Teoh Y, Kumar S.,** 2016. Markers for cytoplasmic male sterility (CMS) traits in chili peppers (*Capsicum annuum* L.). I: Multiplex PCR and validation. *Sabrao Journal of breeding and genetics* 48(4): 465-473.
- Yoo IW.,** 1990. *The inheritance of male sterility and its utilization for breeding in pepper (Capsicum spp.)*. Dissertation, Kyung Hee University.

## Breeding of erect-fruited pepper lines carrying cytoplasmic male sterility gene resistant to *Phytophthora* root rot

Tran Ngoc Hung, Trinh Thi Nhat Chung, Dang Thi Mai

### Abstract

Hot chili is annually grown on approximately 25 - 30,000 hectares in Vietnam, the majority of which is erect-fruited  $F_1$  hybrids. Cytoplasmic male sterility (CMS) refers to the inability to produce functional pollen in plants. The CMS system is advantageous in the production of  $F_1$  hybrids because it allows breeders an alternative to costly and time consuming hand emasculation in peppers. *Phytophthora* root rot, caused by *Phytophthora capsici* is the most severe pepper disease worldwide. The use of pesticides to manage the disease is often ineffective and a high-level of pesticide insensitivity has been observed, leaving resistant cultivars as the best strategy. Currently, there are no pepper hybrids resistant to *P. capsici* under production in Vietnam. In this project, we successfully developed 17 restorer (*NrfRf*) and 2 maintainer (*Nrfrf*) corresponding CMS lines (*Srfrf*) erect-fruited pepper lines resistant to *Phytophthora* root rot. These lines will be useful for the establishment of a CMS-based  $F_1$  hybrid seed system in chili pepper in Vietnam.

**Keywords:** Chili pepper (*Capsicum annuum* L.), cytoplasmic male sterility, *Phytophthora* root rot (*Phytophthora capsici*)

Ngày nhận bài: 19/4/2019

Ngày phản biện: 1/5/2019

Người phản biện: TS. Hà Văn Nhân

Ngày duyệt đăng: 15/5/2019

## KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM GIỐNG LÚA THUẦN CNC11 TẠI CÁC TỈNH PHÍA BẮC

Đồng Thị Kim Cúc<sup>1</sup>, Lê Thanh Nhuận<sup>1</sup>,  
Phan Thanh Phương<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Loan<sup>1</sup>,  
Nguyễn Đức Cương<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Ngoan<sup>1</sup>, Phạm Thị Lý Thu<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, giống lúa thuần CNC11 được chọn tạo từ giống Bắc thơm 7 (BT7) bằng phương pháp đột biến thực nghiệm chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  liều chiếu 250 Gy trên hạt đã ngâm nước 24 giờ. Kết quả khảo nghiệm cơ bản cho thấy giống CNC11 có nhiều đặc tính nông sinh học tốt, năng suất khá và khả năng chống chịu sâu bệnh tương đương với Bắc thơm 7. Giống có năng suất thực thu đạt 53,2 tạ/ha (vụ Xuân) và 46,0 - 48,9 tạ/ha (vụ Mùa), cao hơn BT7 từ 7 - 9%. Kết quả khảo nghiệm sản xuất tại 7 tỉnh phía Bắc, giống CNC11 có năng suất cao, đạt từ 62,0- 65,9 tạ/ha (vụ Xuân) và 55,0 - 60,4 tạ/ha (vụ Mùa), cao hơn giống BT7 từ 7 - 11,5%. Giống lúa CNC11 đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn công nhận cho sản xuất thử tại các tỉnh phía Bắc theo Quyết định số 235 /QĐ-TT-CLT ngày 20 tháng 6 năm 2016.

**Từ khóa:** Bắc thơm số 7, tia gamma, khảo nghiệm

<sup>1</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp (VAAS)