

# XÁC ĐỊNH NGUỒN GIEN THÍCH HỢP PHỤC VỤ TẠO GIỐNG CÀ CHUA CHỐNG CHỊU BỆNH SƯƠNG MAI (*Phytophthora infestans*) TẠI VIỆT NAM

Trịnh Khắc Quang<sup>1</sup>, Trần Ngọc Hùng<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Bệnh sương mai do nấm *Phytophthora infestans* gây hại rất nghiêm trọng cho sản xuất cà chua ở Việt Nam, đặc biệt trong mùa mưa ở vùng cao (Đà Lạt, Sa Pa...) và vụ đông xuân ở đồng bằng sông Hồng. Bằng phương pháp lây bệnh nhân tạo với nguồn nấm sương mai được thu thập và phân lập từ nhiều vùng khác nhau trong cả nước cho thấy tất cả các mẫu giống hoang dại, địa phương và các giống đang được trồng phổ biến trong nước đều mẫn cảm với bệnh. Nghiên cứu biểu hiện tính kháng của các mẫu giống nhập nội mang các gen *Ph1*, *Ph2*, và *Ph3* chỉ thấy mẫu giống có gen *Ph3* có khả năng kháng cao với các chủng nấm khác nhau. Dạng dị hợp tử của gen *Ph3* trong tổ hợp F<sub>1</sub> thể hiện tính kháng trung bình giữa hai bố mẹ, điều này phản ánh tính trội không hoàn toàn của gen này. Đây là cơ sở để tạo giống cà chua chống chịu bệnh sương mai ở Việt Nam.

**Từ khóa:** Chọn giống, bệnh sương mai, cà chua, gen kháng bệnh.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sương mai do nấm *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary gây hại các bộ phận thân, lá của cà chua và khoai tây ở mọi thời kỳ sinh trưởng. Khi điều kiện môi trường thuận lợi cho nấm phát triển, bệnh gây thiệt hại nghiêm trọng cho sản xuất cà chua. Do tác hại gây ra mà bệnh sương mai được xếp vào loại bệnh nguy hiểm nhất đối với cà chua (Umaerus và Umaerus, 1994; Garelik, 2002). Mức độ nguy hiểm của bệnh này là: (1) bệnh có thể hủy hoại toàn bộ cà chua chỉ trong vài ngày khi thấy xuất hiện trên đồng ruộng; (2) nấm bệnh thường tồn tại với lượng rất thấp trên đồng ruộng do đó rất khó phát hiện, thông thường khi thấy bệnh xuất hiện là thời điểm quá muộn để phun thuốc phòng trừ, đồng thời hầu hết các mẫu phân lập của nấm bệnh đều kháng thuốc metalaxyl, loại thuốc được coi là hiệu quả nhất đối với bệnh này; (3) mỗi vết bệnh sương mai có thể sản sinh ra đến 300.000 bào tử 1 ngày làm cho bệnh phát tán rất nhanh; (4) chu kỳ sinh sản vô tính của nấm bệnh từ khi xâm nhập vào mô ký chủ đến khi tạo thành bào tử phát tán ra môi trường chưa đến 5 ngày (Fry và Goodwin, 1997b). Hiện tại bệnh này thường được dùng thuốc hóa học để phòng trừ. Thời gian phun thuốc dựa vào các bản tin dự báo thời tiết (Raposo *et al.*, 1993; Davis *et al.*, 1996, 1998). Mặc dù đã áp dụng biện pháp phòng trừ nghiêm ngặt nhưng thiệt hại do bệnh gây ra vẫn rất đáng kể. Do thay đổi

độc tính của nấm nên hiệu quả phòng trừ bằng thuốc hóa học ngày càng ít tác dụng (Kato *et al.*, 1997).

Các nỗ lực tạo giống cà chua kháng bệnh sương mai đã được thực hiện khoảng trên 50 năm trước (Richards và Barratt, 1946) kết quả là xác định được 2 gen kháng là *Ph1* và *Ph2* (Gallegly, 1960; Peirce 1971). Theo đó gen *Ph1* là gen trội có nguồn gốc từ nhóm cà chua *Lycopersicon pimpinellifolium*, có tính kháng chuyên tính với chủng nấm Race 0 (Bonde và Murphy, 1952). Gen *Ph1* đã được đưa vào các giống cà chua ăn tươi: New Yorker và cà chua chế biến: Nova. *Ph2* là gen trội không hoàn toàn, cũng được tìm thấy trong nhóm cà chua *L. pimpinellifolium* (Goodwin *et al.*, 1995). Mức độ thể hiện của gen *Ph2* còn bị chi phối bởi các yếu tố khác (Turkensteen, 1973; Laterrot, 1975). Gen *Ph2* được xác định có trong nhiều giống cà chua. Nghiên cứu tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Rau châu Á (AVRDC) đã phát hiện ra trong mẫu giống L3708, thuộc nhóm *L. pimpinellifolium* có chứa nguồn gen mới kháng bệnh sương mai (AVRDC 1994).

Theo Tạ Thu Cúc (2007) cà chua được trồng ở nước ta trên 100 năm nay, với diện tích hàng năm biến động từ 15-17 ngàn ha và sản lượng 280 ngàn tấn. Tuy nhiên bệnh sương mai gây hại nghiêm trọng và có ảnh hưởng lớn tới năng suất (giảm 60-70%) và phẩm chất trên cà chua, khoai tây ở một số vùng Hà Nội, Hải Phòng, Lào Cai, Đà Lạt (Nguyễn Văn Viên, 1998). Trước thực trạng trên đã tiến hành thu thập các mẫu giống cà chua và xác định nguồn gen kháng phù hợp cho chương trình tạo giống cà chua kháng bệnh sương mai tại Việt Nam.

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Rau quả - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

**II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU****1. Vật liệu nghiên cứu***a. Mẫu giống cà chua*

Thí nghiệm khảo sát tính kháng bệnh sương mai bao gồm 57 mẫu giống, trong đó có 21 mẫu giống địa phương, 12 giống F<sub>1</sub>; còn lại là các dòng, giống của Viện Nghiên cứu Rau quả.

Thí nghiệm xác định gen phù hợp cho chọn tạo giống cà chua chống chịu bệnh sương mai ở Việt Nam bao gồm 7 mẫu giống, trong đó 1 mẫu giống mang gen *Ph1* (AVRDC), 2 mẫu giống mang gen *Ph2* (Tomato Genetic Resource Centre, USA), một mẫu giống mang cả hai gen *Ph1* và *Ph2* (AVRDC), 1 mẫu giống mang gen *Ph3* (AVRDC) và 2 mẫu giống mẫu cảm bệnh dùng làm đối chứng.

Thí nghiệm đánh giá biểu hiện của gen kháng bệnh trên các tổ hợp lai F<sub>1</sub> sử dụng 7 tổ hợp lai và các dạng mẹ tương ứng của chúng.

*b. Nguồn nấm bệnh lây nhiễm*

Thí nghiệm sử dụng 4 mẫu phân lập (isolate) của nấm *P. infestans* được thu thập và phân lập từ các vùng khác nhau: (1) Isolate (cách lý) LS được phân lập trên mẫu lá khoai tây bị bệnh tại Cao Lộc – Lạng Sơn, (2) Isolate PF12 được phân lập từ lá khoai tây bị bệnh tại phường 12, Đà Lạt, (3) Isolate TF6 được phân lập từ lá cà chua bị bệnh tại phường 6, Đà Lạt, (4) Isolate RIFAV được phân lập trên cà chua bị bệnh tại Viện Nghiên cứu Rau quả, Gia Lâm- Hà Nội. Để duy trì tính độc cao, các isolate nấm liên tục được lưu trên mẫu lá cà chua tươi ở nhiệt độ 17-18°C.

**2. Phương pháp nghiên cứu**

Lây nhiễm nhân tạo và đánh giá tính kháng bệnh sương mai được thực hiện theo 2 phương pháp:

+ *Phương pháp lá tách rời (detached leaf inoculation)*: Các mẫu giống cà chua cần nghiên cứu được xử lý hạt bằng dung dịch NaOCl hypoclorit natri 1% trong 15 phút sau đó làm sạch bằng cách để dưới vòi nước chảy liên tục trong 30 phút rồi hong khô trước khi gieo. Sử dụng khay nhựa (72 lỗ) và giá thể GT5 (Viện Thổ nhưỡng Nông hóa) phối trộn với xơ dừa sạch theo tỉ lệ 1:1 (theo thể tích) để gieo hạt. Khay đã gieo hạt được để trên giá cao 80 cm, trong nhà lưới và luôn đảm bảo đủ ẩm, nhiệt độ 25°C-32°C. Sau khi gieo 30-35 ngày cây xuất hiện 5-6 lá thật. Ngắt lá thật thứ 4 (đã phát triển đầy đủ), sạch bệnh và ghi thẻ đánh dấu tương ứng với mẫu giống nghiên cứu, giữ trong khăn ẩm, mát.

Đặt úp lá cà chua lên môi trường thạch nước (Water agar: 18 g thạch + 1000 ml H<sub>2</sub>O, hấp trong nồi hấp ở 121°C, 17 phút) trong đĩa petri sau đó dùng micropipet nhỏ vào giữa mỗi lá chết 30 µl dung dịch bào tử (5000 túi bào tử/ml) nấm sương mai. Với mỗi mẫu giống lây bệnh được lặp lại 3 lần. Sau khi lây nhiễm, hộp petry được đậy kín lại, giữ trong tủ định ôn 17°C. Đánh giá bệnh được thực hiện sau 7 ngày với 2 phương pháp: xác định số bào tử hình thành và chỉ số bệnh theo thang đánh giá như sau: Điểm 1: Lá không xuất hiện vết bệnh; điểm 2: Xuất hiện các chấm nhỏ trên lá (~1 mm); điểm 3: Khoảng 25% diện tích lá bị bệnh; điểm 4: ~ 50% diện tích lá bệnh; điểm 5: ~ 75% diện tích lá bệnh; điểm 6: Hầu hết diện tích lá bị bệnh. Các lá lây nhiễm sau khi đọc chỉ số bệnh sẽ được xác định số bào tử hình thành bằng kỹ thuật đếm bào tử dưới kính hiển vi.

+ *Phương pháp lây bệnh nhân tạo trên cây con (Whole plant inoculation)*: Các mẫu giống cà chua cần được lây bệnh cũng chuẩn bị cây con như đã mô tả trong phương pháp lây bệnh trên lá tách rời.

Lây nhiễm cây con được thực hiện bằng cách phun đẫm dung dịch bào tử (10<sup>4</sup> túi bào tử/ml) lên cây cà chua 4 tuần tuổi sau đó dùng ni lông trắng bọc kín cả khay cây giống để tạo ẩm độ bão hòa (100%). Cây lây bệnh được đặt trong buồng sinh trưởng (17°C – 18°C) trong 48 h, rồi chuyển ra ngoài với nhiệt độ 22°C – 25°C, ẩm độ 80%-90%. Đánh giá tính kháng của các mẫu giống được thực hiện sau khi lây 7 ngày bằng cách cho điểm từng cây rồi tính giá trị trung bình theo thang dưới đây: 0 ~ Không vết bệnh; 1 ~1-10% diện tích lá bị bệnh; 2~11-20% diện tích lá bị bệnh; 3~ 21-40% diện tích lá bị bệnh (và 1-10% vùng thân bị bệnh); 4~ 41-70% diện tích lá bị bệnh (và 11-50% vùng thân bị bệnh); 5~71-90% diện tích lá bị bệnh (và 51-100% vùng thân bị bệnh); 6~ 91-100% diện tích lá bị bệnh, cây chết.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN****1. Khảo sát tính kháng bệnh sương mai của các mẫu giống cà chua địa phương, dòng chọn tạo và các giống trồng phổ biến**

Nấm sương mai có 2 hình thức sinh sản: vô tính và hữu tính. Sinh sản hữu tính sẽ xuất hiện khi đồng thời có cả 2 dạng A1 và A2 (mating type-kiểu giao phối) và nhanh chóng tạo ra các dạng tái tổ hợp mới, dễ dàng làm thay đổi tính độc của chúng. Tới cuối những năm của thập kỷ 80, cả thế giới không phát hiện ra nơi nào xuất hiện *P. infestans* có dạng A2, trừ

Mexico. Nhưng trong những năm gần đây dạng A2 đã tìm thấy ở nhiều nước. Dạng A2 được xác định có tính độc cao hơn nhiều so với dạng A1. Ở Việt Nam nấm sương mai chỉ có 1 dạng là A1, chưa phát hiện được dạng A2 (Le *et al.*, 2008) nhưng với các isolate khác nhau mức miễn cảm của từng mẫu giống cũng thay đổi.

Nhìn chung mọi mẫu giống đều miễn cảm cao hơn với isolate TF6 được phân lập từ cà chua tại Đà Lạt – Lâm Đồng (bảng 1). Trong nhóm isolate được phân lập từ khoai tây, isolate PF12 (Lâm Đồng) có độc tính cao hơn isolate LS trên nhiều mẫu giống. Kết quả này phản ánh isolate TF6 có độc tính cao nhất, tiếp đến là PF12 và LS. Điều này phần nào phù hợp với nghiên cứu của Le và đồng tác giả (2008). Các tác giả này đã thu thập 294 isoate tại Lào Cai, Hà Nội, Hưng Yên, Hà Tây (cũ), Hải Phòng, Hải Dương, Bắc Giang, Bắc Ninh và Lâm Đồng trên cả cà chua và khoai tây cho thấy 100% isolate phân lập từ cà chua ở Lâm Đồng kháng cao với metalaxyl, trong khi đó chỉ 2% các isolate thu thập từ cà chua ở các tỉnh phía Bắc thể hiện tính kháng chất này. Các isolate được phân lập từ khoai tây tại Lâm Đồng có 59% kháng, tại các tỉnh phía Bắc không có isolate nào kháng metalaxyl.

Tất cả các mẫu giống địa phương, kể cả các dạng cà chua hoang dại thu thập tại vùng chịu áp lực bệnh lớn (có nhiệt độ mát mẻ, ẩm độ cao, trồng cà chua nhiều vụ: Đà Lạt- Lâm Đồng, Quán Bạ-Hà Giang...), các dòng mới chọn tạo và các giống F<sub>1</sub> đang trồng phổ biến đều xuất hiện vết bệnh lan rộng với tất cả các isolate (chỉ số bệnh > 3). Điều này cho thấy mô lá của cà chua không có phản ứng kháng sau khi bị nấm bệnh xâm nhập. Sự xâm nhiễm của nấm sương mai và mức độ phản ứng của ký chủ đã được nghiên cứu kỹ ở mức độ tế bào. Đối với giống kháng, các tế bào bị nấm xâm nhập sẽ chết nhanh để ngăn cản sự phát triển của nấm sang các tế bào khác (hypersensitive response – phản ứng lại quá nhạy cảm), trái lại các giống nhiễm thì không có phản ứng này (Kamoun *et al.*, 1999; Vleeshouwers *et al.*, 2000).

Đây được xem là kết quả đầu tiên tại Việt Nam về tìm kiếm nguồn gen kháng bệnh sương mai của các mẫu giống địa phương bằng phương pháp lây bệnh nhân tạo. Trong các mẫu giống thu thập được chúng tôi không xác định được mẫu giống kháng bệnh. Theo Rick (1982) hầu hết nguồn gen kháng bệnh của cà chua được tìm thấy ở 8 loài hoang dại. Trong khi đó

Việt Nam không phải là nơi nguyên sản của cà chua mà nó mới được du nhập và trồng trọt khoảng 100 năm nay (Tạ Thu Cúc, 2007). Bên cạnh đó, các giống cà chua thương mại (F<sub>1</sub>) của các công ty giống đang rất phổ biến, nên quỹ gen các giống địa phương vốn đã nghèo nàn lại ngày càng bị xói mòn.

Kết quả lây bệnh nhân tạo các giống cà F<sub>1</sub> cho thấy tất cả các giống đều bị nhiễm bệnh, điều đó phù hợp với thực trạng đang diễn ra ngoài sản xuất. Để hạn chế bệnh, kỹ thuật phổ biến nhất đang được nông dân áp dụng là phun thuốc trừ bệnh với 13-15 lần phun/ vụ cà chua (Báo cáo kết quả đề tài: *Nghiên cứu ứng dụng đồng bộ các giải pháp công nghệ xây dựng mô hình sản xuất rau an toàn, 2001-2003*, Hà nội, Viện Nghiên cứu Rau quả). Theo Phạm (2002) do thiếu giống tốt kháng bệnh nên biện pháp chính để phòng trừ bệnh sương mai của nông dân là dùng thuốc hóa học, khi ẩm độ cao, áp lực bệnh lớn sẽ phun thuốc với nồng độ cao và tăng tần suất phun (5-7 ngày/lần).

**Bảng 1. Mức độ miễn cảm với các isolate nấm sương mai của các mẫu giống cà chua (lây nhân tạo trên lá tách rời)**

Mã hiệu	Tên mẫu giống, nơi thu thập	Chỉ số bệnh trung bình		
		LS	TF6	PF12
08TP01	Viện Nghiên cứu Rau quả (FAVRD)	4,33	4,33	- <sup>(*)</sup>
08TP02	nt	3,80	4,93	4,93
08TP03	nt	3,87	4,44	-
08TP04	nt	4,40	4,40	-
08TP05	nt	3,73	4,67	-
08TP06	nt	4,33	4,13	4,83
08TP07	nt	5,67	4,83	-
08TP08	nt	4,80	4,20	-
08TP09	nt	3,47	3,87	5,27
08TP10	nt	-	4,67	-
08TP12	nt	-	4,25	-
08TP13	nt	3,67	4,87	-
08TP14	nt	4,13	5,00	-
08TP15	nt	4,33	4,80	-
08TP16	nt	3,50	4,80	-
08TP17	nt	4,47	4,60	-
08TP18	nt	3,73	4,80	-
08TP20	nt	4,60	4,53	-
08TP21	nt	-	4,78	-
08TP22	nt	-	4,50	-
08TP24	nt	-	4,67	-
08TP25	nt	-	4,67	-
08TP34	Chợ Hòa An, TX Cao Bằng, Cao Bằng	3,20	4,93	2,73

08TP35	Cà Kiu	3,53	4,73	3,07
08TP36	Cà chua thóc , Phú Lương, Thái Nguyên	4,60	4,73	-
08TP37	Cà chua trái vụ, Quán Bạ, Hà Giang	4,53	4,73	-
08TP38	Chợ Cán Thờ, Hậu Giang	4,60	4,87	-
08TP39	Thắng Lợi, Kon Tum	4,13	5,27	-
08TP40	Thành Hưng, Thạch Thành, Thanh Hóa	3,00	4,93	5,07
08TP41	Vinh Hưng, Vinh Lộc, Thanh Hóa	2,53	4,93	3,20
08TP42	Cà chua Lêng, Quảng Bình	5,93	5,13	-
08TP43	Cà chua Thóc, Na Rỳ, Bắc Cạn	2,80	4,80	2,87
08TP44	Cà chua Thóc, Bắc Sơn, Lạng Sơn	3,93	4,93	-
08TP45	Cà chua Ta, Vinh Lộc, Thanh Hóa	3,27	4,67	2,00
08TP46	Kia sui, Đà Bắc, Hòa Bình	3,87	4,80	-
08TP47	Cà chua Miếng, Lệ Thủy, Quảng Bình	-	4,60	-
08TP48	Cà chua Dại, Lâm Đồng	3,27	4,87	3,47
08TP49	Mường Còi, Phù Yên, Sơn La	4,67	5,17	-
08TP50	Chí Nữ xưa, Thanh Nưa, Điện Biên	4,87	4,73	-
08TP51	Hồng Thái, Nà Hang, Tuyên Quang	4,13	4,93	-
08TP52	Cà chua Ba Lan, Chí Linh, Hải Dương	3,20	4,75	3,07
08TP59	Cà chua Hồng Lan, G.Lộc, Hải Dương	2,87	4,67	2,07
08TP61	Tường Sơn, Anh Sơn, Nghệ An	2,33	4,47	2,83
08TP77	Poseidon (F <sub>1</sub> )	3,40	4,67	-
08TP78	Zeus 42 (F <sub>1</sub> )	4,13	4,87	-
08TP79	Ta Sie (F <sub>1</sub> )	4,40	4,87	-
08TP80	European Rapsodie (F <sub>1</sub> )	4,00	4,92	-
08TP81	Reliance (F <sub>1</sub> )	4,50	4,93	-
08TP82	Rafito (F <sub>1</sub> )	4,00	4,33	-
08TP85	Kim cương đỏ (F <sub>1</sub> )	3,08	3,13	-
08TP86	Hồng Ngọc (F <sub>1</sub> )	4,07	4,87	-
08TP87	Savior (F <sub>1</sub> )	3,93	4,33	-
08TP88	TH1389 (F <sub>1</sub> )	4,07	4,73	-
08TP89	ANNA (F <sub>1</sub> )	4,00	4,53	-
08TP90	Suival Tomato (F <sub>1</sub> )	3,75	5,07	-
08TP91	CS1 (FAVRI)	4,00	4,00	-
08TP92	PT18 (FAVRI)	3,40	5,07	-

(<sup>c</sup>) Chưa có kết quả

## 2. Xác định nguồn gen cà chua nhập nội kháng một số chủng nấm *Phytophthora infestans* tại Việt Nam

Sự khác nhau rõ nét của từng kiểu gen đối với từng isolate được thể hiện trong bảng 2. Các mẫu

giống đối chứng mắc cảm bệnh luôn thể hiện nhiễm bệnh nặng trong mọi lần lây nhiễm, điều này đã thể hiện bản chất di truyền của chúng và cũng khẳng định độ ổn định và chính xác của lây nhiễm nhân tạo. Tương tự như nhận định ở bảng 1, chỉ số bệnh của hầu hết các mẫu giống đều tăng khi lây bằng isolate TF6 được phân lập từ cà chua tại Đà Lạt. Giống cà chua chế biến NOVA mang gen kháng *Ph1* (hay *Ph*), được xác định gen là trội hoàn toàn có nguồn gốc từ một số mẫu cà chua hoang dại thuộc nhóm *S. pimpinellifolium* (West Virginia 19 và 731). Nhưng khi lây với các chủng nấm LS và TF6 đều bị nhiễm bệnh nặng. Điều này được giải thích là do gen *Ph1* nằm nhiễm sắc thể số 7, chỉ có hiệu quả cao với chủng nấm race-0 (Loài-0) (T0) (Bonde và Murphy, 1952; Peirce, 1971). Như vậy, mặc dù các chủng nấm dùng trong nghiên cứu này chưa xác định được chủng nấm nhưng chắc chắn chúng không thuộc chủng race-0, nên giống mang gen *Ph1* bị nhiễm bệnh nặng. Tương tự ảnh hưởng của gen *Ph1*, các giống mang gen *Ph2* (LA3151, LA3152) không thể hiện tính kháng đối với isolate LS và TF6. Tuy nhiên gen *Ph2* đã phân nào thể tính kháng đối với isolate PF12. Điều này lại lần nữa khẳng định về sự khác biệt về độc tính giữa các isolate dùng trong thí nghiệm. Các nghiên cứu trước cho rằng: gen *Ph2* trội không hoàn toàn, chức năng của nó chủ yếu là làm giảm tốc độ của bệnh hơn là chức năng khoanh vùng bệnh (block), mất tác dụng đối với các isolate có độ độc cao (Goodwin *et al.*, 1995; Black *et al.*, 1996). Ngoài ra, gen này còn chịu sự chi phối của môi trường, tuổi sinh lý và bộ phận bị hại của cây (Moreau *et al.*, 1998).

Mẫu giống West Virginia 700 (thuộc nhóm *L. pimpinellifolium*) mang đồng thời cả 2 gen *Ph1* và *Ph2*, thể hiện tính kháng rõ rệt đối với isolate có độc tính không cao (LS). Điều này cho thấy trong tạo giống cần tạo ra những giống là tổ hợp của nhiều gen kháng, qua đó không những đạt được mức kháng cao mà còn kháng bền vững với các isolate. Đối với các isolate có độc tính cao (TF6), tác động cộng gộp của cả 2 gen này mất đi. Như vậy tạo ra giống mang nhiều gen kháng là cần thiết nhưng trong trường hợp này tổ hợp của 2 gen *Ph1* và *Ph2* không tạo kết quả vượt trội đối với isolate có độc tính cao. Kết quả này cho thấy các gen *Ph1* và *Ph2* đều tỏ ra ít hoặc không hiệu quả đối với các isolate nấm sương mai hại cà chua ở Việt Nam. Black và đồng tác

giả (1996) khi nghiên cứu biểu hiện của các gen *Ph1* và *Ph2* đối với các isolate của nấm sương mai tại Đài Loan, Indonesia, Nepal, Philippines cũng có kết quả tương tự như đánh giá của chúng tôi.

Đối với isolate TF6, tất cả các mẫu giống đều thể hiện nhiễm bệnh cao, ngoại trừ L3708 (thuộc nhóm *Solanum pimpinellifolium*, còn có tên khác là LA1269- C. M. Rick Tomato Genetics Resource Centre, Davis, Calif. và NSL116890, PI365957-USDA) mang gen *Ph3*. Điều này cho thấy gen này có hiệu quả cao đối với các isolate mà gen *Ph1* và *Ph2* đã mất hiệu lực. Qua đánh giá biểu hiện của L3708 cho thấy mẫu giống này kháng bệnh cao với các chủng nấm sương mai của Đài Loan, châu Á, châu Phi và Nam Mỹ (Black *et al.*, 1996b; AVRDC, 1998).

Với mục tiêu tìm được mẫu giống kháng được nhiều isolate đã tiếp tục lấy nhiễm các mẫu giống được xác định kháng các isolate trước (LS, PF12, TF6) với isolate FAVRI (được phân lập từ cà chua tại Viện Nghiên cứu Rau quả). Kết hợp cả 2 chỉ tiêu chỉ số bệnh và số bào tử tạo ra cho thấy L3708 là mẫu giống kháng bệnh cao. Bên cạnh kỹ thuật lấy bệnh trên lá tách rời, khi lấy bệnh trên cả cây non (5-6 lá thật) cũng cho kết quả tương tự. Điều này phản ánh: với các chỉ tiêu theo dõi khác nhau (chỉ số bệnh trên lá tách rời, trên cả cây, số bào tử được tạo ra) và phương pháp lấy bệnh khác nhau nhưng tính kháng bệnh của L3708 luôn thể hiện trên nhiều isolate, qua đó chứng tỏ tính kháng bệnh ổn định của gen *Ph3* có trong L3708. Đây có thể là nguồn gen để phục vụ công tác tạo giống cà chua kháng bệnh sương mai tại Việt Nam.

**Bảng 2. Biểu hiện tính kháng bệnh sương mai của các nguồn gen nhập nội**

Mẫu giống	Nguồn gốc	Gen kháng	Lá tách rời					Cả cây (CSB)
			LS	PF12	TF6	FAVRI		
			(Chỉ số bệnh - CSB)			(CSB)	Bào tử (x10 <sup>4</sup> )	
NOVA	AVRDC	<i>Ph1</i>	5,00	-	4,33	-	-	-
W.Virginia 700	AVRDC	<i>Ph1,Ph2</i>	1,47	2,33	4,67	5,33	5,33	3,87
L3708	AVRDC	<i>Ph3</i>	-	-	1,16	2,00	0,5	1,04
LA3151	USA(TGRC)	<i>Ph2</i>	4,33	1,73	4,60	-	-	4,98
LA3152	USA(TGRC)	<i>Ph2</i>	4,00	1,66	4,58	4,00	10,0	4,67
PT18	FAVRI	<i>S</i>	3,90	-	5,57	-	-	-
08TP03	FAVRI	<i>S</i>	3,90	-	4,44	5,00	13,5	3,50

**3. Đánh giá tính kháng bệnh sương mai của một số tổ hợp lai F<sub>1</sub> sử dụng gen *Ph3***

Theo quy luật, khi sau khi xâm nhập vào ký chủ sợi nấm sẽ phát triển và vết bệnh lan rộng. Mô bị bệnh đổi màu, xuất hiện triệu chứng đặc trưng và sợi nấm sẽ sinh ra rất nhiều bào tử (sporangia) trên bề mặt vết bệnh (Judelson và Blanco, 2005). Các giống kháng sẽ xuất hiện các tế bào chết nhanh bao quanh vết bệnh, do đó số bào tử sinh ra ít hơn các giống mẫn cảm bệnh.

Nhằm đánh giá mức độ di truyền của gen *Ph3* có trong mẫu giống L3708, đã lấy phần của L3708 lai với các giống mẫn cảm bệnh. Kết quả lấy bệnh nhân tạo cho thấy số lượng bào tử sinh ra của từng con lai F<sub>1</sub> (dạng dị hợp tử *Ph3/ph3*) ít hơn nhiều so với

giống mẹ (*ph3/ph3*) tương ứng của chúng, điều đó chứng tỏ vai trò tích cực của gen *Ph3* đối với tăng tính kháng bệnh của các tổ hợp F<sub>1</sub>. Tuy nhiên, các tổ hợp F<sub>1</sub> tạo ra số bào tử rất khác nhau, đây có thể được giải thích là do nền di truyền của các dạng mẹ khác nhau. Kết hợp với đánh giá đồng ruộng đã thấy những tổ hợp F<sub>1</sub> tạo ra ít bào tử (<10 x 10<sup>4</sup> bào tử/ml) cũng thể hiện tính kháng bệnh cao ngoài ruộng. Mặc dù chưa đánh giá được quần thể F<sub>2</sub> của các tổ hợp lai này nhưng qua biểu hiện tính kháng bệnh của các tổ hợp F<sub>1</sub> cũng phần nào thể hiện bản chất di truyền trội không hoàn toàn của gen *Ph3*. Như vậy có cơ sở để hy vọng chọn được những cá thể kháng bệnh tốt trong quần thể phân ly và để nâng cao tính kháng của F<sub>1</sub> thì gen *Ph3* nên được chuyển vào cả 2 dòng bố mẹ.

**Bảng 3. Tính kháng bệnh sương mai của các tổ hợp lai F<sub>1</sub> sử dụng gen *Ph3***

Mã hiệu	Mẫu giống/Tổ hợp lai	Gen kháng	Số bào tử (x10 <sup>4</sup> )
09D024	Ha u xử tô tê răng x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	8
09D026	Ha u xử tô tê răng	<i>ph3/ph3</i>	19
09D034	Ta Sie x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	11
09D036	Ta Sie	<i>ph3/ph3</i>	56
09D044	Ma I Ro Cu x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	7
09D046	Ma I Ro Cu	<i>ph3/ph3</i>	81
09D055	Hồng Ngọc x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	15
09D057	Hồng Ngọc	<i>ph3/ph3</i>	30
09D059	Savior x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	18
09D061	Savior	<i>ph3/ph3</i>	22
09D065	TH1389 x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	6
09D067	TH1389	<i>ph3/ph3</i>	18
09D071	ANNA x L3708	<i>Ph3/ph3</i>	4
09D072	ANNA	<i>ph3/ph3</i>	31

**IV. KẾT LUẬN**

Bằng kỹ thuật lây bệnh nhân tạo cho thấy các mẫu giống cà chua địa phương và các giống đang trồng phổ biến tại Việt Nam có phản ứng khác nhau với các mẫu phân lập từ nấm sương mai, nhưng không xác định được mẫu giống nào kháng bệnh tốt dùng cho chọn tạo giống.

Với 3 gen kháng chứa trong các mẫu giống nhập nội: gen *Ph1* không thể hiện tính kháng; gen *Ph2* thể hiện tính kháng với một số isolate; gen *Ph3* kháng với các isolate có tính độc cao và phần nào thể hiện trội không hoàn toàn ở F<sub>1</sub>. Do đó có thể sử dụng nguồn gen *Ph3* để tạo giống cà chua kháng bệnh sương mai ở Việt Nam.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. AVRDC, 1994. Asian vegetable research and development center. Shanhua, Tainan, Taiwan: 201- 203.
2. AVRDC, 1998. Asian vegetable research and development center. Shanhua, Tainan, Taiwan, 84-4.
3. Black, L. L., T. C. Wang, and Y. H. Huang, 1996b. New sources of late blight resistance indentified in wild tomato. Tropical vegetable information service newsletter, 1,15-7.
4. Black, L. L., Wang, T. C., Hanson, P. M., and Chen, J. T, 1996a. Late blight resistance in four wild

tomato accessions: Effectiveness in diverse locations and inheritance of resistance. *Phytopathol.* 86:S24.

5. Bonde, R. and E. F. Murphy, 1952. Resistance of certain tomato varieties and crosses to late blight. Maine agricultural experiment station bulletin 497: 5-15.

6. Conover, R. A. and J. M. Walter, 1952. Heritability resistance to late blight of tomato. *Phytopathology* 42: 197-199.

7. Conover, R. A. and J. M. Walter, 1953. The occurrence of a virulent race of *Phytophthora infestans* on late resistant tomato stocks. *Phytopathology* 43:344-345.

8. Davis, R. M., G. Hamilton, W. T. Lanini and T. H. Speen, 1996. The importance of pesticides and other pest management practices in U.S. tomato production. USDA, NAPIAP: Document Number 2-CA-96.

9. Davis, R. M., G. Hamilton, W. T. Lanini, T. H. Speen and C. Osteen, 1998. The importance of pesticides and other pest management practices in U.S. tomato production. USDA, NAPIAP: Document Number 1-CA-98.

10. Garelik, G. 2002. Taking the bite out of potato blight. *Science* 298(5599): 1702-1704.

11. Goodwin, S. B., L. S. Sujkowski and W. E. Fry, 1995. Rapid evolution of pathogenicity within clonal lineages of the potato late blight disease fungus. *Phytopathology* 85(6): 669-676.

12. Judelson, H. S., and F. A. Blanco, 2005. The spores of *Phytophthora*: Weapons of the plant destroyer. *Nature Rev. Microbiol.* 3: 47-58.

13. Kamoun, S., E. Huitema, V. G. A. A. Vleeshouwers, 1999. Resistance to oomycetes: A general role for the hypersensitive response? *Trend Plant Sci.* 4:196-200.

14. Kato, M., E. S. Mizubuti, S. B. Goodwin and W. E. Fry, 1997. Sensitivity to protectant fungicides and pathogenic fitness of clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United State. *Phytopathology* 87(9): 973-978.

15. Laterrot, H., 1975. Selection for the resistance to *Phytophthora infestans* in tomato. *Annales de l'Amelioration des Plantes Paris* 25(2): 129 - 150.

16. Le, V. H., X. T. Ngo, M. B., Brurberg and A. Hermansen, 2008. Characterization of *Phytophthora infestans* populations from Vietnam. Australasian Plant Pathology, 2008, 37, 592-599.
17. Lukyanenko, A. N., 1991. Disease resistance in tomato. In : Genetic improvement of tomato. (ed. G. Kallo), pp.99-119. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
18. Moreau, P., P. Thoquet, J. Olivier, H. Laterrot, and N. Grimsley, 1998. Genetic mapping of *Ph2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato. Mol. Plant-Microbe interact. 11:259 - 269.
19. Nguyễn Văn Viên, 1998. Bệnh mốc sương cà chua ở vùng Hà Nội và hiệu lực phòng chống của một số thuốc trừ bệnh. Tạp chí BVTV, số 160, trang 11-14.
20. Peirce, L. C., 1971. Linkage tests with *Ph* conditioning resistance to race O, *Phytophthora infestans*. TGC report 21:30.
21. Pham, X. T., 2002. Breeding potatoes for late blight resistance in Vietnam. In 'Proceedings of the global initiative on late blight conference.'(Ed. C. Lizárraga) p. 154. International Potato Center: Lima, Peru.
22. Raposo, R., D. W. Wilks and W. E. Fry, 1993. Evaluation of potato late blight forecasts modified to include weather forecasts: A simulation analysis. Phytopathology 83(1):103-108.
23. Richards, M. D. and R. W. Barratt, 1946. A partial survey of genus *Lycopersicon* for resistance to *Phytophthora infestans*. The plant disease reporter 30(1): 16-20.
24. Rick, C. M., 1982. The potential of exotic germplasm for tomato improvement. In Plant improvement and somatic cell genetics. Edited by I. K. Vasil, W. R. Scowcroft, and K. J. Freys. Academic Press, New York. pp. 1-28.
25. Tạ Thu Cúc, 2007. Giáo trình cây rau. NXB Nông nghiệp.
26. Turkensteen, L. J., 1973. Partial resistance of tomatoes against *Phytophthora infestans*, the late blight fungus. Wageningen, 1973, 88 p.
27. Umaerus, V., M. Umaerus, 1994. Inheritance of resistance to late blight. Potato genetics. 1994. G. R. E. Mackay, CAB international, Wallingford Oxon OX10 8E, England, UK:365-401.
28. Vleeshouwers, V. G., W. van Dooijeweert, F. Govers, S. Kamoun, and L. T. Colon, 2000. The hypersensitive response is associated with host and nonhost resistance to *Phytophthora infestans*. Planta 210 : 853 - 864.

**IDENTIFICATION OF GENETIC SOURCES SUITABLE FOR BREEDING TOMATO TOLERANT TO LATE BLIGHT (*Phytophthora infestans*) IN VIETNAM**

**Trinh Khắc Quang, Tran Ngọc Hưng**

**Summary**

Late blight caused by *Phytophthora infestans* is a disease devastating tomato grown in Vietnam, especially in a rainy season in highland areas and the winter- spring season in Red river delta where the weather is cool and humid. By artificial inoculations with fresh isolates collected in different locations, all local accessions and currently cultivated tomato varieties showed susceptible to the pathogen. Among introduced accessions carrying genes *Ph1*, *Ph2*, and *Ph3*, only gene *Ph3* was identified to be stably resistant to *P.infestans* isolates collected in different agro-ecological regions of Vietnam. Hybrids with a heterozygote of this gene were moderate resistance, probably inferring that *Ph3* was a partially dominant gene. These findings can be applied further in breeding tomato resistant to late blight in Vietnam.

**Key words:** *Breeding, late blight, tomato, resistant gene.*

**Người phản biện:** PGS.TS. Nguyễn Văn Viết

**Ngày nhận bài:** 2/7/2012

**Ngày thông qua phản biện:** 1/8/2012

**Ngày duyệt đăng:** 9/8/2012