

## An efficient *Agrobacterium*-mediated transformation method of embryogenic callus for Vietnamese *Japonica* rice varieties J02 and DS1

Hoang Thi Giang, Vu Thi Huong, Tran Hien Linh

### Abstract

This study was carried out to establish an efficient protocol for *Agrobacterium*-mediated transformation of two Vietnamese *Japonica* rice varieties, J02 and DS1. Before transformation, embryogenic callus induction and plant regeneration were evaluated. In comparison with MS basal medium, NB basal medium was more efficient to form larger average size of callus. Friable callus type and callus induction rate of above 89% were achieved. The highest regeneration rate was observed on NB basal medium under 12 hour photoperiod. *Agrobacterium* suspension at optical density of 0.3 was suitable for transformation. The expression of *GUS* gene was examined in callus and plantlets that revealed successful transformation. The transformation efficiency of 60.0 - 66.94% was obtained for both varieties.

**Keywords:** *Agrobacterium*, transformation, *Japonica* rice, embryogenic callus, J02, DS1

Ngày nhận bài: 29/10/2020

Người phản biện: TS. Dương Xuân Tú

Ngày phản biện: 20/11/2020

Ngày duyệt đăng: 25/11/2020

## QUY TỤ GEN *Ph2* VÀ *Ph3* TRONG CHỌN TẠO GIỐNG CÀ CHUA KHÁNG BỆNH SƯƠNG MAI

Trần Ngọc Hùng<sup>1</sup>, Vũ Thị Thu Hiền<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Bệnh sương mai do nấm *Phytophthora infestans* gây hại cà chua, đặc biệt nghiêm trọng trong vụ Đông Xuân ở Đồng bằng sông Hồng và mùa mưa ở vùng cao nguyên nước ta. Lây bệnh nhân tạo với các mẫu nấm sương mai thu thập tại Lâm Đồng, Hà Nội, Lào Cai cho thấy gen *Ph1* có trong mẫu giống Nova hoàn toàn không thể hiện tính kháng bệnh. Gen *Ph2* trong mẫu giống LA3151 không thể hiện tính kháng tốt như gen *Ph3* có trong dòng CLN2037B nhưng cũng giảm rõ rệt chỉ số bệnh và số bào tử tạo ra trên vết bệnh. Thông qua lai tạo và chọn lọc bằng chỉ thị phân tử UF-*Ph2*-1 liên kết với gen *Ph2* và chỉ thị Ph3-gsm1 cho gen *Ph3* đã quy tụ được các gen này trong dòng cà chua F<sub>5</sub> có đặc điểm nông sinh học tốt. Tính kháng bệnh sương mai của dòng cà chua F<sub>5</sub> mang cả 2 gen *Ph2* và *Ph3* cao hơn hẳn dòng bố mẹ chỉ mang 1 gen, và là nguồn vật liệu tốt cho chọn giống cà chua.

**Từ khóa:** Cà chua (*Solanum lycopersicum*), bệnh sương mai, nấm *Phytophthora infestans*, chỉ thị phân tử, quy tụ gen

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, cà chua (*Solanum lycopersicum* L.) là một trong 4 cây trồng có ý nghĩa kinh tế quan trọng nhất (sau lúa gạo, lúa mì và đậu tương) (Nowicki *et al.*, 2013). Năm 2014, sản xuất cà chua toàn cầu đạt 162 triệu tấn với giá trị đạt trên 62 tỉ USD (FAO, 2017).

Bệnh sương mai do nấm *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary được xác định là mối nguy hại chính trong sản xuất cà chua ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới (Lima *et al.*, 2009; Elsayed *et al.*, 2012). Nấm bệnh hại mọi bộ phận trên cây: lá, thân, quả... ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng, làm giảm năng suất và chất lượng (Lievens *et al.*, 2004). Bệnh phát tán nhanh và làm chết cây khi ẩm độ cao và nhiệt

độ thấp (18°C) (Haq *et al.*, 2008; Stroud *et al.*, 2016). Nấm *P. infestans* rất đa dạng và có 2 hình thức sinh sản là vô tính và hữu tính. Do đó, độc tính của nấm có thể tăng lên và làm mất tính kháng bệnh của cây trồng (McDonald and Linde, 2002). Hầu hết các loại thuốc không có tác dụng khi bệnh xuất hiện, đặc biệt là các loại thuốc có hoạt chất metalaxyl (Randall *et al.*, 2014; Saville *et al.*, 2015; Montes *et al.*, 2016). Sử dụng giống cà chua chống chịu bệnh là giải pháp tối ưu để quản lý bệnh sương mai.

Một số giống cà chua chống chịu bệnh sương mai đã tạo ra nhờ đưa gen kháng bệnh từ các mẫu giống cà chua hoang dại (Panthee and Gardner, 2010). Hiện nay, 5 gen kháng bệnh sương mai đã công bố.

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Rau Quả, <sup>2</sup> Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Gen trội *Ph1* nằm trên nhiễm sắc thể số 7 kháng chủng 0 (race 0) nhưng đã mất tác dụng với các chủng mới. Gen *Ph2* trội không hoàn toàn, nằm trên nhiễm sắc thể 10 chỉ chống chịu với một số mẫu nấm sương mai có độc tính thấp. Gen *Ph3* nằm trên nhiễm sắc thể 9 thể hiện tính kháng tốt ngay cả với những mẫu nấm mà gen *Ph1* và *Ph2* không còn tác dụng (Pi-16 ở Đà Loan) (Irzhansky and Cohen, 2006). Tuy nhiên, *Ph3* cũng mất tính kháng bệnh với một số mẫu nấm phân lập (Kim and Mutschler, 2006; Chen *et al.*, 2008; De Miranda *et al.*, 2010). Gần đây, gen *Ph5* được xác định ở mẫu cà chua PI270433, thể hiện kháng bệnh trên một số mẫu nấm mà các gen cũ không còn tác dụng (Foolad *et al.*, 2008, Merk *et al.* 2012). Không có chỉ thị phân tử được công bố liên kết chặt với gen *Ph1*, trong khi đó gen *Ph2* và *Ph3* đã được dùng để tạo giống cà chua thương mại (Panthee and Gardner, 2011).

Ở Việt Nam, cà chua được trồng ở 2 vùng chính là Lâm Đồng và khu vực Đồng bằng sông Hồng. Bên cạnh những điều kiện thuận lợi, sản xuất cà chua ở các vùng này luôn phải đối mặt với nhiều loại sâu bệnh hại. Nghiên cứu về gen và tạo giống cà chua chống chịu bệnh sương mai ở nước ta đã có một số kết quả. Đánh giá tính kháng bệnh sương mai của nguồn gen cà chua địa phương thu thập ở Việt Nam không xác định được mẫu giống kháng bệnh tốt.

Gen *Ph3* thể hiện tính trội không hoàn toàn, kháng với nhiều mẫu nấm sương mai phân lập tại Việt Nam (Trần Ngọc Hùng, 2013). Thông qua chỉ thị phân tử đã tạo được giống cà chua CVR9 ưu thế lai, mang gen *Ph3* dị hợp tử, chống chịu với nhiều mẫu nấm sương mai tại Việt Nam (Trần Ngọc Hùng và *ctv.*, 2020). Để nâng cao tính kháng bền vững, đối phó với biến đổi liên tục của nấm bệnh, bài báo này thể hiện kết quả quy tụ gen *Ph2* và *Ph3* nhằm tạo dòng cà chua chống chịu bệnh sương mai.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

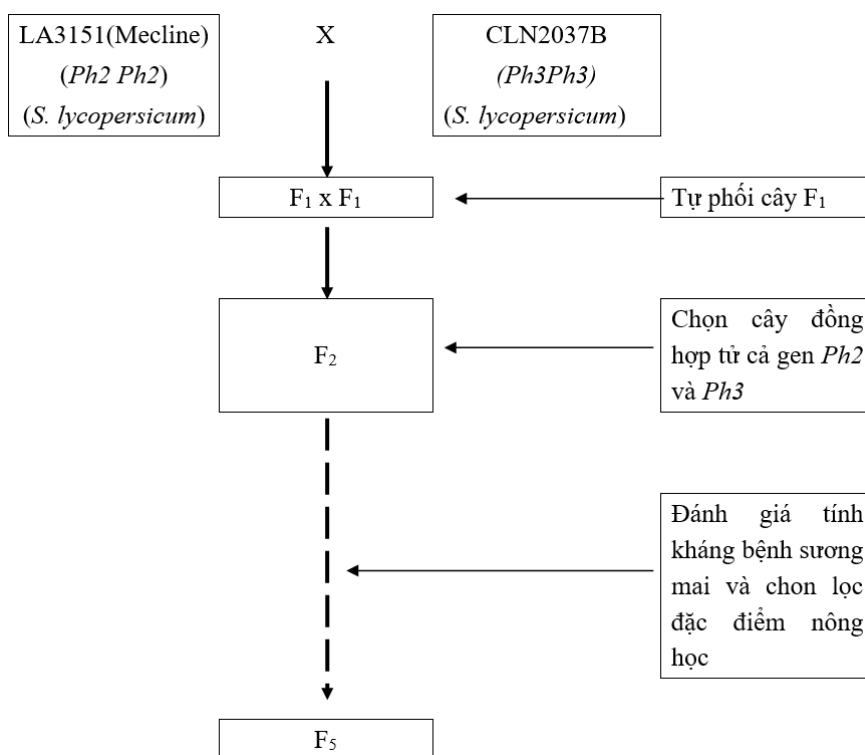
### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các gen kháng bệnh sương mai *Ph1*, *Ph2* và *Ph3* lần lượt có trong các mẫu giống Nova, LA3151, CLN2037B được sử dụng trong nghiên cứu. Giống cà chua PT18 được Viện Nghiên cứu Rau Quả chọn tạo miễn cảm với bệnh sương mai dùng làm đối chứng nhiễm trong các thí nghiệm lây bệnh nhân tạo.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Chọn lọc và lai tạo

Mẫu giống cà chua mang gen *Ph2* (LA3151) và *Ph3* (CLN2037B) được lai với nhau. Dùng chỉ thị phân tử chọn lọc cây đồng hợp tử đồng thời gen *Ph2* và *Ph3* ở quần thể  $F_2$ .



Hình 1. Sơ đồ quy tụ và chọn lọc dòng cà chua mang đồng thời gen *Ph2*, *Ph3* kháng bệnh sương mai

**2.2.2. Chọn lọc bằng chỉ thị phân tử**

Sử dụng Dneasy Plant kit của Quiagen để tách chiết DNA của tất cả các mẫu nghiên cứu từ lá non (cây 3 - 4 lá thật). Chất lượng DNA được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%. Chọn lọc cây đồng thời mang *Ph2* và *Ph3* trong quần thể  $F_2$ . Với gen *Ph2* sử dụng chỉ thị UF-*Ph2*-1 và chỉ thị cho gen *Ph3* là *Ph3*-gsm1 (Bảng 1).

Phản ứng nhân gen (PCR) được thực hiện với 10 µl : 1 µl DNA khuôn (200ng/ µl) + 0,6 µl mỗi xuôi (20 pmol) + 0,6 µl mỗi ngược (20 pmol) + 3,5 µl PCR Master Mix + 4,3 µl H<sub>2</sub>Odd). Sản phẩm PCR được cắt bằng enzym cắt hạn chế sau đó điện di trên gel polyacrylamide 6% với đệm TAE 0,5X.

**Bảng 1.** Chỉ thị phân tử liên kết với gen kháng bệnh sương mai sử dụng trong chọn giống

Chỉ thị	Gen mục tiêu	Enzym cắt hạn chế	Kích thước band (nhiễm - kháng) ~bp)
<i>Ph3</i> -gsm1 (Wang <i>et al.</i> , 2016) 5'-TAGTATGGTCAAACATATGCAG-3' 3'-CTTCAAGTTGCAGAAAGCTATC-5'	<i>Ph3</i>	HincII	S-501+291+258; R-242+291
UF- <i>Ph2</i> -1 (Reza <i>et al.</i> , 2015) 5'-TTGGGGCAGTGTGTATTCGT-3' 3'-TCGACATCTTGAGCTGGTAGG-5'	<i>Ph2</i>	Hinf I	S-480; R-125 +355

**2.2.3. Đánh giá tính kháng bệnh**

Mẫu nấm *P. infestans* được phân lập tại Hà Nội, Lâm Đồng, Lào Cai trên cây cà chua bị bệnh sương mai điển hình. Nấm bệnh được phân lập trên môi trường Rye A và nhân trên môi trường PDA. Cắt lá bệnh (10 × 10 mm) trên đó có 1 vết bệnh, khử trùng bằng dung dịch Sodium hypochlorite 0,5% trong 1 phút. Sau đó đặt vào môi trường Rye A có bổ sung 100ppm ampicillin, 50 ppm nystatin và 10 ppm pentachloronitrobenzene. Đặt trong tủ định ôn 20°C, hàng ngày quan sát dưới kính hiển vi. Khi sợi nấm mọc ra thì cắt chuyển sang đĩa rye A mới. Để duy trì độc tính cao, các mẫu nấm liên tục được lưu trên mẫu lá cà chua tươi ở nhiệt độ 17 - 18°C.

Bệnh sương mai được lây bệnh trên lá tách rời. 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) trong đĩa Petri sau đó dùng micropipet nhỏ vào giữa mỗi lá chét 30 µl dung dịch bào tử (10<sup>4</sup> - 10<sup>5</sup> bọc bào tử/ml) nấm sương mai. Với mỗi cây được lây lặp lại 3 lần. Sau khi lây nhiễm, hộp petry được đậy kín lại, giữ trong tủ định ôn 17°C. Đánh giá bệnh sau 7 ngày lây nhiễm dựa theo chỉ số bệnh: 1 - Lá không xuất hiện vết bệnh, 2 - Xuất hiện các chấm nhỏ trên lá (~1 mm), 3 - Khoảng 25% diện tích lá bị bệnh, 4 - Khoảng 50% diện tích lá bệnh, 5 - 75% diện tích lá bệnh, 6 - Hầu hết diện tích lá bị bệnh. Mặt khác, mức độ bệnh còn được đánh giá dựa vào số bào tử hình thành trên từng vết bệnh (Nelson, 2006; Trần Ngọc Hùng và Đặng Thị Mai, 2010).

**III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Đánh giá tính kháng bệnh sương mai của mẫu giống cà chua mang gen Ph**

Tính kháng bệnh sương mai được xác định do nhiều gen quy định: *Ph1* và *Ph2* (Gallegly 1960), *Ph-3* (Chunwongse *et al.*, 2002), *Ph4*, *Ph5-1* và *Ph5-2* (Merk *et al.* 2012). Ngoài các đơn gen, một số mẫu giống được xác định do các QTL quy định tính kháng bệnh sương mai. Mặc dù vậy, khi đánh giá tính kháng bệnh của từng gen *Ph1*, *Ph2*, và *Ph3* riêng rẽ với các mẫu nấm phân lập tại Pakistan cho thấy tất cả các gen trên không có tác dụng (Akhtar *et al.*, 2016). Điều đó chứng tỏ độc tính của các mẫu nấm sương mai rất khác nhau nên biểu hiện của các gen kháng bệnh hoàn toàn thay đổi.

Trong nghiên cứu này, tính kháng bệnh của các gen *Ph1*, *Ph2* và *Ph3* được đánh giá qua lây bệnh nhân tạo lá tách rời. Phương pháp này đã đánh giá đồng thời các nguồn gen *Ph* với các mẫu bệnh thu thập tại các vùng khác nhau: Lâm Đồng, Hà Nội, Lào Cai. Mẫu giống Nova mang gen *Ph1* hoàn toàn không thể hiện tính kháng bệnh. Số bào tử hình thành trên vết bệnh và chỉ số bệnh của giống Nova tương tự giống cà chua PT18 không mang gen kháng bệnh. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Kim và Mutschler (2006) cho rằng gen *Ph1* có trong mẫu giống 'New Yorker' không thể hiện tính kháng với 5 mẫu nấm sương mai. Trong khi đó gen *Ph2* trong mẫu giống 'West Virginia 63' thể hiện chống chịu bệnh với 2 mẫu nấm (US-11 và US-17).

Mặc dù dòng cà chua CLN2037B mang gen *Ph3* biểu hiện tính kháng khác nhau tùy thuộc vào mẫu

nấm sương mai (Kim and Mutschler, 2006). Tuy nhiên, kết quả này cho thấy: Gen *Ph3* thể hiện tính kháng ổn định với tất cả các mẫu nấm. Gen *Ph2* có trong mẫu giống LA3151 không thể hiện kháng bệnh cao như gen *Ph3* nhưng đã hạn chế số bào tử

nấm hình thành và thu hẹp đáng kể diện tích lá bị bệnh. Điều đó chứng tỏ cả 2 gen này đều có tác dụng chống chịu bệnh sương mai và chúng cần được quy tụ trong quá trình chọn tạo giống.

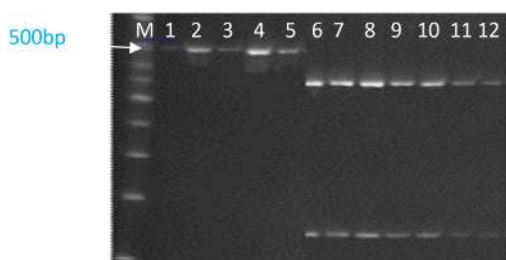
**Bảng 2.** Biểu hiện tính kháng bệnh sương mai của các gen *Ph* với mẫu nấm sương mai (*P. infestans*)

Mẫu giống	Nguồn gốc	Gen kháng	Hà Nội		Lào Cai		Lâm Đồng	
			CSB <sup>(1)</sup>	Bào tử <sup>(2)</sup>	CSB	Bào tử	CSB	Bào tử
Nova	AVRDC	<i>Ph1</i>	5,0a	17,3a	5,2a	16,8a	5,3a	18,2a
LA3151	TGRC (USA)	<i>Ph2</i>	3,6b	9,5b	3,2b	5,1b	4,3b	9,4b
CLN2037B	AVRDC	<i>Ph3</i>	2,2c	0,7c	2,5c	1,0c	2,7c	1,2c
PT18	FAVRI	None	5,2a	18,3a	5,5a	19,7a	5,6a	21,3a

Ghi chú:<sup>(1)</sup> CSB- chỉ số bệnh; <sup>(2)</sup>Số bào tử tạo ra trên vết bệnh X 10<sup>4</sup>; Các chữ giống nhau theo sau các số ở từng cột nghĩa là không sai khác có ý nghĩa ở mức P < 0,05.

**3.2. Đặc điểm kháng bệnh sương mai của dòng cà chua quy tụ gen *Ph2* và *Ph3***

Thông qua lai tạo (LA3151 × CLN2037B) và chọn lọc đã quy tụ được gen *Ph2* và *Ph3* vào các dòng cà chua F<sub>5</sub>. Trên ảnh điện di cho thấy tất cả các dòng F<sub>5</sub> đều đồng hợp tử cả 2 gen (Hình 2, 3). Chỉ số bệnh và số bào tử tạo ra trên vết bệnh thể hiện tính kháng bệnh sương mai với các mẫu nấm thu thập tại Hà Nội và Lâm Đồng của các dòng cà chua mới.

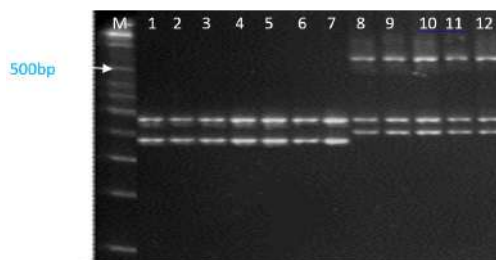


**Hình 2.** Ảnh điện di xác định dòng cà chua F<sub>5</sub> đồng hợp tử gen *Ph2* bằng chỉ thị UF-*Ph2*-1/Hinf I (S-480, R-125+355bp)

Từ trái qua phải: M-ladder marker, 1-5- dòng nhiễm; 6- LA3151; 7-12: dòng F<sub>5</sub> đồng hợp tử gen *Ph2*.

Tính kháng bệnh sương mai bền vững của các giống cà chua phụ thuộc vào mẫu nấm ở từng vùng trồng. Giống cà chua chỉ với gen *Ph3* nhưng thể hiện tính kháng tốt ở Tanzania (Ojiewo *et al.*, 2010) và một số nước Đông Phi khi mẫu nấm sương mai thuộc nhóm US-1 (Pule *et al.*, 2013). Ở Việt Nam, mặc dù chưa có báo cáo nghiên cứu phân nhóm mẫu nấm sương mai nhưng tất cả các dòng cà chua F<sub>5</sub> được tạo ra có chỉ số bệnh thấp hơn rõ rệt mẫu giống chỉ mang 1 gen kháng khi lây với mẫu nấm thu thập tại Lâm Đồng. Số bào tử hình thành trên vết bệnh của một số dòng F<sub>5</sub> thấp hơn hẳn dòng bố mẹ (Hình 4,

Bảng 3). Điều đó chứng quy tụ đồng thời cả gen *Ph2* và *Ph3* đã cải thiện rõ tính kháng bệnh. Kết quả này phù hợp với Chen và cộng tác viên (2008) cho rằng gen *Ph2* và *Ph3* đều là kháng chuyên tính và sẽ bổ sung cho nhau để nâng cao tính kháng bệnh sương mai so với từng gen riêng rẽ.



**Hình 3.** Ảnh điện di xác định dòng cà chua F<sub>5</sub> đồng hợp tử gen *Ph3* bằng chỉ thị *Ph3*-gsm1/HincII (S-501+291+258, R-242+291)

Từ trái qua phải: M-ladder marker, 1-5- dòng nhiễm; 6-7- dòng F<sub>5</sub> đồng hợp tử gen *Ph3*, 8-12- dòng nhiễm.

**Bảng 3.** Tính kháng bệnh sương mai của dòng cà chua quy tụ gen *Ph2* và *Ph3*

Mẫu giống/ dòng	Gen kháng	Hà Nội		Lâm Đồng	
		CSB	Bào tử	CSB	Bào tử
LA3151	<i>Ph2</i>	3,7b	8,2b	4,5a	9,4b
CLN2037B	<i>Ph3</i>	2,3c	0,5c	2,6b	1,0c
20-TC-64	<i>Ph2+Ph3</i>	1,9c	0,0d	2,1c	0,5d
20-TC-65	<i>Ph2+Ph3</i>	1,8c	0,0d	2,2c	0,7cd
20-TC-66	<i>Ph2+Ph3</i>	2,1c	0,5c	2,0c	0,5d
20-TC-67	<i>Ph2+Ph3</i>	1,7c	0,5c	2,1c	0,5d
20-TC-68	<i>Ph2+Ph3</i>	1,8c	0,0d	2,2c	1,0c
20-TC-69	<i>Ph2+Ph3</i>	2,1c	0,0d	2,2c	0,5d
PT18	None	5,3a	27,4a	5,6a	30,2a





Mẫu giống mang gen *Ph2*



Mẫu giống mang gen *Ph3*



Dòng cà chua mang gen *Ph2+Ph3*



Mẫu giống nhiễm bệnh sương mai

Hình 4. Biểu hiện tính kháng bệnh sương mai của gen *Ph2 + Ph3*

### 3.3. Đặc điểm nông sinh học các dòng cà chua $F_5$ mang gen *Ph2* và *Ph3*

Dạng hình sinh trưởng cà chua là tính trạng di truyền, theo đó sinh trưởng vô hạn là tính trạng trội, sinh trưởng hữu hạn là tính trạng lặn. Sử dụng mẫu dòng giống bố mẹ đối lập về dạng hình sinh trưởng trong lai tạo đã cho ra thế hệ sau phân ly ở tính trạng này. Bên cạnh kiểu hình sinh trưởng giống dòng bố mẹ, đã xuất hiện dòng cà chua  $F_5$  sinh trưởng bán hữu hạn (20TC-66, 20TC-68, 20TC-69). Khối lượng quả của dòng 20-TC-64, 20-TC-68 thuộc nhóm trung bình (80 - 90 g), các dòng khác cho quả nhỏ hơn. Khối lượng quả của tất cả các dòng đều nằm trong giới hạn khối lượng quả của dòng bố mẹ, không xuất hiện “vượt trội” ở tính trạng này. Tương tự, tổng hàm lượng chất rắn hòa tan (Brix) cũng thể hiện đặc điểm di truyền trung gian của dòng bố mẹ. Do thay đổi về dạng hình sinh trưởng, khối lượng quả nên năng suất các dòng  $F_5$  cũng đa dạng. Dòng 20-TC-64 đạt năng suất tương đương dòng bố mẹ ưu tú (Bảng 4).

Bảng 4. Đặc điểm nông sinh học các dòng cà chua  $F_5$  kháng bệnh sương mai

Mẫu giống/ dòng	Dạng hình sinh trưởng	Khối lượng quả (g)	Brix	Năng suất (kg/cây)
LA3151	Vô hạn	50,2±3,6	3,9	1,2±0,20
CLN2037B	Hữu hạn	85,2±2,6	4,7	1,8±0,15
20-TC-64	Vô hạn	79,4±2,8	4,2	1,9±0,22
20-TC-65	Vô Hạn	68,2±3,9	4,5	1,5±0,17
20-TC-66	Bán hữu hạn	56,1±1,9	4,3	1,4±0,21
20-TC-67	Hữu hạn	63,8±3,2	4,6	1,3±0,11
20-TC-68	Bán hữu hạn	83,7±2,6	4,4	1,7±0,12
20-TC-69	Bán hữu hạn	57,9±2,2	4,1	1,2±0,17

### IV. KẾT LUẬN

Với các mẫu nấm sương mai thu thập tại Lâm Đồng, Hà Nội và Lào Cai cho thấy: Gen *Ph1* không có tác dụng trong chọn tạo giống cà chua kháng bệnh. Mặc dù kém hiệu quả hơn gen *Ph3*, nhưng gen *Ph2* đã nâng cao tính kháng bệnh sương mai,

và đặc biệt có ý nghĩa khi quy tụ đồng thời cả 2 gen này trong tạo giống cà chua. Thông qua chỉ thị phân tử UF-Ph2-1/Hinf I cho chọn lọc gen *Ph2* và chỉ thị *Ph3-gsm1/HincII* để chọn lọc gen *Ph3* đã tạo ra các dòng cà chua mang đồng thời cả 2 gen *Ph2* và *Ph3* có đặc điểm nông sinh học tốt và kháng bệnh sương mai cao. Các dòng cà chua kháng bệnh mới sẽ tiếp tục được sử dụng trong chương trình tạo giống.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Ngọc Hùng**, 2013. Di truyền tính kháng bệnh sương mai (*Phytophthora infestans*) và chọn tạo giống cà chua (*Solanum lycopersicon*) chống chịu bệnh bằng chỉ thị phân tử. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, (19): 29-36.
- Trần Ngọc Hùng, Đặng Thị Mai**, 2010. Ảnh hưởng của độ thành thực lá, tuổi cây và thời gian trong buồng sinh trưởng đến lây nhiễm nhân tạo bệnh sương mai (*Phytophthora infestans*) phục vụ chọn tạo giống cà chua chống chịu bệnh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 5 (18).
- Trần Ngọc Hùng, Đặng Thị Mai, Phạm Thị Xuân**, 2020. Ứng dụng chỉ thị phân tử trong lai tạo giống cà chua (*Solanum lycopersicon*) chống chịu bệnh sương mai (*Phytophthora infestans*) và một số bệnh hại khác. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 9(118)/2020, 65-70.
- Akhtar KP, Saleem MY, Iqbal Q, Asghar M, Hameed A, Sarwar N**, 2016. Evaluation of tomato genotype for late blight resistance using low tunnel assay. *Journal of plant pathology* (2016), 98 (3), 421-428.
- Chen CH, Sheu ZM, Wang TC**, 2008. Host specificity and tomato-related race composition of *Phytophthora infestans* isolates in Taiwan during 2004 and 2005. *Plant Dis.* 92: 751-755.
- Chunwongse, J., Chunwongse, C., Black, L. L., and Hanson, P**, 2002. Molecular mapping of the Ph-3 gen for late blight resistance in tomato. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 77: 281-286.
- De Miranda BEC, Suassuna ND, Reis A**, 2010. Mating type, mefenoxam sensitivity, and pathotype diversity in *Phytophthora infestans* isolates from tomato in Brazil. *Pesq. Agropec. Bras. Bras.* 45: 671-679.
- Elsayed AY, Silva DJHD, Carneiro PCS, Mizubuti ESG**, 2012. The inheritance of late blight resistance derived from *Solanum habrochaites*. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 12(3): 199-205.
- FAO**, 2017. *FAOSTAT statistics*. Food and agriculture organization of United Nations.
- Foolad MR, Merk H, Ashrafi H**, 2008. Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. *Cri. Rev. Plant Sci.* 27: 75-107.
- Gallegly, M.E**, 1960. Resistance to the late blight fungus in tomato. Proceedings of the Campbell Soup Co., USA: 113-135.
- Haq I, Rashid A, Khan SA**, 2008. Relative efficacy of various fungicides, chemicals and biochemicals against late blight of potato. *Pak. J. Phytopathol.* 21(1): 129-133.
- Irzhansky I, Cohen Y**, 2006. Inheritance of resistance against *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pimpinellifolium* L3707. *Euphytica* 149: 309-316.
- Kim MJ, Mutschler MA**, 2006. Characterization of Late Blight Resistance Derived from *Solanum pimpinellifolium* L3708 against Multiple Isolates of the Pathogen *Phytophthora infestans*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 131: 637-645.
- Lievens B, Hanssen IRM, Vanachter ACRC, Cammue BPA, Thomma BPHJ**, 2004. Root and foot rot on tomato caused by *Phytophthora infestans* detected in Belgium. *Plant Dis.* 88: 86.
- Lima MA, Maffia LA, Barreto RW, Mizubuti ESG**, 2009. *Phytophthora infestans* in a subtropical region: survival on tomato debris, temporal dynamics of airborne sporangia and alternative hosts. *Plant Pathol.* 58: 87-99.
- McDonald BA, Linde C**, 2002. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica*, 124: 163-180.
- Merk HL, Ashrafi H, Foolad MR**, 2012. Selective genotyping to identify late blight resistance genes in an accession of the tomato wild species *Solanum pimpinellifolium*. *Euphytica* 187: 63-75. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0729-6>.
- Montes MS, Nielsen B, Schmidt S, Bødker L, Kjøller R, Rosendahl S**, 2016. Population genetics of *Phytophthora infestans* in Denmark reveals dominantly clonal populations and specific alleles linked to metalaxyl-M resistance. *Plant Pathol.* 65: 744-753.
- Nelson H.E.**, 2006. Bioassay to detect small differences in resistance of tomato to late blight according to leaf age, leaf and leaflet position, and plant age. *Australasian Plant Pathology.* 35. 297- 301.
- Nowicki M, Kozik EU, Foolad MR**, 2013. Late blight of tomato. pp. 241-265. In: R. K. Varshney and R. Tuberosa (ed.). *Translational genomics for crop breeding*. John Wiley & Sons Ltd.
- Ojiewo, C.O., Swai, I.S., Olouch, M.O., Silué, D., Nono-Womdim, R., Hanson, P., Black, L., Wang, T.-C.**, 2010. Development and release of late blight-resistant tomato varieties 'Meru' and 'Kiboko'. *Int. J. Veg. Sci.* 16, 134-147.
- Panthee DR, Gardner RG**, 2010. 'Mountain Merit': A late blight resistant large-fruited tomato hybrid. *Hort. Sci.* 45: 1547-1548.

- Panthee DR, Gardner RG**, 2011. 'Mountain Merit': a late tomato hybrid. *Hort Science*, 45: 1547-1548.
- Pule, B.B., Meitz, J.C., Thompson, A.H., Linde, C.C., Fry, W.E., Langenhoven, S.D., Meyers, K.L., Kandolo, D.S., van Rij, N.C., McLeod, A.**, 2013. *Phytophthora infestans* populations in central, eastern and southern African countries consist of two major clonal lineages. *Plant Pathol.* 62, 154-165.
- Randall E, Young V, Sierotzki H, Scalliet G, Birch PR, Cooke DE, Csukai M, Whisson SC**, 2014. Sequence diversity in the large subunit of RNA polymerase I contributes to mefenoxam insensitivity in *Phytophthora infestans*. *Mol. Plant. Pathol.* 15: 664-676.
- Reza Shekasteband, Samuel F. Hutton, and Jay W. Scott**, 2015. Designing new DNA markers and determining the effective size of Ph-2 and Ph-3 introgressions for late blight resistance stacking purposes in tomato. *TGC REPORT VOLUME* 65, 2015.
- Saville A, Graham K, Grünwald NJ, Myers K, Fry WE, Ristaino JB**, 2015. Fungicide sensitivity of US genotypes of *Phytophthora infestans* to six oomycete-targeted compounds. *Plant Dis.* 99: 659-666.
- Stroud JA, Shaw DS, Hale MD, Steele KA**, 2016. SSR assessment of *Phytophthora infestans* populations on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization. *Plant Pathol.* 65: 334-341.

## Pyramiding *Ph2* and *Ph3* genes for breeding tomato tolerant to late blight

Tran Ngoc Hung, Vu Thị Thu Hien

### Abstract

Late blight caused by the fungal pathogen *Phytophthora infestans* is one of the most destructive diseases on tomato in the Winter Spring in the Red River Delta and the rainy season in the highland regions. Artificial inoculations with isolates collected in Lam Dong, Hanoi and Lao Cai provinces showed that *Ph1*-gene in Nova accession was no longer effective against the present pathogen strains. Although *Ph2* gene in LA3151 accession was not well resistant as *Ph3* gene in CLN2037B line, but the disease index and sporangia in lesions were clearly reduced. Based on crossing and molecular marker selection by using UF-*Ph2*-1 and *Ph3*-gsm1 markers linked to the *Ph2* and *Ph3* respectively, both genes were pyramided in F<sub>5</sub> lines with good horticultural traits. The disease resistance of F<sub>5</sub> tomato lines carrying both *Ph2* and *Ph3* genes was higher than that of parents which carrying only 1 gene, and these lines are good materials for tomato breeding.

**Keywords:** Tomato (*Solanum lycopersicum*), late blight, fungus *Phytophthora infestans*, molecular marker, gene pyramiding

Ngày nhận bài: 02/11/2020

Ngày phản biện: 20/11/2020

Người phản biện: TS. Lê Đức Thảo

Ngày duyệt đăng: 25/11/2020

## ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, CHẤT LƯỢNG QUẢ VÀ THỊ TRƯỜNG TIÊU THỤ CAM SÀNH HÀ GIANG

Phạm Minh Giang<sup>1</sup>, Hà Đình Uy<sup>1</sup>, Hoàng Trọng Quý<sup>2</sup>,  
Lê Thị Mỹ Hào<sup>2</sup>, Phạm Ngọc Sơn<sup>2</sup>, Phạm Đức Thụ<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định đặc điểm hình thái, chất lượng cam sành Hà Giang và bước đầu phân tích các kênh hàng tiêu thụ sản phẩm cam sành Hà Giang. Để xác định đặc trưng và khác biệt so với các loại cam nổi tiếng tại một số vùng lân cận, đã tiến hành thu thập 50 mẫu cam Hà Giang, 24 mẫu cam tại Tuyên Quang và 21 mẫu tại Yên Bái. Năm chỉ tiêu về chất lượng quả được phân tích theo TCVN. Chỉ số đo đếm và phân tích cho thấy quả chín từ tháng 10 đến tháng 11. Khi chín vỏ quả có màu vàng chanh hoặc vàng mã mật, quả tròn hơi dẹt, vỏ dày, sần. Hàm lượng nước lớn trong dịch quả, độ brix, hàm lượng đường tổng số và vitamin C ở mức trung bình, hàm lượng axit hữu cơ tổng số tương đối cao. Kết quả khảo sát cho thấy, khoảng 91,67% hộ khảo sát bán trực tiếp sản phẩm cho các đầu mối thu gom. Trong khi chỉ 8,33% số hộ khảo sát bán lẻ sản phẩm tại thị trường địa phương.

**Từ khóa:** Cam sành Hà Giang, đặc điểm hình thái, chất lượng, thị trường tiêu thụ

<sup>1</sup>Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hà Giang; <sup>2</sup> Viện Thổ nhưỡng Nông hóa