

có thể được sử dụng để phát hiện trình tự đặc trưng cho từng giống có alen hiếm này.

Quan hệ di truyền giữa các giống vải được phân tích UPGMA cho thấy các giống vải trong nghiên cứu được chia thành 2 nhóm lớn với tương đồng di truyền giữa từng cặp giống biến động từ 0,1113 đến 0,5007. Gần như không có phân biệt theo nhóm địa lý theo cây phân loại này. Tuy nhiên, những nguồn gen có cùng xuất xứ có quan hệ di truyền được phân bố rất gần nhau. Dựa vào hệ số tương đồng di truyền và cây phân loại, 14 giống vải địa phương nghiên cứu là hoàn toàn khác biệt về mặt di truyền.

4.2. Đề nghị

Các dữ liệu tiêu bản ADN này có thể được sử dụng trong nhận dạng nguồn gen và các chương trình chọn tạo giống vải trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hà Minh Tâm, 2002. *Góp phần nghiên cứu phân loại Bồ hòn (Sapindaceae Juss) ở Việt Nam*, Luận văn Thạc sĩ

Sinh học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội, tr.41-42.

Nguyễn Văn Thiết, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Hoàng Tĩnh, Lê Thị Lan Oanh, 2003. Cây vải cổ thụ ở huyện Kim Bôi, tỉnh Hòa Bình là một nguồn gen quý vẫn được nghiên cứu và bảo tồn, Báo cáo khoa học Hội nghị sinh học toàn quốc lần thứ 2. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội, tr.1108-1113.

Đinh Thị Xuyên, 2004. *Nghiên cứu tính đa hình ADN của các dòng vải thiếu Thanh Hà bằng kỹ thuật sinh học phân tử*.

Li M.F., Zheng X.Q., 2004. Development of SSR markers in lychee (*Litchi chinensis*), *Yichuan*, 26, pp. 2911-2916 (in Chinese).

Madhoum., NormandF., BahorunT., HormazaJ.L., 2013. Fingerprinting and analysis of genetic diversity of litchi (*Litchi chinensis*Sonn.) accessions from different germplasm collections using microsatellite markers, *Tree Genetics & Genomes*, 9, pp. 387-396.

Molecular characterization of some local litchi varieties by using ScoT markers

Nguyen Thi Ngoc Lan, Nguyen Thi Lan Hoa, Nguyen Thi Thanh Thuy

Abstract

DNA fingerprinting of 14 litchi local varieties was investigated by 46 ScoT markers. Twenty two out of 46 ScoT markers amplified 178 alleles with PIC value ranged from 0.2149 to 0.375, gene diversity ranging from 0.1327 to 0.5. UPGM analysis grouped varieties into 2 main clusters. 9 ScoT markers were identified to amplify 12 unique alleles for recognizing of 8 distinct varieties. The results are useful and handy for management of litchi germplasm, identification and breeding programs.

Key words: Litchi, DNA fingerprinting, SSR marker, ScoT marker

Ngày nhận bài: 10/4/2017

Ngày phản biện: 20/4/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sừu

Ngày duyệt đăng: 24/4/2017

PHÁT TRIỂN QUẦN THỂ KHOAI TÂY (*Solanum tuberosum*) KHÁNG BỆNH MỐC SƯƠNG Ở VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG PHÂN TỬ

Đinh Xuân Tú¹, Chu Đức Hà¹,
Trịnh Văn Mỹ², Lê Hùng Linh¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này đã sử dụng tập đoàn bao gồm 9 giống nhập nội từ Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây Quốc tế và 3 giống trồng phổ biến tại địa phương. Đánh giá mức độ nhiễm kháng trên đồng ruộng và khảo sát đa hình di truyền đã xác định được 4 giống có khả năng kháng cao với chủng sinh lý gây bệnh ở phía Bắc và có mức độ đa hình cao với giống chuẩn nhiễm KT3. Kết quả lai tạo đã thu được 96 dòng con lai từ 4 tổ hợp lai: KT3×106, KT3×116, KT3×113 và KT3×129. Khảo sát đồng ruộng và đánh giá khả năng kháng bệnh mốc sương các dòng con lai này chúng tôi đã chọn được 23 dòng kháng bệnh tốt, có tiềm năng năng suất cao (khối lượng củ/khóm đạt trên 550g).

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

² Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Cây có củ - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm

Sử dụng chỉ thị phân tử đặc trưng cho gen *Rb* và *R1* kháng bệnh mốc sương chúng tôi xác định được 11 dòng mang gen *Rb*, 12 dòng mang gen *R1*, và 7 dòng mang cả hai gen *Rb* và *R1* từ 23 dòng con lai triển vọng.

Từ khoá: Chỉ thị phân tử, chọn giống, khoai tây, mốc sương, R-gen, SSR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh mốc sương do mốc nước (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) là bệnh hại nguy hiểm nhất trong sản xuất khoai tây (*Solanum tuberosum*), gây ảnh hưởng đáng kể đến năng suất cây trồng trên toàn thế giới. Cho đến nay, sự tiến hóa và phát triển của một vài chủng nấm *P. infestans* mới đã trực tiếp làm tăng cường mức độ nghiêm trọng và khả năng lan rộng của bệnh mốc sương nói chung (Tiwari *et al.*, 2013). Điều này đặt ra thách thức không nhỏ cho nhà chọn giống trong việc lai tạo các dòng/giống mới mang đa gen kháng. Trên thực tế, phương pháp chọn giống truyền thống dựa trên phép lai trở lại và đánh giá kiểu hình trên đồng ruộng thường mất rất nhiều thời gian, khoảng 10 - 15 năm, do sự phức tạp trong bộ nhiễm sắc thể tứ bội của khoai tây. Vì thế, công tác tìm kiếm, khai thác nguồn gen kháng bệnh từ các tập đoàn giống và nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn lọc cá thể (Marker-assisted selection, MAS) được xem là công cụ hữu hiệu hỗ trợ cho các nhà chọn giống khoai tây.

Cho đến nay, nguồn gen kháng bệnh mốc sương (*R*-gen) đã được phân lập trên rất nhiều đối tượng trong loài *Solanum*. Từ đó, sử dụng một số công cụ sinh học phân tử như lập bản đồ di truyền, nhân dòng gen kết hợp với MAS đã giúp các nhà khoa học đạt được những thành công trong việc xác định vùng QTL/gen kháng bệnh và tích hợp vào một số giống. Một số nghiên cứu về di truyền tính kháng của *R*-gene ở khoai tây đã được tóm tắt trong công bố của Tiwari và cộng sự (Tiwari *et al.*, 2013). Gần đây, một vài nỗ lực của các nhà khoa học trong việc thiết lập bản đồ di truyền tính kháng của *R*-gen đã được ghi nhận, có thể kể đến như bản đồ liên kết của 10 365 chỉ thị phân tử AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphisms) (van Os *et al.* 2006) và ứng dụng của chỉ thị SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) trong việc xác định gen kháng *P. infestans* (Syverson and Bradeen, 2011). Có thể thấy rằng, ứng dụng chỉ thị phân tử cho phép chọn lọc cá thể mang gen, đánh giá chính xác kiểu hình trong khi kỹ thuật đòi hỏi khá đơn giản, tiết kiệm chi phí, rút ngắn thời gian lai tạo giống.

Trong nghiên cứu này, tập đoàn giống nhập nội được khai thác để đánh giá mức độ kháng/nhiễm bệnh mốc sương ngoài đồng ruộng. Sau đó, các giống cho và nhận gen tiếp tục được khảo sát đa hình

di truyền bằng các chỉ thị phân tử SSR để đưa ra một số tổ hợp lai có đa hình di truyền có ý nghĩa giữa bố và mẹ. Cuối cùng, các cá thể con lai mang gen kháng được sàng lọc bằng các chỉ thị liên kết chặt đặc trưng cho vị trí *R*-gen. Đây là những kết quả bước đầu rất quan trọng trong việc lai tạo ra các giống khoai tây mang gen kháng bệnh mốc sương ở Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn vật liệu nghiên cứu gồm 12 giống khoai tây, trong đó có 9 giống nhập nội do Trung tâm Nghiên cứu Khoai tây quốc tế (CIP, Center of International Potato) cung cấp (Kumar *et al.*, 2010; Getachew and Tesfaye, 2016) và 3 giống - KT3, PO3 và Solara được trồng phổ biến trong nước (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Phương pháp trong phòng thí nghiệm:* Phân tích đa hình giữa các giống với các cặp mồi SSR, bao gồm các bước tách chiết DNA tổng số bằng CTAB có cải tiến (Allen *et al.*, 2006), điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5 % và phát hiện dưới tia cực tím bằng phương pháp nhuộm ethidium bromide.

- *Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng:* Đánh giá tính chống chịu bệnh mốc sương khoai tây ở giai đoạn cây được 45, 60 và 75 ngày sau trồng theo thang điểm từ 1 đến 9 (Dorrance and Inglis, 1997). Trong đó: Điểm 1: Không xuất hiện vết bệnh; Điểm 3: Nhiễm nhẹ (diện tích vết bệnh < 20% diện tích lá); Điểm 5: Nhiễm trung bình (diện tích vết bệnh bằng 20 - 50% diện tích lá); Điểm 7: Nhiễm nặng (diện tích vết bệnh bằng 51 - 75% diện tích lá); Điểm 9: Nhiễm rất nặng (diện tích vết bệnh >75% diện tích lá).

Tỷ lệ nhiễm bệnh mốc sương được tính theo tỷ lệ phần trăm (%) số cây nhiễm bệnh trên đồng ruộng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá mức độ nhiễm bệnh mốc sương của tập đoàn giống khoai tây tại Thanh Trì - Hà Nội và Sapa - Lào Cai (2013 - 2014) tạo vật liệu khởi đầu

Trong chọn tạo giống cây trồng kháng bệnh, bước đánh giá đồng ruộng vật liệu khởi đầu được xem là hết sức quan trọng nhằm khảo sát khả năng nhiễm/kháng bệnh của nguồn vật liệu tại các khu vực địa lý,

sinh thái khác nhau. Giai đoạn này đòi hỏi các nhà chọn giống sàng lọc các dòng/giống mang những đặc tính nông sinh học tốt, có khả năng chống chịu với các chủng gây bệnh ở địa phương, từ đó tuyển chọn làm nguồn vật liệu cho các bước tiếp theo. Từ những

Cơ sở này, nhóm nghiên cứu đã tiến hành đánh giá mức độ nhiễm bệnh mốc sương của tập đoàn giống tại 2 địa điểm thuộc khu vực Thanh Trì (Hà Nội) và huyện Sapa (Lào Cai). Kết quả thu thập trong 2 năm (2013 - 2014) được tóm tắt ở bảng 2.

Bảng 1. Tập đoàn 13 giống khoai tây phục vụ nghiên cứu

| Mẫu giống | Mã ký hiệu | Thông tin | Nguồn cung cấp |
|-----------|----------------|--|-----------------|
| 47 | CIP 395017.229 | Mang gen kháng mốc sương | CIP |
| 106 | CIP 398180.612 | Chưa rõ | CIP |
| 113 | CIP 398190.571 | (CIP 393077.54 × CIP392639.2) Mang gen kháng mốc sương và chịu hạn | CIP |
| 115 | CIP 398190.615 | Chưa rõ | CIP |
| 116 | CIP 398190.735 | (CIP 393077.54 × CIP 392639.2) Mang gen kháng mốc sương và chịu nóng | CIP |
| 119 | CIP 398192.231 | Chưa rõ | CIP |
| 124 | CIP 398193.158 | Chưa rõ | CIP |
| 129 | CIP 398193.673 | Chưa rõ | CIP |
| 140 | CIP 398208.620 | (CIP 393371.58 × CIP 392633.64) Mang gen kháng mốc sương và chịu nóng | CIP |
| Solara | Chưa rõ | Ít nhiễm mốc sương | Nhập nội từ Đức |
| KT3 | 105.32 | (Serrana × I.1035) | FCRI |
| PO3 | Chưa rõ | Trồng nhiều tại Đà Lạt | Chưa rõ |

Bảng 2. Kết quả đánh giá mức độ nhiễm bệnh mốc sương của tập đoàn giống khoai tây

| Tên giống | Thông tin | Mức độ nhiễm bệnh mốc sương sau 75 ngày trồng (%) | | Trung bình (%) |
|-----------|---------------------------------------|---|------|----------------|
| | | Thanh Trì | Sapa | |
| 47 | Mang gen kháng mốc sương | 15,0 | 5,0 | 10,0 |
| 106 | Chưa rõ | 7,0 | 5,0 | 6,0 |
| 113 | Mang gen kháng mốc sương và chịu hạn | 5,0 | 10,0 | 7,5 |
| 115 | Chưa rõ | 10,0 | 20,0 | 15,0 |
| 116 | Mang gen kháng mốc sương và chịu nóng | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| 119 | Chưa rõ | 15,0 | 10,0 | 12,5 |
| 124 | Chưa rõ | 15,0 | 10,0 | 12,5 |
| 129 | Chưa rõ | 5,0 | 8,0 | 6,5 |
| 140 | Mang gen kháng mốc sương và chịu nóng | 15,0 | 10,0 | 12,5 |
| Solara | Ít nhiễm mốc sương | 25,0 | 20,0 | 22,5 |
| KT3 | Chưa rõ | 25,0 | 23,0 | 24,0 |
| PO3 | Chưa rõ | 25,0 | 20,0 | 22,5 |

Quan sát tình hình phát triển bệnh mốc sương khoai tây vụ Đông 2013- 2014 tại Thanh Trì - Hà Nội cho thấy, bệnh không xuất hiện trên đồng ruộng ở giai đoạn 30 - 45 ngày sau trồng. Biểu hiện bệnh mốc sương bắt đầu biểu hiện ở giai đoạn 49 ngày sau trồng, mép lá và thân có những đốm nhỏ màu xanh

nhạt, hơi ướt. Ở giai đoạn 60 ngày tuổi, các giống bị nhiễm rất nhẹ, diện tích vết bệnh dao động từ 3 - 7 % diện tích lá, có xu hướng chuyển sang màu nâu. Đến cuối giai đoạn sinh trưởng 75 ngày sau trồng, tỷ lệ lá bị nhiễm bệnh tăng lên 25 % ở 3 giống phổ biến ở địa phương, bao gồm Solara, PO3 và KT3.

Các giống mới nhập nội hầu hết đều có khả năng chống chịu bệnh mốc sương tốt hơn. Trong đó, 4 giống - 106 (CIP 398180.612), 113 (mang gen kháng mốc sương và chịu hạn), 116 (mang gen kháng mốc sương và chịu nóng) và 129 (CIP 398193.673) kháng bệnh mốc sương rất tốt, chỉ nhiễm khoảng 5 - 10% (Bảng 2).

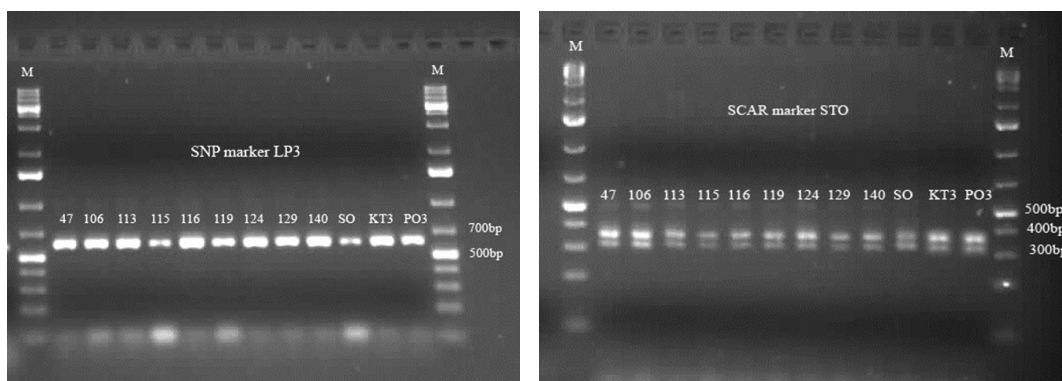
Tại khu vực huyện Sapa - Lào Cai, diễn biến bệnh mốc sương trên khoai tây được ghi nhận sớm hơn so với tại Thanh Trì - Hà Nội. Điều này được giải thích do huyện Sapa nằm ở độ cao trên 1500 mét so với mức nước biển, điều kiện khí hậu kiểu á ôn đới và cận nhiệt đới, nhiệt độ trung bình trong năm là 15 °C, độ ẩm không khí cao nên tạo điều kiện thuận lợi cho nấm bệnh phát triển. Bệnh mốc sương xuất hiện ở giai đoạn 42 ngày sau trồng đối với các giống 115, Solara, KT3 và PO3. Đến giai đoạn 60 ngày sau trồng, bệnh mốc sương xuất hiện ở tất cả 12 giống với tỷ lệ nhiễm bệnh dao động từ 5 - 10 %. Đánh giá mức độ nhiễm bệnh mốc sương của 12 giống này cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh tăng ở hầu hết các giống nghiên cứu. Giống nhiễm bệnh mốc sương nặng nhất là giống KT3 (nhiễm 23 %), 115, Solara và PO3 (đều nhiễm 20 %). Trong khi đó, giống 47, 106, 116 và 129 thể hiện tính kháng cao với các chủng sinh lý gây bệnh mốc sương ở Sa Pa - Lào Cai (Bảng 2).

Tóm lại, kết quả đánh giá cho thấy mức độ nhiễm/kháng của giống ở tại các vùng sinh thái khác nhau là khá tương đương nhau, ngoại trừ với

2 giống 47 và 115. Điều này đặt ra câu hỏi, liệu rằng các chủng gây bệnh ở Sapa và Thanh Trì có tương tự nhau không và tại sao mẫu giống 47 nhập nội từ CIP (CIP 395017.229) mang gen kháng mốc sương nhưng vẫn nhiễm mốc sương khá nặng (đạt 15 %) tại khu vực Thanh Trì - Hà Nội? Như vậy, các giống kháng bệnh tốt, bao gồm 106, 113, 116 và 129 có thể được sử dụng làm nguồn vật liệu quan trọng trong việc lai tạo nhằm tăng cường khả năng kháng bệnh mốc sương của giống sản xuất đại trà KT3.

3.2. Kết quả đánh giá mức độ đa hình giữa các giống để xác định cặp bố mẹ bằng chỉ thị phân tử

Đa hình giữa hai giống khoai tây có thể được phát hiện bằng chiều dài khác nhau của các đoạn lặp lại được khuếch đại bởi phản ứng PCR khi sử dụng cùng một cặp mỗi SSR. Trong nghiên cứu di truyền tính kháng bệnh mốc sương khoai tây, 37 chỉ thị phân tử phân bố rải rác trên bộ nhiễm sắc thể được sử dụng để xác định mức độ đa hình của nguồn vật liệu nghiên cứu, đặc biệt là giữa giống kháng nhập nội từ CIP, bao gồm 4 giống 106, 113, 116 và 129 với giống bản địa đang được trồng phổ biến ở địa phương như KT3, Solara và PO3. Phân tích sản phẩm điện di của 37 chỉ thị phân tử sử dụng cho thấy có 35 chỉ thị, chiếm tỷ lệ 94,6 % cho kết quả đa hình giữa các giống. Chỉ có 2 chỉ thị (chiếm 5,4 %), là LP3 và STO không cho đa hình giữa các giống (Hình 1).

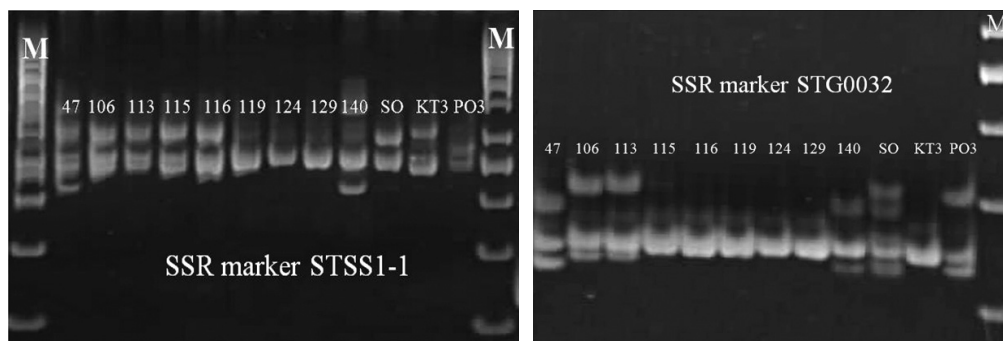


Hình 1. Ảnh điện di chỉ thị phân tử LP3 và STO không đa hình giữa các giống

Bên cạnh đó, mức độ đa hình di truyền giữa 4 giống có tính kháng trên đồng ruộng tốt (như đã đề cập ở trên) và giống đại trà KT3 đạt khá cao trong nghiên cứu này. Trong số 35 chỉ thị đa hình đã xác định được 23 chỉ thị phân tử cho đa hình giữa giống 129 và KT3, 22 chỉ thị cho đa hình giữa giống 116 và KT3, 21 chỉ thị cho đa hình giữa giống 106 với giống KT3 và 19 chỉ thị cho đa hình giữa giống 113

và KT3. Hình 2 minh họa mức độ đa hình giữa các giống bằng chỉ thị phân tử STSS1-1 và STG0032.

Như vậy, thông qua đánh giá đồng ruộng và khảo sát nền di truyền của tập đoàn giống, 4 tổ hợp được đề xuất, bao gồm: KT3×106, KT3×113, KT3×116 và KT3×129. Chỉ thị phân tử cho kết quả đa hình sau đó tiếp tục được sử dụng để xác định con lai của từng tổ hợp lai tương ứng.



Hình 2. Ảnh điện di chỉ thị phân tử STSS1-1 và STG0032 đa hình giữa các giống

3.3. Kết quả lai tạo và đánh giá các dòng con lai triển vọng bằng chỉ thị phân tử đặc trưng cho R-gen/locus kháng bệnh mốc sương

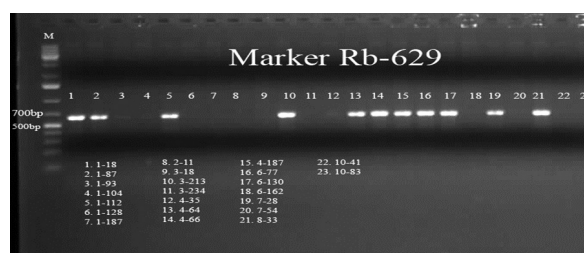
Sau khi đánh giá mức độ kháng/nhiễm bệnh mốc sương và khảo sát đa hình giữa các giống cho và nhận QTL/gen kháng bệnh mốc sương, chúng tôi tiến hành lai tạo giữa các giống kháng (116, 106, 113, và 129) nhập từ CIP với giống nhiễm bệnh KT3 được trồng phổ biến ở địa phương. Trong đó các giống nhập từ CIP dùng làm bố, còn giống KT3 dùng làm mẹ. Kết quả chúng tôi thu được 96 dòng con lai từ 4 tổ hợp lai trên. Tiến hành khảo nghiệm đồng ruộng và đánh giá khả năng kháng bệnh mốc sương của 96 dòng con lai F₁ tại Thanh Trì - Hà Nội (vụ đông, 2013-2014) chúng tôi đã chọn lọc được 29 dòng con lai có mức độ kháng bệnh mốc sương cao hơn hẳn các dòng làm bố mẹ. Trong đó, có 23 dòng có tiềm năng năng suất cao, khối lượng củ /khóm cao > 550 gram/khóm vượt 2 giống đối chứng là Solara và KT3 (Hình 3).



Hình 3. Ảnh minh họa giống có tiềm năng năng suất cao kháng bệnh mốc sương

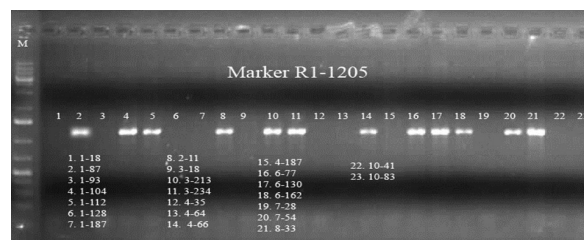
Đánh giá 23 dòng con lai có tiềm năng năng suất cao và kháng bệnh mốc sương tốt bằng các chỉ thị phân tử đặc trưng cho gen *Rb-629* và *R1-1205* kháng bệnh mốc sương. Phân tích hình ảnh điện di sản phẩm PCR của gen *Rb-629* cho thấy, các dòng con

lai như: 1-18, 1-87, 1-112, 3-213, 4-64, 4-66, 4-187, 6-77, 6-130, 7-28, và 8-33 mang gen *Rb-629* kháng bệnh mốc sương (Hình 4).



Hình 4. Ảnh điện di sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử cho gen *Rb-629* kháng mốc sương trên các dòng con lai khoai tây triển vọng

Phân tích kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *R1-1205* chúng tôi xác định được 12 dòng con lai (1-87, 1-104, 1-112, 2-11, 3-213, 3-234, 4-66, 6-77, 6-130, 6-162, 7-54, và 8-33) mang gen này (Hình 5).



Hình 5. Ảnh điện di sản phẩm PCR của chỉ thị phân tử cho gen *R1-1205* kháng mốc sương trên các dòng con lai khoai tây triển vọng

Như vậy, nghiên cứu này bước đầu đã chọn được 4 tổ hợp lai làm vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống. Thông qua khảo sát đa hình di truyền có thể lựa chọn được bộ chỉ thị phân tử để đánh giá nền di truyền của các cá thể con lai. Sau đó, các cá thể con lai mang gen có thể được xác định bằng 2 chỉ thị liên kết chặt với locus gen kháng. Nghiên cứu này sẽ được tiếp tục triển khai ở các thế hệ con lai sau để đưa ra các dòng/ giống có năng suất cao, khả năng kháng bệnh mốc sương tốt.

III. KẾT LUẬN

Đã khảo sát được mức độ kháng/nhiễm của tập đoàn vật liệu nghiên cứu. Các giống nhập nội mang gen kháng từ CIP có khả năng kháng bệnh mốc sương ở mức khá - tốt, trong khi các giống sản xuất đại trà bị nhiễm bệnh mốc sương nặng. Trong đó, đã xác định được 4 dòng khoai tây: 106, 116, 113 và 129 có khả năng kháng cao với các chủng sinh lý gây bệnh mốc sương ở miền Bắc nước ta.

Kết quả đánh giá mức độ đa hình di truyền giữa các giống, 35 chỉ thị phân tử cho đa hình giữa các giống kháng với giống nhiễm KT3. Trong đó, 4 giống: 106, 113, 116 và 129 có mức độ đa hình cao so với giống KT3. Từ đó đã đề xuất 4 tổ hợp lai KT3×106, KT3×116, KT3×113 và KT3×129.

Kết quả lai tạo thu được 96 dòng con lai F₁ từ 4 tổ hợp trên, trong đó đã chọn lọc được 23 dòng có tiềm năng năng suất cao, kháng bệnh mốc sương tốt hơn bố mẹ. Trong đó, đã xác định được 7 dòng con lai (1-87, 1-112, 3-213, 4-66, 6-77, 6-130, 8-33) đồng thời mang cả hai gen kháng *Rb-629* và *R1-1205*.

Nghiên cứu này sẽ được tiếp tục triển khai ở các thế hệ con lai sau để đưa ra các dòng/ giống có năng suất cao, khả năng kháng bệnh mốc sương tốt.

LỜI CẢM ƠN

Công trình nghiên cứu này được thực hiện bởi tập thể nghiên cứu thuộc Bộ môn Sinh học Phân tử, Viện Di truyền Nông nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Allen, G.C., Flores-Vergara, M.A., Krasynanski, S., Kumar, S., Thompson, W.F., 2006. A modified

protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. *Nat Protoc* 1(5):2320-2325.

Dorrance, A.E. and Inglis, D.A., 1997. Assessment of greenhouse and laboratory screening methods for evaluating potato foliage for resistance to late blight. *Plant Disease* 81(10): 1206-1213.

Getachew, W.M. and Tesfaye, A., 2016. Genetic variability studies in potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes in Bale Highlands, South Eastern Ethiopia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 6(3): 117-119.

Kumar, S.K., Kadian, M.S., Landeo, J., Gopal J., Singh, S.V., Bonierbale, M., Pandey, S.K., 2010. Abstracts of EAPR section meeting agrophysiology. *Potato Research* 53: 393-419.

Syversen, R.L. and Bradeen, J.M., 2011. A novel class of simple PCR markers with SNP-level sensitivity for mapping and haplotype characterization in *Solanum* species. *American Journal of Potato Research* 88(3): 269-282.

Tiwari, J.K., Siddappa, S., Singh, B.P., Kaushik, S.K., Chakrabarti, S.K., Bhardwaj, V., Chandel, P., 2013. Molecular markers for late blight resistance breeding of potato: an update. *Plant Breeding* 132(3): 237-245.

Van Os, H., Andrzejewski, S., Bakker, E., Barrena, I., Bryan, G.J., Caromel, B., Ghareeb, B., Isidore, E., de Jong, W., van Koert, P., Lefebvre, V., Milbourne, D., Ritter, E., van der Voort, J.N., Rousselle-Bourgeois, F., van Vliet, J., Waugh, R., Visser, R.G., Bakker, J., van Eck, H.J., 2006. Construction of a 10,000-marker ultradense genetic recombination map of potato: providing a framework for accelerated gene isolation and a genomewide physical map. *Genetics* 173:1075-1087.

Development of late blight resistant potatoes (*Solanum tuberosum*) in Vietnam by marker assisted selection

Dinh Xuan Tu, Chu Duc Ha,
Trinh Van My, Le Hung Linh

Abstract

The use of molecular markers in potato breeding programs offers new opportunities for selection of new late blight resistant varieties. In this study, potato collection accessions, including 9 varieties from the International Potato Center and 3 most local popular varieties in Vietnam, were used to analyze the late blight resistance. 4 potato varieties were identified to be high resistant to late blight isolates by field observation and SSR analysis. 96 bred lines selected from the crosses between KT3×106, KT3×116, KT3×113 and KT3×129 were screened for late blight resistance. 23 bred lines with high resistance to late blight and high yield (root weight per cluster > 550g) were selected on field testing. Out of which 11, 12 and 7 bred lines bringing *Rb*, *R1*, and both *Rb-R1*, respectively were identified by using specific molecular markers.

Key words: Molecular breeding, potato, late blight, SSR, R-gene

Ngày nhận bài: 30/3/2017

Người phản biện: TS. Trương Công Tuyền

Ngày phản biện: 07/4/2017

Ngày duyệt đăng: 24/4/2017

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY HOÀNG LIÊN Ô RÔ TRONG CHI *Mahonia* Nutt. BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Lưu Thúy Hòa¹, Khuất Hữu Trung²,
Trần Đăng Khánh², Trần Văn Ôn³

TÓM TẮT

Nghiên cứu đa dạng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên thuộc chi *Mahonia* Nutt. được thu thập ở các vùng sinh thái khác nhau cho thấy: Các mẫu giống/loài Hoàng liên ô rô thuộc chi *Mahonia* Nutt. rất đa dạng. Kết quả phân tích với 374 phản ứng PCR nhân lên được tổng số 2185 băng DNA thuộc 211 loại băng khác nhau, trong đó có 193 băng đa hình (91,47 %) và 18 băng đơn hình (8,53%). Giá trị PIC của 17 môi với 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô nghiên cứu dao động từ 0,7 đến 0,94 (trung bình là 0,85). Hệ số tương đồng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô dao động trong khoảng 0,33 đến 0,97. Ở mức tương đồng di truyền 63%, 22 mẫu giống nghiên cứu được chia thành 4 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 15 băng cá biệt và 1 băng khuyết duy nhất có thể nhận biết chính xác 10 mẫu giống: MH2, MH3, MH8, MH11, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18 và MH22. Kết quả này rất có ý nghĩa để bổ sung cho các nghiên cứu phân loại ở mức hình thái, định danh các nguồn gen Hoàng liên ô rô và nhận dạng chính xác các giống/loài có hàm lượng berberin cao phục vụ công tác bảo tồn, khai thác nguồn gen cây thuốc quý.

Từ khóa: Hoàng liên ô rô, *Mahonia* Nutt., RAPD, đa dạng di truyền

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng liên ô rô (*Mahonia* Nutt.) là một chi trong họ *Berberidaceae*. Chi *Mahonia* Nutt. gồm nhiều loài có hoạt chất berberine với hàm lượng cao. Trong đó, hoạt chất alcaloid đã được ứng dụng từ lâu đời trong nền y học truyền thống trên thế giới nhờ đặc tính kháng khuẩn, nấm, đơn bào... Ngày nay, hoạt chất này được đánh giá có tiềm năng rất lớn trong điều trị các bệnh hiểm nghèo như: tiểu đường (Vikas Chander, 2017) ung thư, giảm mỡ máu (Yanwen Wang, 2014). Chi *Mahonia* Nutt. phân bố rộng ở nhiều vùng sinh thái của Việt Nam như: Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Bắc Kạn, Cao Bằng và Lâm Đồng. Chi *Mahonia* Nutt. gồm nhiều loài nhưng về hình thái các loài/giống Hoàng liên ô rô rất giống nhau (Cadic A., 1987). Điều này dẫn đến dễ nhầm lẫn trong việc định danh loài và khai thác, sử dụng. Gần đây, trên thế giới đã có những nghiên cứu phân biệt ở mức độ loài trong chi *Berberis* (Sodagar, 2012; Tripathi, 2013), mức độ dưới loài ở *Podophyllum hexadrum* (Nag, 2013), so sánh giữa các loài trong cùng họ *Berberidaceae* (Razaei, 2011). Ở Việt Nam cũng đã có công trình đánh giá giữa các loài trong họ *Berberidaceae* (Trần Thị Thúy, 2014). Nhưng đến nay chưa có công trình nào trong nước đánh giá, tư liệu hóa ở mức phân tử đối với chi *Mahonia* Nutt. Mặt khác, giống/loài Hoàng liên ô rô được dùng làm thuốc nên đang bị khai thác với mục đích thương mại để bán sang Trung Quốc khiến nguồn gen này đang dần bị cạn kiệt. Chính vì vậy, việc đánh giá

một cách đầy đủ tính đa dạng di truyền và xác định nguồn gen cho hàm lượng berberin cao nhất của chi *Mahonia* Nutt. là rất cần thiết và rất quan trọng trong việc định hướng công tác bảo tồn và phát triển các nguồn gen *Mahonia* Nutt. bản địa của Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu bao gồm 22 mẫu giống Hoàng liên thuộc chi *Mahonia* Nutt. được thu thập ở các vùng sinh thái khác nhau. Trong đó: 11 mẫu thu thập tại vùng Tây Bắc (Sa Pa, Lào Cai), 8 mẫu thu thập tại vùng Đông Bắc (Chợ Đồn, Bắc Kạn; Quán Bạ, Yên Minh và Đồng Văn, Hà Giang) và 3 mẫu thu thập tại Tây Nguyên (Lạc Dương, Lâm Đồng) (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

ADN tổng số được tách chiết từ mẫu lá theo phương pháp CTAB của Obara và Kako (Obara và Kako, 1998) có một số cải tiến. Xác định nồng độ và chất lượng ADN bằng máy quang phổ Jenway - Model 6715. Các mẫu ADN tổng số được pha loãng với đệm TE vô trùng đến nồng độ 50ng/μl để thực hiện phản ứng PCR.

Hai mươi lăm môi khác nhau sử dụng trong các phản ứng PCR-RAPD có độ dài 9-10 nucleotide, trong đó 17 môi cho đa hình thuộc các nhóm BIO, OPA, OPN, OPO, S và UBC của hãng Bioneer (Bảng 2).

¹ Viện Sinh - Nông, Trường Đại học Hải Phòng

² Viện Di truyền Nông nghiệp; ³ Trường Đại học Dược Hà Nội