

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

ĐỀ TÀI NCKH CẤP NHÀ NƯỚC
NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ TẾ BÀO VÀ KỸ THUẬT CHỈ THỊ PHÂN TỬ
PHỤC VỤ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG
(thuộc Chương trình KC 04, mã số KC 04.08)

ĐỀ TÀI NHÁNH
**NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CÔNG NGHỆ TẾ BÀO
VÀ KỸ THUẬT CHỈ THỊ PHÂN TỬ PHỤC VỤ
CHỌN TẠO GIỐNG LẠC**

CNĐT: THS NGUYỄN VĂN THẮNG

Hà Nội - 2005

BÁO CÁO ĐỀ TÀI NHÁNH

“NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CÔNG NGHỆ TẾ BÀO VÀ KỸ THUẬT CHỈ THỊ PHÂN TỬ PHỤC VỤ CHỌN TẠO GIỐNG LẠC”

Thuộc đề tài KC 04 – 08

Chủ trì ĐT nhánh: Ths. Nguyễn Văn Thắng

Cán bộ tham gia thực hiện đề tài: Ths. Nguyễn thị Yến, Ths. Phan Quốc Gia, KS. Nguyễn xuân Thu; KS. Trần văn Dương

Cơ quan chủ trì ĐT nhánh: Trung tâm NC & TN Đậu đỗ, Viện KHKTNN VN.

Thời gian thực hiện: Tháng 10/2001 đến tháng 9/2004.

Mục tiêu của đề tài.

ứng dụng chỉ thị phân tử vào việc chọn tạo giống lạc kháng bệnh gỉ sắt/héo xanh vi khuẩn.

Nội dung nghiên cứu.

- Thu thập đánh giá tập đoàn lạc.
- Xác định phương pháp đánh giá bệnh gỉ sắt/héo xanh vi khuẩn thích hợp.
- Đánh giá đa dạng di truyền ở mức phân tử một số giống lạc để tìm kiếm chỉ thị tính kháng bệnh.
- Lai hữu tính, tạo quần thể phân ly
- Chọn lọc, đánh giá các dòng triển vọng

Kết quả nghiên cứu.

1. Thu thập và đánh giá tập đoàn lạc.

Đánh giá, phân lập nguồn gen kháng bệnh là một trong những nhiệm vụ quan trọng nhằm tìm ra nguồn gen kháng đồng thời phục vụ cho việc phân tích đa dạng di truyền tính kháng bệnh.

Trong 2 năm 2002- 2003 đề tài đã thu thập, đánh giá các đặc tính nông học, đánh giá phản ứng của 50 mẫu giống lạc đối với bệnh gỉ sắt, 120 mẫu giống với bệnh héo xanh.

Kết quả đã tìm ra 10 giống kháng cao với bệnh gỉ sắt là: ICG 11325, ICGX 950084, ICGV 99003, ICGX 950166, ICGV 99019, ICGV 86699, ICG 11312, ICGV 99051, ICGV 99052, ICGV 99005. 12 giống kháng trung bình.

Đã xác định 01 giống kháng cao với bệnh héo xanh – Gié nho quan ; 6 giống kháng trung bình: MD7, ICGV11505, L14, L02, LVT; 3 giống nhiễm: V79, ICG 3704, L05.

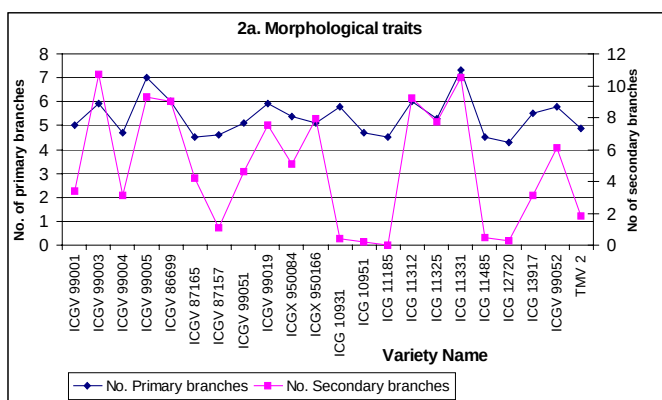
Các mẫu giống kháng bệnh đã và đang được sử dụng trong công tác chọn tạo giống kháng bệnh

Bảng1: Một số đặc điểm nông học và điểm bệnh của một số dòng kháng bệnh gỉ sắt điển hình

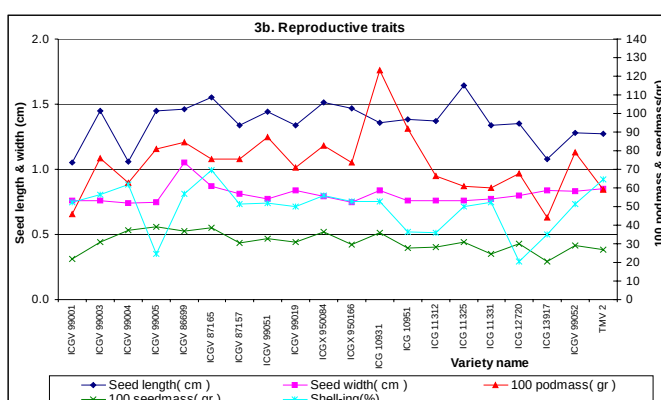
STT	Tên dòng	Gỉ sắt* (điểm)	NS (tạ/ha)	TGST (ngày)
1	ICGV 99001	3	3,42	129
2	ICGV 99003	2	5,12	130
3	ICGV 99004	5	5,00	124
4	ICGV 99005	1	1,45	129
5	ICGV 86699	2	5,52	130
6	ICGV 87165	7	11,45	123
7	ICGV 87157	4	4,30	124
8	ICGV 99051	2	8,27	129
9	ICGV 99019	2	8,95	130
10	ICGX 950084	2	10,70	130
11	ICGX 950166	2	6,83	129
12	ICG 10931	4	0,57	125
13	ICG 10951	4	2,15	129
14	ICG 11185	3	-	128
15	ICG 11312	2	2,98	130
16	ICG 11325	2	1,94	128
17	ICG 11331	3	3,75	129
18	ICG 11485	3	-	128
19	ICG 12720	3	1,16	128
20	ICG 13917	3	1,64	129
21	ICG 99052	2	6,54	129
22	TMV2 (đ/c)	6	3,92	124

*: Đánh giá theo thang điểm 1-9 trong đó 1 là không bị bệnh, 9 nhiễm nặng;
Đánh giá theo phương pháp hàng nhiễm.

Đánh giá 17 đặc tính hình thái và nông sinh học của 22 mẫu giống lạc kháng gỉ sắt cho thấy có sự đa dạng/ biến động về các đặc tính nghiên cứu. (biểu đồ 1a, 1b)



Biểu đồ 1a: Sự biến động của số cành cấp 1 & cấp/ cây của 22 giống nghiên cứu



Biểu đồ 1b: Sự biến động của các yếu tố cấu thành NS của 22 giống nghiên cứu

2. Xác định phương pháp đánh giá bệnh gỉ sắt & héo xanh phù hợp cho công tác phân tích tìm kiếm chỉ thị

Thử nghiệm các phương pháp đánh giá bệnh gỉ sắt cho thấy có thể sử dụng hai phương pháp có hiệu quả đó là (i) phương pháp hàng nhiễm (infectior row) để đánh giá/ sàng lọc khối lượng lớn nguồn vật liệu ngoài đồng và (ii) phương pháp lá tách (detached leaf technique). Sử dụng phương pháp nhiễm hạt nảy mầm hoặc sát thương rễ cho hiệu quả cao đối với bệnh héo xanh.

Đánh giá bệnh gỉ sắt bằng Phương pháp lá tách

Đánh giá bệnh héo xanh bằng phương pháp nhiễm hạt

3. Lai hữu tính, tạo quần thể và chọn lọc giống kháng bệnh:

Lai hữu tính giữa các giống kháng và nhiễm nhằm tạo ra quần thể phân li để đánh giá kiểu gen (genotyping) làm cơ sở để tìm kiếm các chỉ thị phân tử mong muốn. Đề tài đã tiến hành lai hai tổ hợp theo hướng kháng bệnh lá (L16 x ICGV950166; L12 x ICGV11325) và hai tổ hợp kháng bệnh héo xanh (MD7 x L16; L16 x Gié Nho Quan) để phục vụ phân tích đa dạng di truyền tính kháng bệnh và tìm kiếm chỉ thị phân tử.

Tạo ra được 67 dòng F_2 của tổ hợp lai ICGV950166 x L12; 158 dòng F_2 của tổ hợp lai L12 x ICGV950166; 206 dòng của tổ hợp lai L08 x ICGV95051; 188 dòng F_2 của tổ hợp lai 11505 x L12; 194 dòng F_2 của tổ hợp lai Gié Nho Quan x L08.

Kết quả đánh giá về kiểu gen ở mức phân tử được trình bày dưới đây:

Từ hàng loạt các tổ hợp lai giữa các giống kháng và giống nhiễm (bảng 2) đã chọn ra 35 dòng kháng héo xanh triển vọng năng suất cao như BW1, BW16, BW40, BW22, BW65, BW 63... (Bảng 3) và 40 dòng kháng gỉ sắt như 0009.9; 9905.CT1.1; 0104.1; 0009.9.1; 0103.4 ... (bảng 4). Những dòng/giống này đang được đánh giá năng suất và sẽ gửi đi khảo nghiệm trong những vụ tiếp theo

Bảng 2: Tổ hợp lai đã thực hiện và tỷ lệ đậu quả của chúng

STT	Tổ hợp	Số hoa lai	Số quả đậu	Tỷ lệ đậu (%)
1	ICG11312 x L12	91	44	48.4
2	L12 x ICG11312	14	14	100.0
3	ICG11312 x V79	172	97	56.4
4	MD7 x L16	183	110	60.1
5	Gié Nho Quan x L18	119	79	66.4
6	Gié Nho Quan x L05	43	36	83.7
7	L05 x Gié Nho Quan	104	56	53.8
8	BW40 x V79	53	26	49.1
9	BW41 x L05	28	25	89.3
10	MD7 x L05	28	22	78.6

Bảng3: Phản ứng với bệnh và năng suất của một số dòng kháng bệnh héo xanh điển hình

TT	Dòng	Gỉ sắt (điểm)	Héo xanh* (%)	NS (tạ/ha)	TGST (ngày)
1	HX8-1 (BW16)	5	35	55.71	106
2	HX9-2	5	40	55.55	110
3	HX4-9 (BW25)	4	40	55.48	105
4	HX8-12	4	30	54.84	104
5	HX9-6 (BW21)	4	39	52.80	108
6	HX9-23	4	39	51.85	107
7	HX9-3 (BW45)	3	40	51.29	106
8	HX9-18	4	35	50.67	106
9	HX8-6 (BW22)	4	30	50.00	108
10	HX1 (BW1)	4	30	59.27	103
11	HX4-2 (BW34)	4	35	46.96	107
12	HX11-1	3	25	45.73	103
13	HX8-2 (BW64)	3	36	44.84	110
14	HX9-1 (BW54)	4	35	41.89	103
	L14 (Đ/c1)	5	50	40.56	110
	V79 (Đ/c2)	6	90	34.67	110

*: Tỷ lệ cây chết

Bảng 4: Một số đặc tính của các dòng kháng bệnh gỉ sắt triển vọng điểm hình

TT	Tên dòng	Số quả già/cây	KL 100 quả (g)	KL 100 hạt (g)	Tỉ lệ nhân (%)	N. S (tạ/ ha)
1	0009.9	14,0	167,8	71,3	73,6	25,5
4	9905.CT1.1	13,3	172,0	73,6	71,7	17,4
6	0104.1	15,1	165,0	68,2	73,0	18,4
7	0009.9.1	13,8	169,3	72,1	73,8	23,6
8	0103.4	10,6	171,2	73,4	73,2	22,4
	L14(đc1)	11,2	160,0	65,5	73,4	17,4
	V79(đc2)	11,5	147,0	61,2	77,6	13,9

Bảng 5: Khả năng kháng sâu bệnh của các dòng ưu tú

TT	Tên dòng	Bệnh đốm nâu (1-9)	Bệnh đốm đen (1-9)	Bệnh gỉ sắt (1-9)	Sâu ăn lá (%)
1	0009.9	2	2	2	5
2	9905.CT2.2	3	3	3	8
3	0104.4	3	3	3	8
4	9905.CT2.1	3	3	3	8
5	0008.7	3	3	3	15
6	0104.1	4	3	3	15
7	0009.9.1	2	3	3	5
8	9905 CT.17	4	4	4	15
9	9904.1.2	4	5	5	15
10	9905 CT.15	3	5	4	15

11	9905.CT.1.6	2	2	3	10
12	9905.CT.1.2	3	3	3	10
13	0103.4	2	3	3	20
14	0104.2	3	3	3	20
15	L14 (Đ/C 1)	3	3	3	20
16	V79 (Đ/C 2)	5	4	5	30

Kết luận và đề nghị

Kết luận

- Đã thu thập và lưu giữ được tập đoàn lạc 170 mẫu giống trong đó có 10 giống kháng cao với bệnh gỉ sắt, 01 giống kháng cao với bệnh héo xanh – Gié nho quan, 6 giống kháng.
- Xác định được phương pháp đánh giá bệnh gỉ sắt và héo xanh chính xác có thể dùng trong nghiên cứu chỉ thị phân tử. Đó là phương pháp hàng nhiễm (infectior row) để đánh giá/ sàng lọc khối lượng lớn nguồn vật liệu ngoài đồng và (ii) phương pháp lá tách (detached leaf technique), phương pháp nhiễm hạt nảy mầm hoặc sát thương rễ cho hiệu quả cao đối với bệnh héo xanh.
- Lai và tạo các quần thể phân li phục vụ công tác nghiên cứu đa dạng di truyền và tìm kiếm chỉ thị phân tử tính kháng bệnh.
- **Kết luận về chỉ thị phân tử**
- Chọn ra một số dòng/giống triển vọng kháng bệnh gỉ sắt và héo xanh năng suất cao.

Đề nghị

- Tiếp tục đề tài nhằm hoàn thiện công tác tìm kiếm chỉ thị phân tử tính kháng bệnh
- Nhân và khảo nghiệm các giống lạc triển vọng đã được chọn ra
- Tăng kinh phí nghiên cứu cho giai đoạn tiếp theo.