

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

----- ୧୦୩ -----

NGỘ VĂN NGÔN

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN VI KHUẨN
RALSTONIA SOLANACEARUM SMITH GÂY BỆNH HÉO
XANH LẠC VÀ XÁC ĐỊNH CÁC DÒNG, GIỐNG KHÁNG
BỆNH Ở MỘT SỐ TỈNH MIỀN BẮC VIỆT NAM

CHUYÊN NGÀNH: BẢO VỆ THỰC VẬT

MÃ SỐ: 62.62.01.12

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

HÀ NỘI - 2015

Công trình hoàn thành tại:

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

Người hướng dẫn: 1. PGS.TS. NGUYỄN VĂN VIẾT

2. TS. HÀ VIẾT CƯỜNG

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ tại hội đồng đánh giá luận án cấp Viện họp tại

Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

- **Thư viện Quốc gia Việt Nam**
- **Thư viện Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam**

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Lạc là cây trồng có giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao, là cây công nghiệp đứng thứ 2 trong các cây lấy dầu thực vật. Tại Việt Nam, mặc dù có nhiều lợi thế về điều kiện tự nhiên nhưng năng suất và sản lượng lạc tăng chưa tương xứng với tiềm năng. Nguyên nhân chủ yếu là hầu hết các địa phương trồng lạc, đặc biệt là vùng đất trồng lạc nhờ nước trời như đất đồi gò, đất bãi ven sông thường bị bệnh gây hại, trong đó bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây ra là đối tượng gây hại nặng trên cây lạc.

Bệnh héo xanh vi khuẩn (HXVK) gây hại nghiêm trọng ở những vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Ở Việt Nam, bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc được coi là bệnh hại phổ biến ở nhiều tỉnh trồng lạc trong cả nước như: Bắc Giang, Bắc Ninh, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Long An, Tây Ninh,... (Mehan và cs., 1991; Nguyễn Xuân Hồng và cs., 1997; Lê Lương Tề, 1997a). Bệnh gây hại nghiêm trọng ở một số vùng trọng điểm ở tỉnh Nghệ An và Thanh Hóa với tỷ lệ bệnh từ 15% đến 35%, ở vùng trồng lạc của tỉnh Long An và Tây Ninh có tỷ lệ bệnh từ 20% đến 30%.

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về phòng chống bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc ở trong nước và trên thế giới, tuy nhiên sử dụng giống lạc kháng bệnh là biện pháp chủ động và có hiệu quả nhất trong phòng chống bệnh héo xanh vi khuẩn (Liao, 2005a).

Công tác chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở nước ta đã đạt được những kết quả đáng khích lệ, tuy nhiên chủ yếu theo phương pháp truyền thống nên hiệu quả tích lũy các gen kháng bệnh vào con lai còn khó khăn và mất thời gian dài.

Để rút ngắn thời gian trong việc chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, ứng dụng chỉ thị phân tử là con đường ngắn và hiệu quả, không những góp phần hạn chế tác hại của bệnh mà còn hạn chế sử dụng thuốc bảo vệ thực vật phòng chống bệnh, bảo vệ môi trường và tạo sự đa dạng sinh học đối với cây lạc (Liao *et al.*, 2005b; Peng *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2012). Đến nay ở nước ta chưa có nghiên cứu nào về sử dụng chỉ thị phân tử để chọn giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn được công bố. Trong chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử, cần xác định biovar, nòi và đánh giá đa dạng di truyền của vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc đồng thời phải chọn lọc được nguồn vật liệu các dòng, giống lạc mang gen kháng bệnh bằng lây nhiễm nhân tạo và chỉ thị phân tử.

Nhằm giải quyết được các yêu cầu phòng chống bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc trong sản xuất tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam, việc thực hiện đề tài “**Nghiên cứu đa dạng di truyền vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh hại lạc và xác định các dòng, giống kháng bệnh ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam**” mang tính thời sự cấp thiết.

2. Mục tiêu và yêu cầu của đề tài

2.1. Mục tiêu

Xác định được đa dạng di truyền của vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam và dòng, giống lạc kháng bệnh bằng đánh giá bệnh nhân tạo kết hợp chỉ thị phân tử làm cơ sở phòng chống bệnh có hiệu quả.

2.2. Yêu cầu

Điều tra xác định được mức độ nhiễm bệnh héo xanh vi khuẩn ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

Xác định được biovar, nòi và đặc điểm sinh học một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* thu thập ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

Đánh giá đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* và sự phân bố của chúng ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam. Đánh giá được khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của tập đoàn giống, con lai và dòng lạc triển vọng bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo kết hợp chỉ thị phân tử.

Trên cơ sở chọn lọc các dòng, giống kháng bệnh và đánh giá một số đặc điểm nông học chính, xác định được các dòng, giống lạc kháng bệnh, có năng suất cao để phát triển trong sản xuất.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

Luận án cung cấp thông tin khoa học mới về đa dạng di truyền của vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

Cung cấp tư liệu khoa học mới về áp dụng phương pháp sinh học phân tử kết hợp với đánh giá bệnh nhân tạo nguồn vật liệu và dòng, giống lạc kháng bệnh cho chọn tạo, phát triển giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Từ kết quả xác định được sự phân bố biovar, đa dạng di truyền các isolate vi khuẩn *R. solanacearum* ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam làm cơ sở bố trí giống kháng bệnh. Xác định được vi khuẩn gây bệnh héo xanh lạc ở miền Bắc Việt Nam thuộc biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1.

Một số mẫu giống lạc như L28, L29 có khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn và có năng suất cao có thể sử dụng trong quản lý cây trồng tổng hợp nhằm sản xuất lạc hiệu quả, bền vững.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu của đề tài

4.1. Đối tượng nghiên cứu

Loài vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh lạc.

Một số mẫu giống lạc trong tập đoàn, dòng lai, dòng triển vọng và giống lạc được trồng ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam là ký chủ của vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc.

4.2. Phạm vi nghiên cứu

Đề tài thực hiện tại Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Viện Bảo vệ thực vật, Viện Công nghệ sinh học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ thuộc Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm.

Nghiên cứu tập trung vào điều tra xác định mức độ nhiễm bệnh héo xanh vi khuẩn trên đồng ruộng; xác định đa dạng di truyền, đặc điểm sinh học một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* và sự phân bố của chúng ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam; đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn và chọn lọc các dòng, giống lạc kháng bệnh bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chỉ thị phân tử.

5. Những đóng góp mới của luận án

Luận án bổ sung các tư liệu khoa học mới về bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc đặc biệt là phòng chống bằng giống kháng bệnh; sử dụng thành công phương pháp sinh học phân tử kết hợp phương pháp truyền thống trong xác định đa dạng di truyền vi khuẩn *R. solanacearum* và chọn lọc giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn.

Ứng dụng thành công đánh giá bệnh nhân tạo kết hợp với chỉ thị phân tử SSR là pPGPseq3F5, GA161 và 7G2 liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn chọn lọc được các dòng, giống lạc kháng bệnh HXVK và có năng suất cao gồm 26 mẫu giống trong tập đoàn (kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng cao), 07 dòng từ tổ hợp lai đơn (kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng, năng suất từ 35,7-41,6 tạ/ha), 14 dòng lạc từ các tổ hợp lai hồi quy (kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng, năng suất từ 35,4-40,6 tạ/ha), 13 dòng lạc ưu tú (kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng, năng suất từ 36,6-40,5 tạ/ha) và 04 dòng lạc triển vọng (kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng, năng suất từ 35,7-37,8 tạ/ha) để làm vật liệu chọn tạo và phát triển giống kháng bệnh.

Xác định được 2 giống lạc triển vọng gồm L28 và L29 có khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn và có năng suất cao đã được khảo nghiệm Quốc gia để phát triển trong sản xuất.

6. Cấu trúc của luận án

Luận án chính có 129 trang đánh máy vi tính khổ A4 với 35 bảng số liệu, 20 hình. Luận án gồm 5 phần: Mở đầu (5 trang), Chương 1. Tổng quan tài liệu (30 trang), Chương 2. Phương pháp nghiên cứu (16 trang), Chương 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận (76 trang), Kết luận và đề nghị (2 trang). Đã tham khảo 140 tài liệu, bao gồm 34 tài liệu tiếng Việt và 106 tài liệu tiếng Anh.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tình hình sản xuất lạc trên thế giới và ở Việt Nam

Cây lạc đứng hàng thứ hai sau cây đậu tương trong số các cây trồng lấy dầu thực vật (cả về diện tích và sản lượng) và được trồng rộng rãi ở trên 100 quốc gia trên thế giới. Theo số liệu thống kê của Tổ chức Nông Lương Thế giới (FAO, 2013), các nước có sản lượng lạc lớn nhất trong niên vụ 2011/2012 là Trung Quốc, Ấn Độ, Nigeria và Mỹ.

Theo số liệu của Tổng cục Thống kê Việt Nam năm 2013, trong vòng 10 năm qua (năm 2002-2012), mặc dù diện tích giảm từ 246,7 ha (năm 2002) xuống còn 220,5 ha (năm 2012) nhưng sản xuất lạc ở Việt Nam đã có những bước chuyển biến tích cực về năng suất từ 1,62 tấn/ha (năm 2002) tăng lên 2,13 tấn/ha (năm 2012) với sản lượng tăng từ 400,4 nghìn tấn (năm 2002) lên 470,6 nghìn tấn (năm 2012).

1.2. Phân bố, tác hại của bệnh héo xanh vi khuẩn gây ra đối với sản xuất lạc

Trên thế giới, bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc phân bố ở hầu hết các vùng trồng lạc. Tuy nhiên, bệnh gây hại nghiêm trọng hơn ở những vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Denny, 2006; Genin và Denny, 2012). Hàng năm ước tính thiệt hại do bệnh héo xanh vi khuẩn trên lạc từ 50.000 đến 150.000 tấn (Machmud và Rats, 1994).

Ở Việt Nam từ năm 1968, Đặng Thái Thuận và cs. (1968) đã phát hiện, mô tả bệnh

chết éo cây lạc, mức độ gây hại của bệnh từ 20% đến 30%. Nguyễn Thị Ly và Phan Bích Thu (1991) cho rằng ở 14 hợp tác xã trồng lạc thì bệnh HXVK hại nặng nhất ở một số điểm điều tra của tỉnh Nghệ An với tỷ lệ từ 15% đến 40%, trong khi đó ở các điểm điều tra của huyện Việt Yên, tỉnh Bắc Giang tỷ lệ bệnh trung bình từ 10% đến 15%. Theo Nguyễn Văn Liễu (1995), bệnh HXVK có ở hầu khắp các vùng trồng lạc của miền Bắc, các tỉnh trọng điểm trồng lạc như Nghệ An, Thanh Hoá, Bắc Giang là những vùng bị hại nặng từ 10% đến 20%.

Theo Nguyễn Tất Thắng và Đỗ Tấn Dũng (2010), bệnh héo xanh vi khuẩn là một bệnh gây hại phổ biến trên cây lạc vùng Hà Nội và phụ cận. Trong vụ Xuân năm 2009, kết quả điều tra cho thấy tỷ lệ bệnh HXVK hại lạc cao nhất ở huyện Ý Yên, tỉnh Nam Định trên giống lạc Sen lai (1,28%) và tỷ lệ bệnh thấp nhất ở Lạng Giang, Bắc Giang trên giống lạc L14 (0,19%).

1.3. Phân loại vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc

Đầu tiên vi khuẩn được Smith đặt tên là *Bacillus solanacearum*, tiếp theo, vi khuẩn được đổi tên là *Pseudomonas solanacearum* (Smith, 1896). Dựa trên các nghiên cứu phân loại mới, *B. solanacearum* đã được đổi tên lại là *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995). Sau Hội nghị Quốc tế lần thứ 2 về vi khuẩn năm 1997, đa số các tác giả gọi vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc là *Ralstonia solanacearum*.

1.4. Phương thức tồn tại, xâm nhập, lan truyền và phổ ký chủ

Vi khuẩn *R. solanacearum* tồn tại trong đất, tàn dư thực vật. Nhiều loài cỏ dại là ký chủ phụ của loài vi khuẩn này, là cầu nối giữa nguồn bệnh với cây trồng. Vi khuẩn còn tồn tại trong hạt giống. Ở Indonesia và Trung Quốc, hạt lạc thu từ những cây nhiễm bệnh có thể truyền bệnh cho vụ sau. Vi khuẩn tồn tại trên vỏ hạt, vỏ lụa và trong phôi hạt (Middleton và Hayward, 1990; Machmud, 1993; Anitha *et al.*, 2003).

Vi khuẩn *R. solanacearum* xâm nhập vào cây lạc qua vết thương cơ giới hoặc qua lỗ mở tự nhiên ở rễ của cây và được nhân lên nhanh chóng trong mạch dẫn. Bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc lây lan chủ yếu qua đất. Trong số các vi khuẩn hại cây trồng thì vi khuẩn *R. solanacearum* bền vững nhất trong đất.

Ngoài cây lạc (*Arachis hypogaea* L.), vi khuẩn *R. solanacearum* còn gây hại trên 450 loài cây thuộc 54 họ thực vật khác nhau.

1.5. Nghiên cứu đa dạng di truyền vi khuẩn héo xanh hại lạc

Nhiều tác giả sử dụng khái niệm biovar và nòi là khái niệm cơ bản để phân biệt đặc tính gây bệnh của vi khuẩn *R. solanacearum* (Hayward, 1990). Biovar của vi khuẩn *R. solanacearum* được xác định dựa trên khả năng chuyển hóa cacbon hydrat, cụ thể là khả năng ô xy hóa 3 đường đôi (cellobiose, lactose, maltose) và 3 rượu Hexo - cacbon (dulcitol, manitol, sorbitol) (Hayward, 1964; He *et al.*, 1983). Có 5 biovar của vi khuẩn *R. solanacearum* được ghi nhận, trong đó biovar 1, biovar 3 và biovar 4 gây hại cho lạc, còn biovar 2 và biovar 5 không gây bệnh cho lạc. Biovar 1 gây bệnh hại lạc ở Mỹ, còn hầu hết các isolate từ lạc ở các nước châu Á, châu Phi chủ yếu biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1. Buddenahem và Kelman (1964), Hayward (1964), He *et al.* (1983) đã phân chia các isolate vi khuẩn *R. solanacearum* thành 5 nòi dựa trên phổ ký chủ.

Các nghiên cứu ở Việt Nam từ năm 1997-2002 đã xác định nguồn vi khuẩn *R. solanacearum* phân lập trên cây lạc bị bệnh héo xanh đều thuộc biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1 (Đỗ Tấn Dũng, 1999; Nguyễn Xuân Hồng và cs., 2002).

1.6. Nghiên cứu phòng chống bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc

Trên thế giới, từ năm 1910 biện pháp dùng giống kháng bệnh HXVK đã được biết đến trên cây lạc. Những giống lạc kháng *R. solanacearum* thường có tỷ lệ nhiễm bệnh HXVK trong khoảng 10%, trong khi đó những giống nhiễm bệnh ở cùng điều kiện thì tỷ lệ nhiễm bệnh lên đến 90% (Mehan *et al.*, 1994). Ở Việt Nam, Nguyễn Văn Liễu và cs. (1998) đã đánh giá 715 mẫu giống lạc trong tập đoàn cho thấy hầu hết các giống mẫn cảm với bệnh HXVK (chiếm 95,9%), giống Gié Nho Quan có mức kháng cao. Một số tác giả đã chọn tạo thành công giống lạc như: MD7, TK10 kháng bệnh héo xanh vi khuẩn cao đưa vào khảo nghiệm diện rộng và sản xuất tại một số vùng sinh thái (Nguyễn Xuân Hồng và cs., 2002; Nguyễn Thị Vân và cs., 2013).

Luân canh cây trồng không phải ký chủ của vi khuẩn *R. solanacearum* là một trong những giải pháp quan trọng giúp giảm mật độ vi khuẩn trong đất và hạn chế tối đa nguồn bệnh từ các tàn dư thực vật vụ trước. Xử lý và cải tạo đất bằng việc bón tăng cường phân chuồng, lưu huỳnh, canxi cũng đem lại những kết quả khác biệt nhau (Kelman *et al.*, 1994).

Biện pháp sinh học phòng chống bệnh HXVK chủ yếu sử dụng các chế phẩm vi sinh vật đối kháng. Nhiều loại vi khuẩn đối kháng với vi khuẩn gây bệnh héo xanh như *Pseudomonas cepacia*, *Ps. fluorescens*, *Bacillus polymyxa*, *B. subtilis*, v.v,...

Biện pháp dùng thuốc bảo vệ thực vật được cho là ít có hiệu quả trong phòng chống vi khuẩn *R. solanacearum* do vi khuẩn này có nguồn gốc từ đất xâm nhiễm gây bệnh và sinh sản trong hệ thống mạch dẫn của cây.

Để kiểm soát và phòng chống bệnh HXVK, yếu tố quan trọng là sử dụng giống sạch bệnh, dùng giống chống chịu với bệnh HXVK, luân canh với những cây trồng không phải là ký chủ của bệnh, áp dụng những biện pháp canh tác tốt (vệ sinh đồng ruộng và cây trồng, quản lý giun đất, loại bỏ thân cây bị bệnh, làm cỏ, khử trùng nông cụ, không tưới nước bị ô nhiễm, cày ải phơi nắng đất,...).

1.7. Sử dụng chỉ thị phân tử trong nghiên cứu bệnh héo xanh hại lạc và chọn lọc giống kháng bệnh

Đối với cây lạc, chỉ thị SSR (Simple Sequence Repeat) là một công cụ về di truyền phù hợp trong việc lập bản đồ liên kết di truyền, phân tích đa dạng và trong các chương trình chọn giống. Việc nhận biết các dòng, giống kháng bệnh héo xanh vi khuẩn thuyết phục nhất là đánh giá phản ứng của các dòng lạc khi lây nhiễm với vi khuẩn gây bệnh, theo dõi vật liệu lây nhiễm qua một số thời vụ trồng. Chỉ thị SSR được đánh giá là cho mức độ đa hình cao hơn so với các chỉ thị RFLP, RAPD.

Ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống kháng bệnh là con đường ngắn và hiệu quả. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu và sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn trên thế giới còn hạn chế so với cây trồng khác. Một số công trình nghiên cứu trên thế giới đã xác định được các chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn như 7G2, PM137, P3M59, P1M5,.. Ở Việt Nam, ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống lạc kháng bệnh mới dừng ở nội dung đánh giá đa dạng di truyền vi khuẩn gây bệnh và đa dạng di truyền mẫu giống lạc.

CHƯƠNG 2. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1. Điều tra, thu thập và phân lập vi khuẩn gây héo xanh lục ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

- Điều tra, thu thập mẫu bệnh héo xanh lục ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

- Phân lập vi khuẩn *R. solanacearum* gây héo xanh lục thu thập từ một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

Nội dung 2. Nghiên cứu đa dạng di truyền vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc.

- Xác định biovar, nòi một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc.

- Nghiên cứu một số yếu tố (môi trường nuôi cấy, nhiệt độ, pH) ảnh hưởng đến sự phát triển của isolate vi khuẩn *R. solanacearum* thuộc các biovar khác nhau gây bệnh héo xanh hại lạc.

- Nghiên cứu đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* bằng phân tích ADN, sự phân bố của biovar và nhóm di truyền của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam.

Nội dung 3. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng, giống lạc và xác định dòng, giống kháng bệnh.

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo kết hợp chọn lọc mẫu giống lạc kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử và một số đặc điểm nông học của tập đoàn mẫu giống lạc.

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo kết hợp chọn lọc dòng lạc kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử và một số đặc điểm nông học của các dòng lai.

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo kết hợp chọn lọc dòng lạc kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử và một số đặc điểm nông học của các dòng lạc triển vọng.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Đề tài thực hiện tại Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Viện Công nghệ sinh học, Viện Bảo vệ thực vật, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm và các địa phương thu mẫu bệnh (Bắc Giang, Bắc Ninh, Hà Nội, Hòa Bình, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh). Thời gian thực hiện từ tháng 01 năm 2012 đến tháng 12 năm 2014.

2.3. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn vi khuẩn gồm 61 isolate gây bệnh héo xanh được thu thập từ các tỉnh: Bắc Giang, Bắc Ninh, Hà Nội, Hòa Bình, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An và Hà Tĩnh. Từ nguồn vật liệu 61 isolate vi khuẩn đã tách chiết ADN 56 mẫu thành công đưa vào nghiên cứu đa dạng di truyền (ADN 5 isolate tách chiết không đạt yêu cầu).

Mẫu giống lạc: tập đoàn mẫu giống lạc gồm 63 mẫu giống; Các dòng lạc từ tổ hợp lai do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ - Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam cung cấp. Giống lạc đối chứng gồm: Gié Nho Quan và BW15 là giống có mức kháng cao đối với bệnh HXVK; ICGV3704 là

giống chuẩn nhiệm của Viện Nghiên cứu Cây trồng cạn và bán khô hạn Quốc tế - ICRISAT; đối chứng sản xuất gồm: giống MD7 là giống kháng bệnh HXVK và L14 là giống phổ biến trong sản xuất hiện nay.

Chỉ thị SSR (simple sequence repeat), RAPD (random amplified polymorphic deoxy nucleic acid) được đặt mua hãng Operon (Mỹ). Sử dụng 3 chỉ thị phân tử SSR liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK gồm: pPGPseq3F5, GA161 và 7G2.

2.4. Môi trường, hóa chất dùng trong nghiên cứu

2.4.1. Môi trường, hóa chất sử dụng trong phân lập vi khuẩn, phản ứng sinh hóa

Môi trường TZCA, SPA, môi trường cơ sở để xác định biovar. Các hóa chất cần thiết cho việc xác định biovar của vi khuẩn *R. solanacearum* như: Các loại đường: lactose, maltose, cellobiose; các loại rượu 6 cacbon: sorbitol, manitol, dulcitol.

2.4.2. Môi trường, hóa chất sử dụng trong PCR

Đệm CTAB, đệm TE. Hóa chất điện di: Agarose; Đệm 10× TBE. Hóa chất dùng cho phản ứng PCR: dNTP, Taq polymerase, MgCl₂, đệm 10× PCR được đặt mua từ hãng Operon (Mỹ). Trang thiết bị trong phòng thí nghiệm: Hộp petri, ống nghiệm, ống đong, bình tam giác, que cấy, đèn cồn, panh, dao kéo, tủ định ôn, tủ sấy, máy lọc nước, kính hiển vi, nồi hấp,... và các vật dụng khác dùng trong nghiên cứu bệnh vi khuẩn hại cây trồng.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Phương pháp điều tra, thu thập mẫu bệnh trên đồng ruộng

Điều tra bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc ở một số tỉnh theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT (Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2010).

2.5.2. Phương pháp phân lập vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc

Phân lập vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc được áp dụng theo Mehan (1995), Nguyễn Văn Tuất (1997).

2.5.3. Phương pháp thử phản ứng siêu nhạy của nguồn vi khuẩn gây bệnh héo xanh hại lạc

Các isolate vi khuẩn *R. solanacearum* được xác định độc tính bằng phản ứng siêu nhạy trên cây thuốc lá (*Nicotiana tabacum*). Sau thời gian bảo quản, các isolate vi khuẩn được kiểm tra, đánh giá mức độ mọc trên môi trường SPA sau đó tiêm vào mô lá cây thuốc lá (với nồng độ 10⁸ CFU/ml đến 10⁹ CFU/ml, liều lượng 1/20 ml/1 mũi tiêm), cây đối chứng tiêm nước cất vô trùng. Tiêm theo hướng mặt trên của lá bánh tẻ và mũi kim tiêm úp xuống. Theo dõi mức độ hoại tử của mô lá thuốc lá sau 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau tiêm. Isolate nào gây hoại tử trên cây thuốc lá trong thời gian càng ngắn càng có độc tính cao (Kinaly và cs., 1983).

2.5.4. Phương pháp xác định biovar của vi khuẩn *R. solanacearum*

Xác định biovar của vi khuẩn *R. solanacearum* theo Hayward (1995a). Năm biovar của vi khuẩn *R. solanacearum* được nhận biết trên cơ sở khả năng ô xi hóa 3 đường đôi (cellobiose, lactose, maltose) và 3 rượu Hexo - cacbon (dulcitol, manitol, sorbitol). Isolate vi khuẩn thuộc biovar 1 nếu không phản ứng với cả 6 nguồn các bon (3 loại đường và 3 loại rượu); thuộc biovar 2 nếu chỉ phản ứng với 3 loại đường; thuộc biovar 3 nếu có phản ứng với cả 6 nguồn các bon và thuộc biovar 4 nếu chỉ phản ứng với 3 loại rượu; thuộc biovar 5 thì phản ứng với 3 loại đường và 1 loại rượu là manitol, không phản ứng với 2 loại rượu còn lại (sorbitol và dulcitol).

2.5.5. Phương pháp thí nghiệm một số yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn *R. solanacearum* thuộc các biovar khác nhau gây bệnh héo xanh hại lạc

Các isolate thuộc các biovar vi khuẩn *R. solanacearum* thí nghiệm bao gồm: biovar 3: NA1, TH1, SS1, HT3; biovar 4: BG1, LS1. Mỗi công thức lặp lại 3 đĩa petri/lần nhắc cho một isolate vi khuẩn.

2.5.5.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự phát triển khuẩn lạc vi khuẩn thuộc biovar khác nhau

Chọn các khuẩn lạc đơn có đặc tính nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn, ở giữa có màu phớt hồng là đặc trưng của vi khuẩn *R. solanacearum* được tách và nhân trên môi trường SPA và TZCA ở pH 7,0. Đặt đĩa nuôi cấy trong tủ định ôn ở mức nhiệt độ 30°C. Theo dõi hình dạng, màu sắc và đo đường kính khuẩn lạc (mm) sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ nuôi cấy.

2.5.5.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sự phát triển khuẩn lạc vi khuẩn

Các khuẩn lạc đơn có đặc tính nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn, ở giữa có màu phớt hồng cấy trên môi trường SPA, pH 7,0. Đặt đĩa nuôi cấy trong tủ định ôn và tiến hành đo đường kính khuẩn lạc (mm) ở mức nhiệt độ 20°C, 25°C, 30°C, 35°C sau 72 giờ nuôi cấy.

2.5.5.3. Ảnh hưởng của độ pH nuôi cấy đến sự phát triển khuẩn lạc vi khuẩn

Chọn các khuẩn lạc đơn có đặc tính nhầy, màu trắng ngà, rìa mép nhẵn, ở giữa có màu phớt hồng cấy trên môi trường SPA. Đặt đĩa nuôi cấy trong tủ định ôn ở mức nhiệt độ 30°C và tiến hành đo đường kính của khuẩn lạc (mm) nuôi cấy trên môi trường SPA với các mức pH 6,0; pH 6,5; pH 7,0; pH 7,5 và pH 8,0 sau 72 giờ nuôi cấy.

2.5.6. Phương pháp phân tích ADN

2.5.6.1. Phương pháp tách chiết ADN từ lá lạc

ADN từ lá lạc được tách chiết và tinh sạch bằng phương pháp CTAB của Saghai-Marooof *et al.* (1994).

2.5.6.2. Phương pháp tách chiết ADN từ vi khuẩn

Hút 1,6 ml dịch vi khuẩn vào mỗi tuýp 1,5 ml, ly tâm 6.000 vòng/phút trong 10 phút, thu tủa sau đó hòa tan tủa trong 1 ml dung dịch TES (10 mM Tris pH 7,5 + 1 mM EDTA + 100 mM NaCl). Tiến hành ủ mẫu ở nhiệt độ -20°C trong 1 giờ, sau đó ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút, thu tủa. Hòa tan tủa có chứa ADN bằng 50 µl dung dịch đệm TE (EDTA 0,5 M, pH 8,0: 10 mM + Tris HCl pH 8,0: 1 mM). Tuýp có chứa ADN tổng số tách chiết được bảo quản trong điều kiện -20°C cho đến khi sử dụng.

2.5.6.3. Kỹ thuật PCR với các môi SSR

Sử dụng ADN và các chỉ thị đặc hiệu đã thiết kế được tiến hành trên máy PCR PTC-100 (MJ Research Inc, Mỹ) với tổng thể tích là 25 µl/1 mẫu gồm những thành phần sau: 13,0 µl nước cất vô trùng đã khử ion; 3,0 µl đệm 10x PCR; 1,5 µl dNTP (2,5 mM); 1,0 µl MgCl₂ (50 mM); 2,0 µl môi xuôi (20 µM); 2,0 µl môi ngược (20 µM); 0,5 µl enzyme Taq polymerase (5 đơn vị/µl) và 2,0 µl ADN tổng số được tách chiết. Chu trình nhiệt bao gồm các bước: (1) mức nhiệt 94°C trong 4 phút; (2) mức nhiệt 94°C trong 1 phút; (3) mức nhiệt 58°C trong 1 phút; (4) mức nhiệt 72°C trong 2 phút, lặp lại 40 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4 và điều chỉnh mức nhiệt 72°C trong 7 phút; giữ nhiệt độ ở 4°C.

2.5.6.4. Kỹ thuật điện di trên gel polyacrylamide

Bản gel được điện di trên máy Sequi-Gen GT (BioRad Laboratories Inc., Hercules, California, USA) trong đệm 0,5x TBE (Tris-borate-EDTA).

2.5.6.5. Nghiên cứu đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* bằng phân tích ADN

Sử dụng 10 môi RAPD để đánh giá đa dạng di truyền của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc bao gồm: OPAB5, OPAL8, OPAK14, OPB7, OPC2, OPC15, OPE17, OPE18, OPE19 và OPE20. Trình tự các môi này được tổng hợp tại hãng Operon (Mỹ). Tính đa hình thể hiện ở sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn ADN khi so sánh giữa các isolate với nhau trong cùng 1 môi. Số phân đoạn ADN nhân bản dao động từ 8 đến 30 phân đoạn tùy thuộc vào từng loại môi RAPD khác nhau.

Nguồn vi khuẩn gồm 61 isolate gây bệnh héo xanh được thu thập từ các tỉnh: Bắc Giang, Bắc Ninh, Hà Nội, Hòa Bình, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An và Hà Tĩnh. Từ nguồn vật liệu 61 isolate vi khuẩn đã tách chiết ADN 56 mẫu thành công đưa vào nghiên cứu đa dạng di truyền (ADN 5 isolate tách chiết không đạt yêu cầu). Phản ứng PCR-RAPD với tổng thể tích là 15 μ l, bao gồm đệm PCR 10x và nồng độ cuối cùng của các thành phần khác là: $MgCl_2$ 2,0 mM; dNTPs 0,2 mM; môi 0,5 μ M; 0,2 đơn vị Taq polymerase và 20 ng ADN tổng số. Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSYSpc 2.0 (Applied Biostatistics Inc., USA, 1998).

2.5.6.6. Phương pháp chọn lọc các dòng, giống lạc kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

Sử dụng 3 chỉ thị phân tử SSR gồm pPGPseq3F5, GA161 và 7G2 liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, có độ tin cậy cao để phân tích, chọn lọc mẫu giống lạc mang gen kháng bệnh héo xanh vi khuẩn. Những dòng, giống lạc sau khi phân tích với chỉ thị có băng tương ứng với giống chuẩn kháng (Gié Nho Quan hoặc BW15) được chọn là dòng, giống có khả năng kháng bệnh HXVK.

2.5.7. Phương pháp lây nhiễm bệnh nhân tạo đánh giá khả năng chống chịu nguồn vật liệu

Nguồn vi khuẩn được làm thuần, nhân lên trên môi trường SPA bằng phương pháp trang trên đĩa petri, sau 2 ngày đến 3 ngày nuôi cấy, rửa dịch vi khuẩn đã nuôi cấy vào nước cất vô trùng với mật độ tế bào vi khuẩn từ 10^8 CFU/ml đến 10^9 CFU/ml.

Hạt lạc đã nảy mầm, rút nanh được lây nhiễm với dịch vi khuẩn (mật độ tế bào vi khuẩn từ 10^8 CFU/ml đến 10^9 CFU/ml) bằng cách ngâm hạt lạc đã nảy mầm, rút nanh vào dịch vi khuẩn trong thời gian 20 phút trước khi đem gieo, sau đó trồng trên nền sick-plot để đánh giá khả năng kháng nhiễm theo thang 6 điểm của ICRISAT (Mehan *et al.*, 1994).

Điểm số	Tỷ lệ cây chết (%)	Mức độ chống chịu bệnh HXVK	Ký hiệu
1	≤ 10	Kháng cao	HR
2	>10 - 20	Kháng	R
3	>20 - 30	Kháng trung bình	MR
4	>30 - 50	Nhiễm trung bình	MS
5	>50 - 90	Nhiễm	S
6	> 90	Nhiễm nặng	HS

2.5.8. Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng đánh giá tập đoàn và so sánh giống

2.5.8.1. Phương pháp thí nghiệm đánh giá tập đoàn và dòng lai

Phương pháp thí nghiệm đánh giá tập đoàn và dòng lai áp dụng theo quy trình của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm và theo tài liệu mô tả của Vũ Văn Liết (2009). Địa điểm thí nghiệm được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, huyện Thanh Trì, Hà Nội.

2.5.8.2. Phương pháp thí nghiệm so sánh giống

Thí nghiệm so sánh giống được áp dụng theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lạc (QCVN 01-57: 2011/BNNPTN). Bố trí thí nghiệm theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, 3 lần nhắc lại. Diện tích ô thí nghiệm 7,5 m² (5 m x 1,5 m), mặt luống rộng 1,2 m, rãnh rộng 0,3 m. Mỗi luống trồng 4 hàng dọc. Mức phân bón cho 1 ha: 5 tấn phân chuồng + 30 kg N + 90 kg P₂O₅ + 60 kg K₂O và 500 kg vôi bột.

2.5.9. Chỉ tiêu theo dõi

Số liệu theo dõi về sinh trưởng phát triển của các dòng, giống lạc thí nghiệm được áp dụng theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống lạc (QCVN 01-57: 2011/BNNPTN). Với tiêu chí chọn tạo giống lạc kháng bệnh HXVK và có năng suất cao (từ 35,0 tạ/ha trở lên) nên đối với các dòng lai, dòng triển vọng sau khi đánh giá, đề tài chỉ chọn các dòng vừa có khả năng kháng bệnh HXVK, vừa có năng suất từ 35,0 tạ/ha trở lên để tiếp tục chọn lọc và phát triển.

2.5.10. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý trong Microsoft Excel và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai bằng chương trình IRRISTAT 4.0.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều tra, thu thập và phân lập vi khuẩn héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam

3.1.1. Tình hình bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam

Đề tài đã tiến hành điều tra tình hình bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc trên 3 loại đất khác nhau, với các công thức luân canh khác nhau và trên giống lạc được trồng phổ biến ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam trong vụ Xuân năm 2012 (bảng 3.1).

Qua bảng, cho thấy trong vụ Xuân năm 2012, các giống lạc trồng ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam bị bệnh héo xanh vi khuẩn *R. solanacearum* gây hại với tỷ lệ bệnh tại các điểm điều tra từ 2,5% đến 23,3%. Bệnh phổ biến và gây hại nặng ở vùng đất đồi gò (chuyên màu, xen canh với sắn, luân canh với ngô,..) với tỷ lệ trung bình là 21,6%; bệnh cũng khá nặng trên đất chuyên màu (luân canh với cây màu) với tỷ lệ bệnh trung bình là 12,3%; bệnh nhẹ hơn trên đất thịt nhẹ (luân canh với lúa nước) với tỷ lệ bệnh trung bình là 2,7%.

Bảng 3.1. Tình hình bệnh héo xanh vi khuẩn hại lạc tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam, vụ Xuân năm 2012

Loại đất/hệ thống cây trồng	Địa điểm	Giống	Tỷ lệ bệnh (%)
Đất đồi gò (Chuyên màu, xen canh với sắn, luân canh với ngô,...)	Cẩm Xuyên, Hà Tĩnh	Sen lai	19,7 ± 2,27
	Lương Sơn, Hòa Bình	Lạc địa phương	21,2 ± 2,34
	Xuân Mai, Chương Mỹ	Lạc địa phương, L14	22,2 ± 2,61
	Hiệp Hòa, Bắc Giang	Lạc địa phương, L14	23,3 ± 1,95
	Trung bình		21,6 ± 2,29
Đất chuyên màu (Luân canh với cây màu)	Đức Thọ, Hà Tĩnh	L14	10,7 ± 1,08
	Hung Nguyên, Nghệ An	Lạc địa phương	12,2 ± 1,23
	Tĩnh Gia, Thanh Hóa	L14, Sen	10,8 ± 1,54
	Nho Quan, Ninh Bình	Lạc địa phương	14,2 ± 2,43
	Lạc Sơn, Hòa Bình	Lạc địa phương	12,5 ± 1,96
	Việt Yên, Bắc Giang	Lạc địa phương	13,5 ± 1,96
	Trung bình		12,3 ± 1,70
Đất ruộng (Luân canh với lúa nước)	Diễn Châu, Nghệ An	L14	2,5 ± 0,57
	Hậu Lộc, Thanh Hóa	L14	2,8 ± 0,79
	Nga Sơn, Thanh Hóa	L14	2,8 ± 0,43
	Ý Yên, Nam Định	Sán Dầu	2,7 ± 0,54
	Trung bình		2,7 ± 0,58

3.2. Nghiên cứu biovar, nòi và đa dạng di truyền vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc

3.2.1. Xác định biovar, nòi một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum*

Kết quả xác định biovar của 61 isolate vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc thu thập ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam cho thấy có 49 isolate phản ứng với cả 6 nguồn các bon (3 loại đường gồm: lactose, maltose, cellobiose và 3 loại rượu gồm: sorbitol, manitol, dulcitol) nên thuộc biovar 3 (chiếm 80,3% số mẫu). Có 12 isolate chỉ phản ứng với 3 loại rượu gồm sorbitol, manitol, dulcitol mà không phản ứng với 3 loại đường gồm: lactose, maltose, cellobiose nên thuộc biovar 4 (chiếm 19,7% số mẫu). Như vậy trong tổng số 61 isolate vi khuẩn phân tích, tỷ lệ biovar 3 phổ biến nhất (chiếm 80,3%).

Theo Buddenhagen và Kelman (1964), He *et al.* (1983) vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc ở vùng đất thấp của vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới thuộc nòi 1. Nòi 1 có phạm vi ký chủ rộng, lây nhiễm các cây họ cà (*Solanaceae*) và một số cây họ đậu (*Leguminosae*). Các tác giả Nguyễn Xuân Hồng và cs. (1997), Đỗ Tấn Dũng (1999), Nguyễn Thị Yến và cs. (2002) đã xác định vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc ở miền Bắc Việt Nam thuộc biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1. Như vậy so với kết quả xác định biovar, nòi nguồn vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam những năm 1997-1999, sau khoảng

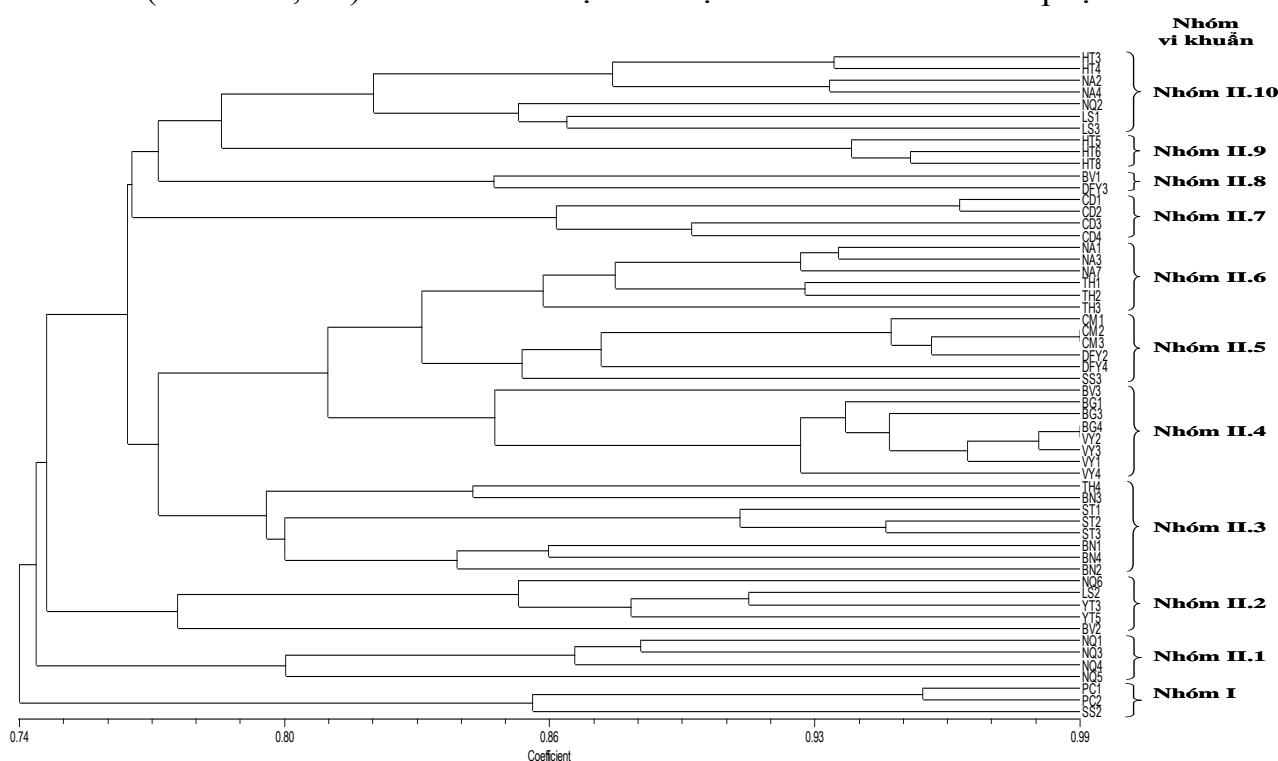
15 năm đến nay biovar, nòi vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh lác vẫn không thay đổi thuộc biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1.

3.2.2. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến sự phát triển khuẩn lác của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh lác thuộc các biovar khác nhau

Đề tài đã tiến hành thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố như môi trường nuôi cấy, nhiệt độ và pH môi trường đến sự phát triển khuẩn lác của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* gây bệnh héo xanh lác gồm: biovar 3 (HT3, NA1, TH1, SS1) và biovar 4 (BG1, LS1). Kết quả nghiên cứu sự ảnh hưởng của một số yếu tố (môi trường nuôi cấy, nhiệt độ, pH) đến phát triển khuẩn lác của isolate vi khuẩn *R. solanacearum* thấy cơ bản không có sự khác biệt giữa 2 biovar 3 và biovar 4.

3.2.3. Nghiên cứu đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* bằng phân tích ADN

Bằng phân tích phân tử RAPD, các isolate vi khuẩn phân tích được chia thành 2 nhóm chính và khá gần nhau về mặt di truyền (với hệ số tương đồng dao động từ 0,740 đến 0,990). Nhóm I gồm 3 isolate (chiếm 5,4%): PC1, PC2 và SS2. Hệ số tương đồng di truyền cao nhất trong nhóm là 0,955 (giữa isolate PC1 và PC2). Nhóm II gồm 53 isolate (chiếm 94,6%) vi khuẩn còn lại và được chia thành 10 nhóm phụ.



Hình 3.8. Quan hệ di truyền giữa các isolate vi khuẩn héo xanh lác ở một số tỉnh trồng lác miền Bắc Việt Nam

3.2.4. Sự phân bố các biovar và đa dạng di truyền của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* hại lác ở một số tỉnh trồng lác miền Bắc Việt Nam

Kết quả phân tích phân bố các biovar vi khuẩn *R. solanacearum* hại lác ở một số tỉnh trồng lác miền Bắc Việt Nam cho thấy, biovar 3 của vi khuẩn *R. solanacearum* phân bố với tỷ lệ cao nhất ở Hà Tĩnh (100%), tiếp đến là Bắc Giang (87,5%), Hà Nội (82,6%), Nghệ An và Hòa Bình (cùng 80,0%), Thanh Hóa và Bắc Ninh (cùng 75,0%), thấp nhất

là ở Ninh Bình (50,0%). Biovar 4 phân bố nhiều nhất ở Ninh Bình (50,0%), tiếp đến là Thanh Hóa và Bắc Ninh (cùng 25,0%), Hòa Bình và Nghệ An (cùng 20,0%), Hà Nội (17,4%) và Bắc Giang (12,5%). Nguồn vi khuẩn *R. solanacearum* ở Hà Tĩnh phân lập được chỉ có biovar 3 (chiếm 100%), không có biovar 4, còn lại các địa phương khác đều có cả biovar 3 và biovar 4 (bảng 3.9).

Bảng 3.9. Phân bố biovar vi khuẩn *R. solanacearum* hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam (năm 2012)

STT	Tỉnh	Số lượng isolate	Biovar 3		Biovar 4	
			Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Hà Tĩnh	6	6	100	0	0,0
2	Nghệ An	5	4	80,0	1	20,0
3	Thanh Hóa	4	3	75,0	1	25,0
4	Ninh Bình	6	3	50,0	3	50,0
5	Hòa Bình	5	4	80,0	1	20,0
6	Hà Nội	23	19	82,6	4	17,4
7	Bắc Ninh	4	3	75,0	1	25,0
8	Bắc Giang	8	7	87,5	1	12,5
Tổng số		61	49	80,3	12	19,7

Phân tích phân bố nhóm di truyền của một số isolate vi khuẩn *R. solanacearum* hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam trên bảng 3.9 thấy rằng nhóm II có 53/56 isolate vi khuẩn (chiếm 94,6%), trong khi nhóm I chỉ có 3/56 isolate vi khuẩn (chiếm 5,4%). Nhóm II phân thành 10 nhóm phụ (từ II.1 đến II.10), trong đó nhóm phụ II.3 và II.4 nhiều nhất đều có 8/56 isolate vi khuẩn (chiếm 14,3%). Số nhóm phụ có isolate vi khuẩn chiếm tỷ lệ trung bình là II.5 và II.6 (cùng chiếm 10,7%), nhóm II.10 (chiếm 12,5%); các nhóm phụ có tỷ lệ thấp hơn là II.8 (chiếm 3,6%), II.9 (chiếm 5,4%), II.1 (chiếm 7,1%), II.7 (chiếm 7,1%), và nhóm II.2 (chiếm 8,9%).

Bảng 3.10. Phân bố của các nhóm vi khuẩn *R. solanacearum* hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam (năm 2012)

STT	Tên nhóm	Số isolate	Tỷ lệ (%)	Tên isolate
1	I	3	5,4	PC1, PC2 và SS2.
2	II.1	4	7,1	NQ1, NQ3, NQ4 và NQ5.
3	II.2	5	8,9	NQ6, LS2, YT3, YT5 và BV2.
4	II.3	8	14,3	TH4, ST1, ST2, ST3, BN1, BN2, BN3, BN4.
5	II.4	8	14,3	BV3, BG1, BG3, BG4, VY1, VY2, VY3, VY4.
6	II.5	6	10,7	CM1, CM2, CM3, ĐFY2, ĐFY4 và SS3.
7	II.6	6	10,7	NA1, NA3, NA7, TH1, TH2 và TH3.
8	II.7	4	7,1	CĐ1, CĐ2, CĐ3 và CĐ4.
9	II.8	2	3,6	BV1 và ĐFY3.
10	II.9	3	5,4	HT5, HT6 và HT8.
11	II.10	7	12,5	HT3, HT4, NA2, NA4, NQ2, LS1 và LS3.
Tổng cộng		56	100	

Trong 56 isolate, vi khuẩn *R. solanacearum* khá đa dạng ở Hà Nội có cả biovar 3, biovar 4 và 7 nhóm phụ về đa dạng di truyền; tiếp theo là Ninh Bình có cả biovar 3, biovar 4 và 3 nhóm phụ về đa dạng di truyền; đa dạng ở mức trung bình tại Nghệ An, Thanh Hóa, Hòa Bình có cả 2 loại biovar 3 và biovar 4 và có 2 nhóm phụ về đa dạng di truyền; các tỉnh Bắc Ninh, Bắc Giang có cả 2 loại biovar 3 và biovar 4 nhưng chỉ có 1 nhóm phụ về đa dạng di truyền. Riêng tỉnh Hà Tĩnh chỉ có biovar 3 và có 2 nhóm phụ về đa dạng di truyền mà không có biovar 4 (bảng 3.10).

3.3. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của tập đoàn mẫu giống lạc, dòng lai và dòng triển vọng bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc dòng, giống kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của tập đoàn mẫu giống lạc bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc mẫu giống kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.1.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn tập đoàn mẫu giống lạc bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo

Kết quả đánh giá cho thấy, có 02/63 mẫu giống có mức kháng cao (O713.24.1, BW15) chiếm 3,2%; có 07/63 mẫu giống có mức kháng (VAG 03.2, Gié Nho Quan, BWP-2, BWP-4, BWP-6, BWP-7, BWP-11) chiếm 11,1%; có 22/63 mẫu giống có mức kháng trung bình chiếm 34,9%; có 19/63 mẫu giống có mức nhiễm trung bình chiếm 30,1%; có 10/63 mẫu giống có mức nhiễm chiếm 15,9% và có 03/63 mẫu giống có mức nhiễm nặng (ICGV3704-chuẩn nhiễm, ICGV89104, ICGV98370) chiếm 4,8%. Đây là cơ sở để chọn các mẫu giống có khả năng kháng bệnh làm vật liệu nhằm chọn tạo các giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn phục vụ cho sản xuất.

3.3.1.2. Đánh giá tập đoàn mẫu giống lạc có tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử

Hai giống lạc gồm Gié Nho Quan và BW15 có mức kháng bệnh héo xanh vi khuẩn cao khi lây nhiễm nhân tạo được sử dụng làm giống đối chứng kháng bệnh. Giống ICGV3704 có mức nhiễm bệnh cao trong lây nhiễm bệnh nhân tạo được sử dụng làm đối chứng nhiễm bệnh.

Trong 63 mẫu giống đánh giá, có 38/63 mẫu giống mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với cả 3 chỉ thị nghiên cứu (chiếm 60,3%); có 01/63 mẫu giống (BWP-10) mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 2 chỉ thị (chiếm 1,6%); có 03/63 mẫu giống (ICG11515, Sen thất và BWP-4) mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 1 trong 3 chỉ thị (chiếm 4,8%); còn lại 21/63 mẫu giống không mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị (chiếm 33,3%). Các mẫu giống có khả năng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị nghiên cứu gồm pPGPseq3F5, GA161 và 7G2 là nguồn vật liệu tốt để lai tạo chọn lọc giống kháng bệnh héo xanh vi khuẩn.

3.3.1.3. Đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu của tập đoàn mẫu giống lạc

Đề tài đã tiến hành đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của tập đoàn mẫu giống lạc vụ Xuân năm 2012 và năm 2013 kết hợp với các đặc tính kháng bệnh trên cơ sở lây nhiễm bệnh nhân tạo và kết hợp sử dụng chỉ thị liên kết với tính trạng héo xanh vi khuẩn chọn lọc các mẫu giống lạc vừa mang gen kháng vừa có năng suất để định hướng trong quá trình chọn tạo giống cho sản xuất.

Kết quả đánh giá cho thấy: số quả chắc/cây dao động từ 8,0 quả/cây đến 13,1 quả/cây. Khối lượng 100 quả cao nhất là giống L08 (169,5 g), thấp nhất là giống Gié Nho Quan (88,1 g). Khối lượng 100 hạt cao nhất là giống L26 (65,8 g), thấp nhất là giống ICGV01239 (42,8 g). Tất cả các giống trong tập đoàn đều có tỷ lệ hạt/quả đạt trên 70%. Năng suất thực thu của giống BWP-1 trung bình 2 năm cao nhất (38,8 tạ/ha), tiếp đến là giống BWP-11 (37,9 tạ/ha); thấp nhất là giống Gié Nho Quan (20,7 tạ/ha).

Tổng hợp kết quả đánh giá khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng lây nhiễm nhân tạo kết hợp với sử dụng chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn và đặc điểm nông sinh học của tập đoàn 63 mẫu giống lạc cho thấy có 26 mẫu giống lạc có ưu thế làm nguồn vật liệu trong chọn giống (bảng 3.15).

Bảng 3.15. Khả năng kháng bệnh HXVK và năng suất thực thu của một số mẫu giống lạc trong tập đoàn (2012-2013)

STT	Tên mẫu giống	Mức chống chịu bệnh HXVK		Chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK			Năng suất thực thu (tạ/ha)	
		Năm 2012	Năm 2013	pPGPseq 3F5	GA161	7G2	Năm 2012	Năm 2013
1	O713.24.1	HR	HR	1	1	1	33,0	35,4
2	BW15	HR	HR	1	1	1	35,6	36,9
3	VAG 03.2	R	R	1	1	1	33,4	35,5
4	BWP-6	R	R	1	1	1	34,6	34,3
5	BWP-7	R	R	1	1	1	36,1	37,3
6	BWP-11	R	R	1	1	1	38,2	37,6
7	Gié Nho Quan	R	R	1	1	1	20,6	20,8
8	ICG 5051	MR	MR	1	1	1	27,0	28,5
9	ICGV01238	MR	MR	1	1	1	31,4	28,2
10	ICGV01239	MR	MR	1	1	1	28,9	31,2
11	ICGV6022	MR	MR	1	1	1	29,8	30,9
12	Dòng lai 2	MR	MR	1	1	1	31,8	29,2
13	ICGV01232	MR	MR	1	1	1	30,4	31,9
14	BW62	MR	MR	1	1	1	31,5	33,0
15	CG 38	MR	MR	1	1	1	33,8	31,0
16	L16	MR	MR	1	1	1	33,5	32,3
17	L17	MR	MR	1	1	1	34,4	32,1
18	ICGV01241	MR	MR	1	1	1	34,4	32,1
19	BWP-3	MR	MR	1	1	1	34,1	32,7
20	BWP-8	MR	MR	1	1	1	35,3	34,8
21	Dòng lai 14	MR	MR	1	1	1	34,1	36,2
22	BWP-13	MR	MR	1	1	1	35,4	35,1
23	O401.57.1	MR	MR	1	1	1	36,4	35,5
24	BWP-5	MR	MR	1	1	1	36,2	36,8
25	BWP-12	MR	MR	1	1	1	38,2	35,5
26	BWP-1	MR	MR	1	1	1	38,2	39,4

Ghi chú: HR: Kháng cao; R: Kháng; MR: Kháng trung bình. 1: Có chỉ thị liên kết.

Kết quả cho thấy, 26 mẫu giống lạc có khả năng kháng bệnh HXVK trong lây bệnh nhân tạo kết hợp với phân tích bằng 3 chỉ thị phân tử. Cả 26 mẫu giống lạc khi phân tích bằng 3 chỉ thị phân tử (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2) đều thể hiện khả năng kháng bệnh cao khi đều mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh và cả 26 mẫu khi lây bệnh nhân tạo đều thể hiện ở mức kháng cao, mức kháng đến mức kháng trung bình đối với bệnh HXVK. Trong số 26 mẫu giống có ưu thế về tính kháng bệnh HXVK, có 10 mẫu giống (BWP-1, BWP-11, BWP-12, BWP-7, BWP-5, BW15, O401.57.1, BWP-13, Dòng lai 14, BWP-8) vừa có khả năng kháng bệnh, vừa có năng suất cao (trung bình 2 năm trên 35 tạ/ha) là nguồn vật liệu ưu thế trong chọn giống.

3.3.2. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc từ các tổ hợp lai đơn bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc dòng có khả năng kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.2.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc từ các tổ hợp lai đơn bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo

Kết quả đánh giá cho thấy 03/50 dòng (1306.4, 1306.2 và 1219.5) có mức kháng (chiếm 6,0%), 19/50 dòng có mức kháng trung bình (chiếm 38,0%), 28/50 dòng có mức nhiễm trung bình (chiếm 56%). Giống đối chứng MD7 và Gié Nho Quan đều phản ứng với bệnh ở mức kháng, còn giống ICGV3704 nhiễm nặng đối với bệnh HXVK.

3.3.2.2. Xác định các dòng lạc từ các tổ hợp lai đơn có tình trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử

Trong số các dòng đánh giá, có 03/50 dòng (1219.7; 1204.5 và 1204.2) mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị pPGPseq3F5, GA161 và 7G2 (chiếm 6,0%); có 09/50 dòng mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với 2 chỉ thị (chiếm 18,0%); có 16/50 dòng mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với 1 trong 3 chỉ thị (chiếm 32,0%); còn lại 22/50 dòng không mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh với cả 3 chỉ thị nghiên cứu (chiếm 44,0%). Hai giống đối chứng (L14 và ICGV3704) không mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị nghiên cứu, trong khi giống Gié Nho Quan liên kết với cả 3 chỉ thị phân tử nghiên cứu.

3.3.2.3. Đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu của các dòng lạc từ các tổ hợp lai đơn

Kết quả đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của 50 dòng lạc từ các tổ hợp lai đơn vụ Xuân năm 2014 cho thấy: số quả chắc/cây cao nhất là dòng 1209.7 (14,1 quả/cây), thấp nhất là dòng 1315.45 (9,4 quả/cây); khối lượng 100 quả cao nhất là dòng 1209.2 (157,2 g), thấp nhất là dòng 1306.2 (145,4 g). Khối lượng 100 hạt cao nhất là dòng 1211.15 (68,9 g), thấp nhất là dòng 1204.6 (40,5 g). Tỷ lệ hạt/quả cao nhất là dòng 1308.2 (74,0%), thấp nhất là dòng 1212.1 (68,8%).

Về năng suất thực thu dòng 1308.2 có năng suất cao nhất (42,1 tạ/ha), thấp nhất là dòng 1217.4 (30,1 tạ/ha). Có 26/50 dòng có năng suất đạt trên 35 tạ/ha (chiếm 52,0%). Giống đối chứng L14 đạt 31,8 tạ/ha, giống ICGV3704 đạt 27,8 tạ/ha và Gié Nho Quan chỉ đạt 22,5 tạ/ha.

Từ kết quả đánh giá nhân tạo khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn kết hợp với sử dụng chỉ thị phân tử để chọn lọc các dòng có khả năng kháng bệnh và đánh giá đặc tính nông sinh học của 50 dòng đã lựa chọn được 07 dòng lạc (1306.4, 1217.3, 1219.7, 1219.5, 1213.1, 1201.1 và 1209.7) có khả năng kháng bệnh HXVK từ mức

kháng trung bình đến kháng và có năng suất cao (35,7-41,6 tạ/ha) để tiếp tục chọn lọc các năm tiếp theo (bảng 3.19).

Bảng 3.19. Khả năng kháng bệnh HXVK và năng suất thực thu của các dòng lạc từ tổ hợp lai đơn (năm 2014)

STT	Tên dòng	Mức độ chống chịu bệnh HXVK	Chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK			Năng suất thực thu (tạ/ha)
			pPGPseq3F5	GA161	7G2	
1	1306.4	R	0	1	0	36,2
2	1219.5	R	1	0	0	40,5
3	1213.1	MR	1	0	0	35,7
4	1201.1	MR	1	0	1	36,7
5	1217.3	MR	0	1	0	37,7
6	1209.7	MR	0	1	0	40,7
7	1219.7	MR	1	1	1	41,6

Ghi chú: R: Kháng; MR: Kháng trung bình. 1: Có chỉ thị liên kết; 0: Không có chỉ thị liên kết.

Kết quả cho thấy: trong đánh giá bệnh nhân tạo, có 02 dòng (1306.4 và 1219.5) có phản ứng với bệnh HXVK ở mức kháng, 05 dòng còn lại có phản ứng với bệnh HXVK ở mức kháng trung bình. Khi chọn lọc bằng chỉ thị phân tử, có 01 dòng 1219.7 có khả năng kháng bệnh khi mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh phân tích với cả 3 chỉ thị nghiên cứu, có 01 dòng 1201.1 mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh phân tích với 2 chỉ thị, 05 dòng mang băng tương tự như giống đối chứng kháng bệnh phân tích với 1 trong 3 chỉ thị nghiên cứu. Về năng suất thực thu, cả 07 dòng đạt năng suất từ 35,7-41,6 tạ/ha; trong đó có 03 dòng (1219.7, 1209.7 và 1219.5) có năng suất khá cao (40,5-41,6 tạ/ha) và hơn đối chứng.

3.3.3. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc từ một số tổ hợp lai hồi quy bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc dòng lạc kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.3.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc từ một số tổ hợp lai hồi quy bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo

Kết quả đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của 26 dòng lạc từ một số tổ hợp lai hồi quy và 3 giống đối chứng bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo qua 2 năm (2013-2014) cho thấy có 03/26 dòng (HX32, HX37 và HX35) có mức kháng (chiếm 11,5%). Có 19/26 dòng có mức kháng trung bình (chiếm 73,1%); có 4/26 dòng có mức nhiễm trung bình (chiếm 15,4%). Trong khi giống đối chứng ICGV3704 nhiễm nặng, giống L14 nhiễm trung bình còn giống Gié Nho Quan có mức kháng với bệnh héo xanh vi khuẩn.

3.3.3.2. Xác định các dòng lạc từ các tổ hợp lai hồi quy có tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử

ADN của các dòng lạc từ tổ hợp lai hồi quy được đánh giá với 3 chỉ thị phân tử SSR liên kết đã chọn lọc (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2).

Kết quả thu được, trong 26 dòng nghiên cứu, không có dòng nào mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị; có 05/26 dòng (HX15, HX23, HX26, HX27 và HX43) mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 2 chỉ thị nghiên cứu (chiếm 19,2%); có 18/26 dòng mang băng tương tự giống đối chứng

kháng bệnh với 1 trong 3 chỉ thị (chiếm 69,2%); còn lại 03/26 dòng không mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh khi phân tích với cả 3 chỉ thị (chiếm 11,5%).

3.3.3.3. Đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu của các dòng từ một số tổ hợp lai hồi quy

Số quả chắc/cây trung bình qua 2 năm của các dòng đều đạt từ 10 quả/cây trở lên, cao nhất là dòng HX14 đạt 12,0 quả/cây, tiếp đến là dòng HX27 và HX22 cùng đạt 11,9 quả/cây, thấp nhất là dòng HX40 có số quả trung bình 2 năm đạt 10,2 quả/cây. Khối lượng 100 quả cao nhất là dòng HX27 trung bình 2 năm đạt 153,4g, thấp nhất là dòng HX39 chỉ đạt 137,9g. Khối lượng 100 hạt của 26 dòng đều đạt trên 50g, cao nhất là dòng HX24 trung bình 2 năm đạt 63,2g, thấp nhất là dòng HX37 chỉ đạt 50,2g. Tỷ lệ hạt/quả đạt trung bình 2 năm cao nhất là dòng HX22 đạt 75,1%, thấp nhất là dòng HX41 chỉ đạt 66,9%. Về năng suất thực thu của các dòng đều đạt khá cao, trong đó dòng HX26 có năng suất trung bình 2 năm cao nhất đạt 40,6 tạ/ha, tiếp đến là dòng HX31 đạt 40,2 tạ/ha, dòng HX15 đạt 40,0 tạ/ha; thấp nhất là dòng HX16 chỉ đạt 30,7 tạ/ha.

Kết hợp kết quả đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn qua lây bệnh nhân tạo, sử dụng chỉ thị phân tử để xác định dòng có khả năng kháng bệnh và đánh giá đặc tính nông sinh học của 26 dòng từ tổ hợp lai hồi quy, đã chọn lọc được 14 dòng lạc vừa có khả năng kháng bệnh HXVK vừa có năng suất cao trên 35 tạ/ha để tiếp tục chọn lọc trong các năm tiếp theo (bảng 3.23).

Bảng 3.23. Khả năng kháng bệnh HXVK và năng suất thực thu của các dòng lạc từ tổ hợp lai hồi quy (năm 2013-2014)

STT	Ký hiệu	Mức độ chống chịu bệnh HXVK		Chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK			Năng suất thực thu (tạ/ha)	
		Năm 2013	Năm 2014	pPGPseq3F5	GA161	7G2	Năm 2013	Năm 2014
1	HX35	R	R	0	0	1	36,4	38,8
2	HX37	R	R	0	0	1	37,8	38,4
3	HX25	MR	MR	0	0	1	35,1	35,7
4	HX21	MR	MR	0	1	0	35,7	36,0
5	HX22	MR	MR	0	0	1	36,6	35,9
6	HX43	MR	MR	1	0	0	36,1	37,2
7	HX34	MR	MR	0	0	1	37,4	36,0
8	HX40	MR	MR	0	1	0	36,7	37,2
9	HX17	MR	MR	1	0	0	38,3	37,6
10	HX41	MR	MR	0	1	0	38,5	38,3
11	HX38	MR	MR	0	0	1	39,9	37,5
12	HX15	MR	MR	1	1	0	41,6	38,3
13	HX31	MR	MR	0	1	0	40,5	39,8
14	HX26	MR	MR	0	1	1	41,6	39,5

Ghi chú: R: Kháng; MR: Kháng trung bình. 1: Có chỉ thị liên kết; 0: Không có chỉ thị liên kết.

Kết quả cho thấy: cả 14 dòng đều có khả năng kháng bệnh HXVK và đều có năng suất cao hơn so với đối chứng. Trong đó, có 02/14 dòng (HX35 và HX37) có mức kháng, 12/14 dòng có mức kháng trung bình với bệnh HXVK khi đánh giá bệnh nhân tạo. Có 02/14 dòng gồm dòng HX15 và dòng HX26 mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 2 chỉ thị nghiên cứu; còn lại 12/14 dòng mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 1 chỉ thị nghiên cứu. Đây là các dòng có đặc tính tốt có thể tiếp tục đánh giá để lựa chọn dòng có năng suất cao và có khả năng kháng bệnh HXVK ổn định để phát triển ra sản xuất.

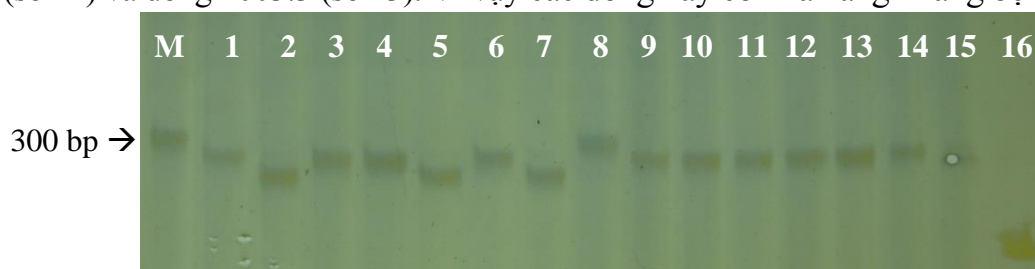
3.3.4. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc ưu tú bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc dòng có khả năng kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.4.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc ưu tú bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo

Kết quả đánh giá thấy rằng 02/13 dòng (0811.10 và 1003.4) có mức kháng khi đánh giá nhân tạo (chiếm 23,1%). Có 10/13 dòng kháng trung bình (chiếm 76,9%); có 1 dòng 1004.8 nhiễm trung bình. Trong khi 2 giống đối chứng MD7 và Gié Nho Quan có phản ứng kháng khi đánh giá nhân tạo, còn giống ICGV3704 nhiễm nặng với bệnh héo xanh vi khuẩn.

3.3.4.2. Xác định các dòng lạc ưu tú có tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử

Các dòng lạc ưu tú được đánh giá với 3 chỉ thị phân tử SSR liên kết đã chọn lọc (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2). Từ ảnh điện di gel polyacrylamide sản phẩm PCR với chỉ thị pPGPseq3F5 ở kích thước 219 bp trên hình 3.14 thấy rằng tương ứng với vệt băng của giống đối chứng kháng bệnh Gié Nho Quan (số 14) có một số dòng cũng mang băng tương tự như: dòng 0811.10 (số 2), 1009.8 (số 4), 1004.4 (số 7), 1004.8 (số 10), 1010.4 (số 11), 1003.4 (số 12) và dòng 1003.3 (số 13). Vì vậy các dòng này có khả năng kháng bệnh HXVK.



Hình 3.14. Ảnh điện di gel polyacrylamide sản phẩm PCR chỉ thị pPGPseq3F5 với 16 dòng, giống lạc

M: thang ADN chuẩn 100 bp (Biolabs). Tên dòng, giống 1: 1003.7; 2: 0811.10; 3: 1010.6; 4: 1009.8; 5: 1004.3; 6: 1010.5; 7: 1004.4; 8: 1008.9; 9: 1004.5; 10: 1004.8; 11: 1010.4; 12: 1003.4; 13: 1003.3; 14: Gié Nho Quan; 15: MD7; 16: ICGV3704.

Tổng hợp kết quả phân tích cho thấy, trong tổng số 13 dòng nghiên cứu, không có dòng nào mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với cả 3 chỉ thị đã sử dụng; có 10/13 dòng mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 2 chỉ thị đã (chiếm 76,9%); còn lại 03/13 dòng mang băng tương tự giống đối chứng kháng bệnh với 1 chỉ thị đã sử dụng (chiếm 23,1%). Giống đối chứng Gié Nho Quan liên kết với cả 3 chỉ thị; giống MD7 liên kết với 1 chỉ thị còn giống ICGV3704 không liên kết khi phân tích với cả 3 chỉ thị nghiên cứu.

3.3.4.3. Đánh giá một số yếu tố cấu thành năng suất của các dòng lạc ưu tú

Về số quả/chắc/cây cao nhất là dòng 1004.5 (14,3 quả), thấp nhất là dòng 1010.4 (9,8 quả). Khối lượng 100 quả cao nhất là dòng 1004.5 (162,3g), thấp nhất là dòng 1004.4 (133,8g). Khối lượng 100 hạt cao nhất là có dòng 1004.8 (69,6g), thấp nhất là dòng 1004.5 (42,0g). Tỷ lệ hạt/quả cao nhất là dòng 1004.3 (73,5%), thấp nhất là dòng 1010.4 (63,5%). Về năng suất thực thu của 13 dòng đạt khá cao (36,6-40,5 tạ/ha) và cao hơn năng suất các giống đối chứng. Dòng 1010.6 có năng suất cao nhất (40,5 tạ/ha), tiếp đến là dòng 0811.10 (39,6 tạ/ha), thấp nhất là dòng 1003.4 (36,6 tạ/ha); các giống đối chứng đều có năng suất thấp hơn các dòng lạc ưu tú chỉ đạt từ 20,7 tạ/ha đến 32,3 tạ/ha.

Kết quả đánh giá nhân tạo kết hợp sử dụng chỉ thị phân tử để chọn lọc dòng kháng bệnh và đánh giá đặc tính nông sinh học của 13 dòng lạc ưu tú (bảng 3.27).

Bảng 3.27. Khả năng kháng bệnh HXVK và năng suất thực thu của các dòng lạc ưu tú (năm 2014)

STT	Tên dòng	Mức độ chống chịu bệnh HXVK	Chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK			Năng suất thực thu (tạ/ha)
			pPGPseq3F5	GA161	7G2	
1	1003.4	R	1	1	0	36,6
2	0811.10	R	1	0	1	39,6
3	1010.5	MR	0	1	1	36,9
4	1004.8	MS	1	1	0	37,6
5	1009.8	MR	1	0	1	37,8
6	1010.4	MR	1	0	0	38,2
7	1004.3	MR	0	0	1	38,4
8	1004.4	MR	1	1	0	38,4
9	1003.7	MR	0	1	1	38,7
10	1004.5	MR	0	1	1	38,7
11	1003.3	MR	1	0	0	38,7
12	1008.9	MR	0	1	1	39,5
13	1010.6	MR	0	1	1	40,5

Ghi chú: R: Kháng; MR: Kháng trung bình. 1: Có chỉ thị liên kết; 0: Không có chỉ thị liên kết.

Kết quả cho thấy cả 13 dòng gồm: 1003.7, 0811.10, 1010.6, 1009.8, 1004.3, 1010.5, 1004.4, 1008.9, 1004.5, 1004.8, 1010.4, 1003.4 và 1003.3) đều có khả năng kháng bệnh HXVK đồng thời có năng suất cao (từ 36,6 tạ/ha đến 40,5 tạ/ha) nên sẽ tiếp tục chọn lọc trong các năm tiếp theo.

3.3.5. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc triển vọng bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo và chọn lọc dòng kháng bệnh HXVK bằng chỉ thị phân tử

3.3.5.1. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn của các dòng lạc triển vọng bằng lây nhiễm bệnh nhân tạo

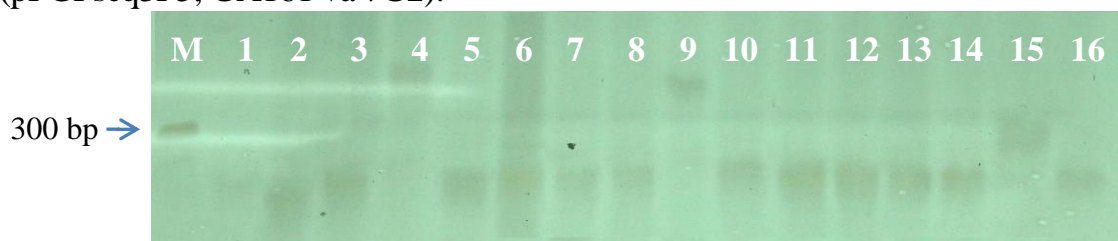
Kế thừa các dòng lạc đã được chọn lọc các năm trước của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Đậu đỗ, đề tài đã tiến hành thí nghiệm đánh giá khả năng chống chịu bệnh

HXVK trên nền lây nhiễm bệnh nhân tạo, chọn lọc các dòng có khả năng kháng bệnh bằng chỉ thị phân tử và triển khai thí nghiệm so sánh chính quy để xác định các dòng có đặc tính tốt nhất từ 13 dòng triển vọng.

Kết quả cho thấy qua đánh giá bệnh nhân tạo, năm 2013 có 1 dòng phản ứng với bệnh HXVK ở mức kháng (BWP-12), các dòng còn lại có mức kháng trung bình. Năm 2014, có 5 dòng ở mức kháng (BWP-2, BWP-4, BWP-6, BWP-7, BWP-11), các dòng còn lại có mức kháng trung bình. Giống đối chứng Gié Nho Quan phản ứng với bệnh HXVK ở mức kháng, giống MD7 kháng trung bình, giống ICGV3704 nhiễm nặng.

3.3.5.2. Xác định dòng lạc triển vọng có khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn bằng chỉ thị phân tử

Các dòng lạc triển vọng được đánh giá với 3 chỉ thị phân tử SSR liên kết đã chọn lọc (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2).



Hình 3.18. Ảnh điện di gel polyacrylamide sản phẩm PCR chỉ thị GA161 với 16 dòng, giống lạc

M: thang ADN chuẩn 100 bp (Biolabs). Tên dòng, giống 1: BWP-1, 2: BWP-2, 3: BWP-3, 4: BWP-4, 5: BWP-5, 6: BWP-6, 7: BWP-7, 8: BWP-8, 9: BWP-9, 10: BWP-10, 11: BWP-11, 12: BWP-12, 13: BWP-13, 14: Gié Nho Quan, 15: ICGV3704, 16: BW15.

Từ hình 3.18 ảnh điện di gel polyacrylamide sản phẩm PCR chỉ thị GA161 ở kích thước 219 bp cho thấy các dòng có vệt băng tương tự trùng với vệt băng của giống đối chứng kháng bệnh HXVK Gié Nho Quan (số 14) là: BWP-1 (số 1), BWP-3 (số 3), BWP-5 (số 5), BWP-6 (số 6), BWP-7 (số 7), BWP-8 (số 8), BWP-10 (số 10), BWP-11 (số 11), BWP-12 (số 12), BWP-13 (số 13).

Tổng hợp phân tích ảnh điện di gel polyacrylamide sản phẩm PCR với 3 chỉ thị (pPGSeq3F5, GA161 và 7G2) cho thấy có 10 dòng mang băng đặc trưng giống băng của giống đối chứng kháng Gié Nho Quan khi phân tích với cả 3 chỉ thị; 01 dòng (BWP-10) băng đặc trưng giống băng của giống đối chứng kháng Gié Nho Quan khi phân tích với cả 2 chỉ thị (pPGPseq3F5 và GA161); 01 dòng (BWP-4) mang băng đặc trưng giống băng của giống đối chứng kháng Gié Nho Quan với 1 chỉ thị 7G2, còn 02 dòng (BWP-2 và BWP-9) không mang băng đặc trưng giống băng của giống đối chứng kháng Gié Nho Quan với cả 3 chỉ thị nghiên cứu.

3.3.5.3. Đánh giá đặc điểm nông sinh học chính của các dòng lạc triển vọng

Có 13 dòng lạc triển vọng và giống đối chứng đều có thời gian sinh trưởng 120 ngày, trong đó thời gian từ gieo đến mọc 18 ngày, thời gian ra hoa từ 35 đến 36 ngày. Chiều cao cây của các dòng từ 24,9 cm đến 45,4 cm. Tất cả các dòng, giống lạc thí nghiệm chỉ nhiễm nhẹ đến nhiễm trung bình các bệnh hại lá, trong đó mức độ bệnh đốm nâu, đốm đen dao động từ điểm 2- 3. Bệnh rỉ sắt nhiễm nặng hơn đốm nâu, đốm đen (điểm 4 - 6).

Số quả chắc/cây trung bình 2 năm cao nhất là dòng BWP-12 (12,3 quả chắc/cây), thấp nhất là dòng BWP-2 (7,4 quả chắc/cây). Khối lượng 100 quả trung bình cao nhất là dòng BWP-13 (168,7g), thấp nhất là dòng BWP-4 (132,3g). Khối lượng 100 hạt trung bình cao nhất là dòng BWP-13 (70,3g), thấp nhất là dòng BWP-4 (51,8g). Tỷ lệ hạt/quả cao nhất là dòng BWP-9 (75,7%), thấp nhất là dòng BWP-2 (70,3%). Về năng suất thực thu trung bình 2 năm cao nhất là dòng BWP-1 (39,9 tạ/ha), tiếp đến là dòng BWP-11 (38,8 tạ/ha), thấp nhất là dòng BWP-2 và dòng BWP-9 chỉ đạt 30,1 tạ/ha.

Tổng hợp kết quả đánh giá bệnh nhân tạo kết hợp chỉ thị phân tử và đặc điểm nông sinh học của các dòng lạc triển vọng đã xác định được 04 dòng lạc (BWP-1, BWP-7, BWP-11, BWP-13) vừa có khả năng kháng bệnh, vừa có năng suất cao (35,7-37,8 tạ/ha) (bảng 3.33).

Bảng 3.33. Khả năng kháng bệnh HXVK và năng suất của các dòng lạc triển vọng (năm 2013-2014)

STT	Tên dòng	Mức độ chống chịu bệnh HXVK		Chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK			Năng suất thực thu (tạ/ha)	
		Năm 2013	Năm 2014	pPGPseq3 F5	GA161	7G2	Năm 2013	Năm 2014
1	BWP-13	MR	MR	1	1	1	35,4	35,7
2	BWP-7	MR	R	1	1	1	35,1	36,4
3	BWP-11	MR	R	1	1	1	40,1	37,4
4	BWP-1	MR	MR	1	1	1	41,9	37,8

Ghi chú: R: Kháng; MR: Kháng trung bình. 1: Có chỉ thị liên kết.

Từ các kết quả trên, đề tài đã chọn 2 dòng lạc BWP-1 và BWP-11 có năng suất cao nhất, có khả năng kháng bệnh HXVK trên nền lây nhiễm nhân tạo kết hợp với chọn lọc bằng 3 chỉ thị liên kết và có năng suất cao để tham gia vào mạng lưới khảo nghiệm giống Quốc gia và đặt tên chính thức cho dòng BWP-1 là giống L28 và dòng BWP-11 là giống L29.

3.3.6. Kết quả khảo nghiệm Quốc gia giống lạc triển vọng

Kết quả khảo nghiệm các giống lạc ở phía Bắc vụ Xuân năm 2014 được Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia thực hiện tại một số địa phương. Kết quả cho thấy hai giống L28 và L29 có phản ứng với bệnh héo xanh vi khuẩn, lở cổ rễ, bệnh trắng thân, bệnh thối quả ở mức nhẹ (điểm 1); rỉ sắt, đốm đen ở mức nhẹ (điểm 1-3); có khả năng chịu hạn khá (điểm 2-3), riêng giống L29 có khả năng chống chịu hạn khá nhất (điểm 1-2).

Năng suất của các giống lạc triển vọng khảo nghiệm trong vụ Xuân năm 2014 được trình bày ở bảng 3.35.

Kết quả cho thấy: Giống lạc L28 và L29 tại các điểm khảo nghiệm đều có năng suất cao hơn so với giống đối chứng L14 ở mức có ý nghĩa tại các điểm Hà Nội, Hải Dương, Vĩnh Phúc và Thái Bình. Tại điểm khảo nghiệm Thái Bình và Văn Điền, Hà Nội. Giống L28 có năng suất cao nhất so với các giống khảo nghiệm ở các địa điểm Từ Liêm, Văn Điền (Hà Nội), Nghệ An và Thái Bình. Đặc biệt tại Thái Bình, năng suất 2 giống L28 và L29 cao

vượt trội lần lượt đạt 43,6 tạ/ha và 47,3 tạ/ha. Tính trung bình tại các điểm khảo nghiệm, các giống lạc L28 và L29 đều có năng suất lần lượt là 32,7 tạ/ha và 31,9 tạ/ha, còn các giống lạc khảo nghiệm khác có năng suất trung bình thấp hơn từ 24,7 tạ/ha đến 30,6 tạ/ha, trong đó giống đối chứng L14 có năng suất đạt trung bình đạt 28,5 tạ/ha. Có 3/6 điểm khảo nghiệm 2 giống lạc L28 và L29 đạt năng suất trên 35 tạ/ha.

Bảng 3.35. Năng suất của các giống lạc khảo nghiệm (năm 2014)

STT	Tên giống	Năng suất tại các địa điểm khảo nghiệm (tạ/ha)						Trung bình
		Hà Nội		Nghệ An	Hải Dương	Vĩnh Phúc	Thái Bình	
		Từ Liêm	Văn Điển					
1	L14 (đối chứng)	32,9	33,6	29,2	30,4	16,4	34,5	28,5
2	L21	36,9	29,0	30,8	29,1	16,4	37,9	28,4
3	L22	38,2	32,7	32,3	31,3	16,9	45,8	30,3
4	L28	36,9	36,4	33,8	29,1	27,1	47,3	32,7
5	L29	35,1	35,7	28,2	31,6	28,9	43,6	31,9
6	CNC1	36,9	26,1	25,7	30,3	13,8	40,4	27,1
7	CNC3	44,0	30,6	29,2	30,1	19,1	37,0	30,6
8	CNC4	34,7	24,4	31,3	27,6	27,6	41,7	29,1
9	Q2A0	25,3	-	30,3	27,2	16,0	-	24,7
10	Q2A3	30,7	-	28,2	30,2	15,6	-	26,1
11	Q2A6	30,2	34,3	26,1	27,6	17,8	40,6	27,2
	CV%	5,5	5,1	5,6	5,2	6,0	6,1	-
	LSD _{0,05}	3,27	1,59	2,84	2,64	2,01	2,50	-

Như vậy qua khảo nghiệm Quốc gia cho thấy 2 giống lạc L28 và L29 có khả năng chống chịu bệnh HXVK và có năng suất cao hơn so giống đối chứng và so với các giống khảo nghiệm khác.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

1.1. Trong vụ Xuân năm 2012, bệnh héo xanh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây hại khá phổ biến ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam với tỷ lệ từ 2,7% đến 23,3%. Bệnh hại phổ biến và gây hại nặng trên cây lạc trồng ở vùng đất đồi gò (tỷ lệ bệnh 21,6%) và gây hại khá nặng trên đất chuyên màu (tỷ lệ bệnh 12,3%); bệnh nhẹ hơn khi lạc trồng trên các đất thịt nhẹ, đất luân canh với lúa nước (tỷ lệ bệnh 2,7%).

1.2. Kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền của 61 isolate vi khuẩn *R. solanacearum* thu thập từ một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam xác định được 61 isolate vi khuẩn đều thuộc biovar 3, biovar 4 và thuộc nòi 1, trong đó có 80,3% isolate thuộc biovar 3 và 19,7% isolate thuộc biovar 4. Bằng phân tích phân tử RAPD, các isolate vi khuẩn phân tích được chia thành 2 nhóm chính (nhóm I và nhóm II) và khá gần nhau về mặt di truyền (với hệ số tương đồng dao động từ 0,74 đến 0,99), trong đó nhóm I chiếm 5,4%, nhóm II chiếm 94,6% và chia làm 10 nhóm phụ khác nhau.

1.3. Phân tích sự phân bố của isolate vi khuẩn *R. solanacearum* ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc đã xác định được vi khuẩn *R. solanacearum* khá đa dạng ở Hà Nội (có cả biovar 3, biovar 4 và 7 nhóm phụ về đa dạng di truyền); đa dạng ở mức trung bình tại Ninh Bình, Nghệ An, Thanh Hóa, Hòa Bình (có 2 loại biovar 3 và biovar 4, có 2 nhóm phụ về đa dạng di truyền); Bắc Ninh, Bắc Giang (có 2 loại biovar 3 và biovar 4, có 1 nhóm phụ về đa dạng di truyền); ít đa dạng hơn ở Hà Tĩnh (chỉ có biovar 3 và 2 nhóm phụ về đa dạng di truyền).

1.4. Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn và đặc điểm nông học tập đoàn mẫu giống lạc, xác định có 02/63 mẫu giống kháng cao (chiếm 3,2%), 07/63 mẫu giống kháng (chiếm 11,1%), 22/63 mẫu giống kháng trung bình (chiếm 34,9%), 19/63 mẫu giống nhiễm trung bình (chiếm 30,1%), 10/63 mẫu giống nhiễm (chiếm 15,9%) và 03/63 mẫu giống nhiễm nặng (chiếm 4,8%). Kết hợp ứng dụng 3 chỉ thị phân tử SSR là pPGPseq3F5, GA161 và 7G2 liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn đã chọn lọc được 26 mẫu giống lạc có khả năng kháng bệnh HXVK (từ kháng trung bình đến kháng cao, liên kết với chỉ thị phân tử) để làm vật liệu chọn tạo giống kháng bệnh.

1.5. Kết hợp đánh giá bệnh nhân tạo với chọn lọc bằng 3 chỉ thị phân tử SSR (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2) liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK và đánh giá đặc điểm nông học của các dòng lai, xác định được 7 dòng từ tổ hợp lai đơn có năng suất cao (35,7 tạ/ha đến 41,6 tạ/ha); 14 dòng lạc từ các tổ hợp lai hồi quy có năng suất cao (35,4 tạ/ha đến 40,6 tạ/ha); 13 dòng lạc ưu tú có năng suất cao (36,6 tạ/ha đến 40,5 tạ/ha) vừa có khả năng kháng bệnh HXVK mức kháng trung bình đến kháng và năng suất cao để tiếp tục chọn lọc trong những năm tiếp theo.

1.6. Từ 13 dòng lạc triển vọng, chọn được 4 dòng (BWP-1, BWP-7, BWP-11 và BWP-13) vừa có khả năng kháng bệnh HXVK (kháng trung bình đến kháng), vừa có năng suất cao (35,7-37,8 tạ/ha), trong đó có 2 dòng (BWP-1 và BWP-11) được đặt tên chính thức là giống L28 và giống L29 tương ứng, có khả năng kháng bệnh, năng suất cao nhất (37,4-37,8 tạ/ha) và có chất lượng tốt, tỷ lệ nhân cao (71,0-72,2%) để khảo nghiệm Quốc gia.

1.7. Kết quả khảo nghiệm Quốc gia đã xác định 2 giống lạc triển vọng L28 và L29 vừa có khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, vừa có năng suất cao hơn đối chứng ở mức có ý nghĩa, có 3/6 điểm khảo nghiệm đạt năng suất cao (từ 35,1-47,3 tạ/ha) để phát triển trong sản xuất.

2. Đề nghị

2.1. Sử dụng nguồn vật liệu 26 mẫu giống lạc trong tập đoàn cùng các dòng lạc triển vọng và 3 chỉ thị phân tử (pPGPseq3F5, GA161 và 7G2) liên kết với tính trạng kháng bệnh HXVK trong chọn tạo giống lạc kháng bệnh.

2.2. Tiếp tục chọn lọc, phát triển dòng lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn từ 07 dòng từ tổ hợp lai đơn; 14 dòng lạc từ các tổ hợp lai hồi; 13 dòng lạc ưu tú có khả năng kháng bệnh HXVK đã chọn lọc được.

2.3. Thử nghiệm phát triển các giống lạc triển vọng L28 và L29 ở các vùng sinh thái về khả năng kháng bệnh, tính thích ứng và khả năng nhân rộng, đặc biệt là ở các địa phương thường bị bệnh héo xanh vi khuẩn gây hại.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Ngô Văn Ngôn**, Nguyễn Văn Viết, Hà Viết Cường, Nguyễn Mạnh Hùng, Nguyễn Thị Vân (2014), “Xác định một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh hại lạc ở miền Bắc Việt Nam” *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 6/2014, tr. 108-115.
2. Nguyễn Văn Viết, Nguyễn Thị Vân, Lê Thị Bích Thủy, Nguyễn Mạnh Hùng, **Ngô Văn Ngôn**, Ngô Thị Thùy Linh (2014), “Kết quả nghiên cứu xác định biovar và đa dạng di truyền một số isolate vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh hại lạc ở một số tỉnh trồng lạc miền Bắc Việt Nam”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 7/2014, tr. 9-15.
3. Nguyễn Văn Viết, Nguyễn Thị Vân, Lê Thị Bích Thủy, Hà Viết Cường, Nguyễn Mạnh Hùng, **Ngô Văn Ngôn**, Nguyễn Văn Thắng, Nguyễn Xuân Thu, Ngô Thị Thùy Linh (2015), “Đánh giá khả năng chống chịu bệnh héo xanh vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith tập đoàn giống lạc bằng lây nhiễm nhân tạo kết hợp chỉ thị phân tử SSR”, *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, số 2/2015, tr. 49-56.
4. Nguyễn Văn Viết, Nguyễn Văn Thắng, Nguyễn Thị Vân, Lê Thị Bích Thủy, Nguyễn Mạnh Hùng, Nguyễn Xuân Thu, Ngô Thị Thùy Linh, **Ngô Văn Ngôn**, Tạ Hồng Lĩnh (2015), “Kết quả nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử SSR chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, chuyên đề “Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp”*, tháng 6/2015, tr. 45-52.