

Khảo sát tính đặc hiệu của các marker phân tử liên quan đến tính trạng bất dục đực tế bào chất ở giống ớt Chỉ Thiên (*Capsicum frutescens*)

- Cung Hoàng Phi Phương
- Nguyễn Thanh Hà
- Bùi Văn Lệ

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 03 tháng 03 năm 2015, nhận đăng ngày 05 tháng 06 năm 2015)

TÓM TẮT

Bất dục đực tế bào chất là một tính trạng rất quan trọng trong việc sản xuất hạt giống lai F1 ở cây ớt. Việc chọn tạo các dòng bất dục và dòng duy trì bằng phương pháp truyền thống đòi hỏi rất nhiều thời gian, công sức và độ chính xác chịu ảnh hưởng lớn bởi các yếu tố bên ngoài. Do đó, việc ứng dụng các marker phân tử là cần thiết nhằm làm tăng hiệu quả của công tác chọn tạo các dòng. Trong nội dung của đề tài, chúng tôi tập trung khảo sát tính đặc hiệu của các bộ primer *coxII*SCAR, *atp6*SCAR, *Rf*SCAR và *coxTri*-M1 đối với tính trạng bất dục đực tế bào chất ở các dòng ớt đang sử dụng tại Việt

Từ khóa: Bất dục đực tế bào chất (CMS), dòng bất dục, dòng duy trì, dòng phục hồi.

Nam. Khảo sát trên bộ ớt chuẩn gồm cây bất dục, cây duy trì, cây phục hồi và con lai F1 của giống ớt Chỉ Thiên do công ty Chánh Phong cung cấp cho thấy ba trong bốn bộ primer được khảo sát gồm *coxII*SCAR, *Rf*SCAR và *coxTri*-M1 cho phép xác định chính xác cây bất dục đực và cây duy trì, hai dòng quan trọng nhất đối với công tác sản xuất hạt giống F1. Kết quả thu được cho thấy tính khả thi trong việc ứng dụng các bộ primer này nhằm tăng hiệu quả của quá trình chọn tạo các dòng quan trọng ở cây ớt tại Việt Nam.

MỞ ĐẦU

Bất dục đực là hiện tượng mà hoa có khiếm khuyết về cơ quan sinh giao tử đực, không thể tạo được hạt phấn hoặc hạt phấn bị chết ở nhiều giai đoạn phát triển khác nhau [1]. Có hai dạng bất dục đực chính là bất dục đực nhân và bất dục đực tế bào chất. Hiện tượng bất dục đực nhân hoàn toàn do các gen trong nhân quy định, trong khi đó, hiện tượng bất dục đực tế bào chất chịu sự chi phối của cả gen trong nhân và gen trong ty thể. Các gen đột biến trong ty thể dẫn đến kiểu hình bất dục đực thường liên quan đến sự hô hấp và tổng hợp ATP của tế bào [2], điều này có thể dẫn

tới sự thiếu hụt năng lượng cho quá trình sinh giao tử đực. Trong hệ thống sản xuất hạt giống lai F1 sử dụng hiện tượng bất dục đực tế bào chất, có ba dòng quan trọng là dòng bất dục đực, dòng duy trì và dòng phục hồi. Dòng bất dục đực có ty thể mang gen đột biến và không có gen phục hồi trong nhân nên hoàn toàn không có khả năng tạo giao tử đực hoàn chỉnh. Dòng duy trì cũng không có gen phục hồi trong nhân nhưng mang tế bào chất bình thường nên có thể tạo ra hạt phấn hữu dục bình thường.

Khi thụ phấn của cây duy trì cho cây bắt dục thì thể hệ con hoàn toàn bắt dục được do thừa hưởng tế bào chất bắt dục từ cây mẹ nhưng lại không có gen phục hồi vì cả cây bố và mẹ đều không có gen này trong bộ gen. Dòng duy trì chính là điểm đặc biệt hoàn toàn không tồn tại ở hiện tượng bắt dục được nhân. Dòng phục hồi là dòng mang kiểu gen đồng hợp trội của gen phục hồi. Dòng này được sử dụng để thụ phấn cho cây bắt dục để tạo ra hạt giống lai F1 thương phẩm. Chính những thuận lợi mà dòng duy trì mang lại đã khiến cho các công ty sản xuất giống đặc biệt quan tâm đến tính trạng bắt dục được tế bào chất. Các nghiên cứu trên hiện tượng này không chỉ cho phép nghiên cứu sâu hơn về sự tương tác giữa ty thể và nhân trong quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật mà còn mở ra các hướng ứng dụng rất hiệu quả đối với hoạt động sản xuất hạt giống lai F1.

Ở nước ta, cây ớt (*Capsicum frutescens*) [3] là một loài cây hoa màu quan trọng, mang lại hiệu quả kinh tế cao. Do đó, trong những năm gần đây, diện tích trồng ớt ngày càng được mở rộng và nhu cầu về hạt giống ớt chất lượng tốt cũng ngày càng cao. Với đặc điểm hoa lưỡng tính, khả năng tự thụ cao, việc sản xuất hạt giống ớt lai F1 có chất lượng đồng đều luôn đặt ra cho các nhà sản xuất hạt giống rất nhiều khó khăn. Phương pháp tránh hiện tượng tự thụ truyền thống là khử đực vốn đòi hỏi rất nhiều nhân công và chi phí nhưng hiệu quả lại không cao, chịu ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố và cho năng suất hạt rất thấp. Việc ứng dụng cây ớt bắt dục được tế bào chất vào sản xuất cho phép khắc phục các khó khăn một cách hiệu quả. Tuy nhiên, để chọn lọc các dòng bắt dục được, dòng duy trì bằng phương pháp truyền thống đòi hỏi mất rất nhiều thời gian cho việc lai tạo và quan sát kiểu hình qua nhiều thế hệ. Do đó, một số nghiên cứu ứng dụng sinh

học phân tử trong kiểm tra các dòng ớt bắt dục được đã được tiến hành ở một số quốc gia trên thế giới. Một số marker phân tử đã cho thấy hiệu quả trong việc xác định tính trạng bắt dục được ở các giống ớt thương mại đang sử dụng ở các quốc gia này [4 - 6]. Do đó, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung khảo sát tính đặc hiệu của các marker phân tử liên quan đến tính trạng bắt dục được ở giống ớt Chi Thiên (*Capsicum frutescens*) đang được sử dụng tại Việt Nam nhằm xác định khả năng ứng dụng các marker này trong việc xác định các dòng ớt bắt dục được tại Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu thực vật

Các mẫu lá và hoa của các cây bắt dục được, cây duy trì, cây phục hồi và con lai F1 của giống ớt Chi Thiên do công ty Chánh Phong cung cấp. Đây là bộ ớt chuẩn đang được công ty sử dụng để sản xuất hạt giống ớt Chi Thiên F1 thương mại.

Nhuộm hạt phấn với acetocarmine

Chọn 6 hoa trên một cây, thu nhận vào buổi sáng khoảng 8 giờ, chọn những hoa đã thành thực, vừa hé nở. Cắt định tất cả hoa của một cá thể trong một eppendorf chứa dung dịch carnua (60 % ethanol, 30 % chloroform, 10 % glacial acetic acid) trong 1 giờ, sau đó rửa và bảo quản trong ethanol 80 %. Khi xem thì lấy bao phấn để trên lame, ép nghiền nát bao phấn bằng kim mũi giáo trong 1 giọt acetocarmine. Sau khi loại bỏ các mô thừa thì đặt lamelle và hơ nhẹ trên đèn cồn. Xem mẫu dưới kính hiển vi phóng đại 400-600 lần, 3-4 thị trường. Hạt phấn nào hữu dục sẽ có dạng tròn, bắt màu đỏ carmin đậm. Hạt phấn bắt dục thường méo mó, không nhuộm màu đỏ hay nhuộm không đều. Tính hữu thụ được đánh giá bằng cách tính tỷ lệ số hạt phát hữu dục/tổng số hạt phấn.

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số từ mô lá (mỗi dòng tách ba mẫu từ ba cây khác nhau được lựa chọn ngẫu nhiên) được tách bằng phương pháp CTAB. 200 mg mẫu lá được nghiền trong nitrogen lỏng, sau đó bổ sung 800 μ L dung dịch CTAB ấm (60 °C) và chuyển qua eppendorf 2 mL có sẵn 10 μ L β -mercaptoethanol. Mẫu được giữ ấm 65 °C trong 1 giờ, đảo trộn đều sau mỗi 15 phút. Bổ sung 700 μ L PCI (Phenol: Chloroform: Isoamyl alcohol tỷ lệ 25:24:1), lắc trộn nhẹ nhàng trong 1 phút, ly tâm 13000 rpm trong 15 phút. Chuyển dịch nổi sang eppendorf mới và bổ sung 500 μ L chloroform, đảo trộn nhẹ nhàng và ly tâm 10000 rpm trong 5 phút. Chuyển phần dịch nổi sang eppendorf chứa sẵn 800 μ L isopropanol lạnh, giữ ở nhiệt độ phòng trong 5 – 10 phút. Ly tâm 13000 rpm trong 3 phút và thu tủa. Rửa tủa lại với ethanol 80° và ly tâm 13000 rpm trong 1 phút. Loại bỏ ethanol, phơi khô mẫu. Cuối cùng, hòa tan lại DNA tủa với 100 μ L TE ấm. Kết quả tách chiết DNA được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1 %, 100 V – 80 mA trong 40 phút. Thang chuẩn Fermentas GenRuler™ 1 kb DNA Ladder.

Kiểm tra tính đặc hiệu của các marker phân tử bằng phương pháp PCR

Các mẫu DNA tổng số đã tách chiết được sử dụng để kiểm tra tính đặc hiệu của các marker phân tử bằng phương pháp PCR. Lần lượt tiến hành phản ứng PCR với từng cặp mồi ở cả 4 dòng (bất dục đực, duy trì, phục hồi và con lai F1 – mỗi dòng kiểm tra 3 mẫu). Các bộ primer được sử dụng lần lượt là coxIIISCAR (94 °C 4 phút; 40

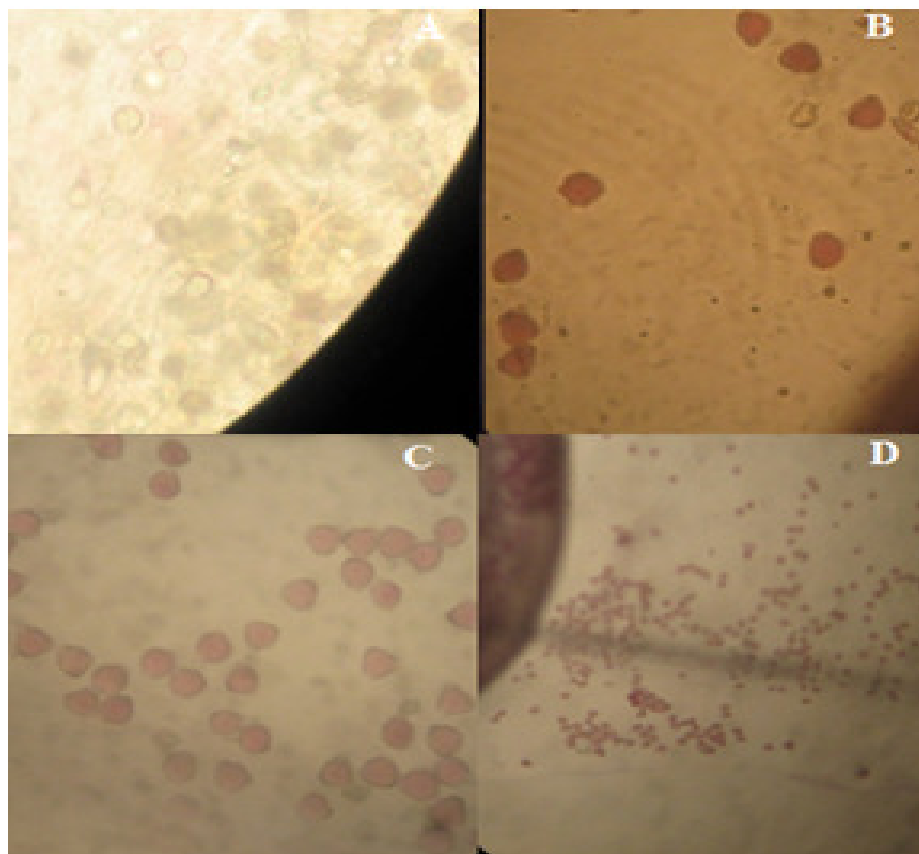
chu kỳ 94 °C 60 giây, 55 °C 60 giây, 72 °C 60 giây; 72 °C 10 phút) [4], atp6SCAR(94 °C 4 phút; 40 chu kỳ 94 °C 60 giây, 55 °C 60 giây, 72 °C 60 giây; 72 °C 10 phút) [4], coxTri-M1 (94 °C 4 phút; 40 chu kỳ 94 °C 60 giây, 69 °C 60 giây, 72 °C 60 giây; 72 °C 10 phút) [6] và RfSCAR (94 °C 3 phút; 25 chu kỳ 94 °C 30 giây, 65 °C 60 giây, 72 °C 60 giây; 72 °C 5 phút) [5]. Kết quả PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1 %, 100 V – 80 mA trong 40 phút; Thang chuẩn Fermentas GenRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tính hữu dục của hạt phấn

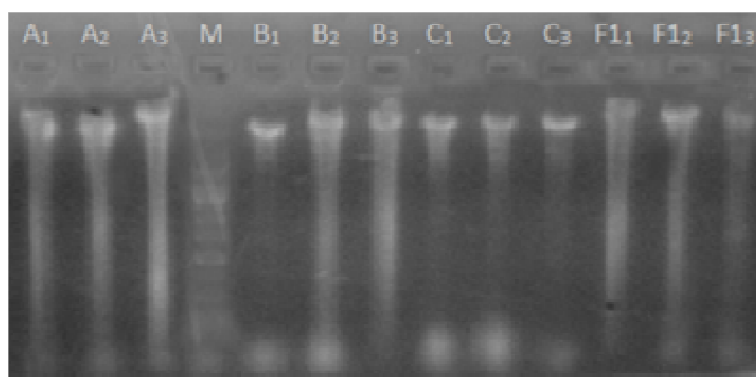
Kiểm tra tính hữu dục của hạt phấn là phương pháp tiêu chuẩn để xác định tính bất dục đực trong trường hợp cây tạo được cơ quan sinh giao tử đực. Quan sát sự bắt màu của hạt phấn nhuộm với acetocarmine, các hạt phấn sống, phát triển hoàn chỉnh (hữu dục) sẽ có hình tam giác góc tròn, căng, to và bắt màu đỏ đậm do lượng nucleic acid trong nhân cao, trong khi các hạt phấn khiếm khuyết, bất dục sẽ có hình dạng méo mó, teo nhỏ và hoàn toàn không bắt màu với thuốc nhuộm.

Kết quả kiểm tra tính hữu dục của hạt phấn ở các dòng bất dục đực, dòng duy trì, dòng phục hồi và dòng con lai F1 cho thấy kết quả hoàn toàn phù hợp với lý thuyết về tính bất dục đực. Dòng bất dục đực của giống Ớt Chi Thiên dùng để khảo sát hoàn toàn không có hạt phấn hữu dục trong khi ở tất cả các dòng còn lại, số lượng hạt phấn rất nhiều và hoàn toàn hữu dục.

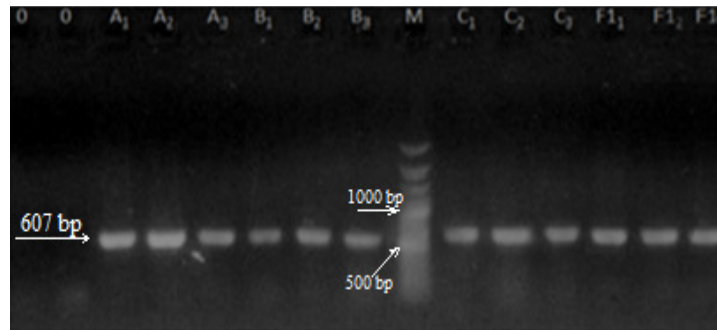


Hình 1. Hạt phấn của các dòng nhuộm với acetocarmine (A) Cây bất dục đực, (B) cây duy trì, (C) cây phục hồi, (D) cây lai F1

Độ đặc hiệu của cặp primer atp6SCAR



Hình 2. Kiểm tra kết quả tách chiết DNA. A_{1,2,3}: cây bất dục đực, M: thang chuẩn 1 kb, B_{1,2,3}: cây duy trì, C_{1,2,3}: cây phục hồi, F1_{1,2,3}: cây lai F1.



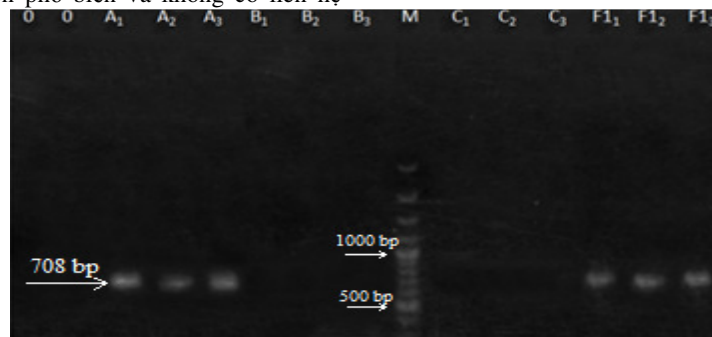
Hình 3. Kết quả PCR với bộ primer atp6SCAR bằng điện di. A_{1,2,3}: cây bắt dục đực, B_{1,2,3}: cây duy trì, M: thang chuẩn 100 bp, C_{1,2,3}: cây phục hồi, F_{1,2,3}: cây lai F1. Mẫu mang đột biến ở đầu 3' của *genatp6* sẽ xuất hiện băng ở vị trí 607 bp.

Kết quả điện di cho thấy kết quả dương tính với băng sáng rõ ở vị trí 607 bp ở tất cả các mẫu ở tất cả các dòng. Cặp primer atp6SCAR được sử dụng để xác định đột biến ở đầu 3' của trình tự *atp6-2* trong bộ gen của ty thể [4]. Khi so sánh kiểu gen trên ty thể của dòng bắt dục đực tế bào chất MilyangA và dòng duy trì MilyangB bằng kỹ thuật RFLP với enzyme cắt giới hạn *EcoRI*, Kim và cộng sự đã xác định được sự khác biệt ở đầu 3' của trình tự *atp6-2*. Trên cơ sở đó, tác giả nghi ngờ về sự liên quan của đột biến này với kiểu hình bắt dục đực tế bào chất ở cây ốt và tiến hành xây dựng bộ primer atp6SCAR để xác định đột biến này trong tế bào chất cây bắt dục đực. Tuy nhiên, khi tiến hành kiểm tra trên bộ ốt đang sử dụng tại Việt Nam, các băng ở vị trí 607 bp xuất hiện ở tất cả các mẫu. Kết quả cho thấy đây là dạng đột biến phổ biến và không có liên hệ

trực tiếp đến kiểu hình bắt dục đực tế bào chất. Dòng duy trì, vốn mang tế bào chất bình thường, lại có đột biến này ở tất cả 3 mẫu cây khác nhau. Kết quả nhuộm hạt phấn cho thấy hạt phấn của các cây duy trì được kiểm tra hữu dục hoàn toàn, đây chính là cơ sở chứng tỏ đột biến ở đầu 3' này trên trình tự *atp6-2* không đóng vai trò chủ yếu trong kiểu hình bắt dục đực. Như vậy, kết quả kiểm tra cho thấy không thể sử dụng dạng đột biến ở đầu 3' trên trình tự *atp6-2* như marker phân tử để xác định kiểu hình bắt dục đực tế bào chất.

Độ đặc hiệu của cặp primer coxIIISCAR

Kết quả kiểm tra độ đặc hiệu của bộ primer coxIIISCAR bằng phương pháp điện di sản phẩm PCR được trình bày trong Hình 4.



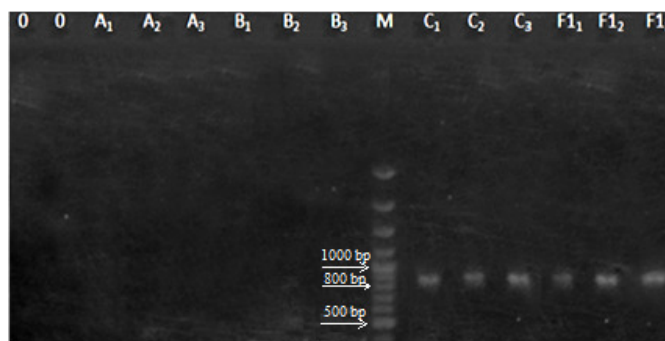
Hình 4. Kiểm tra kết quả PCR với bộ primer coxIIISCAR bằng điện di. A_{1,2,3}: cây bắt dục đực, B_{1,2,3}: cây duy trì, M: thang chuẩn 100 bp, C_{1,2,3}: cây phục hồi, F_{1,2,3}: cây lai F1. Mẫu mang đột biến ở *gencoxII* sẽ xuất hiện băng ở vị trí 708 bp.

Kết quả điện di sản phẩm PCR với bộ primer *coxII*SCAR cho thấy chỉ có các cây dòng bắt dục đực và con lai F1 có băng đặc trưng tại vị trí 708 bp. Kết quả này phù hợp với lý thuyết về di truyền tế bào chất, các con lai F1 thừa hưởng tế bào chất đột biến từ cây mẹ bắt dục đực. Ngoài ra, việc các cây thuộc dòng duy trì mang tế bào chất bình thường không có dạng đột biến này cho thấy nhiều khả năng đột biến trên đầu 3' của trình tự *gencoxII* trong ty thể này [4] có liên hệ trực tiếp đến kiểu hình bắt dục đực ở cây ớt. Dạng bắt dục đực của gen trong ty thể này được phục hồi bởi gen phục hồi trong nhân nên ở cây F1, mặc dù thừa hưởng tế bào chất đột biến từ cây mẹ bắt dục đực nhưng vẫn cho kiểu hình hạt phấn hữu dục hoàn toàn do có mang một allele trội từ cây bố là cây phục hồi. Như vậy, với kết quả kiểm tra

cho phép xác định được chính xác cây mang ty thể bắt dục đực theo lý thuyết đồng thời kết quả cũng phù hợp với kết quả nhuộm hạt phấn, đột biến này có thể được sử dụng như marker phân tử của dạng tế bào chất bắt dục đực.

Độ đặc hiệu của bộ primer RfSCAR

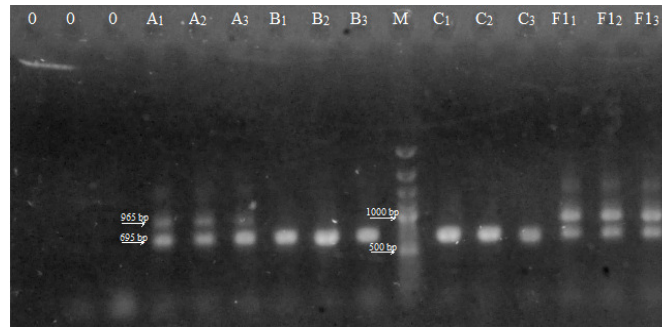
Bộ primer RfSCAR [5] được sử dụng để xác định sự hiện diện của allele trội phục hồi trong nhân. Cây mang tế bào chất bắt dục đực sẽ được phục hồi khả năng sinh giao tử đực hoàn chỉnh nếu trong bộ gen có mang allele trội *Rf*. Như vậy, về lý thuyết, chỉ có các cây thuộc dòng phục hồi và con lai F1 có mang gen này trong bộ gen. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR đoạn trình tự đặc trưng của allele trội *Rf* được thể hiện trong Hình 5.



Hình 5. Kiểm tra kết quả PCR với bộ primer RfSCAR bằng điện di. A_{1,2,3}: cây bắt dục đực, B_{1,2,3}: cây duy trì, M: thang chuẩn 100 bp, C_{1,2,3}: cây phục hồi, F_{1,2,3}: cây lai F1. Mẫu mang gen trội *Rf* sẽ xuất hiện băng ở vị trí 870 bp.

Trong các dòng được khảo sát, kết quả dương tính cho băng có kích thước đặc trưng 870 bp xuất hiện ở các mẫu cây phục hồi và con lai F1. Như vậy, kết quả thu nhận được tương tự với kết quả nghiên cứu trên giống ớt Hàn Quốc [5] và hoàn toàn phù hợp với lý thuyết về bắt dục đực tế bào chất. Con lai F1 mang tế bào chất bắt dục đực với *gencoxII* đột biến ở đầu 3' nhưng vẫn tạo được hạt phấn hữu dục bình thường do có mang allele phục hồi *Rf* trong nhân. Trong khi đó, cây bắt dục đực mang tế bào chất bắt dục nhưng lại có kiểu gen đồng hợp lặn *rf/rf* nên không thể phục

hồi tính hữu dục, kết quả là 100% hạt phấn đều không bắt màu khi nhuộm với acetocarmine. Đối với cây duy trì, mặc dù không mang allele trội *Rf* trong nhân nhưng do có tế bào chất bình thường (không mang đột biến ở đầu 3' của *gencoxII*) nên vẫn tạo được hạt phấn hữu thụ hoàn toàn. Từ kết quả trên, bộ primer RfSCAR hoàn toàn có thể được sử dụng để xác định sự hiện diện của gen trội *Rf* trong nhân của cây ớt, làm cơ sở để xác định yếu tố trong nhân liên quan đến tính trạng bắt dục đực tế bào chất.

Độ đặc hiệu của cặp primer CoxTri-M1

Hình 6. Kiểm tra kết quả PCR với bộ primer coxTri-M1 bằng điện di. A_{1,2,3}: cây bắt dục đực, B_{1,2,3}: cây duy trì, M: thang chuẩn 100 bp, C_{1,2,3}: cây phục hồi, F_{1,2,3}: cây lai F1. Mẫu mang đột biến trên *gencoxII* sẽ xuất hiện hai băng trong khi mẫu không đột biến chỉ có 1 băng.

Bộ primer CoxTri-M1 [6] được thiết kế với mục tiêu xác định chính xác hơn đột biến ở đầu 3' của *gencoxII*. Ưu điểm của primer này là sử dụng 3 primer (1 primer xuôi và 2 primer ngược) để xác định đồng thời sự hiện diện của *gencoxII* và đột biến ở đầu 3' của gen này. Như vậy, cây mang tế bào chất đột biến sẽ cho kết quả điện di là 2 băng gồm sản phẩm được nhân bản của vùng *coxII* không đột biến (kích thước nhỏ hơn) và vùng *coxII* đột biến trong khi các cây có tế bào chất bình thường chỉ có một băng đặc trưng của *gencoxII* bình thường.

Kết quả điện di sản phẩm PCR của các dòng cho thấy chỉ có dòng bắt dục đực và dòng con lai F1 có xuất hiện hai băng đặc trưng (965 bp và 695 bp) trong khi ở cây duy trì và cây phục hồi chỉ có một băng ở vị trí 695 bp. Kết quả này tương đồng với kết quả kiểm tra bằng bộ primer coxIISCAR, đồng thời cũng xác định ở tất cả các cây đều có sự hiện diện của *gencoxII* trong bộ gen của ty thể. Do đó, bộ primer này cũng có thể được sử dụng để xác định tế bào chất bắt dục đực.

Khả năng ứng dụng các cặp primer trong việc phát hiện các dòng liên quan đến tính trạng bắt dục đực tế bào chất

Bắt dục đực tế bào chất là một tính trạng liên quan đến cả gen trong nhân và gen trong ty thể. Cây mang ty thể bình thường sẽ có kiểu hình hữu dục. Trong khi đó, các cây mang tế bào chất đột biến sẽ biểu hiện kiểu hình bắt dục nếu không có sự hiện diện của gen phục hồi trong nhân (trong trường hợp cây ớt là allele trội *Rf*). Do đó, để xác định tính trạng bắt dục đực tế bào chất bằng phương pháp PCR, cần có các bộ primer cho phép xác định hai yếu tố là đột biến trong ty thể và gen phục hồi trong nhân. Kết quả thu được cho thấy hai bộ primer coxIISCAR và coxTri-M1 cho phép xác định được chính xác đột biến có liên hệ trực tiếp với kiểu hình bắt dục đực ở giống Ớt Chi Thiên được khảo sát và bộ primer RfSCAR cho phép xác định được chính xác sự hiện diện của allele trội *Rf* trong nhân. Như vậy, khi sử dụng kết hợp các bộ primer này, có thể xác định được chính xác dòng bắt dục đực và dòng duy trì, đồng thời kết quả cũng là cơ sở quan trọng để xác định dòng phục hồi tính hữu thụ ở ớt. Kết quả kiểm tra xác định các dòng bằng việc kết hợp các bộ primer sẽ cho kết quả như Bảng 1.

Bảng 1. Tổng hợp kết quả kiểm tra các dòng ốt bằng các bộ primer

	coxIISCAR	RfSCAR	coxTri-M1
Cây bắt dục dục	(+)	(-)	2 băng
Cây duy trì	(-)	(-)	1 băng
Cây phục hồi	(-)/(+)	(+)	1 hoặc 2 băng
Cây lai F1	(+)	(+)	2 băng

Căn cứ vào bảng tóm tắt kết quả, các primer này hoàn toàn có thể được ứng dụng để xác định các dòng cây ốt liên quan đến tính trạng bắt dục dục tế bào chất một cách hiệu quả.

KẾT LUẬN

Kết quả kiểm tra độ đặc hiệu của bốn bộ primer liên quan đến tính trạng bắt dục dục cho thấy ba bộ primer coxIISCAR, coxTri-M1 và RfSCAR có thể sử dụng để xác định các dòng khác nhau ở giống ốt Chi Thiên. Việc sử dụng kết hợp bộ primer RfSCAR với bộ primer coxIISCAR hoặc coxTri-M1 cho phép xác định chính xác dòng bắt dục dục và dòng duy trì. Kết quả này cũng đồng thời chứng tỏ đột biến ở đầu 3' của trình tự *atp6-2* không có liên hệ trực tiếp

đến tính trạng bắt dục dục tế bào chất ở cây ốt. Việc sử dụng phương pháp PCR để xác định sớm và chính xác tính trạng bắt dục dục tế bào chất ở cây ốt sẽ giúp rút ngắn thời gian và giảm chi phí một cách đáng kể trong công tác lai tạo các dòng duy trì và dòng bắt dục dục để phục vụ cho sản xuất hạt giống ốt. Kết quả này mở ra khả năng chọn lọc được những dòng ốt bắt dục dục mới từ các giống ốt bản địa, giảm sự phụ thuộc vào nguồn giống cây bắt dục từ nước ngoài cũng như đảm bảo thể hệ cây lai F1 có khả năng thích nghi tốt hơn với điều kiện khí hậu nước ta.

LỜI CẢM ƠN: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số C2013-18-17

Study on the specificity of some molecular markers related to the cytoplasmic male sterility trait of vietnamese Chi Thien chilli pepper cultivar (*Capsicum frutescens*)

• **Cung Hoang Phi Phuong**

• **Nguyen Thanh Hao**

• **Bui Van Le**

University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT

Cytoplasmic male sterility (CMS) is an important trait in the production of F1 hybrid seed of chili peppers. The creation and detection of CMS and maintainer lines by conventional methods require a lot of time and effort, and the accuracy is influenced by many factors. Therefore, the application of molecular markers is necessary to increase the efficiency of breeding. In this research, we investigated the specificity of four primer sets, coxIIISCAR, atp6SCAR, RfSCAR and coxTri-M1 related to CMS trait in different

lines of Chi Thien cultivar that is planted widely in Vietnam. The results showed that three of the four sets of primers (coxIIISCAR, RfSCAR and coxTri-M1) could discriminate exactly the CMS and the maintainer lines, the two most important lines for the production of F1 hybrid seeds. These results showed the feasibility of the application of these primer sets to increase the effectiveness of the chili peppers breeding process in Vietnam.

Keywords: Cytoplasmic male sterility (CMS), CMS line, maintainer line, restorer line.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. F. Budar, G. Pelletier, Male sterility in plants: occurrence, determination, significance and use, *Life Sciences*, 324543–550 (2001).
- [2]. C.D. Chase, Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial – nuclear interactions, *Trends in Genetics*, 23, 2 (2006).
- [3]. P.H. Hộ, *Cây cỏ Việt Nam – An Illustrated Flora of Vietnam Quyển I*, NXB Trẻ. (1999)
- [4]. D.H. Kim, B.D. Kim, Development of scar markers for early identification of the cytoplasmic male sterility genotype in chili pepper (*Capsicum annuum* L.), *Mol. Cells*, 20, 3, 416-422 (2005).
- [5]. G. Gulyas, K. Pakozdi, J.S. Lee, Y. Hirata, Analysis of fertility restoration by using cytoplasmic male-sterile red pepper (*Capsicum annuum* L) line, *Breeding Science*, 56, 331-334 (2006).
- [6]. W.K. Min, B.D. Kim, S. Kim, S. Lee, Development of new molecular markers for the identification of male sterile cytoplasm in peppers (*Capsicum annuum* L.), *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, 29, 1, 53-60 (2011).