

Các marker phân tử ứng dụng trong nhận diện dòng ớt cay bất dục đực bào chất (Cytoplasmic Male Sterility - CMS)

Molecular markers for indentifying (Cytoplasmic Male Sterility - CMS) in chili pepper

Lê Thị Trúc Linh^{1*}, Hồ Thị Bích Phương¹, Lê Thị Kính¹

¹Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: linh.ltt@ou.edu.vn

THÔNG TIN

TÓM TẮT

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.13.1.797.2018

Ngày nhận: 24/08/2017

Ngày nhận lại: 30/11/2017

Duyệt đăng: 14/03/2018

Từ khóa:

bất dục đực bào chất, marker phân tử, ớt cay

Bất dục đực bào chất (cytoplasmic male sterility, CMS) là một tính trạng di truyền làm mất chức năng của hạt phấn. Đây là một trong những tính trạng quan trọng trong sản xuất hạt giống lai. Đối với giống lai ớt cay thương mại, thời gian nhận diện các dòng ớt bất dục đực bào chất bằng phương pháp truyền thống mất nhiều thời gian. Do đó, các marker phân tử đang được phát triển để khắc phục khó khăn này. Với mục đích phát hiện các dòng ớt bất dục đực tại Việt Nam bằng marker phân tử, chúng tôi tiến hành phân tích dữ liệu từ các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước. Kết quả phân tích cho thấy, để có thể nhận diện chính xác dòng ớt CMS cần sử dụng kết hợp hai yếu tố: (1) yếu tố nhận diện bào chất S và bào chất N, và (2) yếu tố nhận diện gene *Rf* và *fr*. Mỗi yếu tố có nhiều loại marker khác nhau được phát hiện. Bài báo này sẽ giúp cung cấp cơ sở khoa học để chọn lựa các marker tiềm năng và phù hợp với điều kiện hiện tại ở Việt Nam trong phát hiện dòng ớt CMS. Ngoài ra, mỗi cần thiết cho phản ứng PCR để nhận diện dòng ớt CMS đã được xác định để làm cơ sở cho các nghiên cứu thực nghiệm sau này.

ABSTRACT

Cytoplasmic male sterility (CMS) is an inherited trait leading to functional pollen failure. It is an important trait for producing hybrid seed. For commercial chili pepper, identifying CMS elements by the traditional method is a time-consuming process. Molecular markers are, therefore, rapidly developed to overcome this. In order to identify Vietnam CMS chili pepper, we analyzed published data to determine the possibility of using molecular markers. Results show that two elements should be used for identifying CMS pepper: (1) S and N cytoplasm, and (2) *Rf* and *rf* gene. Each element could be determined by different

Keywords: chili pepper, cytoplasmic male sterility, molecular marker

molecular makers. This article provides an overview of CMS genetics for screening potential molecular markers for Vietnam CMS pepper. Also, PCR primers which could be used for future experimental research have been determined.

1. Giới thiệu

Cây ớt là một trong các loại rau gia vị có giá trị kinh tế cao được sử dụng rộng rãi tại Việt Nam và nhiều nước trên thế giới. Với hình thức sử dụng đa dạng như ăn tươi, phơi khô xay làm bột ớt, chế biến tương ớt, các loại sốt đặc biệt của một số nước, ngâm dấm, trái đóng hộp. Cây ớt có tiềm năng phát triển rất lớn và yêu cầu quá trình chọn giống đa dạng theo nhiều hướng khác nhau. Tại Việt Nam, hiện nay ớt chủ yếu phục vụ cho nhu cầu ăn tươi trong nước, làm tương ớt và phơi khô xuất khẩu. Theo Tổng cục thống kê, năm 2012, Việt Nam xuất khẩu khoảng 78.500 tấn ớt khô với giá trị 233 triệu USD, đây là mặt hàng nằm trong top 20 các mặt hàng nông sản xuất khẩu của Việt Nam. Thị trường xuất khẩu ớt tươi và khô hiện nay của Việt Nam chủ yếu đến các nước Ấn Độ, Thái Lan, Trung Quốc, Hàn Quốc, Singapore với sản lượng xuất khẩu ngày càng tăng. Điều này cho thấy tiềm năng sản xuất ớt cay tại Việt Nam là rất lớn, tương ứng với một thị trường hạt giống ớt tiềm năng.

Với diện tích trồng ớt năm 2012 khoảng 48.000 ha thì Việt Nam có nhu cầu hạt giống ớt rất cao (Faostat). Trừ một số ít giống ớt OP (open pollination) được trồng với diện tích nhỏ tại một số địa phương, đa số các giống ớt được nông dân sử dụng hiện nay là các giống F1 có nguồn gốc từ các công ty nước ngoài, được các công ty trong nước nhập về bán hoặc nhập giống bố mẹ về sản xuất F1 rồi bán. Theo số liệu của Tổng cục Hải quan, năm 2010 nước ta nhập khẩu khoảng 2,2 tấn hạt giống ớt với giá trị gần 700.000 USD, số lượng này tăng lên trong năm 2011 với giá trị khoảng 2,5 triệu USD cho khoảng 6,5 tấn hạt giống ớt nhập khẩu (cả ớt cay và ớt ngọt). Các giá trị trên cho thấy cần thiết phải thúc đẩy quá trình chọn tạo giống ớt trong nước để giảm sự phụ thuộc vào nguồn hạt giống ớt nước ngoài.

Một trong những yếu tố trở ngại chính để một giống ớt được đưa vào kinh doanh là khó khăn trong quá trình sản xuất hạt giống, đặc biệt là hạt giống F1. Ớt là loại cây có hoa lưỡng tính, có bầu nhụy, túi phấn chung một hoa và thời gian chín của hai bộ phận này không lệch nhau nhiều. Do đó, mặc dù có thể có tỷ lệ giao phấn nhờ côn trùng lên đến 40% tùy điều kiện, cây ớt vẫn được xem là cây tự thụ. Bên cạnh đó, hoa ớt có kích thước rất nhỏ, 2-4mm, nên việc thực hiện thao tác khử túi phấn cho lai tạo F1 tốn rất nhiều công lao động, có khả năng rủi ro cao do lẫn tạp khi vỡ túi phấn và tỷ lệ đậu trái giảm do các tổn thương trong thao tác khử túi phấn. Các yếu tố này làm cho giá thành sản xuất hạt giống ớt cay F1 lai rất cao, làm giảm sức cạnh tranh của giống. Để sản xuất hạt F1 cây tự thụ với số lượng lớn cần phải có các phương pháp làm mất khả năng hữu dục của hạt phấn dòng làm mẹ để giảm công sức cho quá trình khử túi phấn. Các phương pháp chính hiện được sử dụng là dùng hóa chất làm mất khả năng của hạt phấn, sử dụng ảnh hưởng của điều kiện môi trường (chủ yếu là nhiệt độ) và đặc biệt là sử dụng các giống có yếu tố bất dục đực làm dòng mẹ để giảm chi phí khử túi phấn.

Để nhận diện được dòng ớt bất dục đực bào chất theo phương pháp truyền thống phải mất rất nhiều thời gian do đặc điểm thời gian sinh trưởng cây ớt dài, từ 5-6 tháng/vụ, tăng chi

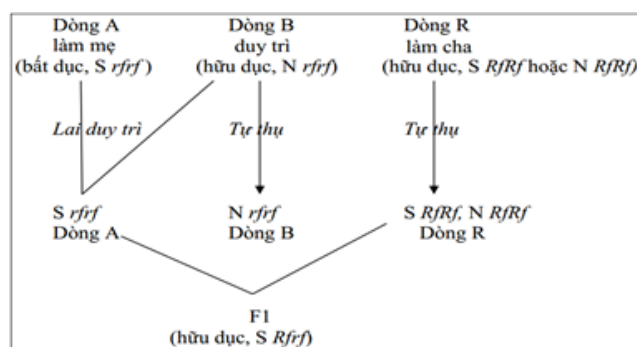
phí cho quá trình chọn tạo ra một giống ớt, từ đó giảm khả năng cạnh tranh trên thị trường. Để rút ngắn quá trình chọn tạo giống ớt, việc kết hợp giữa chọn tạo truyền thống và ứng dụng các quy trình công nghệ sinh học là cần thiết. Hiện nay có rất nhiều nghiên cứu với nhiều loại marker và quy trình phân tích khác nhau sử dụng để nhận hiện các dòng ớt bất dục đực bào chất phục vụ cho sản xuất hạt giống lai F1 đã được báo cáo trên thế giới. Nhưng để đánh giá chính xác loại marker và quy trình phân tích nào phù hợp với nguồn vật liệu di truyền và điều kiện công nghệ ở Việt Nam cần có các thí nghiệm khảo sát cụ thể. Bài báo này sẽ giúp tổng hợp các marker đã được phát triển cho tới thời điểm hiện tại.

2. Vật liệu và phương pháp

Các dữ liệu trong bài được thu thập từ Pubmed trên NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) và công cụ tìm kiếm Scholar của Google (<https://scholar.google.com.vn/>) với các từ khóa: cms marker chili pepper, restorer gene cms chili pepper.

3. Kết quả và biện luận

Bất dục đực bào chất ở ớt được ghi chú lần đầu tiên bởi Peterson (1958) trên dòng PI 164835. Ớt bất dục đực bào chất mang bào chất S (sterility) khác với bào chất bình thường N (normal). Giữa cây hữu dục bào chất N và cây bất dục bào chất S có nhiều điểm khác nhau trong cấu trúc DNA ty thể, do sự tái sắp xếp trong bộ gene ty thể dẫn đến xuất hiện các gene khác nhau (Hanson & Bentolila, 2004). Bên cạnh yếu tố di truyền ngoài nhân, ớt bất dục đực bào chất còn chịu sự quy định của một gene trong nhân: gene *Rf* (restorer of fertility). Gene *Rf* chủ yếu có trong ớt cay, rất hiếm xuất hiện ở ớt ngọt, có khả năng ức chế các yếu tố bất dục trong bào chất S, hồi phục khả năng hữu dục ở ớt (Mulyantoro et al., 2014). Kết hợp giữa hai yếu tố bào chất S và N cùng với hai gene *Rf* và *rf*, kết quả có 6 kiểu gene khác nhau nhưng chỉ có 2 kiểu hình, đó là: dòng bất dục đực dùng làm dòng mẹ (hay còn gọi là dòng A) trong sản xuất hạt lai F1 có kiểu gene S *rf/rf*; 5 kiểu gene còn lại đều là dòng hữu dục gồm: dòng ớt duy trì (dòng B) có kiểu gene N *rf/rf*, dòng ớt hồi phục dùng làm dòng cha (dòng R hay dòng C) có kiểu gene S *Rf/Rf* hoặc N *Rf/Rf*, các dòng dị hợp khác là S *Rf/rf* và N *Rf/rf*. Sơ đồ duy trì dòng cha mẹ và sản xuất hạt giống lai ớt cay F1 sử dụng yếu tố CMS được thể hiện như Hình 1. Như vậy, để nhận diện được dòng ớt cay bất dục đực bào chất cần có các marker phân biệt bào chất S và bào chất N, các marker phân biệt gene *Rf* và *rf* cũng như phân biệt được cây mang kiểu gene đồng hợp trội *Rf/Rf* với cây mang kiểu gene dị hợp *Rf/rf*.



Hình 1. Sơ đồ duy trì dòng cha mẹ và sản xuất hạt giống lai F1 sử dụng yếu tố CMS

Các marker nhận diện bào chất S và bào chất N

Sử dụng kỹ thuật RFLP, D. H. Kim, Kang, Kim, và Kim năm 2001 phát hiện hai gene thuộc ty thể là *atp6* và *coxII* liên kết với CMS (D. H. Kim et al., 2001). Năm 2005, D. H. Kim và Kim thực hiện phản ứng inverse PCR và giải trình tự các vạch PCR thu được từ dòng hữu dục và bất dục, phát hiện ở đầu 3' có một đoạn trình tự đặc biệt 251-bp trên gene *atp6* và 1550-bp trên gene *coxII* chỉ có ở dòng ốt bất dục đực bào chất (S), không xuất hiện ở dòng hữu dục (N) (D. H. Kim & Kim, 2005). Từ phát hiện này, Kim và Kim đã thiết kế bộ mồi trên vùng gene đặc biệt: *atp6*-SCAR và *coxII*-SCAR, thử nghiệm trên 20 dòng ốt đã biết trước, kết quả bộ mồi có thể phân biệt được dòng ốt bất dục và hữu dục (D. H. Kim & Kim, 2005). Ngoài marker *atp6*-SCAR được D. H. Kim và Kim thiết kế (2005), Jo, Jeong, và Kang (2009) và Ji, Huang, Yin, và Gong (2013) cũng thiết kế các marker trên gene *atp6* lần lượt có tên là ψ *atp6* và *atp6*-2. Nhưng các marker này không nằm trên vùng trình tự đặc biệt 251-bp chỉ có ở dòng bất dục S trên gene *atp6* như D. H. Kim và Kim (2005) đã giải trình tự và phát hiện (Ji et al., 2013; Jo et al., 2009; D. H. Kim & Kim, 2005). Vì vậy cặp mồi *atp6*-SCAR vẫn có độ tin cậy cao hơn ψ *atp6* và *atp6*-2.

Năm 2007, D. H. Kim, Kang, và Kim phát hiện một khung đọc mở (open reading frame) *orf456* nằm trong vùng trình tự đặc biệt 1550-bp xuôi dòng (downstream) của gene *coxII* chỉ có ở dòng ốt CMS (D. H. Kim et al., 2007). Bằng kỹ thuật Western blot, Kim và cộng sự nhận thấy, ở dòng ốt CMS có một sản phẩm protein khoảng 17-kDa do gene *ofr456* mã hóa; trong khi ở dòng ốt hữu dục, biểu hiện của protein này giảm đi rất nhiều lần. Khi chuyển gene *ofr456* vào cây thuộc họ cải *Arabidopsis*: 45% biểu hiện bất dục đực và không có hạt, số còn lại bất dục một phần vì dù có hạt nhưng hạt mang nhiều khiếm khuyết. Vì vậy, Kim và cộng sự kết luận rằng marker thiết kế trên trình tự *ofr456* sẽ cho hiệu quả nhận diện dòng ốt CMS chính xác hơn (D. H. Kim et al., 2007).

Sau đó, năm 2010, Gulyas, Shin, Kim, và Lee phát hiện một đột biến điểm mất nucleotide C (cytosine) ở vị trí 449 trên gene *ofr456* ở dòng ốt CMS, dịch chuyển khung đọc mở, dẫn đến codon kết thúc xuất hiện xa hơn, mở rộng trình tự *ofr456* thành trình tự *orf507*. Nếu chuyển gene *orf456* (vào họ cải *Arabidopsis*) chỉ có 45% bất dục đực thì khi chuyển gene *orf507* sẽ cho kết quả bất thụ hoàn toàn, chứng tỏ *orf507* có mối liên quan chặt chẽ hơn với hiện tượng bất dục đực. Đây là cơ sở để Gulyas và cộng sự phát triển marker *orf507* (Gulyas et al., 2010).

Năm 2009, Jo và cộng sự phát triển một marker thuộc bộ gene ty thể nhưng có nguồn gốc từ lục lạp là *accD-U* (Jo et al., 2009). Marker *accD-U* được thiết kế trên một trình tự mất đoạn trong bộ gene ty thể của dòng ốt CMS. Dựa vào sự hiện diện hoặc thiếu đi vạch sản phẩm *accD-U* khi chạy PCR, có thể nhận diện dòng ốt CMS (Jo et al., 2009).

Sử dụng kỹ thuật SRAP (sequence-related amplified polymorphism), năm 2014, Ji, Huang, Yin, Li, và Gong đã phát hiện trên dòng bất dục đực bào chất S có một đột biến mất đoạn 10-bp so với dòng hữu dục bào chất N và thiết kế được marker SCAR₁₃₀ (thuộc bộ gene lục lạp) có thể phân biệt bào chất S và bào chất N (Ji et al., 2014). Kết quả PCR từ marker SCAR₁₃₀ sẽ cho sản phẩm 130-bp đối với dòng mang bào chất S và sản phẩm 140-bp đối với dòng mang bào chất N với độ tin cậy cao hơn các marker trước đó (Ji et al., 2014).

Hiện nay, marker SCAR₁₃₀ được xem là marker có độ tin cậy cao nhất khi tiến hành nhận diện bào chất S liên kết với kiểu hình CMS trong chọn giống, được các nghiên cứu sau này sử dụng (Sun et al., 2017; Yeh, Lin, Shieh, & Teol, 2016). Tuy nhiên, tùy vào nguồn vật liệu di truyền chọn giống khác nhau mà các marker sẽ cho kết quả chính xác khác nhau. Vì vậy, cần kết hợp các marker khác nhau trên bộ gene ty thể và lục lạp hoặc tiến hành khảo sát lại độ chính xác của các marker trước khi bắt đầu sàng lọc chọn giống để xác định marker cho kết quả nhận diện chính xác nhất, phù hợp nhất trên nguồn vật liệu di truyền của mình. Trình tự các marker nhận diện bào chất S và N từ các nghiên cứu được tổng hợp trong Bảng 1.

Bảng 1

Trình tự các marker nhận diện bào chất S và N

Tên	Trình tự	TLTK
atp6-SCAR	F: AGTCCACTTGAACAATTTGAAATAATC R: GTTCCGTACTTTACTTACGAGC	(D. H. Kim & Kim, 2005)
coxII-SCAR	F: GTCGGGAGAACTACCTAACTA R: GGCTACCTAGTGATTTACAAGCA	
orf456	F: ATGCCCAAAGTCCCATGTATTT R: TTAAGTCCGGTTGCTCCATTGTT	(D. H. Kim et al., 2007)
ψatp6	F: TGGATCTCGCTATTAACCAC R: GTAGTTCATTCGGACCTAGTAG	(Jo et al., 2009)
accD-U	F: GTGATTGGATTTCTATGCGG R: GGAATGCCGTTTATTTGGCC	
orf507	F: ATGCCCAAAGTCCCATGT R: TTAAGTCCGGTTGCTCCATTGTT	(Gulyas et al., 2010)
atp6-2	F: GCTTCGCCTTCGTATAGTAGTTC R: AGTCATAGTGCTCACCCGTGTTG	(Ji et al., 2013)
SCAR ₁₃₀	F: TTACGGCTCGTTACCGCAGCG R: CAATTGACCGACCCGCCAT	(Ji et al., 2014)

Nguồn: Kết quả phân tích dữ liệu của nhóm nghiên cứu

Các marker nhận diện gene *Rf* và *rf*

Sự hồi phục tính hữu dục ở cây ớt được quy định chỉ bởi một gene trội *Rf*. Hiện nay có rất nhiều nghiên cứu với nhiều loại marker và quy trình phân tích khác nhau nhằm phân biệt gene *Rf* và *rf*, sử dụng để nhận diện các dòng A, B và R phục vụ cho sản xuất hạt giống lai F1 đã được báo cáo trên thế giới (Bảng 2). Năm 2006, D. S. Kim, Kim, Yoo, và Kim sử dụng 512 cặp mồi AFLP phân tích trên 10 mẫu DNA của mỗi kiểu gene *RfRf* và *rfrf*, thu được 8 cặp mồi cho tính đa hình rõ ràng nhất. Trong đó AFRF1 và AFRF8 là 2 cặp mồi có vị trí liên kết gần nhất với locus *Rf*, vì vậy các đoạn đa hình AFLP từ 2 cặp mồi này được mang đi giải trình tự. Từ kết quả giải trình tự, Kim và cộng sự đã thiết kế cặp mồi CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence): AFRF8-CAPS. Cặp mồi này không chỉ giúp phân biệt gene *Rf* và *rf*

mà còn phân biệt được kiểu gene đồng hợp *RfRf* và dị hợp *Rfrf*. Kết quả PCR của các mẫu DNA (có kiểu gene khác nhau) bằng cặp mồi này cho một sản phẩm cùng kích thước. Sau đó enzyme cắt giới hạn *RsaI* được sử dụng để cắt sản phẩm PCR và sẽ cho các sản phẩm với kích thước khác nhau. Kiểu gene *RfRf* và *rfrf* đều cho 3 sản phẩm, trong đó 2 sản phẩm có kích thước giống nhau giữa 2 kiểu gene, 1 sản phẩm có kích thước khoảng 100-bp đối với gene *RfRf* và 200-bp đối với *rfrf*; kiểu gene *Rfrf* cho 4 sản phẩm (D. S. Kim et al., 2006). Jo và cộng sự (2016) cũng thiết kế 2 cặp mồi CAPS là 4940-CAPS (sử dụng enzyme cắt giới hạn *RsaI*) và Co1Mod1-CAPS (sử dụng enzyme cắt giới hạn *BglIII*) (Jo et al., 2016), kết quả các sản phẩm sau khi PCR và cắt bằng enzyme được thể hiện trong Bảng 2. Ngoài ra, các nghiên cứu khác chỉ đưa ra marker phân tử giúp phân biệt gene *Rf* và *rf*, không thể phân biệt *RfRf* và *Rfrf* (Gulyas, Pakozdi, Lee, & Hirata, 2006); (Jo et al., 2010); (Jo et al., 2016); (Sun et al., 2017) (Bảng 2). Cơ sở phân tử và độ tin cậy của các marker này vẫn chưa được xác định rõ. Cũng như các marker nhận diện bào chất S và N, tùy vào nguồn vật liệu di truyền chọn giống khác nhau mà các marker nhận diện gene *Rf* và *rf* sẽ cho kết quả chính xác khác nhau. Cho đến hiện tại vẫn chưa có marker nào có thể nhận diện chính xác 100% gene *Rf* và *rf* hay các kiểu gene *RfRf* và *Rfrf*. Vì vậy, trong thời gian tới rất cần các nghiên cứu có thể xác định cơ chế phân tử rõ ràng cũng như phát hiện các marker có độ chính xác và tin cậy hơn trong việc nhận diện gene *Rf* và *rf*, tạo bước đột phá mới cho công tác sàng lọc, chọn tạo giống ớt sau này.

Bảng 2

Trình tự các marker nhận diện gene *Rf* và *rf*

Tên	Trình tự	RE	Kết quả	TLTK
AFRF8-CAPS	F: GTTGATGCTCTATGGTTGGAGAAC	<i>RsaI</i>	<i>RfRf</i> - 3 sản phẩm trong đó có 1 sản phẩm 100-bp <i>Rfrf</i> - 4 sản phẩm <i>rfrf</i> - 3 sản phẩm, trong đó có 1 sản phẩm 200-bp	(D. S. Kim et al., 2006)
	R: GCACTATTCCCTATTGGCTTTCTG			
CRF	F: ATTTTCAGATTGTGGCGACG		<i>RfRf/Rfrf</i> -có sản phẩm <i>rfrf</i> -không có sản phẩm	(Gulyas et al., 2006)
	R: CGACCATCACGACGAGG			
BAC13T7-SCAR	F: GAAGTAGGCCAAAACCTTATCACG		<i>RfRf/Rfrf</i> - có sản phẩm <i>rfrf</i> -không có sản phẩm	(Jo et al., 2010)
	R: CACTAAGCCCGATGTATGAATC			
PePPR1 AS-PCR	F: CAAATGCTATTATTCCCTTTCTCTCTGTC		<i>RfRf/Rfrf</i> - có sản phẩm <i>rfrf</i> -không có sản phẩm	(Jo et al., 2010)
	R: CAAGACAACATGCATCTGTGAC			
4940-CAPS	F: CCCAGCCCAGGCTTACTTAAC	<i>RsaI</i>	<i>RfRf</i> - 3 sản phẩm <i>Rfrf</i> - 4 sản phẩm <i>rfrf</i> - 2 sản phẩm	(Jo et al., 2016)
	R: CTGAAGGTGTTGTCGCCTTGC			
3336-last2-SCAR	F: CATCGAACTGATACGGAAGGAC		<i>RfRf/Rfrf</i> -có sản phẩm <i>rfrf</i> -không có sản phẩm	(Jo et al., 2016)
	R: TAACACTACTTGGGGAAAGCG			
Co1Mod1-CAPS	F: CCACCCCAAACGTAAGGGATC	<i>BglIII</i>	<i>RfRf</i> - 1 sản phẩm 576 hoặc 601-bp <i>Rfrf</i> - 2 sản phẩm <i>rfrf</i> - 1 sản phẩm 1177-bp	(Jo et al., 2016)
	R: CAACTTAGCCAATACAATCCCAC			

Tên	Trình tự	RE	Kết quả	TLTK
PPR12-SCAR	F: CAAGGTGTTGTCTATGTGGG		<i>RfRf/Rfirf</i> -có sản phẩm <i>rfirf</i> -không có sản phẩm	
	R: CATCAACGTGATTAGTGATAC			
4162-SCAR	F: GCAGTTCGGTTTTACGGAGTTAC			
	R: CCATTGGACAAAAGGGGATC			
CRF-SCAR	F: GTACACACCACTCGTCGCTCCT		<i>RfRf/Rfirf</i> -có sản phẩm <i>rfirf</i> -không có sản phẩm	(Sun et al., 2017)
	R: TTCTTGGGTCCCTTTCCAA			

RE (Restriction Enzyme): enzyme cắt giới hạn

Nguồn: Kết quả phân tích dữ liệu của nhóm nghiên cứu

4. Kết luận

Marker nhận diện bào chất S và N cũng như marker nhận diện gene hồi phục Rf và rf cho các dòng ớt bắt dục, các dòng duy trì và dòng hồi phục ngày càng được phát triển và cải tiến tốt hơn, làm tăng độ chính xác và độ tin cậy khi sử dụng. Tuy nhiên, cho đến hiện nay, vẫn chưa có marker nào nhận diện chính xác 100% các dòng ớt bắt dục, dòng duy trì và dòng hồi phục. Vì vậy cần kết hợp các loại marker khác nhau để có kết quả nhận diện chính xác nhất, phù hợp nhất trên nguồn vật liệu di truyền sẵn có tại Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

- Gulyas, G., Pakozdi, K., Lee, J.-S., & Hirata, Y. (2006). Analysis of fertility restoration by using cytoplasmic male-sterile red pepper (*Capsicum annuum* L.) lines. *Breeding Science*, 56(3), 331-334.
- Gulyas, G., Shin, Y., Kim, H., & Lee, J.-S. (2010). Altered transcript reveals an Orf507 sterility-related gene in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 28(4), 605-612.
- Hanson, M. R., & Bentolila, S. (2004). Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *The Plant Cell*, 16, 154-169.
- Ji, J.-J., Huang, W., Yin, C., & Gong, Z. (2013). Mitochondrial cytochrome c oxidase and F1Fo-ATPase dysfunction in peppers (*Capsicum annuum* L.) with cytoplasmic male sterility and its association with orf507 and Ψ atp6-2 genes. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(1), 1050-1068.
- Ji, J.-J., Huang, W., Yin, Y.-X., Li, Z., & Gong, Z.-H. (2014). Development of a SCAR marker for early identification of S-cytoplasm based on mitochondrial SRAP analysis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Molecular Breeding*, 33(3), 679-690.
- Jo, Y. D., Ha, Y., Lee, J. H., Park, M., Bergsma, A. C., Choi, H. I., ... Kang, B. C. (2016). Fine mapping of Restorer-of-fertility in pepper (*Capsicum annuum* L.) identified a candidate gene encoding a pentatricopeptide repeat (PPR)-containing protein. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(10), 2003-2017.

- Jo, Y. D., Jeong, H., & Kang, B.-C. (2009). Development of a CMS-specific marker based on chloroplast-derived mitochondrial sequence in pepper. *Plant Biotechnology Reports*, 3(4), 309-315.
- Jo, Y. D., Kim, Y.-M., Park, M.-N., Park, M., Kim, B.-Do., & Kang, B.-C. (2010). Development and evaluation of broadly applicable markers for Restorer-of-fertility in pepper. *Molecular Breeding*, 25(2), 187-201.
- Kim, D. H., & Kim, B.-D. (2005). Development of SCAR markers for early identification of cytoplasmic male sterility genotype in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 20(3), 416-422.
- Kim, D. H., Kang, J. G., & Kim, B.-D. (2007). Isolation and characterization of the cytoplasmic male sterility-associated orf456 gene of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Molecular Biology*, 63(4), 519-532.
- Kim, D. H., Kang, J. G., Kim, S., & Kim, B.-D. (2001). Identification of coxII and atp6 regions as associated to CMS in *Capsicum annuum* by using RFLP and long accurate PCR. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 42(2), 121-127.
- Kim, D. S., Kim, D. H., Yoo, J. H., & Kim, B.-D. (2006). Cleaved amplified polymorphic sequence and amplified fragment length polymorphism markers linked to the fertility restorer gene in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 21(1), 135-140.
- Mulyantoro, Ou, S. L., Chen, S.-Y., Liu, S.-C., Lo, T.-C., Wahyono, A., ... Ku, H.-M. (2014). Conversion of the genic male sterility (GMS) system of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to cytoplasmic male sterility (CMS). *Plant Breeding*, 133(2), 291-297.
- Peterson, P. A. (1958). Cytoplasmically inherited male sterility in *Capsicum*. *The American Naturalist*, 92(863), 111-119.
- Sun, G. S., Dai, Z. L., Bosland, P. W., Wang, Q., Sun, C. Q., Zhang, Z. C., & Ma, Z. H. (2017). Characterizing and marker-assisting a novel chili pepper (*Capsicum annuum* L.) yellow bud mutant with cytoplasmic male sterility. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 16(1), 1-11.
- Yeh, T., Lin, S., Shieh, H., & Teol, Y. N. (2016). Markers for cytoplasmic male sterility (cms) traits in chili peppers (*Capsicum annuum* L.). I: Multiplex pcr and validation. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 48(4), 465-473.