

## SỰ LIÊN KẾT CỦA MỘT SỐ CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR VỚI TÍNH TRẠNG KHÁNG BỆNH HÉO XANH VI KHUẨN Ở LẠC

Ngô Thị Thùy Linh<sup>1\*</sup>, Nguyễn Văn Trữ<sup>1</sup>, Lê Thị Bích Thủy<sup>1</sup>,  
Nguyễn Văn Thắng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Vân<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Việt<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, \*thuylinh.ibt@gmail.com

<sup>2</sup>Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển đầu đố, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Bảo vệ thực vật

<sup>4</sup>Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

**TÓM TẮT:** Bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây ra là một trong những bệnh gây tổn thất lớn cho sản xuất lạc trên thế giới và Việt Nam. Kết quả chọn giống kháng bệnh theo phương pháp truyền thống còn hạn chế do hiệu quả chuyển các gen kháng bệnh vào con lai còn khó khăn và tốn nhiều thời gian. Vì vậy, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn là phương pháp khả thi để kiểm soát dịch bệnh. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân tích phân tử tập đoàn 63 mẫu giống lạc với 60 cặp mồi SSR để xác định sự liên kết giữa một số chỉ thị phân tử với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh của tập đoàn lạc nhận được 31 giống kháng với bệnh héo xanh vi khuẩn trong 63 giống tập đoàn (tỷ lệ 49,21%), còn lại là các giống nhiễm. Trong số 60 cặp mồi SSR, chúng tôi nhận được 26 cặp thể hiện sự đa hình với tổng số 90 alen. Số lượng alen dao động từ 2 đến 6 alen, giá trị trung bình là 3,46 alen/locus. Tỷ lệ alen hiếm xuất hiện là 26,92% (7 alen hiếm xuất hiện trên 7 cặp mồi PM137, PM3, pPGSseq14A7, RN2F12, pPGSseq3F5, 7G2 và 16C6). Hệ số PIC trong khoảng từ 0,2955 (mồi PM606) đến 0,7469 (mồi TC1A02). Giá trị trung bình của hệ số PIC khá cao (0,5560). Qua phân tích SSR và đánh giá khả năng kháng bệnh của tập đoàn lạc đã xác định được có sự liên kết của 3 chỉ thị SSR (pPGPSeq3F05, GA161 và 7G2) với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn. Kết quả nhận được cho thấy triển vọng sử dụng các chỉ thị này trong chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn.

**Từ khóa:** Chỉ thị phân tử, héo xanh vi khuẩn, kháng bệnh, lạc, SSR.

### MỞ ĐẦU

Bệnh héo xanh do vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây ra là một trong những yếu tố quan trọng hạn chế năng suất, diện tích và sản lượng lạc trên thế giới. Bệnh có thể làm giảm năng suất lạc từ 30-65%. Phạm vi ký chủ của bệnh rộng, gây hại trên 400 loài cây trồng thuộc 80 họ khác nhau. Vi khuẩn có thể tồn tại lâu trong hạt giống, trong đất và cỏ dại. Chính vì vậy việc phòng trừ bệnh gặp nhiều khó khăn [3].

Trong những năm gần đây, với sự phát triển của công nghệ sinh học, ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống kháng bệnh đã được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Trong đó, chỉ thị SSR được ứng dụng rộng rãi nhờ những đặc trưng riêng biệt như sự khác nhau về số lần lặp lại đem lại mức độ đa hình giữa các alen. Bản đồ liên kết di truyền với các chỉ thị SSR đã được xây dựng ở cây lạc với kiểu gen

bộ đôi AA trong genome [10], BB [9] và bộ bốn AABB [6, 13]. Gần đây, đã có nhiều nghiên cứu về cơ sở di truyền có tính chuyên sâu để phát triển chỉ thị SSR, cung cấp các công cụ di truyền phục vụ cho nghiên cứu tổng thể giống lạc [13, 14].

Các chỉ thị phân tử đối với bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc đã được một nhóm các nhà khoa học Trung Quốc nghiên cứu bằng các chỉ thị SSR, AFLP cũng như về biểu hiện gen liên quan đến bệnh héo xanh vi khuẩn. Một số chỉ thị SSR như 16C6, 14H6, 3A8 liên kết chặt với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc đã được phát hiện [1]. Chỉ thị 7G2 đã được công bố có liên kết với gen kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc [7]. Việc đánh giá các chỉ thị phân tử trên nguồn vật liệu nghiên cứu là rất cần thiết, từ đó có thể cho thấy sự phù hợp của việc sử dụng các chỉ thị này trong chọn lọc với nguồn vật liệu nghiên cứu.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân tích tập đoàn 63 giống lạc với 60 chỉ thị phân tử SSR, phối hợp với kết quả đánh giá tính kháng bệnh héo xanh vi khuẩn của tập đoàn giống để xác định sự liên kết giữa các chỉ thị với tính kháng bệnh làm cơ sở cho việc sử dụng các chỉ thị này trong chọn giống kháng bệnh.

**VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

Nguyên liệu thực vật sử dụng trong nghiên cứu là 63 mẫu giống lạc trong tập đoàn giống ở Việt Nam do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển đậu đỗ, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam cung cấp (bảng 1).

*Bảng 1. 63 mẫu giống lạc sử dụng trong nghiên cứu*

STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống	STT	Tên giống
1	ICGV00351	17	L21	33	O816.7	49	BWP-1
2	L18	18	T38	34	L22	50	BWP-2
3	O506.2	19	TD 207	35	L26	51	BWP-3
4	0713.24.1	20	9805. 7. 1	36	O401.65.1	52	BWP-4
5	ICGV6022	21	L08	37	VAG 03.2	53	BWP-5
6	BW62	22	ICGV 970019	38	ICGV01241	54	BWP-6
7	LO5	23	ICGV01232	39	Sen thất	55	BWP-7
8	L19	24	ICGV01238	40	BW79.4	56	BWP-8
9	CG 38	25	ICGV 89104	41	L23	57	BWP-9
10	Sen lai	26	L12	42	MDRF5. 176	58	BWP-10
11	L17	27	ICGV92118	43	ICG 5051	59	BWP-11
12	ICGV01239	28	O909.1	44	L14	60	BWP-12
13	O401.57.1	29	ICG 11515	45	BW15	61	BWP-13
14	L15	30	L16	46	Dòng lai1	62	Gié NQ(đ/c)
15	Dòng lai14	31	VAG36	47	ICG 4911	63	ICGV3704(đ/c)
16	ICGV 98370	32	Dòng lai2	48	O702.3		

60 cặp mồi SSR [2] được cung cấp bởi hãng IDT, Hoa Kỳ.

**Phương pháp đánh giá khả năng kháng bệnh của các mẫu giống lạc bằng lây nhiễm nhân tạo**

Khả năng kháng bệnh của các mẫu giống lạc bằng lây nhiễm nhân tạo được đánh giá trên nền Sick-plot [5]. Mỗi giống lạc được lây nhiễm 30 hạt nứt nanh với các chỉ tiêu theo dõi: điều tra đếm toàn bộ số cây bị héo và được đánh giá khả năng kháng nhiễm theo thang điểm 6 cấp (xem bảng 2 phần kết quả).

**Tách chiết ADN genome**

ADN genome được tách chiết theo phương pháp CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) của Maroof et al. (1984) [12] có cải tiến.

**Phương pháp phân tích ADN genome với chỉ thị SSR**

Phản ứng PCR được thực hiện với hỗn hợp

phản ứng gồm 1 µl ADN genome (25 ng/µl); 13,4 µl H<sub>2</sub>O; 2,0 µl Buffer 10xPCR; 2,5 µl dNTP (1 mM); 0,5 µl mồi F (50 ng/µl); 0,5 µl mồi R (50 ng/µl); 0,1 µl enzyme Taq polymerase (5 U/µl). Điều kiện phản ứng PCR như sau: 94°C trong 4 phút; 35 chu kỳ của 5 phút 94°C; 30 giây 48°C-60°C (tùy thuộc nhiệt độ bắt cặp của từng mồi); 45 giây 72°C và bước cuối cùng 72°C trong 5 phút.

Hệ số đa dạng gen (PIC) hay còn gọi là hàm lượng thông tin tính đa hình của từng locus (Polymorphic Information Content) được tính theo công thức của Saal & Wricke (1999) [11]:

$$PIC_i = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Trong đó, P<sub>ij</sub> là tần số xuất hiện của alen thứ j của kiểu gen i được kiểm tra. Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn).

**Phương pháp phân tích liên kết chỉ thị phân tử với tính kháng bệnh**

Trong quần thể 63 mẫu giống, tiến hành đánh giá mức độ kháng bệnh của từng cây. Phối hợp kết quả đánh giá tính kháng bệnh với kết quả phân tích chỉ thị phân tử SSR, xác định mức độ liên kết của chỉ thị phân tử với tính kháng bệnh sử dụng chương trình SAS bằng phương pháp phân tích từng chỉ thị (Single Marker Analysis) [8].

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Đánh giá khả năng kháng bệnh của tập đoàn lạc**

Các nghiên cứu về vi khuẩn *Ralstonia*

*solanacearum* cho thấy, các nguồn vi khuẩn phân lập từ các vùng địa lý khác nhau và ký chủ khác nhau không giống nhau về đặc tính sinh hóa và phản ứng huyết thanh. He et al. (1983) [4] đã chia các nguồn vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* thành 5 nòi dựa trên phạm vi ký chủ của chúng và 5 biovar dựa trên đặc tính sinh hóa. Các biovar 3, 4 gây bệnh cho lạc ở các nước châu Á [4]. Trong nghiên cứu này, nòi gây bệnh phạm vi rộng nhất trong số các nòi vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* đã phân lập được sử dụng. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh của tập đoàn 63 mẫu giống lạc được tổng hợp trong bảng 2.

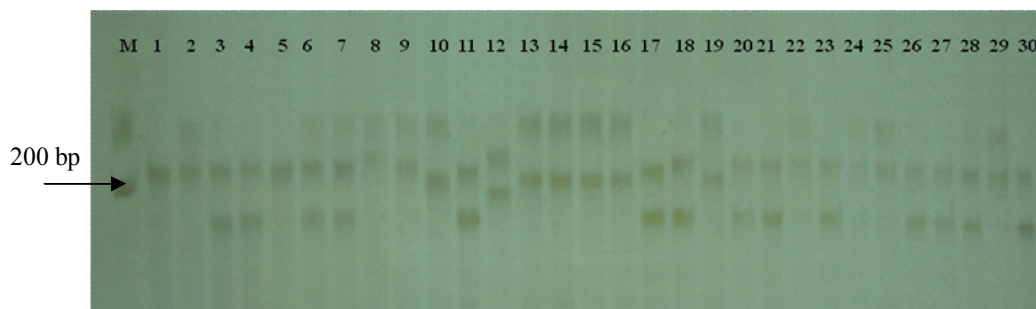
Bảng 2. Kết quả đánh giá tính kháng bệnh của tập đoàn 63 mẫu giống lạc

Cấp bệnh	Tỷ lệ cây chết (%)	Mức độ kháng/ nhiễm	Ký hiệu	Số giống trong tập đoàn 63 giống	Tỷ lệ %
1	< 10	Kháng cao	HR	2	3,17
2	11-20	Kháng	R	11	17,46
3	21-30	Kháng trung bình	MR	18	28,57
4	31-50	Nhiễm trung bình	MS	20	31,75
5	50-90	Nhiễm	S	9	14,29
6	> 90	Nhiễm nặng	HS	3	4,76

Kết quả trong bảng 2 cho thấy, số mẫu giống lạc mắc cảm với bệnh héo xanh vi khuẩn khá cao, chiếm tới 32 trong tổng số 63 mẫu giống trong tập đoàn (tỷ lệ 50,79%). Có 31 giống kháng với bệnh héo xanh vi khuẩn (tỷ lệ 49,21%). Tuy nhiên, hầu hết chúng đều gắn với kiểu gen có tiềm năng năng suất thấp. Do đó

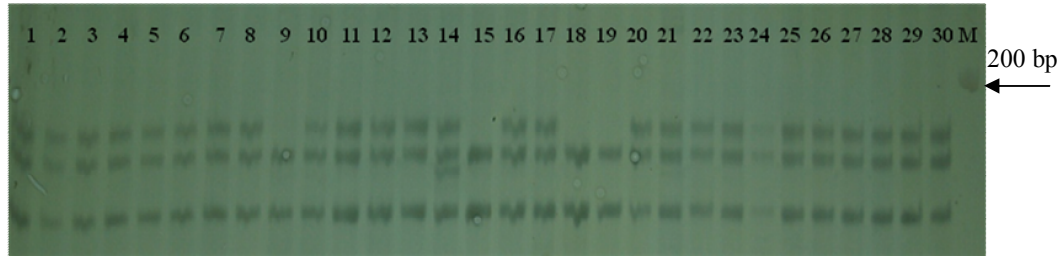
việc xác định các giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn để làm vật liệu lai tạo với các giống năng suất tốt nhằm chọn được giống lạc vừa kháng bệnh vừa có năng suất cao rất có ý nghĩa.

**Phân tích tập đoàn lạc với các chỉ thị phân tử SSR**



Hình 1. Điện di trên gel polyacrylamide sản phẩm PCR ADN genome một số giống lạc với môi pPGPseq14A7

M: Marker, 1: ICGV 00351, 2: L18, 3: O506.2, 4: 0713.24.1, 5: ICGV6022, 6: BW62, 7: LO5, 8: L19, 9: CG38, 10: Sen lai, 11: L17, 12: ICGV01239, 13: O401.57.1, 14: L15, 15: Dòng lai 14, 16: ICGV 98370, 17: L21, 18: T38, 19: TD207, 20: 9805.7.1, 21: L08, 22: ICGV 970019, 23: ICGV01232, 24: ICGV01238, 25: ICGV 89104, 26: L12, 27: ICGV 92118, 28: O909.1, 29: ICG 11515, 30: L16.



Hình 2. Điện di trên gel polyacrylamide sản phẩm PCR ADN genome một số giống lạc với môi RN2F12

M: Marker, 1: ICGV 00351, 2: L18, 3: O506.2, 4: 0713.24.1, 5: ICGV6022, 6: BW62, 7: LO5, 8: L19, 9: CG38, 10: Sen lai, 11: L17, 12: ICGV01239, 13: O401.57.1, 14: L15, 15: Dòng lai 14, 16: ICGV 98370, 17: L21, 18: T38, 19: TD207, 20: 9805.7.1, 21: L08, 22: ICGV 970019, 23: ICGV01232, 24: ICGV01238, 25: ICGV 89104, 26: L12, 27: ICGV 92118, 28: O909.1, 29: ICG 11515, 30: L16.

ADN genome của 63 mẫu giống lạc nghiên cứu đã được tách chiết với độ nguyên vẹn và tinh sạch cao, đạt yêu cầu cho phản ứng PCR với các môi SSR. Kết quả phân tích SSR với một số giống thể hiện ở các hình 1 và 2.

Kết quả phân tích các mẫu giống lạc với 60 cặp môi SSR, chúng tôi nhận được 26 cặp thể hiện tính đa hình với tổng cộng 90 alen (bảng 3). Số lượng alen dao động từ 2 đến 6 alen, có 4 cặp môi cho 2 alen (14H6, PM137, PM606, Ah-420) và 2 cặp môi cho 5 alen (16C6, TC1A02), giá trị trung bình là 3,46 alen/locus. Trong đó, có 7 cặp môi xác định được 7 alen hiếm (alen có

tần số xuất hiện nhỏ hơn 5%) với tỷ lệ alen hiếm trung bình là 26,92%. Các cặp môi PM137, PM3, pPGSseq14A7, RN2F12, pPGSseq3F5, 7G2, 16C6 xác định được 1 alen hiếm trên mỗi locus nhận dạng được các giống O401.57.1, 9805.7.1, L15, Sen lai và BW62. Hệ số PIC được coi là thước đo tính đa dạng di truyền của các alen ở từng locus SSR. Kết quả thu được (bảng 3) cho thấy hệ số PIC trung bình của các môi khá cao (0,5560). Trong đó mỗi TC1A02 có giá trị PIC lớn nhất (0,7469) còn mỗi PM606 có giá trị PIC thấp nhất (0,2955).

Bảng 3. Hệ số PIC và số alen trên các chỉ thị nghiên cứu

STT	Tên môi	Số alen	Hệ số PIC	TT	Tên môi	Số alen	Hệ số PIC
1	pPGPseq3F5	3	0,5547	14	TC1A02	5	0,7469
2	pPGPseq4F1	4	0,6752	15	TC2G05	3	0,5616
3	pPGPseq14A7	4	0,5152	16	PM3	4	0,5355
4	14H6	2	0,3609	17	PM137	2	0,3435
5	3A8	4	0,6049	18	PM606	2	0,2955
6	7G2	3	0,5109	19	IPMH395	3	0,4592
7	16C6	5	0,7030	20	IPMH524	6	0,7424
8	2C11	3	0,6250	21	Seq2H8	5	0,6293
9	RN2F12	4	0,6125	22	Seq16E04	3	0,5471
10	GA161	3	0,4961	23	Ah-420	2	0,3568
11	GA169	3	0,5066	24	Ah-558	4	0,6900
12	TC2E05	3	0,5948	25	Ah-408	3	0,5199
13	TC5E06	3	0,6512	26	gi4755	4	0,6172
Tổng						90	14,4559
Trung bình						3,46	0,5560

### Sự liên kết của chỉ thị phân tử với tính trạng kháng bệnh

Kết hợp các kết quả thu được từ việc phân tích phân tử với các môi SSR và tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn của các giống lạc cùng với việc sử dụng phương pháp phân tích từng chỉ thị (Single Marker Analysis) chúng tôi nhận được kết quả có sự liên kết giữa chỉ thị phân tử SSR và tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Giá trị hằng số tương quan/liên kết ( $r^2$ ) giữa chỉ thị phân tử và khả năng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn

STT	Tên chỉ thị	Hệ số liên kết ( $r^2$ )	Độ tin cậy (P)	CV
1	pPGPseq3F5	0,588	0,0001	28,166
2	pPGPseq4F1	0,007	0,654	37,016
3	pPGPseq14A7	0,000	0,935	58,431
4	14H6	0,145	0,137	48,660
5	3A8	0,034	0,153	39,905
6	7G2	0,526	0,0001	29,370
7	16C6	0,023	0,166	45,116
8	2C11	0,013	0,537	37,535
9	RN2F12	0,022	0,425	52,475
10	GA161	0,658	0,0001	26,920
11	GA169	0,011	0,287	55,945
12	TC2E05	0,063	0,179	55,699
13	TC5E06	0,072	0,150	48,180
14	TC1E02	0,003	0,771	40,027
15	TC2G05	0,054	0,213	44,438
16	PM3	0,248	0,055	37,250
17	PM137	0,118	0,075	33,662
18	PM606	0,003	0,742	35,285
19	IPM395	0,000	0,944	56,643
20	IPM524	0,001	0,822	55,479
21	Seq2H8	0,013	0,537	42,466
22	Seq16E04	0,023	0,420	49,799
23	Ah-420	0,065	0,338	48,180
24	Ah-558	0,084	0,118	33,738
25	Ah-408	0,012	0,552	62,018
26	gi4755	0,000	0,889	55,615

Kết quả bảng 4 cho thấy, 3 chỉ thị pPGPseq3F05 ( $P=0,0001$ ;  $r^2=0,588$ ; CV=28,166), GA161 ( $P=0,0001$ ;  $r^2=0,658$ ; CV=26,920), 7G2 ( $P=0,0001$ ;  $r^2=0,526$ ; CV=29,370) có ý nghĩa trong việc liên kết với

tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn. Do sự khác biệt về cơ sở di truyền của nguồn vật liệu sử dụng trong các nghiên cứu nên trong chọn lọc nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử có những chỉ thị được công bố là liên kết chặt với một tính trạng nào đó (khoảng cách <0,5 cM) trên nguồn vật liệu này nhưng chúng lại không có kết quả tương tự trên nguồn vật khác. Đã có một số chỉ thị phân tử được công bố có liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc khi đánh giá với tập đoàn 31 giống lạc của Trung Quốc như 7G2, 16C6, 14H6, 3A8...[7]. Tuy nhiên, việc đánh giá lại các chỉ thị phân tử trên nguồn vật liệu nghiên cứu là rất cần thiết, từ đó có thể kết luận việc có sử dụng các chỉ thị này trong chọn lọc với nguồn vật liệu nghiên cứu hay không. Ngoài chỉ thị 7G2 đã được công bố có liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc và cũng phù hợp khi đánh giá với tập đoàn giống ở Việt Nam, hai chỉ thị pPGPseq3F05, GA161 có liên kết với gen kháng bệnh héo xanh vi khuẩn ở lạc khi đánh giá với tập đoàn 63 giống lạc của Việt Nam cũng rất có ý nghĩa trong công tác chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, năng suất cao, chất lượng tốt ở trong nước.

### KẾT LUẬN

Kết quả đánh giá khả năng kháng bệnh cho thấy có 31 giống lạc kháng với bệnh héo xanh vi khuẩn trong tổng số 63 giống tập đoàn (tỷ lệ 49,21%). Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tìm ra 3 chỉ thị liên kết với tính trạng kháng bệnh héo xanh vi khuẩn là pPGPseq3F05, GA161 và 7G2. Các chỉ thị này có thể có ý nghĩa trong việc chọn tạo giống lạc kháng bệnh héo xanh vi khuẩn, tuy nhiên vẫn cần được đánh giá trong các quần thể lai tiếp theo.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bo-Shou L., Yong L., Dong L., Sheng-Yu W., Jia-Quan H., Xiao-Ping R., Hui-Fang J., Li-Ying Y., 2010. Germplasm with high oil content and resistance to *Aspergillus flavus* and bacterial wilt developed from peanut recombinant inbred lines. Acta Agronomica Sinica., 36(8): 1296-1301.
2. Ferguson M. E., Burow M. D., Schulze S.

- R., Bramel P. J., Paterson A. H., Kresovich S., Mitchell S., 2004. Microsatellite identification and characterization in peanut (*A. hypogaea* L.) Theor. Appl. Genet., 108: 1064-1070.
3. Hayward A. C., 1994. Hosts of *P. solanacearum*. In A.C Hayward and G.L.Hartman (Eds) Bacterial Wilt: The disease and its causative agent, *P. solanacearum*. CAB International Wallingford, UK, 9-21.
  4. He L. Y., Sequeira L., Kelman A., 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant. Dis., 67: 1357-1361.
  5. Hong N. X., Mehan V. K., 1992. Research on bacterial wilt of groundnut in Vietnam. Bacterial wilt of groundnut, ACIAR proceeding (Hartman G.L and Hayward A.C ed.), ACIAR, Canberra, Australia, 45: 219-230.
  6. Hong Y., Chen X., Liang X., Liu H., Zhou G., Li S., Wen S., Holbrook C.C., Gou B., 2010. A SSR-based composite genetic linkage map for the cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genome. BMC Plant Biol., 10: 17.
  7. Jiang H., Liao B., Ren X., Lei Y., Mace E., Fu T., Crouch J.H., 2007. Comparative assessment of genetic diversity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes with various levels of resistance to bacterial wilt through SSR and AFLP analyses. Journal of Genetics and Genomics, 34(6): 544-554.
  8. Lincoln S., Daly M., Lander E., 1992. Mapping genes controlling quantitative traits with MAPMAKER/QTL. Version 1.1: A tutorial and reference manual. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge, MA., Whitehead Institute Technical Report: 46.
  9. Moretzsohn M. C., Barbosa A. V., Alves-Freitas D. M., Teixeira C., Leal-Bertioli S. C., Guimaraes P. M., Pereira R. W., Lopes C. R., Cavallari M. M., Valls J. F., Bertioli D. J., Gimenes M. A., 2009. A linkage map for the B-genome of *Arachis* (Fabaceae) and its synteny to the A-genome. BMC Plant Biol., 9: 40.
  10. Moretzsohn M.C., Leoi L., Proite K., Guimaras P.M., Leal-Bertioli S.C.M., Gimenes M.A., Martins W.S., Valls J. F. M., Grattapaglia D., Bertioli D. J., 2005. A microsatellite-based, gene-rich linkage map for the AA genome of *Arachis* (Fabaceae). Theor. Appl. Genet., 111: 060-1071.
  11. Saal B., Wricke, 1999. Development of simple sequence repeat makers in rye (*Secale cereale* L.). Genome, 42(5): 964-972.
  12. Saghai M. A., Biyashev R. M., Yang G. P., Zhang Q., Allard R. W., 1984. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosome location, and population dynamics. P. Natl. Acad. Sci. USA., 91: 5466-5470.
  13. Varshney R. K., Bertioli D. J., Moretzsohn M. C., Vadez V., Krishnamurthy L., Aruma R., Nigam S. N., Moss B. J., Seetha K., Ravi K., He G. H., Knapp S. J., Hoisington D. A., 2009. The first SSR-based genetic linkage map for cultivated groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Theor. Appl. Genet., 118(4): 729-739.
  14. Wang M. L., Chen C. Y., Tonnis B., Barkley N. A., Pinnow D. L., Pittman R. N., Davis J., Holbrook C. C., Stalker H. T., Pederson G. A, 2013. Oil, fatty acid, flavonoid, and resveratrol content variability and FAD2A functional SNP genotypes in the U.S. Peanut mini-core collection. J. Agr. Food. Chem., 61(11): 2875-2882.

## THE LINKAGE OF SSR MARKERS WITH BACTERIAL WILT DISEASE RESISTANCE IN PEANUT

Ngo Thi Thuy Linh<sup>1</sup>, Nguyen Van Tru<sup>1</sup>, Le Thi Bich Thuy<sup>1</sup>,  
Nguyen Van Thang<sup>2</sup>, Nguyen Thi Van<sup>3</sup>, Nguyen Van Viet<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, VAST

<sup>2</sup>Legumes Research and Development Center

<sup>3</sup>Plant Protection Research Institute

<sup>4</sup>Vietnam Academy of Agricultural Sciences

### SUMMARY

Bacterial wilt, caused by *Ralstonia solanaceum* Smith is one of the major diseases causing significant yield loss in peanut all over the world. Selection and evaluation of bacterial wilt resistant cultivars by traditional method are retrained because the effective transfer of disease resistant genes to hybrid line by traditional method is difficult and time consuming. Therefore, the application of molecular marker for selection and evaluation of bacterial wilt resistant cultivars in peanut is the most feasible method for controlling the disease. In this study, we presented the results on the use of 63 peanut cultivars and 60 SSR primers to identify the linkage between molecular markers and bacterial wilt resistance. There were 31 bacterial wilt resistant cultivars in 63 peanut cultivars (49.21%). Twenty six primer pairs gave polymorphism with a total of 90 alleles. The number of alleles ranged from 2 to 6 alleles with an average of 3.46 locus/allele. The ratio of rare allele was 26.92% (seven rare alleles occurred at PM137, PM3, pPGSseq14A7, RN2F12, pPGSseq3F5, 7G2 and 16C6. The means of polymorphism information content were from 0.2955 (PM606 primer) to 0.7469 (TC1A02 primer) with an average of 0.5560. Three SSR markers, namely pPGPSeq3F05, GA161 and 7G2 were identified to be linked to bacterial wilt resistance after association analysis by single marker analysis method. These markers could be useful for selection and evaluation of bacterial wilt resistance in peanut.

*Keywords:* Bacterial wilt, molecular marker, peanut, resistant, SSR.

*Ngày nhận bài:* 15-5-2015