

4.2. Đề nghị

Các hộ gia đình, chính quyền địa phương có cây đầu dòng có cơ chế, cũng như quy định cụ thể để duy trì, quản lý những cây đầu dòng, không những góp phần bảo tồn nguồn gen của địa phương mà còn phục vụ công tác khai thác, phát triển ra sản xuất.

Khai thác mắt ghép trên các cây đầu dòng để phục vụ cho công tác nhân giống cây bưởi chua đầu tôm Sài Sơn phục vụ sản xuất hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Đình Ca**, 2015. Báo cáo tổng kết đề tài: Khai thác và phát triển nguồn gen Cam Bù.
- Võ Văn Chi**, 1997. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội.
- Cục Trồng trọt, Bộ Nông nghiệp và PTNT**, 2016. Báo cáo kết quả thực hiện công tác 2016 và triển khai kế hoạch năm 2017 lĩnh vực trồng trọt.

Phạm Hoàng Hộ, 1992. *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển II, tập 1. NXB Montreal.

FAOSTAT. Crops, National Production (FAOSTAT) Dataset. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Địa chỉ: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>; truy cập ngày 25/3/2019.

Sở Nông nghiệp và PTNT Hà Nội, 2017. Quyết định số 2285/QĐ-SNN ngày 16/7/2017 về việc công nhận 04 cây đầu dòng bưởi chua đầu tôm trồng tại vườn ông Nguyễn Văn Lữ.

Sở Nông nghiệp và PTNT Hà Nội, 2017. Quyết định số 2286/QĐ-SNN ngày 16/7/2017 về công nhận 01 cây đầu dòng bưởi chua đầu tôm trồng tại vườn ông Nguyễn Khắc Ngọc.

Sở Nông nghiệp và PTNT Hà Nội, 2017. Quyết định số 2288/QĐ-SNN ngày 16/7/2017 về công nhận 02 cây đầu dòng bưởi chua đầu tôm trồng tại vườn ông Tạ Đức Nhuận.

Selection of mother plants for propagation of Sai Son pomelo

Nguyen Thi Xuyen, Le Tuan Phong,
Ta Kim Binh, La Tuan Nghia, Nguyen Thi Thanh,
Tran Quang Hai, Vu Van Tung, Nguyen Kim Chi

Abstract

Sour shrimp head grapefruit Sai Son grown in Sai Son commune, Quoc Oai district, Hanoi city is a local specialty fruit tree. However, this genetic resource has been cultivating by using experience of local people with less care and pest control, so there is a risk of degradation, leading to unstable productivity and poor quality. On the other hand, breeding and selection have not been paid attention; the first lines for propagation have not been selected; plant management is not strict. Plantlets have been layered from unqualified trees by farmer households themselves, leading to disease infection after planting. The study of mother tree selection is a sustainable solution in conservation and exploitation of grape fruit genetic resources at present. 7 elite trees were selected to meet the criteria for the first line: Lu 02, Lu 03, Lu 04, Lu 05, Ngoc 08, Nhuan 10, Nhuan 11. These individuals were the first lines that were recognized by Hanoi Department of Agriculture and Rural Development according to Decision No. 2285/QĐ-SNN, 2286/QĐ-SNN and 2288/QĐ-SNN dated November 16, 2017.

Keywords: Sour shrimp head grapefruit Sai Son, mother plant, propagation, conservation

Ngày nhận bài: : 2/5/2019

Ngày phản biện: 7/5/2019

Người phản biện: TS. Cao Văn Chí

Ngày duyệt đăng: 15/5/2019

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁC CÁ THỂ QUÝT ĐƯỜNG TRÀ VINH TUYỂN CHỌN BẰNG CHỈ THỊ SSR

Nguyễn Phương Thúy¹, Trần Thị Thảo Như¹,
Đinh Thị Thu Thảo¹, Trần Thị Oanh Yến¹

TÓM TẮT

Quýt Đường được trồng phổ biến ở các tỉnh phía Nam, trong đó quýt Đường Trà Vinh nổi tiếng với vị ngọt, hương thơm đặc trưng. Quýt Đường Trà Vinh có nguồn gốc từ cây trồng hạt, 22 cá thể được tuyển chọn trong quần thể quýt Đường trồng hạt tại Trà Vinh được đánh giá tính đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền bằng chỉ thị phân tử SSR. Kết quả cho thấy 22 cá thể quýt Đường Trà Vinh chọn lọc có mức độ đa hình cao (PIC trung bình là 0,5);

¹ Viện Cây ăn quả miền Nam (SOFRI)

21 trong số 22 cá thể này có tỉ lệ dị hợp tử cao ở 14 chỉ thị SSRs. Phân tích nhóm dựa trên hệ số tương đồng Jaccard và phương pháp UPGMA sử dụng phần mềm NTSYSpc 2.1, 22 cá thể phân tích được phân thành 2 nhóm chính. Các chỉ thị SSRs trong nghiên cứu này còn có thể sử dụng trong xác định cá thể quýt Đường tuyển chọn. Chỉ thị CT19 có thể phân biệt 2 cá thể quýt Đường QTV13 và QTV14 ; chỉ thị TAA15 và CAC33 có thể phân biệt cá thể QTV31, QTV43, QTV29, QTV41 và QTV41 với các cá thể khác.

Từ khóa: Quýt Đường Trà Vinh, SSRs, đa dạng di truyền, phân tích nhóm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây quýt (*Citrus reticulata* Blanco) được trồng phổ biến ở nhiều vùng sinh thái trong nước; riêng ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), hai giống quýt nổi tiếng và được trồng phổ biến là quýt Đường và quýt Hồng. Giống quýt Đường được trồng rất phổ biến ở hầu hết các tỉnh thuộc ĐBSCL, trong đó tỉnh Trà Vinh nổi tiếng với quýt Đường Long Trị. Long Trị là một xã thuộc huyện Càng Long, tỉnh Trà Vinh, cây quýt Đường tại đây được trồng từ hạt, nổi tiếng bởi quả to, vỏ mỏng, vị ngọt thanh, vỏ bóng sáng và bảo quản được lâu. Theo nhiều lão nông ở đây cho biết cây quýt Đường có mặt tại vùng đất này hơn nửa thế kỷ qua và đã nổi tiếng trên thị trường trong và ngoài tỉnh Trà Vinh.

Việc phân loại và sự phát sinh loài cây có múi nói chung và cây quýt nói riêng thì rất phức tạp, gây nhiều tranh cãi và dễ nhầm lẫn, chủ yếu là do quá trình lai tạo tự nhiên giữa các giống trong cùng một loài hoặc khác loài, tần số cao của đột biến chôi, lịch sử canh tác lâu đời và phân bố rộng (Nicolosi *et al.*, 2000). Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền thì lợi thế hơn so với phân tích hình thái dựa vào đặc điểm kiểu hình, bởi vì chỉ thị phân tử nói chung không bị ảnh hưởng bởi tác động bên ngoài. Sử dụng chỉ thị phân tử có thể so sánh các nguồn gen thu thập tại bất kỳ thời gian nào trong năm, trong khi đặc điểm kiểu hình có thể bị ảnh hưởng bởi môi trường, kỹ thuật canh tác (The Citrus and Date Crop Germplasm Committee, USA, CDCGC, 2004). Một trong những chỉ thị phân tử có độ chính xác cao là SSRs (microsatellites hoặc simple sequence repeats), là do mức độ đa hình cao, nhiều allel, đồng trội, phân bố ngẫu nhiên trên bộ gen thực vật và được ứng dụng trong nghiên cứu di truyền của cây có múi (Golein *et al.*, 2012).

Trước đây, giống quýt Đường Trà Vinh chủ yếu được trồng từ hạt, hiện tại cây trồng hạt đang bị giảm dần diện tích do cây già cỗi, thiếu chăm sóc, dịch hại,... và nhà vườn tại Trà Vinh bắt đầu trồng quýt Đường từ mua cây giống trôi nổi. Do vậy,

nguồn gen quýt Đường trồng hạt tại Trà Vinh đang bị mai một, cần thiết phải duy trì nguồn gen và phát triển giống quýt Đường Trà Vinh; các giải pháp cần thiết và cấp bách là điều tra, đánh giá, tuyển chọn các cá thể tốt, sạch bệnh vàng lá greening, lưu giữ, nhân giống và trồng sản xuất,... Bài báo này trình bày kết quả đánh giá tính đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử SSRs của các cá thể quýt Đường tuyển chọn nhằm xác định tính đa hình giữa các cá thể quýt Đường trồng hạt, từ đó có kế hoạch sử dụng trong công tác bảo tồn và phát triển sản xuất giống quýt Đường Trà Vinh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hai mươi hai cá thể quýt Đường do Viện Cây ăn quả miền Nam tuyển chọn từ cây trồng hạt tại Trà Vinh được trình bày ở bảng 1.

Mười một chỉ thị SSRs được sử dụng cho phân tích đa dạng di truyền trong số 23 cặp mỗi được chọn lọc. Trình tự chuỗi nucleotides của 11 chỉ thị SSRs được trình bày ở bảng 2.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA

Lá non của 22 cá thể quýt Đường tuyển chọn được thu thập vào buổi sáng, khoảng 8 - 9 giờ, rửa sạch bằng nước cất vô trùng và làm khô bằng giấy thấm. Các mẫu lá (5 g/mẫu) được nghiền thành bột mịn trong dung dịch nitor lỏng, sau đó tồn trữ ngay ở -80°C và dùng cho tách chiết DNA.

DNA của các mẫu lá quýt Đường được tách chiết bằng bộ kit DNeasy Plant Mini của QIAGEN. Các bước trong quá trình tách chiết DNA được thực hiện theo qui trình có sẵn trong bộ Kit DNeasy Plant Mini của QIAGEN. DNA sau đó được kiểm tra số lượng và chất lượng bằng máy Nanodrop và gel agarose 0,8%.

2.2.2. Phân tích tính đa hình dựa vào chỉ thị phân tử SSR

Kỹ thuật SSRs được thực hiện theo Golein và cộng tác viên (2012) có hiệu chỉnh cho phù hợp:

các đoạn SSRs từ bộ gen được khuếch đại bằng máy nhân phân tử PCR, phản ứng PCR (25 µl) gồm: 1 × PCR buffer; 0,2 mM dNTP; 0,3 µM primer; 2 mM MgCl₂; 1 unit *Taq* DNA polymerase và 50 ng DNA mẫu. Chu kỳ khuếch đại gồm các bước: bước 1: tách sợi đôi ở 95°C trong 5 phút; bước 2: được thực hiện 35 chu kỳ với 95°C trong 1 phút, 57 - 58°C trong 1 phút, 72°C trong 1,5 phút và 72°C trong 7 phút; bước 3: kết thúc tại 10°C.

Sản phẩm PCR được ghi nhận bằng cách điện di trên gel agarose 3%. Các sản phẩm PCR khuếch đại sau khi điện di được thu thập bằng cách có sự hiện của đoạn DNA khuếch đại trên gel là 1 và không có sự hiện diện là 0.

Phân tích, đánh giá đa dạng di truyền các giống/ dòng quýt Đường dựa trên hệ số tương đồng Jaccard

và phương pháp UPGMA sử dụng phần mềm NTSYSpc 2.1.

Hàm lượng thông tin đa hình PIC (Polymorphic Information Content) của mỗi cặp mỗi SSR được xác định theo công thức:

$$PIC_i = 1 - \sum P_i^2$$

Trong đó: P_i là tần số xuất hiện của allel thứ i . Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn) (Jannati et al., 2009).

Tỷ lệ dị hợp tử (H%) của mỗi mẫu được tính theo công thức:

$$H\% = X / (M - Y)$$

Trong đó: X : Tổng số mỗi có xuất hiện 2 allel/ 1 locus SSR; M : Tổng số mỗi được sử dụng trong nghiên cứu; Y : Tổng số mỗi không xuất hiện phân đoạn DNA (Khuất Hữu Trung và ctv., 2009).

Bảng 1. Một số đặc tính nông học của các cá thể quýt Đường trồng bằng hạt ở các địa phương trong tỉnh Trà Vinh

STT	Mã số	Tuổi cây	Nơi thu thập	STT	Mã số	Tuổi cây	Nơi thu thập
1	QTV-04	17	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	12	QTV-18	22	Ấp Phú Hưng 1, xã Bình Phú, huyện Càng Long
2	QTV-05	17	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	13	QTV-19	22	Ấp Phú Hưng 1, xã Bình Phú, huyện Càng Long
3	QTV-06	22	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	14	QTV-24	20	Ấp Kinh Ngay, xã Đại Phúc, huyện Càng Long
4	QTV-07	22	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	15	QTV-26	22	Ấp Kinh Ngay, xã Đại Phúc, huyện Càng Long
5	QTV-08	14	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	16	QTV-29	20	Ấp Kinh Ngay, xã Đại Phúc, huyện Càng Long
6	QTV-09	20	Ấp Long Trị, xã Bình Phú, huyện Càng Long	17	QTV-31	20	Ấp Kinh Ngay, xã Đại Phúc, huyện Càng Long
7	QTV-10	24	Ấp Phú Hưng 1, xã Bình Phú, huyện Càng Long	18	QTV-39	17	Ấp Ô Chích, xã Lương Hòa, huyện Châu Thành
8	QTV-11	16	Ấp Phú Đức 2, xã Bình Phú, huyện Càng Long	19	QTV-41	17	Ấp Ô Chích, xã Lương Hòa, huyện Châu Thành
9	QTV-12	16	Ấp Phú Đức 2, xã Bình Phú, huyện Càng Long	20	QTV-42	16	Ấp Ô Chích, xã Lương Hòa, huyện Châu Thành
10	QTV-13	19	Ấp Phú Đức 2, xã Bình Phú, huyện Càng Long	21	QTV-43	16	Ấp Định Hòa, xã Long Thới, huyện Tiểu Cần
11	QTV-14	19	Ấp Phú Đức 2, xã Bình Phú, huyện Càng Long	22	QTV-44	16	Ấp Định Hòa, xã Long Thới, huyện Tiểu Cần

Bảng 2. Các đoạn mỗi SSR được sử dụng cho phân tích đa dạng di truyền

STT	Các đoạn mỗi	Trình tự nucleotidic (5' - 3')	Sản khuếch đại	Tài liệu tham khảo
1	TAA15	F: GAAAGGGTTACTTGGACCAGGC R: CTTCCCAGCTGCACAAGC	+	Jannati M. <i>et al.</i> , 2009.
2	TAA27	F: GGATGAAAAATGCTCAAAATG R: TAGTACCCACAGGGAAGAGAGC	+	Jannati M. <i>et al.</i> , 2009.
3	TAA41	F: AGGTCTACATTGGCATTGTC R: ACATGCAGTGCTATAATGAATG	+	Jannati M. <i>et al.</i> , 2009.
4	mCrCIR03A08	F: CAGAGACAGCCAAGAGA R: GCTTCTTACATTCCTCAAA	+	Snoussi H. <i>et al.</i> , 2012.
5	mCrCIR03G05	F: CCACACAGGCAGACA R: CCTTGGAGGAGCTTTAC	+	Snoussi H. <i>et al.</i> , 2012.
6	CAC33	F: GGT GAT GCT GCT ACT GAT GC R:CAA TTG TGA ATT TGT GAT TCC G	+	Jannati M. <i>et al.</i> , 2009.
7	CT19	F: CGC CAA GCT TAC CAC TCA CTA C F: GCC ACG ATT TGT AGG GGG ATA G	+	Jannati M. <i>et al.</i> , 2009.
8	TAA45	F: GCA CCT TTT ATA CCT GAC TCG G R: TTC AGC ATT TGA GTT GGT TAC G	+	Golein B. <i>et al.</i> , 2005.
9	TAA52	F: GAT CTT GAC TGA ACT TAA AG R: ATG TAT TGT GTT GAT AAC G	+	Golein B. <i>et al.</i> , 2005.
10	mCrCIR01F04a	F: AAG CAT TTA GGG AGG GTC ACT R: TGC TGC TGC TGT TGT TGT TCT	+	Snoussi H. <i>et al.</i> , 2012.
11	GT03	F: GCC TTC TTG ATT TAC CGG AC R: TGC TCC GAA CTT CAT CAT TG	+	Khuất Hữu Trung và <i>ctv.</i> , 2009.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 3 năm 2018 đến tháng 4 năm 2019 tại phòng thí nghiệm sinh học phân tử thuộc Bộ môn Chọn tạo giống - Viện Cây ăn quả miền Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính đa hình của 22 cá thể quýt Đường tuyến chọn từ cây trồng hạt bằng chỉ thị phân tử SSRs

Trong số 23 cặp mỗi SSRs được sử dụng trong

thí nghiệm có 4 mỗi mCrCIR02A09, CAC15, mCrCIR01D06a và AMB5 không xuất hiện phân đoạn DNA (allen); 18 mỗi cho sản phẩm khuếch đại phân đoạn DNA, trong đó có 7 mỗi CAT01, AG14, CMS23, AMB5, ATC09, TAA15 và CMS-26 thể hiện ở trạng thái đơn hình (monomorphism); riêng chỉ thị AG14 xuất hiện 3 phân đoạn DNA và 11 mỗi còn lại (bảng 3) thể hiện trạng thái đa hình (polymorphism).

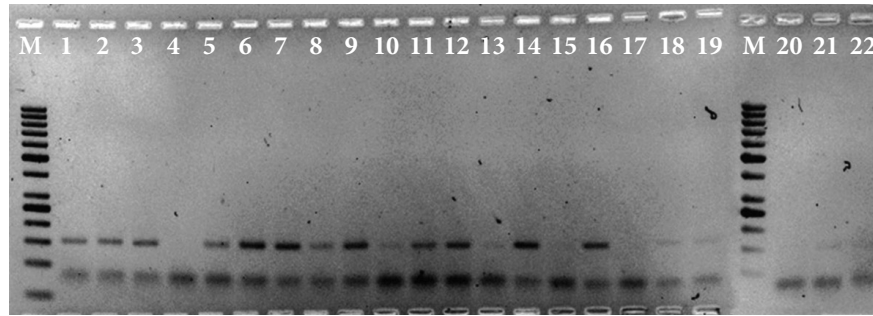
Bảng 3. Số phân đoạn đa hình và giá trị PIC của các chỉ thị SSRs sử dụng trong nghiên cứu

STT	Các đoạn mỗi	Số mẫu cho sản phẩm khuếch đại	Số allen/mỗi	Kích thước phân đoạn	PIC
1	TAA15	19	2	175 - 200	0,50
2	TAA27	20	2	200 - 210	0,50
3	TAA41	17	2	125 - 160	0,50
4	mCrCIR03A08	16	2	210 - 240	0,50
5	mCrCIR03G05	22	2	220 - 245	0,49
6	CAC33	19	2	140 - 190	0,48
7	TAA45	21	2	90 - 140	0,50
8	TAA52	20	2	90 - 130	0,50
9	mCrCIR01F04a	20	2	200 - 240	0,50
10	CT19	22	2	90 - 150	0,49
11	GT03	20	2	150 - 200	0,50
Hệ số PIC trung bình					0,50

Mỗi mỗi đa hình biểu hiện số lượng allen khác nhau giữa các locus. Trong thí nghiệm này, thu được tổng số là 22 allen từ 11 mỗi đa hình, trung bình có 2 allen trên một chỉ thị SSRs. Kết quả này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Trần Thị Oanh Yến và cộng tác viên (2003) khi phân tích tính đa dạng di truyền nguồn gen cây có múi ở Việt Nam (131 giống/dòng) bằng ứng dụng chỉ thị Microsatellite với tổng số 350 allen đã được khuếch đại từ 10 mỗi

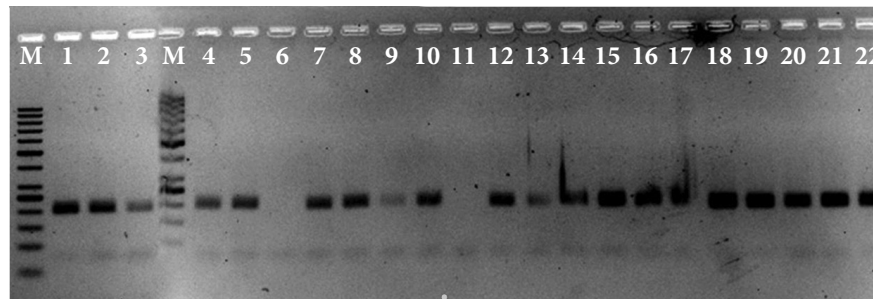
SSRs. Điều này cũng phù hợp vì kết quả phân tích của Trần Thị Oanh Yến và cộng tác viên (2003) trên 131 giống/dòng cây có múi trong khi trong báo cáo này chúng tôi chỉ nghiên cứu tính đa hình trên các cá thể tuyển chọn thuộc giống quýt Đường trồng hạt tại Trà Vinh.

Kích thước của các allen khuếch đại trong khoảng từ 90 bp đến 245 bp (bảng 3), phù hợp với các kết quả nghiên cứu của các tác giả (Bảng 2).



Hình 1. Đoạn mỗi CT19 của 22 cá thể quýt Đường tuyển chọn từ cây trồng hạt tại Trà Vinh

Ghi chú: M. thang DNA 50 bp, 1. QTV-04, 2. QTV-05, 3. QTV-06, 4. QTV-07, 5. QTV-08, 6. QTV-09, 7. QTV-10, 8. QTV-11, 9. QTV-12, 10. QTV-13, 11. QTV-14, 12. QTV-18, 13. QTV-19, 14. QTV-24, 15. QTV-26, 16. QTV-29, 17. QTV-31, 18. QTV-39, 19. QTV-41, 20. QTV-42, 21. QTV-43, 22. QTV-44.



Hình 2. Đoạn mỗi mCrCIR01F04a của 22 cá thể quýt Đường tuyển chọn từ cây trồng hạt tại Trà Vinh

Ghi chú: M. thang DNA 50 bp, 1. QTV-04, 2. QTV-05, 3. QTV-06, 4. QTV-07, 5. QTV-08, 6. QTV-09, 7. QTV-10, 8. QTV-11, 9. QTV-12, 10. QTV-13, 11. QTV-14, 12. QTV-18, 13. QTV-19, 14. QTV-24, 15. QTV-26, 16. QTV-29, 17. QTV-31, 18. QTV-39, 19. QTV-41, 20. QTV-42, 21. QTV-43, 22. QTV-44

Mức độ đa dạng di truyền kiểu gen các cá thể quýt Đường phân tích được đánh giá thông qua giá trị PIC của mỗi mỗi. Giá trị PIC dao động từ 0,48 (mỗi CAC33) đến 0,50 và giá trị PIC trung bình là 0,50; 3 mỗi CrCIR03G05, CAC33 và CT19 có giá trị PIC < 0,50; tuy nhiên, ở mức 0,48 - 0,49. Kết quả này cho thấy các chỉ thị phân tử SSRs được sử dụng trong nghiên cứu thể hiện tính đa hình cao, với giá trị PIC = 0,50 (Bảng 3). Giá trị PIC = 0 là tại vị trí locus chỉ có 1 allen đơn hình. Theo DeWoody và cộng tác viên (1995) các mỗi SSRs có giá trị PIC lớn

hơn hoặc bằng 0,50 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của mỗi đó.

Dựa trên sự hiện diện của các đoạn DNA (allen) trên gel agarose, kết quả còn cho thấy các chỉ thị SSRs trong nghiên cứu này có thể dùng trong xác định các cá thể quýt Đường trồng hạt tại Trà Vinh; chỉ thị CT19 có thể phân biệt 2 cá thể quýt Đường QTV13 và QTV14; hay các chỉ thị TAA15 và CAC33 có thể phân biệt các cá thể QTV31, QTV43, QTV29, QTV41 và QTV41 với các cá thể khác.

Bảng 4. Tỷ lệ dị hợp (H%) của các cá thể quýt Đường tuyển chọn từ cây trồng hạt tại Trà Vinh qua phân tích bằng chỉ thị SSRs

STT	Mã số	H%	STT	Mã số	H%
1	QTV-04	78,57	12	QTV-18	78,57
2	QTV-05	85,71	13	QTV-19	66,67
3	QTV-06	85,71	14	QTV-24	84,62
4	QTV-07	76,92	15	QTV-26	64,29
5	QTV-08	78,57	16	QTV-29	75,00
6	QTV-09	72,73	17	QTV-31	69,23
7	QTV-10	84,62	18	QTV-39	81,82
8	QTV-11	85,71	19	QTV-41	75,00
9	QTV-12	84,62	20	QTV-42	37,50
10	QTV-13	84,62	21	QTV-43	63,64
11	QTV-14	75,00	22	QTV-44	63,64

Kết quả bảng 4 cho thấy: Tỷ lệ dị hợp tử của các dòng quýt khá cao từ 63,64 - 84,62% ở 21 dòng quýt tuyển chọn chỉ duy dòng quýt Đường mang mã số QTV-42 có tỷ lệ dị hợp tử chỉ 37,50%. Kết quả này cho thấy ở cây quýt có sự phân ly mạnh và sự đa dạng về nguồn gen khi cây được trồng bằng hạt.

3.2. Mối quan hệ di truyền của 22 cá thể quýt Đường tuyển chọn

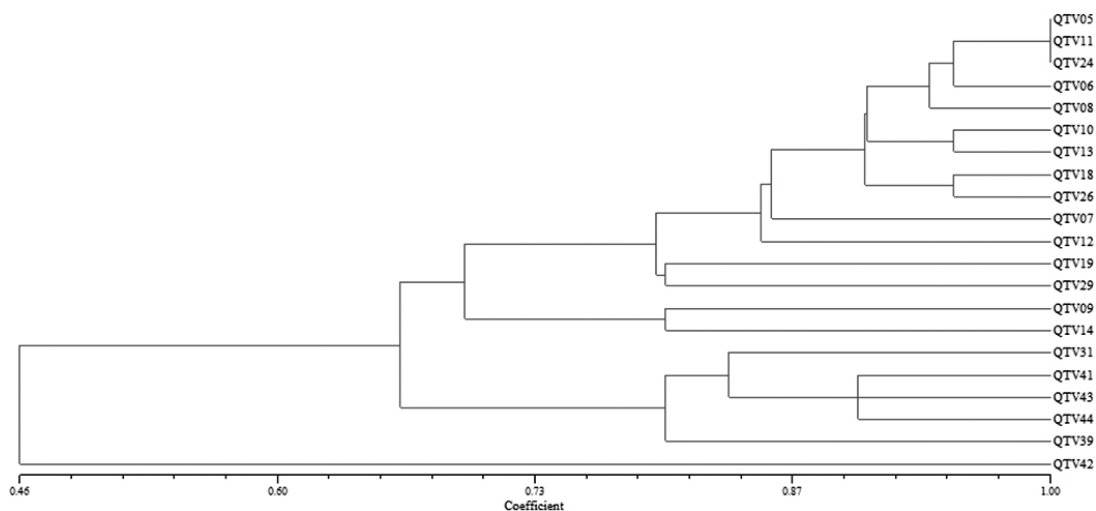
Kết quả phân tích đa dạng di truyền theo phương pháp UPGMA dựa vào chỉ số tương đồng giản đơn SM (Simple matching coefficient) thu được mối tương quan di truyền giữa 22 cá thể quýt Đường thể hiện qua hệ số tương đồng di truyền (bảng 4) và biểu đồ hình cây (Hình 3).

Hệ số tương đồng di truyền của 22 cá thể quýt Đường dao động từ 0,25 đến 1,00. Trong đó, các cặp cá thể có hệ số tương đồng di truyền cao nhất (1,00) là QTV05 và QTV11; QTV05 và QTV24; QTV11 và QTV24. Cặp cá thể quýt Đường có hệ số tương đồng di truyền nhỏ nhất (0,25) là QTV09 và QTV42; QTV14 và QTV42.

Dựa trên giản đồ phân nhóm cho thấy nếu xét mức độ tương đồng di truyền của 22 cá thể quýt Đường ở 0,46 sẽ chia chúng thành 2 nhóm chính.

Nhóm I: Chỉ có 1 cá thể là QTV42.

Nhóm II: Gồm 21 giống còn lại, trong đó 3 cá thể QTV05, QTV11 và QTV24 giống nhau hoàn toàn và có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 1,00. Điều này chứng minh rằng các cá thể quýt Đường QTV05, QTV11 và QTV24 có cùng nguồn gốc.



Hình 3. Giản đồ đa dạng di truyền 22 cá thể quýt Đường theo hệ số di truyền giống nhau của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA

IV. KẾT LUẬN

Tính đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền của 22 cá thể quýt Đường tuyển chọn tại Trà Vinh đã được xác định, chúng có mức độ đa hình cao (PIC trung bình là 0,50), và 22 cá thể này có tỷ lệ dị hợp tử cao. Các cá thể phân tích được phân thành 2 nhóm chính.

Các chỉ thị SSRs trong nghiên cứu này có thể dùng trong xác định các cá thể tuyển chọn; chỉ thị CT19 có thể phân biệt 2 cá thể quýt Đường QTV13 và QTV14; chỉ thị TAA15 và CAC33 có thể phân biệt cá thể QTV31, QTV43, QTV29, QTV41 và QTV41 với các cá thể khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Khuất Hữu Trung, Hà Trọng Huy, Nguyễn Trường Khoa, Ngô Hồng Bình, Nguyễn Thanh Bình, Đặng Trọng Lương, Lê Huy Hàm**, 2009. Nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống bưởi bản địa Việt Nam (*Citrus grandis*) bằng chỉ thị Microsatellite. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7 (4): 485-492.
- Trần Thị Oanh Yến, Luro Francois và Nguyễn Ngọc Thi**, 2003. Phân tích tính đa dạng di truyền nguồn gen cây có múi ở Việt Nam bằng Microsatellite marker. Trong *Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ rau quả 2002-2003*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 57-66.
- DeWoody J. A., R. L. Honeycutt, L. C. Skow**, 1995. Microsatellite markers in white-tailed deer. *J. Hered.*, 86: 317-319.
- Golein B., Nazeryan M., Babakhani B.**, 2012. Assessing genetic variability in male sterile and low fertile citrus cultivars utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *African Journal of Biotechnology*, 11 (7): 1632-1638.
- Golein B., Talaie A., Zamani Z., Ebadi A., Behjatnia A.**, 2005. Assessment of Genetic Variability in Some Iranian Sweet Oranges (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) and Mandarins (*Citrus reticulata* Blanco) using SSR Markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7 (2): 167-170.
- Jannati M., Fotouhi R., Abad A.P., Salehi Z.**, 2009. Genetic diversity analysis of Iranian *Citrus* varieties using micro satellite (SSR) based markers. *Journal of Horticulture and Forestry*, 1 (7): 120-125.
- Nicolosi E., Deng Z.N., Gentile A., La Malfa S., Continella G. and Tribulato E.**, 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*, 100: 1155-1166.
- Snoussi H., Duval M.F., Lor A.G., Belfalah Z., Froelicher Y., Risterucci A.M., Perier X., Jacquemoud-Collet J.P., Navarro L., Harrabi M., Ollitrault P.**, 2012. Assessment of the genetic diversity of the Tunisian Citrus roostock germplasm. *BMC Genetics*, pp. 1-12.
- The Citrus and Date Crop Germplasm Committee, USA (CDCGC)**, 2004. *Citrus and DGermplasm: Crop Vulnerability, Germplasm Activities, Germplasm Needs*. Citand Date Crop Germplasm Committee, USA. pp. 1-30.

Evaluation of genetic diversity of selected Tra Vinh Duong mandarin individuals by SSR markers

Nguyen Phuong Thuy, Tran Thi Thao Nhu,
Dinh Thi Thu Thao, Tran Thi Oanh Yen

Abstract

Duong mandarin has been popularly grown in the South provinces of Vietnam, among them, Tra Vinh Duong mandarin variety has been known with special flavor and sweet taste. Twenty-two Tra Vinh Duong mandarin individuals grown by seeds were selected for genetic diversity evaluation by SSR markers. The result showed that 22 selected Tra Vinh Duong mandarin individuals had high genetic polymorphism (PIC average was 0.5) and 21 of them had high percent of heterozygotes (H%). 22 analyzed individuals were classified into 2 main groups by analysis based on Jaccard homology coefficients and UPGMA method using NTSYSpc 2.1 software. Some SSRs primers in this report could use for identification of selected Tra Vinh Duong mandarin individuals. Marker CT19 could distinguish 2 individuals QTV13 and QTV14; markers TAA15 and CAC33 could distinguish QTV31, QTV43, QTV29, QTV41 and QTV41 with other individuals.

Keywords: Duong Tra Vinh mandarin, SSR, genetic diversity, group analysis

Ngày nhận bài: 17/6/2019
Ngày phản biện: 26/6/2019

Người phản biện: TS. Trần Thị Thu Hoài
Ngày duyệt đăng: 11/7/2019

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN MỘT SỐ GIỐNG LÚA MÙA Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Huỳnh Kỳ¹, Trần Hữu Phúc², Văn Quốc Giang¹,
Trần Thị Yến Nhi¹, Nguyễn Lộc Hiền¹, Nguyễn Châu Thanh Tùng¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng chịu mặn của 22 giống lúa Mùa thu thập ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long bằng cách sử dụng dung dịch Yoshida bổ sung muối NaCl ở nồng độ 10‰ và tiến hành xử lý 5 ngày rồi đánh giá và thu mẫu phân tích. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống, chiều cao thân lá đều giảm mạnh ở nồng độ mặn 10‰ sau 5 ngày xử lý mặn. Bên cạnh đó, chỉ số tích lũy Na⁺/K⁺ trong cây cũng đồng thời cho thấy các giống Ba Bụi 2, Một Bụi Trắng, Trà Long 2, Tài Nguyên Cà Mau, Nàng Quýt Biển, Một Bụi Lùn 2, Tài Nguyên Sóc Trăng, Ba Bụi Lùn và Đốc Phụng là nhóm giống lúa có khả năng chịu mặn. Thí nghiệm bước đầu tuyển chọn được một số giống lúa Mùa có khả năng chịu mặn giai đoạn mạ trong dung dịch dinh dưỡng nhân tạo nhằm mục tiêu xác định giống bố mẹ chịu mặn phục vụ cho công tác nghiên cứu lai tạo các giống lúa thuần mới chống có khả năng thích nghi với các vùng sinh thái mặn điển hình ở Đồng bằng sông Cửu Long.

Từ khóa: Lúa, lúa Mùa, đánh giá, khả năng chịu mặn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến đổi khí hậu đã và đang tác động đến đời sống của chúng ta và ảnh hưởng của nó đối với tăng trưởng và phát triển năng suất cây trồng và nông nghiệp đã trở thành vấn đề môi trường lớn (Lee and Iersel, 2008; Vysotskaya *et al.*, 2010; Hariadi *et al.*, 2011) ở Mỹ, ở Úc và châu Á, trong đó có Việt Nam. Tính đến thời điểm này thì chưa có thống kê chính xác về mức độ ảnh hưởng của mặn đến nông nghiệp, nhưng con số thiệt hại có thể là hàng tỷ USD (Hariadi *et al.*, 2011). Những tháng đầu năm 2019, hiện trạng xâm nhập mặn có khuynh hướng gia tăng so với năm 2018 ở các tỉnh Long An, Tiền Giang, Bến Tre, Trà Vinh, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Cà Mau, Kiên Giang. Điều này đem lại sự thách thức không chỉ đối với nền nông nghiệp Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói chung mà còn gây tác động và ảnh hưởng sâu sắc đối với sản xuất lúa gạo nói riêng. Vì vậy, việc chọn tạo giống cây trồng thích ứng với mặn, đặc biệt là các giống lúa có khả năng sinh trưởng và phát triển được trong điều kiện mặn là một trong những vấn đề cấp bách; nhằm đảm bảo thu nhập cho nông dân trồng lúa ở các vùng duyên hải của ĐBSCL và điều này lần lượt đòi hỏi một quy trình đáng tin cậy và nhanh chóng để sàng lọc nguồn gen lúa có khả năng chịu mặn.

Tính đến thời điểm này có rất nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước đã thanh lọc thành công giống lúa chịu được mặn trong môi trường nhân tạo thông qua các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của cây trồng.

Một số nghiên cứu ứng dụng phương pháp thanh lọc mặn trong môi trường chỉ có NaCl hay có sự kết hợp NaCl với CaCl₂ (Jones and Stenhouse, 1983; Maas and Hoffman, 1977; Ponnampereuma, 1984), hay thanh lọc mặn nhân tạo bằng đất nhiễm mặn trong chậu (IRRI, 1978; Jones and Stenhouse, 1983), hoặc phương pháp tưới nước muối (Farah and Anter, 1978). Ponnampereuma, 1984 còn sử dụng phương pháp thanh lọc mặn trong điều kiện tự nhiên. Ở nghiên cứu này, 22 giống lúa Mùa đã được thanh lọc trong môi trường dung dịch Yoshida có NaCl, kết quả đã chọn được các giống lúa mùa có tiềm năng chịu được mặn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn gốc của 22 giống lúa Mùa được thu thập ở các vùng Duyên hải vùng ĐBSCL và tồn trữ ở Viện Nghiên cứu Phát triển ĐBSCL - Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí với kiểu bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi giống được gieo 3 lần lặp lại với 5 cây trên các khay thanh lọc. Môi trường thanh lọc sử dụng là Yoshida có bổ sung và không bổ sung NaCl nồng độ 10 ‰, thực hiện thí nghiệm và đánh giá các chỉ tiêu theo phương pháp của IRRI (Gregorio *et al.*, 1997).

¹ Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ