

PHÂN TÍCH ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ LẬP TIÊU BẢN ADN CÁC GIỐNG CHÈ VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR VÀ SCoT

Nguyễn Bá Ngọc¹, Nguyễn Thị Thanh Thủy²

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 23 nguồn gen chè Việt Nam được đánh giá đa dạng di truyền bằng 16 mỗi SSR và 45 mỗi SCoT (Start Codon Targeted). Trong đó, 16 chỉ thị SSR và 25 chỉ thị SCoT cho đa hình đối với tập đoàn nghiên cứu. Kết quả đã thiết lập được 16 mẫu tiêu bản SSR và 25 tiêu bản SCoT của 23 nguồn gen chè. Trong đó, 13 nguồn gen chè có thể được phân biệt bởi 19 alen hiếm tại 15 locut chỉ thị (2 locut SSR và 13 locut SCoT). Phân tích đa dạng di truyền 23 giống chè sử dụng 41 chỉ thị phân tử (SSR và SCoT) thu được 405 alen, đạt trung bình 9,9 alen/locut. Chỉ số đa dạng PIC dao động từ 0,23 -0,98 (trung bình 0,73), chứng tỏ sự đa dạng cao về mặt di truyền của các locut nghiên cứu. Ma trận tương đồng và sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa 23 giống chè được xây dựng dựa trên hệ số tương đồng DICE cho thấy hệ số tương đồng di truyền giữa các giống chè dao động từ 0,47 đến 0,79 (trung bình 0,59) và được phân làm 5 phân nhóm chính. Kết quả này cho thấy bộ chỉ thị có thể phát hiện sự khác biệt về di truyền giữa từng nguồn gen nghiên cứu.

Từ khóa: Cây chè, chỉ thị SCoT, chỉ thị SSR, đa dạng di truyền, tiêu bản ADN

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Công tác khẳng định chủ quyền Quốc gia về các nguồn gen đặc biệt quan trọng khi nước ta đã tham gia công ước về đa dạng sinh học Quốc tế (CBD) năm 1994. Bảo hộ tốt các quyền tác giả giống vật nuôi, cây trồng là đảm bảo việc chia sẻ công bằng lợi ích từ nguồn gen, bảo tồn và phát triển bền vững đa dạng nguồn gen.

Theo phương pháp truyền thống, những đặc điểm hình thái thường được sử dụng để mô tả đặc tính của giống. Công việc này tốn nhiều thời gian và gặp phải những khó khăn do tác động của điều kiện môi trường. Mọi sự khác biệt giữa các cá thể đều được mã hóa trong phân tử ADN, do vậy tiêu bản ADN (DNA fingerprint) thực sự hữu ích cho việc phân biệt, nhận dạng giống.

Collard và Mackill (2009) đã thiết kế chỉ thị mới cho chè, dựa vào trình tự bảo thủ chứa bộ ba mở đầu ATG là chỉ thị SCoT (Start Codon Targeted). Ưu điểm của chỉ thị SCoT là đơn giản, tỷ lệ đa hình cao, liên quan trực tiếp tới vùng mã hóa..., vì vậy chỉ thị này đã được phát triển rộng rãi trên một số cây trồng quan trọng như lúa (Collard and Mackill; 2009), nhân (Chen *et al.*, 2010), mía (Wu *et al.*, 2013)...

Hiện nay cây chè được xác định là một trong

những cây trồng chủ lực trong quy hoạch phát triển kinh tế các tỉnh trung du và miền núi phía Bắc nước ta. Có nhiều vùng trồng và chế biến chè nổi tiếng như Mộc Châu, Thái Nguyên, Hà Giang với các giống chè quý như chè Shan Hà Giang, chè Tân Cương Thái Nguyên... Đây là nguồn vật liệu có giá trị lớn đối với chương trình chọn tạo giống chè. Tuy nhiên tính tới nay tại Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về việc lập tiêu bản để nhận dạng những giống chè quý hiếm. Chính vì thế tiến hành nghiên cứu “Phân tích đa dạng di truyền và lập tiêu bản ADN các giống chè Việt Nam bằng chỉ thị phân tử SSR và chỉ thị SCoT”.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 23 mẫu giống chè Việt Nam được lưu giữ tại Viện Miền núi phía Bắc trong Mạng lưới Bảo tồn Tài nguyên thực vật (Bảng 1).

- Các chỉ thị phân tử: 16 cặp mỗi SSR (bao gồm 10 cặp mỗi SSR thiết kế đặc hiệu cho cây chè *Camellia sinensis* (Freeman *et al.*, 2004) và 6 cặp mỗi thiết kế cho cây chè hoa *Camellia japonica* (Ueno *et al.*, 1999) và 25 chỉ thị SCoT (Collard, Mackill, 2009; Jian-Ming Wu, 2013).

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

² Bộ Nông nghiệp và PTNT

Bảng 1. Danh sách 23 giống chè sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên giống	Nguồn gốc, phân bố	Ký hiệu	TT	Tên giống	Nguồn gốc, phân bố	Ký hiệu
1	Chè Xuân Sơn	Phú Thọ	T1	13	PH1	Phú Thọ	T13
2	Chè Nậm Ngật	Hà Giang	T2	14	Chè Lao Cháy	Hà Giang	T14
3	Chè Tân Chi	Lạng Sơn	T3	15	Chè Gia Vài	Hà Giang	T15
4	Chè Tân Cương	Thái Nguyên	T4	16	Chè Lũng Phìn	Hà Giang	T16
5	Hooc Môn	Nam Bộ	T5	17	Chè TB14	Lâm Đồng	T17
6	Nậm Ty	Hà Giang	T6	18	Tà Xùa	Sơn La	T18
7	Mộc Châu	Sơn La	T7	19	Chè Suối Giàng	Yên Bái	T19
8	Chất Tiên	Hà Giang	T8	20	Ba Vì	Ba Vì	T20
9	Brao cũ	Lâm Đồng	T9	21	Dền Sáng	Hà Giang	T21
10	Minh Rồng	Lâm Đồng	T10	22	Chè Cù Đê Phùng	Hà Giang	T22
11	Bản Xen	Quảng Ninh	T11	23	Chè Tham Vè	Hà Giang	T23
12	Trung đu (tím)	Phú Thọ	T12				

2.2. Phương pháp nghiên cứu

ADN lá chè được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB của Doyle (1987). Chất lượng và nồng độ của ADN tổng số được xác định bằng máy quang phổ nanodrop. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 15 µl, gồm: 5µl ADN, 0,15µM mỗi, 0,2 mM dNTPs, 1X dịch đệm PCR, 2,5mM MgCl₂ và 0,25 đơn vị Taq TaKaRa; điều kiện chạy phản ứng: 95°C - 7 phút; 35 chu kỳ của: 94°C - 15 giây, 55°C - 30 giây, 72°C - 1 phút; 72°C - 5 phút; giữ mẫu ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di bằng gel agarose 1,5% trong đệm TBE, nhuộm bằng EtBr và được soi dưới đèn UV. Các phản ứng được lặp lại 2 lần để chắc chắn về tính chính xác của thí nghiệm.

Phân tích số liệu: Các số liệu thống kê được tính toán gồm số alen trên locut, tần số alen phổ biến nhất, alen hiếm (alen xuất hiện duy nhất ở 1 giống trong toàn bộ các giống chè nghiên cứu) và đa dạng di truyền alen của các chỉ thị SSR thông qua hệ số PIC (Polymorphism Information Content) được tính toán theo phương trình:

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

Trong đó: P_{ij} : là tần số xuất hiện của alen thứ j tương ứng với mỗi i.

Giá trị PIC càng lớn tức là mức độ đa hình của

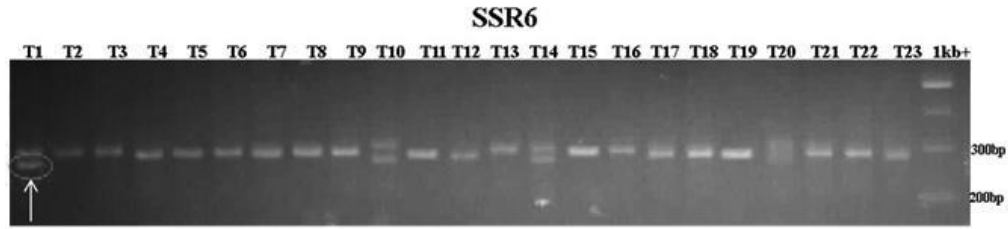
locus do mỗi i khuếch đại càng lớn, tức là càng nhiều alen được sinh ra.

Sự có mặt hay vắng mặt của các alen của từng chỉ thị SSR được ghi nhận cho tất cả các giống chè nghiên cứu, trong đó 0 là không có băng ADN và 1 là có băng ADN ở cùng một vị trí. Số liệu xử lý bằng chương trình NTSYS-pc v. 2.1 (Rohlf, 1997) để xây dựng ma trận tương đồng di truyền sử dụng hệ số Dice (Dice, 1945; Nei, 1979) và sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa các giống chè nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lập tiêu bản ADN của 23 giống chè Việt Nam bằng chỉ thị SSR

Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích 16 cặp mỗi SSR với 23 giống chè đã thu được tổng số 48 alen, đạt trung bình 3 alen/locut, hệ số PIC dao động trong khoảng từ 0,23 (locut MScjaF25) tới 0,71 (locut CamsinM5). Như vậy, với 16 chỉ thị SSR cho đa hình và rõ nét, đã lập được 16 tiêu bản ADN fingerprinting của bộ 23 mẫu giống chè của Việt Nam. Trong số các alen thu được, tại 2 locut CamsinM4 (SSR4) và CamsinM6 (SSR6) xuất hiện alen đặc trưng. Nguồn gen chè Xuân Sơn (T1) được nhận dạng bằng 1 alen hiếm tại locut SSR6 (Hình 1); Nguồn gen Nậm Ty (T6) được nhận dạng bằng 1 alen hiếm tại locut SSR4 (Hình 2).



Hình 1. Tiêu bản SSR của 23 giống chè tại locut SSR6



Hình 2. Tiêu bản SSR của 23 giống chè tại locut SSR4

3.2. Lập tiêu bản ADN của 23 giống chè Việt Nam bằng chỉ thị ScoT

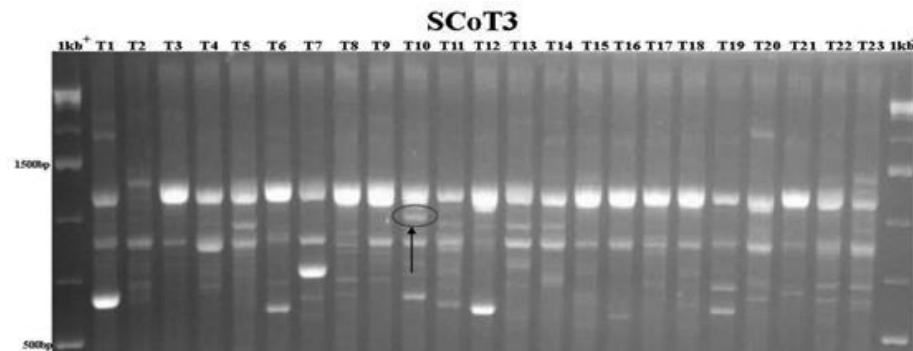
Kết quả phân tích 45 chỉ thị SCoT với 23 giống chè đã thu được 25 chỉ thị cho đa hình với tổng số 357 alen, trong đó có 17 alen đặc trưng cho từng giống, đây là những alen tiềm năng cho việc phát triển chỉ thị ScoT- SCAR. Những chỉ thị cho đa hình này đã được sử dụng để lập 25 tiêu bản ADN cho bộ 23 nguồn gen chè Việt Nam. Trong các tiêu bản SCoT được lập có 13 chỉ thị khuếch đại 17 alen hiếm của 12 nguồn gen. Phân tích kết quả nhận thấy 4 chỉ thị SCoT12, SCoT21, ScoT28 và ScoT46

nhận biết 2 alen hiếm/ nguồn gen. Các chỉ thị còn lại nhận biết 1 alen hiếm/ nguồn gen (Bảng 2, Hình 3).

Tổng hợp phân tích tiêu bản SSR và SCoT cho thấy, 13 nguồn gen chè Việt Nam được phân biệt với nhau và với các nguồn gen khác bằng 19 alen hiếm. Giống Chè Lũng Phìn (T16) được phân biệt bởi 5 alen hiếm tại 4 locut SCoT; giống Chè Xuân Sơn (T1), chè Nậm Ngật (T2) và Chè Cù Dể Phùng (T20) cũng nhận biết được bằng 2 alen hiếm (Bảng 3). Các alen hiếm ScoT này có thể được dùng để giải trình tự nhằm xác định trình tự mã nhận dạng cho từng nguồn gen.

Bảng 2. Các chỉ thị SCoT khuếch đại alen hiếm ở các giống chè Việt Nam

TT	Chỉ thị	Alen hiếm	Mẫu có alen hiếm	TT	Chỉ thị	Alen hiếm	Mẫu có alen hiếm
1	SCoT3	1	T10	8	SCoT23	1	T4
2	SCoT10	1	T7	9	SCoT28	2	T16
3	SCoT11	1	T2	10	SCoT30	1	T19
4	SCoT12	2	T12, T16	11	SCoT34	1	T1
5	SCoT13	1	T16	12	SCoT35	1	T16
6	SCoT18	1	T18	13	SCoT46	2	T2, T13
7	SCoT21	2	T20, T22	Tổng	13	17	12



Hình 3. Tiêu bản ScoT của 23 giống chè tại locut ScoT3

Bảng 3. Các nguồn gen chè được nhận biết bởi các alen hiếm tại các locut

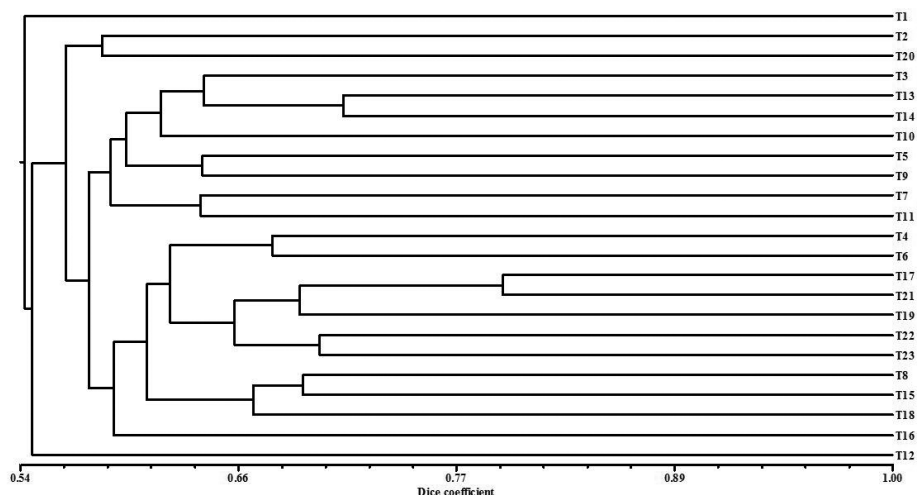
Nguồn gen có alen hiếm			Alen hiếm	Chỉ thị
TT	Ký hiệu	Tên giống		
1	T1	Chè Xuân Sơn	2	CamsinM6, SCoT34
2	T2	Chè Nậm Ngặt	2	SCoT11, ScoT46
3	T4	Chè Tần Cương	1	SCoT23
4	T6	Nậm Ty	1	CamsinM4
5	T7	Mộc Châu	1	SCoT10
6	T10	Minh Rồng	1	SCoT3
7	T12	Bản Xen	1	SCoT12
8	T13	PH1	1	ScoT46
9	T16	Chè Lũng Phìn	5	SCoT12, SCoT13, SCoT28, SCoT35
10	T18	Tà Xùa	1	SCoT18
11	T19	Chè Suối Giàng	1	SCoT30
12	T20	Ba Vì	2	SCoT21, ScoT46
13	T22	Chè Cù Dề Phùng	1	SCoT21
Tổng		13	19	15

3.3. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của các nguồn gen chè nghiên cứu

Kết quả phân tích đa dạng di truyền sử dụng 41 chỉ thị phân tử (SSR và SCoT) thu được tổng cộng 405 alen, mỗi locut có từ 2 đến 23 alen, số alen trung bình là 9,9 alen/locut, tần số alen phổ biến nhất dao động từ 9,33% (chỉ thị SCoT5) 86,96% (chỉ thị SSR14). Trong tổng số 405 alen thu được có 19 alen hiếm. Các chỉ thị thu được 2 alen là SCoT12, SCoT21, SCoT28 và SCoT46. Chỉ số đa dạng PIC của các locut nghiên cứu dao động từ 0,23 đến 0,98, với giá trị trung bình là 0,73. Giá trị PIC trung bình phản ánh mức độ đa dạng chung cho tất cả các locut nghiên cứu. Điều này chứng tỏ những chỉ thị được sử dụng trong nghiên cứu này đã cho kết quả

đa dạng cao giữa các giống chè.

Ma trận tương đồng giữa 23 giống chè đã được tính toán thông qua hệ số Dice và sơ đồ hình cây được thiết lập bằng phương pháp UPGMA đã thể hiện mối quan hệ di truyền giữa các giống chè (Hình 4). Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương đồng di truyền giữa các giống chè dao động từ 0,47 đến 0,79 với giá trị trung bình là 0,59. Hai giống chè TB14 (T17) - Chè Dền Sáng (T21) có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,79. Chè Xuân Sơn (T1) và chè Bản Xen (T12) được xếp nhóm tách biệt với toàn bộ các giống chè nghiên cứu. Các giống chè còn lại chia làm 3 nhóm ở giá trị tương đồng 0,58. Kết quả này cho thấy bộ chỉ thị có thể phát hiện sự khác biệt về di truyền giữa từng nguồn gen nghiên cứu.



Hình 4. Sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa 23 giống chè nghiên cứu

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- 16 mẫu tiêu bản SSR và 25 tiêu bản SCoT của 23 nguồn gen chè Việt Nam đã được lập, trong đó 13 tiêu bản SCoT có 17 alen hiếm của 12 nguồn gen; 2 tiêu bản SSR có 2 alen hiếm của 2 nguồn gen chè. Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam sử dụng thể hệ chỉ thị mới là SCoT để lập tiêu bản ADN cho nguồn gen chè bản địa. Các alen hiếm SCoT có thể được sử dụng để phát hiện trình tự đặc trưng cho nguồn gen tương ứng.

- Kết quả phân tích đa dạng di truyền 23 giống chè Việt Nam với 41 chỉ thị phân tử (16 chỉ thị SSR và 25 chỉ thị SCoT) đã thu được 405 alen, trung bình 9,9 alen/locut. Chỉ số đa dạng PIC dao động từ 0,23 - 0,98, với giá trị trung bình 0,73, chứng tỏ khả năng cho đa dạng cao của bộ chỉ thị phân tử trong nghiên cứu.

- Hệ số tương đồng di truyền Dice giữa các giống chè nghiên cứu dao động từ 0,47 đến 0,79 với giá trị trung bình là 0,59 đã cho thấy sự đa dạng cao trong nguồn gen chè bản địa Việt Nam.

4.2. Đề nghị

Khuyến nghị sử dụng bộ 25 chỉ thị SCoT và 16 chỉ thị SSR trong nghiên cứu đa dạng di truyền và nhận biết nguồn gen chè của Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen, H., X.H. He, C. Luo, J. Zhu, F. Li**, 2010. Analysis on the genetic diversity of 24 longan (*Dimocarpus longan*) accessions by SCoT markers. *Acta Hort. Sin. Acta Horticulturae Sinica*, 37(10): 1651 -1654.
- Collard, B.C.Y., D.J. Mackill**, 2009. Start Codon Targeted (SCOT) Polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 27: 86-93.
- Doyle, J.J., J.L. Doyle**, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19: 11-15.
- Freeman, S., J. West**, 2004. Isolation and characterization of highly polymorphic microsatellite in tea (*Camellia sinensis*). *Molecular Ecology Notes*, 4: 324-326.
- Wu J.M., Y.R. Li, L.T. Yang, F.X. Fang, H.Z. Song, H.Q. Tang, M. Wang, M.L. Weng**, 2013. cDNA-SCoT: A novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants. *AJCS*, 7(5): 659-664.
- Nei M. and W.H Li**, 1979. Mathematical model for studying genetical variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10): 5269-5273.
- Rohlf F.**, 1997. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, 2.1 edn. Department of Ecology and Evolution, State University of NY, Stony Brook.
- Ueno, S., H. Yoshimaru**, 1999. Development and characterization of microsatellite markers in *Camellia japonica* L. *Molecular Ecology*, 8: 335-346.

Genetic diversity evaluation and DNA profile of Northern Vietnamese tea germplasm by SSR and SCoT markers

Nguyen Ba Ngoc, Nguyen Thi Thanh Thuy

Abstract

Sixteen simple sequence repeat and 45 Start Codon Targeted (SCoT) markers were used to evaluate 23 Vietnamese camellia germplasm in this study. All surveyed SSR markers and 25 out of 45 SCoT markers were polymorphic among tea accessions and thus, 16 SSRs and 25 SCoT fingerprints of 23 tea accessions were profiled successfully. In this fingerprinting, 13 tea accessions could be distinguished by 19 unique alleles at 2 SSRs and 13 SCoT loci. Polymorphic analysis based on 41 markers (SSR, SCoT) revealed a total of 405 alleles, averaging 9.9 alleles per locus. Polymorphism Information Content (PIC) ranged from 0.23 -0.98 reflexed rather high genetic diversity among studied tea accessions. Neighbour joining tree grouping by Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical averages showed that Dice coefficient among 23 accessions ranged from 0.47-0.79 and averaged at 0.59, which separated each tea germplasm distingly in 5 groups.

Key words: DNA fingerprinting, genetic diversity, SCoT markers, SSR markers, tea

Ngày nhận bài: 12/4/2016

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày phản biện: 19/4/2016

Ngày duyệt đăng: 26/4/2016

XÂY DỰNG DỮ LIỆU TIÊU BẢN ADN CỦA MỘT SỐ NGUỒN GEN CHUỐI BẢN ĐỊA BẰNG CHỈ THỊ SSR VÀ SCoT

Nguyễn Thị Lan Hoa¹, Nguyễn Thị Thanh Thủy²

TÓM TẮT

Chỉ thị ADN là công cụ hữu hiệu đóng vai trò quan trọng trong việc nhận dạng nguồn gen cũng như các giống cây trồng. Nghiên cứu sử dụng 46 chỉ thị SCoT và 13 chỉ thị genic-SSR là các chỉ thị PCR-based để xây dựng tiêu bản ADN của 12 giống chuối bản địa. Kết quả phân tích đa hình với chỉ thị SCoT thu được 29/46 mỗi cho đa hình giữa các nguồn gen chuối nghiên cứu, tổng cộng thu được 267 băng đa hình. Kích thước sản phẩm khuếch đại trong khoảng từ 200-2000bp. Trong đó, 8 mỗi SCoT khuếch đại được 10 băng đặc trưng giúp nhận dạng 4 nguồn gen Chuối Tây Thanh Hóa, Chuối Hột, Chuối Trăm nải, chuối Gáo. Mười trong tổng số 13 chỉ thị genic-SSR cho đa hình và đã được sử dụng thành công để lập tiêu bản ADN của các nguồn gen chuối nghiên cứu, kết quả thu được 64 alen từ 10 chỉ thị, 6 chỉ thị khuếch đại được 13 alen hiếm của 6 mẫu giống trong tập đoàn nghiên cứu. Kết quả này cung cấp thêm những thông tin cần thiết cho việc quản lý, nhận dạng, cũng như công tác chọn tạo giống chuối tại Việt Nam.

Từ khóa: Cây chuối, tiêu bản ADN, chỉ thị SCoT, chỉ thị SSR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuối là loại cây ăn quả nhiệt đới quan trọng nhất, đứng thứ tư trên thế giới về giá trị xuất khẩu chỉ sau gạo, bột mì và sữa. Nước ta nằm trong vùng xuất xứ đa dạng của nguồn gen chuối, gồm chuối trồng và dạng hoang dại với số lượng các giống chuối đa dạng đủ 8 dạng kiểu gen (loài) và nhiều dạng khác vẫn chưa nhận diện được kiểu phân loại. Các giống chuối khó được nhận diện phân loại do chuối có hệ gen rất phức tạp; kiểu hình biến động lớn bởi môi trường nên khó áp dụng hệ thống phân loại hình thái. Đa phần các giống chỉ được biết đến bởi tên gọi địa phương chứ chưa được gọi bằng tên khoa học chính xác. Đây là một trở ngại trong công tác phân loại để quản lý nguồn gen chuối nước ta.

Ngày nay, mặc dù tiến trình chọn giống của chuối bị hạn chế do hệ gen phức tạp và cách thức nhân giống và canh tác chuối đa bội, càng nhiều kỹ thuật phân tử và tế bào được ứng dụng trong chọn tạo giống chuối. Sử dụng chỉ thị phân tử trong đánh giá nguồn gen và phân tích quần thể có vai trò đầy hứa hẹn trong cải tiến hiệu quả các chương trình chọn giống chuối. Những kỹ thuật phân tích mới dựa trên polyphenol, isozym, chỉ thị phân tử ADN lục lạp, ADN nhân: RFLP, RAPD, AFLP, STMS, IRAP, DArT, rRNA, SEAP cũng đã được sử dụng để giúp củng cố kết quả trong các nghiên cứu đa dạng phục vụ mục tiêu chọn giống chuối.

Với sự phát triển mạnh của việc nghiên cứu genome, việc thiết kế những chỉ thị khuếch đại các vùng gen lập nằm gần hoặc trong vùng gen mã hóa

(genic-SRR) đã được phát triển và sử dụng hiệu quả hơn trong nghiên cứu đa dạng và chọn giống chuối. Cùng với chỉ thị SSR, cũng trong các vùng mã hóa, thế hệ chỉ thị mới SCoT (Start Codon Targeted) mới đã ra đời dựa trên phản ứng PCR khuếch đại các trình tự bảo thủ chứa bộ ba mở đầu ATG của các gen có ưu điểm như đơn giản, tỷ lệ đa hình cao, chi phí thấp, liên quan trực tiếp tới vùng mã hóa nên gần đây chỉ thị này đã được phát triển rộng rãi trên một số cây trồng ăn quả quan trọng như nhãn (Chen và cs., 2010), xoài (Luo và cs., 2011)... Do hiệu quả và mức độ sẵn sàng của hai loại chỉ thị này, trong nghiên cứu này, đã sử dụng hai loại chỉ thị EST-SSR và SCoT cho công tác lập tiêu bản ADN cho 12 nguồn gen chuối bản địa Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- **Nguồn gen:** 12 mẫu giống chuối bản địa được lưu giữ tại Viện khoa học kỹ thuật Nông-Lâm nghiệp Miền núi phía Bắc. Thông tin thu thập và tham khảo về các giống chuối được ghi nhận trong Bảng 1.

Các chỉ thị phân tử

- 13 chỉ thị genic-SSR nằm trên 11 NST của chuối thiết kế trong vùng coding protein liên quan đến sự hình thành tính kháng điều kiện bất thuận ở cây trồng theo 2 cơ chế: bảo vệ (defence) và kháng (resistance), dựa trên các trình tự transcriptom của 2 hệ gen lưỡng bội *M. acuminata*, *M. balnisiiana* và tam bội *M. acuminata Cavendish* (Passo MA, 2013)

¹Trung tâm Tài nguyên thực vật; ²Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn