

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

Bảng 1. Danh sách 12 giống chuối sử dụng trong nghiên cứu

No	ID ¹	ID ²	ID ³	Tên giống	Địa phương	Tên tiếng anh	Nhóm	Nguồn
1	001122	GBVNML.1.30	B1	Chuối Goong	Việt Trì	Latundan	AAB	Valmayor (2002)
2		GBVNML.1.10	B2	Chuối tiêu hồng	Lý Nhân		AAA	PRC-Vietnam
3	001047	GBVNML.1.11	B3	Chuối Tiêu Xanh	Lý Nhân	Tudok	AAA	Valmayor (2002)
4	001158	GBVNML.1.32	B4	Chuối Trăm Nải	Sầm Sơn	Ternate	AAB	Valmayor (2002)
5	00926	GBVNML.1.3	B5	Chuối Ngự Tiên	Lý Nhân	Bata-bata	AA	Valmayor (2002)
6	001206	GBVNML.1.28	B6	Chuối Voi	Anh Sơn	Duhoy	AAB	Valmayor (2002)
7		GBVNML.1.43	B7	Chuối lá Nàng tiên	Châu Thành		-	PRC-Vietnam
8		GBVNML.1.26	B8	Chuối tiêu Bến Tre	Châu Thành		-	PRC-Vietnam
9		GBVNML.1.65	B9	Chuối hột	Tần Kỳ		-	PRC-Vietnam
10		GBVNML.1.58	B10	Chuối tây Thanh Hóa	Thanh Hóa		ABB	PRC-Vietnam
11	001260	GBVNML.1.59	B11	Chuối Gáo	Đô Lương	Tiparot	ABBB	Valmayor (2002)
12	001074	GBVNML.1.14	B12	Chuối tiêu Vừa	Lâm Thao	Bangan	AAA	Valmayor (2002)

Ghi chú: ID¹: Số đăng ký tại Promusa, ID²: Số đăng ký cơ quan mạng lưới, ngân hàng gen cây trồng Quốc gia GBVNML; ID³: Ký hiệu giống

Bảng 2. Danh sách 13 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu

STT	Primer name	Locus number	Forward Primer Sequence (5' to 3')	Reverse Primer Sequence (5' to 3')	Size	Ta
1	BA371	locus371	GGCAGGTTTGTTGATGTTCT	GATGGTTTCACAAGTGCCAA	295	53
2	BA821	locus821	GCTGTCTTCGGTTTTTGCTC	TGGTAGATCGGATTCTTGGC	113	53
3	BA945	locus945	CGATGTGTTTGTGTCCCTG	TTCTATCACAAAACAAATGCAAA	329	53
4	BA1284	locus1284	TCTAGGGTTCTTAGCCGCAA	TCACCCTCAATATGTTAGTTTGG	272	53
5	BA1412	locus1412	TTCCCATCTGTTGAAGGAGG	CTGCTGCTGTGCTTGTCTC	197	53
6	BA1654	locus1654	GGTCAGTTCAGCCTCCACAT	TAATCCCATCGAACACCACA	178	55
7	BA2028	locus2028	ACAACCCCCTTTGAGACCT	TCATGGTGTGCGACTTCTTG	233	55
8	BA2061	locus2061	CGCATCAAAGAGGGAGAAAG	GAAGTCGGGCTTCTGTGAG	195	55
9	BA2108	locus2108	CTGCCGCTAATATGGGTGTT	TAGCTTTACCTGGCGTTG	196	55
10	BA2112	locus2112	ATCCTGATGGCACTCCTGTT	CTTCCAGGCCAAGATCAAAG	149	55
11	BA2306	locus2306	AAGTTGTAGCCTGGGTCT	AAGATTCAGATTCCACTCGCA	181	55
12	BA2646	locus2646	TCGAAGAGGTAATTGACGGG	CCTTGACGCCATGTAATGTG	253	53
13	BA2984	locus2984	TCTATTTGGTGGATGTGTGCAT	CTGGTGGAAATTTGTGTCACG	116	55

Ghi chú: Size: Kích thước sản phẩm PCR phỏng đoán; Ta: Nhiệt độ gắn mỗi

- 46 chỉ thị ScoT được thiết kế bởi Collard, Mackill (2009) và Jian-M.W(2013) và được tổng hợp bởi Macrogen.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

ADN tổng số được tách chiết theo phương pháp của Doyle; 1987. Phản ứng PCR với mỗi SSR được thực hiện với thành phần: 1x buffer, 0,25mM dNTPs, 20mM mỗi SSR (xuôi và ngược), 0,5 unit

Taq và 25ng ADN tổng số; ở điều kiện nhiệt: biến tính ở 95°C trong 5 phút, 35 chu trình: 94°C trong 30 giây, 55°C trong 40 giây, 72°C trong 1 phút; tổng hợp tiếp ở 72°C trong 7 phút, bảo quản tại 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel polyacrylamide 8% với ADN ladder 500 của Fermentas.

Phương pháp nghiên cứu đối với 46 chỉ thị ScoT. Phản ứng PCR được tối ưu hóa với tổng thể

tích 25µl trong đĩa 96 giếng, với thành phần phản ứng được tối ưu hóa bao gồm 2mM MgCl₂, 200µM dNTPs, 0,8µM mỗi, 0,5 U ADN polymerase (Fermentas) và 30 ng ADN. Phản ứng PCR được chạy dưới chương trình biến tính 94°C trong 4' tiếp theo là 40 chu kỳ bao gồm 94°C trong 1'; 50°C trong 1' và 72°C trong 2', kéo dài 72°C trong 10'. Tất cả 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.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ở Việt Nam, những báo cáo về cây ăn quả Việt Nam của FAO (2004) cho rằng chuối nước ta chỉ có các dạng AA, BB, AAA, AAB, ABB. Tuy nhiên, trong dữ liệu các giống chuối của nước ta tại Promusa, giống chuối Gao (tên tiếng anh: Tiparot) đã được phát hiện ở dạng tứ bội AB₃B, và các giống chuối Ngự, chuối Mật, chuối Sáp, chuối Ngộ có hệ gen tam bội BB₃ (R.Valmayor *et al.*, 2002). Như vậy, theo dữ liệu Promusa (*Bananas cultivar checklist*), ở Việt Nam hiện nay có tất cả các phân nhóm chuối theo phân loại dựa trên sự sắp xếp của hệ gen.

Trong khuôn khổ nghiên cứu này, công việc lập tiêu bản sẽ được tiến hành với 5 kiểu hệ gen: AA, AAA, AAB, ABB, AB₃B của chuối bản địa nước ta.

3.1. Lập tiêu bản ADN của 12 giống chuối bản địa bằng chỉ thị SSR

Trong nghiên cứu này, 13 chỉ thị genic-SSR của chuối đã được định vị trên 11 nhiễm sắc thể được sử dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền của các giống chuối. Dựa vào thông tin từ cơ sở dữ liệu, đã thống kê kích thước của các chỉ thị trong nghiên cứu trong khoảng từ 116 đến 329bp.

Trên tổng số 13 chỉ thị được sử dụng, 10 chỉ thị cho đa hình và lên đồng đều ở các mẫu giống. Tỷ lệ 10/13 chỉ thị đa hình đạt cao do sự đa dạng về nhóm giống sử dụng trong nghiên cứu. Tổng số 64 alen đã

được phát hiện trong tổng số 10 locut, đạt trung bình 6,4 alen/locut. Như vậy, với 10 chỉ thị SSR cho đa hình và rõ nét, 10 tiêu bản ADN fingerprinting của bộ 12 mẫu giống chuối bản địa của Việt Nam đối với từng vị trí locut SSR đã được thiết lập.

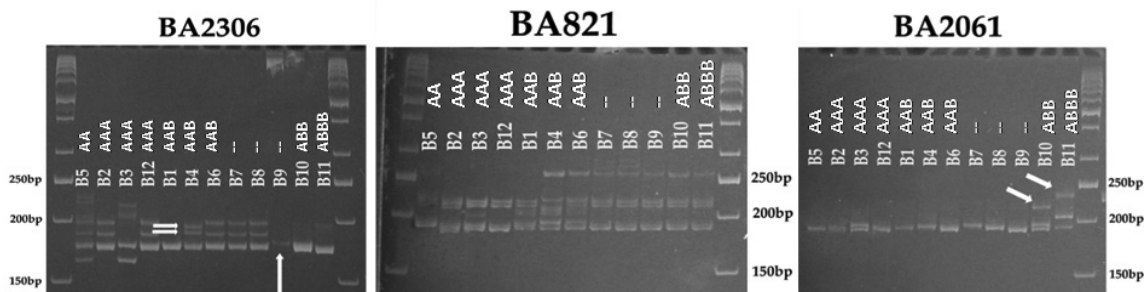
Trong tổng số 64 alen thu được từ 10 locut, nhận thấy tại 6 locut bao gồm BA821, BA1654, BA2061, BA2108, BA2306, BA2646 xuất hiện alen duy nhất đặc trưng của một vài mẫu giống tại locut đó.

Tại locut BA2646, đã thu được 3 alen nhận dạng cho 3 mẫu giống B4 (Chuối trăm nải), B7 (Chuối lá Nàng) và B9 (Chuối hột). Như vậy, trong số 10 tiêu bản SSR, kết quả đã cho được 6 tiêu bản nhận dạng với 13 alen hiếm của 6 giống chuối. Kết quả được trình bày cụ thể trong bảng 3.

Bảng 3. Tổng số alen và alen đặc trưng theo từng locut đối với 12 giống chuối bản địa bằng chỉ thị genic-SSR

Marker	Số alen	Alen unique	Mẫu có alen hiếm
BA317	5		
BA821	11	1	B3
BA925	5		
BA1654	6	1	B3
BA2028	2		
BA2061	6	4	B10, B11
BA2108	7	2	B3, B9
BA2112	8		
BA2306	9	2	B4, B9
BA2646	5	3	B4, B7, B9
Tổng số	64	13	6

Nguồn gen (NG) chuối trăm nải (B4) thu tại Sầm Sơn – Thanh Hóa và chuối hột (B9) thu tại Tân Kỳ – Nghệ An được phân biệt với các nguồn gen chuối khác bởi 2 len hiếm khác nhau trong cùng 2 locut BA2306 và BA2646 (Hình 1). NG chuối Goong (B1) thu tại Việt Trì – Phú Thọ được nhận diện bởi alen hiếm ở cả 2 locut BA2112 và BA2984.



Hình 1. Tiêu bản ADN của 12 giống chuối bằng chỉ thị SSR

Tuy số lượng mẫu giống còn hạn chế, hầu hết các tiêu bản cho các đặc trưng của hệ gen mà các mẫu đại diện. Trong khi các chỉ thị BA1654, BA2061 cho kết quả nhiều alen hơn trên nhóm có hệ gen B, locut BA2306 lại khuếch đại được nhiều alen hơn trên hệ gen A (Hình 1). Có thể BA1654, BA2061 là những locut đặc trưng cho các hệ gen B ở chuối, còn locut BA2306 được phát triển từ vị trí đặc trưng của hệ gen A. Sự khác biệt giữa hai nhóm chỉ thị phát triển từ *M.acuminata* (A) và *M.balbisiana* (B) được đánh giá nhỏ hơn 12% (tính trung bình) cũng được ghi nhận ở các nghiên cứu trước đó (Passo, 2013).

3.2. Lập tiêu bản ADN của 12 giống chuối bản địa bằng chỉ thị SCoT

Trong nghiên cứu này, 46 chỉ thị SCoT được sử dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền và lập tiêu bản ADN của các giống chuối. Tương tự như chỉ thị RAPD hay chỉ thị ISSR, chỉ thị SCoT cũng là chỉ thị dựa trên phản ứng PCR sử dụng một môi duy nhất, tuy nhiên vị trí gắn mỗi của mỗi SCoT nằm trên cả 2 sợi ADN (sense và antisense) nên đoạn

nằm giữa 2 vị trí gắn mỗi này sẽ được khuếch đại bằng phản ứng PCR.

Khảo sát ban đầu 46 mỗi SCoT đối với 12 giống chuối Việt Nam, kết quả thu được 29 chỉ thị cho băng sáng rõ nét và đa hình giữa các giống trong tập đoàn nghiên cứu. Các chỉ thị này được sử dụng để lập 29 tiêu bản ADN cho bộ 12 giống chuối Việt Nam. Kết quả phân tích đa hình cho thấy có tổng số 267 alen đa hình được phát hiện. Trong đó, 8 chỉ thị khuếch đại 10 alen hiếm của 4 nguồn gen chuối bản địa: chỉ thị SCoT17 cho sản phẩm khuếch đại có 2 alen hiếm của 2 nguồn gen chuối hột (Tần Kỳ-Nghệ An) và chuối tây Thanh Hóa. Chỉ thị SCoT35 cũng cho sản phẩm khuếch đại có 2 alen hiếm của 2 nguồn gen chuối hột (Tần Kỳ-Nghệ An) và chuối trăm nải (Sầm Sơn-Thanh Hóa) (Bảng 4)

Nguồn gen Chuối Trăm nải (B4) thu tại Sầm Sơn-Thanh Hóa được phân biệt bởi 2 alen hiếm SCoT9 và SCoT35. Nguồn gen chuối Gáo (B11) thu tại Đô Lương - Nghệ An được nhận diện bởi 4 alen hiếm ở chỉ thị SCoT1, SCoT6, SCoT19, SCoT28.

Bảng 4. Các nguồn gen được nhận biết bởi các alen hiếm tại các locut SCoT, SSR

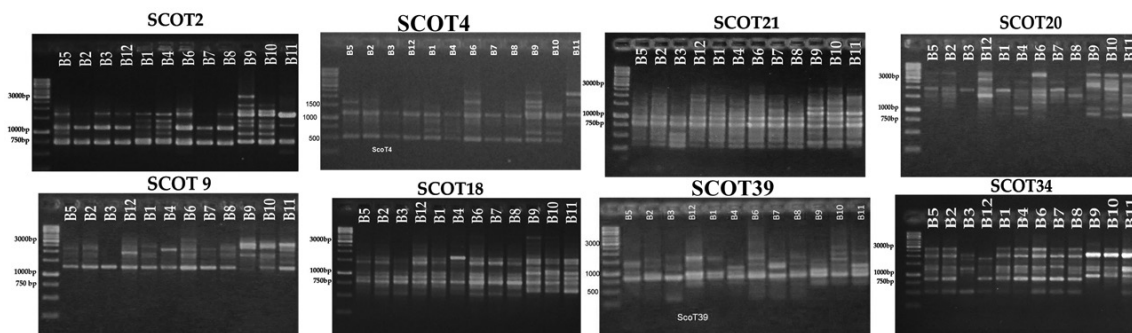
TT	Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc	Alen hiếm	Chỉ thị
1	B3	Tiêu xanh	Lý Nhân - Nam Hà	4	BA821, BA1654
2	B4	Chuối Trăm nải	Sầm Sơn - Thanh Hóa	4	Scot9, Scot35
3	B7	Chuối lá nạng tiên	Châu Thành - Cần Thơ	1	BA2646
4	B9	Chuối hột	Tần Kỳ - Nghệ An	9	Scot 2, 4,17, 18, 33, 35
5	B10	Chuối tây	Tp Thanh Hóa	2	Scot17, BA2061
6	B11	Chuối Gáo	Đô Lương - Nghệ An	3	Scot19, BA2061
Σ	6			23	14

Tổng hợp phân tích tiêu bản SSR và SCoT (bảng 4) cho thấy, 6 nguồn gen được phân biệt với nhau và với các nguồn gen khác bằng 23 alen hiếm. Ba nguồn gen được nhận biết bởi các alen hiếm SSR (B3, B7) nhưng lại không có alen hiếm SCoT, và ngược lại.

Do khuếch đại tại các điểm mở đầu phiên mã của gen, các alen hiếm SCoT này có thể được dùng

để giải trình tự nhằm xác định trình tự coding nhận dạng cho từng nguồn gen.

Phát triển chỉ thị SCoT-SCAR dựa trên các băng đa hình, hiếm (unique) trong nghiên cứu này có thể là công cụ hữu hiệu đối với công tác nhận dạng, bảo hộ giống và có thể áp dụng đối với mọi đối tượng cây trồng.



Hình 2. Tiêu bản của 12 giống chuối bằng chỉ thị SCoT

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Nghiên cứu đã lập được dữ liệu 10 mẫu tiêu bản genic-SSR và 29 tiêu bản SCoT của 12 nguồn gen chuối bản địa. Trong đó, 6 tiêu bản SSR và 8 tiêu bản SCoT cho 23 alen hiếm giúp nhận dạng được 6 nguồn gen chuối trong tập đoàn nghiên cứu.

4.2. Đề nghị

Các dữ liệu tiêu bản ADN này có thể được sử dụng trong nhận dạng nguồn gen và các chương trình chọn tạo giống chuối trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen H, He XH, Luo C, Zhu J, Li F, 2010. Analysis on the genetic diversity of 24 longan (*Dimocarpus longan*) accessions by SCoT markers. *Acta Hort. Sin. Acta Horticulturae Sinica*. 37(10), pp. 1651 -1654.
- Collard, B.C.Y., Mackill, D.J., 2000. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: a simple novel ADN marker technique for generating gene-targeted

markers in plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* 27, pp. 86–93.

- Doyle JJ, Doyle JL., 1987. A rapid ADN isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.
- Jian-Ming Wu, Yang-Rui Li, Li-Tao Yang, Feng-Xue Fang, Huan-zhong Song, Hong-Qin Tang, Miao Wang, Meng-Ling Weng, 2013. cDNA-SCoT: A novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants. *AJCS*, 7(5), pp. 659-664.
- INIBAP, 2002. *Bananas genomics: the genes beneath the peel. Genomics – Fact sheet*, PROMUSA, the International Network for the Improvement of Banana and Plantain.
- Passos MA, de Cruz VO, Emediato FL, de Teixeira CC, Azevedo VC, 2013. Analysis of the leaf transcriptome of *Musa acuminata* during interaction with *Mycosphaerella musicola*: gene assembly, annotation and marker development. *BMC Genomics* 14: 78.
- Wang JingYi; Chen YeYuan; Huang BingZhi; Yu Fei; Wu YaoTing, 2009. Establishment of fingerprinting for bananas (*Musa nana*) by SSR marker. *Journal of FruitScience* Vol. 26 No. 5 pp. 733-738.

Establishing DNA fingerprinting database of some indigenous bananas using Simple Sequence Repeat and Start Codon Targeted markers

Nguyen Thi Lan Hoa, Nguyen Thi Thanh Thuy

Abstract

DNA markers are useful tools that play an important role in plant cultivar identification. The research used PCR-based 13 genic-SSR and 46 SCoT markers for constructing DNA fingerprinting of 12 indigenous banana varieties. Polymorphism survey showed that only 10 genic-SSR and 29 SCoT markers could generate clear and polymorphic bands in among bananas collections. 267 polymorphic bands were obtained with the size of amplified fragments ranged from 200 to 2000bp by using SCoT markers. Particularly, eight SCoT markers had amplified 10 unique alleles belonging to 4 germplasms: Tay Thanh Hoa, Hot, Tram Nai, Gao. Moreover, 10 SSR loci which located in conserved regions of functional genes also generated 64 polymorphic alleles among 12 *Musa* accessions. Among them, six accessions were specially identified by 13 unique genic-SSR alleles. The results indicated that genic-SSR and SCoT markers were suitable to construct DNA fingerprinting database of bananas varieties and could provide reference for bananas identification in Vietnam.

Key words: Banana, SCoT, SSR, DNA fingerprinting

Ngày nhận bài: 12/4/2016

Người phản biện: TS. Lê Hùng Lĩnh

Ngày phản biện: 20/4/2016

Ngày duyệt đăng: 26/4/2016

DỰ ĐOÁN VÙNG GEN LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG CHỊU HẠN CỦA 8 QUẦN THỂ NGÔ CÓ QUAN HỆ HỌ HÀNG VỚI NHAU

Đỗ Văn Dũng¹, M.T. Vinayan³, Gajanan Saykhedkar³,
Raman Babu³, Đặng Ngọc Hạ¹, Lê Quý Kha², P.H. Zaid³

TÓM TẮT

Tập hợp 8 quần thể ngô (*Zea mays* L.), gồm 790 gia đình F_{2,3} được phát triển từ cặp lai giữa 2 dòng chịu hạn với 8 dòng ưu tú khác của CIMMYT được đánh giá ở 2 điều kiện hạn và tưới đủ tại Hyderabad, Ấn Độ trong vụ 2012/2013 và 2013/2014. Năng suất trong điều kiện hạn bị giảm 20-50% so với điều kiện tưới đủ. Phân tích kiểu gen xác định có 871 chỉ thị phân tử SNP đa hình trên 7 quần thể. Kết quả là đã phát hiện có 18 QTL về năng suất (QTL_GY) ở điều kiện hạn - tưới đủ, trong đó 11 QTL_GY cho khả năng chịu hạn và có hai QTL lặp lại ở hơn một quần thể, trong đó một vùng gen được giải thích R²>10%. Điều đó cho thấy tổ hợp của 2 dòng chịu hạn với 8 dòng ưu tú đã hình thành các mối liên kết bền vững và không bền vững, đây chính là sự tái tổ hợp tự nhiên, phân ly độc lập. Như vậy, bằng phương pháp lai giữa dòng chịu hạn với các dòng ưu tú có thể tạo ra được những thế hệ sau có khả năng chịu hạn. Từ đó tăng cơ hội phát hiện thêm những vùng gen tiềm năng hơn cho nghiên cứu khả năng chịu hạn.

Từ khóa: Cây ngô, F_{2,3}, hạn, tưới đủ, chỉ thị phân tử SNP marker, bản đồ QTL

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở cây ngô (*Zea mays* L.), nhiều kết quả đã công bố trên những vùng gen biểu hiện khả năng chịu hạn, chẳng hạn như khu vực trên nhiễm sắc thể (NST) số 1 và 10 (Ribaut, Gonzalez-de-Leon và cộng sự, 1997) và NST số 7 (Bernardo R., 2008) bởi các QTL phù hợp quy định năng suất trong điều kiện hạn hán. Ngoài ra, một số vùng gen quan trọng quy định các đặc điểm khác biểu hiện khả năng chịu hạn, như ASI trên NST số 3, sự già hóa bộ lá trên NST số 1, 3, 6, 8 và 10. đặc điểm bộ rễ trên NST số 10... cũng được phát hiện (Bernardo R., 2008); (Sui, Niu và cộng sự, 2008); (Coque M., Martin A. và cộng sự, 2008); (Gallais and Hirel, 2004); (Bolaños and Edmeades, 1996); (Ribaut, Gonzalez-de-Leon và cộng sự, 1997). Tuy nhiên, những kết quả nghiên cứu đó định được một cách độc lập ở từng vùng gen cho những đặc điểm năng suất, chênh lệch tung phần - phun râu... Tuy nhiên, với tất cả các thông tin di truyền hiện có, kết quả chọn giống nhờ chỉ thị phân tử (MAS) còn ít nên chưa đóng góp nhiều cho sự phát triển thành công các giống ngô (Bernardo R., 2008). Collins và cộng sự (2008) gợi ý rằng thực tế sự tương tác có hệ thống của MAS ở nhiều môi trường thường ít khi được quan tâm và mỗi môi trường là độc lập, trong khi điều kiện tự nhiên, ở mỗi mùa vụ, cả chu kỳ sống của cây trồng lại gặp nhiều tác động bất thuận và cường độ khác nhau (Nicholas C. Collins, 2008). Ngoài ra, các hiệu ứng của QTL không thể bao hàm trên toàn quần thể và tương tác của QTL×quần thể cũng là một trở ngại lớn cho thành công của MAS (Malosetti M., Ribaut J.M. và cộng sự, 2008). Trong nghiên cứu này tiến

hành đánh giá kiểu hình và kiểu gen của 8 quần thể F_{2,3} nhằm xác định được một số tập hợp các vùng gen góp phần quy định khả năng chịu hạn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tám quần thể gồm 790 gia đình F_{2,3} được phát triển từ 2 dòng mẹ chịu hạn với 8 dòng ưu tú (chia làm 2 nhóm ưu thế lai) của CIMMYT10. Có 871 SNP đa hình được xác định (Bảng 1).

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm thực hiện tại Viện Nghiên cứu Cây trồng cho vùng bán khô hạn (ICRISAT), Hyderabad, Ấn Độ trong vụ hạn 2012/2013 - 2013/2014.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Đánh giá kiểu hình ở điều kiện đồng ruộng

Thí nghiệm tiến hành ở điều kiện đồng ruộng, thiết kế theo mô hình ô vuông latin (Alpha lattice). Mật độ khoảng cách: Dài hàng 4 m, hàng cách hàng 75 cm, cây cách cây 25 cm. Thí nghiệm được đánh giá ở 2 điều kiện hạn và tưới đủ, chi tiết như sau:

Trong khoảng thời gian gây hạn, độ ẩm đất được theo dõi hàng tuần bằng thiết bị ở từng khối (block) trên toàn cánh đồng, ở các độ sâu 0-20 cm, 40 cm, 60 cm và 100 cm. Khi độ ẩm ở độ sâu 40 - 60 cm (vùng rễ hoạt động) đạt 20% A⁰ tại điểm héo vĩnh viễn, thì tiến hành tưới phục hồi. Ở điều kiện tưới đủ: Chu kỳ 8-11 ngày tiến hành tưới đủ ẩm. Những thử nghiệm này đã được mô tả bởi Zaidi (Zaidi, 2000; Zaidi P.H. và Singh N.N., 2005; Zaidi, 2012).

¹ Viện Nghiên cứu Ngô; ² Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

³ Chương trình ngô Châu Á, Trung tâm cải tiến Ngô và Lúa mì quốc tế tại Ấn Độ (CIMMYT Int.)