Sử dụng chỉ thị phân tử SSRs để phân tích đa dạng di truyền các dòng/giống bưởi thu thập ở các vùng sinh thái khác nhau của Việt Nam

Nguyễn Phương Thúy[1*], Đỗ Thị Ngọc Hà[2], Trần Thị Oanh Yến[1], Đào Thị Bé Bảy[1]

[1]*Viện Cây ăn quả miền Nam*

[2]*Trung tâm Nghiên cứu thực nghiệm lâm nghiệp Đông Nam Bộ*

Ngày nhận bài 12.1.2015, ngày chuyển phản biện 22.1.2015, ngày nhận phản biện 2.3.2015, ngày chấp nhận đăng 16.3.2015

Phân tích mối quan hệ di truyền 15 giống/dòng bưởi thu thập ở các vùng khác nhau của Việt Nam bằng chỉ thị phân tử SSR cho thấy, có 18 mồi cho sản phẩm khuếch đại phân đoạn ADN, trong đó có 3 mồi xuất hiện phân đoạn ADN nhưng thể hiện trạng thái đơn hình và 15 mồi còn lại thể hiện trạng thái đa hình (chiếm tỷ lệ 83,33%). Giá trị PIC dao động từ 0,31 đến 0,74 và giá trị PIC trung bình là 0,44. Tỷ lệ các alen dị hợp (H%) của các mẫu phân tích cao, trung bình là 38,46%. Kết quả phân tích đa dạng di truyền theo phương pháp UPGMA dựa vào chỉ số tương đồng giản đơn SM thu được hệ số tương đồng di truyền của 15 giống/dòng bưởi dao động từ 0,46 đến 0,87. Dựa trên giản đồ phân nhóm cho thấy, nếu xét mức độ tương đồng di truyền của 15 giống/dòng bưởi phân tích sẽ chia chúng thành 4 nhóm chính. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền trong nghiên cứu này là cơ sở cho việc lựa chọn các giống/dòng bưởi bố mẹ trong chương trình lai tạo giống.

Từ khóa: *chỉ thị sinh học phân tử SSRs, giống/dòng bưởi, phân tích đa dạng di truyền, sơ đồ phả hệ hình cây.*

Chỉ số phân loại 4.6

ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY IN PUMMELO (*CITRUS MAXIMA* (BURM.) MERR.) ACCESSIONS IN VIETNAM BY UTILIZING SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR) MARKERS

Summary

Genetic relationships among 15 pummelo (Citrus maxima (Burm.) Merr.) accessions collected from different areas of Vietnam have been investigated by using ADN-based simple sequence repeat (SSR) markers. A total of 18 SSR primers have been individually amplified to allow the differentiation of materials. The polymorphisms (83.33%) were obtained by simple sequence repeats (SSRs). The mean polymorphic information content (PIC) for each of these marker systems has been 0.44, which has suggested that all the marker systems have been effective in determining polymorphisms. The UPGMA dendrogram which has been constructed by using data of tow marker systems has separated the genotypes into four main clusters. These results have supported that germplasm studies have indicated a considerable genetic diversity.

Keywords: ***citrus maxima* (Burm.) Merr, *genealogy dendrogram genetic diversity, Pummelo accessions, SSR marker.***

Classification number 4.6

Đặt vấn đề

Cây bưởi (*Citrus maxima* Merr.) có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới thuộc châu Á và được trồng ở Trung Quốc cách nay hơn 2000 năm [1, 2]. Theo Barrett và Rhodes (1976) [3], cây bưởi là 1 trong 3 loài cây có múi không do quá trình lai tạo trong tự nhiên tạo ra và hầu hết các nghiên cứu sau này đều đồng ý với kết luận này [4-7]. Ngoài ra, cây bưởi còn là cây bố mẹ của nhiều loài cây có múi như: chanh, cam và bưởi chùm.

Ở nước ta, cây bưởi được trồng phổ biến từ Bắc tới Nam và giữ vị trí quan trọng trong nhóm cây trồng cho quả phục vụ xuất khẩu vì chất lượng quả ngon, vỏ dày, dễ dàng xử lý sau thu hoạch và vận chuyển. Các tỉnh phía Nam có nguồn gen cây bưởi rất

*Tác giả chính: Email: npthuy130583@gmail.com

đa dạng, trong đó có một số giống bưởi thương phẩm được ưa chuộng trên thị trường trong và ngoài nước như: bưởi Năm roi, bưởi Da xanh, bưởi Lông cổ cò, bưởi Đường lá cam, bưởi Đường da láng... Bên cạnh đó, có những giống bưởi không được ưa chuộng trên thị trường do vị chua, chất lượng quả kém, nhiều hạt nhưng có hàm lượng lycopen cao là bưởi Huyết, bưởi Đỏ (Năm dù)… được dùng làm nguồn vật liệu ban đầu cho công tác lai tạo, nhằm tạo ra giống bưởi phẩm chất ngon và hàm lượng lycopen cao. Việc phân loại về sự phát sinh loài cây có múi nói chung và cây bưởi nói riêng rất phức tạp, gây nhiều tranh cãi và dễ nhầm lẫn, chủ yếu là do quá trình lai tạo tự nhiên giữa các giống cùng loài hoặc khác loài, tần số cao của đột biến chồi, lịch sử canh tác lâu đời và phân bố rộng [5].

Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền có 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 giống/dòng 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), mức độ đa hình cao, nhiều alen, đồng trội, phân bố ngẫu nhiên trên bộ gen thực vật và được ứng dụng trong nghiên cứu di truyền của cây có múi [6, 8-16]. Yong và ctv (2006) sử dụng chỉ thị phần tử SSRs phân loại bưởi và kết luận loài bưởi là cây đơn phôi và có tính đa hình cao [2]. Ngoài chỉ thị phân tử SSRs thì RAPD (random amplified polymorphic DNA) cũng được chọn trong phân tích đa dạng di truyền trên cây bưởi [1, 17].

Giải thích mối quan hệ di truyền, phân loại di truyền và đa dạng di truyền có vai trò quan trọng trong chiến lược chọn tạo giống, bảo tồn đa dạng sinh học và nâng cao hiệu quả chọn giống [6, 18] và là mục tiêu nghiên cứu quan trọng cần được đặt ra. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chỉ thị phân tử SSRs đánh giá đa dạng di truyền tập đoàn giống bưởi thu thập có thịt quả màu vàng đến đỏ để có cơ sở khoa học và tạo đột phá mới trong chọn tạo giống bưởi.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Tập đoàn 15 giống/dòng bưởi do Viện Cây ăn quả miền Nam sưu tập (bảng 1).

23 cặp mồi SSRs được sử dụng cho phân tích đa dạng di truyền. Trình tự chuỗi nucleotide của các đoạn mồi được trình bày ở bảng 2.

Bảng 1: 15 giống/dòng bưởi được sử dụng phân tích đa dạng di truyền

STT	Tên giống	Nguồn gốc thu thập	STT	Tên giống	Nguồn gốc thu thập
1	Bưởi Da xanh	Tiền Giang	9	Bưởi Lông hồng	Tiền Giang
2	Bưởi Da xanh	Bến Tre	10	Bưởi Lông cổ cò	Tiền Giang
3	Bưởi Tứ quý	Bến Tre	11	Bưởi Năm roi đỏ	Tiền Giang
4	Bưởi Đỏ năm dù	Tiền Giang	12	Bưởi Hà Nội gốc ghép bưởi Lông cổ cò	Hà Nội
5	Bưởi Huyết	Bến Tre	13	Bưởi Hà Nội trồng từ hạt 1	Hà Nội
6	Bưởi Đường lá cam	Đồng Nai	14	Bưởi Hà Nội trồng từ hạt 2	Hà Nội
7	Bưởi Đường hồng	Vũng Tàu	15	Bưởi Hà Nội trồng từ hạt 3	Hà Nội
8	Bưởi Năm roi	Vĩnh Long			

Bảng 2: các đoạn mồi SSRs được sử dụng cho phân tích đa dạng di truyền

STT	Các đoạn mồi	Trình tự nucleotidic (5'-3')	Sản phẩm khuếch đại	Tài liệu tham khảo
1	TAA15	F: GAAAGGGTTACTTGACCAGGC R: CTTCCCAGCTGCACAAGC	+	Jannati M và ctv, 2009
2	TAA27	F: GGATGAAAAATGCTCAAAATG R: TAGTACCCACAGGGAAGAGAGC	-	Jannati M và ctv, 2009
3	*TAA41*	F: AGGTCTACATTGGCATTGTC R: ACATGCAGTGCTATAATGAATG	+	Jannati M và ctv, 2009
4	mCrCIR02A09	F: ACAGAAGGTAGTATTTTAGGG R: TTGTTTGGATGGGAAG	-	Snoussi H và ctv, 2012
5	mCrCIR03C08	F: CAGAGACAGCCAAGAGA R: GCTTCTTACATTCCTCAAA	+	Snoussi H và ctv, 2012
6	mCrCIR03G05	F: CCACACAGGCAGACA R: CCTTGGAGGAGCTTTAC	+	Snoussi H và ctv., 2012
7	CAT01	F: GCTTTCGATCCCTCCACATA R: GATCCCTACAATCCTTGGTCC	+	Jannati M và ctv., 2009
8	ATC09	F: TTCCTTATGTAATTGCTCTTTG R: TGTGAGTGTTTGTGCGTGTG	+	Jannati M và ctv, 2009
9	AG14	F: AAAGGGAAAGCCCTAATCTCA R: CTTCCTCTTGCGGAGTGTTC	+	Jannati M và ctv, 2009
10	CAC15	F: TAA ATC TCC ACT CTG CAA AAG C R: GAT AGG AAG CGT CGT AGA CCG	+	Jannati M và ctv, 2009
11	CAC33	F: GGT GAT GCT GCT ACT GAT GC R:CAA TTG TGA ATT TGT GAT TCC G	+	Jannati M và ctv, 2009
12	CT19	F: CGC CAA GCT TAC CAC TCA CTA C F: GCC ACG ATT TGT AGG GGG ATA G	+	Jannati M và ctv, 2009
13	CT21	F: CGA ACT CAT TAA AAG CCG AAA C R: CAA CAA CCA CCA CTC TCA CG	+	Jannati M. và ctv., 2009
14	TAA3	F: AGA GAA GAA ACA TTT GCG GAG C R: GAG ATG GGA CTT GGT TCA CAC G	+	Golein B và ctv, 2005
15	TAA45	F: GCA CCT TTT ATA CCT GAC TCG G R: TTC AGC ATT TGA GTT GGT TAC G	+	Golein B và ctv, 2005
16	TAA52	F: GAT CTT GAC TGA ACT TAA AG R: ATG TAT TGT GTT GAT AAC G	-	Golein B và ctv, 2005
17	mCrCIR01C06a	F: GGA CCA CAA CAA AGA CAG R: TGG AGA CAC AAA GAA GAA	+	Snoussi H và ctv, 2012
18	mCrCIR01F04a	F: AAG CAT TTA GGG AGG GTC ACT R: TGC TGC TGC TGT TGT TGT TCT	+	Snoussi H và ctv, 2012
19	mCrCIR01D06a	F: GAT CAA AAC ATT ATT CCA A R: TTT TTC ATC AAC AAG ACT G	-	Snoussi H và ctv, 2012
20	CMS-23	F: CTA TGT GAC AGC ACT GAT GG R: TTT CCT ATC TCT CTT GAG ACA T	-	Ahmad R và ctv, 2003
21	CMS-26	F: TGA TGT CTT GAT CCA CAC TTC C R: ACT CAA AGC TCC GCT ACA GTG	+	Ahmad R và ctv, 2003
22	AMB5	F: CCC TGC ACA AAA ACT CAC AC R: TGG GGG TGT TGA ATG GTA AT	+	Golein B và ctv, 2006
23	GT03	F: GCC TTC TTG ATT TAC CGG AC R: TGC TCC GAA CTT CAT CAT TG	+	Khuất Hữu Trung và ctv, 2009

Phương pháp

Mẫu lá non của 15 giống/dòng bưởi được thu vào buổi sáng từ 8 đến 9 giờ, rửa sạch bằng nước cất vô trùng và làm khô bằng giấy thấm. Lá được nghiền thành bột mịn trong dung dịch nitơ lỏng, sau đó tồn trữ ngay ở -20^{0}C và dùng cho ly trích ADN.

Trích ADN: bằng bộ kit DNeasy Plant Mini của QIAGEN. Các bước trong quá trình ly trích ADN được thực hiện theo quy trình có sẵn trong bộ Kit DNeasy Plant Mini của QIAGEN.

Kiểm tra ADN sau khi ly trích: ADN sau khi ly trích được kiểm tra trên gel agarose 0,8%, điện di ở hiệu điện thế 50 V trong 45 phút.

Phân tích tính đa hình dựa vào chỉ thị phân tử SSRs: kỹ thuật SSRs được thực hiện theo Golein và đồng tác giả (2012) có hiệu chỉnh cho phù hợp: khuếch đại những đoạn SSRs từ bộ gen ADN được thực hiện trong phản ứng PCR (25 µl) gồm: 1 x PCR buffer, 0,2 mM dNTP, 0,3 µM primer, 2 mM $MgCl_2$, 1 unit *Taq* DNA polymerase và 50 ng ADN mẫu. Chu kỳ khuếch đại gồm các bước: tách sợi đôi ở 95^{0}C trong 12 phút, theo sau là 35 chu kỳ 95^{0}C trong 1 phút, 57-58^{0}C trong 1 phút, 72^{0}C trong 1,5 phút và giai đoạn kết thúc ở 72^{0}C trong 15 phút.

Kiểm tra sản phẩm PCR: sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 2%. Các sản phẩm PCR khuếch đại sau khi điện di được ghi nhận bằng cách có sự hiện diện của đoạn ADN khuếch đại trên gel là 1 và không có sự hiện diện là 0.

Phân tích thống kê: phân tích, đánh giá đa dạng di truyền các giống/dòng bưởi dựa trên hệ số tương đồng Jaccard và phương pháp UPGMA bằng phần mềm NTSYSpc 2.1. Hàm lượng thông tin tính đa hình PIC (polymorphic information content) của mỗi cặp mồi SSRs được xác định theo công thức:

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

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

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

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

Trong đó: X là tổng số mồi có xuất hiện 2 alen/locus SSRs; M là tổng số mồi được sử dụng trong nghiên cứu; Y là tổng số mồi không xuất hiện phân đoạn ADN.

Kết quả và thảo luận

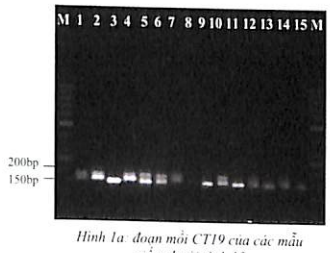
Phân tích tính đa hình giống bưởi dựa vào chỉ thị phân tử SSRs

Kết quả phân tích tính đa hình ADN trong tập đoàn 15 giống/dòng bưởi sử dụng chỉ thị phân tử SSRs cho đa hình được trình bày ở bảng 3.

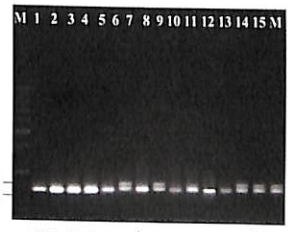
Bảng 3: kết quả sử dụng mồi trong phương pháp SSRs

STT	Mồi	Số mẫu cho sản phẩm khuếch đại	Tổng số phân đoạn	Kích thước phân đoạn (bp)	Số phân đoạn đa hình (%)	PIC
1	CAT01	13	2	160-175	100	0,48
2	ATC09	14	1	180	100	0,00
3	AG14	13	3	140-190	100	0,59
4	TAA3	15	3	150-190	66,67	0,35
5	TAA15	14	1	160	100	0,00
6	TAA41	14	5	130-160	100	0,68
7	TAA45	9	3	85-140	100	**0,31**
8	CAC15	15	2	160-180	50	0,45
9	CAC33	14	3	175-210	100	0,63
10	CT19	14	3	150-180	100	0,63
11	CT21	14	3	140-190	100	0,64
12	GT03	15	2	175-200	50	0,37
13	AMB5	15	3	130-160	100	0,65
14	CMS-26	14	1	175	100	0,00
15	mCrCIR01C06a	14	4	160-200	100	**0,74**
16	mCrCIR01F04a	14	2	200-240	100	0,49
17	mCrCIR03G05	15	2	230-245	50	0,37
18	mCrCIR03C08	13	3	195-220	100	0,52
	Hệ số PIC trung bình					**0,44**

23 cặp mồi SSRs sử dụng trong thí nghiệm cho thấy: 5 mồi TAA27, mCrCIR02A09, TAA52, mCrCIR01D06a và CMS-23 không xuất hiện phân đoạn ADN (allen). 18 mồi cho sản phẩm khuếch đại phân đoạn ADN, trong đó có 3 mồi ATC09, TAA15 và CMS-26 có xuất hiện phân đoạn ADN nhưng thể hiện trạng thái đơn hình (monomorphism) và 15 mồi còn lại thể hiện trạng thái đa hình (polymorphism), chiếm tỷ lệ 83,33%.



Hình 1a: đoạn mồi CT19 của các mẫu giống bưởi từ 1-15



Hình 1b: đoạn mồi GT03 của các mẫu giống bưởi từ 1-15

Ghi chú: M: thang ADN 50 bp; 1: bưởi Da xanh dòng 1 (Bến Tre); 2: bưởi Da xanh dòng 2 (Tiền Giang); 3: bưởi Tứ quý; 4: bưởi Đỏ; 5: bưởi Huyết; 6: bưởi Đường lá cam; 7: bưởi Đường hồng; 8: bưởi Năm roi; 9: bưởi Lông hồng; 10: bưởi Lông cò cò; 11: bưởi Đỏ Hà Nội; 12: bưởi Năm roi ruột đỏ; 13: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 1); 14: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 2); 15: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 3)

Mỗi mồi đa hình biểu hiện số lượng alen khác nhau giữa các locus. Trong thí nghiệm này, thu được tổng số là 43 alen từ 15 mồi đa hình, trung bình có 2,87 alen trên một mồi SSRs. Trong đó, mồi có tính đa hình cao nhất là TAA41 (5 alen), kết quả này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Trần Thị Oanh Yến và ctv (2003) [19] khi phân tích tính đa dạng di truyền nguồn gen cây có múi ở Việt Nam bằng chỉ thị Microsatelites cho 18 alen. Tổng số 344 alen đã được khuếch đại từ 18 mồi SSRs, với kích thước của alen khuếch đại trong khoảng từ 85 bp đến 245 bp (hình 1a, 1b).

Hình 2a: đoạn mồi TAA41 của các mẫu giống bưởi từ 1-15

Hình 2b: đoạn mồi TAA45 của các mẫu giống bưởi từ 1-15

Ghi chú: M: thang ADN 50 bp; 1: bưởi Da xanh dòng 1 (Bến Tre); 2: bưởi Da xanh dòng 2 (Tiền Giang); 3: bưởi Tứ quý; 4: bưởi Đỏ; 5: bưởi Huyết; 6: bưởi Đường lá cam; 7: bưởi Đường hồng; 8: bưởi Năm roi; 9: bưởi Lông hồng; 10: bưởi Lông cổ cò; 11: bưởi Đỏ Hà Nội; 12: bưởi Năm roi ruột đỏ; 13: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 1); 14: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 2); 15: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 3)

Mức độ đa dạng di truyền kiểu gen các giống/dòng bưởi phân tích được đánh giá thông qua giá trị PIC mỗi mồi. Giá trị PIC dao động từ 0,31 (mồi TAA45) đến 0,74 (mồi mCrCIR01C06a), với giá trị PIC trung bình là 0,44. Tám mồi (mCrCIR03C08, AG14, CAC33, CT19, CT21, AMB5, TTA41, mCrCIR01C06a) cho tính đa hình cao, với giá trị PIC > 0,5 (chiếm 53,3%) (bảng 3). Giá trị PIC = 0 là tại vị trí locus chỉ có 1 alen đơn hình. Theo DeWoody và ctv (1995), các mồi SSRs có giá trị PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của mồi đó.

Tỷ lệ các alen dị hợp (H%) của các mẫu phân tích cao, tỷ lệ dị hợp trung bình là 38,46%. Tỷ lệ alen dị hợp cao nhất là 52,9% ở mẫu bưởi Da xanh Bến Tre và thấp nhất là 27,78% ở mẫu bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 3). Khuất Hữu Trung và ctv (2009) cũng ghi nhận được tỷ lệ dị hợp cao nhất thuộc giống bưởi Da xanh (51,66%) và tỷ lệ dị hợp trung bình trên 11 giống bưởi là 41,19% [20].

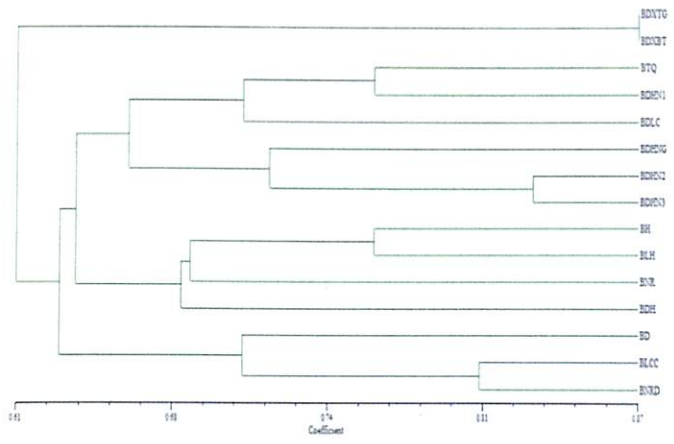
Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy cặp mồi TAA41 có thể sử dụng để phân biệt giống bưởi Năm roi, bưởi Đường hồng với các giống bưởi khác, cặp mồi TAA45 có thể phân biệt được bưởi Da xanh Tiền Giang, bưởi Đường lá cam với các giống bưởi khác (hình 2a, 2b).

Mối quan hệ di truyền của 15 giống/dòng bưởi

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 15 giống/dòng bưởi thể hiện qua hệ số tương đồng di truyền (bảng 4) và biểu đồ hình cây (hình 3).

Bảng 4: hệ số tương đồng di truyền của 15 giống/dòng bưởi phân tích SSRs

	BDXTG	BDXBT	BTQ	BD	BH	BDLC	BDH	BNR	BLH	BLCC	BDHNG	BNRD	BDHN1	BDHN2	BDHN3
BDXTG	1														
BDXBT	**0,87**	1													
BTQ	0,70	0,74	1												
BD	0,65	0,61	0,57	1											
BH	0,61	0,65	0,70	0,65	1										
BDLC	0,59	0,63	0,72	0,54	0,67	1									
BDH	0,67	0,67	0,67	0,63	0,72	0,65	1								
BNR	0,57	0,57	0,65	0,61	0,70	0,59	0,67	1							
BLH	**0,46**	0,50	0,63	0,72	0,76	0,70	0,65	0,67	1						
BLCC	0,54	0,50	0,63	0,76	0,63	0,70	0,57	0,54	0,78	1					
BDHNG	0,59	0,54	0,67	0,63	0,67	0,57	0,65	0,63	0,70	0,70	1				
BNRD	0,70	0,65	0,61	0,65	0,61	0,67	0,50	0,57	0,67	0,80	0,72	1			
BDHN1	0,59	0,63	0,76	0,63	0,63	0,70	0,57	0,63	0,70	0,65	0,65	0,67	1		
BDHN2	0,67	0,67	0,63	0,63	0,63	0,65	0,65	0,54	0,65	0,61	0,74	0,67	0,74	1	
BDHN3	0,63	0,63	0,63	0,63	0,59	0,65	0,57	0,59	0,65	0,57	0,70	0,63	0,74	0,83	1



Hình 3: giản đồ đa dạng di truyền 15 giống/dòng bưởi theo hệ số di truyền giống nhau của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA

Hệ số tương đồng di truyền của 15 giống/dòng bưởi dao động từ 0,46 đến 0,87. Trong đó, cặp giống/dòng có hệ số tương đồng di truyền cao nhất (0,87) là bưởi Da xanh Tiền Giang và bưởi Da xanh Bến Tre, cặp giống/dòng có hệ số tương đồng di truyền thấp nhất (0,46) là bưởi Da xanh Tiền Giang và bưởi Lông hồng.

Dựa trên giản đồ phân nhóm cho thấy, nếu xét mức độ tương đồng di truyền của 15 giống/dòng bưởi phân tích ở 0,64 sẽ chia chúng thành 4 nhóm chính, gồm:

Nhóm I: bao gồm 3 giống: bưởi Năm roi đỏ, bưởi Lông Cổ cò, bưởi Đỏ (Năm dù) với mức tương đồng di truyền dao động từ 0,65 đến 0,80. Tất cả các giống trong nhóm I được thu thập tại tỉnh Tiền Giang.

Nhóm II: lá các giống bưởi Đường hồng, bưởi Năm roi, bưởi Lông hồng, bưởi Huyết, có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,65-0,76.

Nhóm III: gồm các giống: bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 3), bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 2), bưởi Đỏ Hà Nội ghép trên gốc ghép bưởi Lông cổ cò, bưởi Đường Da láng, bưởi Đỏ Hà Nội trồng từ hạt (cây số 1), bưởi Tứ quý và ghi nhận hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,57-0,83. Từ kết quả trên đã chứng minh rằng, nếu bưởi được trồng từ hạt thì đời con sẽ phân ly tính trạng.

Nhóm IV: gồm 2 giống còn lại là bưởi Da xanh thu thập tại Bến Tre và bưởi Da xanh thu thập tại Tiền Giang giống nhau hoàn toàn và có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,87. Điều này chứng minh rằng, bưởi Da xanh Tiền Giang và bưởi Da xanh Bến Tre có cùng nguồn gốc.

Kết luận

Mối quan hệ di truyền của 15 giống/dòng bưởi được thu thập đã được xác định. Các giống/dòng phân tích được phân thành 4 nhóm chính.

Các giống/dòng bưởi trong nhóm III (0,57-0,83) có sự khác biệt về di truyền cao hơn các giống/dòng trong nhóm I (0,65-0,80), II (0,65-0,76), IV (0,87). Nếu sử dụng các giống/dòng bưởi trong nhóm III lai tạo với các nhóm còn lại thì sẽ thu được ưu thế lai, vì khoảng cách di truyền càng xa thì khả năng cho ưu thế lai càng cao.

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền trong nghiên cứu này có thể ứng dụng làm cơ sở cho việc lựa chọn các giống/dòng bưởi bố mẹ sử dụng trong chương trình lai tạo giống.

Tài liệu tham khảo

[1] Corazza - Nunes M.J, Machado M.A, Nunes W.M.C, Cristofani M and Targon M.L.P.N (2002), "Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* Burm. Merr.) using RAPD and SSR markers", *Euphytica,* **126**, pp.169-176.

[2] Yong L, De-Chun L, Bo W and Zhong-Hai S (2006), "Genetic diversity of pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) and its relatives based on simple sequence repeat markers", *Chinese J. of Agr. Biotechnology*, **3**, pp.119-126.

[3] Barrett H.C and Rhodes A.M (1976), "A numerical taxonomic study of affinity relationshipsin cultivated Citrus and its close relatives", *Syst. Bot*, **1**, pp.105-136.

[4] Federici C.T, Fang D.Q, Scora R.W and Roose M.L (1998), "Phylogenetic relationships within the genus Citrus (Rutaceae) and related genera as revealed by RFLP and RAPD analysis", *Theor. Appl. Genet*, **96**, pp.812-822.

[5] 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**, pp.1155-1166.

[6] Barkley N.A, Roose M.L, Krueger R.R, Federici C.T (2006), "Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs)", *Theor. Appl. Genet*, **112**, pp.1519-1531.

[7] Uzun A, Yesiloglu T, Aka-Kacar Y, Tuzcu O and Gulsen O (2009), "Genetic diversity and relationships within Citrus and related genera based on sequence related amplified polymorphism markers (SRAPs)", *Scientia Horticulturae*, **121**, pp.306-312.

[8] Kijas J.M.H, Fowler J.C.S, Thomas M.R (1995), "An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within citrus and related species", *Genome*, **38**, pp.349-355.

[9] Kijas J.M.H, Thomas M.R and Fowler J.C.S (1997), "Integration of trinucleotide microsatellites into a linkage map of Citrus", *Theor. Appl. Genet,* **94**, pp.701-706.

[10] Gulsen O, Roose M.L (2001), "Lemons: diversity and relationships with selected Citrus genotypes as measured with nuclear genome markers", *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **126**, pp.309-317.

[11] Luro F, Rist D, Ollitrault P (2001), "Evaluation of genetic relationships in Citrus genus by means of sequence tagged microsatellites", *Acta Horticulturae*, **546**, pp.237-242.

[12] Pang X.M, Hu C.G and Deng X.X (2003), "Phylogenetic relationships among citrua and its relatives as revealed by SSR markers", *Acta Genetica*, **30(1)**, pp.81-87.

[13] Riaz A, Darushi S and Stephen M.S (2003), "Development and characterization of microsatellite markers in Citrus", *J Amer Soc Hort. Sci*, **128(4)**, pp.584-590.

[14] Ollitrault F, Terol J, Pina J.A, Navarro L, Talon M, Ollitrault P (2010), "Development of SSR markers from Citrus clementina (Rutaceae) BAC end sequences and interspecific transferability in Citrus", *American Journal of Botany*, **97**, pp.124-129.

[15] Wang F.S and Jiang D (2010), "Studies on Genetic Background of important germplasm resources among citrus Based on cpSSR and EST-SSR Marker", *Journal of Horticulture (China)*, **37(3)**, pp.465-474.

[16] 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)**, pp.1632-1638.

[17] Ji Q.H, Zeng J.W and Guo Y.J (2011), "Using optimized random amplified polymorphic DNA (RAPD) marker to identify the category status of Citrus nobilis Gonggan", *African Journal of Biotechnology*, **10(64)**, pp.13982-13990.

[18] Herrero R, Asins M.J, Carbonell A.E and Navarro L (1996), "Genetic diversity in the orangsubfamily Aurantioideae. I Intraspecies and intragenus genetic variability", *Tappl Genet*, **92**, pp.599-609.

[19] 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", *Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ rau quả 2002-2003*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, pp.57-66.

[20] 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)**, pp.485-492.