

Đánh giá đa dạng di truyền một số giống bơ (*Persea americana* Mill.) bằng chỉ thị phân tử SSR

Phạm Thị Phương^{1*}, Phạm Đức Toàn², Nguyễn Vũ Phong^{2*}

¹Trường Đại học Tây Nguyên

²Trường Đại học Nông lâm TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 14/1/2019; ngày chuyển phản biện 18/1/2019; ngày nhận phản biện 22/2/2019; ngày chấp nhận đăng 18/3/2019

Tóm tắt:

Cây bơ (*Persea americana* Mill.) được du nhập và trồng khá phổ biến ở vùng Tây Nguyên và Đông Nam Bộ. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 24 giống bơ dựa trên chỉ thị phân tử SSR. Tổng số 18 primer SSR đã ghi nhận kết quả có 59 băng đa hình trong tổng số 62 băng khuếch đại với kích thước dao động từ 70 đến 350 bp, trung bình 3,44 băng/primer. 3 primer cho kết quả 5 băng đa hình là AVAG13, AVAG21 và LMAV.33. Chỉ số PIC của các primer dao động từ 0,12 đến 0,9, trong đó primer LMAV.06 và primer LMAV.33 có tính đa hình cao nhất. Kết quả phân tích cũng cho thấy hệ số tương đồng di truyền của 24 giống bơ biến thiên từ 0,12 đến 0,99. Kết quả phân nhóm di truyền đã chia các giống bơ thành 6 nhóm chính với khoảng cách di truyền trung bình là 0,39.

Từ khóa: bơ, đa dạng di truyền, *Persea americana* Mill., SSR.

Chỉ số phân loại: 4.6

Mở đầu

Cây bơ được du nhập và trồng khá phổ biến ở vùng Tây Nguyên và Đông Nam bộ. Trong trái bơ, ngoài nước còn chứa chất béo, protein, các loại vitamin và các chất quan trọng khác như folate, choline. Có thể nói bơ là loại trái cây có nhiều chất dinh dưỡng, phù hợp với mọi lứa tuổi. Ngoài ra, một số giống bơ có thể sử dụng cho các mục đích khác như làm gốc ghép, gỗ thương phẩm, làm chất đốt [1, 2]. Ở Việt Nam, bơ được coi là một trong những loại trái cây đặc sản của vùng Tây Nguyên và được trồng thử nghiệm ở nhiều vùng, miền trên khắp cả nước. Việc nghiên cứu đa dạng di truyền của các giống bơ cung cấp dữ liệu ở mức độ phân tử, giúp cho việc lai chọn tạo giống tiết kiệm được thời gian, công sức. Nghiên cứu đa dạng di truyền cũng tạo cơ sở khoa học cho bảo tồn nguồn gen.

Trong những năm gần đây, các chỉ thị phân tử như RAPD, ISSR, SSR, ADN Barcode được sử dụng phổ biến trong đánh giá di truyền và đa dạng di truyền. Những chỉ thị này giúp các nghiên cứu di truyền chính xác hơn, việc phân loại tốt hơn và đi sâu vào quan hệ di truyền giữa các giống bơ, củng cố thêm kết quả phân loại đã công bố. Một số nghiên cứu gần đây đã góp phần làm sáng tỏ nguồn gốc của các giống cây lai khác nhau và xác định được các chỉ thị chuyên biệt cho từng giống. Sự đánh giá về cấu trúc di truyền của các nguồn sẽ giúp cho việc quản lý nguồn di truyền bơ tốt hơn cho các chương trình nhân giống và bảo

tồn vật liệu. Nhìn chung, các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung đánh giá đa dạng di truyền của các giống bơ và xác định mối quan hệ di truyền giữa các giống đó [3-9]. Ở Việt Nam, năm 2016, Lê Ngọc Triệu và cs [10] đã khảo sát đa dạng di truyền và xác lập chỉ thị phân tử nhận dạng một số dòng bơ tại Lâm Đồng bằng 10 chỉ thị ISSR. Kết quả thu được cho thấy, mức độ đa dạng di truyền thấp của 11 dòng bơ khảo sát và các dòng bơ được tạo giống và tuyển chọn tại Lâm Đồng có nguồn gốc gần nhau. Ngoài ra, nghiên cứu cũng đã xác lập được một số chỉ thị phân tử để nhận dạng 6 dòng bơ tiềm năng. Nhìn chung, việc sử dụng các chỉ thị phân tử để đánh giá đa dạng di truyền, xác định quan hệ di truyền giữa các giống nhằm mục đích bảo tồn và chọn tạo giống mới ở Việt Nam còn khá mới mẻ.

Trong nghiên cứu này, chỉ thị SSR được sử dụng đánh giá đa dạng nguồn gen của 24 giống, từ đó đưa ra những nhận định ban đầu về quan hệ di truyền của các giống bơ tham gia nghiên cứu, góp phần cung cấp dữ liệu sử dụng trong công tác lai tạo giống bơ phục vụ sản xuất.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 24 mẫu bơ được lưu giữ tại vườn tập đoàn giống thuộc Viện Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp Tây Nguyên được sử dụng nghiên cứu (bảng 1).

*Tác giả liên hệ: ptphuong@gmail.com; nvphong@hcmuaf.edu.vn

Assessment on the genetic diversity of some avocado (*Persea americana* Mill.) varieties using microsatellite markers

Thi Phuong Pham^{1*}, Duc Toan Pham²,
Vu Phong Nguyen^{2*}

¹Tay Nguyen University

²Nong Lam University Ho Chi Minh City

Received 14 January 2019; accepted 18 March 2019

Abstract:

Persea americana Mill is cultivated popularly in the Central Highlands and South Eastern regions of Vietnam. The purpose of this study was to assess the genetic diversity of twenty-four avocado (*Persea americana* Mill.) varieties based on molecular markers SSR. The PCR analysis with 18 SSR markers showed 62 amplified bands including 59 polymorphic bands, and other properties such as 3.44 bands/primer and molecular sizes ranging from 70 to 350 bp. Three primers namely AVAG13, AVAG21 and LMAV.33 gave five polymorphic bands. The polymorphic information content (PIC) ranged from 0.12 to 0.90, in which LMAV.06 and LMAV.33 markers had the highest polymorphism. The analysis result also exhibited the similarity coefficient of twenty-four avocado varieties varied from 0.12 to 0.99. The phylogenetic analysis divided the genotypes into six main groups which have the mean similarity coefficient of 0.39.

Keywords: avocado, genetic diversity, *Persea americana* Mill., SSR.

Classification number: 4.6

Bảng 1. Danh sách các giống bơ sử dụng trong nghiên cứu [11].

TT	Giống	Nguồn gốc	TT	Giống	Nguồn gốc	TT	Giống	Nguồn gốc
1	TA1	Đắk Lắk	9	TA36	Đắk Lắk	17	Arthdith	Nhập nội
2	TA3	Đắk Lắk	10	TA40	Đắk Lắk	18	Reed	Nhập nội
3	TA5	Đắk Lắk	11	TA44	Đắk Lắk	19	Ettinger	Nhập nội
4	TA6	Đắk Nông	12	TA47	Đắk Lắk	20	Fuerte	Nhập nội
5	TA17	Đắk Lắk	13	TA54	Gia Lai	21	Sharwill	Nhập nội
6	TA21	Đắk Lắk	14	Số 5	Nhập nội	22	GA	Nhập nội
7	TA26	Đắk Lắk	15	Booth 7	Nhập nội	23	GB	Nhập nội
8	TA31	Đắk Lắk	16	Hass	Nhập nội	24	GC	Nhập nội

Các primer sử dụng trong nghiên cứu được tham khảo từ công bố của Abraham và Takrama (2014) [5], Gross-German và Viruel (2012) [7], Sharon và cs (1997) [8].

Phương pháp nghiên cứu

Mẫu chồi non của từng giống bơ được thu riêng rẽ và tách chiết ADN tổng số theo phương pháp CTAB của J.J. Doyle và J.L. Doyle (1990) [12]. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích phản ứng là 12 µl, gồm 6,25 µl Master Mix 2X (Bioline), 0,5 µl primer 10 µM mỗi loại, 0,5 µl ADN (50 ng/ul), 4,75 µl nước khử ion. Chu kỳ nhiệt phản ứng gồm 94°C (5 phút), 35 chu kỳ [94°C (50 giây), 52 hoặc 58°C (30 giây), 72°C (60 giây)] và kết thúc ở 72°C (7 phút). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,5%, điện di ở 80 V, 400 mA trong 40 phút. Kích thước các đoạn ADN khuếch đại trong gel được ước lượng bằng cách so sánh với thang chuẩn ADN 100 bp.

Xây dựng cây phân nhóm di truyền: kết quả được ghi nhận dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của băng ADN. Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 để tìm mối tương quan giữa các giống nghiên cứu thông qua ma trận hệ số tương đồng di truyền (ma trận khoảng cách) được xây dựng trên công thức:

$$S_{xy} = \frac{2xy}{x + y}$$

Trong đó: xy là số băng chung giữa hai mẫu; x là số băng của mẫu x; y là số băng của mẫu y; Sxy là hệ số tương đồng giữa 2 mẫu. Từ Sxy tính được khoảng cách di truyền giữa x và y theo công thức: Dxy = 1 - Sxy.

Sự đa dạng di truyền của các giống còn được đánh giá ở mức độ đa dạng dựa vào tần suất xuất hiện band đa hình ở các primer phân tử và được thể hiện bằng chỉ số PIC và được tính bằng công thức:

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

Trong đó: P_{ij} là tần suất xuất hiện alen thứ j của locus SSR thứ i.

Kết quả và thảo luận

Kết quả phân tích SSR

Bảng 2. Kết quả phân tích của 18 primer SSR.

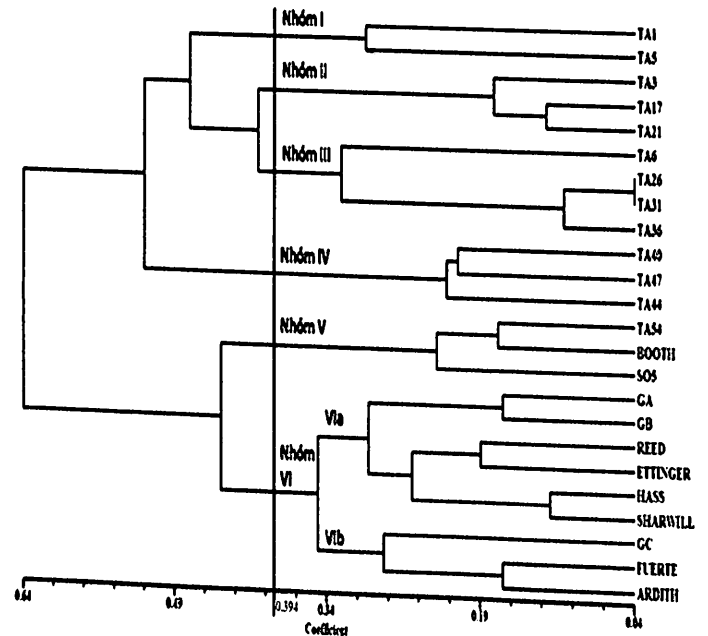
TT	Primer	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)	PIC	Kích thước băng (bp)
1	AVAC01	3	2	66,7	0,35	70-150
2	AVAG03	2	2	100	0,35	90-115
3	AVMIX04	3	3	100	0,67	150-200
4	AVAG05	3	3	100	0,47	70-100
5	AVAG06	2	2	100	0,44	70-105
6	AVAG10	3	3	100	0,12	70-230
7	AVAG13	5	5	100	0,62	80-175
8	AVAG21	5	4	80	0,63	150-230
9	AVAG22	4	4	100	0,59	80-130
10	AVAG25	3	3	100	0,58	100-150
11	LMAV.02	4	4	100	0,40	190-250
12	LMAV.06	2	2	100	0,89	180-200
13	LMAV.07	4	4	100	0,53	180-230
14	LMAV.14	3	3	100	0,47	200-260
15	LMAV.15	4	4	100	0,55	280-350
16	LMAV.18	4	4	100	0,49	170-215
17	LMAV.24	3	3	100	0,41	190-220
18	LMAV.33	5	4	80	0,90	70-305
Trung bình		3,44	3,27	96	0,53	70-350
Tổng số		62	59			

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong số 20 primer SSR sử dụng có 2 primer không cho sản phẩm khuếch đại (LMAV.04 và LMAV.31). Còn lại 18 primer cho sản phẩm đa hình 2-5 băng trên mỗi primer (bảng 2). Kích thước các băng dao động từ 70 đến 350 bp. Số băng được tạo ra đa số là 2 hoặc 3 băng ở hầu hết các primer. Các primer có nhiều băng nhất (5 băng) là AVAG13, AVAG21 và LMAV.33. Tổng số sản phẩm khuếch đại là 62 băng ADN, trong đó có 59 băng đa hình, đạt 96% với trung bình 3,44 băng/primer. Trong khi đó, cũng với 20 primer SSR trên, các tác giả khác đã thu được sản phẩm từ 5 băng (AVAG06) đến 22 băng (AVAG21). Tổng số sản phẩm khuếch đại là 247 băng, trung bình có 12 băng/primer. Sự khác biệt về số lượng các băng thu nhận được trong nghiên cứu này so với các nghiên cứu khác có thể do nguồn mẫu khác nhau, số lượng các cây giống tham gia vào nghiên cứu còn hạn chế. Kết quả cũng ghi nhận sự biến thiên về kích thước của các băng dao động từ 70 đến 350 bp. Ở các nghiên cứu trước, sự dao động này từ 71 đến 270 bp [5, 7]. Sự biến động kích thước các băng cũng phản ánh phần nào sự đa dạng di truyền của các giống bơ.

Chỉ số PIC của các primer dao động từ 0,12 đến 0,9. Trong một quần thể, giá trị PIC của primer bất kỳ càng lớn thì primer đó càng đa hình. Theo đó, primer LMAV.06 và LMAV.33 có tính đa hình cao nhất. Ngoài ra, giá trị PIC trung bình của 18 primer là 0,53 cho thấy có sự đa dạng di truyền nguồn gen của các giống bơ nghiên cứu.

Quan hệ di truyền giữa các giống bơ

Khoảng cách di truyền của 24 giống bơ trong nghiên cứu dao động từ 0,12 đến 0,99 (hình 1). Giá trị này cho thấy có sự khác biệt về mặt di truyền giữa các giống bơ. 24 giống bơ nghiên cứu được phân thành 6 nhóm chính ở mức giá trị trung bình khoảng cách di truyền là 0,39. Nhóm I, gồm 2 giống (TA1 và TA5) với hệ số tương đồng 0,3. Nhóm II, có 3 giống (TA3, TA17, TA21) với hệ số tương đồng từ 0,13 (giữa TA17 và TA21) đến 0,18 (giữa TA3 và TA17). Nhóm III, gồm 4 giống (TA6, TA26, TA31, TA36) với hệ số tương đồng từ 0,13 (giữa TA26 và TA31) đến 0,87 (giữa TA6 và TA36). 3 giống gồm TA40, TA44 và TA47 được xếp vào nhóm IV với hệ số tương đồng từ 0,21 (giữa TA44 và TA47; TA40 và TA47) đến 0,23 (giữa TA40 và TA44). Nhóm V gồm 3 giống (TA54, Số 5, Booth 7) với hệ số tương đồng từ 0,17 (giữa TA54 và Booth 7) đến 0,25 (giữa Số 5 và Booth 7). Cuối cùng, nhóm VI có 9 giống (GA, GB, GC, Fuerte, Ardith, Reed, Ettinger, Hass, Sharwill) với hệ số tương đồng từ 0,12 (giữa Hass và Sharwill) đến 0,47 (giữa Ettinger và Fuerte). Trong đó, các giống lần lượt được xếp chung vào các nhóm nhỏ là Reed và Ettinger, Hass và Sharwill, Fuerte và Ardith. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó [13, 14].



Hình 1. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 24 giống bơ dựa vào 18 primer SSR.

Nhìn chung, các giống bơ trong nước được phân bố vào các nhóm I, II, III, IV; các giống nhập nội thuộc nhóm VI; nhóm V gồm 1 giống trong nước (TA54) và 2 giống nhập nội (Booth 7 và Số 5). Giá trị trung bình khoảng cách di truyền của 24 giống bơ thấp, cho thấy các giống bơ có sự tương đồng lớn về đặc điểm di truyền. Tuy nhiên, sự biến thiên hệ số tương đồng giữa các giống bơ phần nào nói lên sự đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền của các giống bơ được nghiên cứu

Sự phân chia này có sự tách biệt hầu hết các giống bơ trong nước với các giống bơ nhập nội. Tuy nhiên, ở nhóm V, TA54 là giống trong nước lại được ghép chung với Booth 7 và Số 5. Điều này cho phép giả định rằng, TA54 là giống bơ được đưa vào Việt Nam trước đây hoặc liên quan đến giống bơ nào đó được di thực thông qua các chương trình nghiên cứu về bơ từ sớm. Điều đặc biệt là hai giống TA54 và Booth 7 được xếp vào cùng nhau trong một nhánh nhỏ hơn cho thấy có sự gần gũi về các đặc điểm di truyền của chúng. Về kiểu hình, cả Booth 7 và TA54 đều có đặc tính thịt quả là vàng đậm, dẻo, béo, không xơ, thơm, thậm chí độ dẻo và béo của TA54 còn cao hơn so với Booth 7. Ngoài đặc tính thịt quả, cả hai giống này còn có một số đặc điểm tương đồng khác như màu sắc lá non nâu đỏ, bánh tẻ xanh đậm, mép lá TA54 phẳng, Booth 7 hơi gợn sóng, khối lượng trái cũng gần tương đương nhau [11].

Trong nhóm V, giống Số 5 có màu sắc lá non nâu đỏ, lá bánh tẻ xanh đậm tương tự như TA54 và Booth 7. Tuy nhiên, thịt quả của nó là màu vàng kem, ít béo, ít sáp, xơ - khác biệt với thịt quả của 2 giống trên. Booth 7 được coi là kết quả lai giữa nhóm Guatemalan và West Indian, mang một số đặc điểm của cả nhóm West Indian (quả khi chín có màu xanh vàng) và nhóm Guatemalan (quả tròn, thời gian từ lúc nở hoa cho đến khi trưởng thành muộn, dao động từ 8 đến 12 tháng). Trong khi đó, TA54 có màu sắc trái màu vàng nâu và thời gian quả trưởng thành từ 5 đến 9 tháng, Số 5 có màu sắc trái màu xanh nâu và thời gian quả trưởng thành từ 5 đến 9 tháng [11]. Đây là những đặc điểm của nhóm West Indian.

Các giống bơ bản địa còn lại được chia thành 4 nhóm, số lượng giống trong mỗi nhóm dao động từ 2 đến 4. Trong đó nhóm I gồm TA1 và TA5 có thể là con lai giữa nhóm West Indian và Mexican. Nhóm II gồm 3 giống (TA3, TA17, TA21), trong đó TA17 và TA21 có một số đặc điểm của nhóm Mexican như thời gian trưởng thành quả từ 4 đến 8 tháng, mép lá gợn sóng ít, lá non có màu xanh vàng và lá trưởng thành có màu biến thiên từ xanh đến xanh đậm, thịt quả màu vàng nhạt, dẻo, béo, không xơ [11]. Tuy vậy, màu sắc quả khi chín lại mang hơi hướng của nhóm West Indian (xanh vàng ở TA17 và vàng nâu ở TA21), hình dạng trái thay đổi.

Trong nhóm III, TA6 là giống mang nhiều đặc điểm khác biệt nhất. Kiểu hình mang đặc tính của nhóm West Indian (màu sắc lá non, màu sắc lá bánh tẻ, màu quả chín) chiếm tỷ lệ nhiều hơn so nhóm Mexican (thời gian trưởng thành quả). Trong nhóm này TA26 và TA31 có nhiều điểm tương đồng với nhau với các đặc tính về màu sắc lá, màu sắc quả chín là những đặc trưng của nhóm West Indian, nhưng thời gian trưởng thành quả, dạng quả lại thiên về nhóm Mexican. Cũng nằm trong nhóm III, nhưng TA36 có quan hệ gần gũi với 2 giống TA26, TA31 hơn so với TA6 do mang đặc điểm của nhóm West Indian (màu sắc lá) và nhóm Mexican (dạng quả, màu quả chín, thời gian trưởng thành quả), trong đó nhóm Mexican chiếm ưu thế hơn.

Trong nhóm IV cho thấy TA40 và TA47 có nhiều điểm tương đồng về màu lá non, lá bánh tẻ, tán lá có dạng chóp, thời gian phát triển của quả và màu quả chín. Có thể thấy, 2 giống mang đặc tính của nhóm Mexican và Guatemalan. Giống TA44 có các đặc tính về màu sắc lá giống với nhóm West Indian và thời gian quả trưởng thành, dạng quả tương tự nhóm Mexican. Do vậy, giống này là dạng lai giữa nhóm West Indian và Mexican.

Nhóm VI bao gồm những dòng/giống nhập nội nhưng cũng được chia thành hai nhóm nhỏ là VIa và VIb. Trong nhóm VIa, các giống Reed, Ettinger, Hass và Sharwill được phân bố về một nhóm nhỏ hơn. Hass, Sharwill và Ettinger là con lai giữa nhóm Guatemalan và Mexican, còn Reed là giống Guatemalan thuần [14]. Sự phân chia này phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đó.

GA, GB, GC được tạo ra nhờ nhân giống vô tính từ các cây lai giữa *P. americana* với *P. schiedeana* có nguồn gốc ở Guatemala. Đây là những gốc ghép có giá trị thương mại ở Mỹ vì chúng có tính kháng bệnh thối rễ [2]. Trên cây phân nhóm, GA và GB được xếp vào nhóm VIa cùng với các giống Guatemalan thuần hoặc lai giữa Guatemalan và Mexican. Trong khi đó, GC lại được xếp vào nhóm VIb cùng với các giống lai giữa Guatemalan và Mexican. Trong một nghiên cứu về sản lượng của giống Hass được ghép trên các giống GA, GB, GC, người ta nhận thấy sản lượng của bơ Hass trên gốc ghép GA và GB cao hơn so với GC, các cây được ghép trên GC cũng nhỏ so với GA và GB. Trong nghiên cứu về tính kháng mặn của các gốc ghép, GB có tính kháng mặn trung bình. Ngoài ra, cả 3 giống đều có tính kháng lạnh ở mức trung bình, trong đó GC kháng mạnh hơn so với GA và GB. Các đặc tính kháng mặn và kháng lạnh biểu hiện ở các dòng này đều là những đặc tính của nhóm Guatemalan. Nhìn chung, các dòng/giống bơ nhập nội trong nghiên cứu có nhiều đặc điểm tương đồng với nhau. Kết quả là chúng được nhóm chủ yếu vào nhóm VI và một phần của nhóm V.

Kết luận

Sử dụng 18 primer SSR để nghiên cứu tính đa hình của 24 giống bơ đã ghi nhận có 59 băng đa hình, trung bình có 3,44 băng/primer. Chỉ số PIC trung bình của các primer là 0,53 cho thấy có sự đa dạng di truyền của các giống bơ nghiên cứu. Trên cây phân nhóm di truyền, 24 giống bơ được chia thành 6 nhóm với giá trị trung bình khoảng cách di truyền là 0,394. Nhóm I, II, III và IV bao gồm các giống trong nước, nhóm VI chứa hầu hết các giống nhập nội, riêng nhóm V có sự pha trộn giữa các giống trong nước và giống nhập nội. Kết quả nghiên cứu này là thông tin hữu ích, cung cấp thêm thông tin về đa dạng di truyền cây bơ tại Việt Nam, giúp phát triển và chọn tạo giống bơ triển vọng trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Bost (2014), “*Persea schiedeana*: A high oil ‘Cinderella Species’ fruit with potential for tropical agroforestry systems”, *Sustainability*, **6**, pp.99-111.
- [2] S.B. Gary, M.L. Arpaia (2012), *Avocado production in California: A cultural handbook for growers*, The University of California Cooperative Extension, and The California Avocado Society Supported by the California Avocado Commission.
- [3] A.K. Acheampong, et al. (2008), “Genetic characterization of Ghanaian avocados using microsatellite markers”, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **133**(6), pp.801-809.
- [4] M.L. Alcaraz, J.I. Hormaza (2007), “Molecular characterization and genetic diversity in an avocado collection of cultivars and local Spanish genotypes using SSRs”, *Hereditas*, **144**(6), pp.244-253.
- [5] J.D. Abraham, J.F. Takrama (2014), “Genetic characterization of avocado (*Persea americana* Mill.) in two regions of Ghana”, *African Journal of Biotechnology*, **13**(51), pp.4620-4627.
- [6] H. Cuiris-Pérez, et al. (2009), “Genetic Variability within Mexico race Avocado (*Persea americana* Mill.) Germplasm Collections Determined by ISSRs”, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, **15**(2), pp.169-175.
- [7] E. Gross-German, M.A. Viruel (2012), “Molecular characterization of avocado germplasm with a new set of SSR and EST-SSR markers: genetic diversity, population structure, and identification of race-specific markers in a group of cultivated genotypes”, *Tree Genetics and Genomes*, **9**(2), pp.539-555.
- [8] D. Sharon, et al. (1997), “An integrated genetic linkage map of avocado”, *Theoretical and Applied Genetics*, **95**, pp.911-921.
- [9] J.C. Reyes-Alemán, et al. (2016), “Assessment of genetic relationship in *Persea* spp by traditional molecular markers”, *Genetics and Molecular Research*, **15**(2), doi: 10.4238/gmr.15027359.
- [10] Lê Ngọc Triệu, Nguyễn Hoàng Phong, Mai Tiến Đạt, Thái Thạch Bích, Nguyễn Thanh Tiên, Lê Đình Vĩnh Bảo, Nguyễn Khắc Quang, Phan Ngọc Quỳnh Như (2016), “Khảo sát đa dạng di truyền và xác lập chi thị phân tử cho việc nhận dạng một số dòng bơ (*Persea americana* Mill.) đã qua sơ bộ tuyển chọn tại Lâm Đồng”, *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Đà Lạt*, **6**(4), tr.1-14.
- [11] Hoàng Mạnh Cường (2015), *Nghiên cứu tuyển chọn giống bơ (*Persea americana* Mill.) thích hợp cho một số tỉnh Tây Nguyên*, Luận án tiến sỹ nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
- [12] J.J. Doyle, J.L. Doyle (1990), “Isolation of plant DNA from fresh tissue”, *Focus*, **12**, pp.11-15.
- [13] V.E. Ashworth, M.T. Clegg (2003), “Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): genealogical relationships among cultivated avocado genotypes”, *Journal of Heredity*, **94**(5), pp.407-415.
- [14] R.J. Schnell, et al. (2003), “Evaluation of avocado germplasm using microsatellite markers”, *Journal American Society Horticulture Science*, **128**(6), pp.881-889.