

## Study on caring techniques for *in vitro* ginger G10 variety in nursery

Trinh Thuy Duong, Le Kha Tuong, Pham Thi Kim Hanh

### Abstract

Tissue culture is an appropriate technique to quickly multiply free disease ginger variety G10. The survive ratio of plantlets reached highest 91% when the *in vitro* plantlets were acclimatized by placing culture flasks at room temperature for 3 days and on nursery for 4 days. The plantlets were transplanted on the crushing coir substrate or on alluvial soil: coconut fiber (1:1) combined with periodically spraying (every 7 to 10 days) fertilizer solution of Grown More with N : P : K ratio of 30 : 20 : 10 in the first month and Grown More with N : P : K ratio of 30 : 10 : 10 in the next month.

**Keywords:** Ginger G10, *in vitro* ginger, tissue culture, nursery

Ngày nhận bài: 17/12/2018

Ngày phản biện: 28/12/2018

Người phản biện: PGS. TS. Ninh Thị Phíp

Ngày duyệt đăng: 11/1/2019

## ĐÁNH GIÁ MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN NGUỒN GEN TRÁM ĐEN CỔ LOA SỬ DỤNG KỸ THUẬT ISSR

Phạm Hùng Cường<sup>1</sup>, Phạm Thị Kim Hạnh<sup>1</sup>, Hồ Thị Loan<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Trám đen (*Canarium tramdenum* Dai & Yakovlev) được trồng lâu đời ở khu di tích lịch sử Thành Cổ Loa thuộc xã Cổ Loa, huyện Đông Anh, Hà Nội. Theo các thư tịch cổ và những công bố gần đây, Trám đen được ghi nhận về giá trị kinh tế, văn hóa, sinh thái. Tuy nhiên, quần thể Trám đen đang bị suy giảm về năng suất và diện tích nhưng chưa có nghiên cứu nào để bảo tồn và phát triển nguồn gen quý này. Đánh giá quan hệ di truyền của quần thể Trám đen Cổ Loa sử dụng 8 môi ISSR với 20 mẫu Trám, kết quả 8 môi có biểu hiện tính đa hình, 537 băng ADN được nhân bản ngẫu nhiên. Hệ số tương đồng di truyền của 20 mẫu Trám dao động từ 0,928 (Trám22) - 1. Quần thể Trám đen ở Cổ Loa có hệ số đa dạng di truyền thấp, như vậy quần thể không đa dạng di truyền và dễ bị tổn thương do điều kiện ngoại cảnh. Kết quả này là cơ sở để xây dựng giải pháp bảo tồn và phát triển Trám đen Cổ Loa.

**Từ khóa:** Trám đen, ISSR, bảo tồn, đa dạng di truyền, quần thể, mối quan hệ di truyền

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Trám ở nước ta có 8 loài, trong đó 3 loài có quả ăn được trong đó Trám đen (*Canarium tramdenum* Dai & Yakovlev, đồng danh: *C. Nigrum*; *C. pimaela*) được nhân dân sử dụng làm thực phẩm từ lâu đời, có giá trị kinh tế cao và được trồng nhiều nhất hiện nay ở Việt Nam (Nguyễn Tiến Bản, 2003 - 2005; Lý Quỳnh Thu, Hoàng Thanh Lộc, 2011). Những phân tích hóa sinh trong quả, lá, nụ non cho thấy giá trị dinh dưỡng của loài cây này (Maloney, 1996). Trám đen được trồng ở Khu di tích lịch sử Cổ Loa, huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội từ lâu đời. Do có giá trị kinh tế và giá trị lịch sử nên việc bảo tồn và phát triển cây này cần được quan tâm, cần phải đánh giá mức độ đa dạng và quan hệ di truyền của quần thể cây Trám đen Cổ Loa. Trong các kỹ thuật phân tử, kỹ thuật ISSR (chuỗi lặp lại đơn giản giữa) có hiệu quả cao trong nghiên cứu đa dạng di truyền trên nhiều loài thực vật do có nhiều ưu điểm. Các markers ISSR

có sự đa hình cao và hữu ích trong các nghiên cứu đa dạng di truyền, phát sinh chủng loại, đánh dấu gen, lập bản đồ gen và sinh học tiến hóa (Reddy *et al.*, 2002). Do đó, kỹ thuật ISSR được sử dụng rộng rãi phục vụ công tác bảo tồn và phát triển các giống cây trồng, cây thuốc (Capparelli *et al.*, 2004; Kumar A. *et al.* 2014). Các nghiên cứu trong nước về thực vật đã sử dụng kỹ thuật ISSR đối với cây Ba kích, Cam sành, Sơn tra, Măng cụt (Hoàng Đăng Hiếu và *ctv.*, 2016; Vũ Văn Hiếu và *ctv.*, 2015; Vũ Thị Thu Hiền và *ctv.*, 2016; Trần Nhân Dũng và Trần Thị Lệ Quyên, 2012).

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng 8 môi cho chỉ thị ISSR (Wang *et al.*, 2010) (Bảng 1). Vật liệu gồm 20 mẫu cành, lá của 20 cá thể được chọn ngẫu nhiên từ quần thể gồm 67 cá thể Trám đen tại Cổ Loa (Bảng 2).

<sup>1</sup>Trung tâm Tài nguyên thực vật; <sup>2</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

**Bảng 1.** Trình tự các nucleotide của 8 chỉ thị ISSR được sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên mỗi	Trình tự Nucleotide	TT	Tên mỗi	Trình tự Nucleotide
1	ISSR1	5'- GAGAGAGAGAGAGAGAT -3'	5	ISSR7	5'- GAGAGAGAGAGAGAGAYT-3'
2	ISSR2	5'- GAGAGAGAGAGAGAGAC -3'	6	ISSR8	5'- GAGAGAGAGAGAGAGAYC-3'
3	ISSR5	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAYC-3'	7	ISSR9	5'-ACACACACACACACACYG-3'
4	ISSR6	5'- AGAGAGAGAGAGAGAGYA-3'	8	ISSR10	5'-AGAGAGAGAAGAGAGAAGAGAT-3'

**Bảng 2.** Vị trí địa lý cây Trám đen được lấy mẫu tại Cổ Loa, Đông Anh và Hòa Bình

TT	Ký hiệu mẫu	Tên mẫu	Địa chỉ chủ cây	Vị trí cây (Tọa độ số hóa: Vĩ độ N; Kinh độ E)
1	Tram1	Cây số 1	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,730°N;105,523°E
2	Tram2	Cây số 2	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,729°N;105,522°E
3	Tram9	Cây số 9	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,730°N;105,523°E
4	Tram10	Cây số 10	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,730°N;105,523°E
5	Tram14	Cây số 14	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,731°N;105,323°E
6	Tram16	Cây số 16	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,722°N;105,523°E
7	Tram19	Cây số 19	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,732°N;105,523°E
8	Tram21	Cây số 21	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,731°N;105,524°E
9	Tram22	Cây số 22	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,730°N;105,524°E
10	Tram24	Cây số 24	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,735°N;105,524°E
11	Tram25	Cây số 25	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,732°N;105,523°E
12	Tram26	Cây số 26	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,730°N;105,524°E
13	Tram27	Cây số 27	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,728°N;105,524°E
14	Tram28	Cây số 28	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,728°N;105,524°E
15	Tram32	Cây số 32	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,727°N;105,523°E
16	Tram41	Cây số 41	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,725°N;105,522°E
17	Tram44	Cây số 44	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,728°N;105,524°E
18	Tram46	Cây số 46	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,725°N;105,522°E
19	Tram47	Cây số 47	Thôn Thượng, Cổ Loa, Đông Anh	21,724°N;105,521°E
20	Trám40	Đối chứng	Kỳ Phú, Nho Quan, Ninh Bình	20,114°N;105,445°E

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Tách chiết ADN tổng số sử dụng DNeasy plant mini Kit của hãng QIAGEN (QIAGEN, 2016) và có cải tiến theo quy trình 9 bước. Nhân bản các đoạn ADN đích bằng kỹ thuật PCR, thành phần phản ứng PCR ở Bảng 3. Căn cứ thông số kỹ thuật của mỗi do nhà sản xuất cung cấp để tối ưu hóa chu trình nhiệt PCR và thiết lập được chu trình nhiệt tốt nhất. Cuối cùng điện di ADN trên gel agarose để kiểm tra ADN tổng số.

Phân tích phản ứng PCR-ISSR và số liệu: Dựa vào hình ảnh điện di sản phẩm PCR ghi nhận sự xuất hiện các băng điện di theo kích thước và thống kê với từng mẫu ở từng mẫu nghiên cứu dựa trên

phần mềm POPGENE 1.32 để xác định các chỉ số đa dạng di truyền (Nei, 1973; Yeh *et al.*, 1999). Dùng phần mềm NTSYS 2.0 để xác định mức độ đa hình và lập biểu đồ hình cây, phân nhóm UPGMA (Rohlf, 1992).

**Bảng 3.** Thành phần hỗn hợp PCR

TT	Thành phần	Nồng độ	Số lượng (µl)
1	Taq PCR Mastermix	2x	25
2	Mỗi	20 pmol	2
4	ADN tổng số	10 ng	2
5	Nước cất khử ion	-	19
<i>Tổng</i>			50

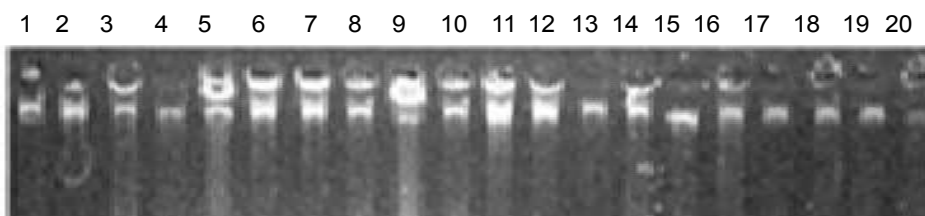
### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2017 đến tháng 6/2018 tại khu di tích lịch sử Cổ Loa, Trung tâm Tài nguyên thực vật và Viện Sinh thái Tài nguyên sinh vật.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả tách chiết ADN và phân tích hình ảnh điện di

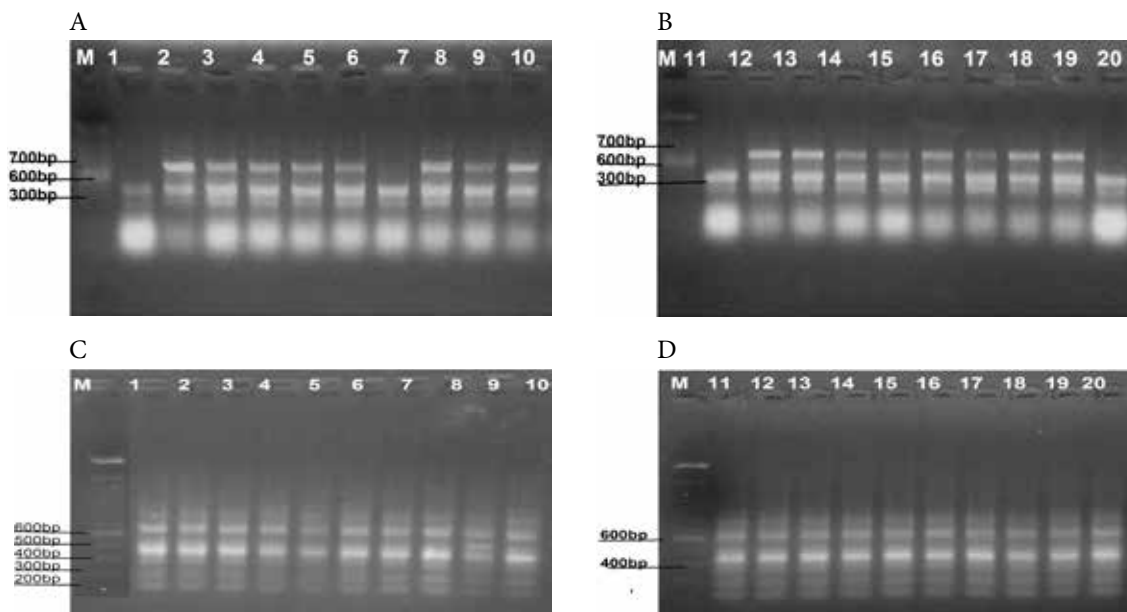
Nghiên cứu các phương pháp tối ưu hóa quy trình tách chiết ADN đã tách chiết thành công ADN của 20 mẫu Trám kết quả thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Điện di ADN tổng số của 20 mẫu Trám

Kết quả điện di sản phẩm PCR của 20 mẫu Trám với 6 môi: ISSR1, ISSR2, ISSR6, ISSR7, ISSR8 và ISSR10 đều thể hiện tính đa hình, tuy nhiên không tìm thấy sự sai khác ADN giữa các mẫu Trám. Sử dụng mỗi ISSR5 có 16 mẫu thể hiện tính đa hình và có 4 mẫu (Tram1; Tram19; Tram25; Tram47) không thể hiện tính đa hình. Như vậy có sự sai khác ADN giữa 4 mẫu (Tram1; Tram19; Tram25; Tram47)

với các mẫu còn lại (Hình 2 phần A, B). Mỗi ISSR9 có 3 phân đoạn ADN được nhân bản ngẫu nhiên với các kích thước (450bp; 500bp; 650bp). Trong đó 2 phân đoạn 450bp và 650bp đều xuất hiện ở cả 20 mẫu trám, riêng phân đoạn có kích thước 500bp chỉ xuất hiện ở mẫu tram22. Như vậy có sự sai khác ADN giữa mẫu Tram22 và các mẫu còn lại (Hình 2 phần C, D).



Hình 2. Hình ảnh điện di sản phẩm ISSR: Ảnh A và B sử dụng mỗi ISSR5; Ảnh C và D sử dụng mỗi ISSR9

Ghi chú: M: Ladder, 1: Tram1; 2: Tram2; 3: Tram9; 4: Tram10; 5: Tram14; 6: Tram16; 7: Tram19; 8: Tram21; 9: Tram22; 10: Tram24; 11: Tram25; 12: Tram26; 13: Tram27; 14: Tram28; 15: Tram32; 16: Tram40; 17: Tram41; 18: Tram44; 19: Tram46; 20: Tram47.

Tổng hợp thông tin phản ứng PCR của 8 môi ISSR được thể hiện ở bảng 4. Các mẫu ADN của Trám đen Cổ Loa đều cho tính đa hình với số phân đoạn từ 2 đến 6 phân đoạn ở tất cả các môi ISSR nghiên cứu. Trong số 08 môi phân tích, mỗi ISSR8 cho số phân đoạn ADN được nhân bản là nhiều nhất

(6 phân đoạn) với kích thước từ 200bp - 1000bp và số phân đoạn được nhân bản ít nhất là ở mỗi ISSR5; ISSR9 (2 phân đoạn). Còn lại các môi ISSR1; ISSR2; ISSR7; ISSR10 có 4 phân đoạn, mỗi ISSR6 có 3 phân đoạn trong đó có 1 phân đoạn đơn hình chỉ có ở mẫu Tram22.

**Bảng 4.** Tổng số băng, số phân đoạn và tỷ lệ đa hình khi sử dụng 08 mỗi ISSR

Mỗi	Tổng số băng	Số phân đoạn ADN	Kích thước (bp)	Số phân đoạn đa hình	Số phân đoạn đơn hình	Tỷ lệ phân đoạn đa hình (%)	Na	Ne	h	I
ISSR1	80	4	400-700	4	0	100	1,00	1,00	00	00
ISSR2	60	4	400-600	4	0	100	1,00	1,00	00	00
ISSR5	36	2	300-700	0	0	100	2,00	1,47	0,32	0,50
ISSR6	40	3	350-450	2	1	66,67	1,00	1,00	00	00
ISSR7	80	4	300-550	4	0	100	1,00	1,00	00	00
ISSR8	120	6	200-1000	6	0	100	1,00	1,00	00	00
ISSR9	41	2	400-600	2	0	100	2,00	1,10	0,09	0,12
ISSR10	80	4	250-1000	4	0	100	1,00	1,00	00	00
Trung bình/mỗi	26,85	3,6					1,25	1,07	0,05	0,09

Ghi chú: Na: số alen quan sát được; Ne: số alen có ý nghĩa; h: hệ số đa dạng di truyền Nei; I: chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon.

Từ kết quả nghiên cứu này cho thấy các mẫu Trám thu được ở Cổ Loa khá đồng nhất về di truyền, chỉ số đa dạng di truyền theo Nei và theo Shannon rất thấp ( $h = 0,05$ ;  $I = 0,09$ ). Điều này cho phép nhận định quần thể Trám Cổ Loa không đa dạng di truyền, quần thể ít đa dạng di truyền rất dễ bị tổn thương do các tác động của điều kiện ngoại cảnh vì vậy cần có kế hoạch phù hợp để bảo tồn và cải tạo quần thể này.

### 3.2. Mối quan hệ di truyền của các mẫu Trám nghiên cứu

Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện các phân đoạn ADN của các mẫu Trám khi điện di sản phẩm ISSR để xác định hệ số đa dạng di truyền của các mẫu Trám. Hệ số đa dạng di truyền cho biết mối tương quan về mặt di truyền giữa các mẫu phân tích. Số liệu thu được từ kết quả ISSR được đưa vào xử lý bằng phần mềm NTSYSpc version 2.0 (Rohlf, 1992) để tính hệ số tương đồng di truyền và xây dựng biểu đồ quan hệ di truyền giữa các mẫu Trám. Kết

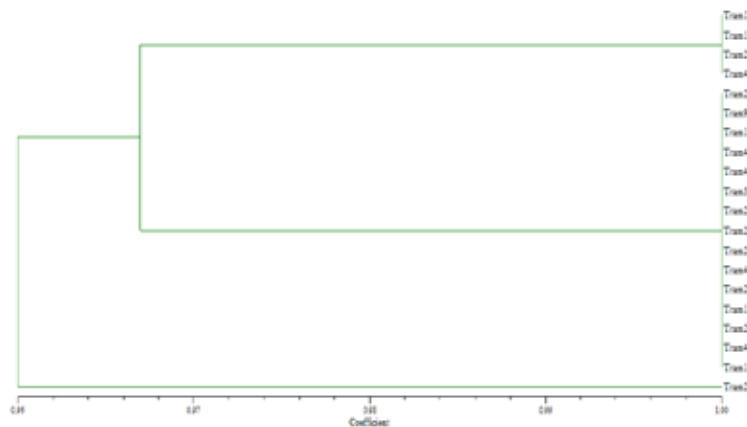
quả phân tích ở bảng 5 cho thấy hệ số tương đồng di truyền theo cặp của 20 mẫu Trám nghiên cứu rất cao từ 0,928 - 1. Sự tương đồng di truyền được minh họa bằng sơ đồ hình cây (Hình 3) cho thấy mối quan hệ di truyền của 20 mẫu Trám nghiên cứu được chia làm hai nhóm chính:

- Nhóm I: Gồm 19 mẫu Trám được chia thành 2 nhóm phụ:

+ Nhóm phụ 1: Gồm 4 mẫu Trám (Tram1; Tram19; Tram25; và Tram47) có hệ số di truyền sai khác với các giống ở nhánh phụ II 0,09 %.

+ Nhóm phụ 2: Gồm 15 mẫu Trám là Tram 2; Tram 14; Tram 16; Tram 46; Tram 27; Tram 32; Tram 9; Tram 10; Tram 21; Tram 24; Tram 22; Tram 40; Tram 28; Tram 44; Tram 41; Tram 19; Tram 25; Tram 26.

- Nhóm II: Chỉ có 1 mẫu Tram22 (mẫu Trám thu thập ở Ninh Bình) có hệ số tương đồng di truyền giữa chúng là 0,964. Như vậy, mức độ sai khác di truyền giữa 20 mẫu Trám rất thấp.



**Hình 3.** Sơ đồ quan hệ di truyền của 20 mẫu Trám nghiên cứu theo hệ số của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA

**Bảng 5.** Hệ số tương đồng di truyền của 20 mẫu Trám nghiên cứu

	Tram1	Tram2	Tram9	Tram10	Tram14	Tram16	Tram19	Tram21	Tram22	Tram24	Tram25	Tram26	Tram27	Tram28	Tram32	Tram40	Tram41	Tram44	Tram46	Tram47	
Tram1	1,000																				
Tram2	0,964	1,000																			
Tram9	0,964	1,000	1,000																		
Tram10	0,964	1,000	1,000	1,000																	
Tram14	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000																
Tram16	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000															
Tram19	1,000	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	1,000														
Tram21	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000													
Tram22	0,928	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	0,928	0,964	1,000												
Tram24	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000											
Tram25	1,000	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	1,000	0,964	0,928	0,964	1,000										
Tram26	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000									
Tram27	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000								
Tram28	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000							
Tram32	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000						
Tram40	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000					
Tram41	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000				
Tram44	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000			
Tram46	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	0,964	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		
Tram47	1,000	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	1,000	0,964	0,928	0,964	1,000	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	0,964	1,000

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Trên cơ sở khảo sát quần thể Trám đen tại xã Cổ Loa, huyện Đông Anh, Hà Nội đã chọn ngẫu nhiên 20 cây Trám đen để thu thập mẫu và tách chiết thành công ADN. Sử dụng 8 mỗi ISSR để phân tích đa dạng di truyền. Kết quả đã nhận được 537 băng ADN được nhân bản ngẫu nhiên với 08 mỗi ISSR của 20 mẫu Trám, cả 8 mỗi có biểu hiện tính đa hình. Hệ số tương đồng di truyền của 20 mẫu Trám nghiên cứu dao động từ 0,928 - 1. Trong đó, mẫu Trám 22 có hệ số tương đồng nhỏ nhất là 0,928. Các mẫu Trám có mối quan hệ di truyền rất gần gũi, chúng tập chung 1 nhánh chính trên cây phát sinh chủng loại. Quần thể Trám ở Cổ Loa có hệ số đa dạng di truyền thấp, điều này cho phép nhận định quần thể không đa dạng di truyền, do đó dễ bị tổn thương bởi các tác động của điều kiện ngoại cảnh.

##### 4.2. Đề nghị

Đề nghị cần có giải pháp duy trì quần thể Trám đen Cổ Loa khỏe mạnh tránh các tác động gây tổn thương di truyền, kết hợp với các biện pháp cải tạo quần thể nhằm bảo tồn và phát triển bền vững.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Tiến Bản (Chủ biên), 2003 - 2005. *Danh lục các loài thực vật ở Việt Nam*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội.

Trần Nhân Dũng và Trần Thị Lê Quyên, 2012. Đa dạng di truyền các giống/dòng măng cụt (*Garcinia mangostana*) dựa trên dấu phân tử ISSR ở Bình Dương. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 23a: 253-261.

Hoàng Đăng Hiếu, Chu Thị Thu Hà, Phạm Bích Ngọc, Lâm Đại Nhân, Nguyễn Thị Thúy Hoàng, Chu Hoàng Hà, 2016. Sử dụng chỉ thị ISSR trong việc đánh giá đa dạng di truyền ở quần thể Ba kích tại Quảng Ninh. *Tạp chí Sinh học*, 38 (1) 89-95.

Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Liệu, Đinh Thị Phòng, Phí Hồng Hải, La Ánh Dương, Vũ Đức Toàn, Delia Catacutan, Đàm Việt Bắc, 2016. Phân tích

mối quan hệ di truyền giữa các quần thể Sơn Tra (*Docynia indica* Wall. Decne) bằng chỉ thị ISSR. *Tạp chí KHLN* 4/2016 (4603-4613).

Lý Quỳnh Thu, Hoàng Thanh Lộc, 2011. *Chọn giống và phát triển giống Trám lấy quả tại Hòa Bình và một số tỉnh phía Bắc*. Trung tâm Thông tin, Bộ Nông nghiệp & PTNT.

Capparelli R., Visca rdi M., Amoroso M.G., Blaiotta G., 2004. Inter-simple sequence repeat markers and flow cytometry for the characterization of closely related *Citrus limon* germplasms. *Biotechnology Letters*, 26: 1295-1299.

Kumar, Amit & Mishra, Priyanka & Chandra Singh, Subhash & Velusamy, Sundaresan, 2014. Efficiency of ISSR and RAPD markers in genetic divergence analysis and conservation management of *Justicia adhatoda* L., a medicinal plant. *Plant Systematics and Evolution*. 10.1007/s00606-013-0970-z.

Maloney B.N., 1996. *Cannarium in the Southeast Asian and Oceanic archaeobotanical and pollen records*. Palaeoecology Center, The Queen's University.

Nei M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 70: 3321-3323.

Reddy P. M., Sarla N., Siddiq E. A., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128-2: 9-17.

QIAGEN, 2016. *DNeasy Plant Handbook*. Available from: <https://www.qiagen.com/jp/resources/download.aspx?id=6b9bcd96-d7d4-48a1-9838-58dbfb0e57d0&lang=en>; assessed on 14/5/2018.

Rohlf F.J., 1992. *NTSYS-PC: Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0*. State University of New York (Stony Brook, New York).

Wang X.M., 2010. Optimization of DNA isolation, ISSR-PCR system and primers screening of genuine species of rhubarb, an important herbal medicine in China. *J. Med. Plants Res.* 4 (10) (2010): 904-908.

Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T., 1999. *POPGENE Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis. Release 1.32*, University of Alberta, Edmonton.

### Evaluation of genetic relationship among Black Oliver at Co Loa commune by using ISSR technique

Pham Hung Cuong, Pham Thi Kim Hanh, Ho Thi Loan

#### Abstract

Black Oliver has been planted in some places at Co Loa historical site, Dong Anh Dist., Hanoi for a long time. However, its population in Co Loa has reduced in term of area and productivity. Due to the economic value as well as the historical value of the Black-Oliver population in relic area, conservation and development of this tree should be paid more attention. Eight ISSR primers were used to study the genetic relationship of 20 black oliver samples. The

results showed that the Black Oliver samples at Co Loa area were quite homogeneous, the genetic diversity index was very low ( $h = 0.05$  I = 0.09). It means the Black Oliver population in Co Loa is not genetically diverse; the population has less genetic diversity, therefore, it could be vulnerable by an outside impact. Consequently, conservation and rehabilitation plan is needed for the black Oliver population in Co Loa.

**Keywords:** ISSR, conservation, genetic diversity, population, genetic relationship

Ngày nhận bài: 7/1/2018  
Ngày phản biện: 14/1/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Tuyết  
Ngày duyệt đăng: 14/2/2019

## KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỊU HẠN MỘT SỐ NGUỒN GEN LÚA TẠI NGÂN HÀNG GEN CÂY TRỒNG QUỐC GIA

Trịnh Thùy Dương<sup>1</sup>, Vũ Linh Chi<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Hằng<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia Việt Nam hiện đang lưu giữ gần 10.000 mẫu giống lúa khác nhau. Tuy nhiên, công tác đánh giá chi tiết nói chung và đánh giá khả năng chịu hạn nói riêng đối với các nguồn gen lúa đến nay vẫn còn chưa nhiều. Kết quả đánh giá 100 nguồn gen lúa có nguồn gốc thu thập tại miền Trung năm 2017 ở Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia cho thấy giai đoạn mầm có 24 nguồn gen, giai đoạn 3 lá có 10 nguồn gen, giai đoạn đẻ nhánh có 19 nguồn gen, giai đoạn trổ có 4 nguồn gen có khả năng chịu hạn tốt. Ngoài ra, nguồn gen Khẩu mà giàng, số đăng ký 4792 được đánh giá là có khả năng chịu hạn tốt trong suốt quá trình sinh trưởng.

**Từ khóa:** Lúa, chịu hạn, đánh giá, ngân hàng gen

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, nền sản xuất nông nghiệp đang ngày càng phát triển, đã đạt được những thành tựu to lớn về năng suất cũng như chất lượng sản phẩm. Trong sản xuất nông nghiệp ở nước ta, lúa là cây lương thực chủ yếu, có ý nghĩa đáng kể trong nền kinh tế và xã hội. Nghề trồng lúa chiếm tỷ trọng lớn với khoảng 70% số lao động và 80% diện tích đất nông nghiệp cả nước (Nguyễn Văn Khoa, 2012).

Hiện nay, tình hình biến đổi khí hậu đang diễn ra rất phức tạp, việc hạn hán kéo dài khiến cho sản xuất nông nghiệp nói chung và sản xuất lúa nói riêng đứng trước những khó khăn, thách thức rất lớn. Hơn nữa, lúa là cây trồng rất mẫn cảm với hạn do hệ thống rễ nhỏ, khí khổng rất nhạy cảm và lá nhanh bị già hóa khi gặp hạn, vì vậy những nghiên cứu tuyển chọn giống lúa có khả năng chịu hạn trở thành một vấn đề cấp bách và cần thiết.

Tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia có hơn 10.000 mẫu giống lúa khác nhau đang được lưu giữ. Tuy nhiên, công tác đánh giá khả năng chịu hạn của các nguồn gen lúa từ Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia còn chưa nhiều, các thông tin về các nguồn gen lúa mới đang ở bước đầu dựa trên thông tin thu thập nguồn gen. Vì vậy, cần tận dụng nguồn vật liệu quý báu này để đánh giá và tuyển chọn những giống lúa

có khả năng chịu hạn lại có năng suất, chất lượng cao phục vụ cho sản xuất trong tương lai.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 100 nguồn gen (NG) lúa có nguồn gốc thu thập tại miền Trung đang được lưu giữ tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia (Thanh Hóa - 28 NG, Nghệ An - 51 NG, các địa phương khác - 21 NG), giống lúa chịu hạn CH5 làm đối chứng.

- Polyethelen Glycol 6000 (PEG 6000), Ethanol ( $C_2H_5OH$ ), Natri hypoclorit ( $NaOCl$ ).

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm 1: Đánh giá khả năng chịu hạn của các nguồn gen lúa giai đoạn mầm

Hạt giống được khử trùng bằng Ethanol 10% trong 3 phút và  $NaOCl$  5% trong 30 phút, rửa lại 2 lần với nước cất. Sau đó, ngâm hạt giống trong dung dịch PEG 6000 nồng độ 40% trong vòng 48 giờ. Rửa sạch và đặt vào đĩa petri có lót giấy lọc ẩm. Sau 7 ngày tiến hành đo đếm các chỉ tiêu để đánh giá khả năng chịu hạn. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 20 hạt.

<sup>1</sup> Trung tâm Tài nguyên thực vật