

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG MÍA VÀ TỔ HỢP MÍA LAI BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR

Thân Thị Thu Hạnh¹, Nguyễn Đức Quang¹,
Lê Quang Tuyền¹, Nguyễn Chuyên Thuận¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm nhằm phân tích đa dạng di truyền của 30 giống mía dựa vào sự có mặt và mức độ đa hình của chỉ thị phân tử SSR. Thí nghiệm sử dụng 45 chỉ thị phân tử SSR, trong đó có 32 chỉ thị cho đa hình với tổng số 170 alen đa hình chiếm tỷ lệ trung bình 3,78 alen trên một locus. Các giống mía trong thí nghiệm có mức độ đa dạng di truyền cao; hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,52 - 0,90. Thông qua hệ số di truyền giúp nhận ra cây con lai thực thụ. Hệ số tương đồng di truyền của các cây con lai trong cặp lai số 64 dao động từ 0,67 đến 0,85. Điều này chứng tỏ đa số cây con lai có mối quan hệ tương đồng về di truyền khá cao giữa bố, mẹ và cây con lai với nhau. Ngoài ra, khả năng con lai 285 (64-1) và 286 (64-2) có mức tương đồng di truyền 0,77 và 0,81 với cây bố và cây mẹ là hiện tượng tự thụ. Điều này có ý nghĩa to lớn đối với vật liệu cây con lai, giúp rút ngắn thời gian, giảm kinh phí và đem lại hiệu quả cao trong bước sơ tuyển cây con lai.

Từ khóa: Cây mía, đa dạng di truyền, chỉ thị SSR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới hiện nay, cây mía được xem là một trong những cây nguyên liệu chủ lực cho sản xuất đường và nhiên liệu sinh học. Năng suất mía nước ta trong những năm qua tăng chậm và vẫn còn ở mức thấp so với thế giới và khu vực, năm 2016 chỉ đứng thứ 44 của thế giới, thấp hơn so với bình quân của thế giới khoảng 7,0 tấn/ha, của khu vực Đông Nam Á khoảng là 4,0 tấn/ha, của Trung Quốc khoảng 10,0 tấn/ha, của Thái Lan khoảng 1,8 tấn/ha, của Úc khoảng 13,3 tấn/ha và của Guatamala (nước có năng suất mía cao nhất thế giới) khoảng 65,4 tấn/ha (FAOSTAT, 2018).

Các giống mía đang phổ biến trong sản xuất hiện nay phần lớn là giống nhập nội. Do đó, dễ nhiễm bệnh và thoái hoá nhanh, khả năng thích nghi các vùng sinh thái kém. Việc ứng dụng công nghệ sinh học trong chọn tạo giống mía còn hạn chế do sự phức tạp về mặt di truyền của mía: kích thước hệ

gen lớn, nhiều alen trên một locus, một tính trạng do nhiều alen quy định. Tuy nhiên, đã có một vài kết quả nghiên cứu rất đáng chú ý trong nghiên cứu ở mức độ phân tử như việc xây dựng bản đồ liên kết di truyền của loài mía quý *Saccharum officinarum*, đã được công bố. Việc áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử hiện đại như các chỉ thị phân tử RFLP, RAPD, SSR trong chọn giống, cho phép chúng ta chọn lọc đồng thời hai hay nhiều đặc tính trong cùng một thời điểm trên cùng một cá thể thay vì đánh giá kiểu hình của một quần thể mía bằng cách tìm những cá thể riêng biệt có chỉ thị phân tử liên kết với gene mong muốn (Nguyễn Văn Trữ và *ctv.*, 2012).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các giống mía sử dụng trong thí nghiệm làm bố mẹ được trồng trong tập đoàn Viện Nghiên cứu Mía đường.

Bảng 1. Danh sách các giống mía nghiên cứu

Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc	Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc	Ký hiệu	Tên giống	Nguồn gốc
3	ROC26	Đài Loan	19	KU00-1-61	Thái Lan	55	K2000	Thái Lan
7	K95-283	Thái Lan	23	ROC16	Đài Loan	56	K93-207	Thái Lan
9	C90-501	Cu Ba	24	ROC18	Đài Loan	57	K99- 82	Thái Lan
10	Co775	Ấn Độ	27	Suphanburi 7	Thái Lan	58	K90-77	Thái Lan
11	Co740	Ấn Độ	32	K88-92	Thái Lan	59	VN85-1427	Việt Nam
12	K95-84	Thái Lan	38	C85-284	Cu Ba	60	KU88-24	Thái Lan
14	K88-200	Thái Lan	40	Co475	Ấn Độ	61	KPS01-25	Thái Lan
15	ROC27	Đài Loan	51	ROC1	Đài Loan	62	KU60-3	Thái Lan
16	ROC23	Đài Loan	52	KU60-2	Thái Lan	64	C1324-74	Cu Ba
18	Viên Lâm 2	Trung Quốc	54	Cp63-360	Mỹ	65	CR74-250	R. Dominicana

¹ Viện Nghiên cứu Mía đường

Bảng 2. Danh mục chi thị phân tử SSR (Thiago *et al.*, 2011)

TT	Tên mỗi	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	t ^o
1	SCB 271	TTGGTGGAGGGGCTGGATGATGAC	CGCCGGGCCGTACTGACTCTG	62,7
2	SCB 299	CGCCGCCCTTCCGICTCC	AGCAGCAGCGTCCACATACTCTTCC	50,4
3	SCB 301	TTTGTGTCTCCCTGTTTCTCGTCTC	TTCCCGCAAATGATTCTATGTGG	61,0
4	SCB 272	GTGCAAAGACGAGGATGAGAA	ACTGCCGCGTCAACCAC	62,7
5	SCB 277	CTCCTTCTTCTTCTTCTTCTCCTC	GCTGCCCTAACGCTGCTC	62,7
6	SCB 320	CCCGACGTCGATAAGGAG	CGGGAGGATGTTGCTGAG	58,9
7	SCB 323	TGGTCGTCGGAGGTGGAG	CACGGGCGTCAACTGGAT	62,7
8	SCB 324	GCGAGAGCCAAGAACCAG	GCAGACGGGGCAGAGAA	58,9
9	SCB 332	GCACCAACACCTACAACATCAAGT	CTGGGGAAGGTACGGAACAAG	63,9
10	SCB 336	CGACCCGTCATCCAAAAT	TGCCCTTACCTTCTGTCCA	56,4
11	SCB 343	AGTAGCTCAAGGACAGGGACAG	GAGAGCGGAGAGGATGGTG	63,9
12	SCB252	CCCTTTTTGCTGCTTCTCACTTT	AGTCTCCTCCCGCTGTGATTG	50,4
13	SCB 192	TGGTTGTCCTTCTCCCTTGTGTT	CCCCACTGTCATCCACTCCTTC	58,9
14	SCB 201	CGCGCCATGATCCTCCTGT	ATTTCTCCTCCCTTGTCCCTTCC	62,7
15	SCB 228	CTCCTACGTCGGCTCCTCCTGTC	GCGTGGTGTCTTGCCTGTGG	64,7
16	SCB 225	GCCTAATGCCATGCCCCAGAG	AGAACCGAACCTGAACTCCGATGTG	56,4
17	SCB 231	CTCGTCTTCCCTCATCGCTGTCTTC	GCGATGAACTGGATGATGACTCTG	61,0
18	SCB 190	TTCTTCTGTACCATTCAATTTG	CCCCTCGATGCTGATTGTTAC	56,4
19	SCB 243	ATATGGAGCTCCGTCTTCTTGTTA	CCGTAGCTGGGGGTTGAGA	62,7
20	SCB 246	CACCAGAAACCGATACAACAAAGAC	AGTCATCAATTCGTCTATCACAC	61,0
21	SCB 273	CGACGCCGACATGCCTTCAAGT	CTCCACGTTGTCCGCCATACT	62,7
22	SCB 180	GGTCCCTGAAGATGAGAGTGAG	CCCATGCATGTAGGTAGGAAT	61,0
23	SCB 270	CCAACCCCCGCCCTCCTC	TCGTCGGCGCGGCAGAAGAT	62,7
24	SCB 276	ACTTGCTGCTAATGATGATGTGG	ACTAGGCGTGTGGGGTCTG	63,9
25	SCB 275	GTTCCCAGGATCGTTGTGCTTTTGTG	CCTCCTCGTCCACCGCCACTT	61,0
26	SCB 204	TGCTTCTCGTTGTTATCTTCAAC	TGCCAAGTTTACAGAGGAGGAA	61,0
27	SCB 281	TCCCGTTTCGGCCGTTACCTC	CCGATCATCTTGCCAACCCCTTCA	56,4
28	SCB285	GTAATCATCTTGCCCTCCTCTCCTC	GAACTGCTCACTGGCTCCTCTCA	61,0
29	SCB 288	GAGCCGCGCAGCAGCAGAA	GCCATCGTCATCATCACAAATCC	56,4
30	SCB300	CACCCGGCTTCCCTCTCCAGTCTC	ATCCTCTTCCGCCCTCCCTCTCG	62,7
31	SCB329	CGCCACCGGAAAAACC	CAGACTGCAAGAAAGGAACCA	52,5
32	SCB330	ATTTCTCAGTCCCTCCTCCTCCTCA	GTAGAAGTCCGTCGCCGTAATCATC	61,0
33	SCB 263	TTGGCAATTGGAAGGGAAGAT	TGTAGGAGAGGAGGCAACGAC	62,7
34	SCB193	TTTTGAAGAGAATGTGGACGAG	AGCCAATTACAAACAAAAGGTG	61,0
35	SCB234	CAACTTCGTACCTACACCAACACC	GAACGAGAACCACGCTGAATAACT	56,4
36	SCB 337	CGTGCCTGAACCGTGACC	GGAGCAGCATCAAGAAAAGAAAC	56,4
37	SCB 341	GTGTGCGCCTAAAACCTGAACCAAC	CAGCAGATGAGCAGACGAAGAAGAA	61,0
38	SCB 250	GCGGGGCGGTGGACGAC	GAGGATGACGACGGTGAAGGAG	62,7
39	SCB 213	AGCCGTCAGGGGTCAGG	ATTCGATGGAGCCTGAGTGAG	64,7
40	SCB 240	GAGAAGCAGAGCAGCGGGTGGTG	TGATCACCACGCAGCAGAGGAACC	61,0
41	SCB 226	GCGGAGCAGGCGGAGTG	GCGGTGCCGTGGGGATTA	51,3
42	SCB282	CGCGCTTGTTTTCTCCTTC	CGCGCACCCCGTCAG	62,7
43	SCB 262	TTTTATCTCTAGCCTACCCAACT	TGCATCAACATAACACATCCAG	62,7
44	SCB286	CACGCCCGGGGAAGGAT	CGAAGGCGGCGGTGGAGAC	62,7
45	SCB 266	GATGGAGGTGGAGACGATGCTGGAG	CGGAGGAGGCGGGGACGAA	62,7

Bảng 3. Ký hiệu mẫu cây con lai khi trích ly ADN của cặp lai 64 (cây mẹ K95-283 x cây bố Co740)

STT	KH mẫu	Cây con lai	STT	KH mẫu	Cây con lai	STT	KH mẫu	Cây con lai
1	285	64-1	8	292	64-8	15	299	64-15
2	286	64-2	9	293	64-9	16	300	64-16
3	287	64-3	10	294	64-10	17	301	64-17
4	288	64-4	11	295	64-11	18	302	64-18
5	289	64-5	12	296	64-12	19	303	64-19
6	290	64-6	13	297	64-13			
7	291	64-7	14	298	64-14			

2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nội dung nghiên cứu

- Phân tích quan hệ di truyền 30 giống mía tham gia thí nghiệm.

- Phân tích quan hệ di truyền giữa các dòng mía trong cặp lai 64 (cây mẹ K95-283 x cây bố Co740).

2.2.2. Tách ADN tổng số

ADN tổng số được tách theo phương pháp của Saghai-Marooof và cộng tác viên (1984) có cải tiến bởi Bộ môn Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu Mía đường.

Cắt nhỏ mẫu lá, cho vào eppendorf. Thêm 1 ml SDS 1,5% và 100 µl NaAC, ủ ở 65°C trong 30 phút (lắc đảo 10 phút/1 lần). Lấy eppendorf ra, cho ngay vào tủ âm sâu 5 phút, ly tâm 12.000 rpm/10 phút, thu dịch nổi sang eppendorf mới. Thêm 600 µl hỗn hợp Phenol: Chloroform: isoamyl alcohol theo tỉ lệ: (25: 24 : 1) viết tắt là hỗn hợp (25 : 24 : 1) vortex 1.400 vòng/phút / 10 phút cho tới khi hỗn hợp chuyển sang màu trắng sữa. Ly tâm lạnh 12.000 vòng/phút / 10 phút, thu dịch trong sang eppendorf mới, thêm tiếp dung dịch 25 : 24 : 1 theo tỉ lệ 1 : 1, ly tâm lạnh 12.000 vòng/phút/5 phút. Thu dịch nổi sang eppendorff mới. Bổ sung isopropanol lạnh theo tỉ lệ 1 : 2 về thể tích, trộn đều mẫu, ủ 2 - 3 h, ly tâm 12.000 vòng/phút / 10 phút / 4°C. Thu kết tủa, ủ tủa trong 250 - 300µl TE 1X để ổn định ADN có bổ sung 20 µl NaAC 3M để rửa tủa. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 60 phút, thêm cồn tuyệt đối lạnh theo tỉ lệ 2 : 1 về thể tích khoảng 640 µl, ly tâm 12.000 vòng/phút / 10 phút / 4°C thu tủa. Đổ bỏ ethanol tuyệt đối, tiếp tục thêm ethanol 70% vào, rửa 2 lần. Để khô ADN và bảo quản mẫu trong 100 µl TE 1X trong tủ âm.

2.2.3. Phương pháp PCR với các môi SSR

Bảng 4. Thành phần mỗi phản ứng PCR cơ bản

STT	Thành phần	Thể tích cần lấy (µl)
1	Buffer	3
2	ADN	1
3	Reverse Primer	0,5
4	Forward primer	0,5
5	Taq polymerase	0,15
6	Nước cất tiệt trùng	9,85
Tổng thể tích phản ứng		15

Bảng 5. Quy trình chạy PCR được tiến hành như sau:

Các bước	Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
Khởi đầu biến tính	95°C	2 phút	1
Biến tính	95°C	30 giây	35
Gắn môi	Tm	30 giây	
Tổng hợp sợi	72°C	1 phút 30 giây	
Kết thúc	72°C	10 phút	1

Ghi chú: Tm: nhiệt độ gắn môi (tùy theo cặp môi SSR).

2.2.4. Phân tích, xử lý số liệu bằng phần mềm NTSYSpc 2.1

- Hàm lượng thông tin đa hình PIC (Polymorphic Information Content) được tính toán theo phương pháp của Weir (1996).

- Xác định hệ số tương đồng di truyền Jaccard, xây dựng sơ đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng của các mẫu giống dựa theo phương pháp UPGMA trong NTSYS 2.1.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4 năm 2015 đến tháng 12 năm 2017 tại Bộ môn Công nghệ sinh học - Viện Nghiên cứu Mía đường.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự đa hình các chỉ thị SSR với 30 giống mía nghiên cứu

Kết quả thu được dựa trên sự phân tích 30 giống

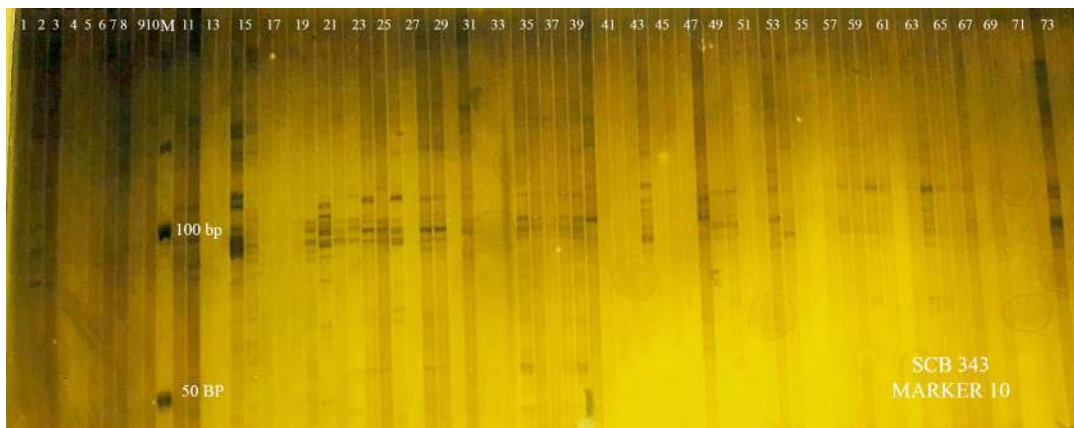
mía sử dụng chỉ thị SSR cho đa hình được trình bày ở bảng 6. Trong 45 chỉ thị sử dụng trong thí nghiệm, có 13 chỉ thị SCB 263, SCB 329, SCB 330, SCB 337, SCB 341..., SCB 266 không xuất hiện bằng ADN, có 32 chỉ thị thể hiện trạng thái đa hình.

Bảng 6. Số allen và giá trị PIC của 45 cặp mỗi

STT	SSR	Số allen	PIC	Ghi chú	STT	SSR	Số allen	PIC	Ghi chú	
1	SCB 271	4	0,83	Có bắt cặp	24	SCB 276	6	0,69	Có bắt cặp	
2	SCB 299	4	0,78		25	SCB 275	3	0,70		
3	SCB 301	9	0,74		26	SCB 204	2	0,37		
4	SCB 272	4	0,81		27	SCB 281	5	0,84		
5	SCB 277	6	0,55		28	SCB 285	4	0,86		
6	SCB 320	6	0,90		29	SCB 288	4	0,80		
7	SCB 323	1	0,77		30	SCB 300	8	0,88		
8	SCB 324	7	0,79		31	SCB 329	6	0,91		
9	SCB 332	14	0,70		32	SCB 330	7	0,88		
10	SCB 336	8	0,78		33	SCB 263	-	0,87		Không bắt cặp
11	SCB 343	6	0,89		34	SCB 193	-	0,37		
12	SCB 252	10	0,75		35	SCB 234	-	0,28		
13	SCB 192	5	0,36		36	SCB 337	-	0,69		
14	SCB 201	1	0,55		37	SCB 341	-	0,45		
15	SCB 228	4	0,42		38	SCB 250	-	0,34		
16	SCB 225	4	0,71		39	SCB 213	-	0,74		
17	SCB 231	5	0,35		40	SCB 240	-	0,25		
18	SCB 190	4	0,84		41	SCB 226	-	0,75		
19	SCB 243	5	0,87		42	SCB 282	-	0,81		
20	SCB 246	4	0,87		43	SCB 262	-	0,75		
21	SCB 273	4	0,79		44	SCB 286	0	0,79		
22	SCB 180	6	0,33		45	SCB 266	-	0,50		
23	SCB 270	4	0,85							

Số liệu bảng 6 cho thấy, số lượng allen khác nhau giữa các locus. Trong tổng số 45 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu, có 32 chỉ thị (71,11%) cho đa hình với tổng cộng 170 allen. Số lượng allen dao động từ 1 đến 14 allen, SCB 201 cho 1 allen... cặp mỗi SCB 301 cho 9 allen, SCB 252 cho 10 allen và SCB 332 còn lại cho 14 allen. Giá trị trung bình là 3,78 allen/locus.

Hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của 45 chỉ thị SSR dao động từ 0,25 đến 0,91, trung bình đạt 0,68. Các chỉ thị có hệ số PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của chỉ thị đó (DeWoody *et al.*, 1995, Nguyễn Văn Trữ và *ctv.*, 2012, Ngô Thị Hồng Tươi và *ctv.*, 2014). Tỷ lệ các chỉ thị cho PIC cao hơn 0,5 là 34 chỉ thị, chiếm 75,5%.



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR với cặp mồi SCB 343 các mẫu mía trên gel polyacrylamide 8%; M: marker 50-2000bp

Chú thích: AND của các giống mía được ký hiệu số tương ứng ở bảng 1.

3.2. Quan hệ di truyền giữa các giống mía nghiên cứu

Từ số liệu phân tích 45 cặp mồi SSR với các giống mía. Quan hệ di truyền giữa các giống mía nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm NTSYS 2.1. Qua hình 2 cho thấy các giống có hệ số tương đồng di truyền biến động cao 0,52 - 0,90. Nếu xét ở mức tương đồng khoảng 0,62 thì có thể chia 30 giống thành 9 nhóm chính với các nhóm phụ như sau:

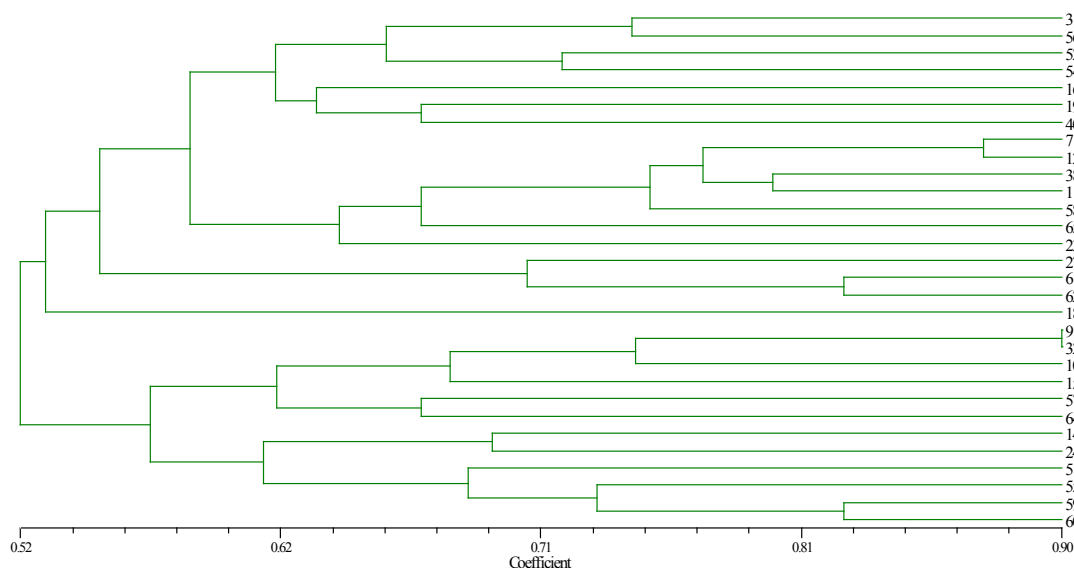
Nhóm I với các giống được mã hóa: 3, 56, 52, 54 tương ứng là các giống: ROC 26, K93-207, KU60-2, Cp63-360 với mức tương đồng từ khoảng 0,72 đến 0,75. Trong đó, tương quan di truyền của chúng khá gần nhau khi hệ số di truyền giữa ROC16 và K93-207 là 0,75 còn giữa KU60-2 và Cp63-360 cũng là 0,72.

Nhóm II: gồm 03 giống được mã hóa 16, 19, 40 tương ứng là các giống ROC 23, KU00-1-61, Co475

có ROC23 ở mức tương đồng 0,63; KU00-1-61 và Co475 có hệ số tương quan di truyền khoảng 0,67.

Nhóm III: gồm hai nhóm phụ 1 và 2: Nhóm phụ 1: có thể tách thành 4 nhóm nhỏ với các giống được ký hiệu lần lượt là 7, 12, 38, 11, 58, 65 tương ứng với các giống K95-283; K95-84; C85-284; Co740; K90-77 và CR74-250. Trong số đó, hai giống K95-283; K95-84 có hệ số tương đồng khá cao đạt 0,87; hai giống C85-284; Co740 cũng đạt mức 0,8 tương đồng về di truyền. Trong khi đó, hệ số tương đồng của hai giống còn lại K90-77 và CR74-250 chỉ đạt lần lượt tương ứng là 0,75 và 0,67. Nhóm phụ 2: với duy nhất ký hiệu mã hóa là 23 (ROC16) ở mức tương đồng 0,64.

Nhóm IV: gồm các giống ký hiệu 27, 61, 62 tương ứng với Suphanburi 7 có mức tương đồng 0,7 và KPS01-25 và KU60-3 đạt mức tương đồng 0,82.



Hình 2. Phân nhóm di truyền của 30 giống mía bố, mẹ dựa trên phân tích ADN với 45 chỉ thị phân tử SSR

Nhóm V: Viên Lâm 2 với ký hiệu mã hóa 18 ở mức tương đồng di truyền là 0,52.

Nhóm VI: có 4 giống được mã hóa: 9, 32, 10, 15 tương ứng là giống C90-501 và K88-92 có mức tương đồng cao nhất đạt tới 0,90; Co775 mức tương đồng 0,74 và ROC 27 có hệ số tương đồng 0,67

Nhóm VII: trong nhóm này có sự hiện diện của hai giống K99-82 mang ký hiệu 57 và C1324-74 được ký hiệu là 64 đạt mức tương đồng 0,67 về mặt di truyền.

Nhóm VIII: gồm 2 giống 14 và 24 tương ứng của 2 giống K88-200 và ROC18 có hệ số tương đồng di truyền là 0,69.

Nhóm IX: 4 giống được mã hóa 51, 55, 59 và 60 tương ứng với các giống ROC1; K2000; VN85-1427 và KU88-24. Hai giống VN85-1427 và KU88-24 đạt mức 0,82 tương đồng về di truyền trong khi đó K2000 đạt mức 0,73 và ROC1 ở mức 0,68.

3.3. Quan hệ di truyền giữa các dòng mía trong cặp lai nghiên cứu

Bên cạnh nhiệm vụ nghiên cứu mối quan hệ di truyền giữa các giống mía nghiên cứu, tiến hành kiểm tra mức tương đồng giữa các cây con lai của từng cặp lai, cụ thể trong cặp lai 64: cây mẹ K95-283 × cây bố Co740 với 19 cây con lai.

Sử dụng 11 cặp môi: SCB 271, SCB 299, SCB 272, SCB 324, SCB 343, SCB 276, SCB 275, SCB 204, SCB 281, SCB 285 và SCB 329 để đánh giá các con lai.

Theo sơ đồ quan hệ di truyền được phân tích trong 30 giống mía, cây mẹ K95-283 × cây bố Co740 cho thấy cả hai bố mẹ đều thuộc nhóm III, nhóm phụ 1 tuy nhiên nguồn gốc xuất xứ của cây mẹ K95-283 có nguồn gốc từ Thái Lan, cây bố Co740 có nguồn gốc từ Ấn Độ do đó không thể xảy ra trường hợp lai gần. Cặp lai này có số lượng cây con lai khá lớn với 19 cây con lai. Nếu xét tại mức tương đồng di truyền là 0,76 thì có thể chia thành 5 nhóm như sau:

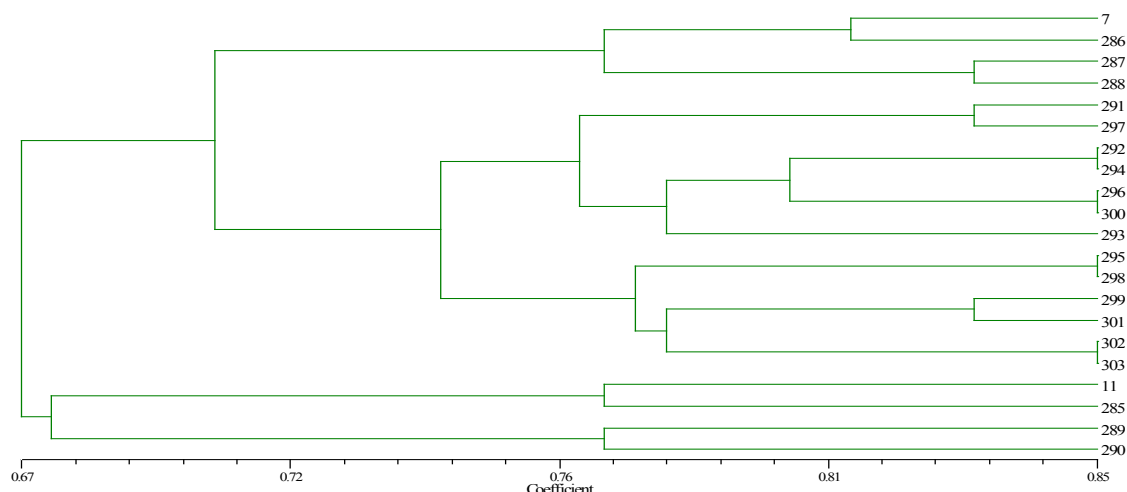
Nhóm thứ 1: bao gồm 2 nhánh, trong đó nhánh phụ 1: cây mẹ K95-283 và cây con lai 286 (64-2) ở mức tương đồng 0,81; nhánh phụ 2: cây con lai 287 (64-3) và cây con lai 288 (64-4) có hệ số tương quan di truyền khoảng 0,83.

Nhóm thứ 2: bao gồm 3 nhánh phụ, trong đó nhánh phụ thứ nhất gồm: cây con lai 291 (64-7) và cây con lai 297 (64-13) ở mức tương đồng 0,83; nhánh phụ thứ hai gồm cây con lai 292 (64-8), 294 (64-10), 296 (64-12), 300 (64-17) có hệ số tương quan di truyền 0,85; nhánh phụ thứ 3 chỉ có cây con lai 293 (64-9).

Nhóm thứ 3: gồm ba nhánh phụ, nhánh phụ thứ nhất cây con lai 295 (64-11) và 298 (64-14) ở mức tương đồng di truyền 0,85; nhánh phụ thứ hai gồm cây con lai 299 (64-15), 301 (64-17) và nhánh phụ thứ ba gồm cây con lai 302 (64-18), 303 (64-19) ở mức tương đồng di truyền 0,85.

Nhóm thứ 4: cây bố Co740 và con lai 285 (64-1) đạt mức tương đồng về di truyền 0,77.

Nhóm thứ 5: gồm cây con lai có ký hiệu 289 (64-5) và 290 (64-6) có mức tương đồng khoảng 0,77.



Hình 3. Biểu đồ quan hệ di truyền giữa bố mẹ và con lai cặp lai số 64 (cây mẹ K95-283 × cây bố Co740)

Qua kết quả lai tạo của cặp lai 64 cho thấy con lai có ký hiệu 286 (64-2), 287 (64-3) và cây con lai 288 (64-4) mang đặc tính di truyền cao của cây mẹ K95-283, có khả năng xảy ra trường hợp cây con lai 286

(64-2) ở cùng mức tương đồng 0,81 với cây mẹ là hạt lai tự thụ. 16 cây con lai khác biệt so với bố bao gồm: 291 (64-7), 297 (64-13), 292 (64-8), 294 (64-10), 296 (64-12), 300 (64-17), 293 (64-9), 295 (64-11),

298 (64-14), 299 (64-15), 301 (64-17), 302 (64-18), 303 (64-19). Tương tự có thể xảy ra cây bố Co740 và con lai 285 (64-1) đạt mức tương đồng về di truyền 0,77. Chỉ có 3 cây con lai khác biệt so với mẹ, mang thông tin di truyền của cây bố: cây con lai 285 (64-1), 289 (64-5) và 290 (64-6).

IV. KẾT LUẬN

- Các giống mía tham gia trong thí nghiệm có nguồn gốc từ các nước khác nhau, mức độ đa dạng di truyền cao, có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,52 - 0,90. Hệ số tương đồng di truyền phản ánh mức độ đa dạng của quỹ gen mía, đây cũng là cơ sở quan trọng hàng đầu trong việc tạo ra ưu thế lai thông qua lai xa (lai giữa các bố mẹ có hệ số tương đồng di truyền cách xa nhau).

- Hệ số tương đồng di truyền của các cây con lai trong cặp lai số 64 dao động từ 0,67 đến 0,85. Điều này chứng tỏ đa số cây con lai có mối quan hệ tương đồng về di truyền khá cao giữa bố, mẹ và cây con lai với nhau, ngoài ra có khả năng cây con lai 285 (64-1) và 286 (64-2) có mức tương đồng về di truyền 0,77 và 0,81 tương đương với cây bố và cây mẹ như vậy con lai 285 (64-1) và 286 (64-2) là tự thụ. Điều này có ý nghĩa to lớn đối với vật liệu cây con lai, hệ số tương đồng di truyền giúp nhận ra cây con lai thực thụ (không phải là cây tự thụ) thông qua kiểu gen, giúp rút ngắn thời gian, giảm kinh phí và đem lại hiệu quả cao trong bước sơ tuyển cây con lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Trữ, Nguyễn Đức Thành, Hồ Hữu Nhị, Lê Thị Bích Thủy**, 2012. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền một số giống mía trong tập đoàn ở Việt Nam và chọn lọc chỉ thị SSR nhận biết dòng giống có hàm lượng đường cao. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 50 (2) (2012): 211-218.
- Ngô Thị Hồng Tươi, Phạm Văn Cường, Nguyễn Văn Hoan**, 2014. Phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống lúa cẩm bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12 (4) (2014): 485-494.
- DeWoody JA, Honeycutt RL, Skow LC**, 1995. Microsatellite markers in white-tailed deer. *J. Hered.* 86 (1995): 317-319.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations, Statistics Division (FAOSTAT)**, 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Saghai-Marooof, MA, Soliman K, Jorgensen RA and Allard RW**, 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 (1984): 8014-8019.
- Thiago G Marconi, Estela A Cost, Hercilia RCAN Miranda, Melina C Mancini, Claudio B Cardoso-Silva, Karine M Oliveira, Luciana R Pinto, Marcelo Mollinari, Antonio AF Garcia, Anete P Souza**, 2011. Functional markers for gene mapping and genetic diversity studies in sugarcane. *BMC Research Notes* 2011, 4: 264.
- Weir, B.S.**, 1996. Genetic data analysis: Methods for discrete population genetic data. *Sunderlands: Sinauer Associates* (1996): 337-342.

Genetic diversity evaluation of hybrid clones and sugarcane varieties by SSR markers

Than Thi Thu Hanh, Nguyen Duc Quang,
Le Quang Tuyen, Nguyen Chuyen Thuan

Abstract

The experiment aimed to analyze the genetic diversity of 30 local accessions of sugarcane based on the presence and polymorphism level of SSR molecular markers. 32 of 45 SSR markers used on this study showed totally 170 alleles, equivalence to a number of 3.18 alleles per locus. The studied sugarcane varieties were highly diverse with genetic coefficient from 0.52 to 0.90. The study helped to recognize true hybrids (not self-pollination plants) by genotypes. Genetic coefficients of hybrids derived from crossing pairs 64 ranged from 0.67 to 0.85. This proves that the majority of crossing plants have parents with highly genetic similarity. Additionally, it is possible that hybrid clones 285 (64-1) and 286 (64- 2) have genetic similarity of 0.77 and 0.81 with that of the parents is self-pollination phenomena. This study provide important information for hybrid materials which helps to shorten time, reduce cost and bring high efficiency in the pre-selection of sugarcane hybrids.

Keywords: Sugarcane, genetic diversity, SSR markers

Ngày nhận bài: 21/3/2019

Ngày phản biện: 1/4/2019

Người phản biện: TS. Vũ Ngọc Thắng

Ngày duyệt đăng: 15/4/2019