

(PE/giấy). Sản phẩm có thời hạn sử dụng trên 6 tháng.

#### IV. KẾT LUẬN

Đã xác định được quy trình chế biến trà túi lọc từ lá dâu tằm Việt Nam với các thông số kỹ thuật của các công đoạn chính như sau:

- Để tạo ra nguyên liệu có hàm lượng DNJ cao cần bổ sung lượng DNJ từ dịch cao lá dâu có nồng độ 35<sup>0</sup>Bx với tỷ lệ lá/dịch cao là 1:2.

- Độ ẩm của lá dâu khô thích hợp cho chế biến trà túi lọc là 6 - 7%.

- Để tạo cho sản phẩm có chất lượng cảm quan tốt cần bổ sung hương dâu và đường cỏ ngọt với các tỷ lệ tương ứng là: 0,25 và 0,015%, đóng gói bằng loại giấy lọc có độ dày 0,074mm.

- Bảo quản sản phẩm trà túi lọc trong bao bì 2 lớp PE/giấy.

chỉ số lipid và trạng thái chống oxy hóa trong máu ở chuột nhắt trắng gây rối loạn lipid máu và đái tháo đường thực nghiệm, Tạp chí Y học Thực hành, số 10.

3. Bondada Andalulua N.Ch. (2003). *Antioxidant role of mulberry leaves in streptozotocin-diabetic rats*. Elsevier, Clinica Chimica Acta.
4. Cockram C.S., T.Van Binh, Gaela G. (2007), *Diabetes prevention and control in Viet Nam: Demonstration project in two provinces*, Global Report.
5. Kimura T., Nagakawa K., Kubota H., Kojima Y. Goto, Y. (2007), *Food grade mulberry powder enriched with 1-Deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans*, Journal of Agricultural and Food chemistry. 55, 5869-5874.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2002), *Dược điển Việt Nam*, Hà Nội, Dâu (lá).
2. Nguyễn Quang Trung (2007), *Đánh giá tác dụng bột chiết lá dâu trên các*

Ngày nhận bài: 20/5/2013

Người phản biện: TS. Trịnh Khắc Quang,  
ngày 10/6/2013

Ngày duyệt đăng: 5/7/2013

### **ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ MẪU GIỐNG LÚA THU THẬP TẠI LÀO BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR**

Nguyễn Thanh Nhung, Nguyễn Thị Kim Dung,  
Tạ Hồng Lĩnh, Lê Hùng Lĩnh

#### **SUMMARY**

#### **Evaluation of genetic diversity of rice samples collected from Laos by using SSR marker**

Genetic diversity is the diversity of gene segments between individuals of the same species and between different species; the diversity of genes can be inherited in a population or between populations. This study the genetic diversity and DNA fingerprinting of rice samples collected from Laos PDR were elucidated by using 22 SSR markers. There were ten SSR markers show that polymorphism and twelve markers was monomorphic. A total of 41 alleles were detected at 10 SSR marker loci with average 4,1 alleles per locus. With the genetic similarity coefficient of 0,79

the rice samples were grouped into 4 main clusters. As a result, the varieties VL27 and VL33 of the varieties were shown very similar to each other.

**Keywords:** Genetic diversity, rice, Laos, SSR marker

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lào là một trong những nước có tài nguyên di truyền lúa phong phú và đa dạng trên thế giới. Các nghiên cứu cho thấy Lào có sự đa dạng cao cả về lúa trồng và lúa hoang dại (Yoshue Kuroda et al. 2006). Công tác nghiên cứu đa dạng di truyền những nguồn gen này có ý nghĩa rất quan trọng trong việc lưu giữ, bảo tồn nguồn gen lúa phục vụ công tác chọn giống. Từ những kết quả đánh giá đa dạng di truyền, các nhà khoa học có thể quy hoạch và bảo tồn các nguồn gen quý nhằm duy trì đa dạng sinh học hoặc hỗ trợ xác định gen mục tiêu hoặc quá trình lai- chọn tạo giống thông qua lựa chọn các cặp bố mẹ trong phép lai. Trên nhiều đối tượng thực vật, nghiên cứu đa dạng di truyền đã được thực hiện từ khá lâu với nhiều phương pháp tiếp cận khác nhau, mỗi phương pháp cung cấp cho người sử dụng các loại thông tin khác nhau. Việc lựa chọn phương pháp đánh giá phụ thuộc vào mục đích của người nghiên cứu.

Ngày nay, chỉ thị phân tử đã được sử dụng rộng rãi như một công cụ hữu hiệu trong nghiên cứu di truyền. Trong số các chỉ thị ADN thì chỉ thị phân tử SSR (Simple Sequence Repeats) được sử dụng rộng rãi và hiệu quả trong nghiên cứu cấu trúc di truyền lúa trồng *O. sativa*. SSR là

những đoạn ADN lặp lại một cách có trật tự, gồm những đơn vị có chiều dài từ 1 - 6 nucleotide lặp lại (hay kiểu lặp lại ngắn) được gọi là Microsatellites. SSR có trong khắp hệ gen của sinh vật. Bản chất đa hình của Microsatellites có thể được sinh ra do sự nhân bội từ ADN tổng số của hệ gen nhờ việc sử dụng 2 đoạn mồi bổ sung với trình tự gần kề hai đầu đoạn lặp lại. Giá trị của SSR ở chỗ nó sinh ra đa hình từ nhiều vùng tương ứng, bao phủ rộng khắp hệ gen và có bản chất đồng trội, nên dễ dàng phát hiện bằng phản ứng PCR. Trong nghiên cứu đã sử dụng chỉ thị SSR để đánh giá đa dạng di truyền một số mẫu giống lúa thu thập tại Lào với mục đích tìm mối quan hệ di truyền giữa các giống.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Vật liệu nghiên cứu

- 33 mẫu giống lúa thu thập từ Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào và giống Khang dân được trồng phổ biến ở Việt Nam (bảng 1).

- 22 chỉ thị phân tử SSR được lựa chọn trên vị trí các nhiễm sắc thể (NST) khác nhau (bảng 2).

Bảng 1. Danh sách các giống sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên giống/ Ký hiệu	Nguồn	STT	Tên giống/ Ký hiệu	Nguồn
1	KD	Việt Nam	18	VL17	Lào
2	VL1	Lào	19	VL18	Lào
3	VL2	Lào	20	VL19	Lào
4	VL3	Lào	21	VL20	Lào

5	VL4	Lào	22	VL21	Lào
6	VL5	Lào	23	KhuNang/VL22	Lào
7	VL6	Lào	24	VL23	Lào
8	Borylchen Xuy/VL7	Lào	25	VL24	Lào
9	VL8	Lào	26	VL25	Lào
10	Boylchan Xuy/VL9	Lào	27	VL26	Lào
11	VL10	Lào	28	VL27	Lào
12	Nam Thong/VL11	Lào	29	VL28	Lào
13	VL12	Lào	30	VL29	Lào
14	VL13	Lào	31	Khau Nèo/VL30	Lào
15	Japon/VL14	Lào	32	VL31	Lào
16	VL15	Lào	33	VL32	Lào
17	VL16	Lào	34	VL33	Lào

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

TT	Tên chỉ thị SSR	NST	TT	Tên chỉ thị SSR	NST
1	RM10711	1	12	RM6329	3
2	RM3627	1	13	RM225	6
3	RM10773	1	14	RM427	7
4	RM493	1	15	RM25	8
5	RM10772	1	16	RM316	9
6	RM10694	1	17	RM215	9
7	RM7075	1	18	RM7175	9
8	RM562	1	19	RM171	10
9	RM10852	1	20	RM3137	11
10	RM3865	2	21	RM491	12
11	RM6247	2	22	RM17	12

**2. Phương pháp nghiên cứu**

*a/ Phương pháp phân tích đa hình di truyền bằng chỉ thị phân tử SSR.*

- Phương pháp tách chiết ADN tổng số theo phương pháp CTAB của Doyle và cs. có cải tiến (1987).

- Phương pháp PCR với các mồi SSR theo phương pháp của Thomson và cs (2008).

- Phương pháp phân tích băng ADN bằng điện di trên gel polyacrylamid.

*b/ Phương pháp xử lý số liệu*

- Số liệu nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm NTSYS pc2.1 để xây dựng ma trận tương đồng biểu hiện cho mối quan hệ gần xa về mặt di truyền và sơ đồ hình cây biểu diễn mối liên kết di truyền giữa các mẫu nghiên cứu.

- Hệ số đa dạng gen hay giá trị thông tin đa hình giữa các marker (PIC-Polymorphic Information Content) được tính theo công thức của Weir (1990):

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

Trong đó:  $P_{ij}$  là tần suất alen thứ  $i$  với marker thứ  $j$

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 1. Kết quả phân tích các chỉ thị SSR cho đa hình

Kết quả điện di sản phẩm PCR của 33 mẫu giống lúa của Lào và giống Khang dân 18 bằng 22 chỉ thị SSR cho thấy có 10 chỉ thị xuất hiện băng đa hình (RM17, RM215, RM10711, RM225, RM3865, RM6247, RM7075, RM562, RM6329, RM171) trong đó 3 chỉ thị cho 2 alen, 1 chỉ thị cho 3 alen, 2 chỉ thị cho 5 alen, 2 chỉ thị cho 6 alen và 2 chỉ thị cho 7 alen thu được tổng số 57 alen và số băng đa hình là 41 trên 10 locus

với giá trị trung bình 4,1 alen trên một locus chiếm 41,13%. 12 chỉ thị phân tử còn lại cho duy nhất 1 alen đơn hình (bảng 3).

Hệ số đa dạng di truyền PIC được coi là thước đo tính đa hình của các alen ở từng locus. Số liệu ở bảng 3 cho thấy giá trị PIC của 22 chỉ thị phân tử thay đổi từ 0,37 (RM215) đến 0,96 (RM171). Giá trị PIC bằng 0 là tại vị trí locus chỉ có 1 alen đơn hình. Theo DeWoody và cs., (1995), các chỉ thị SSR có giá trị PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của chỉ thị đó. Hệ số đa hình di truyền (PIC) trung bình của 22 chỉ thị SSR trong nghiên cứu này chỉ đạt 0,29 cho thấy mức độ đa dạng gen tồn tại trong các mẫu giống lúa của Lào nghiên cứu chỉ ở mức thấp.

Bảng 3. Số băng và giá trị PIC của các chỉ thị SSR phân tích với 34 mẫu giống lúa dùng trong nghiên cứu

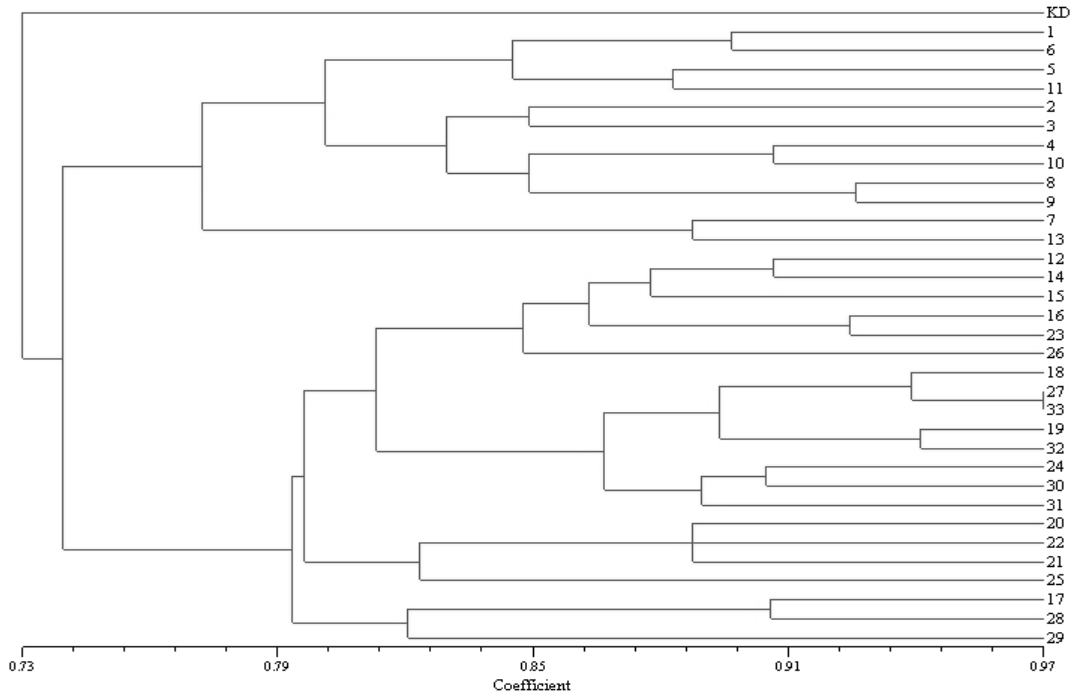
TT	Tên chỉ thị	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỷ lệ số băng đa hình (%)	Giá trị PIC
1	RM17	5	5	100	0,95
2	RM215	7	5	71,43	0,37
3	RM10711	6	6	100	0,00
4	RM3627	1	0	0	0,00
5	RM225	5	5	100	0,89
6	RM3865	3	3	100	0,64
7	RM6247	2	1	50	0,49
8	RM7075	2	2	100	0,74
9	RM562	2	2	100	0,48
10	RM6329	7	7	100	0,92
11	RM171	6	5	83,33	0,96
12	RM316	1	0	0	0,00
13	RM427	1	0	0	0,00
14	RM7175	1	0	0	0,00
15	RM10773	1	0	0	0,00
16	RM3137	1	0	0	0,00

17	RM25	1	0	0	0,00
18	RM493	1	0	0	0,00
19	RM10772	1	0	0	0,00
20	RM10694	1	0	0	0,00
21	RM491	1	0	0	0,00
22	RM10852	1	0	0	0,00
	Tổng	57	41	TB: 41,13	TB: 0,29

**2. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền theo nhóm**

Số liệu thu được từ điện di sản phẩm PCR của 22 chỉ thị phân tử SSR được

thống kê và phân tích bằng phần mềm NTSYS pc 2.1. Từ đó thiết lập được sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các giống (hình 1) và bảng ma trận tương đồng di truyền.



*Hình 1: Sơ đồ hình cây của 33 mẫu giống lúa của Lào và Khang dân 18 được xác định bằng chỉ thị phân tử SSR*

Kết quả phân tích cho thấy giống Khang dân 18 có mối quan hệ di truyền tương đối xa với tập đoàn giống lúa của Lào. Với hệ số tương đồng (coefficient) là 0,79 đã phân chia nguồn vật liệu thành 4 nhóm chính. Nhóm I là Khang dân 18; Nhóm II gồm 10

dòng/giống có ý hiệu là (VL)1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11; Nhóm III gồm 2 dòng/giống: (VL)7,13; Nhóm IV gồm 21 dòng/giống còn lại. Trong nhóm IV 2 mẫu giống VL27 và VL33 được xác định là gần nhau nhất với mức độ tương đồng 97%

#### IV. KẾT LUẬN

1. Trong số 22 chỉ thị SSR được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền trên 33 mẫu giống thu thập từ Lào có 10 chỉ thị cho kết quả đa hình và thu được 57 alen. Giá trị hệ số đa dạng gen (PIC) thay đổi trong khoảng từ 0 đến 0,96 với giá trị trung bình là 0,29 trên mỗi chỉ thị phân tử.

2. Mẫu giống có ký hiệu VL27 và VL33 (trong tổng số mẫu giống lúa của Lào thu thập được) có hệ số tương đồng di truyền 0,97 nên được xem xét để tránh trùng lặp dựa trên các chỉ tiêu theo dõi thêm về kiểu hình.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. DeWoody J. A., R. L. Honeycutt, L. C. Skow (1995). *Microsatellite markers in white-tailed deer*. J. Hered 86, 317 - 319.
2. Doyle JJ, Doyle JL (1987): *A rapid DNA isolation procedure for small*

*quantities of fresh leaf tissue*. Phytochem Bull 19: 11-15

3. Garris J, Amanda, Thomas H, Tai, Jason Cburn, Steve Kresovich and Susan McCouch (2005), *Genetic Structure and Diversity in Oryza sativa* L. Genetics (169), pp. 1631-1638.
4. Giarrocco LE, Marassib MA and Salerno GL (2007), *Assessment of the Genetic Diversity in Argentine Rice Cultivars with SSR Markers*, Crop Science, (47), pp. 853-858.
5. Jalaluddin M, Nakai H and Yamamoto T (2007), *Genetic diversity and DNA fingerprinting of some modern Indica and Japonica rice*, Breed and Genet. SABRAO 39 (1), pp. 43-52.

Ngày nhận bài: 10/4/2013

Người phản biện: GS. TSKH. Trần Duy Quý,  
ngày 15/4/2013

Ngày duyệt đăng: 5/7/2013

## NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN VIRUS GÂY BỆNH VÀNG LÙN (RGSV) VÀ LÙN XOẮN LÁ (RRSV) HẠI LÚA Ở VIỆT NAM

Tạ Hoàng Anh, Ngô Vĩnh Viễn,  
Nguyễn Doãn Phương, Trần Thị Thu Huyền,  
Nguyễn Văn Chung, Nguyễn Thanh Đức,  
Sandrine Cause, Eugénie Ébrard.

#### SUMMARY

#### Molecular diversity of Rice grassy stunt virus and *Rice ragged stunt virus* in Vietnam

Totally 68 and 55 partial sequences of target genes (P3, Pc3, P5 and Pc5 for RGSV; P1, P3 and P9 for RRSV) from 17 and 21 isolates of *Rice grassy stunt virus* and *Rice ragged stunt virus*, respectively, were selected and analyzed for their genetic diversities. The diversities of both RGSV and RRSV are very low though different genes diverse at different levels. Phylogenetic trees reconstructed from different genes on the same RNA segment of RGSV are similar in clustering structures while they are different on different RNA segments. The too low genetic diversities of all