

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN DÒNG/GIỐNG MĂNG CẦU XIÊM VÀ CÁC LOÀI KHÁC THUỘC HỌ MĂNG CẦU Ở CÁC TỈNH PHÍA NAM BẮNG CHỈ THỊ ISSR

Đinh Thị Thu Thảo¹, Hồ Mỹ Tú¹, Bùi Thị Mỹ Bình¹, Nguyễn Ngọc Thi^{1*}

TÓM TẮT

Đánh giá đa dạng di truyền 25 dòng/giống măng cầu xiêm và 07 dòng/giống thuộc 04 loài khác cùng họ Măng cầu được thực hiện bởi 41 môi/chỉ thị ISSRs. Kết quả cho thấy, có 39/41 môi khuếch đại và nhân bản được 256 băng DNA, trong đó có 228 băng đa hình (đạt trung bình 88,23%). Trung bình giá trị thông tin đa hình (PIC) của các môi là 0,32. Chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon (Ia) của từng môi ISSR dao động thấp nhất từ 0,13 (môi 885) đến cao nhất là 0,61 (môi 812) và có giá trị trung bình là 0,34. Biểu đồ hình cây của 32 mẫu thể hiện mối quan hệ di truyền chia làm 5 nhóm chính có hệ số tương đồng di truyền từ 0,63 đến 0,96 (trung bình là 0,78).

Từ khóa: Măng cầu xiêm, đa dạng di truyền, chỉ thị ISSR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) có xuất xứ vùng Nam Mỹ và thuộc họ Măng cầu (Annonaceae). Cây cao 5 - 10 m, thân thẳng, tán cây trưởng thành hình cầu. Lá đơn, mọc luân phiên, dai, hình trứng thuôn đến elíp, mặt trên lá màu xanh và bóng, mặt dưới xanh nhạt. Hoa to, cuống hoa màu xanh, cánh hoa màu vàng, nhị đực rất nhiều. Quả nặng đến 7 kg, có hình bầu dục, hình trái tim, quả kép gồm nhiều múi thuôn dài dính kết vào cuống, vỏ quả có gai nhọn và ngắn, thịt quả màu trắng, có xơ và nhiều nước, vị quả ngọt đến chua; quả có nhiều hạt, vỏ hạt bóng, màu nâu sậm hoặc đen, hình thuôn dài (Orwa *et al.*, 2009).

Ở đồng bằng sông Cửu Long, cây măng cầu xiêm (MCX) và bình bát được trồng chủ yếu ở vùng đất trũng, phèn hay mặn tại một số tỉnh/thành như: Tiền Giang, Hậu Giang, Sóc Trăng, Cần Thơ, Đồng Tháp, Bến Tre,... và trái ngược với cây măng cầu dai (na) hay loài lai và cây nê thì cần đất cao, thoát nước tốt. Lợi nhuận kinh tế từ trồng cây măng cầu xiêm cao, gấp 2 - 3 lần so với trồng lúa, giúp nâng cao thu nhập cho người dân.

Nhân giống MCX sử dụng phổ biến kỹ thuật ghép mắt hay ghép cành trên gốc bình bát với đa số vật liệu ghép không được chọn lọc và không có nguồn gốc rõ ràng. Thêm vào đó, nhà vườn cũng áp dụng nhân giống từ hạt dẫn đến các cây/vườn thường không đồng đều do tỷ lệ dị biệt trồng từ hạt thường rất lớn (Escobar & Sanchez, 1993), điều này đã phát sinh nhiều dòng/giống MCX khác nhau.

Tuy nhiên, vẫn chưa có báo cáo phân biệt rõ dòng/giống theo kiểu hình (dạng cây, lá), ngoại trừ một số tính trạng khác biệt dễ nhận biết đã được chia thành ba nhóm: MCX ngọt, MCX chua và MCX Thái (Nguyễn Ngọc Thi, 2019). Ngoài ra, cây MCX ở Việt Nam cũng chưa được nghiên cứu sâu về sự khác biệt ở mức độ phân tử, thông qua ứng dụng các chỉ thị DNA để nghiên cứu đa dạng di truyền và chọn lọc giống cây trồng (Nguyễn Đức Thành, 2014).

Trên thế giới, các chỉ thị phân tử được ứng dụng trong đánh giá sự đa dạng di truyền trên cây MCX đã được báo cáo như: AFLP, RAPD, SSR và ISSR. Trong đó, chỉ thị ISSR đang chiếm ưu thế so với các kỹ thuật phân tử khác trên cây MCX. Từ những thực trạng trên, công tác đánh giá sự đa dạng di truyền các dòng/giống MCX thu thập ứng dụng chỉ thị ISSR cùng với 4 loài khác thuộc họ măng cầu được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu: Tổng số 25 giống/dòng MCX (*A. muricata* L.), 1 dòng nê (*A. reticulata* L.), 1 dòng bình bát (*A. glabra* L.), 2 dòng na (*A. squamosa* L.) và 3 dòng/giống lai (*A. squamosa* × *A. cherimola*) thuộc họ Măng cầu. Trong đó, nguồn gốc các dòng NaTh, NaHH, Thai1, Thai2, Thai3 và Thai4 từ Thái Lan, NaSR từ Đài Loan và còn lại là tại địa phương. Danh sách các giống/dòng sử dụng cho nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

¹ Viện Cây ăn quả miền Nam

* Tác giả liên hệ, email: thisofri@gmail.com

Bảng 1. Danh sách 32 giống/dòng thuộc loài MCX và 4 loài khác cùng họ Mãng cầu

STT	Mã số	Nơi thu thập	Tọa độ	Đặc tính chính
I	Loài măng cầu xiêm: <i>Annona muricata</i> L.			
1	TrC1	Ấp Tân Thạnh, xã Tân Phú, huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang	10°16'49.3"N 106°36'58.9"E ± 11 m	Chua
2	TrC2			Chua
3	TrC4			Chua
4	TrN1			Ngọt khá
5	TrT1			Chua
6	Thai1	Ấp Mỹ Thuận, xã Thạnh Mỹ, huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang	10°33'22.2"N 106°13'15.2"E ± 7 m	Ngọt chua
7	Thai2			Ngọt chua
8	Thai3			Ngọt chua
9	Thai4			Ngọt chua
10	DN	Ấp Gành, xã Phú Đông, huyện, Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang	10°16'11.9"N 106°41'21.6"E	Ngọt nhiều
11	BC1	Ấp Vinh Quới, xã Long Vĩnh, huyện Gò Công Tây, tỉnh Tiền Giang	10°18'28.7"N 106°36'23.4"E ± 7 m	Chua
12	BC2			Chua
13	BN1			Ngọt khá
14	PN2	Ấp Bình Phú, xã Bình Phục Nhứt, huyện Chợ Gạo, tỉnh Tiền Giang	10°22'35.3"N 106°31'26.7"E ± 6 m	Ngọt nhiều
15	P13			Chua ngọt
16	PE			Chua nhiều
17	Hue	Ấp 2, xã Tân Lập 1, huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang	10°27'52.1"N 106°16'28.1"E	Chua, gai ngắn
18	MCLN	Ấp Tân Bình, xã Tân Thới, huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang	10°17'16.0"N 106°32'09.7"E	Chua, quả nhỏ
19	NhuC2	Ấp Gành, xã Phú Đông, huyện Tân Phú Đông, tỉnh Tiền Giang	10°16'12.5"N 106°41'19.2"E ± 11 m	Chua nhiều
20	NhuGD			Chua nhiều
21	NhuC			Chua nhiều
22	NhuD			Chua nhiều
23	NhuF			Chua nhiều
24	MCC	Ấp 2, xã Thuận Hòa, huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang	9°36'26" N 105°34'9" E ± 6 m	Chua ngọt
25	MCN			Ngọt nhiều
II	Loài Nê: <i>A. reticulata</i> L.			
	NE	Ấp Đông, xã Long Định, huyện Châu Thành, Tiền Giang	10°40'02" N 106°27'81" E	Ngọt
III	Loài Bình bát: <i>A. glabra</i> L.			
	BB	Ấp Đông, xã Long Định, huyện Châu Thành, Tiền Giang	10°39'83"N 106°27'99"E	Chua ngọt
IV	Loài Mãng cầu dai: <i>A. squamosa</i> L			
	Na1	Ấp Đông, xã Long Định, huyện Châu Thành, Tiền Giang	10°39'83"N 106°27'99"E	Ngọt, đọt xanh
	Na2			Ngọt, đọt tím
V	Loài lai: <i>A. squamosa</i> × <i>A. cherimola</i>			
	NaTh	Ấp Đông, xã Long Định, huyện Châu Thành, Tiền Giang	10°40'09"N 106°27'82"E ± 25 m	Ngọt, quả khá to
	NaSR			Ngọt, quả to
	NaHH			Ngọt, quả khá to

- Chi thị phân tử ISSRs: Lựa chọn và tổng hợp 41 mỗi ISSRs công bố trên các tạp chí sử dụng cho họ Mãng cầu/MCX. Danh sách được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Danh sách 41 mỗi ISSRs sử dụng trong nghiên cứu

STT	Chỉ thị ISSR	Trình tự ký tự (5'-3')	Nhiệt độ gắn mỗi (°C)	Kích thước băng (bp)
1	UBC812*	GAGAGAGAGAG GAGAA	50	500 - 1.100
2	UBC841Y	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52	35 - 2.000
3	UBC841T	GAGAGAGAGAGAGAGACC	56	350 - 900
4	UBC841C	GAGAGAGAGAGAGAGATC	54	400- 1.600
5	UBC873	GACAGACAGACAGA A	48	300 - 2.300
6	UBC888	CACACACACACACA	42	300 - 2.000
7	ISSR7	AGAGAGAGAGAGAGAGT	50	28 - 1.200
8	ISSR9	AGAGAGAGAGAGAGAGG	52	200 - 2.000
9	ISSR12	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50	200 - 2.300
10	ISSR18	CACACACACACACACAG	52	430 - 1.800
11	ISSR24	TCTCTCTCTCTCTCG	52	450 - 1.500
12	ISSR25	ACACACACACACACT	50	430 - 1.800
13	878	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52	300 - 1.000
14	822	TCTCTCTCTCTCTCTCA	50	500 - 1.500
15	826	ACACACACACACACACC	52	500 - 1.500
16	886	CACACACACACACACAT	50	200 - 1.500
17	811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52	300 - 1.000
18	846	CACACACACACACAART	52	500 - 1.500
19	847	CACACACACACACACAA	50	300 - 2.000
20	885	ACACACACACACACACG	52	200 - 900
21	851	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50	600 - 1.500
22	812	ACACACACACACACACYG	54	200 - 1.600
23	825	ACACACACACACACACT	50	300 - 1.500
24	849	GTGTGTGTGTGTGTGTYA	52	200 - 1.600
25	834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	52	400 - 2.000
26	818	CACACACACACACACAG	52	300 - 1.500
27	835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	54	200 - 2.000
28	848	CACACACACACACACARG	54	200 - 1.000
29	821	GTGTGTGTGTGTGTGTT	50	1000 - 1.600
30	824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	52	400 - 1.500
31	803	ATATATATATATATATC	36	400 - 1.500
32	884	HBHAGAGAGAGAGAGGA	48	300 - 1.500
33	UBC 814	CTCTCTCTCTCTCTCTTG	54	641 - 3.053
34	UBC 815	CTCTCTCTCTCT CTCTG	52	982 - 2.930
35	17899A	CACACACACACAAG	42	507 - 2.942
36	17899B	CACACACACACAGT	42	715 - 2.515
37	HB14	CTCCTCCTCGC	38	439 - 2.000
38	17898B	CACACACACACAGT	42	333 - 5.542
39	UBC 824	TCTCTCTCTCTCTCTCG	52	433 - 2.000
40	A	CTCTCTCTCTCTCTTT	50	250 - 1.800
41	B	GTGTGTGTGTGTGTGTC	52	500 - 2.000

Ghi chú: Cột trình tự -B: (G,T), H (A,C,T), Y: (C,T) và R (A,G); Stt 1-6 (Rascoe et al., 2004) ; Stt 7-12 (Ahmad et al., 2010); Stt 13-32 (Lima et al., 2014) và Stt 33-39 (Macías, 2018). Stt 40-41: không rõ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu và tách chiết DNA tổng số

Thu thập mẫu: Mẫu lá của 25 giống/dòng MCX, nê, bình bát, na và loài lai được thu vào buổi sáng. Chọn lá trưởng thành, lá không có vết sâu bệnh. Sau khi thu thập, lá được đựng trong túi nylon có ghi tên dòng/giống và thời gian thu thập. Bảo quản túi nylon có lá trong thùng xốp lạnh và đem về phòng thí nghiệm của Viện Cây ăn quả miền Nam. Kế đến, các lá được rửa sạch và lau khô bằng cồn 70%. Tiến hành thực hiện ly trích DNA tổng số hoặc lưu trữ ở nhiệt độ -80°C cho giai đoạn tiếp theo.

Ly trích DNA tổng số theo quy trình của Doyle & Doyle (1990) và có hiệu chỉnh: Nghiền mịn mẫu bằng nitơ lỏng, kế đến cân 50 mg mẫu lá nghiền đưa vào trong ống tuýp và thêm vào 1.000 µL hỗn hợp CTAB 2% + 0,1% β-mercaptoethanol, ủ mẫu ở 65°C trong 45 phút. Tiếp tục thêm 700 µL hỗn hợp Chloroform: Isoamylalcohol (24:1) và lắc đều. Mẫu được ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút, phần dung dịch bên trên được chuyển sang tuýp mới. Tiếp tục bổ sung vào ống tuýp mới dung dịch Isopropanol lạnh theo tỷ lệ 1 : 1, lắc nhẹ và ly tâm 13.000 vòng/phút trong 10 phút. Sau khi ly tâm sẽ loại bỏ phần dung dịch bên trên và giữ lại phần tủa DNA. Mẫu DNA kết tủa được rửa 2 lần trong cồn 70%, sau đó DNA được để khô ở nhiệt độ phòng và hòa tan trong 50 µL TE (pH 8.0) hoặc nước cất vô trùng. Cuối cùng thêm 2 µL RNAase và ủ ở 37°C trong 1 giờ. DNA thu nhận được lưu trữ ở -20°C sử dụng trong thời gian tối đa 6 tháng. Định lượng và xác định độ tinh sạch DNA tổng số bằng máy đo NanoDrop.

2.2.2. Phản ứng PCR-ISSR

Một phản ứng PCR gồm: 12,5 µL Master mix 2X; 2,0 µL DNA; 2,0 µL Primer và 4,0 µL H₂O. Phản ứng PCR được thực hiện qua 35 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR như sau: 5 phút ở 94°C, 35 chu kỳ tiếp theo gồm 45 giây ở 94°C, 45 giây ở nhiệt độ bắt mỗi (Tm thay đổi tùy theo mỗi, mỗi khác nhau có nhiệt độ Tm khác nhau), 72°C trong 45 giây, sau đó ngưng phản ứng ở 72°C trong 10 phút và trữ ở 10°C (Lima *et al.*, 2014). Sản phẩm PCR được điện di trong 70 phút với cường độ dòng điện 100V trên gel agarose 2% trong dung dịch TBE 1X bằng bộ điện di. Nhuộm gel với dung dịch Gelred 1X, và chụp hình gel bằng máy chụp ảnh trên máy chiếu tia UV. Ghi nhận sự hiện diện của các băng được khuếch đại trên gel agarose 2% có thang DNA

1Kb (DNA ladder) để xác định giá trị bp của băng khuếch đại của mẫu.

2.2.3. Phân tích số liệu

Dựa vào phổ điện di trên gel, các băng đa hình được nhận diện bằng kết quả mã hóa dạng nhị phân, theo nguyên tắc: có băng khuếch đại là 1 và không có băng là 0. Kết quả được lập thành ma trận trên phần mềm Excel (định dạng theo các phần mềm phân tích).

Sử dụng phần mềm GenAlex 6.3 (Peakall & Smouse, 2006) để xác định khoảng cách di truyền, băng đơn hình hay đa hình, hàm lượng thông tin đa hình (PIC), chỉ số Shannon (Ia). Hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của mỗi chỉ thị được xác định theo công thức $PIC_i = 2f_i(1-f_i)$ trong đó: i là thứ tự locus được tính, f_i là tần số băng xuất hiện, $(1-f_i)$ là tần số băng không xuất hiện. Lập biểu đồ hình cây theo phương pháp của Nei và Li (1972) bằng phần mềm DarWin (Perrier *et al.*, 2003) và giá trị Bootstrap được thực hiện với số lần lặp lại 1.000 lần.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong 2 năm (2022 - 2023). 32 mẫu nghiên cứu thu thập tại các tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu, Hậu Giang, Bến Tre và Tiền Giang được lưu giữ trong nhà lưới của Viện Cây ăn quả miền Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

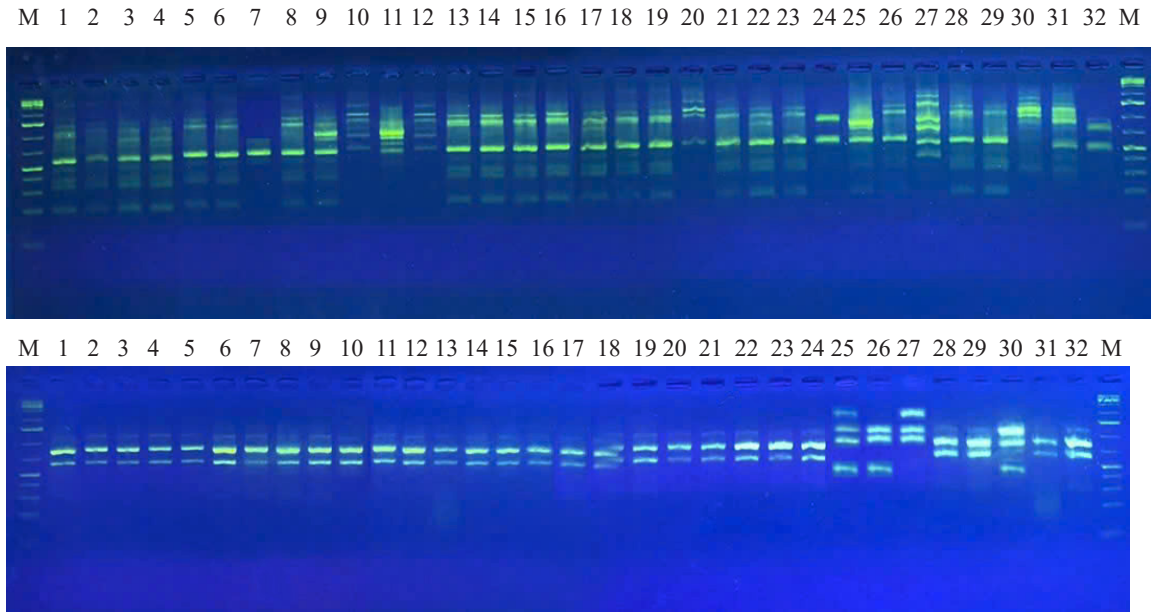
3.1. Thông tin đa dạng di truyền giống/dòng MCX và 4 loài khác cùng họ Măng cầu

Sản phẩm khuếch đại của 41 môi ISSR đã được sử dụng trong phản ứng PCR cho 32 mẫu được thể hiện ở bảng 3 và hình 1. Trong tổng số 41 môi sử dụng có 2/41 môi không khuếch đại được các băng hình (mỗi UBC888 và mỗi HB14). Tất cả 39/41 môi còn lại đều cho các băng đa hình, số băng được khuếch đại dao động 4 - 11 băng/môi, trung bình 6,53 băng/môi. Trong đó, môi 825 cho số băng khuếch đại cao nhất (11 băng) và các môi ISSR18, ISSR24, 849, UBC 824 và B có số băng khuếch đại ít nhất (4 băng). Kết quả này phần nào phản ánh có sự đa hình và tương tự như nghiên cứu của Lima và cộng sự (2014), đánh giá sự đa dạng di truyền của 25 giống và thể hệ con lai MCX sử dụng 30 môi ISSR, cho thấy các môi ISSR thể hiện tính đa hình và được sử dụng để xác định và phân biệt các thể hệ hiệu quả (số băng đa hình biến động từ 2 đến 11 băng).

Bảng 3. Tổng số băng, số băng đa và đồng hình, tỷ lệ băng đa hình, chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon (Ia) và giá trị PIC của 32 mẫu phân tích với 39 mỗi ISSRs

STT	Mỗi	Tổng số băng	Số băng đồng hình	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)	Ia	PIC
1	UBC812*	8	1	7	88	0,58	0,42
2	UBC841Y	7	0	7	100	0,52	0,42
3	UBC841T	7	1	6	86	0,40	0,14
4	UBC841C	5	0	5	100	0,26	0,47
5	UBC873	7	0	7	100	0,44	0,30
6	ISSR7	7	1	6	86	0,34	0,32
7	ISSR9	6	0	6	100	0,28	0,47
8	ISSR12	7	1	6	86	0,27	0,29
9	ISSR18	4	0	4	100	0,33	0,38
10	ISSR24	4	0	4	100	0,39	0,16
11	ISSR25	7	1	6	86	0,49	0,23
12	878	6	0	6	100	0,39	0,26
13	822	6	1	5	83	0,28	0,10
14	826	7	1	6	86	0,33	0,47
15	886	5	2	3	60	0,22	0,42
16	811	6	0	6	100	0,39	0,32
17	846	5	2	3	60	0,30	0,26
18	847	8	1	7	88	0,41	0,39
19	885	7	2	5	71	0,13	0,26
20	851	7	1	6	86	0,35	0,27
21	812	8	0	8	100	0,61	0,30
22	825	11	0	11	100	0,24	0,17
23	849	4	0	4	100	0,49	0,34
24	834	7	1	6	86	0,18	0,06
25	818	7	0	7	100	0,50	0,29
26	835	8	0	8	100	0,45	0,17
27	848	7	0	7	100	0,35	0,46
28	821	5	1	4	80	0,27	0,47
29	824	6	2	4	67	0,16	0,45
30	803	7	1	6	86	0,29	0,20
31	884	8	0	8	100	0,22	0,06
32	UBC 814	7	0	7	100	0,38	0,39
33	UBC 815	7	2	5	71	0,42	0,34
34	17899A	8	3	5	63	0,18	0,39
35	17899B	7	0	7	100	0,42	0,40
36	17898B	9	0	9	100	0,34	0,40
37	UBC 824	4	2	2	50	0,21	0,28
38	A	6	0	6	100	0,36	0,47
39	B	4	1	3	75	0,23	0,40
	Trung bình	6,56	0,72	5,85	88,23	0,34	0,32

Ghi chú: PIC: chỉ số thông tin đa hình; Ia: Chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon.



Hình 1. Phổ điện di sản phẩm PCR của 25 dòng/giống MCX và 4 loài khác thuộc họ Măng cầu sử dụng chỉ thị UBC 841C (trên) và 822 (dưới); M: ladder 1 Kb

Tính đa dạng di truyền giữa 32 dòng/giống được thể hiện qua các thông số di truyền như: *Ia* và PIC. Chỉ số *Ia* của từng mỗi ISSR dao động thấp nhất từ 0,13 (mỗi 885) đến cao nhất là 0,61 (mỗi 812) và có giá trị trung bình không cao là 0,34 (Bảng 3), thấp hơn kết quả nghiên cứu của Samaradiwakara và cộng sự (2020), đánh giá sự đa dạng di truyền của 50 dòng MCX sử dụng chỉ thị ISSR, có chỉ số *Ia* là 0,4556.

Tổng số băng DNA khi phân tích với 39 mỗi ISSR là 256 băng, trong đó có 228 băng đa hình (chiếm 89,06%) và 28 băng đồng hình (chiếm 10,94%). Trong tổng số 39 mỗi phân tích thì hai mỗi 17899A và 824 có số băng đa hình thấp nhất, đạt lần lượt là 63% và 67%, các chỉ thị còn lại đều thể hiện tính đa hình cao (71 - 100%). Giá trị PIC dao động thấp nhất từ 0,06 (mỗi 834 và 884) đến cao nhất là 0,47 (mỗi ISSR9, UBC841C, 826, 821, A) với giá trị trung bình là 0,32 (Bảng 3), đã thể hiện kết quả đa hình trung bình theo phân nhóm của Botstein và cộng sự (1980), đạt trong khoảng 0,25 - 0,50. Theo Moreira và cộng sự (2018), đánh giá đặc tính hình thái và phân tử của 60 dòng MCX tại Nam Manabí (Ecuador), xác định được tỷ lệ đa hình trung bình là 87,5% đối với 8 mỗi ISSR được sử dụng và giá trị PIC dao động trong khoảng 0,20 đối với mỗi ISSR 814 và 0,29 đối với mỗi ISSR 824 và ISSR 873 (PIC trung bình là 0,26). Theo Samaradiwakara và cộng sự (2020), đánh giá sự đa dạng di truyền của 50 dòng MCX sử dụng chỉ thị ISSR, có tỷ lệ phần trăm dải đa hình là 85% và PCR khuếch đại 139 băng từ 13 dấu ISSR, trong đó có 118

băng được phát hiện là đa hình.

3.2. Sự khác biệt di truyền của 32 dòng/giống thuộc loài MCX và 4 loài khác trong họ măng cầu dựa trên chỉ thị phân tử ISSR

Sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa 32 mẫu được trình bày trong hình 2 cho thấy, hệ số tương đồng di truyền của 32 mẫu biến động trong khoảng 0,63 - 0,96. Cây phân nhóm di truyền của 32 mẫu được chia thành 5 nhóm chính, ký hiệu từ nhóm I đến nhóm V, ở mức giá trị trung bình khoảng cách di truyền là 0,78.

- Nhóm I: 25 dòng/giống MCX có hệ số tương đồng từ 0,71 (giữa MCLN và NHUC2) đến 0,96 (giữa TrC2 và MCC).

- Nhóm II: 02 dòng Na1, Na2 có hệ số tương đồng từ 0,62 (giữa Na1 và BB) đến 0,95 (giữa Na1 và Na2).

- Nhóm III: 03 dòng na lai (NaTh, NaSR và NaHH) có hệ số tương đồng dao động từ 0,55 (giữa NaHH và ND) đến 0,85 (giữa NaSR và NaTh).

- Nhóm IV: 01 dòng Nè (NE).

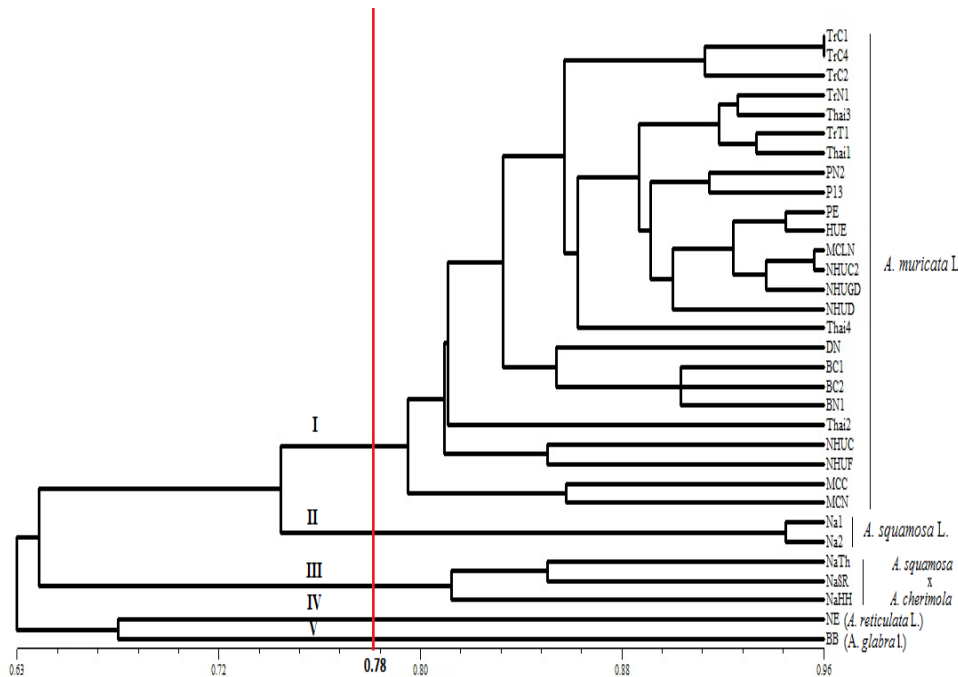
- Nhóm V: Bình bát (BB).

Hệ số tương đồng di truyền phản ánh mối quan hệ di truyền giữa các dòng/giống với nhau. Kết quả cho thấy không có giá trị hệ số tương đồng giữa các dòng/giống là 1, đã chỉ rõ sự khác biệt qua 5 nhóm chính ở mức độ loài. Trong cùng loài, khoảng cách di truyền khá gần nhau hơn nhưng cũng có sự cách biệt giữa các dòng trong cùng giống. Hai giống MCC

và MCN ở tỉnh Hậu Giang gần nhau nhưng tách biệt hơn các dòng/giống thuộc tỉnh Tiền Giang. Trong cùng tỉnh Tiền Giang, đa số cũng có sự cách biệt ít do cùng vườn (nhóm CTr1, CTr2 và CTr4; nhóm BC1, BC2 và BN1) đến nhiều do nguồn giống thu thập ban đầu nhà vườn không xác định, nguồn gốc khác nhau hay nhân từ hạt như giống MCX Thái (khoảng cách hai dòng Thai1 và Thai3 gần hơn Thai2 và Thai4 ở hệ

số tương đồng 0,88).

Nhìn chung, các dòng/giống thuộc loài MCX và 4 loài khác thuộc họ Măng cầu khi phân tích với 39 mỗi ISSR được phân nhóm khá rõ và các dòng/giống này có mức đa dạng di truyền khá cao. Đây là tiền đề nghiên cứu sử dụng cho phân loại và cải tiến giống (lai tạo) hỗ trợ cho đánh giá các tính trạng kiểu hình.



Hình 2. Sơ đồ phả hệ thể hiện mối tương quan di truyền của các dòng/giống MCX và 4 loài khác thuộc họ Măng cầu khi phân tích với 39 chỉ thị ISSR

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Đánh giá đa dạng di truyền cho 32 mẫu từ loài MCX và 4 loài khác thuộc họ Măng cầu chỉ ra 39/41 mỗi ISSRs được khuếch đại và nhân bản được 256 băng DNA, trong đó có 228 băng đa hình (đạt trung bình 88,23%) với trung bình giá trị PIC của các chỉ thị là 0,32. Chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon (*Ia*) của từng mỗi ISSR dao động thấp nhất từ 0,13 (mỗi 885) đến cao nhất là 0,61 (mỗi 812) và có giá trị trung bình là 0,34.

Sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 32 mẫu MCX có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng 0,54 - 0,96, với giá trị trung bình là 0,78 đã chia làm 5 nhóm chính. Các dòng/giống MCX phân biệt với các dòng/giống của 4 loài khác cùng họ măng cầu (Na, Nê, Bình bát, loài lai), thành các nhóm riêng biệt. Trong cùng loài MCX, các dòng/giống có sự cách biệt di truyền giữa hai tỉnh Tiền Giang và

Hậu Giang. Trong cùng tỉnh Tiền Giang, đa số cũng có sự cách biệt ít đến nhiều do nguồn giống thu thập ban đầu nhà vườn không xác định, nguồn gốc khác nhau hay nhân từ hạt như giống MCX Thái.

4.2. Đề nghị

Đánh giá đa dạng di truyền của các dòng/giống thuộc họ măng cầu cần thực hiện trên nhiều nguồn gen, phân bố các vùng địa lý khác nhau và sử dụng thêm mỗi ISSRs hay mỗi khác để có thể tìm ra sự đa dạng lớn hơn và giúp chọn ra các môi liên kết với đặc tính của giống để ứng dụng trong việc chọn tạo giống.

LỜI CẢM ƠN

Nội dung này thuộc đề tài “Tuyển chọn, khảo nghiệm và xây dựng mô hình trình diễn các dòng/giống măng cầu Xiêm có đặc tính tốt tại Tiền Giang” do Viện Cây ăn quả miền Nam thực hiện. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ Sở Khoa học Công nghệ Tiền Giang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Đức Thành**, 2014. Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật. *Tạp chí Sinh học*, 36 (3): 265-294.
- Nguyễn Ngọc Thi**, 2019. Nhiệm vụ thường xuyên theo chức năng 62 năm 2019. Báo cáo tổng kết của Viện Cây ăn quả miền Nam, 129 trang.
- Ahmad I., Bhagat S., Sharma T.V.R.S., Kumar K., Simachalam P. and Srivastava R.C.**, 2010. ISSR and RAPD marker based DNA fingerprinting and diversity assessment of *Annona* spp. in South Andamans. *Indian J. Hort.*, 67 (2): 147-151.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M. and Davis R.W.**, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J. Hum. Genet.*, 32: 314-331.
- Doyle J.J. and Doyle J.J.**, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Escobar T.W. and Sanchez L.A.** 1993. *Fruticultura colombiana: guanabano Manual de Asistencia Técnica* - Instituto Colombiano Agropecuario (Colombia). no. 57. (in Spanish).
- Lima E.N., de Araújo M.E.B., Lima J.S., de Lima I.B. and de Magalhães Bertini C.H.C.**, 2014. Genetic variability analysis of soursop progenies. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia*, 10 (19): 109-117.
- Macías R.G.M.**, 2018. *Caracterización morfoagronómica y molecular del germoplasma in situ de guanábana (Annona muricata L.) del sur de Manabí, Ecuador*. Tesis de Doctorado, Universidad Agraria De La Habana, La Habana: Editorial Universitaria, 2018 – e-ISBN 978-959-16-3890-8.
- Moreira R., Moreno J., Buitrón J., Orbe K., Hector-Ardisana E., Uguña F. and Viera W.**, 2018. Characterization of soursop population (*Annona muricata*) from the Central region of Ecuadorian littoral using ISSR markers. *An International Journal Plant Research Biotechnology*, 31 (3): 13-18.
- Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R. and Anthony S.**, 2009. “*Annona muricata* L.”. <http://worldagroforestry.org>. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. *Agroforestry*, apps.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=211. Accessed 4 May 2018.
- Peakall R. and Smouse P. E.**, 2006. GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Perrier X., Flori A. and Bonnot F.**, 2003. Data analysis methods. In: Hamon P., Seguin M., Perrier X., Glaszmann J.C., editors. *Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants*. Montpellier, France: Science Publishers, pp. 43-76.
- Rascoe D., Pomper K.W., Lowe J., Crabtree S.B., Mahdeem H. and Kochhar T.S.**, 2004. Assessment of the utility of ISSR markers for evaluating genetic relationships among members of *Asimina* and *Annona*. *HortScience*, 39 (4): 786-786.
- Samaradiwakara S.H.M.R.N.P., Samarasinghe W.L.G., Shantha P.G.S., Jayarathna K.G.C.N., Dehigaspitiya P. and Ubeysekera N.M.**, 2020. Genetic diversity assessment of selected *Annona muricata* L. germplasm in Sri Lanka. *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research*, 7 (1): 1-13.

Evaluation of genetic diversity of soursop lines/varieties and other species of Annonaceae in Southern provinces using ISSR markers

Dinh Thi Thu Thao, Ho My Tu, Bui Thi My Binh and Nguyen Ngoc Thi

Abstract

Evaluation of genetic diversity of 25 lines/varieties of soursop and 07 lines/varieties belonging to 04 other species of the family Annonaceae was conducted by 41 ISSR primers. The results showed that 39/41 primers amplified and produced 256 DNA bands, including 228 polymorphic bands (average 88.23%). The average polymorphic information content (PIC) value of the markers was 0.32. The Shannon genetic variability index (*I_a*) of each ISSR primer ranged from the lowest of 0.13 (primer 885) to the highest of 0.61 (primer 812) and had an average value of 0.34. The tree diagram among 32 samples showed that the genetic relationship was divided into 5 main clusters with genetic similarity coefficients from 0.54 to 0.96 (average 0.78).

Keywords: Soursop, genetic diversity, ISSR markers

Ngày nhận bài: 30/8/2024

Ngày phản biện: 05/11/2024

Người phản biện: PGS.TS. Khuất Hữu Trung

Ngày duyệt đăng: 26/11/2024