

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG CAM ĐỊA PHƯƠNG Ở VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ SSR

Lê Thị Thu Trang^{1*}, Khuất Hữu Trung², Đàm Thị Thu Hà¹,
Kiều Thị Dung², Lê Tuấn Nghĩa¹, Hoàng Trọng Cảnh¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu thiết lập tiêu bản ADN của tập đoàn 36 giống cam địa phương, sử dụng 30 chỉ thị SSR để nghiên cứu đa hình giữa các giống cam. Kết quả cho thấy tổng số alen phát hiện tại 30 locut là 95 alen khác nhau, trung bình 3,17 alen/locut. Hệ số thông tin đa hình của mỗi (PIC) dao động từ 0,31 (Ci07B09) đến 0,84 (AG14), trung bình 0,58 và mức độ tương đồng di truyền trong khoảng từ 0,59 đến 0,81. Tại mức tương đồng di truyền 0,59, các giống cam nghiên cứu chia làm 2 nhóm: nhóm I gồm 28 giống có mức tương đồng di truyền từ 0,598 đến 0,81; nhóm II gồm 8 giống có mức tương đồng di truyền từ 0,61 đến 0,716. Nghiên cứu đã xác định được 5 chỉ thị cho nhận dạng đặc trưng CT02, mCrCiR01D06a, CiBE0246, CiBE0105, CiBE2165. Các kết quả thu được có ý nghĩa trong công tác nhận dạng giống phục vụ công tác bảo tồn cũng như chọn lọc giống cam ở Việt Nam.

Từ khóa: Alen đặc trưng, cam địa phương, chỉ thị SSR, đa dạng di truyền.

1. MỞ ĐẦU

Cây ăn quả có múi (*Citrus*) là loại cây ăn quả có giá trị dinh dưỡng và kinh tế cao, được trồng ở nhiều nước trên thế giới với tổng sản lượng quả đạt khoảng 158,9 triệu tấn vào năm 2019 (FAOSTAT, 2020). Việt Nam nằm ở trung tâm phát sinh của rất nhiều giống cây ăn quả có múi (Võ Văn Chi, 1997). Trong những năm gần đây, diện tích cây ăn quả cả nước ngày càng được mở rộng, năm 2011 chỉ đạt 138,2 nghìn ha, đến năm 2019 đã đạt trên 256,8 nghìn ha, trong đó diện tích cam đạt 54,4 nghìn ha, sản lượng 488 nghìn tấn (Cục Trồng trọt, 2020). Tuy nhiên, các giống cam có chất lượng cao, phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng trong nước và có tiềm năng để xuất khẩu vẫn còn hạn chế. Công tác nghiên cứu về chọn tạo giống cần tập trung và đầu tư nhiều hơn nữa. Do đó, việc nghiên cứu đa dạng nguồn gen cam địa phương không chỉ có ý nghĩa trong bảo tồn mà còn có ý nghĩa lựa chọn vật liệu cho chọn tạo giống cam chất lượng cao ở nước ta.

Trình tự lặp lại đơn giản (SSR - simple sequence repeat markers) được sử dụng khá phổ biến để phân tích đa dạng di truyền các loài thuộc chi *Citrus* ở mức

độ quần thể, cùng loài và khác loài. Ưu điểm của loại hình là đánh giá nhanh chóng, chính xác, cho đa hình cao và ổn định (Froelicher *et al.*, 2008). Tất cả các nghiên cứu về cây có múi của các tác giả Barkley *et al.* (2006); Khuất Hữu Trung và cs. (2009); Shrestha *et al.* (2012); Liu *et al.* (2013); Shahzadi *et al.* (2014); Sharma *et al.* (2015); Mahjibi *et al.* (2016); Ahmed *et al.* (2017); Nguyễn Thị Tuyết và cs. (2018) đều cho thấy chỉ thị SSR được sử dụng để xác định mối quan hệ di truyền ở nhóm cây có múi là hiệu quả nhất. Bài viết này trình bày kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền giữa 36 giống cam địa phương bằng chỉ thị SSR nhằm tạo ra cơ sở dữ liệu thông tin ở mức độ phân tử phục vụ công tác phân loại, bảo tồn, chọn tạo giống, khai thác và sử dụng nguồn gen cây ăn quả bản địa quý của Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Vật liệu là 36 mẫu giống cam có nguồn gốc thu thập tại các tỉnh/thành, gồm: Hà Giang, Yên Bái, Cao Bằng, Bắc Giang, Quảng Ninh, Hà Nội, Nghệ An, Huế, Quảng Nam, Tiền Giang và Đồng Tháp (Bảng 1).

- 30 chỉ thị SSR được định vị trên hệ genome cây có múi với thông tin về trình tự, kích thước, nhiệt độ gắn mỗi đã được công bố trên NCBI được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền.

¹ Trung tâm Tài nguyên thực vật

² Viện Di truyền nông nghiệp

*Email: lethutrang2810@gmail.com

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

TT	Kí hiệu	Tên mẫu giống	Nguồn gốc thu thập	TT	Kí hiệu	Tên mẫu giống	Nguồn gốc thu thập
1	C1	Cam Tây Giang	Quảng Nam	19	C19	Cam Chanh	Hà Giang
2	C2	Cam Xoàn	Đồng Tháp	20	C20	Cam Cháp	Nghệ An
3	C3	Cam Sành	Đồng Tháp	21	C21	Cam chua	Nghệ An
4	C4	Cam Xã Đoài	Nghệ An	22	C22	Cam Voi	Nghệ An
5	C5	Cam Sông Con	Nghệ An	23	C23	Cam mật	Nghệ An
6	C6	Cam Vân Du	Nghệ An	24	C24	Cam Vân Du lùn	Nghệ An
7	C7	Cam Bù	Nghệ An	25	C25	Cam Nam Đông	T.T. Huế
8	C8	Cam Giấy	Nghệ An	26	C26	Cam đường Canh	Nghệ An
9	C9	Cam Đường	Quảng Ninh	27	C27	Cam Sành	Yên Bái
10	C10	Cam sành Bồ Hạ	Bắc Giang	28	C28	Cam chua	Nghệ An
11	C11	Cam Đường	Quảng Ninh	29	C29	Cam sen đẹp	Tiền Giang
12	C12	Cam Sáp	Quảng Ninh	30	C30	Cam hồng nhiều	T.T. Huế
13	C13	Cam Sành	Hà Giang	31	C31	Cam mật không hạt	Tiền Giang
14	C14	Cam Đường Canh	Hà Nội	32	C32	Cam dây	Tiền Giang
15	C15	Cam Trương Vương	Cao Bằng	33	C33	Cam đắng	Tiền Giang
16	C16	Cam Sành	Nghệ An	34	C34	Cam chanh ruột vàng	Tiền Giang
17	C17	Cam chua	Yên Bái	35	C35	Cam lòng vàng	Hà Nội
18	C18	F29 Cam Giấy	Nghệ An	36	C36	Cam mật dòng 2	Tiền Giang

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Mẫu lá được thu thập và tách chiết ADN tổng số theo phương pháp CTAB của của Doyle JJ *et al.* (1990) có cải tiến và kiểm tra nồng độ bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1% và máy nanodrop Lite.

- Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Veriti 96 well Thermal cyclers. Tổng thể tích phản ứng là 25 µl, bao gồm: 12,5 µl PCR Master Mix 2X (Thermo), 1 µl mỗi xuôi (10 pmol); 1 µl mỗi ngược (10 pmol); 1 µl DNA (50 ng/µl); 9,5 µl H₂O khử ion. Điều kiện phản ứng PCR như sau: 95°C trong 5 phút; 35 chu kỳ gồm: 94°C trong 1 phút, 55 - 60°C trong 30 giây (tùy thuộc vào Tm của mỗi), 72°C trong 30 giây; 72°C trong 7 phút, bảo quản 4°C.

- Sản phẩm PCR được điện di trên gel polyacrylamide 8% và phát hiện dưới tia UV bằng phương pháp nhuộm Ethidium Bromide 0,5 mg/ml, kích thước sản phẩm PCR được so sánh với thang ADN 50.

- Phương pháp xử lý số liệu: kết quả phân tích dựa trên sự xuất hiện (1) hay không xuất hiện (0) của các băng ADN (các alen). Sơ đồ hình cây và xác định khoảng cách di truyền của các giống được thiết

lập bằng phần mềm NTSYSpc 2.1X theo phương pháp của Rohlf (2000).

Mức độ đa dạng của locut được đánh giá bằng hệ số thông tin đa hình PIC (Polymorphism information content) được tính theo phương pháp của Mohammadi và Prasanna (2003).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: năm 2019.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm công nghệ sinh học, Bộ môn Đa dạng sinh học nông nghiệp, Trung tâm Tài nguyên thực vật, xã An Khánh, huyện Hoài Đức, TP. Hà Nội.

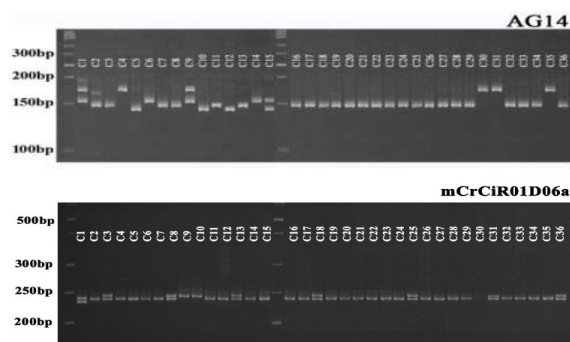
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Lập tiêu bản ADN của các mẫu giống cam nghiên cứu

Các mẫu lá non của 36 giống cam được sử dụng để tách chiết ADN tổng số, kết quả thu được các mẫu ADN tổng số có độ tinh sạch nằm trong khoảng 1,8 - 2,0 và nồng độ khá cao từ 154,7 - 571,1 ng/µl, hoàn toàn đáp ứng được yêu cầu cho phản ứng PCR.

Tổng số 30 tiêu bản ADN của các giống cam ở các locut SSR được thiết lập với 95 alen, tại mỗi locut số alen đa hình biến động từ 2 đến 6, trung bình là

3,17 alen/locut. Có 8 cặp mỗi cho 2 alen (CAC23, Ci02F07, Ci07B09, Ci07D10, Ci07E06, Ci08A10, GT03, NTCP9), 14 cặp mỗi cho 3 alen (điển hình như Ci01C07, CT02, CiBE0105), 4 cặp mỗi cho 4 alen (AG14, Ci06A05b, CiBE0246, CiBE2016), 3 cặp mỗi cho 5 alen (CiBE1500, CiBE1098, CiBE1137) và riêng cặp mỗi CiBE2165 cho 6 alen. Tại mỗi locut, kích thước các alen thu được trong tập đoàn cam biến thiên từ 6bp (Ci07D10, Ci07B09) đến 50bp (Ci01C07, mCrCIR06A03). Tại 17/30 locut SSR có xuất hiện alen dị hợp tử chiếm tỉ lệ 56,67% (điển hình như AG14, ACT09, CIBE2165). Tần số alen phổ biến tại mỗi locut dao động từ 30% đến 80,56%.



Hình 1. Ảnh tiêu bản của 36 mẫu giống cam nghiên cứu với mỗi AG14 và CT21

Ghi chú: Thang ADN 50bp, C1-C36: là kí hiệu các mẫu giống cam ở bảng 1.

Bảng 2. Đa hình các locut SSR của các giống cam nghiên cứu

TT	Locut SSR	Số alen	Kích thước alen (bp)	Tần số alen phổ biến	Giống xuất hiện alen đặc trưng và kích thước alen	Hệ số PIC
1	AG14	4	143 - 170	38,10		0,84
2	ACT09	3	165 - 200	56,41		0,59
3	CAC23	2	250 - 275	55,56		0,49
4	Ci01C07	3	190 - 240	37,50		0,66
5	Ci02F07	2	175 - 185	66,04		0,45
6	Ci06A05b	4	180 - 220	46,94		0,69
7	Ci07B09	2	187 -193	80,56		0,31
8	Ci07C09	3	245 -255	55,32		0,58
9	Ci07D10	2	150 -156	63,89		0,46
10	Ci07E06	2	210 - 225	64,10		0,46
11	Ci08A10	2	156 - 165	63,89		0,46
12	CT02	3	125 - 140	75,00	C1 (125bp)	0,39
13	CT21	3	135 -170	47,22		0,62
14	GT03	2	150 - 175	51,43		0,50
15	mCrCIR01D06a	3	235 - 245	76,74	C1 (235bp)	0,37
16	mCrCIR06A02	3	225 - 235	44,44		0,63
17	mCrCIR06A03	3	180 - 230	44,44		0,62
18	NTCP9	2	273 - 280	60,00		0,48
19	P1223	3	206 - 240	37,50		0,66
20	CiBE0246	4	190 - 220	50,00	C23 (220bp)	0,65
21	CiBE0105	3	153 - 160	55,56	C15 (160bp)	0,52
22	CiBE2165	6	260 - 294	34,00	C27 (260bp)	0,76
23	CiBE1500	5	245 - 275	32,08		0,74
24	CiBE1098	5	106 - 125	30,00		0,77
25	CiBE1137	5	148 - 163	35,29		0,74

TT	Locut SSR	Số alen	Kích thước alen (bp)	Tần số alen phổ biến	Giống xuất hiện alen đặc trưng và kích thước alen	Hệ số PIC
26	CiBE0890	3	260 - 275	52,78		0,61
27	CiBE1116	3	260 - 275	61,11		0,55
28	CiBE1168	3	360 - 380	45,95		0,62
29	CiBE2016	4	265 - 300	43,59		0,69
30	CiBE2227	3	140 - 155	53,45		0,55
	<i>Nhỏ nhất</i>	<i>2</i>		<i>30</i>		<i>0,31</i>
	<i>Lớn nhất</i>	<i>6</i>		<i>80,56</i>		<i>0,84</i>
	<i>Trung bình</i>	<i>3,17</i>				<i>0,58</i>
	<i>Tổng số</i>	<i>95</i>				

Ghi chú: PIC: Hệ số thông tin đa hình

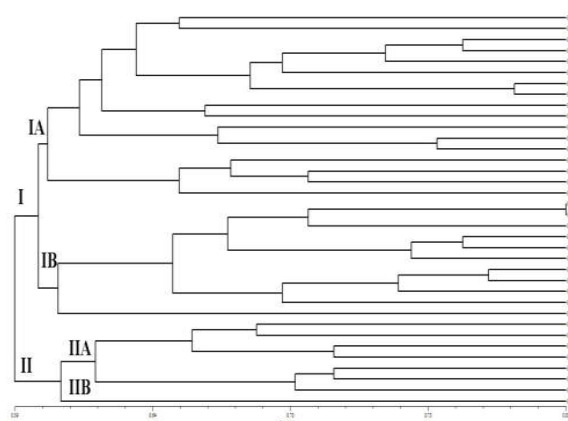
Trong tổng số 30 locut nghiên cứu có 5 chỉ thị xuất hiện alen đặc trưng ở 4 mẫu giống. Các alen đặc trưng đã phát hiện sẽ giúp nhận dạng các giống trên nhờ xuất hiện các băng ADN có kích thước khác nhau như cam Tây Giang (C1) có thể nhận dạng bằng chỉ thị CT02 và mCrCiR01D06a với băng ADN có kích thước lần lượt là 125bp và 235bp, cam mật (C23) được nhận dạng bằng chỉ thị CiBE0246 với băng ADN có kích thước 220bp, cam Xã Đoài (C15) được nhận dạng bằng chỉ thị CiBE0105 với băng ADN có kích thước 160bp, cam sành (C27) được nhận dạng bằng chỉ thị CiBE2165 với băng ADN có kích thước 260bp.

Mức độ đa dạng kiểu gen các giống cam nghiên cứu được đánh giá thông qua hệ số thông tin đa hình PIC mỗi mỗi. Giá trị PIC thu được tại 30 locut SSR khảo sát dao động từ 0,31 (Ci07B09) đến 0,84 (AG14), với giá trị trung bình là 0,58. Có đến 20 mỗi cho tính đa hình cao, với giá trị PIC $\geq 0,5$ (chiếm 66,67%) (Bảng 2). Theo DeWoody và cộng sự (1995), các mỗi SSR có giá trị PIC lớn hơn hoặc bằng 0,50 sẽ cho sự phân biệt cao về tỉ lệ đa hình của các mỗi đó. Kết quả này cho thấy mức độ đa dạng của các alen ở các giống cam bản địa nghiên cứu cao hơn so nghiên cứu của Novelli VM. *et al.* (2006) với hệ số PIC trung bình là 0,376, tuy nhiên thấp hơn so với nghiên cứu của A. Mahjbi *et al.* (2016) khi đánh giá đa dạng di truyền các giống cam ở Tuynidi với hệ số PIC trung bình là 0,675.

3.2. Quan hệ di truyền giữa các mẫu giống cam nghiên cứu

Kết quả phân tích đa dạng di truyền của 36 mẫu giống cam với 30 locut tương ứng với các mỗi SSR

được thống kê và xử lý số liệu theo NTSYS-UPGMA để lập ma trận tương đồng di truyền của các mẫu giống cam và sử dụng chương trình NTSYS Tree-Display để vẽ cây phân nhóm di truyền (Hình 2).



Hình 2. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 36 mẫu giống cam

(Ghi chú: Các mẫu giống được kí hiệu ở bảng 1)

Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương đồng di truyền dao động giữa các giống cam nghiên cứu dao động từ 0,59 đến 0,81 (trung bình 0,70), điều này chứng tỏ tập đoàn các mẫu giống nghiên cứu có sự khác biệt di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu khá lớn từ 19 - 41%. Tại mức tương đồng di truyền 0,59 thì 36 mẫu giống cam được phân tách thành 2 nhóm.

Nhóm I gồm 28 mẫu giống, tại mức tương đồng di truyền 0,598 được phân tách thành 2 phân nhóm IA (17 giống) và IB (11 giống). Phân nhánh IA gồm 17 mẫu giống và có mức tương đồng lớn nhất là 0,789 ở cặp mẫu giống C30 (cam Hồng Nhiều) và

C31 (cam mật không hạt), tiếp đến là cam sành (C16) và cam chanh ruột vàng (C34) có hệ số tương đồng di truyền 0,768. Phân nhánh IB gồm 11 giống, trong đó giống cam đường (C9) nằm tách biệt với các mẫu giống còn lại tại mức tương đồng 0,61 và cặp mẫu giống cam Xoàn (C2) và cam Vân Du (C6) có mức tương đồng cao nhất 0,81; điều này chứng tỏ cặp mẫu giống này có quan hệ di truyền rất gần.

Nhóm II gồm 8 mẫu giống được phân tách thành 2 nhóm IIA và IIB tại mức tương đồng 0,61. Phân nhánh IIB chỉ gồm duy nhất giống cam Bồ Hạ (C10) nằm tách riêng so với các giống còn lại. Phân nhánh IIA có mức tương đồng di truyền từ 0,621 đến 0,716, trong đó có 2 cặp mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,716 là cam sáp (C12) với cam chanh (C19) và cam sành (C13) với cam chua (C21).

Kết quả phân nhóm dựa vào mức độ tương đồng di truyền ở trên cho thấy các mẫu giống cam nghiên cứu rất đa dạng, có sự khác biệt rõ ràng. Đây là cơ sở để phân loại, xác định các nhóm có ưu thế lai, nhận dạng các nguồn gen phục vụ công tác bảo tồn, chọn tạo giống ở Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Với 30 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền 36 mẫu giống cam đã thu được 95 alen khác nhau, số alen dao động từ 2 đến 6 alen/locut, trung bình là 3,17 alen/locut. Hệ số đa hình di truyền (PIC) dao động từ 0,31 (Ci07B09) đến 0,84 (AG14), trung bình là 0,58.

Xác định được 5 alen đặc trưng ở 5 locut giúp nhận dạng được cam Tây Giang (C1) bằng chỉ thị CT02 và mCrCiR01D06a với băng ADN có kích thước lần lượt là 125bp và 235bp, cam mật (C23) bằng chỉ thị CiBE0246 với băng ADN có kích thước 220bp, cam Xã Đoài (C15) bằng chỉ thị CiBE0105 với băng ADN có kích thước 160bp, cam sành (C27) bằng chỉ thị CiBE2165 với băng ADN có kích thước 260bp.

Tập đoàn mẫu giống nghiên cứu có hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu giống dao động từ 0,59 đến 0,81. Tại mức tương đồng di truyền 0,59 thì 36 mẫu giống cam được chia thành 2 nhóm: nhóm I gồm 28 mẫu giống và phân tách thành 2 phân nhóm IA (17 giống) và IB (11 giống) tại mức tương đồng di truyền 0,598, cặp mẫu giống cam Xoàn (C2) và cam Vân Du (C6) có quan hệ di truyền gần nhau nhất với mức tương đồng là 0,81. Nhóm II gồm 8 mẫu giống

và phân thành 2 phụ: nhóm IIA gồm 7 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,61 đến 0,716 và nhóm IIB chỉ gồm duy nhất giống cam Bồ Hạ (C10) nằm tách riêng so với các giống còn lại. Kết quả thu được trong nghiên cứu này rất có ý nghĩa trong công tác bảo tồn và chọn, tạo giống cam ở Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được thực hiện trong khuôn khổ đề tài: “Xây dựng cơ sở dữ liệu nguồn gen và mã vạch ADN (DNA barcode) cho các loài cây có múi (bưởi, cam, và quýt) bản địa/địa phương của Việt Nam” (Bộ Nông nghiệp và PTNT) và nhiệm vụ: “Nghiên cứu khai thác và phát triển nguồn gen cam Tây Giang, Quảng Nam”, mã số: NVQG-2018/04 (Bộ Khoa học và Công nghệ). Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn !

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi (1997). Từ điển cây thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội.
2. Khuất Hữu Trung, Hà Trọng Huy, Nguyễn Trường Khoa, Ngô Hồng Bình, Nguyễn Thanh Bình, Đặng Trọng Lương, Lê Huy Hàm (2009). Nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống bưởi bản địa Việt Nam (*Citrus grandis*) bằng chỉ thị microsatellite. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 7(4): 485-492.
3. Nguyễn Thị Tuyết, Nguyễn Thị Xuyến, Nguyễn Thị Lan Hoa, Bùi Thị Thu Giang, Trần Danh Sửu (2018). Đánh giá đa dạng di truyền một số nguồn gen bưởi (*Citrus spp.*) bằng chỉ thị SSR, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 1(86)/2018.
4. Ahmed S., H. S. Rattanpal, Kumari P. and Singh J. (2017). Study of Genetic Variability in Citrus Fruit Crop by Molecular Markers - A Review. *Int. J. Pure App. Biosci.* 5 (1): 111-128.
5. Barkley, N. A., Roose, M. L., Krueger, R. R., & Federici, C. T. (2006). Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theoretical and applied genetics*, 112(8): 1519-1531.
6. DeWoody J. A., R. L. Honeycutt, L. C. Skow (1995). Microsatellite markers in white-tailed deer. *J. Hered.*, 86: 317-319.
7. Doyle J. J. and Doyle J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
8. FAOSTAT, 2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>

9. Froelicher Y, Dambier D, Badssene JB, Costantino G, Lotiy S, Didout C, Beaumont V, Brottier P, Risterucci AM, Luro F, Ollitrah P (2008). Characterization of microsatellite markers in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco). *Mol Ecol Res* 8: 119-122.
10. Liu, Sheng-Rui, *et al.* (2013). Development and characterization of genomic and expressed SSRs in citrus by genome-wide analysis, *PloS one* 8.10: e75149.
11. Mahjbi A., Oueslati A., Baraket G., Salhi-Hannachi A. and Zehdi Azouzi S. (2016). Assessment of genetic diversity of Tunisian orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck using microsatellite (SSR) markers. *Genetics and Molecular Research*, 15 (2): gmr.15026564.
12. Mohammadi S.A. and Prasanna B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plant - Salient statistical tool and considerations. *Crop Sci.*, 43 (4): 1235-1248.
13. Novelli VM, Cristofani M, Souza AA, Machado MA (2006). Development and characterization of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Genetics and Molecular Biology*, 29(1):90-96.
14. Rohlf F. J., 2000. NTSYS-Pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. *Exeter Publishing Ltd*, 1, version 2.1, New York, USA.
15. Shahzadi, Iram, Safia Janjua, and Gary J. Galbreath (2014). A universal primer set to amplify the cytochrome c oxidase subunit I gene in bears, *Ursus* 25.1: 73-77.
16. Sharma, Pankaj, Vikram Modi, and Shantnu Singh (2015). Method for using barcodes and mobile devices to conduct payment transactions, *U.S. Patent* No. 9,165,294. 20 Oct. 2015.
17. Shrestha, Ram Lal, *et al.* (2012). Genetic diversity assessment of acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) landraces in Nepal, using SSR markers, *American Journal of Plant Sciences* 3.12 (2012): 1674

GENETIC DIVERSITY OF LOCAL ORANGE (*Citrus sinensis* L. Osbeck) VARIETIES IN VIETNAM USING MICROSATELLITE MARKERS

Le Thi Thu Trang, Khuat Huu Trung, Dam Thi Thu Ha,
Kieu Thi Dung, La Tuan Nghia, Hoang Trong Canh
Summary

DNA fingerprinting of 36 local orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties was investigated by 30 SSR markers. The results revealed that the total number of alleles detected in 30 loci was 95 with an average of 3.17 alleles per locus. Polymorphic information content (PIC) values varied from 0.31 (Ci07B09) to 0.84 (AG14) with an average of 0.58 and genetic similarity coefficient from 0.59 to 0.81. At a genetic similarity coefficient of 0.55, orange varieties were divided into two groups: group I consisted of 28 orange varieties with genetic similarity coefficient ranging from 0.598 to 0.81; group II consisted of 8 orange varieties with genetic similarity coefficient ranging from 0.61 to 0.716. The research revealed 5 loci have unique alleles consisted of CT02, mCrCiR01D06a, CiBE0246, CiBE0105, CiBE2165. The results are useful and handy for management of orange germplasm, orange variety identification and breeding programs.

Keywords: *Unique allele, local orange, SSR marker, genetic diversity, DNA fingerprinting.*

Người phản biện: GS.TS. Ngô Xuân Bình

Ngày nhận bài: 5/7/2021

Ngày thông qua phản biện: 5/8/2021

Ngày duyệt đăng: 12/8/2021