

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ SCOT ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG VÚ SỮA (*Chrysophyllum cainito*) Ở VIỆT NAM

Lê Thị Thanh Nga¹, Vũ Thị Huyền Trang², Nguyễn Thị Tuyền³, Nguyễn Thị Nhá²

TÓM TẮT

Mười bốn mẫu vú sữa được thu thập từ các trung tâm giống tại Việt Nam và hệ thống chỉ thị SCoT là vật liệu chính được sử dụng trong nghiên cứu này nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền. Kết quả ghi nhận 9 mỗi SCoT có khả năng khuếch đại các band đa hình trên vú sữa với tổng số band khuếch đại được là 98 band với 96 band đa hình; trong đó SCoT10 là mỗi cho số band và band đa hình thấp nhất và ngược lại mỗi SCoT06 ghi nhận được số band/band đa hình nhiều nhất. Đồng thời tiến hành phân nhóm các mẫu giống vú sữa trong nghiên cứu này thành 2 nhóm; trong đó ngoại trừ mẫu vú sữa Hoàng Kim được xếp vào một nhóm riêng thì 13 mẫu vú sữa còn lại được xếp chung vào một nhóm với độ tương đồng lớn hơn 85%. Kết quả này được cho là phù hợp với đặc điểm hình thái và là cơ sở cho việc xác định từng cá thể vú sữa nhờ tính đặc trưng cho từng cá thể của chỉ thị SCoT.

Từ khóa: Chỉ thị phân tử, đa dạng di truyền, SCoT, Start Codon Target, giống vú sữa.

1. GIỚI THIỆU

Vú sữa (*Chrysophyllum cainito*) có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới của châu Mỹ và đảo Antilles, được trồng chủ yếu ở các nước Ấn Độ, Campuchia, Thái Lan, Việt Nam... (Morton và Dowling, 1987; Watson và Dallwitz, 1991), nhưng hầu hết chỉ được tiêu thụ trong nước. Việt Nam là nước duy nhất trên thế giới chọn trái vú sữa làm hàng hóa xuất khẩu do giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế mà nó mang lại. Ở Việt Nam có một số giống điển hình như: vú sữa Lò Rèn, vú sữa Vĩnh Kim, vú sữa bách thảo nâu, vú sữa trắng... Bên cạnh việc lựa chọn và bảo tồn những cá thể mang tính trạng tốt thì việc phân loại để có hướng khai thác và phát triển nguồn tài nguyên này là rất cần thiết.

Tuy nhiên, hiện tại chưa có hệ thống phân loại các giống vú sữa hoàn chỉnh nhằm phục vụ cho việc khai thác các gen quý, xác định và truy nguyên nguồn gốc các giống vú sữa đang được bày bán trên thị trường. Ngoài ra, việc nhận diện các giống vú sữa dựa vào đặc điểm hình thái, chất lượng, màu sắc, hình dạng quả còn nhiều khó khăn do chúng có sự

tương đồng cao và phụ thuộc chủ yếu vào kinh nghiệm, lịch sử lai tạo, cắt ghép, khu vực địa lý... Đồng thời các nghiên cứu ứng dụng sinh học phân tử trên cây vú sữa đã được thực hiện nhưng vẫn chưa phổ biến.

Kỹ thuật chỉ thị phân tử đặc biệt là chỉ thị ADN càng lúc càng được ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về di truyền. Trong số các chỉ thị ADN, chỉ thị phân tử SCoT (Start Codon Target) là một kỹ thuật có lợi thế nổi bật trong việc ứng dụng trực tiếp vào chọn giống. Chỉ thị SCoT là một kỹ thuật đơn giản dựa trên phương pháp PCR nhân vùng trình tự chứa bộ ba mở đầu ATG (Collard và Mackill, 2009; Luo *et al.*, 2010). Chỉ thị SCoT được biết đến như khả năng cho đa hình cao, có thể thực hiện phản ứng PCR ngay cả khi không biết rõ thông tin trình tự đoạn gen mục tiêu, có thể sử dụng trong việc đánh dấu gen phục vụ nghiên cứu chuyên sâu về các gen chức năng và có liên quan trực tiếp đến gen mã hóa tính trạng. Hơn hết, chỉ thị SCoT đã được ứng dụng thành công trên nhiều loại thực vật khác nhau như xoài (Gajera *et al.*, 2013), nho (Guo *et al.*, 2012), lúa mì (Talebi và Fayaz, 2016), đậu (Chai *et al.*, 2017)... phần nào chứng minh được tính ứng dụng rộng rãi của chỉ thị.

Chính vì vậy nghiên cứu ứng dụng chỉ thị SCoT đánh giá đa dạng di truyền một số giống vú sữa (*Chrysophyllum cainito*) ở Việt Nam được thực hiện sẽ góp phần cho công tác phân loại các giống vú sữa

¹ Viện Kỹ thuật Công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

² Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

³ Sinh viên Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

đang trồng phổ biến tại khu vực này bằng chỉ thị phân tử, đồng thời làm cơ sở cho việc lựa chọn chỉ thị để nhận diện các cây đầu dòng của một số giống phục vụ tiêu dùng trong nước và xuất khẩu.

Các mẫu lá được thu đại diện 3 cây trên một loại giống vú sữa tại các tỉnh khác nhau ở miền Nam Việt Nam, cụ thể: Trà Vinh (3 mẫu), Vĩnh Long (1 mẫu), Bến Tre (6 mẫu), Long An (1 mẫu), Tiền Giang (3 mẫu). Các mẫu được thể hiện ở bảng 1.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bảng 1. Danh sách các mẫu vú sữa dùng trong nghiên cứu

STT	Tên mẫu	Ký hiệu	Nguồn gốc	Nơi thu mẫu
1	Vú sữa Lò Rèn 04	VLR-04	Việt Nam	Trung tâm Giống Nông nghiệp Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh
2	Vú sữa Tím 01	VT-01	Việt Nam	Trung tâm Giống Nông nghiệp Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh
3	Vú sữa Tím 02	VT-02	Việt Nam	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre
4	Vú sữa MiCa 01	VMC-01	Việt Nam	Trung tâm Giống nông nghiệp Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh
5	Vú sữa Bơ 01	VB-01	Việt Nam	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre
6	Vú sữa Lò Rèn 05	VLR-05	Việt Nam	Trung tâm Khuyến nông Long An
7	Vú sữa Hoàng Kim 01	VHK-01	Đài Loan	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre
8	Vú sữa Lò Rèn 06	VLR-06	Việt Nam	Trung tâm Giống nông nghiệp Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh
9	Vú sữa Lò Rèn 07	VLR-07	Việt Nam	Viện Cây ăn quả miền Nam, tỉnh Tiền Giang
10	Vú sữa Nâu 01	VN-01	Việt Nam	Viện Cây ăn quả miền Nam, tỉnh Tiền Giang
11	Vú sữa Trắng 01	VTR-01	Việt Nam	Viện Cây ăn quả miền Nam, tỉnh Tiền Giang
12	Vú sữa Tím Bắc Thảo 01	VTB-01	Việt Nam	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre
13	Vú sữa Bơ Hồng 01	VBH-01	Việt Nam	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre
14	Vú sữa Lò Rèn Bến Tre 01	VLB-01	Việt Nam	Trung tâm Giống cây trồng Bến Tre

Bảng 2. Đặc điểm sinh học một số giống vú sữa trong nghiên cứu

STT	Tên loại	Đặc điểm quả
1	Vú sữa Lò Rèn	Vỏ mỏng, hạt nhỏ ruột dày, khi chín thoang thoảng hương thơm, xẻ ra có ruột màu trắng sữa, ngọt thanh và mát dịu
2	Vú sữa Bơ Hồng	Trái khá to, tròn khá đồng đều, lúc chín màu vỏ ửng hồng, bóng rất đẹp
3	Vú sữa Bắc Thảo	Trái to, thịt ngọt, dai, giòn, ít mú, ít hạt
4	Vú sữa trắng	Trái nhỏ, khi chín có màu xanh lục và quả có nhiều mú
5	Vú sữa Mica	Trái to, khi chín quả có màu tím than, ít hạt, ít mú
6	Vú sữa Hoàng Kim	Vỏ mỏng màu vàng nhưng căng bóng, có mùi thơm ngon đặc trưng, thịt dày rất thơm

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết ADN vú sữa

Khử trùng mẫu lá dưới vòi nước máy và cồn 70%, cắt 0,1 g mẫu lá và đựng trong từng tube 1,5 ml riêng biệt. Bổ sung thêm nitor lỏng giúp phá vỡ thành các tế bào thực vật trong mẫu lá một cách tốt nhất. Sau đó, các mẫu lá này được tách ADN bằng kit Kit

ISOLATE II Plant ADN Kit (50 Preps) của Hãng BIOLINE, Cat No. BIO-52069. Lot No. IS506-B054260 có hiệu chỉnh để phù hợp với điều kiện thí nghiệm thực tế.

Các mẫu DNA gốc được tiến hành định lượng và định tính nhằm xác định chất lượng DNA. Nếu mẫu ADN đạt chuẩn chưa được sử dụng ngay lập tức thì cần trữ mẫu ở -4°C.

2.2.2. Thực hiện phản ứng PCR sàng lọc các môi đa hình

Sau ba lần lặp lại với cùng một vật liệu nghiên cứu và cùng một chu trình nhiệt, các band ADN cho hình ảnh rõ ràng có thể xác định được kích thước môi được ghi nhận. Mỗi phản ứng PCR bao gồm 12,5 µl 2X PCR Master Mix (50 mM Tris-HCl (pH 9.0); 50 mM NaCl; 5 mM MgCl₂; 200 µM dNTP bao gồm dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 2 µl ADN đích, 1 µl primer và 9,5 µl nước cất. Các phản ứng PCR được

thực hiện bằng hệ thống Applied Biosystems™ PCR. Chu trình nhiệt các phản ứng gồm: giai đoạn khởi đầu trong 3 phút ở 94°C (1 chu kỳ); giai đoạn biến tính bao gồm biến tính (45 giây ở 94°C), gắn môi (60 giây ở 52°C) và kéo dài (60 giây ở 71°C) được lặp lại 40 chu kỳ; giai đoạn kéo dài cuối cùng trong 5 phút ở 72°C (He *et al.*, 2010). Tất cả các sản phẩm PCR đều được nhuộm màu với 6X gelRed (DD-012) sau đó được hiển thị trên gel agarose 2% với buffer TBE 0,5X dưới ánh sáng của hệ thống đèn UV.

Bảng 3. Danh sách các môi SCoT sử dụng trong nghiên cứu

Tên Primer	Trình tự (5' đến 3')	Năm sử dụng	Đối tượng áp dụng	Tham khảo
SCoT1	CAACAATGGCTACCACCA	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT2	CAACAATGGCTACCACCC	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT4	CAACAATGGCTACCACCT	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT5	CAACAATGGCTACCACGA	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT6	CAACAATGGCTACCACGC	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT7	CAACAATGGCTACCACGG	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT8	CAACAATGGCTACCACGT	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT10	CAACAATGGCTACCAGCC	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT11	AAGCAATGGCTACCACCA	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT12	ACGACATGGCGACCAACG	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT13	ACGACATGGCGACCATCG	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT15	ACGACATGGCGACCGCGA	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018
SCoT16	ACCATGGCTACCACCGAC	2018	Hoa hồng	Agarwal <i>et al.</i> , 2018

2.2.3. Phân tích kết quả

Chỉ các band ADN cho hình ảnh rõ ràng và có tính lặp lại cao sau ba lần lặp mới được ghi nhận kết quả cho các phân tích tiếp theo. Tại locus mà band ADN xuất hiện ghi 1 và ngược lại 0 nếu không thấy xuất hiện band. Các kết quả thống kê này sau đó được phân tích bằng phần mềm NTSYSpc 2.02e để xây dựng ma trận tương đồng bằng hệ số SM. Từ ma trận này, tiến hành xây dựng mối quan hệ di truyền trên các mẫu giống vú sữa bằng cách sử dụng

phương pháp UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical averages).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sàng lọc tính đa hình của các môi SCoT

Tiến hành phản ứng khuếch đại 14 mẫu ADN vú sữa với 16 môi SCoT được sử dụng trong nghiên cứu, và sử dụng ADN Ladder của hãng BIOLINE để làm thang chỉ thị. Kết quả ghi nhận được 9 môi có tính đa hình cao và khả năng lặp tốt sau ba lần lặp lại phản ứng, 7 môi cho số band không rõ, không đủ điều kiện để xác định tính đa hình hay đơn hình.

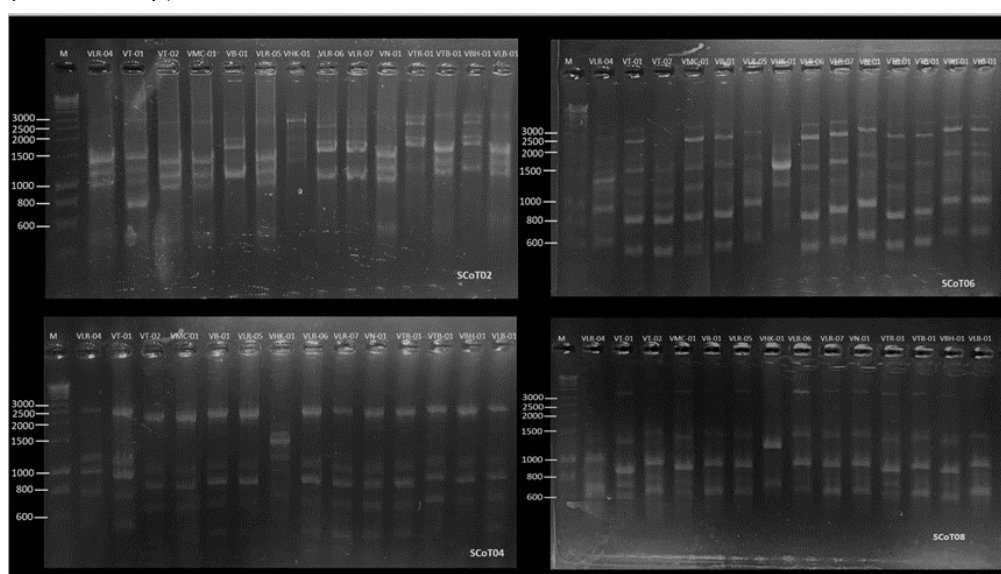
Bảng 4. Danh sách các môi đa hình được ghi nhận

Tên môi	Trình tự (5' to 3')	Tổng số Band	Band đa hình	Tỷ lệ đa hình (%)
SCoT01	CAACAATGGCTACCACCA	10	10	100
SCoT02	CAACAATGGCTACCACCC	14	14	100
SCoT04	CAACAATGGCTACCACCT	16	16	100
SCoT06	CAACAATGGCTACCACGC	17	17	100

SCoT07	CAACAATGGCTACCACGG	09	09	100
SCoT08	CAACAATGGCTACCACGT	11	11	100
SCoT09	CAACAATGGCTACCAGCA	07	07	100
SCoT10	CAACAATGGCTACCAGCC	06	04	66,67
SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC	08	08	100
Tổng cộng	-	98	96	97,96
Lớn nhất	-	17	17	-
Nhỏ nhất	-	06	04	-
Trung bình	-	18,25	17,75	-

Kết quả phân tích cho thấy trong tổng số 9 mỗi SCoT đa hình, ghi nhận được tổng cộng 96 band với 94 band đa hình đạt tỷ lệ 97,92%. Trong tổng số 9 mỗi SCoT được khuếch đại, SCoT06 là mỗi cho số band

đa hình nhiều nhất (17 band), SCoT10 là mỗi cho số band đa hình thấp nhất (4 band). Các mỗi còn lại có số band cho dao động từ 7 đến 16 band, số band trung bình ghi nhận cho một mỗi là 18,25.



Hình 1. Sản phẩm PCR của các mỗi SCoT04, SCoT02, SCoT06, SCoT08 với 14 mẫu vú sữa trên gel agarose

Mỗi SCoT03 trong kết quả của Luo's (Luo *et al.*, 2010) cho 100% band đa hình khi khuếch đại trên ADN xoài, tuy nhiên trong nghiên cứu này, mỗi SCoT03 khuếch đại các mẫu ADN vú sữa cho kết quả đơn hình 100%. Mỗi SCoT06 là mỗi ghi nhận được nhiều band đa hình nhất (17 band đa hình/17 band, tỷ lệ đa hình 100%), trong khi đó kết quả của He (He *et al.*, 2010), mỗi này chỉ ghi nhận 8 band với 5 band đa hình (tỷ lệ đa hình là 62,5%); với kết quả của Que, mỗi này ghi nhận được 9 band với tỷ lệ đa hình là 100% (Que *et al.*, 2014).

3.2. Phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống vú sữa

Phân tích ma trận tương đồng cho thấy độ tương đồng giữa các cặp mẫu có sự khác biệt khá lớn với hệ số tương đồng dao động từ 0,793 đến 0,935. Trong đó

các cặp mẫu có hệ số tương đồng cao đa số có nguồn gốc từ chung một loài trong khi các mẫu từ các loài khác nhau thì có hệ số tương đồng thấp hơn. Cụ thể, cặp mẫu có độ tương đồng cao nhất là VT - 02 (vú sữa tím) và VMC - 01 (vú sữa mica) với hệ số tương đồng là 0,935. Cặp mẫu có độ tương đồng thấp nhất là VTR - 01 (vú sữa trắng) và VHK - 01 (vú sữa Hoàng Kim) với hệ số tương đồng là 0,793. Ở vú sữa trắng vẫn thuộc chi *Chrysophyllum Cainito* trong khi vú sữa Hoàng Kim thuộc chi *Pouteria* (Morton và Dowling, 1987), cả hai giống có sự khác nhau nên kết quả phân tích ma trận tương đồng phù hợp với thực tế.

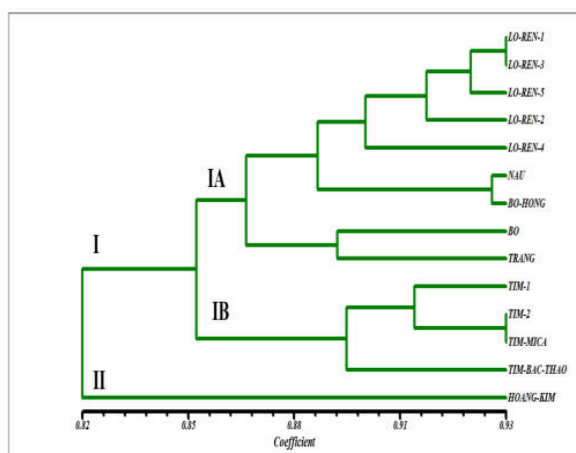
Áp dụng phương pháp phân nhóm UPGMA, các mẫu sẽ được phân thành các nhóm khác nhau với độ tương đồng di truyền tương ứng. Các mẫu với độ tương đồng cao sẽ được xếp chung vào các nhóm, độ tương đồng càng lớn thì các mẫu được xếp càng gần

nhau và ngược lại. Phương pháp này đã chia 14 mẫu vú sữa thành hai nhóm riêng biệt (nhóm I và nhóm II) ở điểm tương đồng là 0,82 cho thấy hai nhóm có 82% độ tương đồng khi phân tích các band ADN được khuếch đại với mỗi SCoT. Vượt qua điểm tương đồng 0,82, nhóm I gom 13 mẫu (trừ mẫu VHK - 01) có độ tương đồng cao hơn thành một nhóm lớn và sau đó tiếp tục phân thành các nhóm nhỏ ở độ tương đồng

cao hơn, trong khi đó nhóm II chỉ chứa duy nhất một mẫu là VHK - 01 (vú sữa Hoàng Kim). Giải thích cho kết quả này, vú sữa Hoàng Kim dù cùng một họ Sapotaceae với vú sữa Việt Nam nhưng nó lại thuộc chi *Pouteria* (Morton và Dowling, 1987) trong khi hầu hết vú sữa Việt Nam xuất phát từ chi *Chrysophyllum*.

	VLR-04	VT-01	VT-02	VMC-01	VB-01	VLR-05	VHK-01	VLR-06	VLR-07	VN-01	VTR-01	VTB-01	VBH-01	VLB-01
VLR-04	1,00													
VT-01	0,81	1,00												
VT-02	0,84	0,92	1,00											
VMC-01	0,84	0,9	0,93	1,00										
VB-01	0,87	0,82	0,84	0,84	1,00									
VLR-05	0,91	0,86	0,89	0,89	0,85	1,00								
VHK-01	0,8	0,82	0,82	0,83	0,82	0,81	1,00							
VLR-06	0,93	0,83	0,85	0,87	0,86	0,92	0,82	1,00						
VLR-07	0,9	0,83	0,84	0,88	0,88	0,88	0,84	0,91	1,00					
VN-01	0,89	0,8	0,86	0,86	0,89	0,87	0,8	0,86	0,89	1,00				
VTR-01	0,82	0,83	0,86	0,82	0,89	0,85	0,79	0,83	0,89	0,87	1,00			
VTB-01	0,85	0,89	0,89	0,89	0,84	0,85	0,85	0,82	0,86	0,86	0,84	1,00		
VBH-01	0,88	0,86	0,9	0,9	0,88	0,91	0,83	0,89	0,89	0,93	0,87	0,9	1,00	
VLB-01	0,92	0,83	0,84	0,88	0,92	0,91	0,82	0,93	0,9	0,88	0,82	0,83	0,88	1,00

Hình 2. Ma trận tương đồng của 14 mẫu vú sữa với 9 mỗi SCoT đa hình dựa trên hệ số SM



Hình 3. Sơ đồ quan hệ di truyền của 14 mẫu vú sữa

Trong nhóm I, 13 mẫu vú sữa được phân thành hai nhóm phụ là IA và IB ở hệ số tương đồng là 0,85. Trong nhóm IA, các mẫu vú sữa Lò Rèn cũng được phân nhánh nằm gần nhau với độ tương đồng lớn hơn 90%, cặp mẫu VLR - 04 (vú sữa Lò Rèn 04) và VLR - 06 (vú sữa Lò Rèn 06) có độ tương đồng di truyền lớn nhất là 93%, vì chúng đều là giống vú sữa Lò Rèn có sự giống nhau về đặc điểm lá, quả, nên có hệ số tương đồng cao phù hợp với đặc điểm cây ở tự nhiên. Bốn mẫu còn lại là VN-01 (vú sữa nâu), VB-01 (vú sữa Bơ), VBH-01 (vú sữa Bơ Hồng) và VTR-01 (vú sữa trắng) nằm trong hai nhánh riêng biệt, trong khi vú sữa Nâu và vú sữa Bơ Hồng có độ tương đồng

gần với nhánh của các mẫu vú sữa Lò Rèn hơn, thì mẫu vú sữa Bơ và vú sữa Trắng lại được phân ra một nhánh riêng biệt. Nhóm IB gồm 4 mẫu VT-01 (vú sữa Tím 01), VT (vú sữa Tím 02), VMC-01 (vú sữa Mica), VBT-01 (vú sữa Bắc Thảo) chia sẻ với nhau 90% độ tương đồng, trong đó 2 mẫu VT-01 và VMC-01 có độ tương đồng cao nhất là 93%.

Ở nhóm IIA có duy nhất mẫu vú sữa Hoàng Kim với khoảng cách tương đồng 82%, đây là một loại vú sữa mới được nhập ngoại nên có sự khác biệt rõ rệt về màu sắc quả (quả có màu vàng khác biệt với các mẫu vú sữa còn lại), hình dạng lá dài và khác so với các mẫu vú sữa đã trồng trước đây ở Việt Nam.

3.3. Khả năng khuếch đại band ADN hiếm

SCoT là một chỉ thị đa hình cao ở cấp độ riêng lẻ, điều này thể hiện rõ bằng cách khuếch đại các band khác nhau cho các cá thể trong cùng một giống. SCoT thể hiện khả năng khuếch đại các đoạn đa hình hiếm đặc trưng riêng biệt xuất hiện ở duy nhất trên một cá thể này mà không xuất hiện trên cá thể khác.

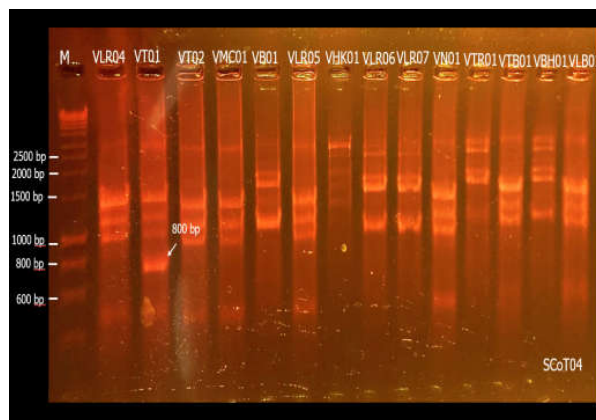
Hình 4 cho thấy ở vị trí 1500 bp của các mẫu khuếch đại bằng mỗi SCoT02, chỉ duy nhất mẫu VKH (vú sữa Hoàng Kim) có sự hiện diện của band ADN.

Tương tự với mỗi SCoT04 ở vị trí 800 bp, sự hiện diện band ADN chỉ xuất hiện duy nhất ở mẫu VT01

(vú sữa tím) (Hình 5). Như vậy, dựa trên kết quả này, có thể sử dụng band ADN đa hình hiếm ở vị trí 1500 bp của mỗi SCoT02 và 800 bp của mỗi SCoT04 để phân biệt mẫu VHK và VT01 với các mẫu khác. Kết quả này cho thấy khả năng ứng dụng mỗi SCoT vào việc xác định các cá thể riêng biệt nhờ khả năng khuếch đại band ADN hiếm đặc hiệu chỉ xuất hiện trên một mẫu giống nhất định.



Hình 4. Sản phẩm PCR của mỗi SCoT02 với 14 mẫu vú sữa



Hình 5. Sản phẩm PCR của mỗi SCoT04 với 14 mẫu vú sữa

Kết quả này có thể là cơ sở để đánh giá sự đa dạng di truyền của các cá thể cũng như xác định các cá thể trong cùng một giống. Nghiên cứu đã đưa ra một tiềm năng lớn để truy tìm nguồn gốc của các sản phẩm vú sữa trong việc kinh doanh cũng như quản lý chất lượng.

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, 9 mỗi SCoT đã khuếch đại được tổng cộng 96 band ADN sau 3 lần lặp, trong đó 94 band đa hình (chiếm 97,96% tổng số). Điều này

thể hiện tính đa hình cao khi khuếch đại ADN của mỗi SCoT trong các nghiên cứu về đa dạng di truyền. Đồng thời, kết quả nghiên cứu đã mã hóa và xây dựng được cây phát sinh các giống vú sữa với mức độ tương đồng di truyền lớn hơn 79%. Trong đó các giống vú sữa có khoảng cách di truyền gần nhau sẽ xếp chung vào một nhóm và ngược lại; trong đó ngoại trừ mẫu vú sữa Hoàng Kim được xếp vào một nhánh riêng do giống này có nguồn gốc du nhập vào Việt Nam từ Đài Loan, 13 mẫu còn lại được xếp vào một nhánh sau đó tiếp tục phân thành các nhánh nhỏ hơn thể hiện chi tiết mối quan hệ di truyền giữa từng cá thể mẫu riêng biệt. Kết quả cây phát sinh này thể hiện sự đa dạng của quần thể vú sữa Việt Nam một cách rõ ràng khi giữa các mẫu giống đều có sự khác biệt di truyền nhất định.

Nghiên cứu này còn thể hiện được tính chính xác và hiệu quả của dữ liệu phân tử cung cấp bởi hệ thống SCoT khi các thí nghiệm có độ lặp và tính ổn định cao cùng với khả năng ứng dụng cao do có thể khuếch đại mà không cần biết trình tự gen mục tiêu. Hệ thống SCoT còn cung cấp các band đa hình hiếm mở ra khả năng sử dụng để phân biệt và nhận biết các cá thể khác nhau. Kết quả này có thể kết hợp với các nghiên cứu kiểu hình nhằm phân biệt và truy nguyên một giống vú sữa có nguồn gốc không rõ ràng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu nhận được tài trợ từ đề tài số ĐTN 14/17 ngày 6/12/2017 của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Tiền Giang và tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ NTTU trong đề tài mã số 2020.01.100.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chai X, Dong R, Wenxian L, Wang Y, Liu Z (2017). Optimizing Sample Size to Assess the Genetic Diversity in Common Vetch (*Vicia sativa* L.) Populations Using Start Codon Targeted (SCoT) Markers. 22.
2. Collard BC, Mackill DJ (2009). Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene - targeted markers in plants. *Plant molecular biology reporter* 27 (1).
3. Gajera HP, Bambharolia RP, Domadiya RK, Patel SV, Golakiya BA (2013). Molecular characterization and genetic variability studies

associated with fruit quality of indigenous mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Plant Systematics and Evolution* 300 (5): 1011 - 1020.

4. Guo DL, Zhang JY, Liu CH (2012). Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses. *Mol Biol Rep* 39 (5): 5307 - 5313.

5. He X - H, Chen H, Ou S - J, Gao M - P (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 38 (6): 1176 - 1184.

6. Luo C, He X - H, Chen H, Ou S - J, Gao M - P (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. 38: 1176 - 1184.

7. Morton JF, Dowling CF (1987). Fruits of warm climates. JF Morton Miami, FL.

8. Que Y, Pan Y, Lu Y, Yang C, Yang Y, Huang N, Xu L (2014). Genetic analysis of diversity within a Chinese local sugarcane germplasm based on start codon targeted polymorphism. *Biomed Res Int* 2014: 468375.

9. Talebi R, Fayaz F (2016). Geographical diversity pattern in Iranian landrace durum wheat (*Triticum turgidum*) accessions using start codon targeted polymorphism and conserved DNA-derived polymorphism markers. *Environmental and Experimental Biology*.

10. Watson L, Dallwitz MJ (1991). The families of angiosperms: automated descriptions, with interactive identification and information retrieval. *Australian Systematic Botany* 4 (4): 681 - 695.

11. Agarwal A, Gupta V, Ul Haq S, Jatav PK, Kothari SL, Kachhwaha S (2018). Assessment of genetic diversity in 29 rose germplasms using SCoT marker. *Journal of King Saud University – Science*.

USING START CODON TARGET MARKERS FOR GENETIC DIVERSITY EVALUATION OF STAR APPLS (*Chrysophyllum cainito*) IN VIETNAM

Le Thi Thanh Nga, Vu Thi Huyen Trang, Nguyen Thi Tuyen, Nguyen Thi Nha

Summary

This study used 14 star - apple cultivar samples collected from Vietnam and SCoT markers as major materials for genetic diversity evaluation. The results scored those 09 SCoT primers provided polymorphism bands at 96 polymorphic bands per total 98 bands; SCoT10 provided the least polymorphic bands while SCoT06 provided the most one. Based on UPGMA method, 14 star - apple samples were divided into two main groups; group I consisted in only Hoang Kim sample while group II involved 13 other samples at 85% similarity. These reasonable results matching the morphological characteristics as well as SCoT's specifics features at individual were the foundation for star apples samples identification.

Keywords: Genetic diversity, molecular markers, SCoT, star apples, Start Codon Target.

Người phản biện: PGS.TS. Khuất Hữu Trung

Ngày nhận bài: 7/5/2021

Ngày thông qua phản biện: 7/6/2021

Ngày duyệt đăng: 14/6/2021