

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG Sắn ĐỊA PHƯƠNG Ở VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ SSR

Lê Thị Thu Trang^{1,*}, Đàm Thị Thu Hà¹, Nguyễn Mạnh Điệp¹,

Lã Tuấn Nghĩa¹, Hoàng Thị Huệ¹, Lã Hoàng Nhật Minh²

¹ Trung tâm Tài nguyên thực vật

² Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

* Email: lethutrang2810@gmail.com

TÓM TẮT

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là một trong những cây lương thực chính có tiềm năng di truyền cao. Do đó, kiến thức về tính biến dị di truyền của cây sắn sẽ có tầm quan trọng lớn trong việc sử dụng hiệu quả tại các chương trình cải thiện di truyền. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 200 mẫu giống sắn địa phương ở Việt Nam bằng 30 chỉ thị SSR. Kết quả cho thấy, tổng số alen phát hiện tại 30 locut SSR là 111 alen, trung bình 3,7 alen/locut. Chỉ số đa dạng PIC dao động từ 0,34 - 0,79, với giá trị trung bình là 0,62. Hệ số tương đồng di truyền của các mẫu giống sắn dao động từ 0,45 - 0,90. Ở hệ số tương đồng di truyền 0,626 thì 200 mẫu giống sắn chia thành 6 nhóm. Nhóm I gồm 5 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,70 - 0,81; nhóm II gồm 152 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,634 - 0,90; nhóm III gồm 13 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,65 - 0,77; nhóm IV gồm 18 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,82; nhóm V gồm 7 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,68 - 0,76; nhóm VI gồm 5 mẫu giống còn lại có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,74. Kết quả phân nhóm nguồn gen trong nghiên cứu sẽ là những thông tin có ý nghĩa cho chương trình chọn tạo giống sắn ở Việt Nam.

Từ khóa: Chỉ thị SSR, đa dạng di truyền, sắn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là cây trồng có nguồn gốc từ châu Mỹ Latinh, được đánh giá là loại cây trồng quan trọng có tiềm năng đảm bảo an ninh lương thực cho cộng đồng. Củ sắn cung cấp 50% năng lượng cho con người với hàm lượng tinh bột cao từ 16 - 32%, lá sắn chứa nhiều vitamin A, B, C, canxi, các loại axit amin, lysin và một số chất khoáng nên được sử dụng làm một loại rau xanh có lợi cho sức khỏe con người [1]. Ngoài ra, cây sắn còn là nguồn nguyên liệu thô phục vụ các ngành công nghiệp thực phẩm, dược liệu, công nghiệp lên men, công nghiệp chế biến cồn sinh học, hiệu suất thu hồi cồn cao và giá cả cạnh tranh so với cây trồng khác [2].

Ở Việt Nam, cây sắn là một trong các cây trồng được đưa vào danh mục sản phẩm cây trồng

chủ lực quốc gia, được trồng rộng rãi khắp cả nước, tập trung nhiều ở vùng trung du miền núi phía Bắc, Bắc Trung bộ, duyên hải Nam Trung bộ, Tây Nguyên và Đông Nam bộ. Tuy nhiên, trong những năm qua, ngành sắn Việt Nam đối diện với nhiều thách thức về thiên tai và dịch bệnh. Diện tích trồng sắn trên cả nước năm 2023 đạt khoảng 511,5 nghìn ha, giảm 18,8 nghìn ha so với năm 2022 và sản lượng ước đạt 10,43 triệu tấn củ tươi năm 2023, giảm khoảng 196,3 nghìn tấn so với năm 2022 [3]. Do vậy, cần phải phát triển các giống sắn cải tiến mới có khả năng chống chịu sâu, bệnh, chịu hạn, có chất lượng tốt (hàm lượng chất khô và tỷ lệ tinh bột cao...). Công tác nghiên cứu về giống cần tập trung và đầu tư nhiều hơn nữa do hiện nay phần lớn các giống sắn được tuyển chọn theo phương pháp truyền

thống, đánh giá hình thái, nông sinh học. Các kiến thức về tính biến dị di truyền của cây sắn sẽ có tầm quan trọng lớn trong việc sử dụng hiệu quả trong các chương trình chọn giống. Sự phát triển của chỉ thị phân tử ADN rất hữu ích trong nghiên cứu di truyền. Trình tự lặp lại đơn giản (SSR - Simple Sequence Repeats) được sử dụng khá phổ biến để phân tích, xác định mối quan hệ di truyền của nguồn gen. Ưu điểm của chỉ thị SSR là đánh giá nhanh chóng, chính xác, có tính di truyền đồng trội, cho đa hình cao, bao phủ rộng khắp hệ gen, dễ dàng được khuếch đại bằng PCR,

ổn định và chi phí thấp [4], [5]. Trong nghiên cứu này, chỉ thị SSR được sử dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền của 200 mẫu giống sắn địa phương ở Việt Nam. Qua phân tích SSR sẽ phân nhóm được nguồn vật liệu, từ đó làm dẫn liệu cho quá trình lai tạo giống sắn.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

200 mẫu giống sắn có nguồn gốc thu thập từ 39 tỉnh, thành ở Việt Nam, đang được lưu giữ tại Trung tâm Tài nguyên thực vật (Bảng 1).

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

T T	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập	TT	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập
1	S1	3 tháng Bình Chánh	Tỉnh Đồng Nai	101	S101	Măn cò	Tỉnh Sơn La
2	S2	Gòn Hà Nội	Tỉnh Đồng Nai	102	S102	Măn cò	Tỉnh Sơn La
3	S3	Tàu mó	Tỉnh Đồng Nai	103	S103	Giăng Đồi	Tỉnh Lai Châu
4	S4	H34	Tỉnh Đồng Nai	104	S104	Yăng Đồi	Tỉnh Lai Châu
5	S5	Ấn Độ Phú Khánh	Tỉnh Đồng Nai	105	S105	Cò Tông	Tỉnh Yên Bái
6	S6	Ấn Độ Hàm Tân	Tỉnh Đồng Nai	106	S106	Cò Tông	Tỉnh Yên Bái
7	S7	Gòn không phân nhánh Củ Chi	Tỉnh Đồng Nai	107	S107	Cò Tông	Tỉnh Yên Bái
8	S8	Sắn nếp	Tỉnh Đồng Nai	108	S108	Cò Tông	Tỉnh Yên Bái
9	S9	Bún Hàm Tân	Tỉnh Đồng Nai	109	S109	Giăng đồi bẹ	Tỉnh Lào Cai
10	S10	Ấn Độ Bình Dương	Tỉnh Đồng Nai	110	S110	Cò tung	Tỉnh Lào Cai
11	S11	Gòn không thùy	Tỉnh Đồng Nai	111	S111	Măn Cỏ	Tỉnh Sơn La
12	S12	Gòn Bình Dương	Tỉnh Đồng Nai	112	S112	Măn Cỏ	Tỉnh Sơn La
13	S13	Gòn Hưng Lộc	Tỉnh Đồng Nai	113	S113	Sắn	Tỉnh Sơn La
14	S14	Gòn Long Thành	Tỉnh Đồng Nai	114	S114	Khoai mỳ gòn	Tỉnh Quảng Ngãi
15	S15	Sắn Hàm Tân	Tỉnh Đồng Nai	115	S115	Khoai mỳ 4 tháng	Tỉnh Quảng Ngãi
16	S16	Bún Cam Ranh	Tỉnh Đồng Nai	116	S116	Mỳ gòn	Tỉnh Phú Yên
17	S17	Trắng Thái Lan	Tỉnh Đồng Nai	117	S117	Mỳ Ấn Độ	Tỉnh Phú Yên
18	S18	Trắng Quảng Ngãi	Tỉnh Đồng Nai	118	S118	Sắn đỏ	Tỉnh Lâm Đồng
19	S19	Sắn Bình Quý	Tỉnh Quảng Trị	119	S119	Sắn	Tỉnh Lạng Sơn
20	S20	Sắn mì 3 tháng Gò Vấp	Tỉnh Quảng Trị	120	S120	Sắn	Tỉnh Quảng Ninh
21	S21	Sắn trắng miền Nam	Tỉnh Nghệ An	121	S121	Dầm tấp Đeng đồi	Tỉnh Quảng Ninh
22	S22	Sắn đỏ	Tỉnh Nghệ An	122	S122	Thần	Tỉnh Quảng Ninh

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

T T	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập	TT	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập
23	S23	Sắn trắng miền Nam	Tỉnh Nghệ An	123	S123	Thần	Tỉnh Quảng Ninh
24	S24	Mền co	Tỉnh Nghệ An	124	S124	Thần	Tỉnh Quảng Ninh
25	S25	Sắn trắng	Tỉnh Nghệ An	125	S125	Đềng đòi	Tỉnh Quảng Ninh
26	S26	Mì bắc trãi	Tỉnh Quảng Trị	126	S126	Đềng đòi	Tỉnh Quảng Ninh
27	S27	Mì xanh	Tỉnh Quảng Trị	127	S127	Đềng đòi	Tỉnh Quảng Ninh
28	S28	Mì học viện	Tỉnh Quảng Trị	128	S128	Sắn trắng	Tỉnh Kiên Giang
29	S29	Mì hồng	Tỉnh Quảng Trị	129	S129	Sắn đỏ	Tỉnh Kiên Giang
30	S30	Mì đỏ	Tỉnh Quảng Trị	130	S130	Sắn chuối	Tỉnh Tuyên Quang
31	S31	H 34	Tỉnh Quảng Trị	131	S131	Sắn cuống đen	Tỉnh Hà Giang
32	S32	Sắn mì	Thành phố Đà Nẵng	132	S132	Mắn sắn	Tỉnh Cao Bằng
33	S33	Mì trà kiệu	Thành phố Đà Nẵng	133	S133	Sắn xanh	Tỉnh Hòa Bình
34	S34	Mì năng hương	Thành phố Đà Nẵng	134	S134	Sắn trắng	Tỉnh Hòa Bình
35	S35	Cao Sâm	Thành phố Đà Nẵng	135	S135	Cao sản	Tỉnh Hòa Bình
36	S36	Mì tai đen	Thành phố Đà Nẵng	136	S136	Sắn đỏ	Tỉnh Hòa Bình
37	S37	Mì canh nông xanh	Thành phố Đà Nẵng	137	S137	Sắn trắng	Tỉnh Hòa Bình
38	S38	Canh nông mỡ	Thành phố Đà Nẵng	138	S138	Sắn trắng	Tỉnh Hòa Bình
39	S39	Mì xanh	Tỉnh Quảng Ngãi	139	S139	Sắn xanh	Tỉnh Hòa Bình
40	S40	Sắn	Tỉnh Sơn La	140	S140	Sắn	Tỉnh Hòa Bình
41	S41	Sắn 3 tháng	Tỉnh Sơn La	141	S141	Sắn lõi vàng	Thành phố Hà Nội
42	S42	Mì cao sơn thác	Tỉnh Tây Ninh	142	S142	Vedan	Thành phố Hà Nội
43	S43	Mì Ấn Độ	Tỉnh Tây Ninh	143	S143	Sắn vỏ đỏ	Thành phố Hà Nội
44	S44	Sắn trắng miền Nam	Tỉnh Lai Châu	144	S144	Sắn dù đỏ	Thành phố Hà Nội
45	S45	Sắn đỏ miền Nam	Tỉnh Lai Châu	145	S145	Sắn dù trắng	Thành phố Hà Nội
46	S46	Mì đỏ	Tỉnh Tây Ninh	146	S146	Sắn cao sản	Thành phố Hà Nội
47	S47	Mì cao sản	Tỉnh Tây Ninh	147	S147	Vedan	Thành phố Hà Nội
48	S48	Mì tím cao sản Trà Cổ	Tỉnh Tây Ninh	148	S148	Khoai mì	Tỉnh Cà Mau
49	S49	Mì 6 tháng	Tỉnh Bình Định	149	S149	Khoai mì	Tỉnh Bến Tre
50	S50	Khoai mì mọc	Tỉnh Bình Định	150	S150	Khoai mì	Tỉnh Bến Tre
51	S51	Mì nếp (Mì trắng)	Tỉnh Bình Định	151	S151	Sắn nếp	Tỉnh Thừa Thiên Huế
52	S52	Mì trắng Đức Phổ	Tỉnh Quảng Ngãi	152	S152	Sắn nùng	Tỉnh Thừa Thiên Huế
53	S53	Sắn trắng	Tỉnh Lai Châu	153	S153	Sắn nếp	Tỉnh Thừa Thiên Huế
54	S54	Sắn đỏ	Tỉnh Lai Châu	154	S154	Sắn ba chãng	Tỉnh Thừa Thiên Huế
55	S55	Mì gỏi Bình Định	Tỉnh Bình Định	155	S155	Sắn nếp	Tỉnh Hà Tĩnh
56	S56	Mì đỏ 6 tháng	Tỉnh Bình Định	156	S156	Sắn trắng	Tỉnh Đồng Nai

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

T T	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập	TT	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập
57	S57	Khoai mì xanh	Tỉnh Bình Định	157	S157	Sắn thái	Tỉnh Đồng Nai
58	S58	Sắn đỏ	Tỉnh Yên Bái	158	S158	Sắn vàng	Tỉnh Tiền Giang
59	S59	Khoai mì mó	Tỉnh Gia Lai	159	S159	Sắn 3 tháng	Tỉnh Tây Ninh
60	S60	Khoai mỳ Nhật	Tỉnh Gia Lai	160	S160	Sắn lõi vàng	Tỉnh Tiền Giang
61	S61	Khoai mì gòn địa phương	Tỉnh Gia Lai	161	S161	Sắn trắng	Tỉnh Tiền Giang
62	S62	Mì thân đỏ, ngọn đỏ	Tỉnh Bình Định	162	S162	Sắn địa phương	Tỉnh Tây Ninh
63	S63	Mì ấn độ	Tỉnh Bình Thuận	163	S163	Sắn lõi vàng	Tỉnh Tiền Giang
64	S64	Gòn chọn lọc	Tỉnh Đồng Nai	164	S164	Sắn đỏ Mộc Châu	Tỉnh Sơn La
65	S65	Cao sâm 20	Tỉnh Đồng Nai	165	S165	Sắn trắng Sơn La	Tỉnh Sơn La
66	S66	Mì gòn củ tròn	Tỉnh Bình Dương	166	S166	Sắn xanh Cao Bằng	Tỉnh Cao Bằng
67	S67	Mì 3 tháng	Tỉnh Bình Dương	167	S167	Sắn đỏ Cao Bằng	Tỉnh Cao Bằng
68	S68	Mì gòn củ dài	Tỉnh Bình Dương	168	S168	Sắn trắng Cao Bằng	Tỉnh Cao Bằng
69	S69	Mì trắng	Tỉnh Bình Dương	169	S169	Sắn đỏ Điện Biên	Tỉnh Điện Biên
70	S70	Mì xanh Ấn Độ	Tỉnh Đồng Nai	170	S170	Sắn trắng Điện Biên	Tỉnh Điện Biên
71	S71	Mì đỏ sống Ray1	Tỉnh Đồng Nai	171	S171	Sắn đỏ Lai Châu	Tỉnh Lai Châu
72	S72	Mì tía đỏ dài ngày	Tỉnh Đồng Nai	172	S172	Sắn Hòa Bình	Tỉnh Hòa Bình
73	S73	Mì Cầu kè	Tỉnh Đồng Nai	173	S173	Sắn đỏ	Tỉnh Nghệ An
74	S74	Mì Cầu kè	Tỉnh Đồng Nai	174	S174	Mỳ trắng	Tỉnh Hà Tĩnh
75	S75	Sắn dù	Tỉnh Bắc Giang	175	S175	Mỳ đỏ	Tỉnh Quảng Bình
76	S76	Sắn trắng	Tỉnh Bắc Giang	176	S176	Thân xanh	Tỉnh Thanh Hóa
77	S77	Sắn đỏ	Tỉnh Bắc Giang	177	S177	Thân trắng	Tỉnh Thanh Hóa
78	S78	Sắn	Tỉnh Bắc Giang	178	S178	Nghệ An 1	Tỉnh Nghệ An
79	S79	Chuối vàng	Tỉnh Thái Nguyên	179	S179	Mắt tùn	Tỉnh Sơn La
80	S80	Chuối xanh	Tỉnh Thái Nguyên	180	S180	Co mắt tùn	Tỉnh Điện Biên
81	S81	Sắn đỏ	Tỉnh Cao Bằng	181	S181	Mắt tùn	Tỉnh Lai Châu
82	S82	Sắn xanh	Tỉnh Cao Bằng	182	S182	Mắt cuối	Tỉnh Thanh Hóa
83	S83	Sắn đỏ Trung Quốc	Tỉnh Cao Bằng	183	S183	Sắn lá tre	Tỉnh Yên Bái
84	S84	Sắn Trung Quốc	Tỉnh Lạng Sơn	184	S184	Kòn tông	Tỉnh Lào Cai
85	S85	Sắn	Tỉnh Lạng Sơn	185	S185	Mặc sắn	Tỉnh Cao Bằng
86	S86	Sắn đỏ	Tỉnh Lạng Sơn	186	S186	Plum lang	Tỉnh Đắk Nông
87	S87	Sắn Tuyên Quang	Tỉnh Quảng Ninh	187	S187	Đồi	Tỉnh Hà Giang

T T	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập	TT	Ký hiệu	Tên giống	Nơi thu thập
88	S88	Sắn đỏ	Tỉnh Quảng Ninh	188	S188	Mắn đeng	Tỉnh Hà Giang
89	S89	Sắn nếp	Tỉnh Quảng Ninh	189	S189	Bum Blời	Tỉnh Gia Lai
90	S90	Sắn đỏ	Tỉnh Quảng Ninh	190	S190	Sắn thỏ	Tỉnh Thanh Hóa
91	S91	Khoai mỳ Cầu kê	Tỉnh Long An	191	S191	Mín co	Tỉnh Thanh Hóa
92	S92	Khoai mỳ xanh	Tỉnh Tiền Giang	192	S192	Co mền	Tỉnh Thanh Hóa
93	S93	Canh nông	Tỉnh Phú Thọ	193	S193	Còn tung	Tỉnh Điện Biên
94	S94	Sắn dừ	Tỉnh Phú Thọ	194	S194	Mắn tũn	Tỉnh Điện Biên
95	S95	Xanh Hà Bắc	Tỉnh Bắc Giang	195	S195	Mắn tũn	Tỉnh Điện Biên
96	S96	Trắng Bắc Thái	Tỉnh Thái Nguyên	196	S196	Mì đỏ	Tỉnh Quảng Ngãi
97	S97	Bún trắng	Tỉnh Thái Bình	197	S197	Mì đỏ	Tỉnh Quảng Ngãi
98	S98	Thân đen	Tỉnh Ninh Bình	198	S198	Mì trắng	Tỉnh Quảng Ngãi
99	S99	À dô a mù chè	Tỉnh Lai Châu	199	S199	Quay loang	Tỉnh Quảng Ngãi
100	S100	Mắn tũn	Tỉnh Lai Châu	200	S200	Mạn kheo	Tỉnh Yên Bái

30 cặp mỗi SSR chọn lọc từ cơ sở dữ liệu hệ genome cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) với thông tin về trình tự, kích thước, nhiệt độ gắn mỗi được tham khảo từ Raji và cs (2009) [6], Mba và cs (2001) [7], Rocha và cs (2020) [8], Adjebeng-Danquah và cs (2020) [9], Beovides và cs (2015) [10], Gonçalves và cs (2017) [11].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Tách chiết ADN*: ADN tổng số của sắn được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp của Fjellstrom và cs (2004) [12] có cải tiến.

- *Kỹ thuật PCR*: Phản ứng PCR với mỗi SSR thực hiện với tổng thể tích phản ứng là 20 µl gồm: 2 µl PCR buffer 10x; 1,6 µl dNTPs 2,5 mM; 1,4 µl mỗi (F&R) nồng độ 25 ng/µl; 0,1 µl DreamTaq green ADN polymerase (5 U/µl); 5 µl ADN (5 ng/µl), 9,9 µl H₂O khử ion. Chu kỳ nhiệt phản ứng PCR như sau: 95°C trong 5 phút; 35 chu kỳ gồm: [biến tính ở 94°C trong 1 phút, T_m trong 1 phút (T_m là nhiệt độ gắn mỗi đặc hiệu của từng mỗi SSR sử dụng) và kéo dài ở 72°C trong 1 phút]; kết thúc ở 72°C trong 5 phút, bảo quản sản phẩm PCR ở 4°C.

- *Điện di và kiểm tra sản phẩm PCR*: 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 bp.

- *Phương pháp phân tích và 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 mẫu giống được thiết lập bằng phần mềm NTSYSpC 2.1X theo phương pháp của Rohlf (2000) [13].

Mức độ đa dạng của locut SSR được đánh giá bằng hệ số PIC (Polymorphism information content) được tính toán theo phương pháp của Mohammadi và Prasanna (2003) [14] như sau:

$$PIC = 1 - \sum p_i^2$$
 (p_i: tần số xuất hiện của alen thứ i)

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

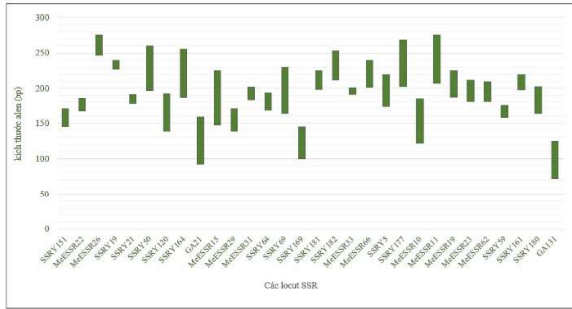
- Thời gian nghiên cứu: Năm 2021 – 2022.

- 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, thành phố Hà Nội.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự đa hình của các chỉ thị SSR với các mẫu giống sắn nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, các mẫu lá sắn của 200 mẫu giống sắn địa phương được sử dụng để tách ADN tổng số, kết quả thu được tất cả các mẫu ADN tách chiết đều có tỷ lệ OD260/OD280 nằm trong khoảng 1,8 - 2,0; nồng độ ADN dao động từ 311,6 - 488,4 ng/µl, chứng tỏ ADN nguyên vẹn, độ tinh sạch cao, chất lượng đủ tiêu chuẩn thực hiện các phản ứng PCR tiếp theo.

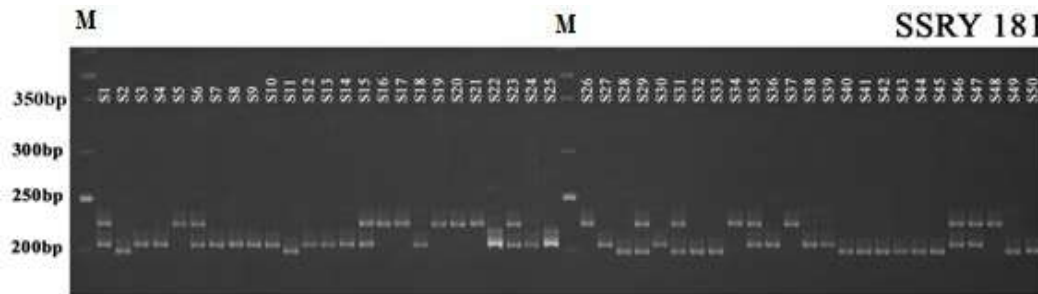


Hình 1. Biến động kích thước của các alen tại 30 locus SSR nghiên cứu

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền 200 mẫu giống sắn địa phương nghiên cứu bằng 30 chỉ thị SSR cho thấy, kích thước sản phẩm PCR là các băng có kích thước dao động từ 72 bp (GA131)

đến 275 bp (MeESSR26). Sai khác về kích thước các alen của cùng một locus dao động từ 9 - 78 bp (Hình 1).

Kết quả phân tích 30 locus thu được tổng số 111 alen, toàn bộ alen thu được đều là alen đa hình. Số alen đa hình tại mỗi locus biến động từ 2 - 5 alen, trung bình đạt 3,7 alen/locus. Có 18 chỉ thị cho đa hình cao (> 3 alen/locus), trong đó có 6 chỉ thị (MeESSR15, MeESSR29, MeESSR66, MeESSR11, MeESSR19, SSRY182) cho 5 alen. Trong số các chỉ thị còn lại có 9 chỉ thị (MeESSR22, MeESSR26, MeESSR33, SSRY21, SSRY120, SSRY180, SSRY5, SSRY177, SSRY161) cho 3 alen và có 3 chỉ thị (SSRY19, SSRY59, SSRY169) cho 2 alen (Bảng 2).



Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm PCR của một số mẫu giống sắn bằng chỉ thị SSRY181 trên gel polyacrylamide 8%

Hệ số PIC thu được tại 30 locus SSR nghiên cứu dao động từ 0,34 (SSRY21) đến 0,79 (MeESSR66), trung bình đạt 0,62. Có đến 22 mẫu cho tính đa hình cao, với giá trị PIC $\geq 0,5$ (chiếm 83,33%), trong đó hệ số PIC cao nhất ở locus MeESSR66 đạt 0,79, tiếp đến là MeESSR29, SSRY182, SSRY64 có hệ số PIC lần lượt đạt 0,76; 0,75; 0,74. Theo DeWoody và cs (1995) [15], các mẫu SSR có hệ số PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của mẫu. Kết quả

thu được cho thấy, mức độ đa dạng của các alen ở các mẫu giống sắn địa phương trong nghiên cứu này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Adjebeng-Danquah và cs (2020) [9], khi sử dụng 35 chỉ thị SSR để đánh giá 89 giống sắn thu thập từ Ghana với hệ số PIC trung bình đạt 0,45, tuy nhiên thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Paredes và cs (2021) [16], khi sử dụng 7 chỉ thị SSR đánh giá 133 mẫu giống sắn thu thập từ Ecuador thu được hệ số PIC là 0,67.

Bảng 2. Đa hình các locus SSR ở các mẫu giống sắn nghiên cứu

STT	Tên mẫu	Số alen	Kích thước alen nhỏ nhất (bp)	Kích thước alen lớn nhất (bp)	Hệ số PIC
1	SSRY151	4	145	170	0,72
2	MeESSR22	3	167	185	0,51
3	MeESSR26	3	247	275	0,66
4	SSRY19	2	227	240	0,47
5	SSRY21	3	177	192	0,34
6	SSRY50	4	197	260	0,67
7	SSRY120	3	139	193	0,64

STT	Tên mồi	Số alen	Kích thước alen nhỏ nhất (bp)	Kích thước alen lớn nhất (bp)	Hệ số PIC
8	SSRY164	4	187	255	0,72
9	GA21	4	92	159	0,67
10	MeESSR15	5	147	225	0,73
11	MeESSR29	5	139	170	0,76
12	MeESSR31	4	183	202	0,65
13	SSRY64	4	168	194	0,74
14	SSRY69	4	163	230	0,74
15	SSRY169	2	100	145	0,5
16	SSRY181	3	199	225	0,67
17	SSRY182	5	212	253	0,75
18	MeESSR33	3	192	201	0,66
19	MeESSR66	5	202	240	0,79
20	SSRY5	3	173	220	0,53
21	SSRY177	3	203	268	0,52
22	MeESSR10	4	122	184	0,63
23	MeESSR11	5	207	275	0,72
24	MeESSR19	5	188	225	0,63
25	MeESSR23	4	180	212	0,53
26	MeESSR62	4	180	210	0,74
27	SSRY59	2	158	175	0,36
28	SSRY161	3	198	220	0,36
29	SSRY180	4	163	203	0,58
30	GA131	4	72	125	0,69
Tổng số alen: 111 alen					
Số alen thấp nhất: 2 alen				Hệ số PIC thấp nhất: 0,34	
Số alen trung bình: 3,7 alen/locut				Hệ số PIC trung bình: 0,62	
Số alen cao nhất: 5 alen				Hệ số PIC cao nhất: 0,79	

3.2. Mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống sản nghiên cứu

Quan hệ di truyền giữa 200 mẫu giống sản địa phương được thống kê và phân tích UPGMA bằng phần mềm NTSYSpc2.1, từ đó thiết lập ma trận tương đồng di truyền của các mẫu giống sản và cây phân nhóm di truyền. Dựa vào số liệu ma trận tương đồng giữa các mẫu giống sản nghiên cứu có thể xác định được mối tương đồng di truyền của từng cặp giống. Các mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền càng gần tới 1 thì càng giống nhau về mặt di truyền, còn các mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền gần tới 0 thì chúng càng xa nhau về di truyền. Hệ số tương đồng di truyền thấp nhất ở mức 0,45 xuất hiện ở cặp mẫu giống

S163 và S128; hệ số tương đồng cao nhất ở mức 0,90 xuất hiện ở cặp mẫu S82 và S83.

Sơ đồ hình cây cho thấy, mức tương đồng di truyền của cả nhóm giống sản nghiên cứu biến động từ 0,45 - 0,90. Kết quả này cho thấy, tập đoàn các mẫu giống nghiên cứu có sự khác biệt di truyền từ 10 - 55%. Tại mức tương đồng di truyền 0,626 thì 200 mẫu giống được phân tách thành 6 nhóm chính: I, II, III, IV, V, VI (Hình 3).

Nhóm I gồm 5 mẫu giống (S1, S52, S55, S167, S121) có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,70 - 0,81. Trong đó, cặp mẫu giống S55 và S167 có hệ số tương đồng cao nhất là 0,81 và được thu thập tại 2 vùng sinh thái khác nhau nhưng cùng biểu hiện một số đặc điểm hình thái ở màu lá non,

lông ở lá non, màu sắc cuống lá, sự phân bố sắc tố ở cuống lá, tập tính sinh trưởng ở thân non.

Nhóm II gồm 152 mẫu giống, ở mức tương đồng 0,634, được phân tách thành 2 phân nhóm II-a (138 mẫu giống) và II-b (14 mẫu giống). Nhóm phụ II-a gồm 138 mẫu giống, có hệ số tương đồng dao động từ 0,636 - 0,90, trong đó có cặp mẫu giống S82 và S83 được thu thập ở tỉnh Cao Bằng có hệ số tương đồng di truyền cao nhất 0,90, nhưng cặp mẫu giống này vẫn có sự khác nhau ở đặc điểm hình dạng củ (mẫu S82 củ hình nón trụ và mẫu S83 củ hình trụ). Tiếp đến, cặp mẫu giống S29 được thu thập tại tỉnh Quảng Trị và S79 được thu thập tại tỉnh Thái Nguyên có hệ số tương đồng là 0,87, cặp mẫu giống này khá tương đồng nhau về đặc điểm hình thái lá, thân củ và khác nhau về dạng của thùy trung tâm, màu sắc cuống lá, sự phân bố sắc tố ở cuống lá, màu sắc thân, sự hình thành cuống ở củ, độ xù xì bề mặt củ, màu sắc của vỏ lụa. Nhóm phụ II-b gồm 14 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,639 - 0,82, trong đó cặp mẫu S96 được thu thập tại tỉnh Thái Nguyên và S110 được thu thập tại tỉnh Lào Cai có hệ số tương đồng cao nhất là 0,82, tiếp đến cặp mẫu S160 và S161 được thu thập tại tỉnh Tiền Giang có hệ số tương đồng là 0,76, cặp mẫu S110 và S184 được thu thập từ tỉnh Lào Cai có hệ số tương đồng là 0,72 và cặp mẫu giống S16 và S71 được thu thập từ tỉnh Đồng Nai có hệ số tương đồng là 0,69.

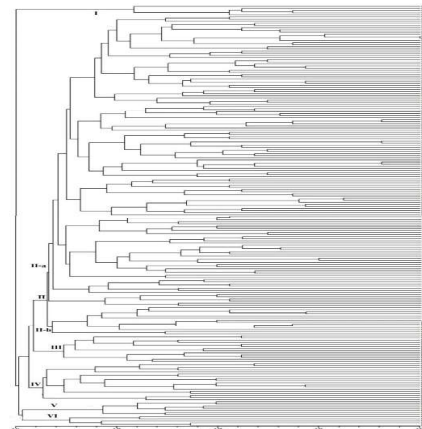
Nhóm III gồm 13 mẫu giống có hệ số tương đồng dao động từ 0,65 - 0,77. Nhóm này có 3 cặp mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền đều là 0,77, trong đó chỉ có cặp S46 và S47 được thu thập từ tỉnh Tây Ninh; 2 cặp mẫu giống còn lại được thu thập từ các địa phương khác nhau: S13 (tỉnh Đồng Nai) và S197 (tỉnh Quảng Ngãi), S93 (tỉnh Phú Thọ) và S123 (tỉnh Quảng Ninh).

Nhóm IV gồm 18 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,63 - 0,82. Trong nhóm này có cặp mẫu giống S174 và S175 có hệ số tương đồng cao nhất là 0,82 được thu thập từ tỉnh Hà Tĩnh và Quảng Ninh.

Nhóm V gồm 7 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,68 - 0,76. Trong đó, có 01 mẫu giống thu thập ở Tây Bắc (S193 ở tỉnh

Điện Biên), 2 mẫu được thu thập từ vùng Đông Bắc (S109 ở tỉnh Lào Cai, S132 ở tỉnh Cao Bằng), 3 mẫu giống được thu thập từ vùng Nam Trung bộ (S33 ở thành phố Đà Nẵng, S51 ở tỉnh Bình Định, S196 ở tỉnh Quảng Ngãi) và Tây Nam bộ (S163 ở tỉnh Tiền Giang). Nhóm này các mẫu giống có một số đặc điểm hình thái tương đồng nhau, như cây non có tập tính sinh trưởng thẳng, hướng đỉnh của củ nằm ngang...

Nhóm VI gồm 5 mẫu giống sản địa phương còn lại (S42, S97, S186, S198, S200), có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,65 - 0,74. Trong đó, cặp mẫu giống S198 và S200 có hệ số tương đồng di truyền lớn nhất là 0,74, với nguồn gốc thu thập khác nhau tương ứng là tỉnh Quảng Ngãi và Yên Bái.



Hình 3. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 200 mẫu giống sản địa phương nghiên cứu bằng 30 chỉ thị SSR

Như vậy, qua phân tích đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử SSR nhận thấy, các mẫu giống sản nghiên cứu phân tách thành các nhóm tương đồng về một số đặc điểm hình thái chính nhiều hơn là dựa vào sự phân bố địa lý của chúng. Phần lớn các mẫu giống tương đồng về đặc điểm hình thái (màu sắc và hình dạng lá, thân, củ) có xu hướng nằm cùng một nhóm, điều này chứng tỏ chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu đã giúp đánh giá đa dạng di truyền và xác định mối quan hệ di truyền giữa các nhóm mẫu giống sản nghiên cứu. Kết quả này sẽ làm cơ sở cho việc phân loại, nhận dạng các nguồn gen phục vụ công tác bảo tồn, đồng thời xác định các cặp mẫu giống có ưu thế lai phục vụ công tác chọn tạo giống sản mới.

4. KẾT LUẬN

Kết quả sử dụng 30 chỉ thị SSR trong nghiên cứu đa dạng di truyền 200 mẫu giống sắn địa phương đã thu được kích thước sản phẩm PCR nằm trong khoảng từ 72 - 275 bp. Sai khác về kích thước các alen của cùng một locut dao động từ 9 - 78 bp. Tổng số alen thu được tại 30 locut SSR là 111 alen, số alen dao động từ 2 - 5 alen, trung bình 3,7 alen/locut, có 6 chỉ thị cho 5 alen, hệ số thông tin đa hình PIC thu được dao động từ 0,34 - 0,79, trung bình là 0,62.

Tập đoàn mẫu giống nghiên cứu có hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu giống dao động từ 0,45 - 0,9 và tại mức tương đồng di truyền 0,626, 200 mẫu giống được chia thành 6 nhóm. Nhóm I gồm 5 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,70 - 0,81; nhóm II gồm 152 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,634 - 0,90; nhóm III gồm 13 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,65 - 0,77; nhóm IV gồm 18 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền cao nhất 0,82; nhóm V gồm 7 mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền từ 0,68 - 0,76; nhóm VI gồm 5 mẫu giống còn lại có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,74. Kết quả phân nhóm nguồn gen trong nghiên cứu sẽ là những thông tin có ý nghĩa cho chương trình chọn tạo giống sắn ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Awogbemi, O., Von Kallon, D. V., Onuh, E. I. & Aigbodon, V. S. (2021). An overview of the classification, production and utilization of biofuels for internal combustion engine applications. *Energies*, 14(18), 5687. <https://doi.org/10.3390/en14185687>.
2. Morato, T., Vaezi, M. & Kumar, A. (2019). Assessment of energy production potential from agricultural residues in Bolivia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 102, 14 – 23. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.032>.
3. Tổng cục Thống kê (2023). Số liệu thống kê nông, lâm nghiệp và thủy sản. <http://www.gso.gov.vn/nong-lam-nghiep-va-thuy-san/>. Truy cập ngày 25 tháng 7 năm 2024.
4. Kalia R K, Rai M K, Kalia S, Singh R, Dhawan AK (2011). Microsatellite markers: An

overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3): 309 - 334.

5. Singh R B, Singh B, Singh R K (2019). Development of potential dbEST-derived microsatellite markers for genetic evaluation of sugarcane and related cereal grasses. *Industrial Crops and Products*, 128: 38 - 47.

6. Raji A. A., Anderson J. V., Kolade O. A., Ugwu C. D., Dixon A. G. & Ingelbrecht I. L. (2009). Gene-based microsatellites for cassava (*Manihot esculenta* Crantz): prevalence, polymorphisms and cross-taxa utility. *BMC Plant Biology*, 9: 1 - 11.

7. Mba R., Stephenson P., Edwards K., Melzer S., Nkumbira J., Gullberg U., Apel K., Gale M., Tohme J. & Fregene M. (2001). Simple sequence repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 21 - 31.

8. Rocha V. P. C., Gonçalves-Vidigal M. C., Ortiz A. H. T., Valentini G., Ferreira R. C. U., Gonçalves T. M., Lacanallo G. F. & Vidigal Filho P. S. (2020). Population structure and genetic diversity in sweet cassava accessions in Paraná and Santa Catarina, Brazil. *Plant Molecular Biology Reporter*, 38: 25 - 38.

9. Adjebeng-Danquah J., Manu-Aduening J., Asante I. K., Agyare R. Y., Gracen V. & Offei S. K. (2020). Genetic diversity and population structure analysis of Ghanaian and exotic cassava accessions using simple sequence repeat (SSR) markers. *Heliyon*, 6(1).

10. Beovides Y., Fregene M., Gutiérrez J. P., Milián M. D., Coto O., Buitrago C., Cruz J. A., Ruiz E., Basail M. & Rayas A. (2015). Molecular diversity of Cuban cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars assessed by simple sequences repeats (SSR). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 19(4), 364 - 377.

11. Gonçalves T. M., Vidigal Filho P. S., Vidigal M. C. G., Ferreira R. C. U., Rocha V. P. C., Ortiz A. H. T., Moiana L. D. & Kvitschal M. V. (2017). Genetic diversity and population structure of traditional sweet cassava accessions from Southern of Minas Gerais State, Brazil, using

microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 16(8): 346 - 358.

12. Fjellstrom, R., C. A. Conaway-Bormans, A. M. McClung, M. A. Marchetti, A. R. Shank and W. D. Park. (2004). Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three Pi genes conferring resistance to multiple *Pyricularia grisea* pathotypes. *Crop Sci*, 44: 1790 – 1798.

13. Rohlf F. J. (2000). NTSYS-Pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. *Exeter Publishing Ltd*, 1, version 2.1, New York, USA.

14. 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.

15. DeWoody J. A., R. L. Honeycutt, L. C. Skow (1995). Microsatellite markers in white-tailed deer. *J. Hered.*, 86: 317 - 319.

16. Paredes N., Alulema V., Lima L., Sørensen M. & Monteros-Altamirano A. (2021). Genetic diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ecuador by using SSR markers. *Preprints*. Posed: 26 October 2021, 15 pages.

MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) LANDRACES IN VIETNAM USING SSR MARKERS

Le Thi Thu Trang¹, Dam Thi Thu Ha¹, Nguyen Manh Diep¹,

La Tuan Nghia¹, Hoang Thi Hue¹, La Hoang Nhat Minh²

¹ *Plant Resources Center*

² *University of Science and Technology of Hanoi*

Summary

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the important food crops with high genetic potential. Therefore, the knowledge of genetic variability would be of great importance for effective use in genetic improvement programs. This study aims to evaluate the genetic diversity of 200 cassava accessions using 30 microsatellite markers (SSR). The results revealed that the total number of alleles detected in 30 loci was 111 with an average of 3.7 alleles per locus. Polymorphic information content (PIC) values varied from 0.34 to 0.79 with an average of 0.62. The genetic similarity coefficient within the ranges from 0.45 to 0.90. At a genetic similarity coefficient of 0.626, 200 cassava accessions were divided into six groups: group I consisted of 5 cassava accessions with genetic similarity coefficient ranging from 0.70 to 0.81; group II consisted of 152 cassava accessions with genetic similarity coefficient ranging from 0.634 to 0.90; group III consisted of 13 cassava accessions with genetic similarity coefficient ranging from 0.65 to 0.77; group IV consisted of 18 cassava accessions with the highest genetic similarity coefficient of 0.82; group V consisted of 7 cassava accessions with genetic similarity coefficient ranging from 0.68 to 0.76 and group VI consisted of 5 cassava accessions with the highest genetic similarity coefficient of 0.74. These results will be meaningful information for the cassava breeding project in Vietnam.

Keywords: *Cassava, genetic diversity, SSR markers.*

Ngày nhận bài: 19/9/2024

Ngày chuyển phản biện: 3/10/2024

Ngày thông qua phản biện: 22/10/2024

Ngày duyệt đăng: 15/11/2024