

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN CÁC GIỐNG SẴN (*Manihot esculenta* Crantz) DỰA VÀO ĐA HÌNH TRÌNH TỰ GEN *GBSSI*

Nguyễn Phương Thảo¹, Nguyễn Chi Mai², Phan Minh Tuấn²,
Trần Mỹ Linh³, Lê Quỳnh Liên³, Lê Quang Trung^{2,4}, Nguyễn Tường Vân^{5*}

¹Trường Đại học Quốc tế thành phố Hồ Chí Minh

²Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

³Viện Hóa sinh Biển, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

⁴Viện An toàn Thực phẩm

⁵Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *vanngtg@gmail.com

TÓM TẮT: *GBSSI* (Granule bound starch synthase 1) là gen điều khiển sinh tổng hợp tinh bột ở cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) và đa dạng alen của gen phản ánh đa dạng về năng suất và chất lượng tinh bột. Trong nghiên cứu này đa dạng di truyền của tập đoàn giống sắn đang lưu giữ được đánh giá dựa vào đa hình trình tự ADN dọc đoạn đích trên gen *GBSSI* của 14 giống đại diện trong 44 giống sắn đã được đánh giá bằng chỉ thị SSR. Kết quả phân tích dựa vào giá trị bootstrap trên cây phát sinh chủng loại theo phương pháp Neighbor Joining, dựa vào hệ số di truyền trên phần mềm DNAsp4.10.9 và dựa vào đột biến điểm dọc đoạn đích 612bp trên gen *GBSSI* của các giống sắn nghiên cứu đều phản ánh đa dạng di truyền cao và phù hợp với kết quả đánh giá bằng chỉ thị SSR. Các giống sắn được phân thành 3 nhánh tách biệt trên cây chủng loại theo tỷ lệ tinh bột và năng suất củ tươi trung bình đặc trưng của từng nhóm. Giữa các nhóm có giá trị bootstrap từ 53-99% và khác biệt di truyền tin cậy ($K_{st}=0,74$, $\chi^2=28$; $P=0,036$) với số lượng alen ($A=9$) và đa dạng alen ($A_d=0,91$) cao. Mỗi nhóm sắn có 2-5 alen đặc trưng. Kết quả nghiên cứu có thể áp dụng để đánh giá hiệu quả công tác lưu giữ nguồn gen các giống sắn. Các alen đặc trưng của từng nhóm có thể sử dụng kết hợp với chỉ thị SSR liên quan làm cơ sở để chọn lọc hiệu quả các dòng sắn có tỷ lệ tinh bột cao.

Từ khóa: Quần thể sắn, *Manihot esculenta*, đa dạng di truyền, đa hình trình tự gen *GBSSI*.

MỞ ĐẦU

Sắn, *Manihot esculenta* Crantz, là một trong các cây lương thực quan trọng. Củ sắn cung cấp tinh bột, lá sắn chứa nhiều vitamin A, B, C và một số chất khoáng. Để nâng cao hiệu quả kinh tế của sắn, các tính trạng như hàm lượng tinh bột và năng suất củ tươi trong các quần thể chọn lọc luôn được đánh giá để duy trì ổn định đa dạng di truyền, làm cơ sở chọn ra các dòng nguyên liệu lai tạo [6]. Đa dạng di truyền của sắn có thể được đánh giá dựa vào đa hình chiều dài sản phẩm PCR như những chỉ thị phân tử. Trong số đó, chỉ thị SSR đang được áp dụng hiệu quả [6, 10]. Một số vị trí xác định bằng mỗi SSR trên nhiễm sắc thể của sắn đã được chứng minh là các chỉ thị phân tử liên quan đến tính trạng chọn lọc như năng suất củ tươi, hàm lượng chất khô và tỷ lệ tinh bột của sắn [2, 4]. Trên thực tế, để tăng mức tin cậy về đa dạng di truyền của quần thể, 2-3 chỉ thị phân tử cho một tính trạng chọn lọc cần phải cùng lúc được

nghiên cứu và áp dụng [1]. Bên cạnh chỉ thị SSR, đa dạng di truyền về tính trạng chọn lọc của sắn có thể được đánh giá dựa vào đa hình trình tự ADN của một số gen đích qui định tính trạng này. Đến nay, 2 gen qui định năng suất và chất lượng tinh bột của sắn (*GBSSI* và *GBSS2* - granule-bound starch synthase 1 và 2) đã được phân lập và giải trình tự [5, 9]. Trong đó, *GBSSI* đã được nghiên cứu chi tiết về cấu trúc, chức năng và mức đa hình về trình tự [1, 5]. Đây là cơ sở để nghiên cứu đa dạng di truyền về năng suất và chất lượng tinh bột của các giống sắn khác nhau dựa vào phân tích trình tự của gen đích.

Năng suất sắn củ tươi ở Việt Nam đạt trung bình khoảng 18 tấn/ha. Trong đó một số tổ hợp sắn lai cho năng suất từ 35-44 tấn/ha và tỷ lệ tinh bột từ 27-30% [3]. Gần đây, Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc thuộc Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam phối hợp với tổ chức liên

quan khác trong nước và quốc tế đã thu thập, xây dựng và lưu giữ được tập đoàn hàng trăm giống sắn làm nguyên liệu để chọn lọc và lai tạo ra các dòng triển vọng với năng suất củ tươi và tỷ lệ tinh bột cao. Trong các hoạt động lưu giữ và chọn tạo giống, đánh giá đa dạng di truyền của các giống sắn trong tập đoàn áp dụng công nghệ ADN giữ vai trò tiên quyết. Ứng dụng một số chỉ thị SSR, Nguyễn Hữu Hỷ và nnk. (2013) [3] đã đánh giá được đa dạng di truyền tính trạng năng suất củ tươi của 19 giống sắn trong tập đoàn các giống sắn thu thập. Dựa vào 19 chỉ thị SSR, đa dạng di truyền cao của các tính trạng năng suất củ tươi và tỷ lệ tinh bột của 44 giống sắn trong tập đoàn đã tiếp tục được đánh giá [11]. Trong công bố này, đa hình chiều dài sản phẩm SSR-PCR đã nhóm các đại diện của 44 giống sắn trong tập đoàn thành 3 nhóm chính với 8 nhóm phụ trên cây chùng loại theo tỷ lệ tinh bột và năng suất củ tươi sai khác tin cậy về thống kê. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để đánh giá đa dạng di truyền về tính trạng chọn lọc của các quần thể trong tập đoàn lưu giữ nguồn gen sắn. Trong nghiên cứu tiếp theo này của chúng tôi, đa dạng di truyền của các giống sắn trong cùng tập đoàn được đánh giá dựa vào đa hình trình tự ADN đọc

đoạn đích trên gen *GBSSI* của 14 giống đại diện chọn ra từ 44 giống đã được đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị SSR. Nghiên cứu này lần đầu tiên được thực hiện, nhằm mục đích: 1) bổ sung chỉ thị phân tử được sử dụng để đánh giá kết quả lưu giữ giống sắn và 2) kết hợp với chỉ thị SSR liên quan đã nghiên cứu làm cơ sở chọn lọc hiệu quả các dòng sắn mang các tính trạng chọn lọc phục vụ sản xuất trong thời gian tới.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng ADN tổng số được tách từ lá khô của 14 giống trong 3 nhóm chính với 8 nhóm phụ của 44 giống sắn đã được phân tích đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị SSR [11]. Mỗi nhóm hoặc nhóm phụ chọn 2 đại diện. Năng suất củ tươi trung bình (kg/5 gốc) và tỷ lệ tinh bột trung bình (%) giảm dần từ nhóm 1 đến nhóm 3. Trong đó, 2 đại diện của nhóm 1 có năng suất củ tươi (24, 25 kg/5 gốc) và tỷ lệ tinh bột trung bình (25,20%) cao nhất. Giá trị của 2 chỉ tiêu này của nhóm 2 ở mức thấp hơn (11,32 kg/5 gốc và 22,93%). Các đại diện của nhóm 3 có giá trị về 2 chỉ tiêu thấp nhất (8,71 kg/5 gốc và 19,94%). Hai giá trị này giữa các nhóm có sai khác tin cậy về thống kê. Chi tiết về 14 giống sắn của nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của các nhóm sắn nghiên cứu

Tên nhóm và nhóm phụ	Tên các giống	Năng suất củ tươi trung bình (kg/ 5 gốc)*	Tỷ lệ tinh bột trung bình (%)*
Nhóm 1: 2 giống			
Nhóm phụ 1.1	08SA06	24,25	25,20
Nhóm phụ 1.2	KM316_3		
Nhóm 2: 6 giống			
Nhóm phụ 2.1	NA1; KM98_7	11,32	22,93
Nhóm phụ 2.2	KM302_3; KM304_1		
Nhóm phụ 2.3	KM301_6; KM303_6		
Nhóm 3: 6 giống			
Nhóm phụ 2.1	KM937_26; KM419	8,71	19,94
Nhóm phụ 2.2	KM299_3; KM302_14		
Nhóm phụ 2.3	KM76; KM80		

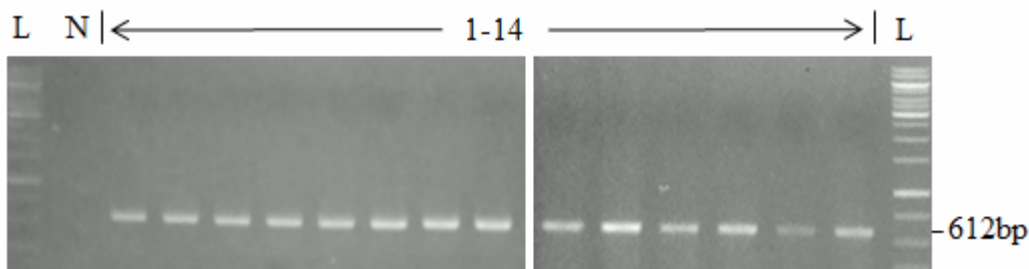
* Sai khác tin cậy về thống kê (Nguyễn Phương Thảo và nnk., 2015).

Đoạn đích trên gen *GBSSI* có chiều dài khoảng 600bp được nhân bản bằng Kit PCR của hãng Thermo (Đức) với cặp mồi nhân GBSS_F1 (5'-CTATCACTCC CAATGGTTTA AG-3') và GBSS_R1 (5'-CCTTCTCAAG GAACATTGG ATG-3'). Cặp mồi được thiết kế trên phần mềm DNAMAN4.15 từ 2 đầu của vùng mã hóa 1 và 3 (exon 1 và exon 3) của gen *GBSSI*. Sản phẩm PCR bao gồm 1 phần trình tự của exon 1 và 3, toàn bộ exon 2 và toàn bộ 2 vùng không mã hóa 1 và 2 (intron 1 và intron 2). Chu trình PCR gồm 1 chu kỳ biến tính ban đầu 95°C trong 3 phút, tiếp tục 30 chu kỳ: 95°C, 0,5 phút; 52°C, 0,5 phút; 72°C, 1 phút; kết thúc chu kỳ cuối ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được chạy trên gel agarose 1%, nhuộm bằng Ethidium bromide (0,5 µg/ml), quan sát dưới đèn UV và so sánh kích thước với thang ADN chuẩn (Invitrogen™, GeneRuler). Sản phẩm PCR được gắn vào vector pTZ57R/T (Thermo, Đức), nhân dòng trong vi khuẩn *E. coli* DH5α. Plasmid ADN được tách bằng kit Gene JET™ Plasmid

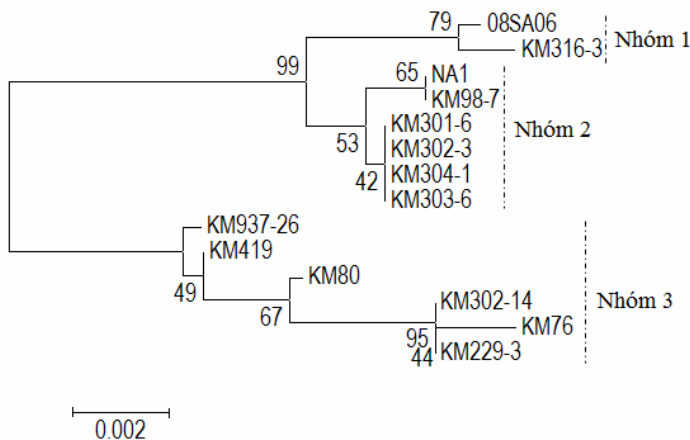
Miniprep Kit và giải trình tự nucleotide 2 chiều sử dụng cặp mồi M13 tại Macrogen (Korea). Phần mềm Mega3.1 và DnaSp 4.10.9 được sử dụng để phân tích đa hình trình tự ADN đoạn đích trên gen *GBSSI* của 14 dòng sắn. Kết quả phân tích của hai phần mềm sẽ phản ánh đa dạng di truyền trong quần thể sắn dựa vào các chỉ số: 1) số lượng nhóm được tạo ra trên cây chủng loại khi phân tích bằng Neighbor Joining (Mega3.1) với độ tin cậy về di truyền theo giá trị bootstrap; 2) số lượng alen (*A*), đa dạng alen (*A_d*) và khác biệt di truyền giữa các nhóm trong quần thể (*K_{st}*) với độ tin cậy về di truyền dựa vào giá trị của χ^2 và *P* của χ^2 được tính toán trên DnaSp 4.10.9.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả nhân bản đoạn đích trên gen *GBSSI* bằng PCR từ ADN tổng số của 14 mẫu sắn với cặp mồi GBSS_F1 và GBSS_R1 được trình bày ở hình 1. Đoạn đích trên gen *GBSSI* của các mẫu sắn sau khi giải trình tự ADN có chiều dài 612bp.



Hình 1. Kết quả nhân bản bằng PCR từ ADN tổng số của 14 mẫu sắn với cặp mồi GBSS_F1 và GBSS_R1. 1-14: thứ tự 14 mẫu sắn (bảng 1). N: đối chứng âm; 612bp: chiều dài sản phẩm PCR; L: thang chuẩn ADN (Invitrogen™, GeneRuler).



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại dựa vào đa hình trình tự đoạn 612bp trên gen *GBSSI* của 14 giống sắn. NA1 đến KM316-3: đại diện của 14 giống sắn. Số ở các góc nhánh (44-99): giá trị bootstrap tính bằng %

Kết quả phân tích theo phương pháp Neighbor Joining trên Mega3.1 cho thấy, đa hình trình tự ADN của đoạn đích 612bp đã nhóm các mẫu đại diện cho 14 giống sắn thành 3 nhánh với giá trị thống kê gốc nhánh bootstrap từ 53-99% (hình 2). Các nhánh tách biệt theo tỷ lệ tinh bột và năng suất củ tươi trung bình của các nhóm (bảng 1). Mỗi nhóm được phân thành các nhóm phụ. Trong đó, nhóm 1 có 2 đại diện; nhóm 2 có 6 đại diện chia thành 2 nhóm phụ với giá trị bootstrap từ 42-65%. Nhóm 3 gồm 6 đại diện và thể hiện đa dạng di truyền cao nhất gồm 4 nhóm phụ với giá trị bootstrap từ 44-95%.

Kết quả phân tích một số hệ số di truyền dựa vào đa hình trình tự ADN của đoạn đích trên gen *GBSSI* của các giống sắn nghiên cứu cho thấy quần thể sắn có đa dạng di truyền cao với 9 alen và đa dạng alen (A_d) là 0,91 (bảng 2). Kết quả ở bảng 2 phù hợp với kết quả phân tích bằng cây chủng loại ở hình 2. Giữa ba nhóm sắn có giá trị bootstrap tới 53-99% trên cây chủng loại vì giữa chúng có khác biệt di truyền cao ($K_{st}=0,74$) với độ tin cậy về thống kê ($\chi^2=28$ với P của $\chi^2=0,036$). Trong mỗi nhóm sắn cũng có đa dạng di truyền cao với số alen/nhóm (A) từ 2-5 và đa dạng alen trong nhóm (A_d) từ 0,53-1,00.

Bảng 2. Một số hệ số di truyền và khác biệt di truyền giữa 3 nhóm sắn

Nhóm	S	A	A_d
Nhóm 1	2	2	1,00
Nhóm 2	6	2	0,53
Nhóm 3	6	5	0,93
Tổng số	14	9	0,91
Khác biệt di truyền giữa 3 nhóm		$K_{st} = 0,74$ ($\chi^2=28$; $P = 0,036$)	

S: số lượng trình tự ADN; A: số lượng alen; A_d : đa dạng alen; K_{st} : khác biệt di truyền giữa 3 nhóm.

	23334444 44445	
	6790235666 67773	
	3198014234 62466	
	TTATGCATT ACTCA -M	
A1.1 08SA06	Nhóm 1
A1.2 KM316-3	..G.....	
A2.1 NA1	C.G..T.... .T...	Nhóm 2
KM98-7	C.G..T.... .T...	
A2.2 KM301-6	C....T.... .T...	
KM302-3	C....T.... .T...	
KM304-1	C....T.... .T...	Nhóm 3
KM303-6	C....T.... .T...	
A3.1 KM76	.A.CATTAAA TT-TG	
A3.2 KM229-3	.A.CATTAAA .T-TG	
KM302-14	.A.CATTAAA .T-TG	
A3.3 KM80	...C.TTAAA .T.TG	
A3.4 KM419	.A.C.TT-AA .T.T.	
A3.5 KM937-26	.A.C.TT-AA .T.T.	
	2 3 13 33 1 3 -ĐBĐĐT	

Hình 3. Các alen và các đột biến điểm đặc trưng dọc đoạn đích 612bp trên gen *GBSSI* của 3 nhóm sắn. A1.1-A3.5: 9 alen đặc trưng của các nhóm. M: Trình tự mẫu với 15 nucleotide như trình tự của A.1.1; 63-536 phía trên hình: vị trí các đột biến điểm trên đoạn đích 612bp; 1-3 phía dưới hình: ký hiệu đột biến điểm đặc trưng (ĐBĐĐT) của các nhóm sắn 1, 2 và 3.

Ngoài ra, kết quả phân tích các đột biến điểm đã phản ánh kết quả phân tích bằng cây chủng loại (hình 2) và hệ số di truyền (bảng 2). Các đại diện của 14 giống sắn được phân thành 3 nhóm với hệ số di truyền cao là do 15 điểm đột biến với 8 điểm đặc trưng cho từng nhóm trên đoạn đích 612bp của gen *GBSSI* để tạo thành 9 alen điển hình cho 3 nhóm (hình 3).

Nhóm 1 có độ tin cậy về di truyền với nhóm 2 và 3 trên cây chủng loại (hình 2) là do 2 điểm đột biến tại vị trí 331 và 472 (C-T) với 2 alen A1.1-A1.2. Nhóm 2 gồm 2 alen A2.1-A2.2 với 1 đột biến điểm đặc trưng tại vị trí 63 (C-T). Năm điểm đột biến đặc trưng tại các vị trí 308 (C-T), 454 (T-A), 463 (A-T), 464 (A-T) và 476 (T-C) với 5 alen A3.1-A3.5 đã tách các đại diện

của nhóm 3 xa các đại diện của nhóm 1 và 2 với giá trị bootstrap tới 99% như thể hiện ở hình 2.

Như vậy, trong cả 3 phương pháp phân tích: bằng cây phát sinh chủng loại, dựa vào hệ số di truyền và dựa vào đột biến điểm dọc đoạn đích 612bp trên gen *GBSSI* của 14 giống sắn trong nghiên cứu này đều cho thấy quần thể sắn có đa dạng di truyền cao. Các giống sắn được phân thành 3 nhóm với khoảng cách di truyền (hình 2) và khác biệt di truyền tin cậy (bảng 2); trong mỗi nhóm có từ 2-5 alen đặc trưng (hình 3). Kết quả này phù hợp với kết quả phân tích đa dạng di truyền liên quan đến tỷ lệ tinh bột trong cùng quần thể sắn dựa vào chỉ thị SSR của Nguyễn Phương Thảo và nnk. (2015) [11]. Trong nghiên cứu của các tác giả này, đa hình chiều dài của SSR-PCR tạo thành 19 chỉ thị cũng phân đại diện của 44 giống sắn, trong đó có 14 giống được chọn và sử dụng trong nghiên cứu này (xem phần Phương pháp), thành 3 nhóm trên cây chủng loại với độ tin cậy về di truyền và các nhóm này có tỷ lệ tinh bột và năng suất củ tươi sai khác tin cậy về thống kê (bảng 1). Đa dạng di truyền theo nhóm sắn tương quan với năng suất tinh bột của chúng (bảng 1, hình 2) có lẽ phù hợp với một số công trình nghiên cứu trên thế giới về chức năng và thuộc tính của gen *GBSSI* ở sắn. Theo Salehuzzaman et al. (1993) [10] và Opabode et al. (2011) [5], *GBSSI* là gen điều khiển sinh tổng hợp tinh bột của sắn và đa dạng alen của gen *GBSSI* phản ánh đa dạng về năng suất và chất lượng tinh bột của chúng [1].

Đa hình trình tự đoạn đích của *GBSSI* trong nghiên cứu này chủ yếu ở vùng không mã hóa 2 (intron 2) của gen. Sự đa hình này có lẽ phản ánh khác biệt về năng suất và chất lượng tinh bột của các giống sắn. Kết quả này tương tự như công bố của Aiemnaka et al. (2012) [1]. Theo các giả này, 2 nhóm alen khác nhau hình thành chủ yếu từ đa hình trình tự vùng intron 2 của gen *GBSSI* cũng tương quan với sự khác biệt về năng suất và chất lượng tinh bột của các giống sắn ở Thái Lan.

Các kết quả trên có thể bổ sung cho một số công bố trên thế giới về vai trò trung gian của intron trong việc điều khiển biểu hiện của gen ở thực vật [7, 8]. Như vậy, trong nghiên cứu này, đa hình trình tự ở intron 2 trên *GBSSI* không

chỉ góp phần phản ánh đa dạng di truyền của quần thể mà có thể còn liên quan đến tỷ lệ tinh bột khác nhau của các giống sắn. Đề khẳng định vai trò của intron 2 trên gen *GBSSI* cần phải phân tích trên nhiều đại diện trong tập đoàn các giống sắn và có thể nghiên cứu gây đột biến trên vùng intron để tìm hiểu biểu hiện tính trạng của sắn đột biến.

KẾT LUẬN

Đa hình trình tự ADN dọc đoạn đích trên gen *GBSSI* của 14 giống sắn chọn lọc trong nghiên cứu này đã phản ánh đa dạng di truyền cao về tính trạng năng suất tinh bột của tập đoàn sắn lưu giữ. Trên cây phát sinh chủng loại, các giống sắn nghiên cứu được phân thành 3 nhóm với tỷ lệ tinh bột trung bình sai khác tin cậy về thống kê. Giữa các nhóm có giá trị bootstrap, có đa dạng alen cao và có khác biệt di truyền tin cậy. Trong mỗi nhóm có 2-5 alen đặc trưng. Kết quả nghiên cứu là cơ sở áp dụng để đánh giá hiệu quả công tác lưu giữ nguồn gen các giống sắn. Ngoài ra, các alen đặc trưng của từng nhóm có thể sử dụng như các chỉ thị phân tử để chọn lọc các giống sắn có năng suất và chất lượng tinh bột cao.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc tế TP HCM trong đề tài “Nghiên cứu đa dạng di truyền liên quan đến một số tính trạng chọn lọc một số giống khoai mì *Manihot esculenta* Crantz ở Đông Nam Bộ Việt Nam dựa vào chỉ thị SSR và một số gen đích qui định tính trạng trên” mã số C2014-28-07.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aiemnaka P., Wongkaew A., Chanthaworn J., Nagashima S. N., Boonma S., Authapun J., Jenweerawat S., Kongsila P., Kittipadakul P., Nakasathien S., Sreewongchai T., Wannarat W., Vichukit V., López-Lavalle L. A., Ceballos H., Rojanaridpiched C., Phumichai C., 2012. Molecular Characterization of a spontaneous waxy starch mutation in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Crop Sci.*, 52(5): 2121-2130.
2. Chen X., Fu Y., Xia Z., Jie L., Wang H., Lu C., Wang W., 2012. Analysis of QTL for yield-related traits in cassava using an F1

- population from non-inbred parents. *Euphytica*, 187(2): 227-234.
3. Nguyễn Hữu Hỷ, Đinh Văn Cường, Phạm Thị Nhạn, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Trọng Hiền, Trần Mỹ Linh, Lê Quỳnh Liên, Nguyễn Tường Vân, 2013. Nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống khoai mì (*Manihot esculenta* Crantz) ở Việt Nam dựa vào phân tích hình thái và chỉ thị SSR. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 6: 25-30.
 4. Kizito E. B., Ann-Christin R. W., Thomas E., Urban G., Martin F., Anna W., 2007. Quantitative trait loci controlling cyanogenic glucoside and dry matter content in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots. *Hereditas*, 144: 129-136.
 5. Opabode J. T., Oyelakin O. O., Akinyemiju O. A., Ingelbrecht I. L., 2011. Isolation of genomic clones encoding Granule-Bound Starch Synthase (*GBSS I*) in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *J. Plant Sci.*, 6: 174-181.
 6. Raghu D., Senthil N., Saraswathi T., Raveendran M., Gnanam R., Wnkatachalam R., Shanmugassundaram P., Mohan C., 2007. Morphological and Simple Sequence Repeats (SSR) based Finger printing of South Indian Cassava Germplasm. *Int. J. Integ. Biol.*, 2: 141-149.
 7. Rose A. B., Beliakoff J. A., 2000. Intron-Mediated Enhancement of Gene Expression Independent of Unique Intron Sequences and Splicing. *Plant Physiol.*, 122: 535-542.
 8. Rose A. B., 2008. Intron-mediated regulation of gene expression. *Curr. Top Microbiol. Immunol.*, 326: 277-290.
 9. Salehuzzaman S. N., Jacobsen E., Visser R. G., 1993. Isolation and characterization of a cDNA encoding granule-bound starch synthase in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its antisense expression in potato. *Plant Mol. Biol.*, 23(5): 947-962.
 10. Siqueira M. V. B. N., Queiroz-Silva J. R., Bressan E. A., Borges A., Pereira K. J. C., Pinto J. G., Veasey E. A., 2009. Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. *Gen. Mol. Biol.*, 32(1): 104-110.
 11. Nguyễn Phương Thảo, Nguyễn Chi Mai, Phan Minh Tuấn, Nguyễn Hữu Hỷ, Trần Mỹ Linh, Lê Quỳnh Liên, Lê Quang Trung, Nguyễn Thị Bình, Nguyễn Tường Vân, 2015. Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn các giống sắn (*Manihot esculenta* Crantz) sử dụng chỉ thị SSR. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 267(12): 29-36.

RESEARCH ON GENETIC DIVERSITY OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) BASED ON DNA POLYMORPHISM OF *GPSSI* GENE

Nguyen Phuong Thao¹, Nguyen Chi Mai², Phan Minh Tuan²,
Tran My Linh³, Le Quynh Lien³, Le Quang Trung^{2,4}, Nguyen Tuong Van⁵

¹Hochiminh city International University

²Center for High Technology Development, VAST

³Institute of Marine Biochemistry, VAST

⁴Food Safety Institute

⁵Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

GBSSI gene regulates the biosynthesis of starch in cassava, *Manihot esculenta* Crantz, and its allelic diversity relates to variation in their starch production. In this research, genetic diversity of the recent conserved cassava germplasm was estimated based on DNA polymorphism of a targeted fragment on *GPSSI*

gene of 14 representatives selected from 44 cassava varieties, whose genetic diversity was previously determined with SSR markers. The results from analyses of bootstrap values on Neighbor Joining tree, of genetic indices from DNAsp 4.10.9 software, and of typical mutated points of 612bp-fragments on *GBSSI* gene of the studied varieties revealed high genetic diversity and were in agreement to previous analyses with SSR markers. All 14 varieties were separated into 3 clusters on Neighbor Joining tree, in accordance with the variation in tuber-starch percentage and fresh root yield between groups. All three groups showed high genetic diversity with 53-99% of bootstrap values, high genetic differentiation ($K_{st}=0.74$, $\chi^2=28$; $P=0.036$), high number of allele ($A=9$) and high allelic diversity ($A_d=0.91$). The varieties of each group had 2-5 typical alleles. Results of this study could be applied for estimation of effectiveness of cassava germplasm conservation. Together with the relevant SSR markers, the typical alleles of *GBSSI* gene of different groups could be used as additional markers for selection and breeding of cassava with high starch yield in their tubers.

Keywords: *Manihot esculenta*, cassava germplasm, genetic diversity, *GBSSI* sequence polymorphism.

Ngày nhận bài: 20-2-2015