

ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ THAY ĐỔI PHÂN TỬ CỦA CÁC DÒNG LẠC ĐỘT BIẾN MỚI CHỌN TẠO BẰNG CHỈ THỊ SSR

ĐINH THỊ PHÒNG, NGÔ THỊ LAM GIANG

1. MỞ ĐẦU

Lạc là cây màu được người dân quan tâm sản xuất vì giá trị dinh dưỡng và cải tạo đất. Ngoài ra trồng cây lạc còn tận dụng các loại đất khó canh tác với các loại cây trồng khác. Trong những năm gần đây, hạn hán ngày càng trở nên khắc nghiệt. Vì vậy, trồng nhóm cây lấy dầu sẽ kinh tế hơn so với trồng lúa nước. Đặc biệt đối với những vùng đất bạc màu có khó khăn về tưới nước thì trồng cây lạc được xem như là có hiệu quả kinh tế hơn cả. Vì thế, việc thay đổi cơ cấu giống cây trồng ở một số tỉnh thành đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn phê duyệt (<http://www.mard.gov.vn/Phê> duyệt quy hoạch phát triển ngành dầu thực vật Việt Nam).

Việc cải thiện giống bằng các phương pháp truyền thống như lai tạo, đột biến đã làm năng suất tăng đáng kể đối với cây lạc. Tuy nhiên, hiệu quả vẫn chưa cao vì thời gian chọn tạo. Với sự hỗ trợ của sinh học phân tử đã giúp đẩy nhanh quá trình chọn tạo giống mà không bị chi phối bởi môi trường. Hiện nay, hàng loạt các chỉ thị phân tử như AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat)... đã được nghiên cứu và từng bước hỗ trợ cho chọn tạo một số loại giống cây trồng [1, 4 6, 9, 10]. Tuy nhiên việc tạo các giống cây lạc có sự hỗ trợ của chỉ thị phân tử mới đang được bắt đầu nghiên cứu Việt Nam [2, 3].

Nhằm bước đầu cung cấp thêm cơ sở cho việc chọn tạo ra các dòng lạc bằng phương pháp đột biến. Nghiên cứu này đề cập đến việc “**Đánh giá mức độ thay đổi phân tử của các dòng lạc đột biến mới chọn tạo bằng chỉ thị SSR**”

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu thực vật

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu là 24 dòng lạc đột biến triển vọng thế hệ M3 nhận được bằng phương pháp xử lí đột biến tia gamma do Viện Nghiên cứu dầu và cây có dầu cung cấp, trong đó 8 dòng có nguồn gốc từ giống VD2 và 16 dòng có nguồn gốc từ giống L9801. Mỗi dòng chọn hai quả, mỗi quả chọn 2 hạt để đánh giá mức độ biến đổi phân tử. Danh sách và kí hiệu các dòng lạc như trong bảng 1.

Bảng 1. Danh sách và kí hiệu các dòng lạc trong nghiên cứu

TT	Tên các dòng lạc đột biến	Mức độ chiếu xạ	Đặc điểm
1	VD2(đối chứng)	0 krad	Trái nhỏ, vỏ láng
2	VD2-1-1 (*)	10 krad	Trái nhỏ, dài tron, năng suất và chịu khá với bệnh lá
3	VD2-1-2		
4	VD2-1-3		

TT	Tên các dòng lạc đột biến	Mức độ chiếu xạ	Đặc điểm
5	VD2-1-4	10 krad	Trái nhỏ, dài tròn, năng suất và chịu khá với bệnh lá
6	VD2-2-1	10 krad	Trái có mỏ nhọn chịu khá với bệnh lá
7	VD2-2-2		
8	VD2-2-3		
9	VD2-2-4		
10	L9801(đối chứng)	0 krad	Trái to, rắn
11	L9801-1-1	15 krad	Trái nhỏ, ngắn ngày, năng suất và chất lượng khá
12	L9801-1-2		
13	L9801-1-3		
14	L9801-1-4		
15	L9801-2-1	15 krad	Trái tròn, tròn nhỏ ngắn ngày, chất lượng tốt và chịu khá với bệnh lá
16	L9801-2-2		
17	L9801-2-3		
18	L9801-2-4		
19	L9801-3-1	15 krad	
20	L9801-3-2		
21	L9801-3-3		
22	L9801-3-4		
23	L9801-4-1	20 krad	
24	L9801-4-2		
25	L9801-4-3		
26	L9801-4-4		

Mười một cặp môi SSR chuyên dụng đối với cây lạc đã được sử dụng để đánh giá mức độ sai khác ADN của 24 dòng lạc đột biến. Tên và trình tự các nucleotide của 11 cặp SSR như trong bảng 2.

Bảng 2. Trình tự các nucleotide của 11 cặp môi SSR

TT	Tên môi	Trình tự các nucleotide	Kiểu bazơ lặp lại	Nhiệt độ gắn môi (°C)	Kích thước lí thuyết (bp)
1	L25	5' tga gtt tcc cca aaa gga ga 5' caa caa caa tac ggc caa ca	(ctt) ₁₃	57	132
2	L29	5' tct gtt gag aac cac ca ca 5' gtg cta gtt gct tga cgc ac	(ttg) ₆ /(taa) ₁₅	59	198
3	L32	5' gga cag ccg gat gct att ta 5' aca tga gtc cct ttt ccc tt	(taa) ₂₃	60	281

TT	Tên mồi	Trình tự các nucleotide	Kiểu bazơ lặp lai	Nhiệt độ gắn mồi (°C)	Kích thước lí thuyết (bp)
4	L33	5' gga cag ccg gat get att ta 5' aca tga gtc cct ttt ccc tt	(tacc) ₁₂	65	225
5	L36	5' gca act agg gtg tag gcc gt 5' caa ccc tat aca ccg agg ga	(gt) ₃₁	59	285
6	L37	5' aat ccg acg caa tga taa aaa 5' tcc cct tat tgt tcc agc ag	(taa) ₁₀	58	265
7	L38	5' cgt tct ttg ccg ttg att ct 5' agc acg ctc gtt ctc tca tt	(ga) ₁₉	64	282
8	L41	5' tga cct caa ttt tgg gga ag 5' gcc act att cat cgc ggt a	(taa) ₁₇ /(tgg) ₁₀	58	270
9	L43	5' tga cca aag tga tga agg ga 5' aag ttg ttt gta cat ctg tca tcg	(taa) ₁₉	58	262
10	L50	5'atcacatcagaacgatccc 5' ttt gta gcc ttc tgg cga gt	(ga) ₂₆ /(gt) ₂₆	57	269
11	L54	5' catgccatcacaacaca 5' ggaggaagcaatggttcag	(ga) ₃₂	60	310

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Kĩ thuật tạo cây con, thu và bảo quản lá: Lựa chọn các hạt lạc có kích thước đều nhau, không nhăn nheo, nguyên vẹn. Gieo các hạt vào các cốc có lỗ thủng ở đáy đựng cát sạch, giữ ẩm và đặt ngoài điều kiện tự nhiên. Thu lá dùng ngay hoặc cho vào ống eppendorf bảo quản ở nhiệt độ -86°C cho đến khi sử dụng.

Tách chiết ADN tổng số từ lá: Theo phương pháp của Murray và Thompson (1990). Kiểm tra độ sạch và hàm lượng ADN bằng đo quang phổ hấp thụ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,8%.

Phản ứng SSR: Thể tích của mỗi phản ứng là 25µl, trong đó 1X đệm PCR, 2,5 mM MgCl₂, 250 µM dNTP (ATP, TTP, CTP và GTP), 200 pM đoạn mồi, 0,04 đơn vị Taq polymerase và 5 - 10 ng ADN khuôn. Chu trình nhiệt: bước 1: 94°C - 4 phút, bước 2: 92°C - 45 giây, bước 3: từ 57°C đến 65°C (tùy cặp mồi) 1 phút, bước 4: 72°C - 1 phút, bước 5: 72°C - 10 phút và bước 6: lưu giữ ở 4°C. Từ bước 2 đến bước 4 lặp lại 35 chu kỳ. Điện di phân tích sản phẩm PCR-SSR trong gel polyacrylamide 6%, nhuộm bạc để chụp ảnh.

Phân tích số liệu: Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn ADN khi điện di sản phẩm PCR-RAPD với cặp mồi SSR của các dòng lạc đột biến làm cơ sở cho việc phân tích số liệu. Tiêu chuẩn hoá sản phẩm SSR, xác định hệ số di truyền giống nhau, giá trị PIC... để lập ra biểu đồ so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa các dòng lạc đột biến theo phương pháp Nei và Li, 1979; Wei, (1990). Số liệu được xử lí bằng chương trình NTSYSpc version 2.0 (Rohf, 2001).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định mức độ sai khác di truyền của các dòng lạc đột biến bằng chỉ thị SSR

Mười một cặp mồi SSR đã được sử dụng để đánh giá mức độ sai khác ADN của 24 dòng lạc đột biến (8 dòng có nguồn gốc từ giống VD2 và 16 dòng có nguồn gốc từ giống L9801). Kết quả phân tích sản phẩm PCR-SSR trên gel polyacrylamide 6% cho thấy, trong số 11 cặp mồi SSR, có ba cặp mồi (L33, L37 và L38) không chỉ ra tính đa hình (PIC = 0), tám cặp mồi (L25, L29, L32, L36, L41, L43, L50 và L54) cho tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0,44 (L41) đến 0,85 (L32). Trong đó, 7/8 cặp mồi cho tính đa hình cao với giá trị PIC $\geq 0,5$ (chiếm 87,5%). Số lượng các phân đoạn ADN được nhân bản với mỗi mồi xê dịch từ 1 đến 9 trong phạm vi quan sát (bảng 3). Kích thước các phân đoạn ADN nhân bản nằm trong khoảng từ 120 bp đến 360 bp. Tổng số thu được 32 phân đoạn ADN, trong đó có 18 phân đoạn đa hình (chiếm 46%) và 14 phân đoạn đơn hình (bảng 3).

Bảng 3. Số phân đoạn (PD) ADN nhân bản và giá trị PIC của 24 dòng lạc đột biến

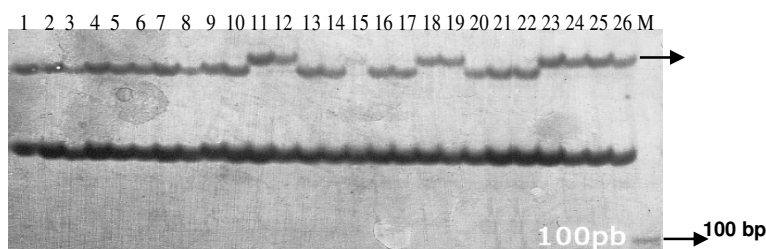
Mồi	Giá trị PIC	Tổng số	PD đa hình	PD đơn hình	% PD đa hình
L25	0,73	2	2	0	100
L29	0,74	2	2	0	100
L32	0,85	4	4	0	100
L33	0,00	1	0	1	0
L36	0,56	4	3	1	75
L37	0,00	2	0	2	0
L38	0,00	4	0	4	0
L41	0,44	4	2	2	50
L43	0,53	3	2	1	67
L50	0,71	2	2	0	100
L54	0,53	9	7	2	78
	Tổng	32	18	14	

Rõ ràng các dòng lạc đột biến thế hệ M3 có sự biến đổi ở mức độ phân tử. Kết quả phân tích sản phẩm PCR-SSR điện di trên gel polyacrylamide 6% của 24 dòng lạc đột biến với hai cặp mồi L25 và L41 minh họa cho 11 cặp mồi dùng trong nghiên cứu.

3.2. Phân tích sản phẩm PCR-SSR của 24 dòng lạc đột biến với cặp mồi L25

Sản phẩm PCR-SSR của 24 dòng lạc đột biến với cặp mồi L25 đã nhân bản được 2 phân đoạn ADN trong phạm vi quan sát từ 120 đến 170 bp (hình 1). Tám dòng lạc đột biến từ giống gốc VD2 đã không có sự biến đổi về kiểu gen khi so sánh giữa các dòng với nhau và với cả giống gốc (các phân đoạn ADN nhân bản được giống nhau hoàn toàn). Đối với 16 dòng đột biến

từ giống gốc L9801 có sự biến đổi rõ ràng, điển hình là các dòng L9801-1-1, L9801-1-2, L9801-2-1, L9801-2-4, L9801-3-1, L9801-4-1, L9801-4-2, L9801-4-3 và L9801-4-4 (giếng 11, 12, 15, 18, 19, 23, 24, 25 và 26, tương ứng) đã xuất hiện phân đoạn ADN mới ở vị trí khoảng 170 bp (mũi tên ở hình 1).

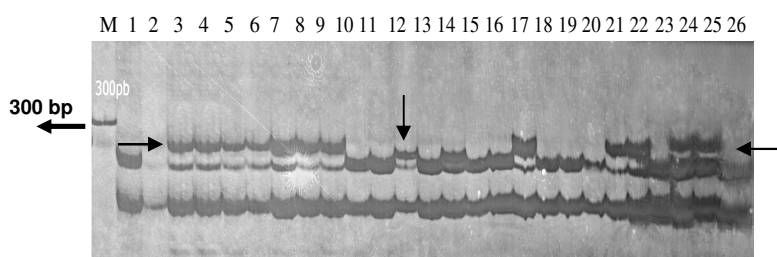


Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR-SSR của 24 dòng lạc đột biến với cặp mồi L25 trên gel polyacrylamide 6%

Giếng 1-26: thứ tự các dòng/giống lạc như trong bảng 1; M: Marker phân tử 100 bp.
Mũi tên tương ứng phân đoạn khoảng 170 bp

3.3. Phân tích sản phẩm PCR-SSR của 24 dòng lạc đột biến với cặp mồi L41

Kết quả điện di sản phẩm PCR-SSR của 24 dòng lạc đột biến với cặp mồi L41 (hình 2) đã thu được 4 phân đoạn ADN trong phạm vi từ 250 bp đến 307 bp. Đối với mỗi này, các dòng đột biến từ giống lạc VD2 và giống L9801 đều có sự biến đổi về kiểu gen. Cụ thể là tất cả các dòng đột biến từ giống VD2 (giếng 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 và 9) đều xuất hiện phân đoạn ADN mới ở vị trí khoảng 278 bp (mũi tên). Đối với các dòng đột biến từ giống L9801 có 2 dòng L9801-1-2 (giếng 12) và dòng L9801-1-4 (giếng 14) xuất hiện phân đoạn ADN mới ở vị trí khoảng 178 bp và 5 dòng L9801-2-3, L9801-3-3, L9801-3-4, L9801-4-2 và L9801-4-3 (giếng 17, 21, 22, 24 và 25, tương ứng) lại xuất hiện phân đoạn ADN ở vị trí khoảng 273 bp.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR-SSR của 26 dòng lạc đột biến với cặp mồi L29 trên gel polyacrylamide 6%

Giếng 1-26: thứ tự các dòng/giống lạc như trong bảng 1; M: Marker phân tử 100 bp.
Mũi tên tương ứng phân đoạn khoảng 278 bp

Kết quả nhận được trên đây cho thấy, rõ ràng các dòng lạc đột biến đã có sự biến đổi rõ ràng ở mức độ phân tử. Nhìn chung, số lượng các phân đoạn nhân bản của 24 dòng lạc đột biến

khi phân tích với mỗi mỗi SSR hầu như không khác nhau mà chỉ khác nhau ở kích thước phân đoạn ADN nhân bản được mà thôi.

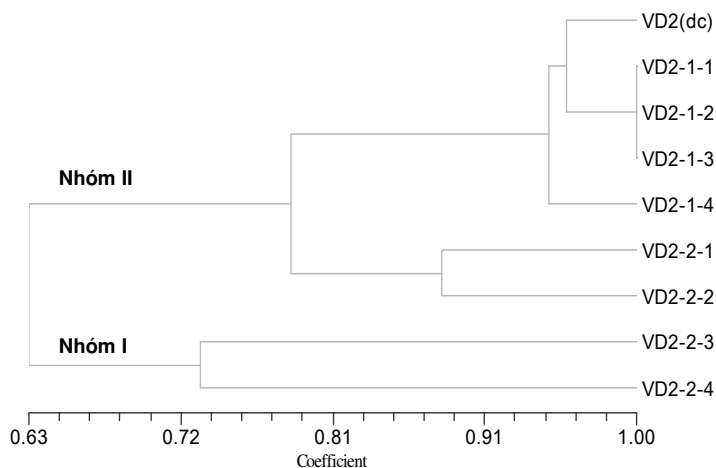
Trong nghiên cứu này cũng nhận thấy, các dòng lạc đột biến từ giống gốc L9801 có mức độ thay đổi phân tử nhiều hơn so với các dòng lạc đột biến từ giống gốc VD2, điều này cũng có thể giải thích rằng, 16 dòng lạc đột biến từ giống gốc L9801 được xử lí ở liều chiếu tia gama là 15 Krad và 20 Krad, còn 8 dòng đột biến từ giống VD2 được xử lí ở liều chiếu xạ tia gama là 10 Krad. Tuy nhiên để chọn tạo ra được các dòng lạc mới, thì liều chiếu xạ tùy thuộc vào từng giống.

3.4. Mối quan hệ di truyền giữa 24 dòng lạc đột biến khi phân tích với 11 chỉ thị SSR

Mối quan hệ di truyền giữa 24 dòng lạc đột biến thu được từ 2 giống lạc gốc VD2 và L9801 khi phân tích với 11 cặp mỗi SSR được thiết lập theo phương pháp DICE và kiểu phân nhóm UPGMA (Nei và Li, 1979).

Mức độ sai khác phân tử giữa 8 dòng lạc đột biến tạo từ giống lạc VD2

Mức độ sai khác di truyền của tám dòng lạc đột biến từ giống gốc VD2 khi phân tích với 11 cặp mỗi SSR thể hiện ở hình 3 cho thấy, tất cả 8 dòng lạc đột biến đều có sự sai khác di truyền so với giống gốc. Hệ số sai khác di truyền giữa các dòng lạc đột biến dao động từ 0% đến 37% (1 - 0,63), trong đó ba dòng lạc VD2-1-1, VD2-1-2 và VD2-1-3 giống nhau về mặt di truyền (trong đó VD2-1-1 và VD2-1-2 là hai hạt của cùng một quả, còn VD2-1-1, VD2-1-2 và VD2-1-3 là các hạt không cùng một quả) và có hệ số sai khác với giống gốc ít nhất khoảng 4% (1 - 0,96), dòng VD2-2-3 và VD2-2-4 lại có sự sai khác nhiều nhất so với giống gốc khoảng 27% (1 - 0,63). Kết quả phân tích ở đây cũng cho thấy, mức độ biến đổi phân tử của 8 dòng lạc đột biến tương đối phong phú, vì ngay hai dòng của cùng một quả cũng có sự khác nhau (chẳng hạn như dòng lạc VD2-2-1 và VD2-2-2 là hai hạt bắt nguồn từ một quả nhưng lại khác nhau khoảng 13%).

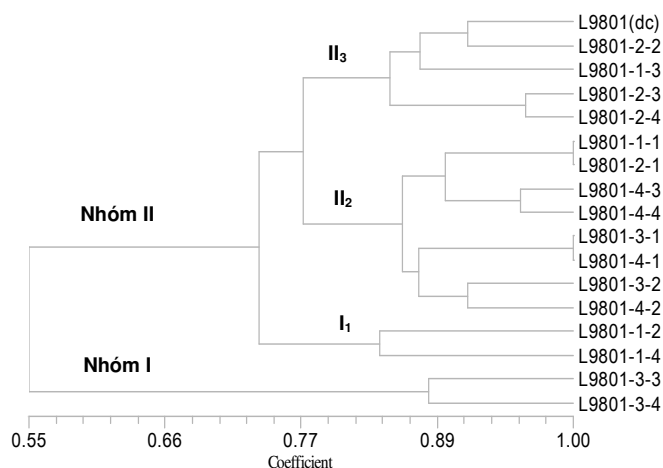


Hình 3. Sơ đồ hình cây của 8 dòng lạc đột biến và giống gốc VD2 theo hệ số di truyền của DICE và kiểu phân nhóm UPGMA

Mức độ sai khác phân tử giữa 16 dòng lạc đột biến tạo từ giống lạc L9801

Xác định mức độ sai khác phân tử của các dòng lạc đột biến thể hệ M3 từ giống gốc L9801 ở hình 4 nhận thấy, tất cả 16 dòng lạc đột biến đều có sự sai di truyền so với giống gốc L9801. Hệ số di truyền sai khác giữa các dòng lạc đột biến từ giống L9801 dao động từ 0% (1 - 1) đến 45% (1 - 0,55). Dòng lạc L9801-2-2 có hệ số sai khác di truyền ít nhất so với giống gốc L9801 khoảng 0,9% (1 - 0,91). Trong khi đó 2 dòng L9801-3-3 và L9801-3-4 lại có sự sai di truyền nhiều nhất so với giống gốc khoảng 45% (1-0,55). Sơ đồ hình cây chia làm 2 nhóm: Nhóm I bao gồm hai dòng L9801-3-3 và L9801-3-4 là hai hạt của cùng một quả nhưng có sự sai khác di truyền là khoảng 12 % (1 - 0,88). Nhóm II gồm 14 dòng còn lại và chia thành ba nhóm phụ, trong đó, dòng L981-1-1 và L981-2-1 là hai hạt từ hai quả khác nhau nhưng lại giống nhau hoàn toàn (100%), tương tự dòng L981-3-1 và L981-4-1 cũng là hai hạt từ hai quả khác nhau nhưng cũng lại giống nhau hoàn toàn ở mức độ phân tử.

Tạo giống có sự hỗ trợ của chỉ thị phân tử luôn mang lại hiệu quả cao do giảm thiểu chi phí đồng ruộng mà thời gian rút ngắn. Kết quả nhận được ở đây cũng chứng minh thêm quan điểm này. Trong nghiên cứu này, 24 dòng lạc đột biến từ 2 giống gốc (VD2 và L9801) đã được các nhà tạo giống của Viện Nghiên cứu dậu và cây có dầu đánh giá là các dòng có triển vọng làm giống trong 3 vụ gieo trồng. Nhìn chung để loại bỏ chính xác các dòng có kiểu gen giống nhau trên chỉ thị hình thái còn hạn chế ở nhiều loại cây trồng. Dựa vào kết quả phân tích phân tử ở đây cho thấy việc loại bỏ chính xác các dòng lạc có kiểu gen giống nhau là hoàn toàn có thể. Đây là cơ sở giúp các nhà chọn tạo giống giảm thiểu số lượng gieo trồng ngoài đồng ruộng.



Hình 4. Sơ đồ hình cây của 16 dòng lạc đột biến với giống lạc đối chứng L9801 theo hệ số di truyền của DICE và kiểu phân nhóm UPGMA

4. KẾT LUẬN

Khi phân tích 11 cặp mồi SSR với 24 mồi dòng lạc đột biến đã nhân bản được 32 phân đoạn ADN, trong đó có 18 phân đoạn cho tính đa hình (chiếm 56%). Giá trị PIC dao động từ 0,44 (L41) đến 0,85 (L32). Trong đó, 7/8 cặp mồi cho tính đa hình cao với giá trị PIC \geq 0,5 (chiếm 87,5%).

Mức độ sai khác di truyền của 8 dòng lạc đột biến và giống gốc VD2 dao động từ 4% đến 37%. Ba dòng lạc VD2-1-1, VD2-1-2 và VD2-1-3 (hai dòng VD2-1-1 và VD2-1-2 là hai hạt của cùng một quả, còn VD2-1-3 là hạt không của cùng một quả) giống nhau hoàn toàn ở mức độ di

truyền và khác với giống gốc là 4% (1 - 0,96). Dòng VD2-2-3 và VD2-2-4 có hệ số sai khác di truyền lớn nhất so với giống gốc khoảng 27% (1 - 0,73).

Mức độ sai khác di truyền của 16 dòng lạc đột biến và giống gốc L9801 dao động từ 9% đến 45%. Dòng lạc L9801-2-2 có hệ số sai khác di truyền ít nhất so với giống lạc gốc là 9% (1-91), dòng L9801-3-3 và dòng L9801-3-4 có sự sai khác nhiều nhất so với giống gốc khoảng 45% (1-0,55). Trong số đó một số dòng không cùng một quả đôi khi lại giống nhau hoàn toàn ở mức độ phân tử (ví dụ dòng L981-1-2 và L981-2-1 và dòng L981-3-1 và L981-4-1)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ding X. D., Lu L. X., Chen X. J. - Segregation patterns of RAPD makers in an F1 population of Litchi chinensis Sonn, Acta. Hort. (558) (2001) 167-172.
2. Dinh Thi Phong, Emma M., Crouch J. H. - Application of SSR in diversity analysis of groundnut genotypes resistant to early leaf spot, Tạp chí Công nghệ sinh học **1** (3) (2003) 333-346.
3. Đinh Thị Phòng, Nguyễn Văn Thắng, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội - Sử dụng chỉ thị SSR để phân tích đa dạng tập đoàn giống lạc (*Arachis hypogaea* L.) Việt Nam kháng bệnh rỉ sắt, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **43** (1) (2005) 84-92.
4. He G., Meng R., Newman M., Gao G., Pittman R. N., Prakash C. - Microsatellites as DNA markers in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.), BMC. Plan. Boil. **3** (1) (2003) 3-11.
5. [http://www.moi.gov.vn/LDocument/Detail/Phê duyệt quy hoạch phát triển ngành dầu thực vật Việt Nam 2001 - 1020](http://www.moi.gov.vn/LDocument/Detail/Phê_duyệt_quy_hoạch_phát_triển_ngành_dầu_thực_vật_Việt_Nam_2001_-_1020)
6. Mace E. S., Lester R. N., Gebhardt C. G. - AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (Solanaceae), Theor. Appl. Genet. **99** (1999) 626-633.
7. Murray M. G., Thompson W. F. - Rapid isolation of high molecular weight DNA, Nucleic Acids Res. **8** (1980) 4321-4325.
8. Nei M., Li W. H. - Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction and nucleases, Proc. Natl. Sci. (76) (1979) 5269-5273.
9. Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Đức Thuận, Bùi Chí Bửu - Nghiên cứu sự đa dạng di truyền của một số giống đậu nành bằng chỉ thị RAPD và SSR, Tạp chí Công nghệ Sinh học **5** (2) (2007) 233-245.
10. Phan Thị Bảy, Lê Thị Bích Thủy, Đào Thị Hạnh, Quách Thị Liên, Lê Thị Muội, Nguyễn Đức Thành - Đánh giá tính kháng đạo ôn ở một số dòng lúa dựa vào các chỉ thị phân tử STS và gây bệnh nhân tạo trong nhà kính, Tạp chí Công nghệ sinh học **3** (4) (2005) 471-478.
11. Rohlf F. J. - NTSYS Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0, Exeter Software Publ., Setauket, New York, 2001.
12. Weir B. S. - Genetic data analysis - Methods for discrete genetic data, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 1990.

SUMMARY

EVALUATION OF MOLECULAR VARIATION OF MUTATED PEANUT LINES BY SSR MARKERS

Eleven SSR markers were used to analyse molecular variation of 24 mutated peanut lines (eight originated from VD2 variety and 16 from L9801 variety). Overall, 8 out of 11 used markers revealed polymorphism with Polymorphic Information Content (PIC) values from 0.44 (L41) to 0.85 (L32), in which 7 markers showed the high level of polymorphism with PIC values ≥ 0.5 . The number of amplified DNA fragments ranged from 1 to 9 per marker with sizes ranging approximately from 120 bp to 360 bp. The genetic dissimilarity coefficients analysis showed that among 8 mutated peanut lines, VD2-1-1, VD2-1-2 and VD2-1-3 lines were identical but 4% different from VD2 variety (1-0.96). It is 27% (1-0.73) between VD2-2-3 and VD2-2-4 lines, and VD2 variety. Compare 16 mutated peanut lines and the parent variety L9801, the genetic dissimilarity coefficient values ranged from 9% to 45%, in which L9801-2-2 line had the least different with about 9% (1-91), L9801-3-4 line was the most difference in genetic about 45% (1-0,55). L981-1-2 and L9801-2-1 lines, L9801-3-1 and L9801-4-1 lines were identical.

Keywords. DNA polymorphism, mutated peanut, SSR markers, Genetic coefficient

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 12 tháng 4 năm 2009

Đinh Thị Phòng,

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện KH và CNVN.

Ngô Thị Lam Giang,

Viện Nghiên cứu dầu và cây có dầu Miền Nam.