

QUAN HỆ LIÊN KẾT GIỮA CÁC LOCUS ISOZYM Ở CÂY KHOAI MÔN LUỒNG BỘI ($2n=2x$), *COLOCASIA ESCULENTA* (L.) SCHOTT

NGUYỄN XUÂN VIẾT

Trường đại học Sư phạm Hà Nội

Bản đồ liên kết có được ở bất cứ loài nào cũng là một công cụ có giá trị trong nhiều lĩnh vực của di truyền thực vật học và chọn giống. Phân tích di truyền các biến dị isozym đã xác định được nhiều gen mã hoá cho các enzym. Các locus isozym đã góp phần đáng kể trong việc xây dựng các bản đồ như thế ở nhiều loài cây trồng khác nhau [8, 7]. Hơn nữa, việc sử dụng một cách có hiệu quả các gen chỉ thị (marker) trong nghiên cứu chọn giống là phụ thuộc vào thông tin về mối quan hệ liên kết giữa các gen marker.

Nhiều công trình phân tích di truyền các biến dị isozym, phát hiện mối quan hệ liên kết giữa các locus isozym đã được tiến hành và bản đồ liên kết isozym cũng đã có được ở nhiều loài cây trồng [6, 2].

Cây khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott là một trong những cây trồng lấy củ quan trọng ở châu Á và Thái Bình Dương [1]. Theo số liệu của Tổ chức Lương thực Thế giới (FAO) thì diện tích trồng khoai môn trên thế giới trong năm 1998 là 1.070.000 ha và tổng sản lượng khoai môn kể cả khoai mùng (*Xanthosoma*) đạt 6.586.000 tấn. Tuy nhiên, có quá ít công trình nghiên cứu di truyền đối với *Colocasia esculenta*, đặc biệt cho đến nay, vẫn chưa có cố gắng nghiên cứu nào nhằm mục đích xây dựng một bản đồ di truyền liên kết ở loài cây trồng này.

Isshiki và cộng sự (1995) đã mô tả 3 locus isozym của 3 hệ enzym: Asparat aminotransaminaza, Phốtphoglucosomeraza và Shikimat dehydrogenaza [3]. Theo báo cáo này thì không có quan hệ liên kết được phát hiện giữa các locus isozym nói trên.

Chúng tôi đã tiến hành phân tích 13 hệ

enzym từ dịch nghiền của lá và đã công bố kết quả nghiên cứu xác định di truyền các biến dị isozym ở loài khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott [4, 5].

Trong bài báo này trình bày kết quả phân tích quan hệ liên kết giữa các locus isozym đã được xác định ở *Colocasia esculenta*, phát hiện các nhóm liên kết isozym và bước đầu xây dựng bản đồ liên kết ở loài cây trồng này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Cây khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott thuộc chi khoai môn *Colocasia*, họ ráy *Araceae*.

14 cây môn trồng và mọc dại được dùng làm cây bố mẹ để thu nhận các quần thể tự thụ phấn và lai. Tổng cộng có 14 quần thể cây tự thụ phấn và 8 quần thể cây lai tạo ra đã được sử dụng để phân tích sự di truyền của các biến dị isozym [4, 5].

Các hệ enzym trong lá đã được phân tích là: Alcohol dehydrogenaza (ADH, E.C. 1.1.1.1), Diaphoraza (DIA, E.C. 1.6.99.), Glutamat oxaloacetat transaminaza (E.C. 2.6.1.1), Shikimat dehydrogenaza (SKD, E.C. 1.1.1.25), Isoxitrat dehydrogenaza (IDH, E.C. 1.1.1.42), Superoxid dismutaza (SOD, E.C. 1.15.1.1), Hexokinaza (HEX, E.C. 2.7.1.1), Phốtphoglucosomutaza (PGM, E.C. 5.4.2.2), axit phốtphataza (ACP, E.C. 3.1.3.2), Loxin aminopeptidaza (LAP, E.C. 3.4.11.1), Esteraza (EST, E.C. 3.1.1.) và Phốtphoglucosomeraza (PGI, E.C. 5.3.1.9).

Số liệu phân ly đồng thời của các cặp locus từ 21 locus isozym đã phát hiện được dùng cho các phân tích liên kết (bảng 1 và 2).

2. Phương pháp

Phân tích di truyền các biến dị isozym được tiến hành theo phương pháp đã mô tả trong các báo cáo trước [4, 5]

Phương pháp thống kê: Tất cả những quần thể có số liệu phân ly đồng thời về các cặp locus so sánh đều được dùng để phân tích liên kết. Đối với một cặp locus được phát hiện là có liên kết, giá trị tái tổ hợp và sai lệch chuẩn, khoảng tin cậy sẽ được ước lượng bằng phương pháp hợp lý cực đại. Tất cả công việc tính toán đã

được thực hiện trên máy vi tính sử dụng chương trình phân tích liên kết "LINKEM" của Wowden và cộng sự, 1995 [9].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích di truyền các biến dị isozym đã xác định được 22 locus isozym thuộc 13 hệ enzym ở cây môn [4, 5].

Số locus đa hình và cấu trúc của các isozym trong 13 hệ enzym đã phân tích, được tổng hợp trong bảng 1.

Bảng 1

Các locus đa hình và cấu trúc của các isozym ở *C. esculenta* (L.) Schott

Enzym	Số ký hiệu (E.C.)	Locus	Số Alen	Cấu trúc enzym
Alcohol dehydrogenaza (ADH)	E.C. 1.1.1.1	<i>Adh-2</i>	2	Dime
Diaphoraza (DIA)	E.C. 1.6.99.	<i>Dia-2</i>	2 (1 null)	Monome
Isoxitrat dehydrogenaza (IDH)	E.C. 1.1.1.42	<i>Idh-1</i>	3	Dime
Photphogluconat dehydrogenaza (PGD)	E.C. 1.1.1.44	<i>Pgd-1</i>	2 (1 null)	Monome
Shikimat dehydrogenaza (SKD)	E.C. 1.1.1.25	<i>Skdh</i>	3	Monome
Superoxit dismutaza (SOD)	E.C. 1.15.1.1	<i>Sod-2</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Sod-3</i>	2	Dime
		<i>Sod-4</i>	3	Dime
Glutamat oxaloaxetat transminaza (GOT)	E.C. 2.6.1.1	<i>Got-1</i>	2	Dime
		<i>Got-5</i>	2	Dime
Hexokinaza (HEX)	E.C. 2.7.1.1	<i>Hex-1</i>	3 (1 null)	Monome
Photphoglucomutaza (PGM)	E.C. 5.4.2.2	<i>Pgm-1</i>	3 (1 null)	Monome
		<i>Pgm-2</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Pgm-3</i>	2	Monome
Axit photphataza (ACP)	E.C. 3.1.2.2	<i>Acp-4</i>	3	Monome
Loxin aminopeptidaza (LAP)	E.C. 3.4.11.1	<i>Lap-1</i>	3 (1 null)	Monome
Esteraza (EST)	E.C. 3.1.1.-	<i>Est-1</i>	2	Monome
		<i>Est-3</i>	3	Dime
		<i>Est-4</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Est-8</i>	2	Monome
Photphoglucoisomeraza (PGI)	E.C. 5.3.1.9	<i>Pgi-3</i>	3	Dime

Bảng 2

Cặp locus isozym được kiểm tra quan hệ liên kết

Locus	Adh-2	Adh-3	Dia-2	Est-1	Est-3	Est-4	Est-8	Got-1	Got-5	Hex-2	Idh-1	Lap-1	Pgi-3	Pgd-1	Pgn-1	Pgn-2	Pgn-3	Skdh	Sod-2	Sod-3	Sod-4
Acp-4	3	3	1	2	2	2	2	-	2	2	2	-	2	-	-	-	-	1	2	2	2
Adh-2		2	-	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	-	1	-	-	1	2	2	2
Adh-3			1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1	1
Dia-2				1	1	2	1	-	1	2	-	2	1	1	1	-	1	1	2	1	1
Est-1					6	2	6	1	2	3	1	5	3	-	1	-	1	1	2	2	2
Est-3						4	8	1	2	5	1	7	4	2	4	3	4	1	3	3	3
Est-4							3	-	2	2	-	2	3	-	3	2	3	2	2	2	2
Est-8								1	2	5	1	6	4	-	3	2	3	1	2	2	2
Got-1									-	-	2	1	-	-	2	-	1	-	-	-	-
Got-5										2	-	4	2	-	-	-	-	1	2	2	2
Idh-1											-	2	2	1	2	1	2	1	3	2	3
Lap-1												-	-	-	2	-	1	-	-	-	-
Pgi-3													2	-	3	-	3	2	2	2	2
Pgd-1														1	1	1	1	1	2	2	2
Pgn-1															2	1	2	1	-	-	-
Pgn-2																3	6	1	1	-	-
Pgn-3																	2	-	1	-	-
Skdh																		1	1	-	-
Sod-2																			1	1	1
Sod-3																				2	2
Sod-4																					2

Ghi chú: Các chữ số trong bảng là số quần thể có số liệu phân ly đồng thời đối với cả 2 locus trong cặp kiểm tra;
 - Không thu được số liệu phân ly

Kiểm tra sự phân ly đồng thời đã được tiến hành đối với tất cả các cặp locus có thể có từ 21 locus đem phân tích. Trong 210 tổ hợp cặp locus có thể tạo ra, số tổ hợp cặp locus có số liệu phân ly đồng thời là 156 tổ hợp, số quần thể đã nghiên cứu đối với mỗi cặp locus riêng biệt

được chỉ ra trong bảng 2.

Trong 21 locus phân ly, chúng tôi đã phát hiện được 14 locus có biểu hiện quan hệ liên kết với mức ý nghĩa 0,05%. Giá trị tái tổ hợp của các cặp locus liên kết và mức ý nghĩa được chỉ ra trong bảng 3.

Bảng 3

Giá trị tái tổ hợp (r) \pm SE của các cặp locus isozym liên kết

Cặp locus isozym	$r \pm SE$	P
<i>Adh-2 / Idh-1</i>	0,24 \pm 0,080	0,02
<i>Hex-2 / Lap-1</i>	0,29 \pm 0,091	0,01
<i>Est-1 / Lap-1</i>	0,21 \pm 0,049	< 0,0001
<i>Est-1 / Hex-2</i>	0,15 \pm 0,079	0,04
<i>Est-8 / Pgm-2</i>	0,18 \pm 0,090	0,03
<i>Est-8 / Hex-2</i>	0,23 \pm 0,076	0,04
<i>Est-1 / Est-8</i>	0,27 \pm 0,053	0,02
<i>Lap-1 / Got-5</i>	0,17 \pm 0,067	< 0,0001
<i>Est-4 / Sod-2</i>	0,29 \pm 0,096	0,03
<i>Lap-1 / Pgm-3</i>	0,21 \pm 0,071	0,03
<i>Lap-1 / Pgm-1</i>	0,28 \pm 0,073	0,009
<i>Pgm-1 / Pgm-3</i>	0,15 \pm 0,064	0,002
<i>Pgm-2 / Hex-2</i>	0,27 \pm 0,080	0,007
<i>Pgd-1 / Pgi-3</i>	0,22 \pm 0,125	0,04
<i>Pgi-3 / Pgm-1</i>	0,24 \pm 0,094	0,04
<i>Sod-3 / Sod-4</i>	0,18 \pm 0,058	< 0,0001

Các locus có liên kết đã hình thành 4 nhóm (G_1, G_2, G_3 và G_4 ; hình 1). *Adh-2* liên kết với *Idh-1* trong nhóm liên kết G_1 , giá trị tái tổ hợp giữa 2 locus bằng 0,24 \pm 0,080. Sự liên kết giữa *Est-1* và *Lap-1*, *Lap-1* và *Got-5* trong nhóm liên kết G_2 là có mức ý nghĩa cao ($P < 0,0001$; bảng 3). Tuy nhiên, vì số liệu phân ly đồng thời của *Got-5* và *Est-1* cũng như của *Got-5* với các locus khác đã không thu được trong nghiên cứu này, do đó vị trí của locus *Got-5* so với *Est-1* và *Lap-1* là chưa thể xác định chính xác. Từ số liệu liên kết thu được, phán đoán vị trí có thể của các locus gien này là *Hex-2, Est-1, Lap-1* và *Got-5*. Mặc dầu số liệu chi tiết không nêu ra trong báo cáo này, nhưng ước lượng giá trị tái tổ hợp thu được từ số liệu phân ly trong 2 quần thể cây lai khác nhau đối với cặp locus *Pgm-1 / Pgm-3* là

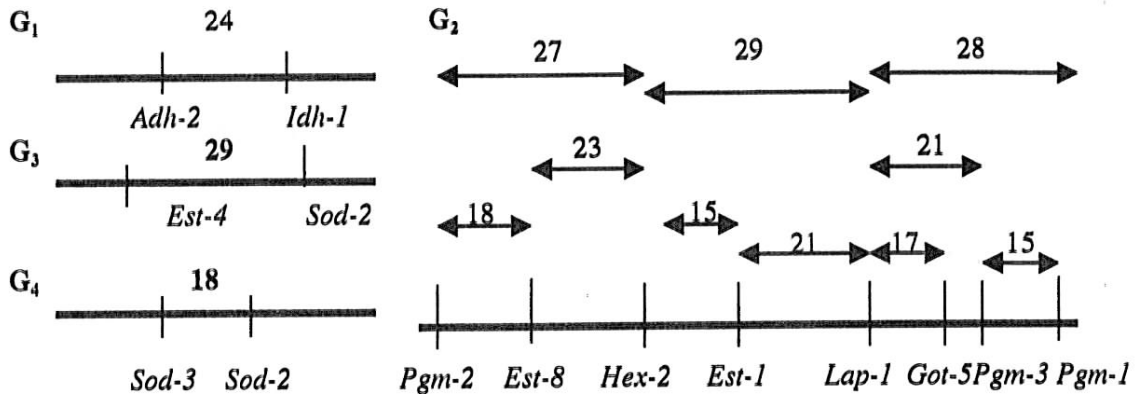
khác nhau ($r = 0,25 \pm 0,080$ ở một quần thể và trong một quần thể khác $r = 0,15 \pm 0,064$). Giá trị tái tổ hợp giữa locus *Lap-1* và *Pgm-1* là 0,28 \pm 0,073; giữa locus *Lap-1* và *Pgm-3* là 0,21 \pm 0,071 (bảng 3). Do đó, có thể nói rằng giá trị tái tổ hợp $r = 0,15 \pm 0,064$ giữa *Pgm-1 / Pgm-3* có thể là giá trị phù hợp hơn so với giá trị $r = 0,25 \pm 0,080$.

Sự liên kết có ý nghĩa phát hiện thấy chỉ ở 1 trong 6 quần thể đã kiểm tra liên kết đối với cặp locus *Est-8 / Est-1*, cho thấy rằng quan hệ liên kết nếu có thì cũng rất lỏng lẻo. *Pgm-2* liên kết với *Hex-2* ($r = 0,27 \pm 0,080$) và với *Est-8* ($r = 0,18 \pm 0,090$), do đó trật tự các locus gien trong nhóm liên kết có thể là: *Pgm-2, Est-8, Hex-2, Est-1, Lap-1, Got-5, Pgm-3* và *Pgm-1*.

Giá trị tái tổ hợp giữa *Est-4* và *Sod-2* trong nhóm liên kết G_3 là $0,29 \pm 0,096$. Trong nhóm liên kết G_4 , sự kết hợp có ý nghĩa cao ($P < 0,0001$) giữa *Sod-3* và *Sod-2* quan sát thấy trong cả 2 quần thể phân ly đối với các locus này (bảng 3).

Giá trị tái tổ hợp ước lượng được giữa *Est-1*

và *Est-3* là $r = 0,26 \pm 0,065$ trong một quần thể tự thụ phấn, nhưng trong một quần thể cây lai khác giá trị r này đạt tới $0,40 \pm 0,048$ (Số liệu không chỉ ra trong báo cáo). Tuy nhiên, khi hợp nhất số liệu, ước lượng thu được là $r = 0,42 \pm 0,038$ ($p = 0,03$), vì thế các locus *Est-1* và *Est-3* đã không bao hàm trong bản đồ liên kết.



Hình 1. Các nhóm liên kết của các locus isozym ở *Colocasia esculenta* (L.) Schott (Khoảng cách được biểu thị bằng % đơn vị tái tổ hợp)

Không có mối quan hệ liên kết được phát hiện trong các locus: *Got-1*, *Pgi-3* và *Skdh*. Kết luận này là phù hợp với báo cáo của Isshiki và cộng sự (1995). Các giá trị r của các cặp locus liên kết quan sát thấy trong một số quần thể nhất định, thường cao hơn giá trị r thu được của cùng cặp locus đó từ nhiều quần thể khác, cho thấy tập tính tái tổ hợp hình như bị ảnh hưởng bởi kiểu gen hoặc tổ hợp đem lai.

Kết quả phân tích quan hệ liên kết giữa các locus isozym trình bày trong báo cáo này là bước khởi đầu để xây dựng một bản đồ di truyền liên kết các locus isozym ở loài *Colocasia esculenta*. Tuy nhiên, để cho một bản đồ như thế thực sự là công cụ có giá trị trong chọn giống, cần mở rộng nghiên cứu để phát hiện và thêm vào bản đồ những locus gen hình thái và nông học quan trọng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Coates D. J., D. E. Yen & P. M. Gaffey, 1988: Cytologia, 53: 551-560.
2. Doble J., 1989: Isozymic evidence and evolution of crop plants. In: Soltis D. E. and P. S. Soltis (Eds.). Isozym in plant biology. Chapman and Hall Ltd., London, 165-191.
3. Isshiki S. et al., 1995: J. Japan Soc. Hort. Sci., 64: 113-119.
4. Nguyen V. X., H. Yoshino & M. Tahara, 1998: Breeding Science, 48: 273-280.
5. Nguyen V. X., H. Yoshino & M. Tahara, 1999: Breeding Science, 49: 179-185.
6. Tanksley S. D., 1984: Chromosoma, 89: 352-360.
7. Whehling P., 1991: Theor. Appl. Genet. 82: 567-576.
8. Whehling F. and G. Schmidt-stohn, 1984: Theor. Appl. Genet., 67: 149-153
9. Wowden C. and M. S. Riddout, 1995: LINKEM: a program for genetic linkage analysis. Horticulture Research International East Malling, West Malling, Kent, ME19 6BJ, UK.

**LINKAGE RELATIONSHIP OF ISOZYME LOCI IN DIPLOID TARO
COLOCASIA ESCULENTA (L.) SCHOTT**

NGUYEN XUAN VIET

SUMMARY

The linkage analysis for 21 isozyme loci of 13 enzyme systems in *Colocasia esculenta* (L.) Schott was carried out to determine the linkage relationships among these isozyme loci and constructed a preliminary linkage map in taro. Test of the joint segregation for pairwise comparisons of all isozyme loci indicated that 14 loci were linked in four linkage groups (marked G1 to G4) in following order: *Adh-2* and *Idh-1* (G1), *Pgm-2*, *Est-8*, *Hex-2*, *Est-1*, *Lap-1*, *Got-5*, *Pgm-3* and *Pgm-1* (G2); *Est-4* and *Sod-2* (G3) and *Sod-3* and *Sod-4* (G4). No evidence for the linkage was detected among the remaining enzyme loci.

The linkages reported here represented an initial step in the elaboration of a genetic linkage map for taro.

Ngày nhận bài: 20-5-2001