

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG BƯỚI BẢN ĐỊA VIỆT NAM (*CITRUS GRANDIS*) BẰNG CHỈ THỊ MICROSATELLITE

Khuất Hữu Trung¹, Hà Trọng Huy¹, Nguyễn Trường Khoa¹, Ngô Hồng Bình², Nguyễn Thanh Bình³, Đặng Trọng Lương¹, Lê Huy Hàm¹

¹Viện Di truyền nông nghiệp

²Viện Nghiên cứu rau quả

³Viện Nghiên cứu cây ăn quả miền Nam

TÓM TẮT

Bưởi thuộc nhóm cây ăn quả có múi có nguồn gốc xuất xứ ở Trung Quốc, phía Tây Ấn Độ, Việt Nam và một số nước Đông Nam châu Á. Các thông tin về đa dạng di truyền rất quan trọng trong các chương trình bảo tồn nguồn gen, chọn tạo giống và phát triển các giống bưởi có giá trị thương mại cao. 35 mẫu SSR đã được sử dụng để đánh giá mức đa hình ở mức độ phân tử của 29 mẫu thuộc 11 giống bưởi bản địa của Việt Nam. Tổng số 115 allele đã được phát hiện với giá trị trung bình là 3,29 allele/mẫu; hệ số PIC dao động từ 0,0 đến 0,82 (trung bình là 0,45); tỷ lệ dị hợp của các mẫu giống nghiên cứu dao động từ 35,29 đến 51,66%. Mức tương đồng di truyền được xác định sử dụng hệ số tương đồng Jaccard và phương pháp phân nhóm UPMGA đã chia 29 mẫu nghiên cứu thành 8 nhóm khác biệt với hệ số tương đồng giữa các mẫu dao động từ 0,32 đến 1,0. Các kết quả thu được có thể sử dụng phục vụ cho công tác phân loại, bảo tồn khai thác sử dụng các nguồn gen trong các chương trình lai chọn tạo giống.

Từ khóa: Bản địa, bưởi, cây có múi, chỉ thị SSR, đa dạng di truyền

MỞ ĐẦU

Trên thế giới, chỉ thị SSR được sử dụng khá phổ biến để phân tích đa dạng di truyền các loài thuộc chi *Citrus* ở mức độ quần thể, cùng loài và khác loài (Froelicher *et al.*, 2008); xác định nhanh chóng các cây con sinh ra từ hợp tử hoặc từ phôi tâm nhằm loại bỏ các kiểu gen không mong muốn (Ruiz *et al.*, 2000); và để nhận dạng cây lai hữu tính trong công tác lai tạo giống ăn quả có múi (Oliveira *et al.*, 2002). Chỉ thị SSR cũng đã được sử dụng trong phân tích mối liên kết và sự phát sinh loài ở *Citrus* và *Poncirus* (Kijas *et al.*, 1997) và đánh giá đa dạng di truyền ở cây có múi (Barkley *et al.*, 2006); phân tích đặc tính và sự đa dạng của Bưởi chùm (Corazza-Nunes *et al.*, 2002). Ngoài ra, chỉ thị SSR còn được sử dụng kết hợp với các chỉ thị khác (RAPD, RFLP và CAPs) để xây dựng bản đồ liên kết, phân tích di truyền của sự tiếp hợp vô tính giữa *Citrus* và *Poncirus* và dùng trong phân tích hệ gen di truyền tế bào chất của các thể lai sinh chất liên quan đến các cây nhị bội, tứ bội và bát bội ở cây ăn quả có múi (Guo *et al.*, 2006).

Ở nước ta, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử trong nghiên cứu nhóm đối tượng cây ăn quả có múi cũng

đã được đề cập như: chỉ thị Isozyme (Nguyễn Văn Mùi *et al.*, 2000); chỉ thị RAPD (Nguyễn Thanh Nhân *et al.*, 2004) và SSR (Trần Thị Oanh Yến *et al.*, 2004). Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu xác định mối quan hệ di truyền giữa các giống/loài bưởi bằng kỹ thuật SSR nhằm phục vụ công tác thu thập, phân loại, bảo tồn, khai thác và sử dụng nguồn gen các cây ăn quả bản địa quý của Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Tập đoàn bưởi sử dụng trong nghiên cứu là các mẫu giống bưởi bản địa của Việt Nam được Viện Nghiên cứu rau quả - Trâu Quỳ, Gia Lâm, Hà Nội và Viện Nghiên cứu cây ăn quả miền Nam, Long Định, Tiền Giang cung cấp. Các mẫu lá được thu tại vườn tập đoàn của Viện Nghiên cứu rau quả, Viện Nghiên cứu cây ăn quả miền Nam và tại các địa phương đang trồng phổ biến các giống bưởi này (Bảng 1).

Trong nghiên cứu này, 35 mẫu được sử dụng và mô tả bởi Froelicher và đồng tác giả (2008), Corazza-Nunes và đồng tác giả (2002) và Barkley và đồng tác giả (2006) do hãng Bioneer cung cấp (Bảng 2).

Bảng 1. Danh sách và nguồn gốc các mẫu giống bưởi nghiên cứu.

TT	Tên giống bưởi	Ký hiệu mẫu	Địa điểm thu mẫu	Nguồn gốc
1	Sầu Chí Đám	S1, S2, S3	Phú Thọ	Phú Thọ
2	Bằng Luân	BL1, BL2, BL3	Phú Thọ	Phú Thọ
3	Diễn	D1, D2, D3	Viện Nghiên cứu rau quả	Hà Nội
4	Đồ Mê Linh	DML1, DML2, DML3	Viện Nghiên cứu rau quả	Vĩnh Phúc
5	Phúc Trạch	PT1, PT2, PT3	Viện Nghiên cứu rau quả	Hà Tĩnh
6	Thanh Trà	TT1, TT2, TT3	Viện Nghiên cứu rau quả	Huế
7	Đồ Huế	DH1, DH2, DH3	Viện Nghiên cứu rau quả	Huế
8	Phò Trạch	PTr1, PTr2	Viện Nghiên cứu rau quả	Huế
9	Năm Roi	NR1, NR2, NR3	Bến Tre	Vĩnh Long
10	Da Xanh	DX1, DX2, DX3	Viện Nghiên cứu cây ăn quả miền Nam	Bến Tre
11	Đường Lá Cam	DLC1, DLC 2, DLC3	Tân Triều	Đồng Nai

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số

Lá bánh tẻ của các mẫu giống được thu thập, xử lý và tách chiết DNA tổng số theo phương pháp của Cheng và đồng tác giả (2003).

Chạy PCR

Các phản ứng PCR được thực hiện theo chương trình: 94°C (5 phút), 35 - 37 chu kỳ [94°C (40s); 55°C - 60°C (30 s), 72°C (30 s - 1 phút)] và kết thúc ở 72°C (5 phút).

Điện di sản phẩm PCR và nhuộm

Sản phẩm PCR được biến tính trước khi chạy điện di trên gel polyacrylamide 4,5% và được phát hiện bằng phương pháp nhuộm bạc.

Phân tích số liệu

Kết quả được thống kê dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của các băng DNA. Số liệu được xử lý, phân tích bằng chương trình Exel version 5.0 và phần mềm NTSYSpc 2.1.

Hệ số PIC (Polymorphic Information Content) được tính theo công thức sau: $PIC = 1 - \sum P_i^2$ (trong đó P_i là tần số xuất hiện của allele thứ i).

Tỷ lệ dị hợp ($H\%$) của mỗi mẫu được tính theo công thức:

$$H\% = \frac{X}{M - Y}$$

Trong đó: X: là tổng số mỗi có xuất hiện 2 allele/1 locus SSR. M: là tổng số mỗi được sử dụng trong nghiên cứu. Y: là tổng số mỗi SSR có xuất hiện băng DNA.

Tỷ lệ khuyết số liệu ($M\%$) được tính bằng công thức:

$$M\% = \frac{Z}{M}$$

Trong đó: Z là tổng số mỗi không xuất hiện băng DNA. M là tổng số mỗi được sử dụng trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hệ số PIC, số allele và tổng số băng ADN thể hiện trên từng mẫu

Hệ số PIC (*Polymorphic Information Content*) được coi là thước đo tính đa dạng di truyền của các allele ở từng locus SSR. Kết quả nghiên cứu chỉ ra ở bảng 3 cho thấy: giá trị PIC của 35 mẫu với các mẫu giống bưởi nghiên cứu dao động từ 0 (ở các mẫu chỉ xuất hiện băng đơn hình) đến 0,82 (ở mẫu GT03 với 7 allele thể hiện); hệ số PIC trung bình của cả 35 mẫu là 0,45. Kết quả này cho thấy, mức độ đa dạng của các allele ở các giống bưởi bản địa của Việt Nam tương tự một số kết quả nghiên cứu ở cây có múi trên thế giới (Corazza-Nunes *et al.*, 2002; Barkley *et al.*, 2006).

Phân tích 35 mẫu SSR với 29 mẫu thuộc 11 giống bưởi thu được 4 mẫu cho locus đơn hình (Ci02B10, Ci07E06, mCrCIR06A03 và NTCP9) và

31 mỗi cho các locus đa hình, với tổng số 115 allele, trung bình là 3,29 allele/locus. Trong tổng số 31 mỗi cho các locus đa hình thì có 11 mỗi chỉ thu được 2

allele, 4 mỗi thu được 3 allele, 10 mỗi thu được 4 allele, 2 mỗi thu được 5 allele, 1 mỗi thu được 6 allele và 3 mỗi thu được 7 allele (Bảng 3).

Bảng 2. Tên và trình tự các mỗi SSR.

TT	Tên mỗi	Trình tự mỗi (5' – 3')	TT	Tên mỗi	Trình tự mỗi (5' – 3')
1	Ci01A07	F: GATGATGTCACCCCTTGTTGTTG R: TTATGTCTCCTTTCCCTTTTGT	19	mCrCIR01 F04a	F: AAGCATTTAGGGAGGGTCACT R: TGCTGCTGCTGTTGTTGTTCT
2	Ci01C07	F: GTCACTCACTCTCGCTCTTG R: TTGCTAGCTGCTTTAACTTT	20	mCrCIR06 A02	F: TGAATCCTCTATGGCTAT R: TAAGATAAAAACAGCACA
3	Ci01H05	F:AAAACAACCAAAAGGACAAGATT R: TTCAAATAAAACAACCAACTCG	21	mCrCIR06 A03	F: GGGTTGCGACGATGAGC R: TCTCGTTTTGGCAGTTCCG
4	Ci02A04	F: CCGCTTTGTTCCATT R: AGCGGTATCGTAATTCTC	22	mCrCIR06 A08	F: TTTTTGTTATGGTGTTCGTTGTT R: TGGTATTATTTTGTCAATTCATTTG
5	Ci01D11	F: GCAAAACAAGCAGACTACAAAT R: AGGACAGATGACCCAGATGACA	23	P73	F-CCATTGCTTACGAAGTTG R-TTGACTTGCAGCAATCAG
6	Ci02B07	F: CAGCTCAACATGAAAGG R: TTGGAGAACAGGATGG	24	P94	F-GATTGAATCTTCTGTAGCTC R-ATCATCATCTAGTGCTACTG
7	Ci02B10	F: TTTACAGCCATCACA R: AACACCAAGAAGGAAGAG	25	CAC23	F:ATCACAATTACTAGCAGCGCC R: TTGCCATTGTAGCATGTTGG
8	Ci02F07	F: GCAGCGTTTGTCTTCT R: TGCTGGTTTTTCAGATACTT	26	NTCP9	F: CTTCCAAGCTAACGATGC R: CTGTCTATCCATTAGACAATG
9	Ci06A05b	F: TCTCTGGTTGGTTTTTGTGA R: ATGATGAAAAGCAAGGGG	27	AC01	F:TTTGACATCAACATAAAAACAAGAAA R: TTTTAAAATCCCTGACCAGA
10	Ci07B09	F: AAAGTGGAGTGCTAAATCT R: AAAGAAGTTAAAGAAAAAATG	28	AG14	F: AAAGGGAAAGCCCTAATCTCA R: CTTCTCTTGGCGAGTGTTT
11	Ci07D10	F: CGAGACAGACACAACAAAA R: AGAGGGTAATCCAAAAGACT	29	CAG01	F: AACACTCGCACCAAATCCTC R: TAAATGGCAACCCAGCTTTG
12	Ci07E06	F: AATAAACGCCACCTGAGAC R: CAGTTGTTAAAAGGGAAGAATGAA	30	CAT01	F: GCTTTGATCCCTCCACATA R: GATCCCTACAATCCTTGGTCC
13	Ci07G07	F: TCAACAAAACCATTACAT R: AGTCTTTCACGTTAATCAC	31	CT02	F:ACGGTGCCTTTTGGAGTAAG R: TGACTGTTGGATTTGGGATG
14	Ci08A10	F: GAGACTTTACTTGAATGAA R: ATCTCGTGTGAAAATAA	32	CT21	F: CGAACTCATTAAAAGCCGAAAC R: CAACAACCACCACTCTCACG
15	Ci08C05	F: TCCACAGATTGCCCATTA R: CCCTAAAACCAAGTGACA	33	CTT01	F: TCAGACATTGAGTTGCTCG R: TAACCACTTAGGCTTCGGCA
16	mCrCIR01 B02	F: TCAACTTCTCTGGTCTCTC R: TTAGCAATATCAACATCAT	34	GT03	F: GCCTTCTTGATTTACCGGAC R: TGCTCCGAACCTCATCATTG
17	mCrCIR01 B10	F: AAAAATTGCCCTCTTCTCCT R: TGGTGGTTTTGTTGGTTCTAT	35	CT19	F: CGCCAAGCTTACCACTCACTAC R: GCCACGATTTGTAGGGGATAG
18	mCrCIR01 D06a	F: GATCAAAAATTATTCCAA R: TTTTTCATCAACAAGACTG			

Bảng 3. Hệ số PIC và số allele thể hiện của từng môi.

TT	Locus	Số allele/môi	Tổng số allele/môi	PIC	TT	Locus	Số allele/môi	Tổng số allele/môi	PIC
1	Ci01A07	2	29	0,50	19	mCrCIR01F04a	7	47	0,76
2	Ci01C07	4	52	0,65	20	mCrCIR06A02	4	40	0,57
3	Ci01H05	5	35	0,70	21	mCrCIR06A03	1	29	0,00
4	Ci02A04	2	33	0,12	22	mCrCIR06A08	4	48	0,56
5	Ci01D11	2	57	0,50	23	P73	3	46	0,58
6	Ci02B07	4	34	0,40	24	P94	2	29	0,48
7	Ci02B10	1	29	0,00	25	CAC23	3	36	0,37
8	Ci02F07	3	31	0,45	26	NTCP9	1	28	0,00
9	Ci06A05b	4	46	0,55	27	AC01	4	49	0,71
10	Ci07B09	2	27	0,20	28	AG14	7	45	0,74
11	Ci07D10	2	31	0,07	29	CAG01	4	49	0,62
12	Ci07E06	1	29	0,00	30	CAT01	2	40	0,45
13	Ci07G07	5	47	0,65	31	CT02	2	55	0,49
14	Ci08A10	2	28	0,07	32	CT21	4	45	0,53
15	Ci08C05	2	44	0,48	33	CTT01	4	58	0,71
16	mCrCIR01B02	4	37	0,35	34	GT03	7	41	0,82
17	mCrCIR01B10	3	36	0,46	35	CT19	2	32	0,50
18	mCrCIR01D06a	6	53	0,81					
Trung bình							3,29	39,86	0,45

Tỷ lệ khuyết số liệu (M%) và tỷ lệ dị hợp (H%) của các mẫu giống bưởi nghiên cứu

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, tỷ lệ khuyết số liệu cao nhất ở hai mẫu bưởi Thanh Trà (TT2 và TT3) cùng có tỷ lệ khuyết số liệu là 14,29%, có 11 mẫu có tỷ lệ khuyết số liệu từ 2,86 - 11,43%, 16 mẫu không bị khuyết số liệu. Như vậy, đánh giá ở 35 locus thì cả 29 mẫu đều có ý nghĩa thống kê.

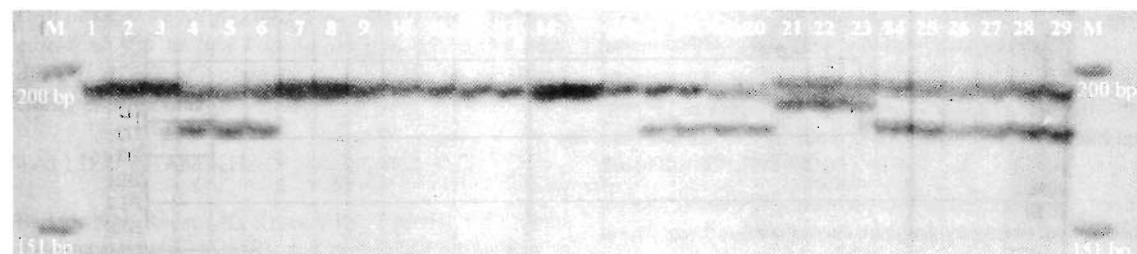
Tỷ lệ các allele dị hợp (H%) của các mẫu khá cao, tỷ lệ dị hợp trung bình của cả tập đoàn là 41,19%. Tỷ lệ allele dị hợp cao nhất là 51,61% ở mẫu DX3 thuộc giống bưởi Da Xanh. Tỷ lệ allele dị hợp thấp nhất là 35,29% ở mẫu PT3 thuộc giống bưởi Phúc Trạch. Các mẫu giống còn lại có tỷ lệ dị hợp dao động từ 36,36 đến 46,88%. Các mẫu bưởi ở

miền Nam có mức dị hợp từ trung bình là 44,17% cao hơn so với mức dị hợp từ của các mẫu bưởi ở miền Bắc (trung bình là 39,58%).

Như vậy, kết quả phân tích 35 môi SSR với 29 mẫu thuộc 11 giống bưởi cho thấy: không có mẫu nào đồng hợp từ ở cả 35 locus nghiên cứu. Kết quả trên cũng cho thấy giữa các giống có sự khác nhau về mức độ dị hợp ở các locus nghiên cứu. Trong cùng một giống, duy nhất ở giống bưởi Bàng Luân, cả 3 mẫu có mức dị hợp từ giống nhau; ở các giống khác, giữa các mẫu giống có sự khác nhau ở các locus khác nhau. Những kết quả này rất hữu ích để đánh giá đa dạng di truyền bên trong giống và nhận dạng chính xác những dòng (cá thể) ưu việt trong tập đoàn phục vụ trong công tác chọn và tạo giống chất lượng.

Bảng 4. Tỷ lệ khuyết số liệu (M%) và tỷ lệ dị hợp (H%) của các giống bưởi dựa trên kết quả phân tích 35 locus khác nhau.

TT	Kí hiệu mẫu	M%	H%	TT	Kí hiệu mẫu	M%	H%
1	S1	5,71	36,36	16	TT1	0,00	40,00
2	S2	0,00	40,00	17	TT2	14,29	40,00
3	S3	2,86	41,18	18	TT3	14,29	36,67
4	BL1	0,00	42,86	19	PTr1	2,86	41,18
5	BL2	0,00	42,86	20	PTr2	0,00	40,00
6	BL3	0,00	42,86	21	NR1	2,86	41,18
7	D1	5,71	39,39	22	NR2	2,86	41,18
8	D2	0,00	37,14	23	NR3	0,00	40,00
9	D3	0,00	37,14	24	DX1	0,00	45,71
10	DML1	2,86	41,18	25	DX2	8,57	46,88
11	DML2	0,00	40,00	26	DX3	11,43	51,61
12	DML3	0,00	42,86	27	DLC1	0,00	45,71
12	PT1	0,00	42,86	28	DLC2	0,00	42,86
14	PT2	0,00	37,14	29	DLC3	5,71	42,42
15	PT3	2,86	35,29				



Hình 1. Điện di sản phẩm PCR mỗi mCrCIR06A08. M. PhiX174 DNA/HinfI Marker. 1 - 3. Sầu Chí Đám; 4 - 6. Bàng Luân; 7 - 9. Diên; 10 - 12. Đò Mê Linh; 13 - 15. Phúc Trạch; 16 - 18. Thanh Trà; 19 - 20. Phò Trạch; 21 - 23. Năm Roi; 24 - 26. Da Xanh; 27 - 29. Đường Lá Cam.

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của tập đoàn bưởi nghiên cứu

Số liệu thu được từ 35 mẫu SSR được thống kê và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc2.1, từ đó thiết lập được bảng hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của các mẫu bưởi nghiên cứu (Hình 2).

Kết quả cho thấy, hệ số tương đồng di truyền của 29 mẫu bưởi dao động từ 0,32 đến 1,0. Giữa các giống bưởi Sầu Chí Đám với bưởi Phò Trạch có sự sai khác lớn nhất (hệ số tương đồng di truyền trung bình giữa các cặp mẫu giống là 0,34); tiếp đến là sự sai khác giữa giống bưởi Đò

Mê Linh và bưởi Năm Roi (hệ số tương đồng di truyền trung bình giữa các cặp mẫu giống là 0,36). Ở giống bưởi Sầu và giống bưởi Bàng Luân, các mẫu nghiên cứu có kiểu gen tương tự nhau ở cả 35 locus nghiên cứu (giữa các mẫu giống có hệ số tương đồng di truyền là 1,0). Ở các giống khác thì có sự đa dạng di truyền giữa các mẫu trong cùng một giống.

Ở mức tương đồng di truyền 57%, 29 mẫu giống bưởi nghiên cứu được chia thành 8 nhóm khác nhau:

Nhóm I gồm 3 mẫu S1, S2 và S3 đều thuộc giống bưởi Sầu Chí Đám có kiểu gen tương tự nhau ở cả 35 locus nghiên cứu, hệ số tương đồng di truyền giữa

các mẫu giống đều là 1,0.

Nhóm II gồm 3 mẫu D1, D2 và D3 đều thuộc giống bưởi Diễn. Trong đó, mẫu D1 và D2 có kiểu gen tương tự nhau (hệ số tương đồng là 1,0), mẫu D3 có kiểu gen khác và hệ số tương đồng với 2 mẫu còn lại đều là 0,96.

Nhóm III gồm 3 mẫu BL1, BL2 và BL3 đều thuộc giống bưởi Bằng Luân có kiểu gen tương tự nhau (hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu giống đều là 1,0).

Nhóm IV gồm 3 mẫu thuộc giống bưởi Đò Mè Linh (DML1, DML2 và DML3). Trong đó, hệ số tương đồng di truyền giữa các cặp mẫu DML1 - DML2, DML1 - DML3, DML2 - DML3 lần lượt là 0,94, 0,92 và 0,98.

Nhóm V gồm 2 mẫu PTr1 và PTr2 thuộc giống bưởi Phò Trạch. Hệ số tương đồng giữa 2 mẫu là 0,96.

Nhóm VI gồm 3 mẫu PT1, PT2 và PT3, hệ số tương đồng di truyền giữa các cặp mẫu PT1 - PT2, PT1 - PT3, PT2 - PT3 lần lượt là 0,98, 0,98 và 0,96.

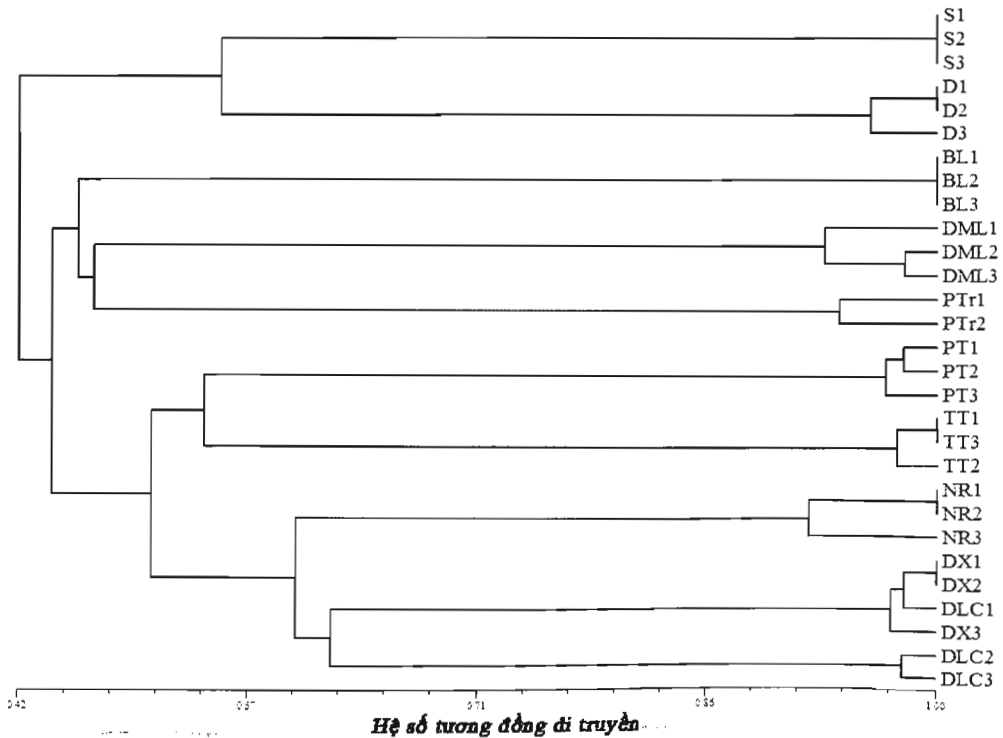
Nhóm VII gồm 3 mẫu thuộc giống bưởi Thanh Trà (TT1, TT2 và TT3). Trong đó, 2 mẫu TT1 và TT3 có kiểu gen tương tự nhau ở 35 locus nghiên cứu. Mẫu TT2 có hệ số tương đồng di truyền với các mẫu TT1 và TT3 đều là 0,98.

Nhóm VIII gồm 9 mẫu đều thuộc các giống bưởi của miền Nam được chia làm 3 nhóm phụ:

Nhóm 8.1 gồm 3 mẫu bưởi Năm Roi, trong đó 2 mẫu NR1 và NR2 có kiểu gen tương tự nhau (hệ số tương đồng là 1,0). Mẫu NR3 có hệ số tương đồng di truyền với các mẫu NR1 và NR2 đều là 0,92.

Nhóm 8.2 có 4 mẫu gồm 3 mẫu bưởi Da xanh và một mẫu bưởi Đường Lá Cam (DLC1). Trong đó, DX1 và DX2 có kiểu gen tương tự nhau (hệ số tương đồng di truyền là 1,0), mẫu DX3 có hệ số tương đồng di truyền với các mẫu DX1 và DX2 đều là 0,98. Hệ số tương đồng di truyền của mẫu DLC1 với các mẫu DX1, DX2, DX3 lần lượt là 0,98, 0,98 và 0,96.

Nhóm 8.3 gồm 2 mẫu DLC2 và DLC3 thuộc giống bưởi Đường Lá Cam có hệ số tương đồng di truyền là 0,98.



Hình 2. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của các mẫu bưởi nghiên cứu.

KẾT LUẬN

Tập đoàn bưởi bản địa của Việt Nam rất đa dạng và phong phú, kết quả nghiên cứu với 35 mỗi SSR trên 29 mẫu bưởi thuộc 11 giống đã thu được 115 loại allele khác nhau (số allele thể hiện/mỗi trung bình là 3,29); hệ số PIC dao động từ 0,0 đến 0,82 (trung bình là 0,45); tỷ lệ allele dị hợp của cả tập đoàn dao động từ 35,29 đến 51,66%.

Ở mức tương đồng 57%, các mẫu bưởi được phân chia thành 10 nhóm khác biệt thuộc 8 nhóm lớn, hầu như các mẫu của mỗi giống đều nằm trong một nhóm riêng và có thể dễ dàng phân biệt với các giống bưởi khác. Kết quả này là cơ sở để xác định các marker phân tử nhận dạng chính xác các giống bưởi bản địa của Việt Nam.

Dựa vào sự sai khác giữa các mẫu trong cùng một giống (sự đa dạng di truyền bên trong giống) có thể chọn ra các cá thể ưu việt phục vụ công tác chọn, tạo giống, nhân giống và bảo tồn có hiệu quả các nguồn gen quý.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài KC.04.16/06-10 (Đề tài: “Nghiên cứu đánh giá tư liệu hóa nguồn gen cây trồng bản địa quý ở mức độ phân tử để bảo tồn và sử dụng chúng có hiệu quả”).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Barkley NA, Roose ML, Krueger RR, Federici CT (2006) Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theor Appl Genet* 112: 1519-1531.

Cheng YJ, Guo WW, Yi HL, Pang XM, Deng XX (2003) An efficient protocol for genomic ADN extraction from *Citrus* species. *Plant Mol Biol Rep* 21:177.

Corazza-Nunes MJ, Machado MA, Nunes CWM, Cristofani M, Targon MLPN (2002) Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica* 126:169-176.

Froelicher Y, Dambier D, Badssene JB, Costantino G, Lotfy S, Didout C, Beaumont V, Brottier P, Risterucci AM, Luro F, Ollitrault P (2008) Characterization of microsatellite markers in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco). *Mol Ecol Res* 8: 119-122.

Guo WW, Cheng YJ, Chen CL, Deng XX (2006) Molecular analysis revealed autotetraploid, diploid and tetraploid cybrid plants regenerated from an interspecific somatic fusion in *Citrus*. *Sci Hort* 108: 162-166.

Kijas JMH, Thomas MR, Fowler JCS, Roose ML (1997) Integration of trinucleotide microsatellites into a linkage map of *Citrus*. *Theor Appl Genet* 94: 701-706.

Nguyễn Văn Mùi (2000) Phổ isozyme esterase của một số giống quýt (*Citrus reticulata* BL.). *Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội: 123-127.

Nguyễn Thanh Nhân, Nguyễn Minh Châu, Tokuro Shimizu, Mitsuo Omura (2004) Ứng dụng RAPD marker phân biệt giống và phân tích nhóm các giống/loài thuộc chi *Citrus* ở Việt Nam. *Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ rau quả 2002 - 2003*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 48-56.

Oliveira AC, Novac GA, Cristofani M, Machado MA (2002) Identification of *Citrus* hybrids through the combination of leaf apex morphology and SSR markers. *Euphytica* 128: 397-403.

Ruiz C, Breto MP (2000) A quick methodology to identify sexual seedlings in *Citrus* breeding programs using SSR markers. *Euphytica* 112: 89-94.

Trần Thị Oanh Yến, Nguyễn Ngọc Thi, Luro Francois (2004) Phân biệt tính đa dạng di truyền nguồn gen cây ăn quả có múi ở Việt Nam bằng microsatellite marker. *Kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ rau quả 2002 - 2003*. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 57-66.

ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY OF SOME NATIVE GRAPEFRUIT VARIETIES (*CITRUS GRANDIS*) IN VIETNAM USING SIMPLE SEQUENCE REPEAT MICROSATELLITES MARKERS

Khuat Huu Trung^{1,*}, Ha Trong Huy¹, Nguyen Truong Khoa¹, Ngo Hong Binh², Nguyen Thanh Binh³, Dang Trong Luong¹, Le Huy Ham¹

¹*Agricultural Genetics Institute*

²*Fruit & Vegetable Research Institute*

³*Southern Fruit Research Institute*

SUMMARY

Citrus is native to China, Eastern India, Vietnam and Southeast Asia. The information on level of genetic diversity and origin is very important for conservation gene resource, selection and development of commercially important grapefruit. Thirty-five simple sequence repeat (SSRs) markers were used to detect molecular polymorphisms among 29 Citrus accessions from 11 native grapefruit varieties in Vietnam. A total of 115 alleles were detected with an average of 3.29 alleles per locus; polymorphism information content (PIC) value range from 0.0 to 0.82, with an average of 0.45. All grapefruit accessions showed heterozygosity from 35.26 to 51.61%. Genetic similarity was determined using Jaccard's similarity coefficient and final dendrogram construction using a UPGMA clustering methods showed that 29 accessions were divided into 8 distinguished heterotic groups with genetic similarity from 0.32 to 1.0. The obtained results could be useful for germplasm fingerprinting, preeminet selection and proper utilization in breeding programs.

Keywords: *Citrus*, genetic diversity, grapefruit, microsattelite, native

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37540764; E-mail: khuathuutrong@yahoo.com