

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

Nguyễn Hữu Hỷ¹, Đinh Văn Cường¹, Phạm Thị Nhạn¹, Nguyễn Thị Nhung¹, Nguyễn Trọng Hiến², Trần Mỹ Linh³, Lê Quỳnh Liên³, Nguyễn Tường Vân⁴

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này đa dạng di truyền của 19 giống khoai mì (*Manihot esculenta* Crantz) được đánh giá dựa vào các chỉ tiêu hình thái và các chỉ thị SSR liên quan chủ yếu đến năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột. Kết quả nhân bản bằng PCR giữa ADN tổng số của 19 giống khoai mì với 4 cặp mồi SSR đã thu được 20 loại alen khác nhau tại 4 loci nghiên cứu trên hệ gen của khoai mì. Hệ số PIC dao động từ 0,56-0,75 cho thấy 4 loci nghiên cứu rất đa dạng về các alen. Kết quả phân tích dựa vào các số liệu SSR và các chỉ tiêu hình thái cho thấy đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì. Trong đó, tần suất xuất hiện của các alen từ 0,02-0,61 và mức dị hợp tử của các cá thể từ 0,28-1,00. Đồng thời, 19 giống khoai mì được phân thành 2 nhóm lớn, mỗi nhóm có 4-9 nhóm nhỏ với khác biệt di truyền tin cậy trên đồ thị UPGMA. Trong khi một số cặp giống không thể phân biệt dựa vào phân tích hình thái, các chỉ thị SSR đã phân biệt được tất cả 19 giống khoai mì, thể hiện tính đa hình cao hơn của các chỉ thị này. Đặc biệt, các chỉ thị SSR còn tách biệt các giống khoai mì có năng suất củ tươi, hàm lượng tinh bột cao với các giống có năng suất thấp về 2 tính trạng này. Kết quả nghiên cứu có thể ứng dụng để chọn tạo các giống khoai mì theo hướng tăng năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột ở nước ta trong thời gian tới.

Từ khóa: Khoai mì, *Manihot esculenta* Crantz, đa dạng di truyền, chỉ thị SSR, chỉ tiêu hình thái

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, khoai mì (*Manihot esculenta* Crantz) giữ vị trí quan trọng thứ 6 trong các cây lương thực của nhân loại (FAO, 2008). Bột khoai mì cung cấp 50% năng lượng cho khoảng 800 triệu người ở Châu Phi, Châu Mỹ La Tinh và Châu Á (Shore, 2002). Lá khoai mì chứa nhiều vitamin A, B, C và một số chất khoáng nên được sử dụng rộng rãi ở Châu Phi làm rau xanh (Fregene *et al.*, 2000). Ở Việt Nam, khoai mì là cây lương thực, thức ăn gia súc quan trọng sau lúa và ngô, và là cây công nghiệp có giá trị xuất khẩu dùng cho chế biến bột ngọt, cồn sinh học, mì ăn liền, bánh kẹo, xi rô, nước giải khát, bao bì, ván ép, phụ gia dược phẩm, màng phủ sinh học và chất giữ ẩm cho đất (Nguyễn Hữu Hỷ và *cs.*, 2013). Diện tích trồng khoai mì tính đến 2010 chiếm khoảng 550.000 ha, sản xuất được trên 8 triệu tấn củ và xuất khẩu được khoảng 500 triệu đô la Mỹ. Tuy nhiên, năng suất củ tươi của khoai mì ở nước ta hiện nay chỉ đạt khoảng 17 tấn/ha, thấp hơn nhiều so với Ấn Độ với 31-38 tấn/ha (Raghu *et al.*, 2007). Có được thành tựu này là do Ấn Độ đã áp dụng kỹ thuật bảo tồn, chọn tạo giống hiệu quả. Các dòng mang tính trạng chọn lọc được thu thập, trồng và duy trì ở các vùng thực địa giữ nguồn gen. Các chỉ thị phân tử sau đó được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền trong loài, giữa các dòng chọn lọc và giữa các thể hệ (Schaal và Olsen,

¹ Trung tâm nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc

² Viện Cây lương thực và Thực phẩm

³ Viện Hóa sinh biển

⁴ Viện Công nghệ sinh học

1995). Các kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền, nhất là đa dạng di truyền được đánh giá dựa vào các chỉ thị phân tử liên quan đến các tính trạng chọn lọc như năng suất củ tươi, hàm lượng tinh bột, khả năng kháng bệnh... là cơ sở để chọn tạo khoai mì thành công theo các tính trạng mong muốn (Raghu *et al.*, 2007).

Đánh giá đa dạng di truyền của khoai mì kết hợp giữa phân tích một số chỉ tiêu hình thái với chỉ thị ADN đang được áp dụng phổ biến và hiệu quả (Raghu *et al.*, 2007; Asare *et al.*, 2011). Các chỉ thị về hình thái, trên thực tế không phổ biến bằng các chỉ thị ADN, lại dễ thay đổi do điều kiện môi trường (Asare *et al.*, 2011) nên nhiều khi khó phân biệt được đa dạng di truyền giữa một số dòng trong quần thể khi ứng dụng loại chỉ thị này (Raghu *et al.*, 2007). Tuy nhiên khi nghiên cứu đa dạng di truyền dựa vào các chỉ thị phân tử liên quan đến tính trạng chọn lọc, việc kết hợp phân tích và so sánh kết quả giữa 2 loại chỉ thị là cần thiết (Siqueira *et al.*, 2009). Trong số các chỉ thị ADN đã được ứng dụng để đánh giá đa dạng di truyền của khoai mì, chỉ thị SSR được áp dụng phổ biến nhất. Đến nay có khoảng 500 cặp mồi SSR trên genome của khoai mì được CIAT (International Centre for Tropical Agriculture) công bố. Nhiều cặp mồi đã phản ánh tần suất alen cao trên các vị trí (loci) của chúng (Raghu *et al.*, 2007). Một số loci của các cặp mồi khác được chứng minh có đa dạng alen cao và liên quan đến tính trạng chọn lọc như năng suất củ tươi, hàm lượng chất khô của khoai mì (Chen *et al.*, 2012). Các cặp mồi trên đã được ứng dụng rộng rãi để nghiên cứu đa dạng di truyền chung cũng như đa dạng di truyền của các tính trạng chọn lọc (Asare *et al.*, 2011).

Ở nước ta, kết quả nghiên cứu chọn tạo giống khoai mì đã đạt được một số thành công nhất định. Năng suất củ tươi tăng từ 8,36 tấn/ha năm 2000 lên 17,2 tấn/ha năm 2010. Trong những năm gần đây, Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam đã thu thập, tạo đột biến, lai tạo và hình thành được tập đoàn 244 giống từ đó chọn ra được một số giống khoai mì triển vọng với năng suất củ tươi và tỷ lệ tinh bột cao. Nghiên cứu này dựa vào phân tích hình thái và chỉ thị SSR để đánh giá đa dạng di truyền về hai tính trạng chọn lọc trên của một số giống khoai mì triển vọng. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để đánh giá, duy trì và tiếp tục chọn tạo các giống khoai mì cho năng suất củ tươi và tỷ lệ tinh bột cao phục vụ sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Lá non của 19 mẫu đại diện cho 244 giống của tập đoàn khoai mì đang được chăm sóc, lưu giữ và chọn lọc tại Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp Hưng Lộc được sấy khô và giữ trong túi ni-lông có chứa Silicagen đến khi tách ADN tổng số. Giá trị trung bình của 5 chỉ tiêu hình thái liên quan đến chiều cao cây, màu vỏ củ, màu thịt củ, năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của 19 giống khoai mì được mô tả ở Bảng 1. Trong 19 giống, 14 (1-14) có năng suất củ tươi lớn hơn 30 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 28-30% và 5 giống có năng suất củ tươi nhỏ hơn 20 tấn/ha, hàm lượng tinh bột 10-27%.

Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái của 19 giống khoai mì

STT	Tên giống	Chiều cao cây (cm)	Màu vỏ củ	Màu thịt củ	NS củ (tấn/ha)	HL tinh bột (%)
1	NA1	265	Nâu	Trắng ngà	40 -47	29
2	KM 60	250	Nâu	Vàng	27-35	29
3	KM 94	267	Nâu	Trắng ngà	30-32	29
4	KM 316	268	Nâu trắng	Trắng ngà	32-35	28
5	KM 98-5	272	Nâu trắng	Trắng ngà	30-32	28
6	KM 505	268	Nâu	Vàng	30-35	28
7	SM 937-26	263	Nâu	Trắng ngà	30-33	29
8	KM 140	253	Nâu trắng	Trắng ngà	30-35	28
9	KM 419	264	Nâu trắng	Trắng ngà	30-32	29
10	KM 146	230	Nâu	Trắng ngà	35-40	28
11	KM 98-1	230	Nâu trắng	Trắng ngà	32-40	28
12	KM 101	245	Nâu trắng	Vàng	30-32	28
13	KM98-7	210	Nâu	Trắng ngà	35-40	28
14	08SA06	250	Nâu trắng	Trắng ngà	35-43	30
15	KM80	349	Nâu nhạt	Trắng	<20	<10
16	KM297-5	312	Trắng	Trắng	<20	24
17	KM311-2	350	Nâu nhạt	Vàng	<20	27
18	KM73	416	Nâu nhạt	Trắng	<20	27
19	KM76	373	Nâu nhạt	Trắng	<20	<10

Chú thích: NS: năng suất; HL, Hàm lượng

2.2 Phương pháp

Tách ADN tổng số

ADN tổng số được tách từ lá khô của khoai mì bằng Kit tách ADN của hãng Fermentas (Đức). Quy trình tách chiết bao gồm các bước từ phá vỡ tế bào, tách ADN, gây lắng và tinh sạch ADN theo phương pháp CTAB.

Nhân bản bằng PCR và lựa chọn các cặp mồi SSR

Các chi thị SSR được nhân bản bằng Kit PCR của hãng Fermentas (Đức) giữa ADN tổng số của 19 giống khoai mì với 4 cặp mồi SSR: CS1, CS2, CS5, CS12. Các cặp mồi này được sàng lọc từ 50 cặp mồi đã được CIAT công bố. Trình tự ADN của CS1: F 5'- CGCTTACAAC ACCACCTTCA-3', R 5'- GCTTGATCTC AGCCATGTCA-3'; CS2: F 5'- TTGACATGAG TGATATTTTC TTGAG-3', R 5'- GCTGCGTGCA AAATAAAAT-3'; CS5: F 5'-TTACAGGTGC CCGATGTGTA-

3'; R 5'- CGTTCGAGTT GCATTCATTC-3'; CS12: F 5'- TGAAAATCTC ACTGGCATT TTT, R 5'- TGCAACCATAGTGCCAAGC-3'. Trong đó, locus của CS1 đã được chứng minh có đa dạng alen cao để nghiên cứu đa dạng di truyền (Raghu *et al.*, 2007) và các loci của CS2, CS5, CS12 được xác định liên quan chặt chẽ với tính trạng năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của khoai mì (Chen *et al.*, 2012). Chiều dài sản phẩm PCR của CS1, CS2 và CS5 từ 180-200bp và CS12 từ 280-300bp. Về điều kiện phản ứng PCR, mỗi phản ứng (50 μ l) chứa 100ng ADN tổng số, 20 mM Tris HCl có pH 8,4, 50 mM KCl, 0,2 mM/loại dNTP, 0,2 μ M/mỗi, 3 mM MgCl₂ và 1,25 đơn vị enzyme (*Taq* ADN Polymerase). Chu trình PCR gồm 1 chu kỳ biến tính ban đầu 96°C trong 5 phút, tiếp tục 30 chu kỳ: 95°C – 0,5 phút, 48-55°C – 1 phút, 72°C – 1,5 phút; kết thúc chu kỳ cuối ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được chạy trên gel polyacryl amide 5%, nhuộm bằng ethidium bromide (0.5 μ g/ml), quan sát dưới đèn UV và so sánh kích thước với thang ADN chuẩn (100bp-GeneRuler, Invitrogen™).

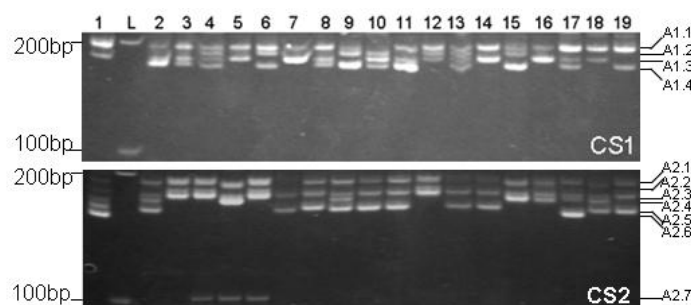
Phân tích số liệu

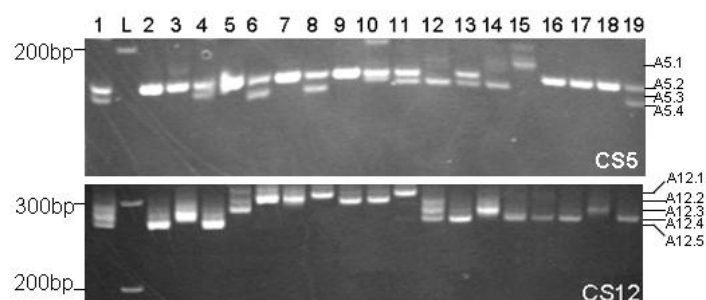
Các chỉ tiêu hình thái (Bảng 1) của 19 giống khoai mì được tính toán giá trị trung bình của từng giống. Đa hình chiều dài các băng là sản phẩm PCR giữa từng cặp môi với ADN tổng số của các giống khoai mì là các alen hay chỉ thị SSR khác nhau. Các chỉ thị được xác định bằng mã (1) và (0) khi chúng có hay không xuất hiện ở từng mẫu. Đa dạng di truyền giữa các giống dựa vào số liệu hình thái và SSR được đánh giá bằng hệ số tương đồng *DICE* ($DICE = 1 - S$; *S* là mức tương đồng) trên đồ thị UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic average) sử dụng phần mềm NTSYS-pc 2.10v. Từ số liệu SSR, POPGENE1.32 được sử dụng để xác định tần suất xuất hiện của các alen (*f*), mức thông tin đa hình của từng cặp môi (*PIC*), mức độ dị hợp tử (*Ho*) của các giống. Trong đó $PIC = 1 - \sum p_i^2$, *i* là tần suất xuất hiện của alen *i* tại locus *p*. $Ho = 1 - \sum G_i^2$, *i* tần suất alen tại kiểu gen *G*.

III. KẾT QUẢ

3.1 Phân tích đa dạng di truyền dựa vào phân tích các chỉ thị SSR

Kết quả nhân bản giữa ADN tổng số các đại diện của 19 giống khoai mì với 4 cặp môi SSR thu được 20 alen khác nhau trên 4 loci nghiên cứu (Hình 1). Số lượng alen thay đổi từ 4-7, trung bình 5 alen/locus. Trong đó, locus CS1 có 4 alen (A1.1-A1.4), CS2 có 7 alen (A2.1-A2.7), CS5 có 4 alen (A5.1-A5.4) và CS12 có 5 alen (A12.1-A12.5). Chiều dài của các alen tùy thuộc vào từng locus. Ở các loci CS1, CS2 và CS5, các alen có chiều dài từ 110-200bp. Chỉ có locus CS12, 5 alen dài hơn và có đa hình từ 270-320bp (Hình 1). Chiều dài các alen ở từng locus đều nằm trong khoảng của từng cặp môi đã thiết kế (xem phần Phương pháp). Các alen ở từng locus là các chỉ thị SSR được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền của đại diện 19 giống khoai mì.





Hình 1. Kết quả nhân bản bằng PCR giữa 4 cặp mồi nhân SSR với ADN tổng số các đại diện của 19 giống khoai mì (Bảng 1). CS1, CS2, CS5, CS12: 4 cặp mồi nhân. A1.1-A1.4: 4 alen trên locus CS1. A2.1-A2.7: 7 alen trên locus CS2. A5.1-A5.4: 4 alen trên locus CS5. A12.1-A12.5: 5 alen trên locus CS12.

Kết quả phân tích giá trị một số chỉ số di truyền dựa vào đa hình chiều dài các alen tại 4 loci CS1, CS2, CS5, CS12 cho thấy 19 giống khoai mì có đa dạng di truyền cao (Bảng 2). Tần suất xuất hiện (f) của các alen ở cả 4 loci thay đổi từ 0,02-0,61 cho thấy tại các loci này có đa dạng alen cao về các tính trạng liên quan. Tại CS1 có 4 alen với $f = 0,13-0,32$; CS2 có 7 alen với $f = 0,02-0,034$. Bốn alen tại CS5 có f biến đổi từ 0,03-0,61, trong khi tại locus CS12 có 5 alen với f khác nhau từ 0,008-0,38. Mức thông tin đa hình (PIC) của 4 cặp mồi có giá trị cao, thay đổi từ 0,56 ở cặp mồi CS1 đến 0,75 ở cặp mồi CS2 và CS12 và trung bình là 0,68 (Bảng 2). Như vậy các cặp mồi SSR đều có đa hình sản phẩm PCR cao, trong đó cao nhất là ở các cặp mồi CS2 và CS12 ($PIC=0,75$), tiếp theo là CS1 ($PIC=0,42$) và thấp nhất là CS12 ($PIC=0,28$). Bên cạnh các chỉ số f và PIC , 4 loci có mức dị hợp tử (H_o) cao và giao động từ 0,28-1,0, trung bình là 0,67 (Bảng 2). H_o tại locus CS12 là thấp nhất (0,28), tiếp theo là tại CS5 ($H_o=0,42$). CS1 và CS2 có mức dị hợp tử cao nhất (H_o đều là 1,0).

Bảng 2. Tần suất xuất hiện của các alen (f), mức độ dị hợp tử quan sát được (H_o) và mức thông tin đa hình (PIC) phân tích dựa vào số liệu SSR tại 4 loci CS1-CS12.

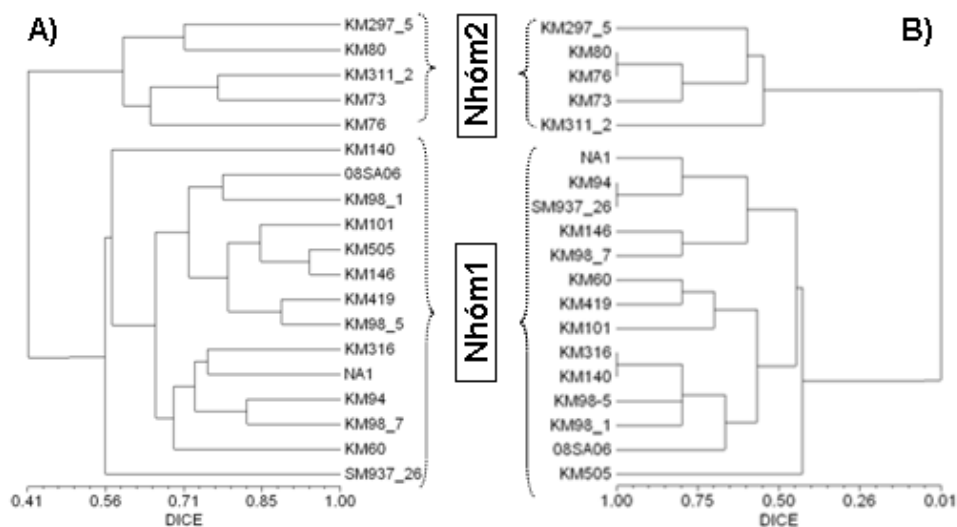
Locus	A	Tần suất xuất hiện của các alen (f)				H_o	PIC			
CS1	4	A1.1	A1.2	A1.3	A1.4	1,00	0,73			
		0,32	0,13	0,28	0,27					
CS2	7	A2.1	A2.2	A2.3	A2.4	A2.5	A2.6	A2.7	1,00	0,75
		0,27	0,03	0,34	0,11	0,21	0,02	0,03		
CS5	4	A5.1	A5.2	A5.3	A5.4	0,42	0,56			
		0,03	0,61	0,19	0,16					
CS12	5	A12.1	A12.2	A12.3	A12.4	A12.5	0,28	0,75		
		0,08	0,21	0,21	0,38	0,13				
TB	5					0,67	0,70			

Chú thích: A: số lượng alen. TB: Trung bình

3.2 Phân tích đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị SSR và hình thái

Kết quả phân tích đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị SSR có kết quả tương tự như khi phân tích dựa vào 5 chỉ tiêu hình thái. Đa hình của 2 loại chỉ thị đều cho thấy

19 giống khoai mì có đa dạng di truyền cao. Giữa các giống có khác biệt di truyền từ 10-59% ($DICE = 0,41-0,90$) khi phân tích dựa vào số liệu SSR và 0-99,9% ($DICE = 0,01-1,00$) dựa vào các chỉ tiêu hình thái. Đồ thị UPGMA dựa vào 2 loại chỉ thị đều chia 19 mẫu khoai mì thành 2 nhóm chính (Hình 2A, 2B). Khác biệt di truyền giữa 2 nhóm là 59% từ số liệu SSR ($DICE = 0,41$) và 99,9% từ số liệu hình thái ($DICE = 0,01$). Với cả 2 loại chỉ thị, Nhóm 1 bao gồm 15 giống có chiều cao cây nhỏ hơn 300 cm, năng suất củ tươi lớn hơn 30 tấn/ha và hàm lượng tinh bột trong củ từ 28-30% (Bảng 1). Trái lại, 5 giống ở Nhóm 2 có chiều cao cây lớn hơn 300 cm, năng suất củ tươi nhỏ hơn 20 tấn/ha và hàm lượng tinh bột trong củ từ 10-27%. Trên đồ thị UPGMA của cả 2 loại chỉ thị, mỗi nhóm đều được chia thành 4-9 nhóm nhỏ, cho thấy đa dạng di truyền cao của các giống khoai mì. Đa hình chiều dài các chỉ thị SSR chia Nhóm 1 thành 9 nhóm nhỏ với khác biệt di truyền từ 10-44% ($DICE = 0,56-0,90$), mỗi nhóm có từ 1-2 cá thể (Hình 2A). Tương tự, đa hình về 5 chỉ tiêu hình thái cũng chia Nhóm 1 của các giống khoai mì thành 9 nhóm nhỏ với khác biệt di truyền từ 0-45% ($DICE = 0-0,55$) (Hình 2B). Xét về ưu thế của 2 loại chỉ thị, các chỉ thị SSR có đa hình cao hơn so với các chỉ tiêu hình thái. 20 alen là chỉ thị SSR có thể phân biệt được tất cả 19 giống khoai mì với khác biệt di truyền từ 10-59% (Hình 2A). Trong khi đó các chỉ tiêu hình thái không phân biệt được các cặp giống như KM94 và SM 937_26, KM316 và KM140, KM60 và KM76 ($DICE$ của các cặp giống này là 1,00) (Hình 2B). Như vậy, ngoài ưu thế để nghiên cứu đa dạng di truyền, đa hình các chỉ thị SSR còn có thể phân biệt được các nhóm khoai mì có tính trạng chiều cao cây và năng suất củ đối lập.



Hình 2. Đồ thị UPGMA về khác biệt di truyền giữa 19 giống khoai mì dựa vào các chỉ thị SSR tại 4 loci CS1, CS2, CS5 và CS12 (A) và dựa vào phân tích 5 chỉ tiêu hình thái (B). $DICE$: hệ số tương đồng.

IV. THẢO LUẬN

4.1 Đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì

Kết quả phân tích dựa vào đa hình của các chỉ thị SSR và 5 chỉ tiêu hình thái cho thấy các đại diện của 19 giống khoai mì trong nghiên cứu này có đa dạng di truyền cao. Đa hình của 2 loại chỉ thị đều phân 19 mẫu khoai mì thành 2 nhóm lớn, mỗi nhóm lại được phân thành 4-9 nhóm nhỏ theo khác biệt di truyền giữa các nhóm (Hình 2A,

2B). Đa dạng cao của các giống khoai mì liên quan chặt chẽ đến đa dạng di truyền của nguồn gốc các giống thu thập (Raghu *et al.*, 2007; Siqueira *et al.*, 2009). Như vậy, đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì trong nghiên cứu này có thể liên quan đến nguồn gốc của các giống đã thu thập từ nhiều vùng khác nhau ở Nam Bộ, từ đó được sử dụng để chọn tạo ra các giống trong nghiên cứu này. Hơn thế nữa, trong nghiên cứu này, một số tính trạng về chiều cao cây và tính chất củ của khoai mì và các chỉ thị SSR liên quan đến các tính trạng này có thể đã phản ánh đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì. Sự tương quan này đã được Carvalho *et al.*, (2001) chứng minh. Theo các tác giả này, các chỉ tiêu hình thái liên quan đến chiều cao cây, chất lượng củ và các chỉ thị SSR liên quan đến các tính trạng trên thường có đa dạng di truyền cao. Ngoài ra, trong nghiên cứu này, đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì còn được thể hiện qua một số chỉ số di truyền khi phân tích dựa vào số liệu SSR. Trong đó, trung bình mỗi locus có tới 5 alen, mức dị hợp tử trung bình của các cá thể tới 0,67 (Bảng 2). Kết quả này phù hợp với một số công bố về chỉ số di truyền của một số quần thể khoai mì có đa dạng di truyền cao ở Ấn Độ (Raghu *et al.*, 2007), ở Brazil (Siqueira *et al.*, 2009) và ở Ghana (Asare *et al.*, 2011). Theo các tác giả này, các quần thể khoai mì có đa dạng di truyền cao thường có 4-6 alen/locus và mức độ dị hợp tử (H_o) từ 0,60-0,70.

4.2 Các chỉ thị SSR có đa hình cao so với các chỉ tiêu hình thái

Trên thực tế chỉ thị SSR của cây trồng, bao gồm cả khoai mì có đa hình cao (Raghu *et al.*, 2007; Asare *et al.*, 2011). Theo các tác giả này, các chỉ thị SSR có đa hình cao thường có mức thông tin đa hình (PIC) từ 0,53-0,75. Kết quả của các tác giả này tương tự như trong nghiên cứu của chúng tôi. Tại 4 loci CS1, CS2, CS5 và CS12 của 19 giống khoai mì có tới 20 alen với mức thông tin đa hình cao (PIC = 0,70; Bảng 2). Nhờ đó mà các chỉ thị SSR này đã xác định được đa dạng di truyền và tách biệt về khoảng cách di truyền của tất cả các mẫu nghiên cứu (Hình 2A). Trong khi đó nhiều cặp mẫu không thể hiện khác biệt di truyền khi dựa vào số liệu hình thái (Hình 2B). Tính đa hình cao của các chỉ thị SSR so với các chỉ tiêu hình thái đã được nhiều nghiên cứu chứng minh. Chẳng hạn đa hình các chỉ thị SSR có thể xác định khác biệt di truyền của tất cả 43 giống khoai mì ở Ghana, nhưng các chỉ tiêu hình thái không phân biệt được 6 nhóm giống trong quần thể khoai mì này (Asara *et al.*, 2011). Dù có những nhược điểm về mức đa hình, nhiều chỉ tiêu hình thái vẫn được sử dụng như những chỉ thị di truyền để nghiên cứu quan hệ di truyền ở mức loài và dưới loài của khoai mì (Siqueira *et al.*, 2009). Trong đó có nghiên cứu đa dạng di truyền của các tính trạng chọn lọc để so sánh kết quả với các chỉ thị phân tử như SSR (Asare *et al.*, 2011). Vì mục đích trên, đến nay vẫn có nhiều nghiên cứu kết hợp giữa phân tích số liệu SSR với các chỉ tiêu hình thái (Raghu *et al.*, 2007; Asara *et al.*, 2011). Nhờ mức đa hình cao mà các chỉ thị SSR trong nghiên cứu này không chỉ xác định được đa dạng di truyền về một số tính trạng chọn lọc liên quan đến chiều cao cây, màu sắc củ, năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột củ khoai mì mà còn tách biệt về khoảng cách di truyền giữa các giống có năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột cao với các giống kém ưu thế về 2 tính trạng này (Hình 2A). Có được khả năng trên là vì các chỉ thị SSR trong nghiên cứu này được tìm ra từ 4 loci trên hệ gen của khoai mì. Các loci này đã được chứng minh là có đa dạng alen cao (Raghu *et al.*, 2007) và liên quan chặt chẽ với với tính trạng năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột của khoai mì (Chen *et al.*, 2012).

V. KẾT LUẬN

Đa dạng di truyền cao của 19 giống khoai mì được đánh giá dựa vào các chỉ thị SSR và 5 chỉ tiêu hình thái liên quan đến chiều cao cây, màu sắc củ, năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột trong củ. Các chỉ thị SSR có đa hình cao hơn các chỉ thị hình thái trong nghiên cứu đa dạng di truyền của các tính trạng chọn lọc liên quan đến chiều cao cây và năng suất củ ở khoai mì. Kết quả nghiên cứu là cơ sở thông tin di truyền ở mức phân tử để chọn lọc và lai tạo ra các dòng khoai mì có năng suất củ tươi và hàm lượng tinh bột cao ở nước ta.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ chọn tạo giống và quy trình canh tác của Hàn Quốc vào phát triển sản xuất sản bền vững cho vùng trồng sản trọng điểm các tỉnh phía Nam” thuộc Nhiệm vụ Hợp tác quốc tế về KH&CN theo Nghị định thư Việt Nam - Hàn Quốc 2012-2014, Bộ Khoa học và Công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Asare P. A., Galyuon I. K. A., Sarfo J. K., Tetteh J. P. (2011). Morphological and molecular based diversity studies of some cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm in Ghana. *Afric. J. Biotech.* 10 (63): 13900-13908.
- Carvalho L.J.C.B, Schaal B.A. (2001). Assessing genetic diversity in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm collection in Brazil using PCR-based markers. *Euphytica* 120:133-142.
- 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
- Food and Agricultural Organisation of United Nations (2008). Facts and figures. Rome, Italy www.faostat.org.
- Fregene M., Bernal A., Duque M., Dixon A., Tohme J. (2000). AFLP analysis of African cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm resistant to the cassava mosaic disease (CMD). *Theor. Appl. Genet.* 100: 678-685.
- Nguyễn Hữu Hỷ, Đinh Văn Cường, Trần Công Khanh và cộng sự (2013). Thành tựu trong nghiên cứu, phát triển cây sản ở Việt Nam từ năm 2001 – 2012. <http://iasvn.org/tin-tuc/Thanh-tuu-trong-nghien-cuu,-phat-trien-cay-san-o-Viet-Nam-tu-nam-2001---2012-2430.html>.
- 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. Integrative Biol.* 2: 141-149.
- Schaal B., Olsen P. (1995). Phylogenetic analyses of the genus *Manihot* based on molecular markers. The cassava biotechnology network: Proc. 2nd Inter. Scie. Meet., Bogor, Indonesia: 22-26
- Shore K (2002). Decades of cassava research bear fruit. *Gene Conserve*, 1: 1-4.
- Siqueira M.V.B.M., Queiroz-Silva J.R., Bressan E. A., Borges A., Pereira K. J.C., Pinto J. G., Veasey E. A. (2009). Genetic haracterization of cassava (*Manihot*

esculenta) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. Genet. Mol. Biol. 32 (1): 104-110.

Analysing genetic diversity of some cassava accesions (*Manihot esculenta* Crantz) in Vietnam based on morphological and SSR markers

Nguyen Huu Hy, Dinh Văn Cuong, Pham Thi Nhan, Nguyen Thi Nhung, Nguyen Trong Hien, Tran My Linh, Le Quynh Lien, Nguyen Tuong Van

SUMMARY

*In this research, genetic diversity of 19 cassava (*Manihot esculenta* Crantz) accesions was investigated based on analyses of morphological descriptors and SSR markers, which mainly related to traits of high fresh root yield and starch content in cassava root. PCR-amplification between genomic DNA of 19 accesions and 4 SSR primer pairs resulted in 20 alleles in 4 different loci within genome of cassava. Polymorphic information content from 0.56-0.75 indicated high polymorphic level of the 4 loci. Analysing SSR and morphological data revealed high genetic diversity of 19 accesions. Allele frequency ranged from 0.02-0.61 and observed heterozygosity varied from 0.28-1.00. SSR and morphological markers clustered 19 accesions into 2 main groups, each of which was divided into 4-9 branches with genetic distance in UPGMA dendrogram. SSR markers were able to determine of all 19 accesions with genetic distance while those of morphological descriptors could not, indicating higher polymorphic level of SSR markers. SSR markers were also capable to distinguish accesions with high fresh root yield and starch content in tubers from those low in these characters. This finding could be scientific initiations necessary for selection and breeding of cassava with high fresh root yield and starch content in Vietnam.*

Keywords: *Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, genetic diversity, SSR markers, morphological descriptors*