

# KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ DÒNG ĐẬU XANH TRIỂN VỌNG

Hoàng Thị Lan Hương<sup>1</sup>, Trần Quang Hải<sup>1, \*</sup>,  
Luu Minh Cúc<sup>2</sup>, Nguyễn Quang Tin<sup>3</sup>

## TÓM TẮT

Từ kết quả đánh giá tập đoàn 30 dòng đậu xanh trong năm 2020 và năm 2021 tại Trung tâm Tài nguyên thực vật, bước đầu đã chọn ra được 8 dòng đậu xanh triển vọng có năng suất ở vụ xuân từ 1,78 tấn/ha - 2,10 tấn/ha và vụ hè từ 1,60 tấn/ha - 1,81 tấn/ha. Khả năng chống đổ đạt điểm 1, đóm lá điểm 1 - 2, phấn trắng điểm 1. Tám dòng đậu xanh này tiếp tục được đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị SSR. Hệ số PIC nghiên cứu dao động từ 0,20 - 0,73, trung bình là 0,42. Kết quả phân tích dựa trên hệ số tương đồng di truyền Jaccard cho thấy giữa 8 dòng đậu xanh có mức độ đa dạng di truyền cao, hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,43 - 0,90, từ đó đề xuất được 14 cặp lai để tiếp tục nghiên cứu về sau.

**Từ khóa:** Đậu xanh, đa dạng di truyền, chỉ thị SSR, năng suất.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu xanh có tên khoa học là *Vigna radiata* (L.) Wilczek, là cây thực phẩm ngắn ngày có giá trị kinh tế cao, với nhiều ưu điểm trong sản xuất như thời gian sinh trưởng ngắn, kỹ thuật canh tác đơn giản, vốn đầu tư ít, có khả năng cải tạo đất, trồng được nhiều vụ trong năm [8]. Việc đánh giá các đặc điểm nông sinh học nguồn gen đậu xanh là bước đầu tiên và quan trọng trong công tác tạo giống để chọn ra những giống có năng suất, chất lượng. Tuy nhiên, việc đánh giá các tính trạng và sự đa dạng di truyền dựa trên sự biểu hiện của kiểu hình thường chịu ảnh hưởng bởi môi trường và sự tương tác giữa kiểu gen với môi trường. Để phát hiện sự thay đổi trong trình tự ADN mà không bị chi phối bởi yếu tố môi trường thì công cụ chỉ thị phân tử là tốt nhất. Có nhiều loại chỉ thị ADN thường được dùng như: RAPD, SSR, ISSR, trong đó SSR - một chỉ thị đồng trội biểu thị tính đa hình cao được coi là chỉ thị hữu ích để phát hiện sự đa dạng di truyền ở cây trồng. Chỉ thị SSR được dùng trong nghiên cứu về đa dạng di truyền

và cấu trúc quần thể [4]. Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá các đặc điểm nông sinh học và đa dạng di truyền với mục đích tìm ra được giống đậu xanh làm cơ sở cho quá trình chọn cặp bố mẹ trong lai tạo giống mới, góp phần cho sản xuất nông nghiệp ở Hà Nội cũng như các tỉnh phía Bắc.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 8 dòng đậu xanh triển vọng.

**Bảng 1. Danh sách các dòng đậu xanh nghiên cứu**

Kí hiệu	SĐK	Tên giống	Kí hiệu	SĐK	Tên giống
03	T22830/22712	08Đa02	12	T23095	14Đa119
08	T22834/22717	12ĐầuX02	19	T23102	15Đa42
09	T22835/22718	13Đa28	27	T23111	15Đa49
10	T22836/22719	13Đa29	ĐC	T23109	WT (Đ/C)

*Ghi chú: SĐK: Số đăng ký*

- 20 cặp mỗi SSR được cung cấp bởi AVRDC.

**Bảng 2. Danh sách 20 cặp mỗi SSR đa hình trong tập đoàn nghiên cứu**

STT	Tên mỗi	Trình tự mỗi xuôi (5'-3')	Trình tự mỗi ngược (5'-3')	Tm	Motif	No. Repeat	Kích thước (bp)
1	MB127	GGTGTTCGCTGTGGTTTT	CATCGCTGAATCTACGACCA	55	caccga	2	327
2	MB105	CAGCTCTTGTCTTGCTCCTT	TTGACGAGGCAATAGCAGGT	55	ta	8	301
3	MB90	GTGGGAAACCGGAATATCT	ACAGGCAAGACCAGAGGAGA	60	tcaga	2	364

<sup>1</sup> Trung tâm Tài nguyên thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

<sup>3</sup> Vụ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và PTNT

\*Email: tranquanghai10011982@gmail.com

4	MB125	GGGACTGTAATGCGGTCCTACT	GTCCTCACTTGCCATCATC	60	Gatga	2	355
5	MB118	TGATGGTGATTTGCTGGAGA	ATGCTGGAAGATCCAAAGTC	60	ctatttc	2	322
6	MB128	GTTGAGGCTCAGCAACACCT	CGACACATGACACCTTGA	59	ac	5	347
7	MB58	CATGAACGGGTTGAAGACCT	CCAAATGGATAGAGTGTTTCGTC	58,5	tattac	2	333
8	MB59	GGCCTAGACAACCAGGCATA	TATAGTGGCCCCTCTGGATG	60	gggaca	2	352
9	MB51	ATTTCCGAAGGAGCAACCTC	CCTTCCCAACACCTTTTCTT	60	taaac	2	304
10	MB116	GTTTCTCGCATCGGATCTTC	AGGGCTTGTTGTCCGTAAC	60	atggc	2	306
11	MB59	TCGATCGAAGAACTCGAAC	AATACCCGGAATGCCTCTTT	58	aagaa	2	344
12	MB136	CAACTGAGGCAGAGTTGCAG	GTCCTCACTTGCCATCATC	60	gatga	2	324
13	MB72	CTGGGGTTTCTTTGAGTTGG	GGTACCCTTTCTCCAGTCCA	59	tcagt	2	338
14	MB147	TAGCCCCCTCTCTCTCTCT	TTCTCTTCTCTCTCCATCA	59,5	caacta	2	390
15	MB62	ACCGCAACCTCACTCAACTC	TCTTCTGACGTCGTCCAC	60	cccga	2	327
16	MB149	GGAATGGCACCTATCAATGG	CCCAAACACAATGTCGTCAG	60	gtggg	2	314
17	MB99	CCCTGGAGATGGCAGAGTAA	TTGATCTACGCTGAGCTTC	58	agaca	2	315
18	MB74	TTCAAGGCTGGGTCTCAGAT	CAGTGACAATGGCTGAACG	60	ggtga	2	313
19	MB122	TGAACAAGGGTACCAGGAG	CGGTGCTACATTAGAGTACTGA	58,5	caaatt	2	355
20	MB132	TCTCTCTCCAGCTGTACGA	GCGTCCTTATGGCTCAACTC	60	gtgccg	2	304

- Hoá chất: Taq - polymerase, buffer PCR, Tris, Agaros.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phương pháp tách ADN

Các mẫu lá đậu xanh sau khi thu thập được tiến hành tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle và cs (1987) [2] với các bước cụ thể như sau: nghiền mẫu lá trong nitor lỏng bằng cối chày sứ. Bột đã nghiền cho vào ống eppendorf 1,5 ml. Thêm 0,7 ml đệm CTAB đã làm ấm ở 65°C. Để các ống trong bể ổn nhiệt ở 65°C trong 90 phút, đảo ống nhẹ nhàng 15 phút một lần để việc tách có hiệu quả. Thêm 0,7 ml hỗn hợp Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25: 24: 1), đảo nhẹ nhàng trong 15 phút. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Hút 500 µl lớp trên cùng sang ống eppendorf 1,5 ml mới. Thêm 1 ml cồn tuyệt đối lạnh và 15 µl muối NaCl 5 M. Để mẫu ở tủ - 20°C trong ít nhất 2 giờ. Ly tâm thu tủa ở tốc độ 12.000 vòng/phút trong 15 phút (4°C). Rửa tủa bằng cồn 70% lạnh, ly tâm lại 12.000 vòng/phút trong 10 phút. Thổi khô tủa trong 20 phút ở Laminar. Sau đó hoà tan tủa trong 50 µl nước deion có chứa Rnase (100 µg/µl). Ủ mẫu trong tủ ấm 37°C trong 30 phút. Giữ mẫu trong tủ - 20°C.

### 2.2.2. Thực hiện phản ứng PCR với các mồi SSR

Các cặp mồi sử dụng cho phản ứng PCR gồm 20 mồi ở bảng 2. Phản ứng PCR thực hiện trên máy luận nhiệt Eppendorf MasterCycler Thermal Cycler với các cặp mồi SSR được tiến hành với thể tích 25 µl, thành phần phản ứng gồm: Master mix 2X 12,5 µl, mỗi 1 µl, DNA tổng số (25 ng/µl) 2 µl và nước deion

9,5 µl. Chu trình nhiệt cho phản ứng SSR gồm: 94°C - 5 phút (94°C - 45s; 55 - 60°C (Bảng 2) - 1 phút; 72°C - 1 phút) \* 35 chu kỳ; 72°C - 7 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel polyacrylamide 8%.

### 2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các băng ADN được ghi nhận dựa trên sự có mặt hay vắng mặt của chúng ở các mẫu nghiên cứu theo ADN chuẩn (ADN marker). Nếu một băng ADN (có kích thước cụ thể) xuất hiện ở mẫu i nhưng không xuất hiện ở mẫu j hoặc đồng thời xuất hiện ở cả i và j nhưng không xuất hiện ở các mẫu khác thì băng ADN này gọi là băng đa hình. Ngược lại, nếu băng ADN này xuất hiện ở tất cả các mẫu nghiên cứu thì gọi là băng đơn hình. Các băng được mã hóa bằng số tự nhiên 0 và 1. Nếu mẫu nào có băng thì ký hiệu là 1, không có thì ký hiệu là 0. Các số liệu này được đưa vào xử lý theo chương trình NTSYSpc để tính ma trận tương đồng giữa các đôi mẫu [9].

- Việc tính toán ma trận tương đồng dựa trên công thức:  $J_{ij} = a / (n - d)$ .

Trong đó, a: Số băng ADN có ở hai dòng i và j; d: Số băng ADN không có băng cả hai dòng i và j; n: Tổng số băng thu được;  $J_{ij}$ : Hệ số tương đồng Jaccard giữa hai dòng i và j.

Các mẫu nghiên cứu được xử lý tiếp trong NTSYS - SIMQUAL để tính hệ số tương đồng di truyền và được biểu hiện trên biểu đồ quan hệ di truyền giữa các đối tượng nghiên cứu.

- Hệ số đa dạng gen (PIC) hay còn gọi là hàm lượng thông tin tính đa hình của từng locus