

# MỨC ĐA BỘI THỂ CỦA TẬP ĐOÀN GIỐNG CÂY CÓ MÚI Ở VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP DÒNG CHẢY TẾ BÀO

Nguyễn Vũ Linh<sup>1</sup>, Nguyễn Xuân Phước<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>,  
Nguyễn Lê Duy Trung<sup>1</sup> và Trần Nhân Dũng<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*In this article, 107 commonly natural species of four Citrus groups in Vietnam: Citrus maxima; Citrus reticulata; Citrus sinensis; and mixed group Citrus aurantifolia, Citrofortunella microcarpa, Limonia acidissima were collected from Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University. They were analysed ploidy level by flow cytometry (FCM) method with Partec Ploidy Analyser PA I, Germany machine. Nuclear DNA content was isolated from leaf of samples and measured light scattering in various voltages to determine polyploidy. The experiment was done in an effort to investigate polyploidy citrus cultivars in nature which are materials for seedless breeding in future. Flow cytometry demonstrated 100% samples being the same diploid. Especially, seedless lemon and seedless orange also consisted of diploid chromosome.*

**Keywords:** citrus, Flow cytometry, Partec Ploidy Analyser PA-I, polyploidy, ploidy level

**Title:** Ploidy of Citrus in Vietnamese citrus collection by flow cytometry

## TÓM TẮT

Đề tài nhằm khảo sát mức độ đa bội thể 107 mẫu cây tự nhiên thuộc 4 nhóm chính: nhóm bưởi (*Citrus maxima*); nhóm quýt (*Citrus reticulata*); nhóm cam (*Citrus sinensis*); và nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*), hạnh (*Citrofortunella microcarpa*), cần thăng (*Limonia acidissima*) trong tập đoàn cây có múi ở Việt Nam đang được trồng tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Đại học Cần Thơ. Thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry) sử dụng máy đo đa bội thể Partec Ploidy Analyser PA-I, Đức. Tiến hành ly trích nội dung DNA nhân lá các mẫu cần khảo sát và đo khả năng tán xạ ánh sáng ở các hiệu điện thế khác nhau để xác định bộ nhiễm sắc thể của chúng. Kết quả cho thấy 100% các cây được khảo sát, đều mang bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội (2n), không có dạng đa bội nào. Đặc biệt, chanh và cam không hạt cũng mang bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội.

**Từ khóa:** cây có múi, dòng chảy tế bào, máy đo đa bội thể, mức đa bội, thể đa bội

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Trái cây có múi là một trong những mặt hàng cây ăn trái rất được ưa chuộng không những trong nước mà còn ngoài nước. Các giống cây có múi được trồng phổ biến đem lại nguồn thu nhập chính cho nông dân, như: cam Bó Hạ, cam xã Đoài, Vân Du, cam sành, bưởi Năm Roi, quýt đường Bến Tre, quýt hồng Đồng Tháp... Tuy nhiên, nguồn cây giống có nhược điểm chung là nhiều hạt, tính trạng có hạt làm giảm giá trị thương mại của ngành công nghiệp cây có múi. Vì vậy, việc tạo giống

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và phát triển Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

cây có múi không hạt là mục tiêu quan trọng đang được đặt ra cho công tác tạo giống.

Chiến lược được đặt ra là làm sao tìm được nguồn giống cây có múi mang thể đa bội có sẵn trong tự nhiên làm nguồn nguyên liệu cho việc lai tạo giống không hạt sau này. Trước đây, để phát hiện được các giống cây đa bội, người ta sử dụng phương pháp đếm nhiễm sắc thể. Phương pháp này tỏ ra tốn thời gian, khó nhọc và thiếu chính xác mà quy trình thực hiện lại không đồng nhất cho các loại cây khác nhau (Martens và Reisch, 1988; Owen và Miller, 1993).

Vì vậy một phương pháp mới đã ra đời, đó là phương pháp ứng dụng dòng chảy tế bào (flow cytometry-FCM) để phân tích mức độ đa bội thể của sinh vật. Đây là phương pháp được đánh giá là nhanh, đơn giản và hiệu quả trong những năm gần đây. Leus (2005) đã sử dụng máy CA-II và PAS-III (Partec, Đức) để phân tích mức bội thể và phân loại 339 giống hoa hồng (*Rosa sp.*) tại vườn thực vật của Bộ môn Di truyền và Chọn giống, Đại học Ghent (Bỉ). An *et al.* (2009) đã tiến hành lai khác loài giữa *Citrus unshiu* với *Citrus sinensis* bằng kỹ thuật dung hợp tế bào trần. Phương pháp FCM đã tỏ ra khá hiệu quả khi được dùng để phân tích mức độ đa bội thể của sản phẩm con lai, khi kết quả thu được là 15 trong tổng số 102 cây con lai là tứ bội thể. Và nguồn giống tứ bội (4n) này được sử dụng cho việc lai tạo ra cây tam bội (3n) không hạt.

Hiện nay các tập đoàn giống cây có múi ở Việt Nam đạt chất lượng tốt rất phong phú. Những nghiên cứu trên đặc tính hình thái, sinh lý và bộ gen của chúng đều đã được thực hiện, tuy nhiên việc nghiên cứu về mức độ đa bội thể của tập đoàn này còn bỏ ngỏ. Vì vậy việc thực hiện “**Khảo sát mức độ đa bội thể của tập đoàn giống cây có múi ở Việt Nam bằng phương pháp dòng chảy tế bào**” nhằm xác định mức đa bội thể của tập đoàn cây giống này. Trên cơ sở đó tìm ra một nguồn đa bội thể cây có múi có sẵn trong tự nhiên, nhằm hỗ trợ cho những nghiên cứu sau này trong việc tạo ra giống cây có múi không hạt.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện nghiên cứu

**Vật liệu:** Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng 107 mẫu bao gồm 38 mẫu bưởi (*Citrus maxima*), 21 mẫu quýt (*Citrus reticulata*), 34 mẫu cam (*Citrus sinensis*) và 14 mẫu thuộc nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*), hạnh (*Citrofortunella microcarpa*), cần thăng (*Limonia acidissima*) do Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cung cấp.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Phương pháp thu mẫu

Trên cơ sở tập đoàn giống cây có múi được thu thập từ nhiều tỉnh thành khác nhau của cả nước hiện đang được trồng và chăm sóc tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, đề tài chọn ra khoảng 100 giống, mỗi giống thu từ 3-4 mẫu lá non ở nhiều vị trí khác nhau, lá khoảng từ 20-30 ngày tuổi, sạch bệnh.

#### 2.2.2 Phương pháp trích và nhuộm nội dung DNA nhân từ lá cây

- Lau sạch mẫu lá bằng cồn 70<sup>0</sup>

- Lấy khoảng 0,5 cm<sup>2</sup> mẫu lá cho vào đĩa petri, cho 0,5 ml dung dịch nhuộm CyStain UV ploidy (chứa chất có tác dụng ly trích nội dung DNA nhân tế bào và chất nhuộm DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) phát quang dưới đèn UV).
- Dùng dao lam cắt nhỏ mẫu lá thành sợi mảnh.
- Cho thêm 1,5 ml dung dịch nhuộm Cystain UV ploidy, ủ ở nhiệt độ phòng trong khoảng 3 phút.
- Sau đó lọc dung dịch mẫu qua màng lọc Partec 30 µm CellTrics (Đức) và tiến hành đo mức đa bội thể trên máy Partec Ploidy Analyser PA-I.

### 2.2.3 Phương pháp thiết lập thông số cho máy Partec Ploidy Analyser PA-I

Các mẫu đối chứng của 4 nhóm như sau: nhóm bưởi (*Citrus maxima*) mẫu đối chứng là bưởi 5 roi SH-P74; nhóm quýt (*Citrus reticulata*) là quýt đường SH-M54; nhóm cam (*Citrus sinensis*) là cam soàn SH-O58; nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*) là chanh tàu. Các mẫu này đã được xác định dưới kính hiển vi mang bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội 2n=18 - bộ nhiễm chuẩn của chi *Citrus*. Tiếp theo, chúng được dùng để thiết lập thông số lượng bội cho máy đo đa bội thể.

Tiến hành đo và hiệu chỉnh các thông số của máy cho đến khi biểu đồ thu được có dạng một đỉnh cao và nhọn, đồng thời cho giá trị trung bình hàm lượng DNA (mean DNA nuclei content) ổn định sau nhiều lần đo (khoảng 10 lần). Giá trị các thông số của máy được thiết lập như sau:

*Đối với nhóm chanh, hạnh, cần thăng*

- Par Gain : 615.0
- Speed : 1.00(µl/s)
- Total count : 9500
- L-L (Lower-level) : 100
- U-L (Upper-level) : 999

*Đối với các nhóm bưởi, quýt, cam*

- Par Gain : 690.0
- Speed : 1.00 (µl/s)
- Total count : 8000-10000
- L-L : 80
- U-L : 999

Mỗi mẫu khảo sát được phân tích lặp lại 3 lần. Ghi nhận giá trị trung bình này của mỗi mẫu (C). Sau mỗi 10 lần đo, tiến hành rửa máy bằng dung dịch rửa hoặc dung dịch loại nhiễm.

### 2.2.4 Phân tích số liệu

Mức độ đa bội thể của mẫu thí nghiệm tính theo công thức:

$$(C/ C_0) \times N_0$$

Với:

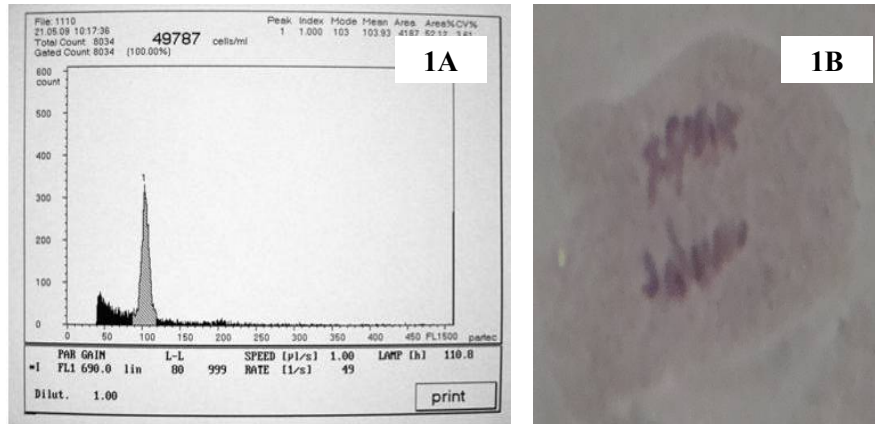
- C: Giá trị trung bình hàm lượng DNA nhân cây cần khảo sát

- $C_0$ : Giá trị trung bình hàm lượng DNA nhân cây đối chứng
- $N_0$ : Mức đa bội của mẫu đối chứng

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Phân tích chung

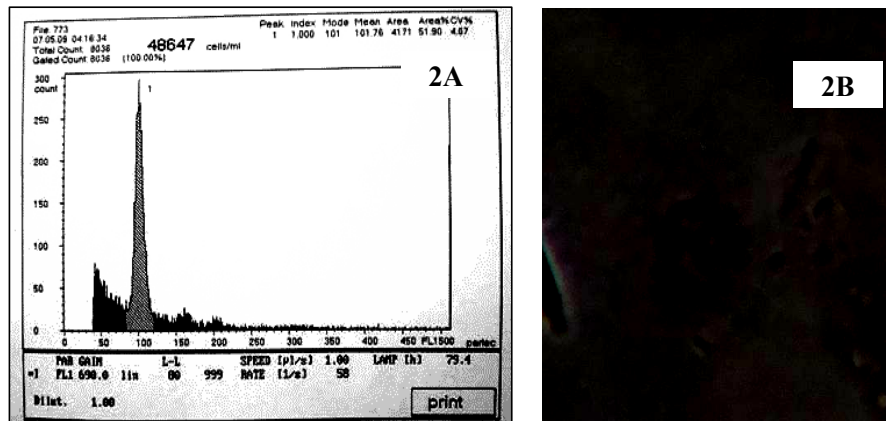
Các giá trị nội dung DNA nhân trung bình của các mẫu đối chứng như sau: bưởi 5 roi SH-P74, Mean  $C_0=103,93$  (Hình 1A, B); quýt đường SH-M54, Mean  $C_0=101,76$  (Hình 2A, B); cam sành SH-O58, Mean  $C_0=90,09$  (Hình 3A, B); chanh tàu, Mean  $C_0=276,99$  (Hình 4A, B).



**Hình 1: Mẫu đối chứng bưởi 5 roi SH-P74**

1A. Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào

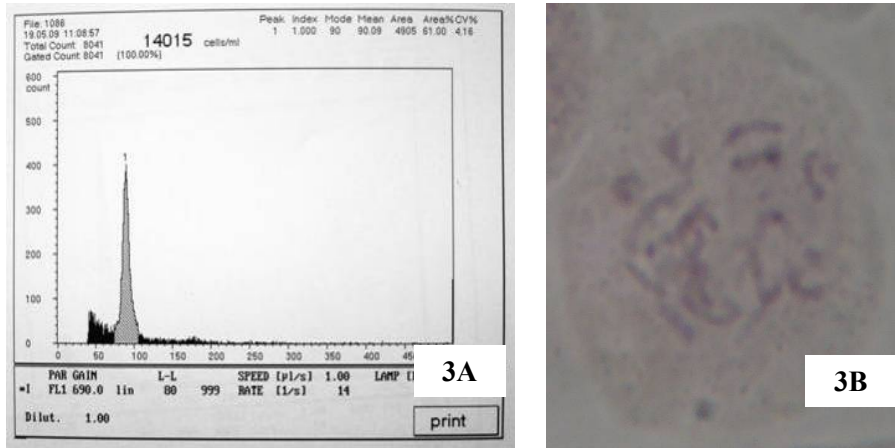
1B. Bộ NST dưới kính hiển vi Olympus, vật kính 40X



**Hình 2: Mẫu đối chứng quýt đường SH-M54**

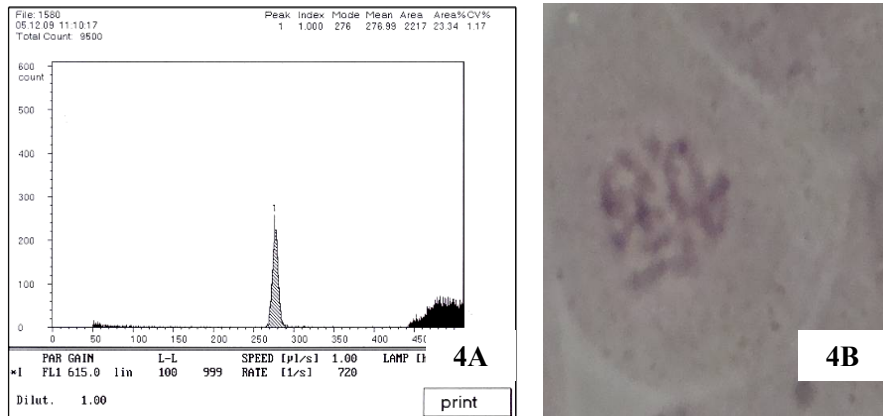
2A. Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào

2B. Bộ NST dưới kính hiển vi Olympus, vật kính 40X



**Hình 3: Mẫu đối chứng cam soàn SH-O58**

3A. Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào  
 3B. Bộ NST dưới kính hiển vi Olympus, vật kính 40X



**Hình 4: Mẫu đối chứng chanh Tàu**

4A. Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào  
 4B. Bộ NST dưới kính hiển vi Olympus, vật kính 40X

Một trăm lẻ bảy mẫu cây dùng trong thí nghiệm được chia thành 4 nhóm chính: gồm 38 mẫu nhóm bưởi (*Citrus maxima*), 21 mẫu nhóm quýt (*Citrus reticulata*), 34 mẫu nhóm cam (*Citrus sinensis*) và 14 mẫu thuộc nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*), hạnh (*Citrofortunella microcarpa*), cần thăng (*Limonia acidissima*). Sau khi phân tích bằng phương pháp dòng chảy tế bào sử dụng máy Partec Ploidy Analyser PA-I, kết quả xuất ra dưới dạng biểu đồ. Nhìn chung, kết quả phân tích đa bội thể của bốn nhóm cây cho thấy: tất cả các mẫu khảo sát đều có mức đa bội là lưỡng bội (2n). Một số biểu đồ phân tích xuất hiện đỉnh phụ nhỏ bên cạnh đỉnh chính ở vị trí 4n là do tế bào đang trong giai đoạn nhân đôi của quá trình nguyên phân. Số liệu phân tích của 4 nhóm được thống kê thành các bảng sau:

**Bảng 1: Kết quả phân tích đa bội thể nhóm bưởi (*Citrus maxima*)\***

TÊN	C	C/C <sub>0</sub>	MỨC ĐA BỘI
Bưởi 5 roi SH-P74	103,93 (C <sub>0</sub> )	1,00	2n
Bưởi Bằng Luân SH-P80	108,95	1,05	2n
Bưởi Bình San đợt 1 SH-P56	106,71	1,03	2n
Bưởi Bông Đào SH-P63	104,43	1,00	2n
Bưởi chua đợt 3 SH-P34c	104,95	1,01	2n
Bưởi da xanh 4 Châu SH-P79	106,14	1,02	2n
Bưởi da xanh 4 Châu SH-P79b	106,79	1,03	2n
Bưởi da xanh 4 Châu SH-P79c	115,75	1,11	2n
Bưởi da xanh 5 Chánh SH-P36	105,89	1,02	2n
Bưởi da xanh 5 Chánh SH-P36e	104,76	1,01	2n
Bưởi diễm SH-P31e	112,61	1,08	2n
Bưởi diễm SH-P31f	112,58	1,08	2n
Bưởi đỏ SH-P60b	104,80	1,01	2n
Bưởi đỏ SH-P60c	105,20	1,01	2n
Bưởi đỏ SH-P60e	108,06	1,04	2n
Bưởi Đoan Hùng SH-P62c	110,88	1,07	2n
Bưởi Đoàn Làng đợt 3 SH-P69	106,58	1,03	2n
Bưởi đường lá cam đợt 3 SH-P77b	106,30	1,02	2n
Bưởi đường nùm SH-P16b	107,17	1,03	2n
Bưởi long 4 Sơn đợt 3 SH-P29d	89,20	0,86	2n
Bưởi long 7 Dũ đợt 3 SH-P71	105,83	1,02	2n
Bưởi Mono SH-P78	108,89	1,05	2n
Bưởi ngon SH-P59c	113,35	1,09	2n
Bưởi ngon SH-P59d	109,98	1,06	2n
Bưởi ngon SH-P59e	107,21	1,03	2n
Bưởi Phúc Trạch SH-P82b	100,26	0,96	2n
Bưởi Sứ 5 SH-P46	110,60	1,06	2n
Bưởi sứ chi đám SH-P46c	99,98	0,96	2n
Bưởi sứ chi đám SH-P46d	102,07	0,98	2n
Bưởi Sứ ĐH SH-P66b	112,37	1,08	2n
Bưởi ta SH-P70	107,50	1,03	2n
Bưởi ta SH-P70b	109,33	1,05	2n
Bưởi tàu Huế SH-P76	108,32	1,04	2n
Bưởi Thanh Trà SH-P23e	105,54	1,02	2n
Bưởi Thanh Trà VVT SH-P22	107,37	1,03	2n
Bưởi Thanh Trà VVT SH-P22b	103,60	1,00	2n
Bưởi Thanh Yên SH-L35	112,69	1,08	2n
Bưởi Tô Sứ SH-P75b	107,44	1,03	2n

\* Mẫu đối chứng phân tích nhóm bưởi là mẫu bưởi 5 roi SH-P74 có giá trị mean C<sub>0</sub>=103.93 với thông số Par Gain: 690.

**Bảng 2: Kết quả phân tích đa bội thể của nhóm quýt (*Citrus reticulata*)\***

TÊN	C	C/C <sub>0</sub>	MỨC ĐA BỘI
Quýt đường SH-M54	101,76 (C <sub>0</sub> )	1,00	2n
Quýt Chu Sa SH-M52	112,03	1,10	2n
Quýt Chu Sa SH-M52b	112,64	1,11	2n
Quýt Đông Khê SH-M61	95,01	0,93	2n
Quýt đường BP SH-M7	107,15	1,05	2n
Quýt đường Đồng Tháp SH-M37	105,23	1,03	2n
Quýt đường TBT SH-M53	104,47	1,03	2n
Quýt đường TBT SH-M53b	104,09	1,02	2n
Quýt Gia Luận Cát Bà SH-M60b	90,37	0,89	2n
Quýt Gia Luận Cát Bà SH-M60c	91,52	0,90	2n
Quýt hôi SH-M62	100,36	0,99	2n
Quýt Ôn Châu SH-M27	92,70	0,91	2n
Quýt Sapa SH-M49	109,55	1,08	2n
Quýt ta SH-M50	109,59	1,08	2n
Quýt ta SH-M50b	106,28	1,04	2n
Quýt Unsiu	108,26	1,06	2n
Quýt vàng Lạng Sơn SH-M57	110,91	1,09	2n
Quýt vàng Lạng Sơn SH-M57e	97,95	0,96	2n
Quýt vàng SH-M57g	103,32	1,02	2n
Quýt vàng vỏ dòn SH-M58	90,63	0,89	2n
Quýt Visa Nam Đàn đợt 3 SH2-12-44	89,13	0,88	2n

\* Mẫu đối chứng phân tích nhóm quýt là mẫu quýt đường SH-M54 có giá trị mean C<sub>0</sub>=101.76 với thông số Par Gain: 690.

**Bảng 3: Kết quả phân tích đa bội thể nhóm cam (*Citrus sinensis*)\***

TÊN	C	C/C <sub>0</sub>	MỨC ĐA BỘI
Cam soàn SH-O58	99,89 (C <sub>0</sub> )	1,00	2n
Cam bù đợt 3 SH-O44b	92,18	0,92	2n
Cam Campuchia đợt 3 SH-O45	90,37	0,90	2n
Cam chịu nhiệt SH-O43	103,60	1,04	2n
Cam chịu nhiệt SH-O43b	100,44	1,01	2n
Cam chua da nhẵn SH-OS2	103,60	1,04	2n
Cam chua da nhẵn SH-OS2d	104,30	1,04	2n
Cam chua đợt 3 SH-OS1	106,60	1,07	2n
Cam cười SH-O42a	105,63	1,06	2n
Cam cười SH-O42b	106,57	1,07	2n
Cam cười SH-O42d	100,73	1,01	2n
Cam Đài Loan SH-O57	102,41	1,03	2n
Cam đường canh đợt 3 SH-M16b	90,09	0,90	2n
Cam không hạt SH-O51	100,75	1,01	2n
Cam không hạt SH-O51c	102,93	1,03	2n
Cam mật Ô Môn SH-O41	104,85	1,05	2n
Cam mật Ô Môn SH-O41b	96,17	0,96	2n

Cam mật SH-O55	103,16	1,03	2n
Cam ngọt SH-O46b	100,63	1,01	2n
Cam ngọt SH-O46c	108,42	1,09	2n
Cam ngọt SH-O46d	101,85	1,02	2n
Cam ngọt SH-O46e	100,06	1,00	2n
Cam Ponkan SH-M20d	108,76	1,09	2n
Cam Ponkan SH-M20f	107,06	1,07	2n
Cam sành Hà Giang SH-M64c	108,28	1,08	2n
Cam sen SH-O12	107,08	1,07	2n
Cam sông con đọt 3 SH-O13d	95,36	0,95	2n
Cam Valencia SH-O1	107,28	1,07	2n
Cam Valencia SH-O33	104,08	1,04	2n
Cam Valencia SH-O33b	110,80	1,11	2n
Cam Vân Du SH-O7c	94,88	0,95	2n
Cam Xã Đoài SH-O47	97,88	0,98	2n
Cam Xã Đoài SH-O47b	93,57	0,94	2n
Cam Xã Đoài X1 SH-O48c	102,49	1,03	2n

\* Mẫu đối chứng phân tích nhóm cam là mẫu cam soàn SH-O58 có giá trị mean  $C_0=99,89$  với thông số Par Gain: 690.

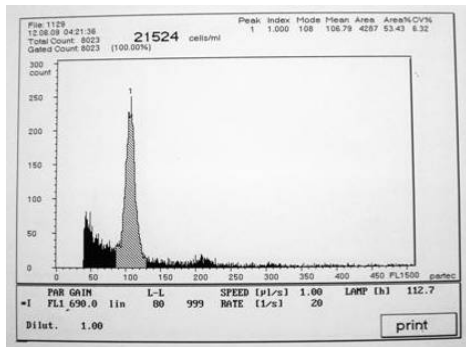
**Bảng 4: Kết quả phân tích đa bội thể của nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*), hạnh (*Citrofortunella microcarpa*), cần thăng (*Limonia acidissima*)\***

TÊN	C	C/C <sub>0</sub>	MỨC ĐA BỘI
Chanh tàu	278,32	1,00	2n
Cam đắng Phú Quý	262,95	0,94	2n
Chanh trúc Thái Lan SH-L16	258,89	0,93	2n
Chanh trúc Hà Tiên	249,78	0,90	2n
Chanh yên Phú Quý SH-L18	257,00	0,92	2n
Chanh côn đọt III SH-L15b	259,03	0,93	2n
Chanh giấy TQHN SH-L56	257,69	0,93	2n
Chanh chấp đọt III SH-L66	275,09	0,99	2n
Chanh Tứ thời	276,61	0,99	2n
Chanh Volka SH-L27	271,62	0,98	2n
Chanh không hạt góc ghép chanh tàu	257,88	0,93	2n
Hạnh trái tròn SH-F42	255,64	0,92	2n
Hạnh trái tròn SH-F42b	265,57	0,95	2n
Cần thăng	265,14	0,95	2n

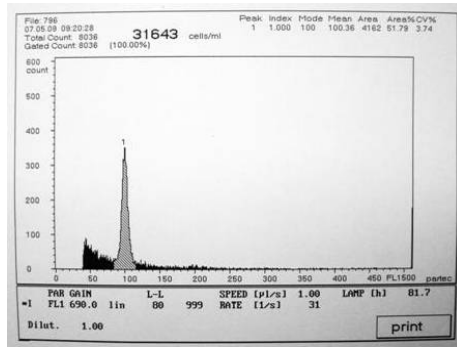
\* Mẫu đối chứng phân tích nhóm chanh, hạnh, cần thăng là mẫu chanh tàu có giá trị mean  $C_0=276,32$  với thông số Par Gain: 615.

Các hình 5, 6, 7, 8 minh họa mức đa bội thể của 4 mẫu khảo sát thuộc 4 nhóm bưởi, quýt, cam, chanh. Các mẫu bưởi da xanh SH-P74, quýt đường SH-M54, cam soàn SH-O58, chanh Tàu đều có giá trị C/C<sub>0</sub> sắp xỉ 1. Tương ứng đều mang bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội như mẫu đối chứng.

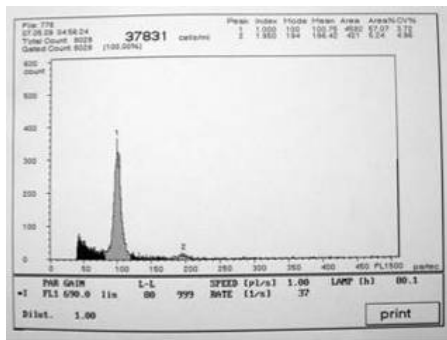




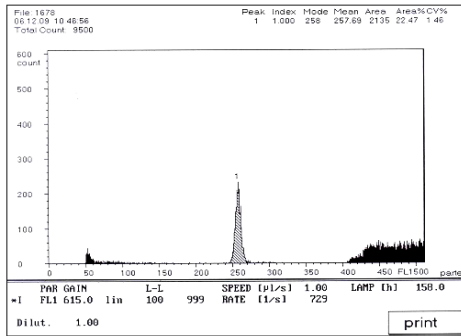
Hình 5: Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào Bưởi da xanh 4 Châu SH-P79b, Mean  $C_0=106,79$



Hình 6: Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào Bưởi da xanh SH-M62, Mean  $C_0=100,36$



Hình 7: Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào Cam chịu nhiệt SH-O43b, Mean  $C_0=100,44$

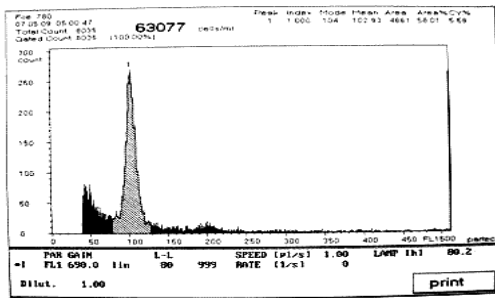


Hình 8: Biểu đồ phân tích mức lưỡng bội bằng phương pháp dòng chảy tế bào Chanh giấy TQHN SH-L56, Mean  $C_0=257,69$

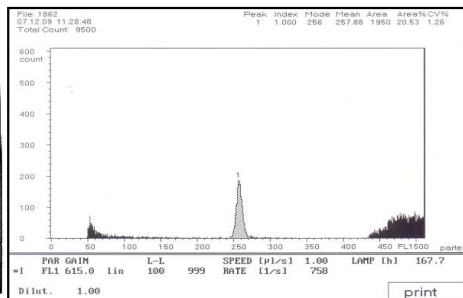
3.2 Thảo luận về các mẫu không hạt trong nghiên cứu

Với kết quả phân tích đa bội thể cam (hình 9) và chanh không hạt (hình 10) trong nghiên cứu cũng có mức bội thể là lưỡng bội (2n). Điều này có thể giải thích, đặc tính không hạt trong các mẫu khảo sát không xuất phát từ nguyên nhân đa bội lẻ, mà có thể từ các nguyên nhân sau:

Do gen hay tổ hợp gen ảnh hưởng đến quá trình thụ tinh, phát triển hợp tử, hình thành hạt,.....



Hình 9: Cam không hạt SH-O51c có mức đa bội thể 2n



Hình 10: Chanh không hạt có mức đa bội thể 2n

Xử lý chất kích thích tăng trưởng (auxin,...) ở giai đoạn trước khi thụ phấn.

Ngoài ra, việc tạo thành cây không hạt trong tự nhiên cũng do sự thoái hoá các cơ quan sinh sản làm cho cây khó thụ phấn ở mẫu Chanh không hạt ở nhà vườn ông Nguyễn Văn Chiến, Châu Thành, Hậu Giang (nơi thu mẫu Chanh không hạt trong thí nghiệm).

Phương pháp dòng chảy tế bào là một phương pháp khá mới và được ứng dụng rộng rãi trên nhiều lĩnh vực trong đó phân loại hay đếm số lượng nhiễm sắc thể là một trong những ứng dụng rất tiện ích của kỹ thuật này.

Kết quả nghiên cứu của Lâm Ngọc Phương và các cộng sự năm 2010 trên đối tượng dưa hấu đã xử lý với colchicine để tạo thể đa bội từ thể nhị bội, kết quả phân tích với máy Flow Cytometry cho thấy đã xác định được dạng dưa hấu tam bội (3n) và dưa hấu tứ bội (4n) so với cây dưa hấu đối chứng không xử lý colchicine (2n).

Do vậy phương pháp phân tích dòng chảy tế bào đã trở thành một công cụ quan trọng và hữu hiệu trong việc đánh giá mức bội thể các đối tượng cần nghiên cứu.

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

Khảo sát 107 giống cây có múi thuộc 4 nhóm: nhóm bưởi (*Citrus maxima*), nhóm quýt (*Citrus reticulata*), nhóm cam (*Citrus sinensis*) và nhóm chanh (*Citrus aurantifolia*), hạnh (*Citrofortunella microcarpa*), cần thăng (*Limonia acidissima*) trong tập đoàn cây có múi của Việt Nam được trồng tại Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, ĐHCT cho thấy 100% cây đều mang nhiễm sắc thể ở mức lưỡng bội (2n).

Đặc biệt, cây không hạt cũng biểu hiện ở mức lưỡng bội 2n, chứng tỏ đặc điểm không hạt ở những cây khảo sát không bắt nguồn từ sự bất thụ do đa bội lẻ, mà do nguyên nhân khác.

### 4.2 Kiến nghị

Dựa vào qui trình trích đã hoàn chỉnh, tiếp tục thực hiện khảo sát các giống cây còn lại trong tập đoàn cây có múi của Viện NC&PT Công nghệ Sinh học, cũng như mở rộng khảo sát các tập đoàn cây giống khác.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- An, H. J., J. S. Beom, K. B. Cheorl, and P. H. Guen. 2009. Production of Somatic Hybrids between Satsuma mandarin (*Citrus unshi*) and Navel orange (*Citrus sinensis*) by Protoplast Fusion, *Journal of Plant Biology*, Vol. 51, 3, pp. 186-191.
- Leen, L. 2005. "Resistance breeding for powdery mildew (*Podosphaera pannosa*) and black spot (*Diplocarpon rosae*) in roses", PhD. Thesis, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, pp.148.
- Martens and Reisch. 2005. *Indicated the influence of the time of sampling in the activity of cell mitosis*. *Scientia Horticulturae*. Volume 105, Issue 1, pp. 139-143
- Oven, H. R. and A. R. Miller. 1993. A comparison of staining techniques for somatic chromosomes of strawberry, *Hort. Sci.* 28.