

DOI: 10.22144/ctu.jvn.2019.163

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁC MẪU GIỐNG ĐẬU TƯƠNG DỰA TRÊN CÁC HÌNH THÁI, CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR VÀ HÀM LƯỢNG PROTEIN

Vũ Thị Thúy Hằng^{1*}, Vũ Thế Anh², Vũ Thị Vân Anh², Lê Thị Ngọc Loan², Nguyễn Thị Quyên², Trần Thị Thu Trang² và Trần Thị Trường³

¹Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Lớp K60KHCTT, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³Trung tâm nghiên cứu và phát triển đậu đỗ, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Vũ Thị Thúy Hằng (email: vtthang.nh@vnua.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 22/05/2019

Ngày nhận bài sửa: 22/10/2019

Ngày duyệt đăng: 26/12/2019

Title:

Genetic diversity of soybean based on agronomical traits, SSR markers and protein contents

Từ khóa:

Chỉ thị SSR, đa dạng di truyền, đậu tương, hàm lượng protein, tình trạng

Keywords:

Agronomical trait, genetic diversity, protein content, soybean, SSR marker

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate genetic diversity of 109 soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] samples through agronomical evaluation in spring 2018, protein content and SSR (simple sequence repeats) markers. The results showed that 109 samples were diverse in morphology, growth duration, and yield components. Based on SSR markers, grouped 109 soybean samples were grouped into 5 main clusters with genetic similarity coefficient of 0.66. Protein contents of 22 soybean samples varied from 30.2% - 46.8%, suggesting as materials for protein improvement. Potential soybean samples for yields (HSB0098, HSB0100, HSB0125, HSB0128, HSB0130, HSB0132) and for high protein contents (HSB0057, HSB0100, HSB0139, HSB1048) can be used for soybean. Five SSR markers Satt239, Satt270, Satt277 Satt281 and Satt520 provided the most polymorphism.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá đa dạng di truyền của 109 mẫu giống đậu tương (*Glycine max* (L.) Merr.) ở các đặc điểm về hình thái (đặc điểm thực vật học, nông sinh học) trên đồng ruộng trong vụ xuân năm 2018, ở hàm lượng protein và kiểu gen bằng 9 dấu chỉ thị phân tử SSR. Kết quả cho thấy 109 mẫu giống đa dạng ở các đặc điểm hình thái, thời gian sinh trưởng và các yếu tố cấu thành năng suất. Sử dụng chỉ thị SSR đã phân nhóm 109 mẫu giống đậu tương thành 5 nhóm chính với hệ số tương đồng 0,66. Hàm lượng protein của 22 mẫu giống phân tích dao động từ 30,2% - 46,8%, có thể sử dụng làm vật liệu cải tiến hàm lượng protein. Các mẫu giống có tiềm năng tốt về năng suất (HSB0098, HSB0100, HSB0125, HSB0128, HSB0130, HSB0132) và hàm lượng protein cao (HSB0057, HSB0100, HSB0139, HSB1048) có thể được sử dụng làm vật liệu trong chọn tạo cải tiến giống. Năm chỉ thị SSR: Satt239, Satt270, Satt277, Satt281 và Satt520 cho mức độ đa hình cao nhất.

Trích dẫn: Vũ Thị Thúy Hằng, Vũ Thế Anh, Vũ Thị Vân Anh, Lê Thị Ngọc Loan, Nguyễn Thị Quyên, Trần Thị Thu Trang và Trần Thị Trường, 2019. Đa dạng di truyền của các mẫu giống đậu tương dựa trên các hình thái, chỉ thị phân tử SSR và hàm lượng protein. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(6B): 13-22.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu tương [*Glycine max* (L.) Merrill] hiện nay được xem là một trong những cây trồng quan trọng trên thế giới về giá trị kinh tế - nông nghiệp và sử dụng đa dạng trong cả lĩnh vực nông nghiệp và công nghiệp (Bilyeu *et al.*, 2010). Đậu tương có hàm lượng dinh dưỡng cao. Hạt đậu tương có chứa 36 - 44% protein, 18 - 20% lipid, các vitamin B1, B2, PP, A, E, C, D, K; dầu đậu tương chủ yếu là các axit béo không no như axit linoleic, axit oleic,... cần thiết cho con người, là nguồn thực phẩm quan trọng cho người và gia súc.

Đậu tương là cây trồng tứ bội thể có tỷ lệ các vùng lặp đoạn tương đối lớn phân bố trên các nhiễm sắc thể (Pagel *et al.*, 2004). Hệ gen đậu tương tương đối lớn, chứa khoảng 1,1 tỷ cặp bazơ (Schmutz *et al.*, 2010; Chan *et al.*, 2012). Đánh giá sự đa dạng di truyền có vai trò quan trọng cung cấp thông tin cho quản lý và sử dụng hiệu quả nguồn vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống. Sự đa dạng di truyền có thể đánh giá dựa vào các đặc điểm hình thái, các tính trạng nông học và sử dụng các chỉ thị phân tử ADN (Wang, 1947; Semagn *et al.*, 2006; Nadeem *et al.*, 2018).

Các chỉ thị phân tử hiện nay được sử dụng rất đa dạng như RFLP (restriction fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic DNA), AFLP (amplified fragment length polymorphism), SSR (simple sequence repeat), và NGS (next generation sequencing) (Van *et al.*, 2005; Amom and Nongdam, 2017) với các ưu và nhược điểm khác nhau. Trong đó chỉ thị phân tử SSR với các đặc điểm như đồng trội, có độ tin cậy cao và chính xác, đa allel là chỉ thị hữu ích

để phân phân tích và đánh giá khoảng cách di truyền giữa các cá thể hay quần thể (Morgante *et al.*, 2002; Kalia *et al.*, 2011). Tính đa hình cao ở các locut SSR đã được sử dụng thành công và hiệu quả trong phân tích di truyền, phân loại các giống cây trồng, xây dựng bản đồ liên kết, phân lập (gen), xác định quan hệ di truyền giữa các dòng giống cây trồng và chuẩn đoán cặp lai cho ưu thế lai (Hwang *et al.*, 2008; Triệu Thị Thịnh *et al.*, 2010; Vũ Thanh Trà *et al.*, 2011; Velusamy *et al.*, 2013).

Trong nghiên cứu này, các mẫu giống đậu tương được đánh giá qua đặc điểm nông học, hàm lượng protein và chỉ thị phân tử SSR để phân tích đa dạng di truyền của nguồn vật liệu. Thông qua đó, các mẫu giống được phân nhóm dựa trên khoảng cách di truyền. Nghiên cứu này do đó cung cấp nguồn thông tin để làm cơ sở cho quá trình chọn vật liệu trong chọn giống và cải tiến giống đậu tương theo mục đích, cũng như bổ sung thông tin về các chỉ thị phân tử có thể sử dụng trong nghiên cứu nguồn vật liệu đậu tương.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu gồm 109 mẫu giống đậu tương (Bảng 1) bao gồm các mẫu giống do Trung tâm tài nguyên thực vật cung cấp, các giống đậu tương đã được công nhận và một số mẫu giống nhập nội.

Sau khi đánh giá các đặc điểm nông học, phân nhóm dựa trên chỉ thị phân tử SSR, và căn cứ nguồn gốc là giống địa phương, được chọn tạo trong nước, và thu thập ngoài nước, 22 mẫu giống đại diện được chọn để phân tích hàm lượng protein.

Bảng 1: Các mẫu giống đậu tương sử dụng trong đánh giá đa dạng di truyền

STT	Kí hiệu	Tên giống	STT	Kí hiệu	Tên giống	STT	Kí hiệu	Tên giống
1	HSB0008	K9133 dạng 1	38	HSB0095	ĐVN6	74	HSB0176	Vàng Mường Khương
2	HSB0010	No-314129	39	HSB0097	HL0715	75	HSB0181	AK03
3	HSB0011	No-466780	40	HSB0098	D9602	76	HSB0182	ĐT51
4	HSB0013	G72	41	HSB0099	TSC-S1	77	HSB0184	ĐVN14
5	HSB0017	ĐH4	42	HSB0100	ĐT26	78	HSB0206	UB1
6	HSB0019	TL-90-37	43	HSB0101	Cúc lục ngân	79	HSB0207-1	UB3-1
7	HSB0020	Đậu tương quốc phòng Quảng Hoà Cao Bằng	44	HSB0102	NAS-S1	80	HSB0208	UB4
8	HSB0030	Đậu tương đại	45	HSB0103	TB S6	81	HSB0209	UB5
9	HSB0031	Đậu tương đại	46	HSB0104	DT93	82	HSB0210	UB6
10	HSB0032	Đậu tương đại	47	HSB0105	DT2008	83	HSB0211	UB7
11	HSB0033	Đậu tương đại	48	HSB0108	G2120	84	HSB0212	UB8
12	HSB0036	BR23	49	HSB0122	Đậu tương địa phương	85	HSB0213	UB9

STT	Kí hiệu	Tên giống	STT	Kí hiệu	Tên giống	STT	Kí hiệu	Tên giống
13	HSB0037	Tại pa	50	HSB0123	Đậu tương	86	HSB0214	UB10
14	HSB0038	Đậu tương	51	HSB0124	Đậu tương	87	HSB0215	UB11
15	HSB0039	Đậu tương	52	HSB0125	Đậu tương hạt nhỏ	88	HSB0216	UB12
16	HSB0040	CLS 2111	53	HSB0126	Đậu tương	89	HSB0217	UB13
17	HSB0042	Mặc toi	54	HSB0128	Đậu tương	90	HSB0218	UB14
18	HSB0047	Đậu tương	55	HSB0129	K468	91	HSB0225	UB21
19	HSB0050	Đ2501	56	HSB0130	K1689	92	HSB0228	UB24
20	HSB0051	Đ2601	57	HSB0131	K4391	93	HSB0229	UB25
21	HSB0053	DT84	58	HSB0132	K4392	94	HSB0230	UB26
22	HSB0057	TL7	59	HSB0136	Ba Vì 83	95	HSB0232	UB28
23	HSB0060	ĐT22	60	HSB0137	Thường Tín	96	HSB0234	UB30
24	HSB0061	ĐT26	61	HSB0138	Cúc Thọ Xuân	97	HSB0237	UB33
25	HSB0062	ĐVN10	62	HSB0140	Tây Nguyên	98	HSB0238	UB34
26	HSB0067	VX 9-1	63	HSB0141	16094	99	HSB0239	UB35
27	HSB0071	A9	64	HSB0142-1	Đậu tương	100	HSB0240	UB36
28	HSB0073	Xanh tiên đài		HSB0142-2	Đậu tương	101	HSB0246	UB42
29	HSB0074	CuBa	65	HSB0144	16157	102	HSB0139	
30	HSB0079	Thường Tín	66	HSB0145	Fernside	103	HSB0247	UB43
31	HSB0080	17-35A	67	HSB0146	Hayman	104	HSB0252	OB4
32	HSB0082	DT-99	68	HSB0147	A6785	105	HSB0257	Cúc Chí Linh 2
33	HSB0085	VT3	69	HSB0148	Bunya	106	HSB0259	Yundadou 8
34	HSB0088	TQ-3 hạt to	70	HSB0152	Cowrie	107	HSB0260-1	Yundadou 26
35	HSB0091	PI205906	71	HSB0153	PO79A-19	108	HSB0260-2	Yundadou 26
36	HSB0092	VX9-1	72	HSB0154	T170B-3	109	HSB0261	Incasoy 1
37	HSB0094	Cao Bằng 8352	73	HSB0156	Cúc Linh Chi 1			

2.2 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí ở khu thí nghiệm đồng ruộng của Khoa Nông học – Học viện Nông nghiệp Việt Nam trong vụ Xuân 2018, từ tháng 2– 6/2018. Các mẫu giống được trồng tuần tự không lặp lại. Diện tích ô thí nghiệm 2 m² với mật độ trồng 35 cây/m².

2.3 Đánh giá các đặc điểm hình thái và nông học

Các tính trạng hình thái được lựa chọn và đánh giá dựa theo QCVN 01-68:2011/ BNNPTNT. Số liệu được phân tích thống kê bằng chương trình Excel. Hệ số tương đồng di truyền Jaccard và phương pháp UPGMA trong NTSYSpc 2.2 được sử dụng để phân tích, đánh giá sự đa dạng di truyền và phân nhóm (cây di truyền) các mẫu giống đậu tương. Các tính trạng theo dõi và đánh giá gồm các tính trạng chất lượng, tính trạng liên quan đến thời gian sinh trưởng phát triển và các tính trạng số lượng như chiều cao cây, số lá, số hạt/cây, năng suất cá thể...

2.4 Phân tích protein tổng số

Căn cứ vào nguồn gốc và các đặc điểm nông học, 22 mẫu giống được gửi phân tích protein tại Viện kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia theo phương pháp Kjeldahl (Kirk, 1950)

2.5 Đánh giá đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR

Tách chiết ADN

ADN genom được tách chiết từ lá non của các mẫu giống đậu tương. Mẫu lá thu thập từ 3-5 cây của mỗi mẫu giống. Phương pháp tách chiết được thực hiện theo mô tả trong Triệu Thị Thịnh và Vũ Thị Thúy Hằng (2010).

Phản ứng PCR

Nghiên cứu sử dụng 11 chỉ thị SSR để đánh giá đa dạng di truyền được chọn lọc từ các nghiên cứu về đa dạng di truyền ở đậu tương (Bảng 2). Các mẫu được lựa chọn dựa trên các nghiên cứu đã được công bố về đánh giá đa dạng di truyền ở đậu tương. Các mẫu lựa chọn cũng là những mẫu của các QTLs liên quan đến hàm lượng protein và 11 mẫu tập trung trên 3 NST là NST số 6, 15 và 20.

Bảng 2: Chỉ thị SSR được sử dụng trong đánh giá di truyền các mẫu giống đậu tương

STT	NST	Tên môi	Trình tự môi	Tài liệu tham khảo
1	6	Satt202_F	GGA ATG CAT GAG TAT TAA CCT CTT AT	Hyten <i>et al.</i> , 2004
		Satt202_R	GGG CTA ACG AAC ATG TAA CTT ATC AAC	
2	6	Satt277_F	GGT GGT GGC GGG TTA CTA TTA CT	
		Satt277_R	CCA CGC TTC AGT TGA TTC TTA CA	
3	6	Satt281_F	AAG CTC CAC ATG CAG TTC AAA AC	Tajuddin <i>et al.</i> , 2003
		Satt281_R	TGC ATG GCA CGA GAA AGA AGT A	
4	6	Satt520_F	GCG GTG TGC AAG AGT GAC A	
		Satt520_R	GCG CAT TTG GAC TTT CTA	
5	15	Satt384_F	TGG GGG TCA ATT TTA ATT TGT GC	Tajuddin <i>et al.</i> , 2003
		Satt384_R	ATT TCC CTT TCA CCC ACC TCT GTT T	
6	20	Satt239_F	GCG CCA AAA AAT GAA TCA CAA T	Tajuddin <i>et al.</i> , 2003
		Satt239_R	GCG AAC ACA ATC AAC ATC CTT GAA C	
7	20	Satt270_F	TGT GAT GCC CCT TTT CT	Reinprecht <i>et al.</i> , 2006
		Satt270_R	GCG CAG TGC ATG GTT TTC TCA	
8	20	Satt571_F	GGG TAG GGG TGG AAT ATA AG	
		Satt571_R	GCG GGA TCC GCG GAT GGT CAA AG	
9	20	Satt292_F	GCG GAA TTA GAA CTC CAG TAA AGA	Van <i>et al.</i> , 2017
		Satt292_R	GCG AGG CCA ACA TTG AAA AGT	
10	20	Sat_418_F	GCG AAA GCA CAT ATG GGT TTG AAT	
		Sat_418_R	GCG AGG GCA TAT ATA TGA TGA GGT A	
11	20	Satt367_F	GCG GAT ATG CCA CTT CTC TCG TGA C	Tajuddin <i>et al.</i> , 2003
		Satt367_R	GCG GAA TAG TTG CCA AAC AAT AAT C	

Quy trình tách chiết và tinh sạch ADN được thực hiện theo mô tả của Trung tâm Bệnh cây nhiệt đới và Triệu Thị Thịnh và *ctv.* (2010). ADN được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 3:4 dùng cho phản ứng PCR, với thể tích phản ứng 15 µl, chứa 0.5 µl ADN, 0.3 µl mỗi loại môi, 7.5 µl 2x i-TaqTM DNA Polymerase (iNtRon Biotechnology – Hàn Quốc) và 6.4 µl nước. Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR - SSR được lập trình như sau: (1) 94°C trong 4 phút, (2) 94°C trong 30 giây, (3) 48°C trong 30 giây, (4) 72°C trong 30 giây và 33 chu kỳ lặp từ (2) đến (4), (5) 72°C trong 5 phút và sau đó giữ lạnh 4°C.

Điện di và ghi nhận kết quả

Sản phẩm PCR (5 µl) được điện di trên agarose 3% ở 250V trong 25 phút ở dung dịch đệm 1 x Tris-acetate-EDTA (TAE) và sử dụng thang chuẩn ADN 100 bp (Biotools – Đài Loan). Sau đó, gel được nhuộm trong EtBr 0,5 g/ml 20 phút và soi dưới đèn UV và chụp ảnh. Các băng trên gel được xác định và quy ước (0) không có băng và (1) có băng.

2.6 Xử lý số liệu

Hệ số tương đồng di truyền Jaccard và phương pháp UPGMA trong NTSYS pc2.2 được sử dụng phân tích, đánh giá sự đa dạng di truyền và phân nhóm.

Nội dung thông tin đa hình (PIC - Polymorphic Information Content) của chỉ thị SSR được tính theo công thức của Anderson *et al.*,(1993) như sau:

$$PIC(i) = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Trong đó: P_{ij} là tần suất allen thứ j với locus SSR thứ i

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

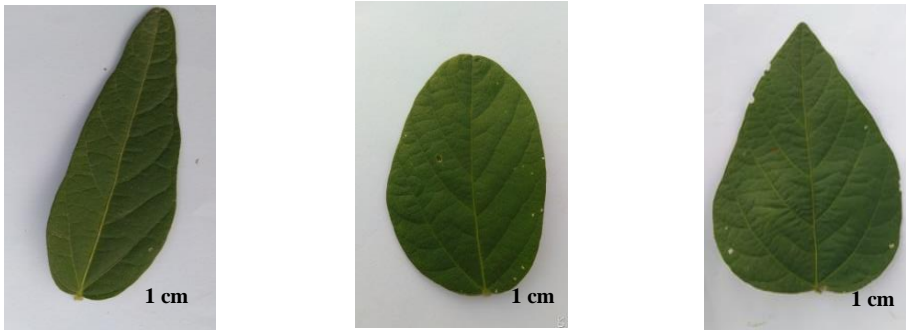
3.1 Đa dạng về thái của các mẫu giống đậu tương

Các đặc điểm hình thái như màu hoa, màu thân mầm, hình dạng lá, màu lông và mật độ lông, màu vỏ quả, màu hạt và rón hạt... là các tính trạng truyền thống vẫn được sử dụng để phân biệt các mẫu giống đậu tương. Trong thí nghiệm này, 109 mẫu giống thể hiện sự đa dạng ở các đặc điểm hình thái. Một số mẫu giống có mật độ lông thưa như HSB0104, HSB0145,... có thời gian nở hoa tập trung ở mức trung bình như HSB0153, HSB0215... hay màu sắc quả khô có màu nâu. Các đặc điểm về hình dạng và màu sắc hạt có sự đa dạng giữa các mẫu giống đậu tương như hạt tròn, dẹt. Màu hạt đa dạng với các màu vàng, xanh vàng, xanh, nâu nhạt, nâu, nâu sẫm, đen, hạt bóng và không bóng. Màu rón hạt có nâu nhạt, nâu đậm, đen... (Hình 1).

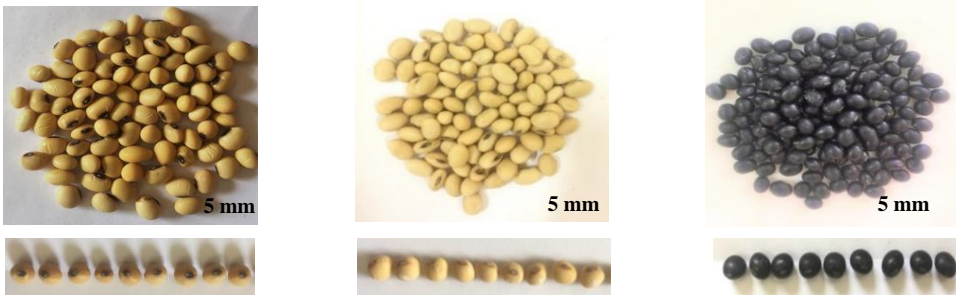
Tỷ lệ (%) số dòng có các đặc điểm hình thái như sau: (1) Màu sắc thân mầm và màu hoa tương ứng: tím-tím (63,5%) và xanh-trắng (36,5%); (2) Hình dạng lá: trứng nhọn (63,0%), trứng tròn

(14,2%), tam giác (14,2%), trứng dẹt (8,1%), mũi mác (0,5%); (3) Màu sắc quả khô: nâu đậm (35,3%), nâu (29,4%), nâu nhạt (32,4%), vàng nhạt (2,9%); (4) Dạng hạt: tròn dẹt (66,7%), tròn (22,5%), tròn dài (6,9%), dẹt (3,9%); (5) Màu sắc hạt: vàng (61,8%), vàng nhạt (31,4%), xanh

(3,0%), vàng xanh (2,9%), đen (1,0%); (6) Màu sắc rốn hạt: đen (38,2%), nâu đậm (18,6%), nâu (6,9%), nâu nhạt (34,3%), trắng (2,0%); (7) Độ bóng của hạt: bóng (31,3%), bóng trung bình (55,0%), không bóng (13,7%).



A. Đa dạng về hình dạng lá: từ trái sang phải: lá hình mác, lá hình trứng, là hình tam giác



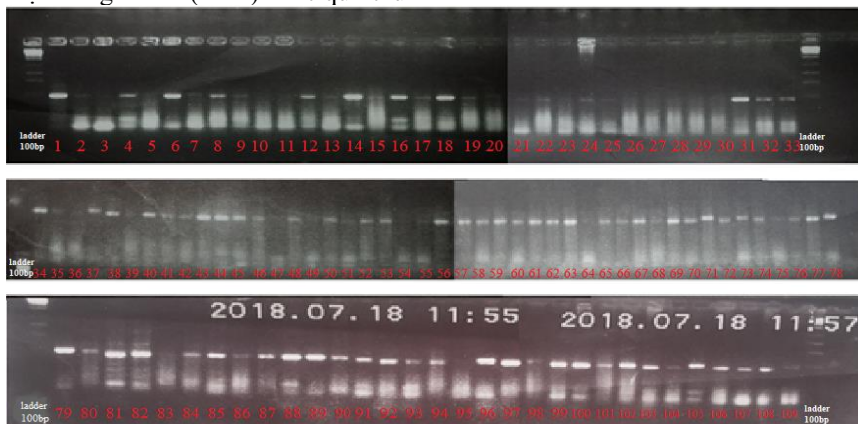
B. Sự đa dạng về màu sắc hạt và rốn hạt

Hình 1: Sự đa dạng ở đặc điểm hình thái của 109 mẫu giống đậu tương

3.2 Đa dạng di truyền của các mẫu giống đậu tương dựa vào chỉ thị phân tử SSR

Kết quả phân tích SSR cho thấy tất cả 11 chỉ thị đều cho xuất hiện băng ADN (allen). Kết quả thu

được tổng số là 41 allen/11 locut, với giá trị trung bình là 4 allen/1 locut và tất cả các băng điện di đều là băng đa hình, tỷ lệ băng đa hình là 100% (Hình 2).



Hình 2: Hình ảnh điện di sản phẩm PCR của mẫu giống đậu tương với chỉ thị SSR Satt202 trên gel agarose 3%

Chú thích: kích thước băng khuếch đại: 300 – 400 bp

Số lượng allen/locut dao động từ 2 đến 6, với trung bình 4 allen/locut; trong đó locut Satt520 có số allen lớn nhất (Bảng 3). Như vậy, 11 mẫu sử dụng cho tỷ lệ số băng đa hình cao. Số lượng allen/locut và số allen trung bình/locut trong nghiên cứu này cũng tương đương hoặc hơn với một số nghiên cứu khác như Triệu Thị Thịnh và *ctv.*, (2010) với 10 chỉ thị SSR cho 36 mẫu giống đậu tương (1-7 allen/locut, trung bình 3,9 allen/locut), Tantasawat *et al.*, (2011) với 11 chỉ thị SSR trên 25 mẫu giống đậu tương Thái Lan (3-7 allen/locut, trung bình 4,8 allen/locut), Bisen *et al.*, (2015) với 23 chỉ thị SSR trên 38 mẫu giống đậu tương Ấn Độ (1-4 allen/locut, trung bình 2 allen/locut), hay Moniruzzaman *et al.*, (2019) với 10 chỉ thị SSR cho 5 mẫu đậu tương (2-5 allen/locut, trung bình 3,3 allen/locut). Các chỉ thị có số allen thấp sẽ cho sự đa dạng, hay PIC thấp hơn so với các chỉ thị có số allen cao. Phần lớn giá

trị PIC dao động từ 0,46 - 0,93 với PIC trung bình là 0,69. Chỉ thị cho giá trị PIC cao nhất là Satt384 (PIC = 0,93). Giá trị PIC trong nghiên cứu này cao hơn so với một số các nghiên cứu khác như Anchal *et al.*, (2015) và Moniruzzaman *et al.*, (2019). Các chỉ thị trong nghiên cứu này có thông tin đa hình cao, vì PIC > 0,5. Allard *et al.*, (1984) và Vaiman *et al.*, (1994) cũng cho thấy các chỉ thị với giá trị PIC từ 0,5 trở lên cho thông tin đa hình cao cho các nghiên cứu di truyền.

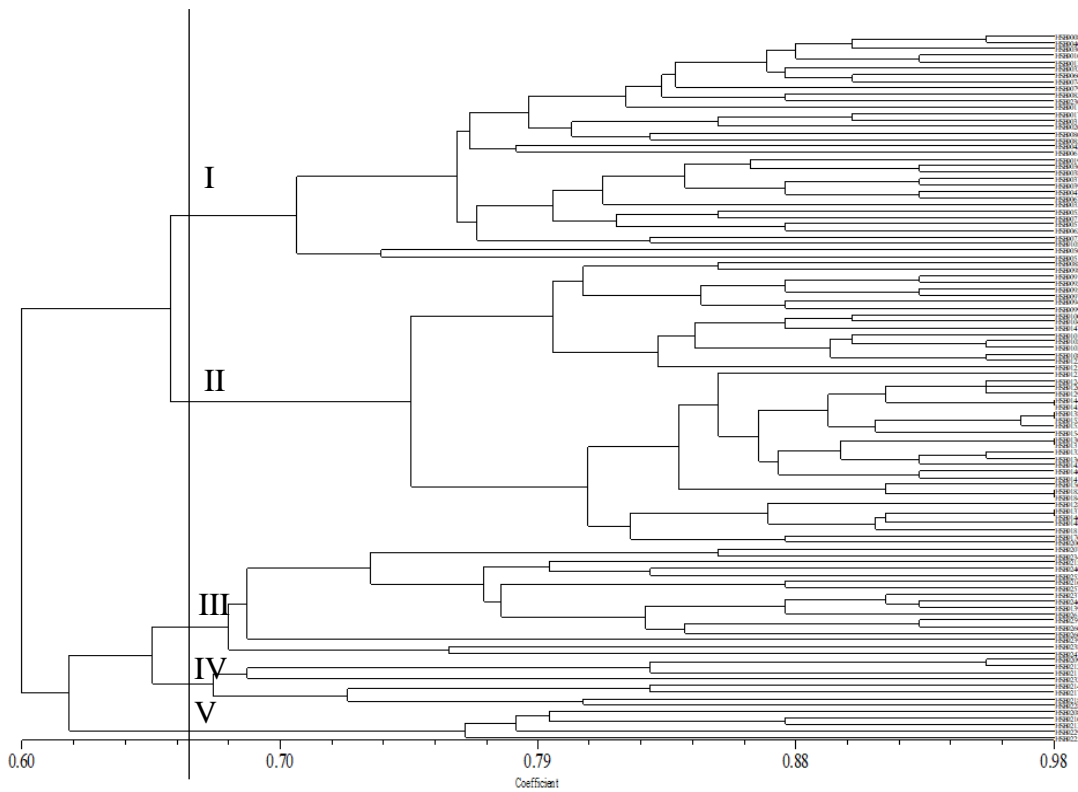
Số lượng mẫu đậu tương có ít nhất 1 allen xuất hiện khi dùng chỉ thị SSR biến động từ 24 – 78 mẫu. Nhiều mẫu đậu tương mang ít nhất 1 allen của chỉ thị Satt571 (78 mẫu), trong khi có 24 – 31 mẫu mang ít nhất 1 allen của chỉ thị Satt384, Satt520 và Satt239. Các chỉ thị SSR trên NST 20 nhìn chung tương đối phổ biến cho các mẫu giống đậu tương đánh giá trong thí nghiệm, trong khi đó chỉ thị SSR trên NST 15 ít phổ biến hơn.

Bảng 3: Số băng và giá trị PIC của 11 chỉ thị SSR dùng trong đánh giá đa dạng di truyền ở 109 mẫu giống đậu tương

NST	Chỉ thị SSR	Tổng số băng/ allen	PIC	Số mẫu đậu tương có ít nhất 1 allen
6	Satt202	3	0,46	48
	Satt277	4	0,74	53
	Satt281	5	0,78	51
	Satt520	6	0,80	26
15	Satt384	3	0,93	24
	Satt239	5	0,72	31
20	Satt270	4	0,72	50
	Satt367	3	0,84	36
	Satt571	3	0,56	78
	Satt292	2	0,50	56
	Sat_418	3	0,56	55
	Tổng	41		
Trung bình		4	0,69	

Ở hệ số tương đồng 0,66, 109 mẫu tốt được chọn phân thành 5 nhóm (Hình 3): nhóm I có 35 mẫu giống, nhóm II có 44 mẫu giống và III có 16 mẫu giống, nhóm IV có 9 mẫu giống và nhóm V có

5 mẫu giống đậu tương. Nhóm I, II, III, mỗi nhóm gồm có 2 nhóm phụ. Trong đó, nhóm II có nhiều số mẫu nhất.



Hình 3: Sơ đồ đa dạng di truyền của 109 mẫu giống đậu tương được phân nhóm dựa trên 11 chỉ thị SSR

Phân tích đa dạng di truyền và phân nhóm các mẫu đậu tương (Hình 3) giúp cho việc lựa chọn nguồn vật liệu trong chọn tạo giống đậu tương được chính xác hơn thông qua lựa chọn các mẫu đại diện mà không bị trùng lặp. Đặc biệt, việc phân nhóm giúp lựa chọn vật liệu bố mẹ trong lai tạo với các mẫu giống từ các nhóm khác nhau nhằm làm tăng biến dị di truyền cho chọn lọc. Ví dụ để tạo biến dị tái tổ hợp từ lai, các mẫu giống trong cùng nhóm II không nên lựa chọn làm bố mẹ vì có đặc điểm tương đồng nhau khoảng $\geq 75\%$ (Hình 3). Tương tự, nhiều biến dị tái tổ hợp sẽ có thể xuất hiện hơn khi lai giữa các mẫu giống đậu tương ở nhóm I hoặc II với V, hơn là giữa nhóm I và II.

3.3 Đánh giá các đặc điểm chung của 109 mẫu giống đậu tương

109 mẫu giống đa dạng về các đặc điểm sinh trưởng phát triển của các yếu tố cấu thành năng suất (Bảng 4). Các mẫu giống đánh giá được phân nhóm dựa trên thời gian sinh trưởng, tổng số

quả/cây, tỷ lệ quả 3 hạt, khối lượng 100 hạt và năng suất cá thể. Các mẫu giống đậu tương ra hoa trong thời gian từ 29 - 47 ngày với tổng thời gian sinh trưởng kéo dài từ 76 -114 ngày. Do đó, dựa vào thời gian sinh trưởng, 109 mẫu giống phân loại vào nhóm có thời gian sinh trưởng ngắn (< 85 ngày), thời gian sinh trưởng trung bình (85 – 100 ngày) và sinh trưởng dài (> 100 ngày). Chiều cao cây giữa các dòng ở vụ xuân dao động từ 11,6 – 57,8 cm, trong đó một số giống có chiều cao > 50 cm như HSB0010, HSB0067, ... Trong 109 mẫu giống đậu tương nghiên cứu, số quả chắc/cây trung bình dao động từ 14 - 64 quả/cây. Một số mẫu giống đậu tương cho số quả cao như HSB0100, HSB0137, HSB0148,... Khối lượng 100 hạt dao động từ 7,6 – 37,5 g. Chỉ số HI của các mẫu giống đậu tương biến động từ 0,27 - 0,76. Kết quả nghiên cứu cho thấy một số mẫu giống HSB0130, HSB0132, HSB0148,... là những mẫu giống cho năng suất cá thể cao (Bảng 4).

Bảng 4: Phân nhóm 109 mẫu giống đậu tương dựa trên các đặc điểm sinh trưởng và phát triển

Tính trạng	Phân nhóm	Số lượng mẫu giống đậu tương
	Thời gian sinh trưởng ngắn (< 85 ngày)	11/109 dòng, ví dụ như HSB0008, HSB0031, HSB0032, HSB0033...
Thời gian sinh trưởng	Thời gian sinh trưởng trung bình (85 - 100 ngày)	50/109 dòng, ví dụ như HSB0010, HSB0011, HSB0013, HSB0017...
	Thời gian sinh trưởng dài (> 100 ngày)	48/109 dòng, ví dụ như HSB0050, HSB0088, HSB0091, HSB0095...
Tổng số quả/cây	< 30 quả/ cây	37/109 dòng, ví dụ như: HSB0257, HSB0259, HSB0261,....
	30 - 40 quả/ cây	26/109 dòng, ví dụ như: HSB0145, HSB0154, HSB156,...
	> 40 quả/ cây	46/148 dòng, ví dụ như: HSB0212, HSB0213, HSB0230,...
Tỷ lệ quả 3 hạt (%)	< 15%	16/109 dòng, ví dụ như: HSB0071, HSB0074, HSB0131, HSB0138...
	15 - 20%	12/109 dòng, ví dụ như: HSB0033, HSB0144, HSB0152, HSB0182...
	> 20%	81/109 dòng, ví dụ như: HSB0076, HSB0101, HSB0124, HSB0130, ...
Khối lượng 100 hạt (g)	Hạt bé < 19 g	49/109 dòng, ví dụ như: HSB0008, HSB0010, HSB0013, HSB0019....
	Hạt trung bình: 19,1 – 22 g	12/109 dòng, ví dụ như: HSB0051, HSB0088, HSB0124, HSB0138....
	Hạt to > 22 g	48/109 dòng, ví dụ như: HSB0017, HSB0053, HSB0061, HSB0079
Năng suất cá thể (g/cây)	< 15 g/cây	83/109 dòng, ví dụ như: HSB0257, HSB0259, HSB0260, HSB0261....
	15 - 20 g/cây	9/109 dòng, ví dụ như: HSB0145, HSB0212, HSB0239, HSB0240.
	> 20 g/cây	17/109 dòng, ví dụ như: HSB0100, HSB0130, HSB0132, HSB0137, HSB0148....

3.4 Hàm lượng protein của 22 mẫu giống đậu tương

Trong 22 mẫu giống đậu tương phân tích, hàm lượng protein dao động khoảng 30,2% - 46,8%. Một số mẫu giống có hàm lượng protein cao ≥ 40% như HSB0057, HSB0100, HSB0139, HSB0148.... Số lượng mẫu giống có hàm lượng protein tập trung nhiều nhất trong khoảng từ 35 - 45% (18 mẫu giống), mức thấp 30 - 35% có một mẫu giống, mức hàm lượng ≥ 40,5% có 14 mẫu giống (Bảng 5). Một số mẫu giống đậu tương địa phương có hàm lượng protein cao như đậu tương Thanh Oai 2 và Tây Nguyên. Các mẫu giống có hàm lượng protein cao cũng thuộc các nhóm khác nhau trong sơ đồ đa dạng di truyền, ví dụ HSB0057 thuộc nhóm I, HSB0148 thuộc nhóm II (Hình 3).

Các mẫu giống đậu tương có hàm lượng protein cao (> 40%) thường có số chỉ thị đa hình và allen xuất hiện/mẫu cao hơn như HSB0057, HSB0094, HSB0100... Điều đó cho thấy các chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu có thể liên quan đến các allen quy định hàm lượng protein, cũng giống như đã được công bố trong các nghiên cứu (Bảng 2). Tuy nhiên, để có thể xác định mối liên hệ giữa sự có mặt của các chỉ thị SSR với hàm lượng protein cao hay thấp đòi hỏi số lượng mẫu lớn như trong nghiên cứu về Genome wide association mapping (GWAS) hay tạo quần thể lai như quần thể tái tổ hợp (RILs) hoặc các dòng đẳng gen (NILs) từ bố mẹ có sự khác biệt về hàm lượng protein để phân tích QTLs (Moongkanna *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2018). Hơn nữa, các công bố khác nhau cũng cho thấy các chỉ thị SSR liên quan

đến hàm lượng protein cao hay thấp khác nhau, tùy thuộc vào nguồn vật liệu sử dụng.

Riêng trường hợp HSB0207-1, HSB0208 và HSB0212 có hàm lượng protein thấp nhưng số chỉ thị đa hình và tổng số allen/mẫu lại cao. Nguyên

nhân có thể do 3 mẫu giống HSB0207-1, HSB0208 và HSB0212 có nguồn gốc từ Mỹ, khác với các mẫu giống đậu tương khác có nguồn gốc là các giống địa phương hay các giống được chọn tạo trong nước.

Bảng 5: Sự biến động về hàm lượng protein của 22 mẫu giống đậu tương

STT	Kí hiệu	Tên giống	Hàm lượng protein (%)	Số chỉ thị đa hình	Tổng số allen/mẫu
1	HSB0010	No-314129	40,0	5	5
2	HSB0037	Tại pa	38,7	4	4
3	HSB0053	DT84	30,2	3	4
4	HSB0057	TL7	45,4	9	10
5	HSB0060	ĐT22	37,3	5	5
6	HSB0062	ĐVN10	42,2	6	7
7	HSB0088	TQ-3 hạt to	42,4	7	9
8	HSB0094	Cao Bằng 8352	42,8	7	10
9	HSB0095	ĐVN6	40,8	7	11
10	HSB0097	HL0715	41,5	7	10
11	HSB0100	ĐT26	46,8	8	11
12	HSB0124	Đậu tương	43,9	6	12
13	HSB0137	Thường Tín	42,7	8	13
14	HSB0139	Thanh Oai 2	45,4	8	14
15	HSB0140	Tây Nguyên	43,5	8	14
16	HSB0142-1	Đậu tương	42,4	8	14
17	HSB0142-2	Đậu tương	42,2	7	14
18	HSB0148	Bunya	45,0	7	13
19	HSB0154	T170B-3	39,8	8	17
20	HSB0207-1	UB3	38,5	10	13
21	HSB0208	UB4	38,4	10	16
22	HSB0212	UB8	38,3	8	14

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu sử dụng 11 chỉ thị phân tử SSR đã phát hiện 41 allen ở 109 mẫu giống đậu tương với hệ số tương đồng 0,66. Trong đó, 5 chỉ thị SSR Satt239, Satt270, Satt277, Satt281 và Satt520 có khả năng phân biệt tính đa hình của các mẫu giống đậu tương nghiên cứu rõ rệt nhất. Các giống đậu tương thí nghiệm có thời gian sinh trưởng trung bình dao động từ 76 - 114 ngày. Hàm lượng protein của 22 mẫu giống đánh giá dao động từ 30,2% - 46,8%. Các mẫu giống có năng suất cả thể > 20 g/cây như HSB0098, HSB0100, HSB0125, HSB0128, HSB0130, HSB0132,... và các mẫu có protein cao như HSB0057, HSB0100, HSB0139, HSB0148 nên được sử dụng làm vật liệu cho chọn tạo giống đậu tương. Nghiên cứu cũng cho thấy có thể có sự liên hệ giữa 11 chỉ thị SSR với sự biến động hàm lượng protein của các mẫu đậu tương trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, cần có một nghiên cứu với số lượng mẫu đậu tương lớn hơn, hoặc tạo quần thể lai có sự biến động về hàm lượng protein để phân tích và xác định mối liên quan, hay sự tồn tại của QTLs liên quan đến hàm lượng protein ở trên các mẫu giống đậu tương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Saghai-Marooif, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., Allard, R. W., 1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81(24):8014-8018.

Amom, T., and Nongdam, P., 2017. The use of molecular marker methods in plants: A Review. *Int J Cur Res Rev*, 9(17):1-7.

Anderson, J. A., Churchill, G. A., Autrique, J.E., Tanksley, S. O., and Sorrels, M. E., 1993. Optimizing parent selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36(1):181-186.

Bilyeu, K., Ratnaparkhe, M. B., and Kole, C., 2010. *Genetics, genomics and breeding of soybean*. CRC Press, USA.

Bisen, A., Khare, D., Nair, P., and Tripathi N., 2015. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine Max (L.) Merr.*) genetic diversity in India. *Physiol Mol Biol Plants*, 21(1):109-115.

Chan, C., Qi, X., Li, M-W., Wong, F-L., and Lam, H-M., 2012. Recent developments of genomic

- research in soybean. *Journal of Genetics and Genomics*, 39(7):317-324.
- Hwang, T.-Y., Nakamoto, Y., Kono, I., Enoki, H., Fanatsuki, H., Kitamura, K., and Ishimoto, M., 2008. Genetic diversity of cultivated and wild soybeans including Japanese elite cultivars as revealed by length polymorphism of SSR markers. *Breeding Science*, 58(3):315-323.
- Hyten, D. L., Pantalone, V. R., Sams, C. E., et al., 2004. A Seed quality QTL in a prominent soybean population. *Theoretical Applied Genetics*, 109(3):552-561.
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., and Dhawan, A. K., 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3):309-334.
- Kirk, P. L., 1950. Kjeldahl method for total nitrogen. *Analytical Chemistry*, 22(2):354-358.
- Moniruzzaman, M., Saiem, R. M., Emon, R. M., Haque, M. S., Saha, N. R., Malek, M. A., and Khatun, K. 2019. Genetic diversity analysis of soybean genotypes using SSR markers for salinity tolerance. *Progressive Agriculture*, 30(1):1-9.
- Moongkanna, J., Nakasathien, S., Novitzky, W. P., Kwanyuen, P., Sinchaisri, P., and Srinives, P., 2011. SSR Markers Linking to Seed Traits and Total Oil Content in Soybean. *Thai Journal of Agricultural Science*, 44(4):233-241.
- Morgante, M., Hanafey, M., and Powell, W., 2002. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics*, 30(2):194-200.
- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., and Baloch, F. S., 2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(2):261-285.
- Pagel, J., Walling, J. G., Young, N. D., Shoemaker, R. C., and Jackson, S. A., 2004. Segmental duplications within the *Glycine max* genome revealed by fluorescence in situ hybridization of bacterial artificial chromosomes. *Genome*, 47(4):764-768.
- Reinprecht, Y., Poysa, V. W., Yu, K., Rajcan, I., Ablett, G. R., and Pauls, K. P., 2006. Seed and agronomic QTL in low linolenic acid, lipoxygenase-free soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) germplasm. *Genome*, 49(12):1510-1527.
- Schmutz, J., Cannon, S. B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., Hyten, D. L., Song, Q., Thelen, J. J., et al., 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463: 178-183.
- Semagn, K., Bjornstad, A., and Ndjiondjop, M. N., 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25):2540-2568.
- Tajuddin, T., Watanabe, S., Yamanaka, N., and Harada, K., 2003. Analysis of quantitative trait loci for protein and lipid contents in soybean seeds using recombinant inbred lines. *Breeding Science*, 53(2):133-140.
- Tantasawat, P., Trongchuen, J., Prajongjai, T., Jenweerawat, S., and Chaowiset, W., 2011. SSR analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand. *Australian Journal of Crop Science*, 5(3):283-290.
- Triệu Thị Thịnh, Vũ Thị Thúy Hằng và Vũ Đình Hòa, 2010. Phân tích đa dạng di truyền của đậu tương bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 4:638-646.
- Vaiman, D., Mercier, D., and Moazai, G., 1994. A set of 99 cattle microsatellite, characterization, synteny mapping and polymorphism. *Mammalian Genome*, 5(5):288-297.
- Van, K., Hwang, E. Y., Kim, M. Y., Park, H. J., Lee, S. H., and Cregan, P. B., 2005. Discovery of SNPs in soybean genotypes frequently used as the parents of mapping populations in the United States and Korea. *Journal of Heredity*, 96(5):529-535.
- Velusamy, V., Le, K., Ha, B-K., Kim, J-B., Kim S.H., Ahn, J-W., Kang, S-Y., and Kim, D.S., 2013. Evaluation of genetic diversity in Korean soybean landraces by protein banding patterns using high-throughput screening. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 16(3):189-195.
- Vũ Thanh Trà, Trần Thị Phương Liên và Chu Hoàng Mậu, 2011. Nghiên cứu mối quan hệ di truyền của một số giống đậu trong Việt Nam có phản ứng khác nhau với bệnh gỉ sắt. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, 85(9):11-16.
- Wang, J. L., 1947. Evaluation of soybean traits. *Agricultural Journal*, 5:6-11.