

SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁC GIỐNG ĐẬU NÀNH RAU NHẬT BẢN

Nguyễn Lộc Hiền¹, Trần Thanh Xuyên², Trần Thị Bích Phương² và Tadashi Yoshihashi³

ABSTRACT

Twenty-two Japanese edamame varieties was characterized by 15 agro-morphology traits, 40 RAPD primers and 26 SSR primers to genetic diversity analysis. Among 35 morphometric descriptors, 22 were polymorphic (62,85%). Phenotypic diversity permitted some broad generalization and indicated the presence of important genes. A higher differentiation level was observed by using RAPD and SSR markers. RAPDs generated 219 amplification products of which 154 were polymorphic (70,32%) while SSRs produced 48 polymorphic bands out of 51 amplification products (94%). The UPGMA cluster analysis using 3 marker systems generated 4 distinct groups based on genetic dissimilarity with genetic distance from 4,47 to 10,50. It is suggested that the level of genetic diversity was sufficient for the efficient breeding program and can be used to establish genetic relationships among them with unknown or unrelated pedigrees.

Keywords: Edamame, genetic diversity, morphology, RAPD, SSR

Title: Genetic diversity based on morphology, RAPD and SSR analysis in Japanese vegetable soybean cultivars

TÓM TẮT

Để làm cơ sở cho việc tuyển chọn giống đậu nành rau thích nghi với điều kiện đồng bằng sông Cửu Long, nghiên cứu đánh giá sự đa dạng di truyền của 22 giống đậu nành rau Nhật Bản dựa trên 15 tính trạng hình thái-nông học, 40 primer RAPD và 26 primer SSR đã được thực hiện. Có 62,85% đặc điểm hình thái-nông học được mô tả là đa hình. So với dấu hình thái, dấu RAPD và SSR đã chỉ ra mức độ khác biệt cao hơn và hiệu quả trong phân tích đa dạng di truyền: dấu RAPD với 70,32% đa hình và 94% dấu SSR là đa hình. Phân tích nhóm dựa trên 3 loại marker này đã phân 22 giống nghiên cứu thành 4 nhóm với khoảng cách Euclidean là 4,47-10,05. Mức độ đa dạng di truyền cho thấy sự khác biệt giữa các giống đủ để sử dụng cho việc chọn tạo giống mới. Bốn giống Wase edamame, Fusanari chamame, Chuse edamame và Yuusuzumi có quan hệ xa về mặt di truyền so với các giống khác và đây là nguồn vật liệu lai tạo quan trọng cho tương lai.

Từ khóa: Đậu nành rau, đa dạng di truyền, đặc điểm hình thái, RAPD, SSR

1 GIỚI THIỆU

Đậu nành rau [*Glycine max* (L.) Merr.] (Edamame) là đậu nành được thu hoạch và chế biến lúc còn tươi như là một loại rau, là nguồn thực phẩm ngày càng phổ biến trên thế giới. Từ lâu đời ở nhiều nước Châu Á như Nhật Bản, Trung Quốc, Hàn Quốc, Thái Lan, Đài Loan đã trồng và sử dụng đậu nành rau như là loại rau truyền

¹ Khoa Nông nghiệp và SHƯD, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³ Post-harvest Science and Technology Division – JIRCAS – Japan

thống. Vì thế, nó giúp đa dạng hóa nhu cầu lựa chọn thực phẩm của người tiêu dùng. Đậu nành rau có giá trị kinh tế và dinh dưỡng rất lớn. Vì vậy, việc xuất khẩu đậu nành rau là nguồn thu ngoại tệ đáng giá của nhiều quốc gia.

Ở Việt Nam, đậu nành rau chưa được phổ biến rộng rãi. Chủ yếu vẫn đang nghiên cứu và trồng thử nghiệm với diện tích nhỏ ở một vài địa phương như An Giang và một vài tỉnh phía Bắc. Nhiều năm gần đây, việc chuyển đổi cơ cấu cây trồng đã được nông dân ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) áp dụng rộng rãi và thành công ở rất nhiều nơi. Trong đó, mô hình trồng đậu nành luân canh với lúa là rất phổ biến. Mô hình này còn là biện pháp tốt để cải tạo đất, nâng cao năng suất cây trồng. Giá trị kinh tế to lớn và thực trạng sản xuất đậu nành rau ở Việt Nam cho thấy cần thiết phải sớm đưa loại hoa màu này vào đồng ruộng Việt Nam. Do là một loại đậu nành mới, chủ yếu là giống được nhập từ nước ngoài nên số lượng giống còn hạn chế. Do đó, công tác chọn tạo giống đậu nành rau mới có năng suất cao và thích nghi với điều kiện ở ĐBSCL là hết sức cần thiết trước khi đưa vào sản xuất trên qui mô lớn.

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của 22 giống đậu nành rau được thu thập từ Nhật Bản dựa trên kỹ thuật RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) và SSR (Simple Sequence Repeats) bên cạnh việc đánh giá các đặc tính nông học và hình thái. Kết quả nghiên cứu được sử dụng làm cơ sở khoa học cho việc lai tạo, chọn lọc các giống đậu nành rau có đặc tính tốt để đưa vào sản xuất và góp phần làm cho nguồn giống đậu nành rau ở ĐBSCL ngày càng phong phú hơn.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Hai mươi hai giống đậu nành rau được thu thập từ Nhật Bản (Bảng 1) được trồng trong 2 vụ tại Vườn thực nghiệm khoa Nông Nghiệp và SHƯĐ từ tháng 07-10 năm 2008 và tại Nông trại Khu 2 - ĐHCT từ tháng 01-04 năm 2009, để đánh giá các đặc tính hình thái, nông học và lấy mẫu ly trích DNA.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Đặc tính nông học và hình thái

Tám đặc tính nông học quan trọng được đo lường là ngày trổ hoa, thời gian sinh trưởng, chiều cao cây lúc chín, trọng lượng 100 hạt, số hạt trên trái, chiều dài hạt, chiều rộng hạt và độ dày của hạt. Ngoài ngày trổ hoa, các đặc tính khác đều được đánh giá ở giai đoạn chín. Bảy đặc tính hình thái bao gồm có màu hoa, màu trục hạ điệp, màu vỏ hạt, màu tể, dạng hạt, màu trái và màu lông trên trái cũng được đánh giá theo quy ước mô tả của IBPGR (1984).

Bảng 1: Bảy đặc tính hình thái của 22 giống đậu nành rau

TT	Tên giống	Đặc điểm hình thái*						
		A	B	C	D	E	F	G
1	Iwahime	1	3	3	2	1	3	2
2	Yoshihime	1	3	7	8	5	3	2
3	Takihime	1	3	6	4	3	4	3
4	Wase edamame	1	3	3	2	3	3	2
5	Kurobee	1	3	7	8	3	3	2
6	Fusanari chamame	1	3	5	5	3	3	2
7	Chuse edamame	2	7	1	1	5	4	2
8	Yuusuzumi	1	3	3	5	1	3	3
9	Wase edamame	1	3	3	1	3	3	3
10	Fuuki	1	3	2	4	3	4	3
11	Fukunari	1	3	5	5	3	3	2
12	Nouhime	1	3	7	8	3	3	2
13	Tanbaguro ootsubudaizu	2	7	7	8	1	3	2
14	Fukura	1	3	3	2	1	3	2
15	Yuagari musume	2	7	2	2	3	3	2
16	Natsunoyosooi	1	3	7	8	3	3	2
17	Okuharawase	2	7	2	4	1	3	2
18	Mikawashima	1	3	2	1	3	4	3
19	Natsunokoe	1	3	5	5	3	3	2
20	Otsunahime	1	3	3	4	1	4	3
21	Natsunoshirabe	2	7	6	5	3	3	2
22	Shironomai	2	7	2	1	1	3	2

*A= màu hoa 1: trắng, 2: tím

B= trục hạ điệp 3: xanh lục, 7: tím

C= màu vỏ hạt 1: vàng sáng, 2: vàng, 3: xanh vàng, 4: xanh lục, 5: nâu đỏ, 6: nâu, 7: đen, 8: hạt đốm

D= màu tế 1: không màu, 2: màu da bò nhạt, 3: màu da bò, 4: nâu, 5: nâu đậm, 6: xanh, 7: xám đậm, 8: đen

E= Dạng hạt (dựa trên tỉ lệ rộng/dài và tỉ lệ dày/rộng của hạt): 1: hình cầu ($0.9 \leq$ và $0.85 \leq$), 3: tựa cầu ($0.9 \leq$ và ≤ 0.84), 5: elip ($0.8-0.9$ và $0.85 \leq$), 7: elip tròn ($0.8-0.9$ và $0.84 \geq$), 9: elip dài ($0.79 \geq$)

F= màu trái 2: màu rám nắng, 3: màu rám nắng đậm, 4: nâu, 5: nâu hơi đậm, 6: nâu đậm, 7: xám đậm, 8: đen

G= màu lông trên trái 1: xám, 2: nâu nhạt, 3: nâu

2.2.2 PCR

DNA của 22 giống đậu được ly trích và tinh sạch từ mô lá theo phương pháp CTAB (Rogers và Bendich, 1988). Bốn mươi RAPD primer và 26 cặp SSR primer được sản xuất từ công ty First BASE (Malaysia) đã được sử dụng để khuếch đại DNA (PCR).

Hỗn hợp phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 10 μ l bao gồm nước cất vô trùng, PCR buffer 10X, dNTPs 2mM, 2,5mM primer (đối với RAPD) hay 2 mM (đối với mỗi primer SSR), Taq polymerase 5U/ μ l và DNA 40ng/ μ l. Phản ứng PCR đối với phân tích RAPD được thực hiện qua 40 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR GeneAmp PCR system 2700 như sau: 3 phút ở 94 $^{\circ}$ C, 40 chu kỳ gồm 1 phút ở 94 $^{\circ}$ C, 1 phút ở 37 $^{\circ}$ C và 2 phút ở 72 $^{\circ}$ C, cuối cùng là 7 phút ở 72 $^{\circ}$ C. Đối với phân tích SSR, PCR được thực hiện qua 3 phút ở 94 $^{\circ}$ C, 35 chu kỳ gia nhiệt gồm 1 phút ở 92 $^{\circ}$ C, 2 phút ở 52 $^{\circ}$ C và 1 phút ở 68 $^{\circ}$ C, cuối cùng là 10 phút ở 68 $^{\circ}$ C.

Sản phẩm PCR được trữ ở 4⁰C. Sản phẩm PCR sẽ được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch TAE 1X bằng máy điện di OWL A2. Sau đó gel được nhuộm với dung dịch ethidium bromide và chụp hình dưới đèn UV. Các đoạn DNA khuếch đại sẽ được ghi nhận và phân tích.

2.2.3 Phân tích số liệu

Đối với các đặc tính hình thái-nông học, dựa vào sự biểu hiện hay không biểu hiện ở từng tính trạng của mỗi giống để lập ma trận nhị phân. Ma trận này được dùng làm dữ liệu đầu vào của phần mềm Statistica 5.0 để tính khoảng cách di truyền Eclidean và phân nhóm các giống.

Đối với dấu phân tử RAPD và SSR, sự xuất hiện hoặc không xuất hiện của một băng nào đó trên gel sẽ được ghi nhận là 1 và 0. Sau khi ghi nhận tất cả các băng trên mỗi giống, số liệu thu thập được lưu trữ trong phần mềm Excel. Phân tích Cluster và đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các giống dựa trên ma trận khoảng cách Euclidean bằng phần mềm Statistica 5.5 theo phương pháp UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

Hệ số đa dạng di truyền (PIC) được tính theo công thức:

$$PIC = 1 - \sum (P_i)^2$$

Với P_i là xác suất tập hợp giống mang allele thứ i , xác suất này được tính cho mỗi locus.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO THUẬN

3.1 Sự đa dạng của đặc tính hình thái và nông học

Hai mươi hai giống đậu nành rau được nghiên cứu đã chỉ ra sự đa dạng về cả tình trạng chất lượng (Bảng 1) lẫn số lượng (Bảng 2). Tám đặc tính nông học có ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường hơn so với 7 đặc tính hình thái được đánh giá.

Trong 35 đặc điểm của 7 tính trạng hình thái có 22 đặc điểm đa hình chiếm tỉ lệ 62,85%, 13 đặc điểm còn lại không xuất hiện ở tất cả các giống. Đa số các giống đều có hoa màu trắng với tỉ lệ 73%. Cũng giống với tính trạng màu hoa, tính trạng màu trục hạ diệp cũng có 73% số giống có trục hạ diệp màu xanh, 27% còn lại có màu tím. Điều này đã chỉ ra sự tương quan rất chặt chẽ giữa 2 tính trạng này: những giống có hoa màu trắng thì tương ứng với trục hạ diệp màu xanh, còn những giống có trục hạ diệp màu tím thì sẽ có hoa màu tím. Đối với màu vỏ hạt, có 6 trong 8 đặc điểm mô tả là đa hình (75%), hạt màu xanh và hạt đốm đã không xuất hiện ở tất cả các giống. Ở tính trạng màu tễ, chỉ xuất hiện 5/8 kiểu hình là đa hình, gồm có không màu, màu da bò nhạt, màu nâu, nâu đậm và màu đen. Tính trạng dạng hạt chỉ có 60% đa hình dựa trên sự xuất hiện của hạt hình cầu, tựa cầu và elip. Ở tính trạng màu trái, có tới 5/7 (71,43%) đặc điểm mô tả không xuất hiện trên tất cả các giống. Đây là tính trạng có tỉ lệ đa hình thấp nhất. Cả 22 giống có trái hoặc là màu rám nắng đậm hoặc màu nâu khi chín. Đối với tính trạng màu lông trên trái, chỉ xuất hiện là màu nâu nhạt và nâu trong 22 giống. Tính trạng màu lông xám không tìm thấy trên bất kỳ giống nào.

Tất cả 22 giống nghiên cứu đều có thời gian trổ hoa và thời gian sinh trưởng ngắn, chiều cao cây thấp, số hạt trên trái và trọng lượng 100 hạt cao. Những giống có

thời gian sinh trưởng ngắn như giống Fusanari chamame, Chuse edamame, Takihime, Fukunari, Yuagari musume. Giống có kích thước hạt nổi trội nhất là Tanbaguro ootsubudaizu và Okuharawase. Các giống có trọng lượng 100 hạt lớn như giống Wase edamame, Fuuki, Tanbaguro ootsubudaizu, Shironomai đều trên 35g.

Bảng 2: Tám đặc tính nông học của 22 giống đậu nành rau

TT*	Ngày trở hoa (NSKG)**	Ngày thu hoạch (NSKG)	Chiều cao cây (cm)	Trọng lượng 100 hạt (g)	Số hạt/trái	Kích thước hạt		
						Rộng (mm)	Dài (mm)	Dày (mm)
1	24	72	22,3	34,4	2,9	8,70	9,35	7,40
2	24	72	23,2	26,5	2,8	7,52	9,00	7,50
3	22	70	24,5	29,0	2,9	8,45	9,25	5,95
4	21	72	21,4	35,6	2,8	8,60	9,15	6,95
5	23	72	22,1	32,5	2,7	8,65	9,30	6,75
6	20	68	23,1	33,0	2,6	8,10	8,65	5,80
7	20	68	24,0	27,1	2,6	8,20	9,20	6,95
8	27	78	22,5	34,0	2,5	8,50	9,00	7,35
9	23	72	23,6	33,5	2,6	8,90	9,35	7,25
10	22	72	24,4	35,5	2,7	8,95	9,55	7,40
11	21	70	28,2	26,9	2,7	8,60	9,45	6,10
12	25	72	26,7	30,8	2,8	8,80	9,50	7,30
13	28	78	29,0	35,2	2,5	10,10	11,00	9,15
14	24	72	27,1	29,8	2,6	8,40	8,95	7,40
15	21	70	26,5	31,6	2,5	8,25	8,65	6,65
16	24	72	24,5	32,0	2,6	8,25	8,80	6,75
17	22	72	22,6	30,5	2,5	9,05	9,40	7,80
18	23	72	20,0	28,4	2,3	8,75	9,75	6,95
19	22	72	23,4	26,0	2,5	8,20	8,65	6,50
20	24	76	26,3	31,3	2,7	8,00	8,00	6,85
21	24	72	25,8	29,9	2,6	8,45	9,00	7,05
22	28	78	33,5	35,0	2,6	8,65	8,90	7,80
TB	23,27	72,36	24,66	31,45	2,64	8,55	9,18	7,07
±SD	±2,27	±2,80	±2,16	±3,07	±0,15	±0,49	±0,56	±0,71

*Số thứ tự giống xem bảng 1, **NSKG: ngày sau khi gieo

3.2 Phân tích RAPD

Trong 40 primer RAPD đã được sử dụng trong phản ứng PCR trên DNA genome thu được từ các mẫu lá, có 28 primer chỉ ra băng rõ và xuất hiện trên tất cả 22 giống (Bảng 3). Những primer còn lại hoặc là sản phẩm PCR không khuếch đại trong tất cả các giống hoặc khuếch đại không hoàn toàn, hoặc do sản phẩm khuếch đại ít hay quá mờ không ghi nhận được. Kết quả phân tích DNA của 28 primer được chọn được trình bày trong bảng 9. Tất cả 28 primer này đều cho chỉ ra sự đa hình. Tổng cộng có 219 băng được ghi nhận với trung bình trên một primer là $7,82 \pm 3,54$, trong đó có 154 băng đa hình chiếm tỉ lệ 70,32% với trung bình $5,50 \pm 3,70$ băng đa hình trên mỗi primer. Dựa vào sự khác biệt giữa các băng trên gel ta có thể xác định được sự khác nhau giữa các giống về mặt di truyền.

Bảng 3: Sự đa hình của 28 primer RAPD ở 22 giống đậu nành rau

TT*	Primer	Trình tự primer 5'-3'	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ đa hình (%)
1	OPD03	GTCGCCGTCA	6	2	33,3
2	OPE01	CCCAAGGTCC	5	3	60,0
3	OPE07	AGATGCAGCC	7	5	71,4
4	OPE20	AACGGTGACC	8	6	75,0
5	OPH12	ACGCGCATGT	4	1	25,0
6	OPH13	GACGCCACAC	8	2	25,0
7	OPK03	CCAGCTTAGG	2	1	50,0
8	OPL13	ACCGCCTGCT	6	4	66,7
9	OPM02	ACAACGCCTC	6	6	100,0
10	OPM04	GGCGGT TGTC	6	4	66,7
11	OPM06	CTGGGCAACT	8	6	75,0
12	OPM09	GTCTTGCGGA	8	2	25,0
13	OPM18	CACCATCCGT	4	2	50,0
14	OPN07	CAGCCCAGAG	10	6	60,0
15	OPN09	TGCCGGCTTG	9	8	88,9
16	OPN11	TCGCCGCAA	6	6	100,0
17	OPN16	AAGCGACCTG	15	10	66,7
18	OPO01	GGCACGTAAG	11	11	100,0
19	OPO05	CCCAGTCACT	12	12	100,0
20	OPO16	TCGGCGGTTC	16	14	87,5
21	OPO19	GGTGCACGTT	12	12	100,0
22	OPP08	ACATCGCCA	11	3	27,3
23	OPP09	GTGGTCCGCA	7	4	57,1
24	OPP18	GGCTTG GCCT	4	4	100,0
25	OPR07	ACTGGCCTGA	8	5	62,5
26	OPR12	ACAGGTGCGT	12	10	83,3
27	OPS09	TCC TGG TCCC	6	4	66,7
28	OPS14	AAAGGGGTCC	2	1	50,0
Tổng			219	154	70,32
Trung bình±SD			7,82±3,54	5,50±3,70	

*Số thứ tự giống xem bảng 1



Hình 1: Phổ điện di của primer OPE07

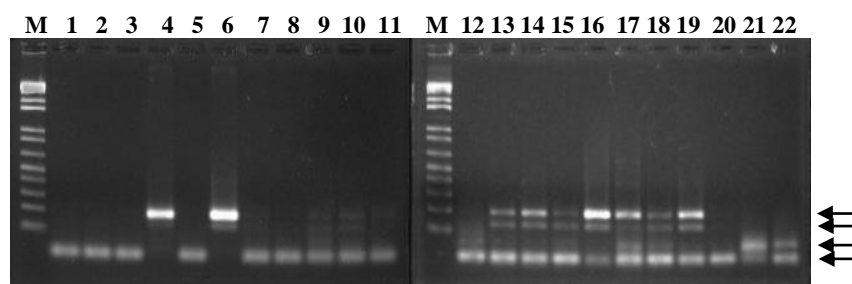
(Các mũi tên chỉ băng đa hình; M: leader λ-PstI; Số thứ tự theo danh sách giống ở bảng 1)

Một số primer cho số lượng băng nhiều và tỉ lệ đa hình rất cao. Đối với primer OPN16 và OPO16, số băng ghi nhận được là 15 và 16 băng, có tổng số băng cao nhất trong 28 primer. Còn primer cho số băng ít nhất là OPS14 với số băng thu được là 2 băng. Tỉ lệ đa hình của một số primer đạt đến 100% như primer OPM02,

OPO01, OPO05, OPO19 và OPP18. Tỷ lệ đa hình thấp nhất ghi nhận được ở primer OPH12, OPH13 và OPM09 là 25%.

3.3 Phân tích SSR

Trong 26 cặp primer SSR được sử dụng cho phản ứng PCR trên 22 giống đậu nành rau, chỉ có 11 cặp primer cho kết quả có thể phân tích được. Các primer khuếch đại số lượng allele khá lớn. Có tất cả 51 allele được khuếch đại bởi 11 primer SSR với trung bình 4,6 alen/primer. Primer cho nhiều allele nhất là Satt270 với 9 allele, sự phân bố các allele tại locus Satt270 cũng rất đồng đều. Các primer khác cũng cho nhiều allele là Sct026 và Satt 544 (7 allele), Sat040 và Satt458 (5 allele), Sat135, Satt005 và Satt030 (4 allele).



Hình 2: Phổ điện di của primer Sat135

(Các mũi tên chỉ băng đa hình; M: leader 1Kb; Số thứ tự theo danh sách giống ở bảng 1)

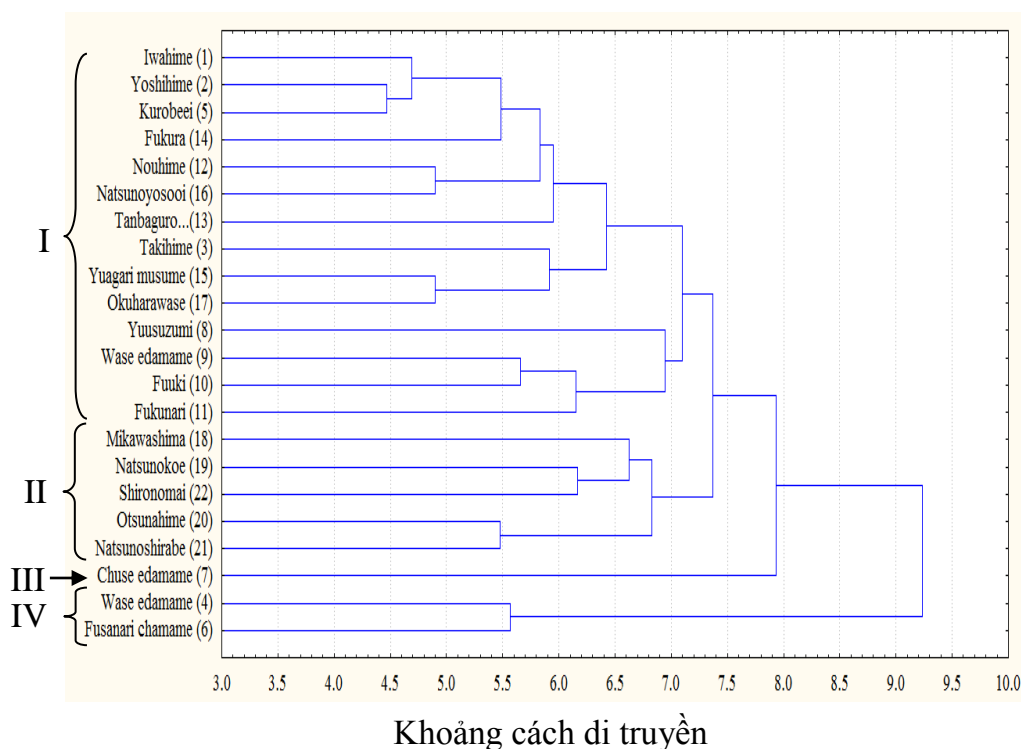
Bảng 4: Sự đa hình của 11 primer SSR ở 22 giống đậu nành rau

Primer	Trình tự primer 5'-3'	Tổng số alen	Số alen đa hình	% đa hình	Hệ số PIC
Sct026	(F) CGAAACGCAAAATCTC (R) AAAACGTATCTGAAGTAGTGG	7	7	100	0,96
Sat040	(F) GTTCTAGTTCTTCTTTTCACTTG (R) TTGTCATCAAATATCATCCATT	5	2	40	0,90
Sat135	(F) GCGGGGAGTGAATAGTTAAGTGTA (R) TGGCCTTTGCTAGGTTTGTAGTTA	4	4	100	0,92
Satt005	(F) TATCCTAGAGAAGAATAAAAA (R) GTCGATTAGGCTTGAAATAA	4	3	75	0,90
Satt009	(F) CCAACTTGAAATTACTAGAGAAA (R) CTTACTAGCTATTAACCCTT	2	1	50	0,76
Satt030	(F) AAAAAGTGAACCAAGCC (R) TCTTAAATCTTATGTTGATGA	4	4	100	0,96
Sat270	(F) TGTGATGCCCCTTTCT (R) GCGCAGTGCATGGTTTTCTCA	9	9	100	0,98
Satt458	(F) TTGGGTTGACCGTGAGAGGGAGAA (R) GCGAACCACAAACAATCTTCA	5	5	100	0,93
Satt534	(F) CTC CTC CTG CGC AAC AAC AAT A (R) GGGGGATCTAGGCCATCAC	2	2	100	0,88
Sat544	(F) GCTATGGGAAAAGGATGTGTG (R) GAGCTACCCGAGATGATACTC	7	7	100	0,95
Sat596	(F) TCCCTTCGTCCACCAAAT (R) CCGTCGATTCCGTACAA	2	2	100	0,83
Trung bình		4,46	4,18	87,73	0,90

Các primer cho tỉ lệ allele đa hình rất cao (Bảng 4). Trong 11 primer này thì có đến 8 primer cho tỉ lệ allele đa hình là 100%. Tỉ lệ allele đa hình trung bình là 87,73%. Đây là ưu điểm của phương pháp SSR. Điều này thể hiện phần nào mức độ đa dạng của 22 giống đậu. Đây cũng là cơ sở tốt để việc phân tích di truyền các giống đạt độ chính xác cao. Hệ số đa dạng di truyền trung bình là 0,91, cao hơn hẳn so với nghiên cứu của M. Hudcovicova' và Kraic J.(2003) sử dụng 18 primer SSR nghiên cứu trên đậu nành cho chỉ số đa dạng di truyền trung bình là 0,71. Có đến 10 trên 11 primer SSR cho hệ số đa dạng di truyền lớn hơn 0,8. Theo Rongwen và ctv (1995) thì hệ số đa dạng di truyền thường lớn hơn 0,8 là được chấp nhận khi sử dụng phương pháp SSR và bộ giống đậu nành có hệ số đa dạng di truyền lớn hơn 0,8 là nguồn nguyên liệu tốt cho việc tạo giống.

3.4 Phân tích Cluster kết hợp 3 marker hình thái, RAPD và SSR

Dựa trên sự phân tích tính đa hình của 3 marker hình thái, RAPD và SSR, khoảng cách di truyền Euclidean và mối liên hệ di truyền giữa 22 giống đậu nành rau đã được thiết lập theo phương pháp UPGMA (Hình 3).



Hình 3: Mối quan hệ giữa 22 giống đậu nành rau qua phân tích khoảng cách di truyền và phương pháp UPGMA dựa trên 3 marker hình thái, RAPD và SSR

Qua sơ đồ ta có thể chia 22 giống đậu nành rau vào 4 nhóm. Nhóm I gồm 14 giống có khoảng cách Euclidean nằm trong khoảng 4,47 – 8,06, khoảng cách trung bình giữa các giống là 6,51. Trong đó, 2 giống có khoảng cách gần nhất là Yoshihime và Kurobee với chỉ số Euclidean là 4,47, còn 2 giống có khoảng cách xa nhất là Okuharawase và Wase edamame (9) (8,06). Nhóm II gồm 5 giống với khoảng cách di truyền giữa các giống trong khoảng 5,48 – 7. Khoảng cách Euclidean trung bình giữa các giống là 6,58. Nhóm III có 1 giống duy nhất là Chuse edamame. Giống này luôn có quan hệ xa với các giống còn lại. Khoảng cách gần nhất là 7,48 với giống Yuragari musame, và có khoảng cách xa nhất đối với giống số 4 Wase

edamame là 9,33. Khoảng cách Euclidean trung bình của giống này với các giống còn lại là 8,06. Nhóm IV có 2 giống là Wase edamame (4) và Fusanari chamame. Hai giống này có quan hệ gần gũi với nhau ở khoảng cách 5,57. Đối với các giống khác thì 2 giống này lại có khoảng cách di truyền rất lớn như giữa giống Wase edamame (4) và giống Shironomai là 10,05, giữa giống Fusanari chamame và giống Shironomai là 9,7. Khoảng cách Euclidean trung bình so với các giống là 9,06.

4 KẾT LUẬN

Mức độ đa dạng di truyền của 22 giống đậu nành rau Nhật Bản trong nghiên cứu này cho thấy sự khác biệt giữa các giống đủ để sử dụng cho chọn tạo giống mới. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu về thời gian thu hoạch trái tươi, thành phần dinh dưỡng cũng như năng suất thực tế của 22 giống trên, cũng như trồng vào những vụ khác để có những đánh giá thêm về đặc tính thích nghi của các giống trước khi sử dụng để lai tạo và tuyển chọn giống mới. Để có thể nghiên cứu sâu về mặt di truyền của các giống này cũng như ảnh hưởng của chúng trong các thế hệ sau của các tổ hợp lai sẽ thực hiện cần sử dụng thêm những dấu phân tử khác trong phân tích di truyền để có kết luận chính xác hơn. Bốn giống Wase edamame, Fusanari chamame, Chuse edamame và Yuusuzumi trong nghiên cứu này đã cho thấy có quan hệ xa về mặt di truyền so với các giống khác cũng như có một số ưu điểm về hình thái và nông học nổi bật. Đây chính là nguồn vật liệu lai tạo quan trọng cho chương trình chọn giống trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Rogers S.O. & A. Bendich. 1988. Extraction of ADN from plant tissues. In Plant molecular biology manual Section A6. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.p A6/1-A6/11.
- IBPGR, 1984. Descriptor for Soybean, International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy, 38P.
- Hudcovico,M.,& Kraic,J. 2003. Utilisation of SSR for Characterisation of the Soybean (*Glycine max (L.) Merr.*) Genetic Resources. *Genet. Plant Breed.*, 39, (4): 120 – 126.
- Rongwen, J. , Akkaya, M. S., Bhagwat A.A., Lavi U. & Cregan P.B. 1995. The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. Springer Berlin/Heidelberg.