

ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐA HÌNH DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ GIỐNG CHÈ BẰNG KỸ THUẬT RAPDs (RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA)

Nguyễn Văn Toàn¹, Nguyễn Thị Minh Phương¹,
Lê Huy Hàm², Đặng Trọng Lương²

TÓM TẮT

Cây chè là một loại cây công nghiệp quan trọng được trồng tại các tỉnh vùng cao ở Việt Nam. Hiện nay để nâng cao chất lượng và năng suất của cây chè, các phương pháp lai tạo và chọn giống đã được sử dụng, tuy nhiên việc đánh giá và phân biệt các giống chè dựa vào hình thái còn gặp một số hạn chế. Do đó nghiên cứu này đã sử dụng phương pháp đánh giá sự khác biệt về mặt di truyền giữa các giống chè dựa vào chỉ thị phân tử RAPD (ADN đa hình phóng đại ngẫu nhiên). Với 20 mẫu RAPD đã sử dụng trong phân tích RAPD-PCR của 24 mẫu chè Việt Nam và các dòng con lai của chúng cho thấy sự đa hình xuất hiện ở 7 mẫu và hệ số tương đồng di truyền đạt từ 0,09 - 0,9.

Từ khoá: *Cây chè, ADN đa hình phóng đại ngẫu nhiên, đa dạng di truyền.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chè (*Camellia sinensis*) là một trong những cây công nghiệp dùng để sản xuất đồ uống có nguồn gốc ở khu vực Đông Nam Á, nhưng ngày nay đã được trồng phổ biến ở nhiều nơi trên thế giới, trong các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Để nâng cao chất lượng cây chè các nhà chọn giống ở Việt Nam đã sử dụng nhiều lai hữu tính giữa các dòng bố mẹ có các phẩm chất khác nhau. Bằng phương pháp chọn này đã tạo ra được một số giống chè có các đặc tính di truyền khác nhau. Tuy nhiên việc đánh giá sự khác biệt giữa các giống này qua hình thái và các đặc tính nông học còn gặp nhiều khó khăn và mất nhiều thời gian. Do đó áp dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong đánh giá và chọn lọc các giống chè sẽ giúp cho sự đánh giá về đa dạng di truyền cũng như những khác biệt về mặt phân tử một cách nhanh chóng và hiệu quả.

Các phương pháp phân tích đặc điểm di truyền thực vật bằng cách sử dụng các loại chỉ thị phân tử đã được thực hiện từ những năm 1990. William và cs đã phát triển kỹ thuật DNA fingerprinting (ADN dấu vân tay) sử dụng chỉ thị RAPD (Random amplified polymorphic DNA - AND đa hình phóng đại ngẫu nhiên) trong những năm 1990. Sự khác biệt về di truyền giữa hai loại mô khác nhau nói chung và ba loại tế bào dạng khảm ở lá cũng được giải thích sớm hơn nhờ các chỉ thị RAPDs. Kỹ thuật RAPD cũng đã được sử dụng rất nhiều trong việc nghiên cứu đa

dạng của các giống chè trên thế giới (Wachira F. N. & cs, 1995; L. Chen., Yamaguchi, 2005; Gul S., Ahmad H., Khan I. A., Alam M., 2007). Để bảo tồn nguồn gen và nắm vững các đặc điểm của các giống chè cần phải sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử để đánh giá sự đa dạng di truyền các giống chè có chất lượng cao. Xuất phát từ nhu cầu thực tế đã tiến hành nội dung nghiên cứu “*Đánh giá tính đa hình di truyền một số giống chè bằng kỹ thuật RAPD*”.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Hai giống chè PH1, Tri 777 và các dạng đột biến của hai giống này được sử dụng để phân tích. Danh sách các giống chè như sau (Bảng 1):

Bảng 1: Các giống chè sử dụng trong phân tích

| | | | |
|----|-----------------|----|------------|
| 1 | PH ₁ | 13 | Dòng số 10 |
| 2 | Trung Du | 14 | Dòng số 13 |
| 3 | Kim Tuyên | 15 | Dòng số 14 |
| 4 | Hồ Nam2 | 16 | Dòng số 15 |
| 5 | Saemidori | 17 | Dòng số 17 |
| 6 | Cù Dẻ Phụng | 18 | Dòng số 20 |
| 7 | Bát Tiên | 19 | Dòng số 25 |
| 8 | Ba Vì | 20 | Dòng số 26 |
| 9 | TRI777 | 21 | Dòng số 32 |
| 10 | Giống PH8 | 22 | Dòng số 36 |
| 11 | Giống PH9 | 23 | Dòng số 12 |
| 12 | Tứ quý xuân | 24 | Tham về |

2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp tách chiết ADN

Phương pháp tách chiết ADN dựa theo phương pháp tách chiết ADN tế bào thực vật bằng CTAB của Lipp và cộng sự (1999) có cải tiến. Quy trình tách chiết được tiến hành như sau: Nghiền lá chè thành các

¹Viện Khoa học KTNLN miền núi phía Bắc

²Viện Di truyền Nông nghiệp

giống chè trong nitor lỏng bằng chày và cối. Chuyển 200 mg bột nghiền vào trong ống eppendoff. Bổ sung 800 μ l CTAB buffer và 60 μ l SDS 10%. Thành phần dung dịch đệm chiết: Tris-base 100 mM, EDTA 20 mM, NaCl 1,4 M; CTAB 2%, PVP 2%. Ủ mẫu ở 65°C trong bể ổn nhiệt trong thời gian 60 phút. Bổ sung hỗn hợp CHCl_3 - IsoA (24:1) với tỉ lệ 1:1 về thể tích so với dịch mẫu. Lắc nhẹ cho tới khi đồng hoá thành dạng đồng nhất. Ly tâm 12000 vòng/phút ở 4°C. Thu dịch nổi phía trên chuyển sang ống mới. Tiếp tục bổ sung hợp chất CHCl_3 - IsoA (24:1) với tỉ lệ 1:1 về thể tích. Ly tâm 12000 vòng/phút ở 4°C. Thu dịch nổi ở phía trên và chuyển sang ống mới. Bổ sung 5 μ l (10 mg/ml) RNAase A vào dung dịch. Bổ sung iso - propanol đã để lạnh và để ở -29°C trong 1h để thu nhận ADN. Ly tâm ADN ở 4°C 12000 vòng/phút trong 15 phút. Loại bỏ dịch nổi, rửa ADN bằng ethanol 70%. Ly tâm sau đó làm khô ở nhiệt độ phòng. Hoà tan ADN bằng đệm TE. Điện di kiểm tra nồng độ ADN trong gel agarosa 1%.

b. Phương pháp RAPD-PCR

Các mẫu được sử dụng thí nghiệm là các mẫu thuộc nhóm OPA, OPC, BIO. Các phản ứng RAPD được tiến hành ở thể tích 15 μ l, bao gồm lượng mẫu ADN là 5 ng, enzyme tag polymeraza 1 U, 100 μ m dNTP, 2,5 mM MgCl_2 , 10 mM Tris HCl, 50 mM KCl (dung dịch đệm PCR). Các phản ứng được thực hiện bằng máy PCR - Thermal Cycle Eppendoff. Chương trình PCR với 40 chu kỳ. Kết quả PCR được kiểm tra trên gel agarosa 1,2%. Chu trình chạy PCR áp dụng trong thí nghiệm:

- Chu trình 1: 95°C trong 6 phút
- Chu trình 2: 95°C trong 1 phút
- 33 °C trong 2 phút
- 72°C trong 2 phút
- Chu trình 3: 72°C trong 5 phút
- Chu kì chạy: 45 chu kì. Giữ ở nhiệt độ 4°C.

c. Phân tích số liệu

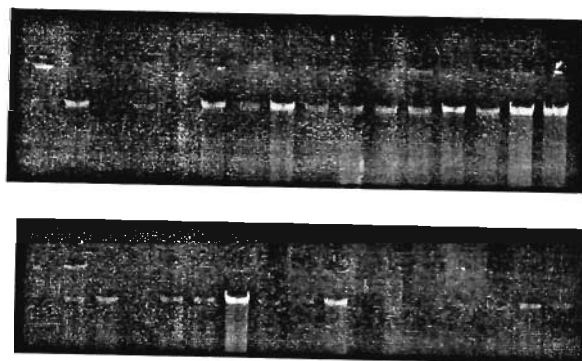
Các số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Microsoft Office Excel 2003. Các băng RAPD được ghi nhận sự có mặt hoặc vắng mặt của chúng trên gel, các băng xuất hiện được chấm là 1 và các băng không xuất hiện được chấm là 0. Các số liệu này được xử lý theo chương trình Numerical Taxonomy and Multivarious Analysis System computer program vesion 2.01 (NTSYS-pc2.01) (F. J. Rohlf, 2000) để xác định hệ số tương đồng di truyền và xây dựng cây phân loài.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả tách chiết ADN tổng số từ mẫu lá chè

Việc tách chiết ADN trong nhân hay ty thể, lập thể của các mẫu được coi là bước đầu tiên trong nghiên cứu di truyền ở mức độ phân tử khi sử dụng các loại chỉ thị phân tử. Có rất nhiều phương pháp khác nhau để tách chiết ADN và lựa chọn các phương pháp này tùy thuộc vào chất lượng và số lượng ADN cần thiết cho các phân tích. Một trong những yếu tố được cho là có ảnh hưởng đến khả năng nhân bản các sản phẩm của phản ứng RAPD đó là nồng độ và chất lượng ADN. Lựa chọn phương pháp tách chiết ADN thích hợp để loại bỏ các yếu tố gây nhiễm có thể khắc phục được ảnh hưởng trên.

Kết quả tách chiết ADN tổng số từ lá của 24 mẫu chè được điện di trên gel agarosa 1% để kiểm tra độ tinh sạch của ADN. Nồng độ ADN được so với nồng độ ADN chuẩn 25 ng/ μ l.



Hình 1: Nồng độ và chất lượng ADN tổng số của 24 mẫu chè

Kết quả điện di trên gel agarosa 1% cho thấy các băng ADN thu được của 24 mẫu chè ở dạng một vạch trắng thẳng, đều nhau, không xuất hiện nhiều phân đoạn và băng vệt phía dưới. Như vậy chất lượng ADN sau khi được tách chiết là tốt, không có lẫn tạp chất và RNA. Kết quả trên cho thấy đã chọn được phương pháp tách chiết ADN hiệu quả để có ADN tổng số của 24 mẫu chè với chất lượng tốt phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

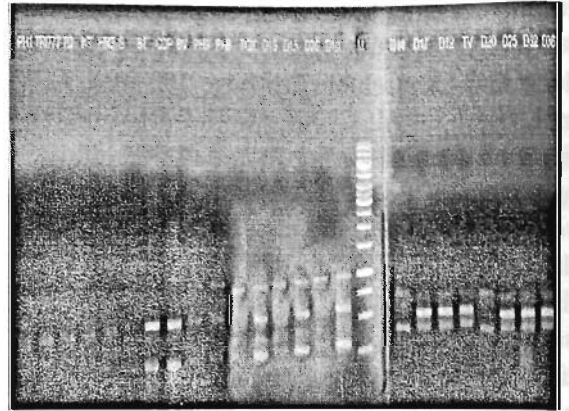
2. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền giữa các giống chè

20 mẫu RAPD thuộc các nhóm mỗi BIO, OPC, OPA được sử dụng để phân tích thu được 9 mỗi có đa dạng di truyền, 11 mỗi hoặc không đa dạng hoặc không thu được các băng. Tổng số băng ADN thu được sau khi chạy PCR RAPD với 9 mỗi đa hình là 421 băng với kích thước băng lớn nhất khoảng 1500 bp và băng nhỏ nhất là 250 bp. Tổng số các phân

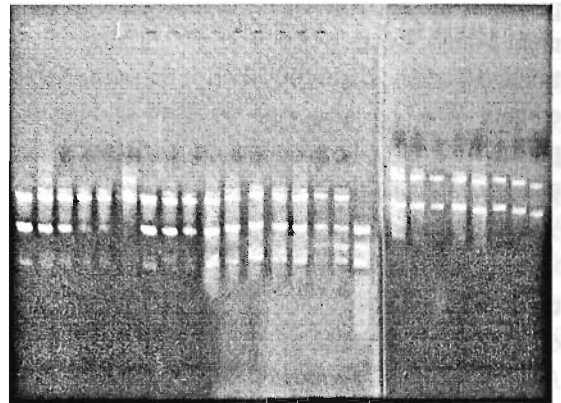
đoạn ADN nhân bản ngẫu nhiên trong các môi được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2: Tổng số các băng ADN được nhân bản ngẫu nhiên ở các môi

| Môi | | | | | | | | |
|-------|----|----|----|----|----|-----|----|-----|
| PH1 | 3 | 3 | 1 | 1 | 3 | 4 | 2 | 17 |
| TR777 | 3 | 3 | 1 | 1 | 3 | 6 | 2 | 19 |
| TD | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | 5 | 2 | 19 |
| KT | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | 5 | 2 | 19 |
| HN2 | 3 | 3 | 4 | 1 | 3 | 5 | 1 | 20 |
| S | 2 | 4 | 2 | 1 | 3 | 5 | 1 | 18 |
| BT | 3 | 4 | 5 | 2 | 3 | 4 | 2 | 23 |
| CDP | 3 | 4 | 2 | 1 | 2 | 5 | 2 | 19 |
| BV | 3 | 4 | 3 | 1 | 2 | 5 | 2 | 20 |
| PH9 | 3 | 4 | 1 | 1 | 2 | 5 | 2 | 18 |
| PH8 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 5 | 2 | 16 |
| TQX | 4 | 3 | 2 | 1 | 2 | 5 | 2 | 19 |
| D13 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 5 | 3 | 18 |
| D15 | 4 | 2 | 3 | 3 | 2 | 5 | 7 | 26 |
| D26 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 5 | 2 | 18 |
| D10 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 5 | 2 | 20 |
| D14 | 4 | 4 | 4 | 0 | 3 | 5 | 4 | 24 |
| D17 | 3 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 3 | 19 |
| D12 | 3 | 4 | 4 | 1 | 2 | 2 | 3 | 19 |
| TV | 3 | 4 | 2 | 1 | 2 | 4 | 3 | 19 |
| D20 | 3 | 4 | 3 | 4 | 2 | 3 | 6 | 25 |
| D25 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 6 | 21 |
| D32 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 4 | 18 |
| D35 | 3 | 4 | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 | 17 |
| Tổng | 73 | 79 | 61 | 32 | 56 | 102 | 68 | 471 |



Hình 2: Kết quả PCR-RAPD môi BIO3



Hình 3: Kết quả PCR- RAPD môi OPC2

Số liệu thu được từ 20 môi RAPDs được thống kê và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc2.1, từ đó thiết lập được bảng hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ cây phát sinh chủng loại của các mẫu chè.

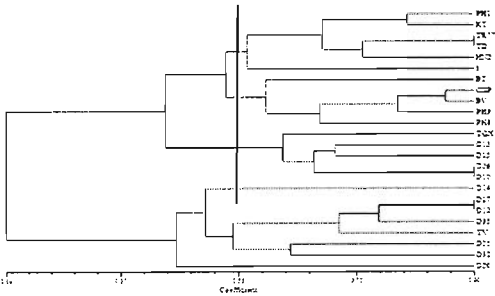
| | PH1 | TR777 | TD | KT | HN2 | S | BT | CDP | BV | PH9 | PH8 | TQX | D13 | D15 | D26 | D10 | D14 | D17 | D12 | TV | D20 | D25 | D32 | D35 | |
|-------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|--|
| PH1 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TR777 | 0,71 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TD | 0,71 | 0,90 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| KT | 0,80 | 0,65 | 0,65 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| HN2 | 0,61 | 0,70 | 0,77 | 0,70 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S | 0,46 | 0,61 | 0,54 | 0,61 | 0,58 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BT | 0,60 | 0,45 | 0,50 | 0,68 | 0,54 | 0,52 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CDP | 0,57 | 0,46 | 0,46 | 0,65 | 0,56 | 0,48 | 0,68 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BV | 0,48 | 0,50 | 0,50 | 0,63 | 0,54 | 0,52 | 0,65 | 0,86 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PH9 | 0,46 | 0,61 | 0,61 | 0,54 | 0,65 | 0,57 | 0,52 | 0,76 | 0,81 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| PH8 | 0,50 | 0,40 | 0,40 | 0,59 | 0,50 | 0,42 | 0,50 | 0,75 | 0,64 | 0,62 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | | |
| TQX | 0,50 | 0,65 | 0,65 | 0,46 | 0,56 | 0,42 | 0,45 | 0,58 | 0,63 | 0,68 | 0,46 | 1,00 | | | | | | | | | | | | | |
| D13 | 0,46 | 0,48 | 0,48 | 0,42 | 0,46 | 0,29 | 0,37 | 0,48 | 0,46 | 0,44 | 0,42 | 0,68 | 1,00 | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|--|
| D15 | 0,43 | 0,45 | 0,50 | 0,41 | 0,44 | 0,26 | 0,40 | 0,45 | 0,44 | 0,42 | 0,35 | 0,61 | 0,69 | 1,00 | | | | | | | | | | | | |
| D26 | 0,35 | 0,37 | 0,42 | 0,32 | 0,41 | 0,29 | 0,37 | 0,42 | 0,41 | 0,38 | 0,36 | 0,54 | 0,71 | 0,63 | 1,00 | | | | | | | | | | | |
| D10 | 0,37 | 0,39 | 0,44 | 0,34 | 0,43 | 0,36 | 0,43 | 0,50 | 0,48 | 0,46 | 0,38 | 0,63 | 0,65 | 0,64 | 0,90 | 1,00 | | | | | | | | | | |
| D14 | 0,14 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 0,19 | 0,20 | 0,24 | 0,26 | 0,26 | 0,20 | 0,21 | 0,19 | 0,27 | 0,25 | 0,27 | 0,29 | 1,00 | | | | | | | | | |
| D17 | 0,16 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,22 | 0,19 | 0,20 | 0,23 | 0,22 | 0,16 | 0,17 | 0,19 | 0,16 | 0,22 | 0,12 | 0,18 | 0,54 | 1,00 | | | | | | | | |
| D12 | 0,20 | 0,15 | 0,19 | 0,19 | 0,26 | 0,19 | 0,24 | 0,27 | 0,26 | 0,19 | 0,21 | 0,23 | 0,19 | 0,25 | 0,16 | 0,22 | 0,54 | 0,90 | 1,00 | | | | | | | |
| TV | 0,20 | 0,19 | 0,15 | 0,19 | 0,18 | 0,23 | 0,20 | 0,27 | 0,26 | 0,19 | 0,21 | 0,19 | 0,16 | 0,15 | 0,09 | 0,15 | 0,54 | 0,73 | 0,73 | 1,00 | | | | | | |
| D20 | 0,14 | 0,10 | 0,10 | 0,19 | 0,10 | 0,19 | 0,26 | 0,22 | 0,25 | 0,16 | 0,21 | 0,13 | 0,13 | 0,19 | 0,10 | 0,13 | 0,48 | 0,38 | 0,42 | 0,47 | 1,00 | | | | | |
| D25 | 0,19 | 0,14 | 0,18 | 0,18 | 0,14 | 0,15 | 0,26 | 0,21 | 0,21 | 0,15 | 0,16 | 0,18 | 0,15 | 0,24 | 0,11 | 0,17 | 0,41 | 0,54 | 0,54 | 0,48 | 0,59 | 1,00 | | | | |
| D32 | 0,21 | 0,16 | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,20 | 0,24 | 0,23 | 0,23 | 0,16 | 0,21 | 0,23 | 0,29 | 0,29 | 0,24 | 0,31 | 0,50 | 0,48 | 0,54 | 0,48 | 0,39 | 0,63 | 1,00 | | | |
| D35 | 0,21 | 0,16 | 0,20 | 0,20 | 0,19 | 0,21 | 0,25 | 0,24 | 0,23 | 0,17 | 0,18 | 0,20 | 0,17 | 0,23 | 0,13 | 0,19 | 0,46 | 0,71 | 0,80 | 0,64 | 0,45 | 0,58 | 0,67 | 1,00 | | |

Kết quả cho thấy: hệ số tương đồng di truyền của 24 mẫu chè dao động từ 0,09 đến 0,9. Hai cặp mẫu (dòng 20 - dòng 26) và (dòng 25 - dòng 26) có sự sai khác di truyền lớn nhất (Hệ số tương đồng lần lượt là 0,1 và 0,11). Điều này chứng tỏ mẫu dòng 26 (thuộc giống chè Ba Vi) có sự khác biệt lớn nhất với các mẫu thuộc giống chè Bát Tiên (D25) và Cù Dẻ Phùng (D20). Một số cặp và nhóm mẫu có kiểu gen tương tự nhau (hệ số tương đồng xấp xỉ 1) như: các cặp mẫu TRI777 - Trung Du và dòng 26 - dòng 10.

Nhóm II gồm các giống Bát Tiên, Cù Dẻ Phùng, Ba Vi, PH9 và PH8. Ở mức tương đồng 72% thì nhóm này chia thành 3 phân nhóm nhỏ. Phân nhóm nhỏ thứ nhất chỉ có giống Bát Tiên, phân nhóm nhỏ thứ hai gồm có giống Ba Vi và Cù Dẻ Phùng với hệ số tương đồng là 0,86, phân nhóm nhỏ thứ 3 có giống PH9.

Nhóm III gồm các giống Tứ Quý Xuân, dòng 13, dòng 15, dòng 26, dòng 10. Trong nhóm này thì dòng 10 và dòng 26 có mức độ tương đồng cao với hệ số tương đồng là 0,9. Dòng 26 và Tứ Quý Xuân có mức độ sai khác lớn nhất với hệ số tương đồng là 0,54. Ở mức độ tương đồng là 0,63 được chia thành 3 phân nhóm. Phân nhóm thứ nhất gồm có giống Tứ Quý Xuân, phân nhóm thứ hai gồm có dòng 13 và 15 với hệ số tương đồng là 0,69 và phân nhóm thứ ba gồm dòng 10 và dòng 26 với mức độ tương đồng di truyền cao nhất là 0,9.



Hình 4: Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các giống chè

Ở mức tương đồng 0,55 thì 24 mẫu chè được chia thành 7 nhóm.

Nhóm I bao gồm các giống PH1, Kim Tuyên, TRI777, Trung Du, Hồ Nam 2 và Saemidori. Trong đó cặp Tri777 - Trung Du và PH1 - Kim Tuyên có mức tương đồng cao với hệ số tương đồng lần lượt là 0,9 và 0,8. Như vậy trong nhóm này được chia làm hai phân nhóm phụ; phân nhóm phụ thứ nhất gồm có 2 giống là PH1 và Kim Tuyên với mức độ tương đồng di truyền là 0,8; phân nhóm phụ 2 chia thành hai nhóm nhỏ, nhóm nhỏ thứ nhất gồm giống Tri777 và Trung Du có hệ số tương đồng khá cao là 0,9 và nhóm thứ hai chỉ có giống Saemidori có hệ số tương đồng với Tri777 và Trung Du là 0,61.

Nhóm IV chỉ có duy nhất dòng 14.

Nhóm V gồm các dòng 17, dòng 12, dòng 35 và Tham Vè. Trong 4 giống này thì dòng 17 và dòng 12 có mức độ tương đồng cao nhất với hệ số tương đồng là 0,9. Ở mức tương đồng là 0,72 thì nhóm này được chia thành hai phân nhóm nhỏ. Phân nhóm thứ nhất gồm 3 dòng: dòng 17, dòng 12 và dòng 35, trong đó dòng 35 khác biệt với dòng 17 và dòng 12 là 20%; còn phân nhóm nhỏ 2 chỉ có giống Tham Vè với hệ số tương đồng của giống này so với ba giống ở phân nhóm nhỏ 1 là 0,64.

Nhóm VI gồm 2 dòng là dòng 25 và dòng 32 với hệ số tương đồng là 0,63.

Nhóm VII chỉ có dòng 20.

Các kết quả trên cho thấy có sự đa dạng về di truyền giữa các giống chè Việt Nam và giữa các dòng

con lai của chúng. Giữa các dòng bố mẹ có sự khác biệt về mặt di truyền, đã tạo ra các dòng con lai cũng có sự khác biệt di truyền với nhau và khác biệt so với bố mẹ. Sự khác biệt lớn về số lượng nhiễm sắc thể (NST) ở chè cũng đã được nghiên cứu (Das, 1992) và các nghiên cứu về sự đa dạng của các giống chè của Trung Quốc, Ấn Độ, Pakistan bằng các chỉ thị phân tử như RAPD, ISSR, AFLP cũng đã được thực hiện và đã chỉ ra rằng có sự khác biệt lớn giữa các giống chè được trồng ở các vùng miền khác nhau (Sahib & cs., 2007; S. C. Roy., B. N. Chakraborty, 2009; Rajan K. M., 2009; Latip S. N. H. & cs., 2010).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

- Sử dụng 20 môi RAPD-PCR để phân tích đa dạng di truyền các dòng, giống chè cho thấy, có 7 môi xác định rõ sự đa dạng di truyền giữa các dòng, giống chè; với 7 môi này thu được tổng số 471 băng ADN.

- Với kỹ thuật RAPD đã xác định được mức dao động về tương đồng di truyền giữa các dòng, giống chè từ 0,09 - 0,9. Như vậy có sự khác biệt di truyền giữa các giống chè bố mẹ và các dòng con lai.

- Trên cơ sở sự khác nhau về khoảng cách di truyền, có thể đánh giá được sự tương đồng của các dòng, giống chè; đồng thời lựa chọn các cặp bố mẹ trong chọn giống chè lai cho khả năng ưu thế lai cao.

2. Đề nghị

Tiếp tục khảo sát thêm sự đa dạng các dòng con lai và bố mẹ nhờ các chỉ thị phân tử như sao chép chuỗi đơn (Simple Sequence Repeat - SSR), giới hạn chiều dài các khúc có hiện tượng nhiều dạng

(Restriction Fragment Length Polymerphics analysis RFLP).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Nghiên cứu Chè. *Tuyển tập các công trình nghiên cứu về chè (1988 - 1997)*. Nxb Nông nghiệp, 1998.

2. Phòng Công nghệ Tế bào Thực vật - Viện Công nghệ Sinh học (2002). Đánh giá tính đa hình một số giống chè bằng kỹ thuật RAPD. Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài.

3. Latip S. N. H., Muhamad R., Manjeri G., Tan S. G. Genetic variation of selected *Camellia sinensis* (Cultivated Tea) varieties in Malaysia based on Random Amplified Microsatellite (RAMs) Markers. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 33 (2): 259 - 267 (2010).

4. Wachira F. N., Waugh R., Hackett C, A., Powell W. Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers. *1995 Genome.* 38(2):201-10.

5. Gul S., Ahmad H., Khan I. A., Alam M. Assessment of genetic diversity in tea genotypes through RAPD primers. *Pak. J. Biol. Sci.* 2007 Aug. 1;10 (15): 2609-11.

6. L. Chen, Yamaguchi. RAPD markers for discriminating tea germplasms at the inter-specific level in China. 2005. *Plant Breeding, Volume 124, Issue 4, pages 404-409.*

7. C. S. Roy., B. N. Chakraborty. Genetic diversity and relationships among tea (*Camellia sinensis*) cultivars as revealed by RAPD and ISSR base fingerprinting. *Indian Journal of Biotechnology Vol 8 October 2009, pp 370 - 376.*

USING RAPD TECHNOLOGY FOR IDENTIFICATION POLYMORPHISM IN TEA VARIETIES

Nguyen Van Toan, Nguyen Thi Minh Phuong,
Le Huy Ham, Dang Trong Luong

Summary

Tea is an important industrial crop which occupies high area in comparison with other industrial crops in Vietnam. The fact that nowadays, tea varieties were mechanical contaminated during breeding or the origins from varieties have not been clearly clarified. The RAPDs technology has been used for identification of genetic polymorphism of 24 tea varieties with 20 primers. The result showed that 7 primers gave clearly distinct polymorphism. 7 main groups with genetic correlation coefficient are about 0.09 - 0.9 was divided from 24 tea varieties.

Key words: *Tea, polymorphism, random amplified polymorphic DNA, genetic diversity.*

Người phản biện: GS.TSKH. Trần Duy Quý.