

ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐA HÌNH DI TRUYỀN CÂY CHÈ SHAN CỔ THỤ VÙNG MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM

Nguyễn Thị Hồng Lam¹, Nguyễn Văn Toàn¹

TÓM TẮT

Chè Shan (*Camellia sinensis* var. *Shan*) là một biến chủng chè đang được phổ biến ở miền núi phía Bắc Việt Nam, trong đó chè Shan được trồng bằng hạt dưới tán cây rừng có tuổi hàng trăm năm (còn gọi là chè cổ thụ) là nguồn gen cây trồng bản địa quý ở nước ta. Để bảo tồn, khai thác và phát triển có hiệu quả chè Shan cổ thụ phục vụ sản xuất chè, trước hết cho công tác chọn tạo giống chè mới thì ngoài đánh giá các đặc điểm hình thái của các giống cần sử dụng thêm kỹ thuật phân tích đa hình ADN để đánh giá sự đa dạng về di truyền các dòng chè Shan cổ thụ. Với 20 mẫu ngẫu nhiên đã sử dụng trong phân tích RADP-PCR cho 39 mẫu chè Shan cổ thụ Việt Nam đã thu được 16 mối cho ứng đa hình rõ rệt nhất; kết quả phân tích cho thấy hệ số tương đồng di truyền của các mẫu giống là khá cao, dao động từ 0,61- 0,94 và chia ra thành 9 nhóm chính. Kết quả còn chỉ ra rằng các mẫu giống có xuất xứ địa lý càng xa nhau thì ở nhóm khác nhau và ngược lại.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, đặc điểm hình thái, chè Shan cổ thụ (*Camellia sinensis* var. *Shan*), miền núi phía Bắc Việt Nam

LỜI DẪN ĐỀ

Chè Shan (*Camellia sinensis* var. *Shan*) là một biến chủng chè đang phổ biến tại vùng miền núi phía Bắc Việt Nam. Ở vùng cao phía Bắc nước ta, cây chè Shan cổ thụ được trồng bằng hạt rất đa dạng hình thái, có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt, chất lượng cao, đem lại nguồn thu nhập quan trọng, góp phần xóa đói giảm nghèo và dẫn tiến tới làm giàu cho đồng bào các dân tộc.

Trong điều kiện tự nhiên, cây chè có đặc điểm thụ phấn chéo (chiếm tới 95%), do đó cây con có đặc điểm phân ly mạnh và cho kiểu hình đa dạng và khác cây mẹ. Điều này có ý nghĩa rất lớn, tạo ra quần thể đời sau có tính đa dạng di truyền cao, nguồn vật liệu khởi đầu phong phú phục vụ cho công tác chọn tạo giống chè mới.

Trong công tác chọn tạo giống hiện nay, phương pháp chỉ thị phân tử đang được sử dụng rộng rãi nhằm nhanh chóng phân lập ra các nhóm vật liệu giống có đặc tính di truyền khác nhau, phục vụ cho lai hữu tính và chọn lọc cá thể, rút ngắn được thời gian chọn tạo giống mới, đặc biệt đối với cây chè vốn là cây lâu năm thì ý nghĩa này càng lớn.

Để bảo tồn và khai thác nguồn gen cây chè Shan bản địa có hiệu quả, ngoài đánh giá các đặc điểm hình thái của các giống chè, đề tài còn tiến hành nghiên cứu “*Tính đa hình di truyền cây chè Shan cổ thụ vùng miền núi phía Bắc Việt Nam*”

Các mẫu giống chè Shan cổ thụ ở vùng cao miền núi phía Bắc được thu thập để đánh giá đặc điểm hình thái và tính đa hình có danh sách ở bảng 1.

Bảng 1. Danh sách các mẫu chè và vùng thu thập mẫu sử dụng trong nghiên cứu

| STT | Tên mẫu | Địa điểm thu thập | STT | Tên mẫu | Địa điểm thu thập | STT | Tên mẫu | Địa điểm thu thập |
|-----|---------|-------------------|-----|---------|-------------------|-----|---------|-------------------|
| 1 | PK4 | Pang Káng | 14 | HG4 | Hà Giang | 27 | LS1 | Lạng Sơn |
| 2 | PK6 | Pang Káng | 15 | TU32 | Thần Uyên | 28 | LS32 | Lạng Sơn |
| 3 | PK7 | Pang Káng | 16 | TU17 | Thần Uyên | 29 | TĐ4 | Tam Đường |
| 4 | PK8 | Pang Káng | 17 | TU16 | Thần Uyên | 30 | TĐ5 | Tam Đường |
| 5 | PK9 | Pang Káng | 18 | BM1 | Bản Mới | 31 | MC2 | Mộc Châu |
| 6 | PK10 | Pang Káng | 19 | BM2 | Bản Mới | 32 | PK22 | Pang Káng |
| 7 | PK12 | Pang Káng | 20 | BM3 | Bản Mới | 33 | TC4 | Tủa Chùa |
| 8 | PK15 | Pang Káng | 21 | BM4 | Bản Mới | 34 | GB1 | Giảng B |
| 9 | PK20 | Pang Káng | 22 | BM8 | Bản Mới | 35 | GB4 | Giảng B |
| 10 | PK21 | Pang Káng | 23 | BM14 | Bản Mới | 36 | GB6 | Giảng B |
| 11 | YB1 | Yên Bái | 24 | BM16 | Bản Mới | 37 | GB10 | Giảng B |
| 12 | YB5 | Yên Bái | 25 | GA11 | Giảng A | 38 | GB11 | Giảng B |
| 13 | HG3 | Hà Giang | 26 | GB13 | Giảng A | 39 | GB12 | Giảng B |

¹ Viện Khoa học KTNLN miền núi phía Bắc

+ Vùng chè Shan Suối Giàng: 28 mẫu (PK4, PK6, K7, PK8, PK9, PK10, PK12, PK15, PK20, PK21, B1, YB5, BM1, MB2, BM3, BM4, BM8, BM14, M16, GA11, GB13, PK22, GB1, GB4, GB6, GB10, B11, GB12).

+ Vùng chè Shan Hà Giang: 2 mẫu (HG3, HG4).

+ Vùng chè Shan Lai Châu: 5 mẫu (TU32, TU4, U16, TD4, TD5).

+ Vùng chè Shan Lạng Sơn: 2 mẫu (LS1, LS32).

+ Vùng chè Shan Điện Biên: 1 mẫu (TC4).

+ Vùng chè Shan Sơn La: 1 mẫu (MC2).

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đánh giá đặc điểm hình thái các mẫu giống chè Shan vùng miền núi phía Bắc theo phương pháp hào nghiệm DUS (2006) cho cây chè của Cục trồng trọt, Bộ Nông nghiệp & PTNT.

Đánh giá tính đa hình các mẫu giống chè Shan bằng kỹ thuật phân tích PCR-RAPD, trong đó:

Phương pháp tách chiết ADN dựa theo phương pháp tách chiết ADN tế bào thực vật bằng CTAB của Jipp và cộng sự (1999) có cải tiến:

Phương pháp PCR-RAPD sử dụng các mồi thuộc nhóm mồi OPA, OPC, BIO;

Các phản ứng PCR được tiến hành ở thể tích 15 μ l, bao gồm lượng mẫu ADN là 5 ng, enzym tag polymeraza 1 U, 100 μ M dNTP, 2,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris HCl, 50 mM KCl (dung dịch PCR đệm). Các phản ứng được thực hiện bằng máy PCR-Thermal Cycle Eppendorf. Kết quả PCR được kiểm tra trên gel agarosa 1,2%.

+ 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 số liệu này được xử lý theo chương trình Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis system computer program version 2.01 (NTSYS-x2.01) (F.J Rohlf., 2000) để xác định hệ số tương đồng di truyền và xây dựng cây phân loại.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái của cây chè Shan cổ thụ

Trong quá trình điều tra, đánh giá chọn lọc cây lâu dòng hay vật liệu khởi đầu thì các chỉ tiêu đánh

giá hình thái của cây chè có ý nghĩa quan trọng, nó phản ánh đặc điểm về kiểu hình của giống, khả năng sinh trưởng, năng suất, chất lượng giống. Kết quả theo dõi một số đặc điểm hình thái của các mẫu giống chè Shan cổ thụ tại các vùng chè miền núi phía Bắc được trình bày ở bảng 2.

Dẫn liệu ở bảng 2 cho thấy: các mẫu giống có diện tích lá lớn, bề mặt lá gồ ghề, màu sắc lá xanh vàng hoặc xanh đậm, mẫu giống có diện tích lá lớn đó là GB13, TC4, PK4, PK7 đạt từ 88,20- 103,50 cm² và mẫu giống có diện tích lá nhỏ là TU32 chỉ đạt 32,28 cm². Đặc điểm búp của các mẫu giống có mức độ lông tuyệt từ trung bình đến rất nhiều, màu sắc búp chè có màu xanh vàng, xanh hoặc xanh non, nhưng mẫu giống có rất nhiều tuyết, đó là: PK8, PK15, HG4, YB5, GB12. Đặc điểm hoa chè có ý nghĩa rất quan trọng trong phân loại chè, quá trình tiến hóa từ đài hoa có lông đến đài hoa không có lông; những cây chè đài hoa có lông, đó là: HG3, HG4, TD4, TD5, TC4. Độ sâu vôi nhụy phản ánh mức độ khởi thủy của cây chè từ rễ rất sâu đến nông, vùng chè Shan Suối Giàng - Yên Bái xuất hiện một số cây chè cổ thụ có độ xẻ vôi nhụy sâu, đó là: BM3, BM16, GB1, GB6, PK4 xẻ sâu từ 0,88- 1,74 cm. Đây có thể là nguồn gen chè Shan quý cần tiếp tục được bảo tồn và phát triển ở nước ta.

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

Trong công tác chọn tạo giống, nguồn vật liệu khởi đầu có ý nghĩa vô cùng quan trọng, ngoài việc đánh giá các đặc điểm hình thái của các dòng chè cần kết hợp sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử để đánh giá sự đa dạng về di truyền các dòng chè Shan cổ thụ để có cơ sở khoa học chính xác hơn. Với 20 mồi RAPD thuộc các nhóm mồi OPC, OPN, OPO được sử dụng để phân tích thu được 16 mồi cho đa dạng di truyền, 3 mồi hoặc không đa dạng hoặc không thu được các băng. Tổng số các phân đoạn ADN nhân bản ngẫu nhiên trong các mồi được trình bày ở bảng 3.

Tổng số băng ADN thu được sau khi chạy PCR RAPD với 16 mồi đa hình là 2629 băng với kích thước băng lớn nhất khoảng 3.000 bp và băng nhỏ nhất là 250 bp. Kết quả điện di sản phẩm PCR với mồi OPN6.

Bảng 2. Một số đặc điểm hình thái chủ yếu của các cây chè Shan có thụ vùng miền núi phía Bắc

| Chi tiêu | Đặc điểm lá | | | Đặc điểm búp | | Đặc điểm hoa | | |
|----------|---------------------------------|------------|----------------|-------------------|---------------|--------------|----------------------|------------------|
| | Diện tích lá (cm ²) | Phiến lá | Màu sắc lá | Mức độ lông tuyết | Màu sắc búp | Lông đài hoa | Số sâu vòi nhụy (cm) | Màu sắc cánh hoa |
| PK4 | 98,00 | Go ghe | Xanh bóng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,88 | Trắng xanh |
| PK6 | 79,62 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,48 | Trắng xanh |
| PK7 | 88,20 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,76 | Trắng xanh |
| PK8 | 75,60 | Go ghe | Xanh vàng | Rất nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,66 | Trắng ngà |
| PK9 | 81,90 | Go ghe | Xanh vàng bóng | Nhiều | Xanh sáng | Không có | 0,58 | Trắng |
| PK10 | 78,54 | Nhan | Xanh bóng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,45 | Trắng xanh |
| PK12 | 71,61 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh sáng | Không có | 0,28 | Trắng ngà |
| PK15 | 90,65 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Rất nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,19 | Trắng |
| PK20 | 59,88 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh | Không có | 0,28 | Trắng đục |
| PK21 | 60,90 | Hơi gó ghè | Xanh vàng bóng | Nhiều | Xanh | Không có | 0,28 | Trắng xanh |
| YB1 | 56,07 | Hơi gó ghè | Xanh bóng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,37 | Trắng xanh |
| YB5 | 60,31 | Rất gó ghè | Xanh sáng | Rất nhiều | Xanh | Không có | 0,52 | Trắng xanh |
| HG3 | 49,70 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Có lông | 0,50 | Trắng ngà |
| HG4 | 61,42 | Go ghe | Xanh vàng | Rất nhiều | Xanh phớt tím | Có lông | 0,56 | Trắng |
| TU32 | 32,28 | Go ghe | Xanh vàng bóng | Có ít Tuyết | Xanh non | Không có | 0,35 | Trắng xanh |
| TU4 | 55,75 | Lõi lôm | Xanh bóng | Nhiều | Xanh | Không có | 0,47 | Trắng ngà |
| TU16 | 70,03 | Rất gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,45 | Trắng |
| BM11 | 86,97 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,73 | Trắng đục |
| BM12 | 78,40 | Lõi lôm | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,40 | Trắng xanh |
| BM13 | 55,51 | Hơi gó ghè | Xanh vàng bóng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 1,74 | Trắng xanh |
| BM14 | 62,83 | Go ghe | Xanh bóng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,52 | Trắng xanh |
| BM8 | 65,50 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,38 | Trắng ngà |
| BM14 | 44,10 | Go ghe | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,38 | Trắng |
| BM16 | 69,30 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 1,47 | Trắng xanh |
| GA11 | 74,86 | Hơi gó ghè | Xanh bóng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,20 | Trắng ngà |
| GB13 | 103,50 | Go ghe | Xanh bóng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,53 | Trắng |
| LS1 | 48,72 | Gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,30 | Trắng đục |
| LS32 | 67,20 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Có tuyết | Xanh vàng | Không có | 0,45 | Trắng xanh |
| TD4 | 54,88 | Go ghe | Xanh vàng | Có tuyết | Xanh | Có lông | 0,40 | Trắng xanh |
| TD5 | 60,81 | Go ghe | Xanh vàng bóng | Có tuyết | Xanh vàng | Có lông | 0,35 | Trắng xanh |
| MC2 | 71,88 | Go ghe | Xanh bóng | Nhiều | Xanh | Không có | 0,42 | Trắng ngà |
| PK22 | 41,16 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,78 | Trắng |
| TC4 | 98,00 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh | Có lông | 0,50 | Trắng xanh |
| GB1 | 79,62 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 1,12 | Trắng ngà |
| GB4 | 88,20 | Go ghe | Xanh vàng bóng | Nhiều | Xanh non | Không có | 0,33 | Trắng xanh |
| GB6 | 75,60 | Go ghe | Xanh đậm | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,93 | Trắng xanh |
| GB10 | 81,90 | Hơi gó ghè | Xanh vàng | Nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,52 | Trắng xanh |
| GB11 | 78,54 | Gó ghè | Xanh | Rất nhiều | Xanh vàng | Không có | 0,44 | Trắng ngà |
| GB12 | 71,61 | Gó ghè | Xanh đậm | Nhiều | Xanh sáng | Không có | 0,35 | Trắng |



Hình 1. Kết quả PCR- RADP mới OPN6



Hình 2. Kết quả PCR- RADP mới OPN18

Bảng 3. Tổng số các băng DNA được nhân bản ngẫu nhiên ở các mẫu

| TT lồng | Mẫu | OPN 7 | OPN 11 | OPN 12 | OPN 16 | OPN 18 | OPN 19 | OPN 20 | OPN 6 | OPO 7 | OPO 8 | OPO 12 | OPO 5 | OPO 9 | OPO 11 | OPO 13 | Tổng | |
|------------|------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|------|------|
| 1 | PK4 | 4 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 44 |
| 2 | PK6 | 3 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 43 |
| 3 | PK7 | 5 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 | 4 | 0 | 1 | 4 | 2 | 44 |
| 4 | PK8 | 4 | 2 | 4 | 4 | 3 | 5 | 2 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 41 |
| 5 | PK9 | 4 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 4 | 3 | 1 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 48 |
| 6 | PK10 | 4 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 1 | 6 | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 48 |
| 7 | PK12 | 5 | 2 | 4 | 4 | 6 | 4 | 2 | 1 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | 2 | 52 |
| 8 | PK15 | 6 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 2 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 3 | 2 | 46 |
| 9 | PK20 | 5 | 1 | 3 | 4 | 4 | 5 | 1 | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 41 |
| 10 | PK21 | 4 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 1 | 2 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | 46 |
| 11 | YB1 | 3 | 2 | 3 | 4 | 4 | 7 | 1 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 43 |
| 12 | YB5 | 3 | 2 | 5 | 4 | 5 | 4 | 1 | 1 | 4 | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 46 |
| 13 | HG3 | 3 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 52 |
| 14 | HG4 | 3 | 2 | 5 | 4 | 5 | 5 | 1 | 4 | 3 | 4 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 52 |
| 15 | TU32 | 4 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 1 | 3 | 3 | 50 |
| 16 | TU4 | 3 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 1 | 2 | 4 | 3 | 2 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 46 |
| 17 | TU16 | 5 | 2 | 5 | 5 | 6 | 6 | 3 | 3 | 6 | 5 | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 63 |
| 18 | BM1 | 5 | 2 | 3 | 5 | 6 | 5 | 2 | 4 | 6 | 5 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 58 |
| 19 | BM2 | 4 | 2 | 3 | 5 | 6 | 5 | 1 | 1 | 5 | 3 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 51 |
| 20 | BM3 | 3 | 2 | 4 | 5 | 5 | 5 | 0 | 1 | 4 | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 44 |
| 21 | BM4 | 3 | 2 | 5 | 5 | 2 | 5 | 2 | 2 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 2 | 2 | 2 | 51 |
| 22 | BM8 | 3 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 2 | 2 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 | 50 |
| 23 | BM14 | 3 | 1 | 3 | 4 | 6 | 4 | 1 | 2 | 4 | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | 3 | 1 | 44 |
| 24 | BM16 | 4 | 2 | 4 | 4 | 6 | 5 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 53 |
| 25 | GA11 | 4 | 2 | 3 | 5 | 6 | 5 | 1 | 2 | 5 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 1 | 50 |
| 26 | GB13 | 3 | 2 | 4 | 4 | 6 | 4 | 2 | 1 | 5 | 3 | 3 | 3 | 5 | 2 | 3 | 2 | 52 |
| 27 | LS1 | 3 | 2 | 3 | 4 | 6 | 4 | 1 | 2 | 5 | 4 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 48 |
| 28 | LS32 | 3 | 2 | 3 | 4 | 6 | 5 | 1 | 2 | 4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 2 | 1 | 1 | 47 |
| 29 | TD4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 6 | 5 | 1 | 1 | 4 | 5 | 2 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 51 |
| 30 | TD5 | 4 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 4 | 5 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 | 51 |
| 31 | MC2 | 4 | 2 | 3 | 4 | 5 | 4 | 1 | 2 | 4 | 3 | 2 | 4 | 4 | 2 | 2 | 2 | 48 |
| 31 | PK22 | 4 | 2 | 3 | 2 | 5 | 4 | 1 | 2 | 5 | 3 | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 44 |
| 33 | TC4 | 3 | 2 | 3 | 4 | 5 | 5 | 1 | 1 | 6 | 4 | 1 | 3 | 4 | 1 | 2 | 2 | 47 |
| 34 | GB1 | 3 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 1 | 1 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 43 |
| 35 | GB4 | 3 | 2 | 5 | 4 | 4 | 3 | 2 | 1 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 44 |
| 36 | GB6 | 3 | 2 | 3 | 4 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 4 | 1 | 3 | 4 | 1 | 2 | 2 | 42 |
| 37 | GB10 | 3 | 2 | 3 | 4 | 6 | 3 | 1 | 1 | 5 | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | 41 |
| 38 | GB11 | 3 | 2 | 3 | 2 | 6 | 4 | 2 | 1 | 4 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 39 |
| 39 | GB12 | 3 | 2 | 3 | 4 | 6 | 5 | 2 | 1 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 46 |
| | Tổng | 143 | 76 | 141 | 162 | 197 | 182 | 56 | 846 | 165 | 127 | 67 | 119 | 122 | 59 | 97 | 70 | 2629 |

Từ số liệu thu được và phân tích bằng chương trình NTSYS 2.10 hệ số tương đồng di truyền của các mẫu giống chè Shan được trình bày ở bảng 4 cho thấy: sự tương đồng di truyền các mẫu giống chè Shan là khá cao, mức độ tương đồng di truyền dao động trong khoảng 0,61- 0,94, trong đó 02 mẫu có hệ số tương đồng cao nhất là mẫu giống PK4 và PK6 được thu thập ở cùng bản, chúng gần gũi nhau nhất về vị trí địa lý, cặp mẫu có hệ số tương đồng thấp nhất là PK6 và BM4 và cặp mẫu TU17 và BM1, trong

đó cặp mẫu TU17 và BM1 có xuất xứ địa lý rất xa nhau.

Sơ đồ cây phân loại di truyền ở hình 1 cho thấy 39 mẫu giống chè Shan có thụ ở các vùng khác nhau có mức độ tương đồng 0,77 có thể được chia thành 9 nhóm chính.

Nhóm thứ nhất bao gồm các mẫu 1, 2, 11, 5, 6, 12, 20, 10 có tên là: PK4, PK6, PK12, PK9, PK10, YB5, BM3, PK21; đó là các mẫu giống chè Shan có thụ được thu thập ở hai bản Pang Káng và Bản Mới thuộc

xã Suối Giàng - Yên Bái. Nhóm này có mức độ tương đồng 0,80, nhóm này được chia thành ba nhóm phụ: nhóm phụ thứ nhất gồm 3 mẫu số 1, 2 và 11; nhóm phụ thứ hai gồm có 4 mẫu là 5, 6, 12, 20 và nhóm phụ còn lại chỉ có duy nhất một mẫu giống số 10.

Nhóm thứ hai: bao gồm các mẫu số 16 (TU4), 33 (TC4), 34 (GB1), 39 (GB12), 37 (GB10), 35 (GB4), 38 (GB11), trong đó có mẫu giống TU4 ở vùng Lai Châu và mẫu giống TC4 ở vùng Tủa Chùa - Điện Biên; các mẫu giống còn lại được thu thập ở thôn Giàng B - Suối Giàng - Yên Bái. Nhóm này có mức độ tương đồng 0,81 được chia thành ba nhóm phụ: nhóm phụ thứ nhất bao gồm các mẫu giống số 16, 33, 34, 37, 39; nhóm phụ thứ hai có duy nhất một mẫu giống số 35 và nhóm phụ thứ 3 chỉ có một mẫu giống số 38.

Ở mức tương đồng lớn hơn 0,77 nhóm thứ ba bao gồm hai mẫu giống là 13 (HG3) và mẫu giống 14 (HG4) được thu thập tại vùng chè Thượng Sơn - Hà Giang.

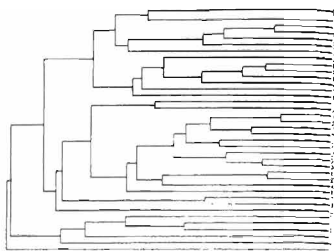
Nhóm thứ tư: là nhóm lớn nhất, bao gồm các mẫu giống chè Shan cổ thụ được thu thập ở vùng chè Suối Giàng 8 mẫu, vùng chè Lang Sơn 2 mẫu, vùng chè Lai Châu 2 mẫu và vùng chè Mộc Châu 1 mẫu và thứ tự sắp xếp như sau: số 19 (MB2), 29 (TĐ4), 25 (GA11), 28 (LS32), 23 (MB14), 27 (LS1), 22 (MB8), 24 (MB16), 26 (GB13), 31 (MC2), 32 (PK22), 36 (GB6), 30 (TĐ5). Nhóm này có mức độ tương đồng là 0,82 và được chia thành nhiều nhóm phụ.

Nhóm phụ thứ nhất bao gồm các mẫu số 19, 29, 25, 28, 23, 27, 22, 24, 26. Trong nhóm phụ này các mẫu giống được chia thành nhiều các phân nhóm phụ khác nhau tùy thuộc vào mức độ tương đồng di truyền. Ở mức độ tương đồng khá lớn là 0,85, nhóm phụ này được chia thành 4 phân nhóm phụ: phân nhóm phụ thứ nhất gồm có bốn mẫu giống là 19, 29, 25 và 28; phân nhóm phụ thứ hai gồm hai mẫu giống là BM14 và LS1; phân nhóm phụ thứ ba gồm ba mẫu giống là BM8, MB16, GB13.

Nhóm phụ thứ hai của nhóm thứ tư bao gồm hai mẫu giống MC2 và PK22. Nhóm phụ thứ ba chỉ có một mẫu giống GB6 và phân nhóm phụ thứ 4 có duy nhất một mẫu giống TĐ5.

Nhóm thứ năm: bao gồm hai mẫu giống số 17 và 18, đó là TU16, BM1.

Nhóm thứ sáu: chỉ có duy nhất mẫu giống số 21, ký hiệu là BM4.



Hình 1. Sơ đồ cây về mối quan hệ di truyền của chè Shan cổ thụ vùng miền núi phía Bắc Việt Nam

Nhóm thứ bảy: có bốn mẫu số 3, 4, 8 và 7, đó là PK7, PK8, PK15, PK17; đây là những mẫu giống chè Shan cổ thụ tại thôn Pàng Káng của xã Suối Giàng - Yên Bái. Nhóm này có mức độ tương đồng lớn hơn 0,83 và có thể chia thành hai nhóm phụ: nhóm phụ thứ nhất chỉ có mẫu giống số 3; nhóm phụ thứ hai bao gồm hai mẫu giống số 4 và số 8.

Nhóm thứ tám: chỉ có duy nhất một mẫu giống số 9 (PK20).

Nhóm thứ chín: Duy nhất chỉ có mẫu giống số 15 (TU32).

Từ kết quả trên cho thấy việc ứng dụng công nghệ phân tích RAPD đã đánh giá sâu hơn sự khác biệt về mặt di truyền ở mức độ phân tử giữa các mẫu giống chè, điều mà chúng ta đã rất khó đánh giá nếu chỉ thông qua các chỉ tiêu hình thái của các mẫu giống. Kết quả này giúp cho nhà chọn giống định hướng khi thu thập các mẫu giống chè có vị trí địa lý gần nhau chỉ cần lấy mẫu đại diện cho vùng để phân tích ADN chứ không cần phải nhiều mẫu; cụ thể như đối với nhóm thứ nhất và nhóm thứ 7 các mẫu giống chè Shan cổ thụ có mức độ tương đồng rất cao. Ở các vùng chè khác nhau thì các mẫu giống xuất hiện ở các nhóm khác nhau như: mẫu giống chè Shan cổ thụ tại Tủa Chùa - Điện Biên (TC4) ở nhóm 2; mẫu giống chè ở Hà Giang (HG3, HG4) ở nhóm thứ 3; nhóm thứ tư bao gồm rất nhiều mẫu giống chè Shan cổ thụ của các vùng chè Shan của Việt Nam như Lang Sơn (LS1, LS32), Tam Đường - Lai Châu (TĐ4, TĐ5); có mẫu giống chè TU32 tại Than Uyên - Lai Châu thuộc nhóm thứ 9.

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền của các mẫu chè Shan

| | PK4 | PK6 | PK7 | PK8 | PK9 | PK10 | PK12 | PK15 | PK20 | YB1 | YB5 | HG3 | HG4 | TU32 | TU4 | TU16 | BM1 | BM2 | BM3 | BM4 | BM8 | BM14 | BM16 | GA11 | GB11 | GB151 | LS32 | TD4 | TD5 | MC2 | PK22 | TC4 | GB1 | GB4 | GB6 | GB10 | GB11 | GB12 | | |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|------|------|------|-------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|--|--|
| PK4 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK6 | 0.94 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK7 | 0.75 | 0.71 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK8 | 0.73 | 0.71 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK9 | 0.79 | 0.78 | 0.76 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK10 | 0.82 | 0.81 | 0.70 | 0.77 | 0.89 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK12 | 0.80 | 0.75 | 0.77 | 0.72 | 0.78 | 0.75 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK15 | 0.79 | 0.74 | 0.79 | 0.83 | 0.77 | 0.74 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK20 | 0.80 | 0.81 | 0.70 | 0.74 | 0.74 | 0.74 | 0.75 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PK21 | 0.76 | 0.74 | 0.65 | 0.71 | 0.80 | 0.83 | 0.77 | 0.70 | 0.74 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| YB1 | 0.80 | 0.81 | 0.65 | 0.71 | 0.75 | 0.84 | 0.70 | 0.68 | 0.75 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| YB5 | 0.82 | 0.80 | 0.70 | 0.77 | 0.86 | 0.86 | 0.83 | 0.76 | 0.74 | 0.79 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| HG3 | 0.71 | 0.73 | 0.59 | 0.62 | 0.75 | 0.75 | 0.68 | 0.64 | 0.67 | 0.72 | 0.67 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| HG4 | 0.74 | 0.73 | 0.66 | 0.67 | 0.72 | 0.70 | 0.76 | 0.72 | 0.72 | 0.75 | 0.65 | 0.77 | 0.81 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TU32 | 0.71 | 0.69 | 0.68 | 0.66 | 0.72 | 0.69 | 0.75 | 0.74 | 0.66 | 0.66 | 0.64 | 0.71 | 0.73 | 0.75 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TU4 | 0.76 | 0.74 | 0.67 | 0.74 | 0.71 | 0.77 | 0.77 | 0.76 | 0.74 | 0.76 | 0.77 | 0.76 | 0.75 | 0.77 | 0.74 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TU16 | 0.68 | 0.64 | 0.63 | 0.63 | 0.71 | 0.68 | 0.74 | 0.73 | 0.63 | 0.70 | 0.62 | 0.70 | 0.74 | 0.79 | 0.74 | 0.66 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BM1 | 0.68 | 0.66 | 0.63 | 0.61 | 0.71 | 0.69 | 0.74 | 0.71 | 0.66 | 0.68 | 0.61 | 0.71 | 0.74 | 0.74 | 0.69 | 0.61 | 0.85 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền của tác giả Nguyễn Hữu La và CS (năm 2004) cho thấy sự tương đồng di truyền khá cao của các giống chè trong cùng một biến chủng. Các nghiên cứu về sự đa dạng của các giống chè của Trung Quốc, Ấn Độ, Pakistan, Việt Nam bằng các chỉ thị phân tử như RAPD, ISSR, AFLP cũng đã chỉ ra rằng có sự khác biệt lớn giữa các giống chè được trồng ở các vùng khác nhau (Sahib & cs, 2007; S. C. Roy., B. N. Chakraborty, 2009; Rajan K. M., 2009; Latip S. N. H. & cs., 2010; Nguyễn Văn Toàn và cs, 2011).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

20 mỗi RAPD thuộc các nhóm mỗi OPC, OPN, OPO đã được sử dụng để phân tích và thu được 16 nổi cho đa dạng di truyền, 3 mỗi hoặc không đa dạng hoặc không thu được các băng. Tổng số băng ADN thu được với 16 mỗi đa hình là 2629 băng với kích thước băng lớn nhất khoảng 3.000 bp và băng nhỏ nhất là 250 bp.

Đánh giá ban đầu cho thấy sự tương đồng di truyền của 39 mẫu giống chè Shan ở một số vùng chè phía Bắc khá cao, mức độ tương đồng di truyền dao động trong khoảng 0,61- 0,94, trong đó, 2 mẫu có hệ số tương đồng di truyền cao nhất là PK4 và PK6; tập mẫu có hệ số tương đồng di truyền thấp nhất là PK6 và BM4 và cặp mẫu TU17 và BM1.

Hệ số tương đồng di truyền khá cao ở các mẫu giống chè Shan có xuất xứ gần nhau về địa lý, ngược lại hệ số tương đồng di truyền giảm đi ở các mẫu giống chè Shan có xuất xứ xa nhau về địa lý.

2. Đề nghị

Trên cơ sở khác nhau về khoảng cách di truyền, đề nghị ứng dụng trong bảo tồn nguồn gen chè

Shan quý và định hướng cấp bố mẹ trong lai tạo hữu tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu La và CS (2004). Bước đầu đánh giá đặc điểm đa hình của một số giống chè shan tại Phú Hộ. Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn, số 10/2004.
2. Nguyễn Văn Toàn và cs (2011). Đánh giá tình đa hình di truyền của một số giống chè bằng kỹ thuật RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA). Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.
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 2005, RAPD markers for discriminating tea germplasms at the inter-specific level in China. *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.

ANALYSIS OF GENETICS DIVERSITY OF SHAN TEA VARIETIES IN THE NORTHERN MOUNTAINOUS REGION OF VIETNAM

Nguyen Thi Hong Lam, Nguyen Van Toan

Summary

Shan tea is popular in the Northern mountainous region of Vietnam, this tea which known to grow more than 100 years ago, thus it was called the old tea. Shan tea is valuable gene source in Vietnam. In order to preserve, exploit and expand this tea variety: specially for tea breeding, beside evaluation of morphological and agnominal traits, the application of molecular techniques is to play very important role. Therefore, in this study, RAPD markers have been used to analyze genetics diversity of 39 Shan tea samples with 20 primers. The result indicated that 16 primers showing clearly polymorphism between samples. 9 main groups were identified with highly genetic similarity, correlation coefficient is ranging 0.61 - 0.94. The result also indicated that the tea samples collected in the same region which were mainly clustered in the same correlation group.

Key Words: Genetic diversity, Shan variety (*Camellia sinensis* var. Shan), Northern mountainous Vietnam.

Người phản biện: TS. Lê Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 12/4/2012

Ngày thông qua phản biện: 13/5/2012

Ngày duyệt đăng: 18/5/2012