



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.006

KHẢO SÁT SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY LÊKIMA (*Pouteria campechiana*) Ở THÀNH PHỐ CẦN THƠ DỰA TRÊN ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ ISSR

Lê Quốc Duy¹, Trương Hoàng Quân¹, Nguyễn Lộc Hiền² và Nguyễn Minh Chơn^{1*}

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Minh Chơn (email: nmchon@ctu.edu.vn)

ABSTRACT

Lucuma (Pouteria campechiana) is a fruit plant that is rich in biologically active substances such as carotenoids. In this study, the data of 20 lucuma samples in Can Tho city were collected and evaluated based on morphological characteristics and ISSR molecular markers. 50 morphological characteristics of lucuma were analyzed. 20 lucuma samples were divided into seven groups with the similarity coefficient from 0.71 to 0.86. The Shannon index showed that 20 lucuma samples had high diversity value which the highest value peaked at 1.526. Electrophoretic analysis by 8 ISSR markers also showed the significance of polymorphism. There were 115 out of 119 bands were polymorphic with the ratio of 96.36%. Each marker amplified an average of 14.88 ± 4.29 bands, of which 14.38 ± 4.5 bands were polymorphic. The similarity coefficient was from 0.41 to 1.00 and able to cluster into 4 separate groups. Finally, the combined results of morphological characteristics and molecular markers analysis illustrated that total 20 samples were classified into 4 groups with high similarity ranging from 0.63 to 0.90. The overall result of this study showed that 20 lucuma samples have considerable diversity. These are valuable original information resource for lucuma selection and breeding as well as support for further studies about the biochemical characteristics of lucuma.

TÓM TẮT

Cây lêkima (*Pouteria campechiana*) là cây ăn trái chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học như carotenoid. Trong nghiên cứu này, dữ liệu của 20 mẫu lêkima ở thành phố Cần Thơ đã được thu thập và đánh giá dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR. Phân tích 50 đặc tính hình thái của 20 mẫu lêkima và phân thành 7 nhóm với hệ số tương đồng từ 0,71 đến 0,86. Chỉ số Shannon cho thấy 20 mẫu lêkima có độ đa dạng cao với giá trị đạt cao nhất là 1,526. Phân tích điện di bằng 8 chỉ thị ISSR cho thấy sự đa hình cao. Trong 119 băng điện di ghi nhận được có 115 băng đa hình chiếm tỉ lệ 96,36%. Mỗi môi khuếch đại trung bình $14,88 \pm 4,29$ băng, trong đó $14,38 \pm 4,5$ băng là đa hình. Hệ số tương đồng từ 0,41 đến 1,00 và được chia thành 4 nhóm lớn. Sự phối hợp kết quả phân tích đặc tính hình thái và chỉ thị phân tử đã phân chia 20 mẫu lêkima thành 4 nhóm có độ tương đồng cao từ 0,63 đến 0,90. Kết quả khẳng định cây lêkima ở thành phố Cần Thơ có sự đa dạng về mặt di truyền. Kết quả này cũng cung cấp thông tin có giá trị cho việc chọn lọc và lai tạo giống cũng như hỗ trợ các nghiên cứu về các đặc tính sinh hóa của cây lêkima.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 19/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Study on the Genetic Diversity of *Lucuma (Pouteria campechiana)* at Can Tho City Based on Morphological Characteristics and ISSR Markers

Từ khóa:

Đa dạng di truyền, ISSR, lêkima, *Pouteria campechiana*

Keywords:

Genetic diversity, ISSR, lucuma, *Pouteria campechiana*

Trích dẫn: Lê Quốc Duy, Trương Hoàng Quân, Nguyễn Lộc Hiền và Nguyễn Minh Chơn, 2019. Khảo sát sự đa dạng di truyền cây lêkima (*Pouteria campechiana*) ở thành phố Cần Thơ dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(1): 50-61.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây lêkima ($2n=28$) là cây ăn trái có nguồn gốc ở Nam Mỹ (Izquierdo và William, 1998) thuộc họ hồng xiêm (Sapotaceae). Lêkima là cây thân gỗ, có lông mịn và mũ trắng đục ở cành non. Chiều cao cây 8-15 m, đường kính thân cây khi bắt đầu cho trái 25-60 cm. Cây có tầng lá rậm, tán lá tròn và là cây thường xanh. Lá mọc thành chùm ở đầu các nhánh nhỏ, lá hình bầu dục hoặc hình elip, lá dài 12,5-25 cm. Lá mỏng hoặc hơi sần sùi, có màu xanh đậm ở mặt trên, nhợt nhạt và đôi khi có lông màu nâu ở mặt dưới. Hoa trở ra nhiều, đơn độc hoặc có 2 đến 3 hoa trên cùng một nách lá, hoa có hình ống, màu vàng lục, đài hoa có lông, có từ 5-7 thùy dài khoảng 1,25 cm (Morton và Miami, 1987). Trái lêkima có dạng dẹt, hình cầu, hình trứng hoặc hình elip, trái nhọn hoặc lõm ở đỉnh. Trái dài 7,5-10 cm. Thịt trái thường khô, vài giống có thịt trái nhão khi chín. Thịt trái có nhiều mũ trước khi chín. Trái chưa chín có màu xanh, khi chín có màu vàng hoặc đỏ sậm. Da trái mỏng, khi chín dễ nứt vỡ, khô, bở, nhiều bột với khối lượng trái từ 150-200 g. Trái lêkima có mùi thơm và có vị ngọt; có từ 1-5 hạt, thường có 2 hạt. Hạt có màu đen, nâu sẫm, bóng láng với một vệt trắng ở đầu. Cây lêkima dễ trồng, chịu nhiệt độ từ 4,4-37,8°C và ưa bóng râm (Morton, 1987 và Jordan, 1996). Cây lêkima nở hoa, cho trái quanh năm và có thể thu phần nhờ côn trùng (Janick và Paull, 2008). Nghiên cứu về cây lêkima trong nước chưa nhiều mặc dù loài cây này có những chất hữu ích thuộc nhóm carotenoid như β -carotene và lycopene có tác dụng làm giảm tác hại của ánh nắng mặt trời, kháng oxy hóa và làm giảm sự lão hóa da (Morita, 2007). Trái lêkima ở Đồng bằng sông Cửu Long đã được phân tích với hàm lượng các chất trong 100 g thịt trái là 9,88 g đường tổng số, 1,97 mg vitamin C, 1.674,05 μ g β -carotene và 2.605,94 μ g lycopene (Nguyễn Minh Chon và Lê Quốc Duy, 2014). Phân tích đa dạng về di truyền của thực vật, các phân tích chỉ thị phân tử đã được sử dụng rộng rãi trên thế giới như AFLP (amplified fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic), ISSR (inter simple sequence repeat) và SSR (simple sequence repeat), trong đó ISSR được sử dụng nhiều để đánh giá sự sai khác di truyền ở thực vật. Đối với phương pháp ISSR, việc sử dụng một lượng nhỏ DNA cũng có thể tiến hành được (Liu *et al.*, 2008). Phương pháp này có yêu cầu kỹ thuật đơn giản, nhanh và tiết kiệm chi phí. Kỹ thuật ISSR đã được sử dụng trong việc xác định đa dạng di truyền 17 giống xoài ($n=57$) ở Thái Lan (Aunyachulee *et al.*, 2016), phân tích đa dạng di truyền của 20 giống nghệ có bộ gen $2n=84$ với 10 đoạn mỗi ISSR (Renjith *et al.*, 2001 và Bùi Thị Cẩm

Hường và *ctv.*, 2016). Ở Việt Nam, cây lêkima đã được trồng từ lâu và cho thấy rất đa dạng về hình thái như dạng lá, dạng trái và chất lượng trái. Một vài giống lêkima có trái ăn rất ngon và có màu thịt trái hơi đỏ so với màu thịt trái phổ biến là màu vàng. Hiện nay, diện tích trồng cây lêkima không nhiều, giá trị dinh dưỡng cũng như giá trị kinh tế của loài cây này chưa được phát huy. Việc đánh giá và bảo tồn nguồn gen quý của loài cây này, phát huy hiệu quả về mặt dinh dưỡng và giá trị kinh tế của chúng là vấn đề cần được đặt ra. Trong nghiên cứu này, việc đánh giá sự đa dạng của lêkima trồng ở thành phố Cần Thơ đã được thực hiện dựa vào các đặc tính hình thái và chỉ thị phân tử. Kết quả nghiên cứu được sử dụng làm tiền đề cho sự đánh giá về loài cây này ở các địa phương khác, làm cơ sở khoa học cho việc lưu giữ, bảo tồn, lai tạo và chọn lọc các giống lêkima có đặc tính tốt để đưa vào sản xuất và góp phần làm cho nguồn lêkima ở Đồng bằng sông Cửu Long phong phú hơn.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện nghiên cứu

Hai mươi mẫu lêkima được thu thập ở 3 quận huyện của thành phố Cần Thơ. Các thí nghiệm được thực hiện tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Đặc tính hình thái

Các đặc tính hình thái được quan sát và mô tả trên 20 mẫu lêkima bao gồm 50 đặc tính trên thân, lá, hoa và trái được mô tả theo tiêu chuẩn của Viện Tài nguyên Di truyền Thực vật Quốc tế (IPGRI, 1999). Các mẫu lêkima được đánh giá qua 6 đặc tính trên thân gồm: đường kính thân, chiều cao cây, bề mặt thân, hình dạng đỉnh cây, mật độ nhánh và kiểu nhánh. Mười lăm đặc tính trên lá gồm gân lá, gân giữa lá nhô lên, hệ gân lá nhô lên, màu lá non, màu lá già, mật độ lá, cách sắp xếp lá, hình dạng phiến lá, đỉnh lá, cuống lá, mép rìa phiến lá, mặt trên lá, mặt dưới lá, độ rộng lá và chiều dài lá. Hoa gồm 14 đặc tính: chiều cao nụ hoa sắp nở, đường kính nụ hoa, chiều cao hoa, đường kính hoa, số cánh hoa, số nhị hoa, số đài hoa, đường kính cuống hoa, chiều dài cuống hoa, cách ra hoa, màu đài hoa, màu cánh hoa và vị trí ra hoa. Trái gồm 15 đặc tính: đường kính trái chín, trọng lượng trái chín, độ dày vỏ trái, số lượng hạt/trái, chiều dài hạt, đường kính hạt, mật độ trái, thời gian trái chín, kiểu ra trái, hình dạng trái, màu cuống trái, màu trái trưởng thành, màu thịt trái, hình dạng hạt và màu vỏ hạt. Các đặc tính này được mã hóa nhị phân và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc version 2.10m.

2.2.2 PCR

DNA của mẫu lá non lêkima được ly trích và tinh sạch theo phương pháp CTAB (Doyle, 1990). Phản ứng khuếch đại DNA được thực hiện trong thể tích 25 µL gồm: 10,5 µL nước cất 2 lần; 12,5 µL master mix PCR 2X; 1 µL đoạn mồi (10 µmol/µL); 1 µL DNA mẫu (100 ng/µL). Phản ứng PCR được thực hiện bằng chỉ thị phân tử ISSR trên máy PCR

GeneAmp PCR system 2700 như sau: (1) 5 phút ở 94°C, (2) 35 chu kỳ gồm: 30 giây ở 94°C, 30 giây ở 45°C và 40 giây ở 72°C, (3) 7 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR được trữ ở 4°C và điện di trên gel agarose 1,5%, nhuộm với dung dịch ethidium bromide và chụp hình dưới đèn UV. Các đoạn DNA khuếch đại được mã hóa nhị phân và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc version 2.10m.

Bảng 1: Danh sách 10 primer ISSR được dùng để khảo sát đặc điểm di truyền ở lêkima

| TT | Primers | Trình tự primer (5' → 3') | TT | Primers | Trình tự primer (5' → 3') |
|----|---------|---------------------------|----|---------|---------------------------|
| 1 | ISSR1 | (CA) ₆ AG | 6 | ISSR6 | (GA) ₈ T |
| 2 | ISSR2 | (AGTG) ₃ | 7 | ISSR7 | (AC) ₈ G |
| 3 | ISSR3 | (GACA) ₄ | 8 | ISSR8 | (CAC) ₃ GC |
| 4 | ISSR4 | GTC(CT) ₈ | 9 | ISSR9 | (AGC) ₄ GT |
| 5 | ISSR5 | (GA) ₈ C | 10 | ISSR10 | (TCC) ₅ |

(Taheri et al., 2012; Nguyễn Lộc Hiền và ctv., 2013; Saha et al., 2016)

2.3 Phân tích số liệu

Mỗi quan hệ di truyền của các nhóm cá thể được tính bằng phần mềm NTSYSpc 2.10m. Chỉ số Shannon được tính theo công thức bên dưới dựa trên các dạng kiểu hình (Tang, 1997).

Công thức tính:

$$H = - \sum_{i=1}^s Pi * \log(pi)$$

Trong đó: H: chỉ số đa dạng; S: tổng số dạng (kiểu hình) đánh giá trong một tính trạng nào đó; i: dạng (kiểu hình) thứ i trong tính trạng nào đó; Pi: tỉ lệ dạng (kiểu hình) thứ i.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự đa dạng của đặc tính hình thái

Kết quả ghi nhận về 50 đặc tính hình thái được trình bày ở Bảng 2, Bảng 3, Bảng 4, Bảng 5 và Bảng 6. Các đặc tính này đã được mã hóa nhị phân và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc 2.10m để đánh giá sự đa dạng các đặc điểm hình thái của cây lêkima.

Bảng 2: Chín đặc tính hình thái trên trái của 20 mẫu lêkima

| Mẫu | Mật độ (1) | Chín (2) | Kiểu ra trái (3) | Hình dạng (4) | Màu cuống trái (5) | Màu trái thành (6) | Màu thịt trái (7) | Hình dạng hạt (8) | Màu vỏ hạt (9) |
|-----|------------|---------------|------------------------|---------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| CT1 | Nhiều | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Đỏ nâu | Xanh | Cam nhạt | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT2 | Ít | Không đồng bộ | Một trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng lục | Vàng đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT3 | Trung bình | Đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trứng | Đỏ nâu | Xanh | Cam nhạt | Thon dài | Nâu đậm |
| CT4 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trứng | Xanh đỏ | Vàng lục | Cam nhạt | Thon dài | Nâu đậm |
| CT5 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Tim | Đỏ nâu | Vàng nhạt | Vàng đậm | Thon dài | Nâu đậm |
| CT6 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Thon dài | Xanh | Vàng lục | Cam đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT7 | Nhiều | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trứng | Xanh đỏ | Vàng nhạt | Cam đậm | Thon dài | Nâu đậm |
| CT8 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Đỏ nâu | Vàng lục | Vàng | Thon dài | Nâu |
| CT9 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Đỏ nâu | Vàng nhạt | Cam nhạt | Thon dài | Nâu |

| Mẫu | Mật độ (1) | Chín (2) | Kiểu ra trái (3) | Hình dạng (4) | Màu cuống trái (5) | Màu trái thành (6) | Màu thịt trái (7) | Hình dạng hạt (8) | Màu vỏ hạt (9) |
|------|------------|---------------|------------------------|----------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| CT10 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng nhạt | Cam đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT11 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trúng | Xanh đỏ | Vàng lục | Cam nhạt | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT12 | Trung bình | Không đồng bộ | Hai trái trên một cụm | Trúng | Xanh đỏ | Vàng lục | Cam nhạt | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT13 | Ít | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Đẹt/bằng phẳng | Xanh đỏ | Vàng lục | Cam đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT14 | Ít | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trúng | Xanh đỏ | Vàng lục | Cam đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT15 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Trúng | Xanh đỏ | Vàng cam | Cam đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT16 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng lục | Vàng đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT17 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng lục | Vàng đậm | Thon dài | Nâu |
| CT18 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Cam | Cam nhạt | Thon dài | Nâu đậm |
| CT19 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng nhạt | Vàng đậm | Thon dài | Nâu nhạt |
| CT20 | Trung bình | Không đồng bộ | 1-12 trái trên một cụm | Cầu/hình tròn | Xanh đỏ | Vàng cam | Vàng đậm | Thon dài | Nâu nhạt |

Bảng 3: Mười ba đặc tính hình thái lá của 20 mẫu lêkima

| Mẫu | Gân lá (1) | Gân giữa lá nhô lên (2) | Hệ gân lá nhô lên (3) | Màu lá non A: Xanh pha lẫn nâu B: Xanh nhạt C: Màu gạch nhạt (4) | Màu lá già A: Xanh đậm B: Xanh nhạt C: Xanh đốm trắng (5) | Mật độ lá (6) | Cách sắp xếp lá (7) | Hình dạng phiến lá (8) | Đỉnh lá (9) | Cuống lá (10) | Mép, rìa phiến lá A: Nguyên vẹn B: Lượn sóng C: Liên thành một đường (11) | Mặt trên lá A: Bóng loáng B: không bóng (12) | Mặt dưới lá A: Bóng loáng B: không bóng (13) |
|-----|------------|-------------------------|-----------------------|--|---|---------------|---------------------|------------------------|-------------|---------------|---|--|--|
| CT1 | Có | Nhiều | Không | A | A | Rậm | Luân phiến | Elip | Nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT2 | Có | Ít | Ít | B | B | Trung bình | Xen kẽ | Elip | Nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT3 | Không | Ít | Nhiều | A | A | Rậm | Xen kẽ | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | B | A | A |
| CT4 | Có | Ít | Nhiều | B | A | Trung bình | Luân phiến | Thon dài | Rộng | Tròn | C | A | A |
| CT5 | Có | Không | Không | B | A | Thưa | Luân phiến | Trúng | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT6 | Không | Ít | Không | A | C | Trung bình | Luân phiến | Thon dài | Rộng | Đẹt | C | A | A |
| CT7 | Có | Nhiều | Nhiều | A | A | Rậm | Đôi nhau | Mũi mác | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |

| Mẫu | Gân lá | Gân giữa lá nhỏ lên | Hệ gân lá nhỏ lên | Màu lá non A: Xanh pha lẫn nâu B: Xanh nhạt C: Màu gạch nhạt | Màu lá già A: Xanh đậm B: Xanh nhạt C: Xanh đốm trắng | Mật độ lá | Cách sắp xếp lá | Hình dạng phiến lá | Đỉnh lá | Cuống lá | Mép, rìa phiến lá A: Nguyên vẹn B: Lượn sóng C: Liên thành một đường | Mặt trên lá A: Bóng loáng B: không bóng | Mặt dưới lá A: Bóng loáng B: không bóng |
|------|--------|---------------------|-------------------|---|--|------------|-----------------|--------------------|----------|----------|---|---|---|
| (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7) | (8) | (9) | (10) | (11) | (12) | (13) | |
| CT8 | Có | Ít | Không | C | A | Trung bình | Luân phiên | Thon dài | Mũi nhọn | Dẹt | B | A | A |
| CT9 | Có | Ít | Nhiều | B | A | Trung bình | Luân phiên | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT10 | Có | Ít | Ít | B | A | Trung bình | Luân phiên | Elip | Rộng | Tròn | A | A | A |
| CT11 | Có | Ít | Ít | C | A | Trung bình | Luân phiên | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | B | A | A |
| CT12 | Có | Ít | Ít | B | A | Trung bình | Xen kẽ | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT13 | Có | Ít | Ít | B | B | Trung bình | Luân phiên | Trứng | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT14 | Có | Nhiều | Nhiều | A | A | Trung bình | Luân phiên | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT15 | Có | Ít | Nhiều | A | B | Trung bình | Luân phiên | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT16 | Có | Nhiều | Nhiều | A | B | Trung bình | Đối nhau | Thon dài | Mũi nhọn | Tròn | B | A | A |
| CT17 | Có | Ít | Không | B | A | Trung bình | Luân phiên | Mũi mác | Mũi nhọn | Tròn | A | A | A |
| CT18 | Có | Ít | Ít | B | B | Trung bình | Luân phiên | Elip | Mũi nhọn | Tròn | A | B | A |
| CT19 | Có | Nhiều | Nhiều | B | A | Rậm | Luân phiên | Trứng ngược | Nhọn | Tròn | C | A | A |
| CT20 | Có | Nhiều | Nhiều | B | A | Trung bình | Đối nhau | Mũi mác | Rộng | Tròn | A | A | A |

Bảng 4: Bốn đặc tính hình thái thân và 4 đặc tính định tính hình thái hoa của 20 mẫu lêkima

| Mẫu | Thân lêkima | | | | Hoa lêkima | | | |
|-----|-------------|--------------------|--------------|--------------------|------------------|-------------|--------------|---|
| | Bề mặt thân | Hình dạng đỉnh cây | Mật độ nhánh | Kiểu nhánh | Cách ra hoa | Màu đài hoa | Màu cánh hoa | Vị trí ra hoa (A: đầu cành, B: Nách lá và đầu cành, C: Nách lá) |
| (1) | (2) | (3) | (4) | (1) | (2) | (3) | (4) | |
| CT1 | Rất xù xì | Cầu | Rậm rạp | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | A |
| CT2 | Nhám, xù xì | Cầu | Thưa thớt | Nằm ngang | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B |
| CT3 | Trơn | Chóp | Trung bình | Nằm ngang | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B |

| Mẫu | Thân lêkima | | | | | Hoa lêkima | | | Vị trí ra hoa (A: đầu cành, B: Nách lá và đầu cành, C: Nách lá) |
|------|-------------|--------------------|--------------|--------------------|------------------------|-------------|--------------|-----|---|
| | Bề mặt thân | Hình dạng đỉnh cây | Mật độ nhánh | Kiểu nhánh | Cách ra hoa | Màu đài hoa | Màu cánh hoa | | |
| | (1) | (2) | (3) | (4) | (1) | (2) | (3) | (4) | |
| CT4 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B | |
| CT5 | Trơn | Chóp | Thưa thớt | Thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | A | |
| CT6 | Nhám, xù xì | Chóp | Trung bình | Nằm ngang | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B | |
| CT7 | Nhám, xù xì | E líp | Rậm rạp | Nằm ngang | 1,2,3 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | C | |
| CT8 | Rất xù xì | Chóp | Trung bình | Thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B | |
| CT9 | Trơn | Cầu | Trung bình | Thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | C | |
| CT10 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1,2,3 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | A | |
| CT11 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Nằm ngang | 1,2,3 hoa/cụm | Vàng xanh | Vàng xanh | B | |
| CT12 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Vàng xanh | Vàng xanh | A | |
| CT13 | Nhám, xù xì | Cầu | Rậm rạp | Một nửa thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Vàng xanh | Vàng xanh | B | |
| CT14 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Vàng | Vàng xanh | C | |
| CT15 | Nhám, xù xì | Cầu | Rậm rạp | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Vàng | Vàng xanh | C | |
| CT16 | Nhám, xù xì | Thon dài | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | C | |
| CT17 | Rất xù xì | Chóp | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | B | |
| CT18 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Nằm ngang | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | C | |
| CT19 | Rất xù xì | Cầu | Rậm rạp | Một nửa thẳng đứng | 1 hoặc 2 hoa/cụm | Vàng xanh | Vàng xanh | C | |
| CT20 | Nhám, xù xì | Cầu | Trung bình | Một nửa thẳng đứng | 1 hoa/cụm | Xanh | Vàng xanh | C | |

Bảng 5: Mười đặc tính định lượng về hình thái hoa của 20 mẫu lêkima

| Mẫu | Chiều cao nụ hoa sắp nở (mm) | Đường kính nụ hoa (mm) | Chiều cao hoa (mm) | Đường kính hoa (mm) | Số cánh hoa | Số nhị hoa | Số nhụy hoa | Số đài hoa | Đường kính cuống hoa (mm) | Chiều dài cuống hoa (cm) |
|-----|------------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|-------------|------------|-------------|------------|---------------------------|--------------------------|
| | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7) | (8) | (9) | (10) |
| CT1 | 10,0 | 3,0 | 10,0 | 6,0 | 4,0 | 6,0 | 6,0 | 4,0 | 0,4 | 4,5 |
| CT2 | 14,0 | 4,0 | 11,0 | 8,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 0,5 | 3,8 |
| CT3 | 10,0 | 7,0 | 14,0 | 7,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 4,0 | 1,1 | 3,0 |
| CT4 | 8,0 | 4,0 | 8,0 | 8,0 | 4,0 | 5,0 | 5,0 | 2,0 | 1,0 | 3,0 |
| CT5 | 10,0 | 2,5 | 8,0 | 6,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 3,0 | 0,3 | 2,0 |
| CT6 | 15,0 | 8,0 | 10,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 6,0 | 8,0 | 1,3 | 3,0 |

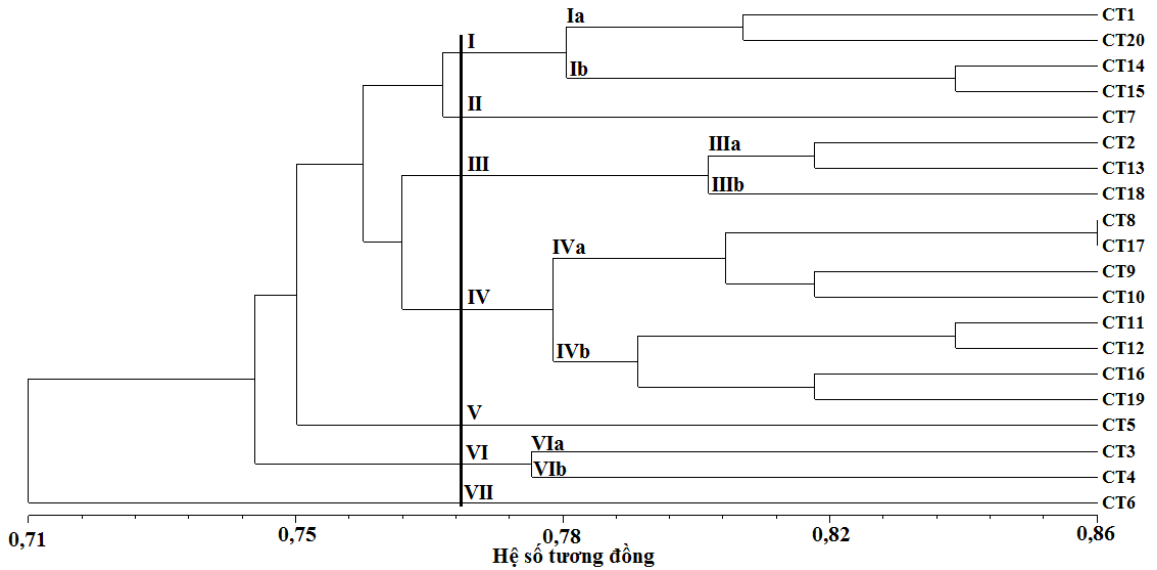
| Mẫu | Chiều cao nụ hoa sắp nở (mm) | Đường kính nụ hoa (mm) | Chiều cao hoa (mm) | Đường kính hoa (mm) | Số cánh hoa | Số nhị hoa | Số nhụy hoa | Số đài hoa | Đường kính cuống hoa (mm) | Chiều dài cuống hoa (cm) |
|------|------------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|-------------|------------|-------------|------------|---------------------------|--------------------------|
| | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7) | (8) | (9) | (10) |
| CT7 | 10,0 | 4,0 | 9,0 | 6,0 | 4,0 | 3,0 | 3,0 | 5,0 | 0,9 | 1,5 |
| CT8 | 15,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 6,0 | 0,8 | 3,5 |
| CT9 | 15,0 | 5,0 | 10,0 | 6,0 | 5,0 | 2,0 | 2,0 | 3,0 | 1,0 | 2,5 |
| CT10 | 10,0 | 3,5 | 6,0 | 5,0 | 6,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 0,5 | 5,0 |
| CT11 | 10,0 | 12,0 | 5,0 | 5,0 | 8,0 | 6,0 | 6,0 | 5,0 | 1,5 | 3,5 |
| CT12 | 15,0 | 6,0 | 5,0 | 6,0 | 6,0 | 4,0 | 4,0 | 6,0 | 0,8 | 2,5 |
| CT13 | 15,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 3,0 | 2,0 | 2,0 | 4,0 | 0,5 | 2,5 |
| CT14 | 12,0 | 4,0 | 7,0 | 6,0 | 4,0 | 3,0 | 3,0 | 4,0 | 0,3 | 4,8 |
| CT15 | 10,0 | 3,0 | 8,0 | 5,0 | 4,0 | 6,0 | 6,0 | 4,0 | 0,4 | 4,5 |
| CT16 | 15,0 | 6,0 | 8,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 0,8 | 2,5 |
| CT17 | 10,0 | 3,5 | 11,0 | 5,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 2,0 | 0,5 | 2,0 |
| CT18 | 10,0 | 3,0 | 10,0 | 8,0 | 4,0 | 2,0 | 2,0 | 4,0 | 0,3 | 3,5 |
| CT19 | 15,0 | 3,5 | 7,0 | 5,0 | 5,0 | 3,0 | 3,0 | 5,0 | 1,0 | 2,5 |
| CT20 | 10,0 | 3,0 | 10,0 | 4,0 | 4,0 | 5,0 | 5,0 | 3,0 | 1,0 | 2,0 |

Bảng 6: Mười đặc tính về kích thước thân, lá và trái của 20 mẫu lêkima

| Mẫu | Thân | | Lá | | | Trái | | | | |
|------|----------------------|--------------------|-----------------|-------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| | Đường kính thân (cm) | Chiều cao thân (m) | Độ rộng lá (cm) | Chiều dài lá (cm) | Đường kính trái chín (cm) | Trọng lượng trái chín (g) | Độ dày vỏ (mm) | Số lượng hạt/trái | Chiều dài hạt (cm) | Đường kính hạt (cm) |
| | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7) | (8) | (9) | (10) |
| CT1 | 68,0 | 3,5 | 5,13 | 14,70 | 7,35 | 300,6 | 1,1 | 1 | 4,91 | 2,61 |
| CT2 | 27,5 | 2,0 | 5,13 | 14,50 | 6,70 | 219,3 | 0,7 | 2 | 5,65 | 3,30 |
| CT3 | 26,0 | 1,5 | 4,57 | 18,74 | 7,15 | 168,4 | 0,9 | 1 | 4,80 | 2,21 |
| CT4 | 12,0 | 0,8 | 4,17 | 15,70 | 6,41 | 182,5 | 1,0 | 4 | 3,20 | 1,52 |
| CT5 | 18,0 | 1,5 | 4,60 | 16,10 | 7,47 | 291,2 | 1,1 | 3 | 4,11 | 1,90 |
| CT6 | 85,0 | 4,0 | 3,87 | 14,17 | 7,38 | 322,6 | 1,7 | 2 | 4,00 | 3,00 |
| CT7 | 49,0 | 2,5 | 5,30 | 18,57 | 7,82 | 298,5 | 1,3 | 1 | 3,70 | 2,17 |
| CT8 | 28,0 | 2,5 | 5,17 | 18,07 | 7,19 | 220,3 | 0,8 | 2 | 4,70 | 2,25 |
| CT9 | 16,0 | 0,8 | 5,27 | 19,13 | 6,87 | 254,4 | 0,9 | 1 | 4,95 | 2,60 |
| CT10 | 31,3 | 2,5 | 6,00 | 20,40 | 7,85 | 302,6 | 1,6 | 2 | 5,00 | 2,92 |
| CT11 | 22,0 | 2,0 | 4,73 | 19,33 | 7,43 | 219,2 | 1,2 | 3 | 5,05 | 2,75 |
| CT12 | 18,0 | 2,0 | 4,43 | 18,53 | 6,66 | 226,9 | 1,2 | 4 | 4,21 | 2,05 |
| CT13 | 19,0 | 0,8 | 5,23 | 18,33 | 6,25 | 198,9 | 0,8 | 3 | 5,60 | 2,10 |
| CT14 | 14,0 | 2,0 | 5,20 | 17,26 | 5,73 | 133,3 | 1,5 | 2 | 5,05 | 3,30 |
| CT15 | 75,0 | 2,5 | 3,93 | 15,83 | 6,21 | 199,2 | 1,2 | 1 | 4,20 | 2,15 |
| CT16 | 36,0 | 2,0 | 4,57 | 18,03 | 7,21 | 228,8 | 1,0 | 2 | 4,00 | 2,30 |
| CT17 | 29,0 | 3,0 | 5,27 | 18,97 | 7,23 | 281,2 | 1,0 | 1 | 4,80 | 2,65 |
| CT18 | 18,0 | 2,0 | 5,83 | 19,60 | 5,93 | 185,5 | 0,9 | 3 | 6,00 | 2,80 |
| CT19 | 30,0 | 2,5 | 4,73 | 16,03 | 7,07 | 220,0 | 0,9 | 1 | 4,45 | 2,90 |
| CT20 | 7,5 | 2,4 | 5,00 | 18,60 | 7,75 | 240,6 | 1,2 | 1 | 5,90 | 1,90 |

Kết quả phân tích bằng phần mềm NTSYSpc 2.10m về mối quan hệ di truyền của 20 mẫu lêkima.

Theo sơ đồ nhánh (Hình 1) có thể chia 20 mẫu lêkima thành 7 nhóm. Hệ số tương đồng dao động từ 0,71 đến 0,86.



Hình 1: Khoảng cách liên kết giữa 20 mẫu lêkima dựa trên 50 đặc điểm hình thái

Ghi chú: CT1-CT20 được khảo sát ở 50 đặc tính tình trạng trên thân, lá, hoa và trái

– Nhóm I: CT1, CT14, CT15 và CT20 có các đặc điểm chung như trái có dạng tròn hoặc hình trứng, trái chín không đồng bộ, kiểu ra trái từ 1,2,3 đến 12 trái trên 1 cụm. Màu vỏ hạt nâu nhạt. Gân giữa lá nhô lên, màu lá non xanh pha lẫn nâu, cuống lá hình tròn, mép và rìa lá nguyên vẹn, mặt trên và dưới lá bóng loáng. Bề mặt thân xù xì, đỉnh cây hình cầu. Cách ra hoa là một chùm hoa trên 1 cụm. Đài hoa có màu xanh và vị trí ra hoa từ nách lá.

– Nhóm II: CT7 có mật độ trái rất nhiều, trái có dạng hình trứng, cuống trái xanh đỏ, thịt trái có màu cam đậm, vỏ hạt có màu nâu đậm, cách sắp xếp lá đối nhau, phiến lá hình mũi mác và đỉnh cây hình e líp.

– Nhóm III: CT2, CT13 và CT18 có những đặc điểm chung như mật độ trái ít, trái chín không đồng bộ, cuống trái có màu xanh, gân giữa lá và hệ gân lá ít nhô lên, màu sắc lá non là xanh nhạt, màu sắc lá già cũng xanh nhạt, mật độ lá trung bình, phiến lá hình e líp, đỉnh lá hình mũi nhọn, mép rìa lá nguyên vẹn, bề mặt thân nhám, xù xì, đỉnh cây hình cầu, kiểu nhánh nằm ngang và cách ra hoa là một hoặc hai hoa trên cụm.

– Nhóm IV: CT8, CT9, CT10, CT11, CT12, CT16, CT17 và CT19 có các đặc điểm chung như mật độ trái trung bình, trái chín không đồng bộ, trái chủ yếu là hình cầu/tròn, trái chín có màu vàng, màu thịt trái cam hoặc vàng đậm, màu vỏ hạt chủ yếu là nâu nhạt, hệ gân lá ít nhô lên, màu sắc lá non là xanh nhạt, màu sắc lá già là xanh đậm, cách sắp xếp lá luân phiên, đỉnh lá có dạng hình mũi nhọn, bề mặt thân nhám, xù xì, đỉnh cây hình cầu và kiểu nhánh là một nửa thẳng đứng.

– Nhóm V chỉ gồm mẫu CT5, có đặc điểm đặc trưng là kiểu ra trái là một trái trên cụm, trái có dạng hình tim, cuống trái có màu đỏ nâu, thịt trái có màu vàng đậm, màu vỏ hạt nâu đậm, gân giữa lá không nhô lên, hệ gân lá không nhô lên, mật độ lá thưa và phiến lá hình trứng/xoan.

– Nhóm VI: CT3 và CT4, có đặc điểm chung là mật độ trái trung bình, trái có dạng hình trứng, màu thịt trái là cam nhạt, hạt thon dài, hệ gân lá nhô lên, lá già có màu xanh đậm, phiến lá có dạng hình chữ nhật/thon dài và cuống lá tròn.

– Nhóm VII: CT6, trái có dạng hình chữ nhật/thon dài, trái chín có màu vàng lục, thịt trái có màu cam đậm, không có gân lá, màu lá già là xanh pha đốm trắng, đỉnh lá có dạng rộng ở đầu lá, cuống lá tròn và dẹt, rìa lá liền thành một đường.

– Các tính trạng về hình thái được nghiên cứu dựa vào chỉ số Shannon dao động từ 0-1,526. Trong đó, tính trạng về gân lá, trái chín, chiều dài hạt, hình dạng cuống lá và kiểu ra trái có chỉ số Shannon không cao (0,199-0,639) nên các tính trạng này ít đa dạng về kiểu hình. Tính trạng có chỉ số Shannon (1,010-1,358) gồm cách ra hoa, số nụ hoa, hệ gân lá, màu thịt trái, chiều cao hoa và chiều dài cuống hoa, những tính trạng này khá đa dạng về kiểu hình. Một số tính trạng có chỉ số Shannon bằng 0 như mặt dưới lá, màu cánh hoa và hình dạng hạt, những tính trạng này chỉ có một kiểu hình duy nhất. Tính trạng có chỉ số Shannon cao nhất là đường kính cuống hoa (1,526) có độ đa dạng cao nhất về mặt kiểu hình (Bảng 7, Hình 2).

Bảng 7: Chỉ số Shannon trên 50 đặc điểm hình thái của 20 mẫu lêkima

| Đặc điểm khảo sát | Chỉ số Shannon | Đặc điểm khảo sát | Chỉ số Shannon |
|-------------------------|----------------|----------------------------------|----------------|
| 1. Bề mặt thân | 0,886 | 26. Màu của cuống trái | 1,081 |
| 2. Hình dạng đỉnh cây | 0,926 | 27. Màu của trái trưởng thành | 1,154 |
| 3. Mật độ nhánh | 0,857 | 28. Màu thịt trái | 1,240 |
| 4. Kiểu nhánh | 0,975 | 29. Hình dạng hạt | 0,000 |
| 5. Gân lá | 0,325 | 30. Màu vỏ hạt | 0,938 |
| 6. Gân giữa lá | 0,791 | 31. Đường kính thân (cm) | 0,884 |
| 7. Hệ gân lá | 1,067 | 32. Chiều cao thân (m) | 1,249 |
| 8. Màu sắc lá non | 0,927 | 33. Độ rộng lá (cm) | 0,943 |
| 9. Màu sắc lá già | 0,926 | 34. Chiều dài lá (cm) | 0,562 |
| 10. Mật độ lá | 0,687 | 35. Chiều cao nụ hoa sắp nở (mm) | 0,845 |
| 11. Cách sắp xếp của lá | 0,819 | 36. Đường kính nụ hoa (mm) | 1,033 |
| 12. Hình dạng phiến lá | 1,333 | 37. Chiều cao hoa (mm) | 1,206 |
| 13. Hình dạng đỉnh lá | 0,938 | 38. Đường kính hoa (mm) | 0,687 |
| 14. Hình dạng cuống lá | 0,325 | 39. Số cánh hoa | 0,898 |
| 15. Mép, rìa phiến lá | 0,886 | 40. Số nhị hoa | 1,010 |
| 16. Mặt trên lá | 0,199 | 41. Số nhụy hoa | 1,010 |
| 17. Mặt dưới lá | 0,000 | 42. Số đài hoa | 1,094 |
| 18. Cách ra hoa | 1,010 | 43. Đường kính cuống hoa (mm) | 1,526 |
| 19. Màu đài hoa | 0,802 | 44. Chiều dài cuống hoa (cm) | 1,358 |
| 20. Màu cánh hoa | 0,000 | 45. Đường kính trái chín (cm) | 0,325 |
| 21. Vị trí ra hoa | 1,030 | 46. Trọng lượng trái chín (g) | 0,927 |
| 22. Mật độ trái | 0,731 | 47. Độ dày của vỏ (mm) | 0,999 |
| 23. Trái chín | 0,199 | 48. Số lượng hạt/trái | 0,943 |
| 24. Kiểu ra trái | 0,639 | 49. Chiều dài hạt | 0,500 |
| 25. Hình dạng trái | 1,163 | 50. Đường kính hạt (cm) | 0,731 |



Hình 2: Sự đa dạng tính trạng cuống trái và dạng trái của 20 mẫu lêkima được phân thành 7 nhóm dựa trên đặc điểm hình thái

3.2 Sự đa dạng di truyền qua phân tích bằng chỉ thị phân tử ISSR

Có 10 đoạn mồi ISSR (Bảng 8) để phân tích đa dạng di truyền của 20 mẫu lêkima được thu thập ở thành phố Cần Thơ.

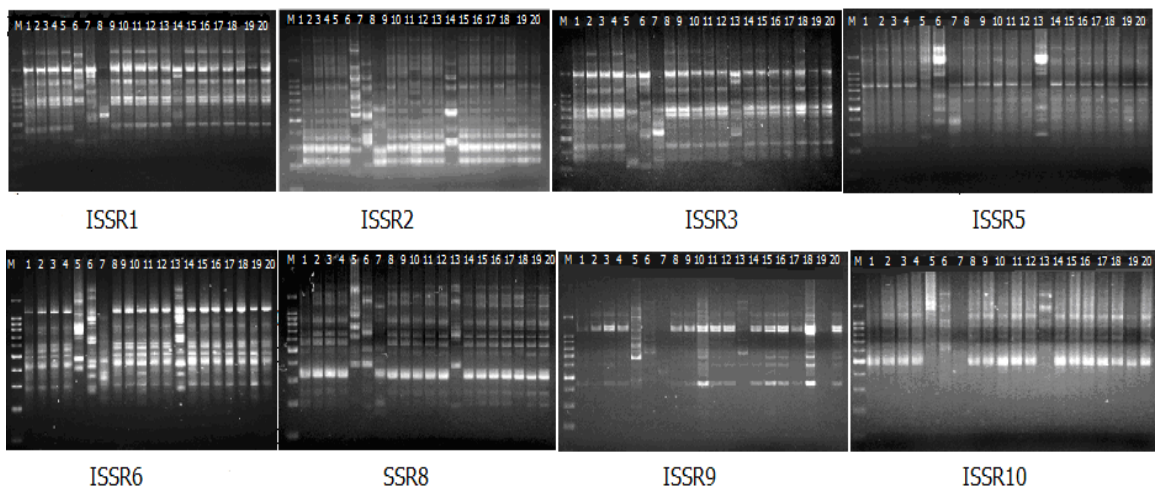
Kết quả thu được từ phổ điện di (Hình 3) có 8 đoạn xuất hiện băng DNA, 2 đoạn mồi (ISSR4 và ISSR7) không cho bất kỳ băng nào ở tất cả các mẫu phân tích. Tổng cộng có 119 băng được ghi nhận ở 8 mồi ISSR1, ISSR2, ISSR3, ISSR5, ISSR6, ISSR8,

ISSR9 và ISSR10 với trung bình là $14,875 \pm 4,29$ trên một đoạn mồi, trong đó có 115 băng đa hình với trung bình $14,375 \pm 4,50$ trên một đoạn mồi. Trong đó, có 5 mồi ISSR1, ISSR2, ISSR6, ISSR9 và ISSR10 cho tỉ lệ đa hình 100% (Bảng 8).

Phân tích các đặc điểm di truyền và thiết lập sơ đồ nhánh thể hiện mối quan hệ của 20 mẫu lêkima qua phân tích UPGMA dựa trên 119 dấu phân tử của 8 đoạn mồi ISSR, chia 20 mẫu lêkima thành 4 nhóm và có hệ số tương đồng từ 0,41 đến 1,00.

Bảng 8: Trình tự chuỗi, sự đa hình và tỉ lệ đa hình của 10 đoạn mỗi ISSR

| TT | Đoạn mỗi | Đoạn trình tự 5'- 3' | Tổng số băng DNA | Số băng đa hình | Tỉ lệ đa hình (%) |
|------------|----------|-----------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | ISSR1 | (CA) ₆ AG | 16 | 16 | 100,00 |
| 2 | ISSR2 | (AGTG) ₃ | 22 | 22 | 100,00 |
| 3 | ISSR3 | (GACA) ₄ | 14 | 13 | 92,86 |
| 4 | ISSR4 | GTC(CT) ₈ | 0 | 0 | 0,00 |
| 5 | ISSR5 | (GA) ₈ C | 14 | 12 | 85,71 |
| 6 | ISSR6 | (GA) ₈ T | 18 | 18 | 100,00 |
| 7 | ISSR7 | (AC) ₈ G | 0 | 0 | 0,00 |
| 8 | ISSR8 | (CAC) ₃ GC | 13 | 12 | 92,31 |
| 9 | ISSR9 | (AGC) ₄ GT | 15 | 15 | 100,00 |
| 10 | ISSR10 | (TCC) ₅ | 7 | 7 | 100,00 |
| Tổng cộng | | | 119 | 115 | 96,36 |
| Trung bình | | | 14,875±4,29 | 14,375±4,50 | |



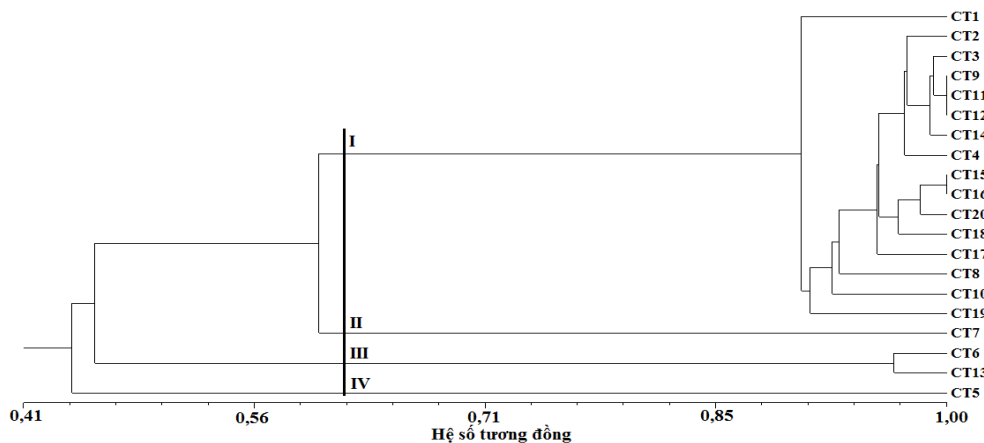
Hình 3: Phổ điện di của 20 mẫu lêkima

Ghi chú:

M: 100 bp thang chuẩn DNA

Số thứ tự 1, 2, 3... 20 tương ứng với các mẫu CT1, CT2, CT3... CT20

Tại mỗi locus gen, sự xuất hiện băng sẽ được cho là 1, không xuất hiện băng là 0



Hình 4: Khoảng cách liên kết giữa 20 mẫu lêkima dựa trên chỉ thị ISSR

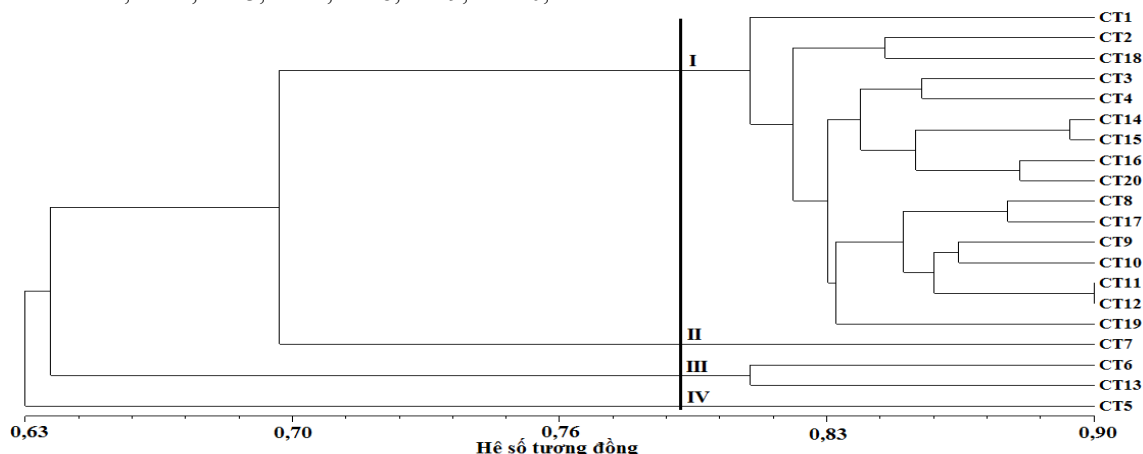
Ghi chú: CT1-CT20 được phân tích bằng chỉ thị ISSR

Kết quả điện di trong Hình 3 cũng cho thấy đa số các đoạn mỗi đều cho băng nhiều và tỉ lệ băng đa hình cao và có 5 môi ISSR1, ISSR2, ISSR6, ISSR9 và ISSR10 cho tỉ lệ đa hình 100%. Trong đó, môi ISSR2 cho số băng cao nhất là 22 băng và cho thấy mẫu CT5, CT6, CT7 và CT13 rất khác biệt so với các mẫu còn lại. Tuy nhiên, qua kết quả điện di và được mã hóa nhị phân 8 môi ISSR thu được 119 dấu phân tử và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc version 2.10m (Hình 4), cho thấy có thể phân chia 20 mẫu lêkima được thu thập tại thành phố Cần Thơ phân thành 4 nhóm chính: nhóm I gồm có 16 mẫu có hệ số tương đồng dao động từ 0,91 đến 1,00, cụ thể là CT1, CT2, CT3, CT4, CT8, CT9, CT10,

CT11, CT12, CT14, CT15, CT16, CT17, CT18, CT19 và CT20. Chúng có quan hệ di truyền rất gần nhau; nhóm II chỉ gồm có mẫu CT7; nhóm III gồm CT6 và CT13 có hệ số tương đồng 0,96, có quan hệ di truyền rất gần nhau và nhóm IV chỉ gồm có mẫu CT5.

3.3 Các đặc điểm di truyền của 20 mẫu lêkima dựa trên sự kết hợp các đặc tính hình thái và chỉ thị phân tử ISSR

Dựa trên các số liệu kết hợp từ 208 dấu hình thái và 119 dấu phân tử ISSR, sơ đồ nhánh đã được thiết lập thể hiện mối quan hệ giữa 20 mẫu lêkima (Hình 5).



Hình 5: Khoảng cách liên kết giữa 20 mẫu lêkima dựa trên 208 dấu hình thái và 119 dấu phân tử ISSR của 20 mẫu lêkima ở thành phố Cần Thơ

Ghi chú: CT1-CT20 được phân tích kết hợp từ 208 dấu hình thái và 119 dấu phân tử ISSR.

Kết quả phân tích (Hình 5) cho thấy 20 mẫu lêkima thu được có thể phân thành 4 nhóm chính như sau:

- Nhóm I gồm các mẫu CT1, CT2, CT3, CT4, CT8, CT9, CT10, CT11, CT12, CT14, CT15, CT16, CT17, CT18, CT19 và CT20, có hệ số tương đồng dao động từ 0,71 đến 0,83 và có đặc tính hình thái màu trái trường thành màu vàng nhạt, thịt trái màu cam.

- Nhóm II gồm mẫu CT6 và CT13, có hệ số tương đồng là 0,70 và có đặc tính hình thái đặc trưng là trái có dạng hình thon dài, trái chín có màu vàng lục, thịt trái có màu cam đậm, không có gân lá, màu lá già là xanh pha đốm trắng, đỉnh lá có dạng rộng ở đầu lá, cuống lá tròn và mép rìa lá liền thành một đường.

- Nhóm III chỉ có mẫu CT7 có mật độ trái rất nhiều, trái có dạng hình trứng, cuống trái xanh đỏ, thịt trái có màu cam đậm, vỏ hạt có màu nâu đậm, cách sắp xếp lá đối nhau, phiến lá hình mũi mác và

đỉnh cây hình e líp tương tự mô tả của Pennington (1990).

- Nhóm IV chỉ có mẫu CT5 có hình thái đặc trưng là kiêu ra trái là một trái trên cụm, trái có dạng hình tim, cuống trái có màu đỏ nâu, thịt trái có màu vàng đậm, màu vỏ hạt nâu đậm, gân giữa lá không nhô lên, hệ gân lá không nhô lên, mật độ lá thưa và phiến lá hình trứng/xoan tương tự mô tả của Morton (1987) về đặc tính hình thái của lêkima.

Qua sơ đồ phân nhánh và chia nhóm (Hình 5), kết quả này giống với kết quả phân loại bằng chỉ thị phân tử ISSR. Mặc dù, hệ số tương đồng giữa các nhóm và các mẫu trong nhóm có chênh lệch, tuy nhiên, mẫu CT5 và CT7 vẫn ở 2 nhóm riêng biệt. Vì vậy có thể khẳng định rằng 2 phương pháp phân tích bằng hình thái và dấu phân tử ISSR trong phân tích đa dạng di truyền có thể sử dụng rộng rãi. Đặc biệt các mẫu lêkima có hệ số tương đồng không cao, dao động rất lớn từ khoảng lớn hơn 0,43 đến 0,90, chứng tỏ các mẫu khá đa dạng. Tuy nhiên, nhóm I có nhiều

mẫu có hệ số tương đồng lớn (0,71-0,90) mặc dù hình thái có khác biệt, điều này cho thấy rằng đã có những biến dị trong tự nhiên xuất hiện và có thể làm thay đổi đặc tính của đối tượng khảo sát.

4 KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu đã thiết lập được bộ dữ liệu gồm 50 đặc tính hình thái trên thân, lá, hoa, trái và hạt của 20 mẫu lêkima gồm 4 đặc tính trên thân, 15 đặc tính trên lá, 4 đặc tính trên hoa và 9 đặc tính trên trái, cho thấy tính trạng đường kính cuống hoa có độ đa dạng cao nhất (Shannon là 1,526). Các môi ISSR1, ISSR2, ISSR6, ISSR9 và ISSR10 cho tỉ lệ đa hình 100% và có tỉ lệ đa hình trung bình là 96,36%. Trong đó môi ISSR2 cho số băng cao nhất là 22 băng DNA thể hiện rõ sự đa hình của 20 mẫu lêkima.

Kết quả xếp nhóm dựa trên sự kết hợp hình thái và chỉ thị phân tử cho thấy tất cả 20 mẫu lêkima cơ bản được phân thành 4 nhóm chính: trái dạng tròn ở nhóm I; trái chín màu vàng lục và có dạng hình trứng ở nhóm II; vỏ hạt màu nâu đậm, lá xếp đối nhau ở nhóm III và trái hình tim ở nhóm IV. Tất cả các mẫu lêkima trong nghiên cứu nhìn chung có độ đa dạng cao với hệ số tương đồng từ 0,41 đến 1,00. Một số mẫu có đặc tính khá đặc biệt như trái có dạng thon dài, hình tim hoặc thịt trái có màu cam đậm (dạng này ít gặp trong tự nhiên) có thể được sử dụng để làm nguồn nguyên liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

LỜI CẢM Ạ

Các tác giả xin chân thành cảm ơn phòng thí nghiệm Sinh hoá, Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học của Trường Đại học Cần Thơ đã tạo điều kiện và hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aunyachulee, G., Kanchana, R., Chanida, P., 2016. Characterization of *Mangifera indica* cultivars in Thailand based on macroscopic, microscopic, and genetic characters. *Africa Journal of Biotechnology*. 7(4): 127-133.

Bùi Thị Cẩm Hương, Lưu Thái Danh, Lê Vĩnh Thúc, Huỳnh Kỳ và Nguyễn Lộc Hiền., 2016. Khảo sát sự đa dạng di truyền của một số giống nghệ ở miền Nam dựa trên chỉ thị phân tử RAPD và ISSR. *Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Chuyên đề: Nông nghiệp 3*: 11-19.

Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.

IPGRI, 1999. Description for citrus. International plant genetic resource institute, Rome, Italy. ISBN 92-9043-425-2, 75 p.

Izquierdo, J., William, R., 1998. Under-Utilized and food crops: Status và prospects of plant biotechnology for the conservation và sustainable agricultural use of genetic resources. *Artículo publicado en ISHS*. 457 pages

Janick, J., Paull, R.E., 2008. The encyclopedia of fruit and nuts. Cabi Publishing, Wallingford, UK, 337 pages.

Jordan, M., 1996. Pouteria species en biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 35. Springer. pp. 291-307.

Liu L., Zhao, L., Gong, Y., et al., 2008. DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of late-bolting radish cultivars with RAPD, ISSR and SRAP marker. *Sciences Horticulture*. 116 (3): 240-247.

Morita, A., 2007. *Journal of dermatol. Sciences*. 48: 169-175.

Morton, J., Miami, F.L., 1987. In: *Fruits of warm climates*. Lucumo. Creative Resource Systems, Inc. pp: 405-406.

Nguyễn Lộc Hiền, Tô Thị Nhựt, Huỳnh Kỳ và Huỳnh Thanh Tùng., 2013. Sự đa dạng di truyền của quần thể cây nghệ (*Curcuma sp.*) ở tỉnh Bình Dương. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*. 29: 44-51.

Nguyễn Minh Chon và Lê Quốc Duy., 2014. Lycopene, β -caroten, vitamin C và hydrate carbon tổng số trong xoài, Đu Đủ, Dưa Hấu và lêkima. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. 12: 170-175.

Pennington, T.D, 1990. Sapotaceae. *Flora Neotropica*. 52: 1-770.

Renjith, D., Valsala, P.A., Nybe, E.V., 2001. Response of turmeric (*Curcuma domestica* Val.) to in vivo and in vitro pollination. *Journal of Spices Arom. Crops*. 10: 135-139.

Saha, K., Sinha, R.K., Basak, S., Sinha, S., 2016. ISSR fingerprinting to ascertain the genetic relationship of *Curcuma sp.* of Tripura. *American Journal of Plant Sciences*. 7: 259-266.

Taheri, S., Abdullah, A. L., Abdullah, N. A. P., Ahmad, Z., 2012. Genetic relationship among five varieties of *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) based on ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*. 11(3): 3069-3076.

Tang, Q.Y., 1997. Data processing system. Chinese Agricultural Press, Beijing, 648 pages.