

SỰ BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN Ở ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max*) ĐƯỢC PHÁT HIỆN BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP TIẾP CẬN ĐA BIẾN ĐỐI VỚI CÁC ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG VIRUS KHẢM ĐẬU TƯƠNG

Haris Khurshid^{1,2}, Doulat Baig¹, Nazakat Nawaz¹, Malik Ashiq Rabbani³
và Zabta Khan Shinwari²
Võ Như Cẩm biên dịch.

1 Chương trình Nghiên cứu Hạt có dầu, Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia, Islamabad, Pakistan

2 Khoa Công nghệ Sinh học, Đại học Quaid-i-Azam Islamabad, Pakistan

3 Viện Bảo tồn Năng lượng sinh học, Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia, Islamabad, Pakistan

TÓM TẮT

Cải thiện năng suất hạt đậu tương và khả năng kháng bệnh vẫn là mục tiêu hàng đầu của các nhà chọn giống. Mục đích này đã đạt được bằng cách khảo sát sự biến đổi độc đáo và khác biệt trong các nguồn gen đa dạng của cây trồng để nâng cao mức độ biểu hiện của các tính trạng quan trọng về mặt kinh tế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng chiến lược định hướng đa dạng bằng cách sử dụng mười ba bộ mô tả định lượng và định tính cho một bộ 110 giống đậu tương địa phương và du nhập để làm sáng tỏ cấu trúc quần thể của nó. Thí nghiệm đã được trồng trong hai năm liên tiếp ở Kharif 2016–2017 trong thiết kế hàng 5m cho mỗi giống trong khi ô được bao bọc bởi các dòng bông và đậu xanh nhạy cảm với virus. Dữ liệu được ghi lại trên năm cây đại diện từ mỗi hàng và phản ứng của virus khảm đậu tương được chấm theo thang điểm từ 0–9, về mặt kiểu hình. Quy trình đa biến của phân tích thành phần chính cho thấy 51% sự thay đổi trong hai thành phần chính đầu tiên. Các eigenvector cao hơn đã được vẽ trên biểu đồ của biến số ngày cho đến khi bắt đầu ra hoa, số ngày ra hoa đến 50%, số quả/cây, chiều cao cây, năng suất hạt và khối lượng một trăm hạt cho thấy sự biến đổi. Chúng tôi đã quan sát thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa khả năng kháng bệnh, hàm lượng dầu và năng suất hạt cao hơn. Phân tích phân nhóm dựa trên bản đồ nhiệt được thực hiện bằng cách sử dụng khoảng cách Euclide, phân loại tất cả các giống nghiên cứu thành năm nhóm chính do mối quan hệ về hình thái nông học và địa lý. Tổng cộng có 47 giống được xác định là kháng, tiếp theo là 22 giống kháng cao và 23 giống kháng trung bình. Chúng tôi kết luận rằng tồn tại đủ sự biến đổi di truyền đối với các đặc điểm liên quan đến năng suất trong mầm đậu tương có sẵn, có thể được sử dụng trong các chương trình chọn giống để phát triển chồi non với năng suất hạt cao hơn và khả năng kháng virus khảm đậu tương.

GIỚI THIỆU

Đậu nành (*Glycine max* L. Merrill) là loại cây trồng có dầu quan trọng nhất được trồng rộng rãi để có hàm lượng protein và dầu chất lượng cao. Hạt của nó là nguồn chính của gần một nửa lượng dầu thực vật trên thế giới (Vollmann, 2016) trong khi phần bột còn lại của nó được sử dụng làm thức ăn gia súc (Khurshid và ctv, 2017). Trên toàn cầu, 337.452 triệu tấn đậu tương đã được sản xuất trong giai đoạn 2017–2018 để đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng về hạt đậu tương làm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi (USDA 2018). Đậu tương đã được thuần hóa ở Trung Quốc cách đây gần 3.000 năm, nơi nó vẫn là một loại cây trồng địa phương được tiêu thụ để làm ngũ cốc cho đến khi du nhập vào Hoa Kỳ vào năm 1770 sau Công nguyên (Hart, 2017). Kể từ đó, Hoa Kỳ là thị trường thống trị hàng đầu với tư cách là nước sản xuất và tiêu thụ đậu tương lớn nhất. Cây trồng thích nghi

rộng rãi với các điều kiện sinh thái nông nghiệp đa dạng từ ~35 vĩ độ Nam đến ~54 vĩ độ Bắc trên toàn cầu, tuy nhiên nó phát triển tương đối tốt ở các vùng vĩ độ trung bình hoặc cao trong điều kiện ẩm và ẩm ướt. Sự hiện diện của cấu trúc di truyền hoặc sự biến đổi di truyền rộng đối với các đặc điểm hình thái nông nghiệp và kiểu hình chủ yếu là do việc khai thác sớm hơn cây đậu tương ở các vùng địa lý đa dạng ở Trung Quốc (Singh và ctv, 2007). Điều này cho phép các nhà chọn giống đậu tương thiết kế các chương trình cải tiến giống để phát triển các giống có năng suất cao, thích ứng tốt trong điều kiện khí hậu và hệ thống sản xuất thay đổi. Năng suất hạt ở đậu tương là đặc điểm quan trọng nhất trong tiêu chuẩn chọn giống, do đó trong vài thập kỷ qua, nó đã được cải thiện với tốc độ 23 kg/ha/năm (Orf và ctv, 2004). Tuy nhiên, năng suất như một đặc điểm đa gen được biểu hiện về mặt di truyền thông qua cơ chế phức tạp của nhiều gen và sự tương tác của chúng trong khi về mặt kiểu hình là kết quả của các đặc điểm nông học và chức năng sinh lý phức tạp (Sleper và Poehlman, 2006). Bên cạnh năng suất, hàm lượng protein và hàm lượng dầu, chiều cao cây, trọng lượng hạt và khả năng chống chịu sâu bệnh là một số mục tiêu chọn giống được theo đuổi nhiều nhất trong canh tác đậu tương (Bilyeu và ctv, 2016).

Ở Pakistan, điều kiện môi trường rất thích hợp cho sản xuất đậu tương, tuy nhiên việc thiếu các giống thương mại mới năng suất cao và kháng bệnh là điểm nghẽn lớn đối với việc thích ứng trên diện rộng của cây trồng (Khurshid và ctv, 2017). Sự phổ biến của các bệnh virus do dịch hại trung gian trên các cây trồng chính ở các vùng đồng bằng được tưới tiêu của đất nước cũng gây ra nguy cơ nhiễm bệnh trên cây đậu tương. Trong số đó, virus khảm đậu tương (SMV) là phổ biến nhất và làm giảm đáng kể năng suất ngũ cốc. Trên toàn cầu, bệnh đã được báo cáo là gây ra thiệt hại về năng suất lên đến 94% tùy thuộc vào giống cây trồng, chủng virus và điều kiện khí hậu (Ross, 1977). Chỉ riêng ở Hoa Kỳ, căn bệnh này đã gây thiệt hại tới 35 triệu đô la cho người trồng mặc dù đã cải thiện các biện pháp canh tác và quản lý dịch hại tổng hợp (Hill và Whitham, 2014). Bệnh lây truyền qua vật trung gian là côn trùng như ruồi trắng và rệp chủ yếu vào vụ Kharif phát triển muộn trong điều kiện nóng ẩm (Khan và ctv, 2013). Các vectơ hiện diện rộng rãi ở các vùng đồng bằng tưới tiêu của Punjab và Sindh do có sẵn các vật chủ, tức là trồng bông và rau quả là mối đe dọa nghiêm trọng đối với dịch virus khảm đậu tương (Arif và ctv, 2000). Các cây bị bệnh SMV có đặc điểm sinh trưởng còi cọc, lá quăn lại có đốm vàng, sức sống thấp và hạt có đốm. Tuy nhiên, sự biến đổi di truyền rộng trong đậu tương đã làm tăng sức đề kháng tự nhiên chống lại các bệnh khác nhau bao gồm cả virus khảm đậu tương. Các nhà nghiên cứu đã lập bản đồ ba locus độc lập, tức là Rsv1, Rsv3, Rsv4 (Kiuhl và Hartwig, 1979; Buzzell và Tu, 1989; Buss và ctv, 1997) chịu trách nhiệm tạo ra khả năng đề kháng di truyền chống lại các chủng gây ra SMV (G1 đến G7) của potyvirus tương ứng trên nhiễm sắc thể 13, 14 và 2. Phát triển các giống có khả năng kháng SMV tự nhiên là phương pháp kinh tế, hiệu quả và thân thiện với môi trường nhất để giảm thiểu thiệt hại do bệnh gây ra (Ahangaran và ctv, 2013). Ngoài dịch bệnh, những thách thức như tiềm năng năng suất thấp, biến đổi khí hậu và áp lực phi sinh học đang khiến các giống cũ trở nên lỗi thời (Khurshid và ctv, 2017). Những nỗ lực không ngừng để chọn ra các giống đậu tương ưu việt về mặt nông học là rất quan trọng để phát triển các giống mới. Hơn nữa, kiến thức về thu thập, xác định đặc điểm thực vật và thông tin quan trọng liên quan đến các tính trạng số lượng và chất lượng là rất quan trọng để sử dụng hiệu quả tiềm năng di truyền của tế bào mầm. Do đó, bắt buộc phải sàng lọc các mầm đậu tương sẵn có để chống lại virus khảm đậu tương và các đặc điểm khác liên quan đến năng suất trong điều kiện khí hậu nông nghiệp địa phương (Baig và ctv, 2018). Theo truyền thống, điều này đạt được bằng cách chọn các giống mong muốn dựa trên các đặc

điểm hình thái, phá hệ và hình thái học trong mầm đậu tương. Các giống đậu tương mới năng suất cao ở Pakistan đang khan hiếm có thể đối phó với khí hậu luôn thay đổi và căng thẳng sinh học do các bệnh do virus gây ra như virus khảm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá các nguồn mầm đậu tương địa phương và du nhập để chọn ra các giống có năng suất cao và có khả năng thích nghi chống lại SMV. Các nỗ lực đã được thực hiện để xác định các dòng ưu tú để tiếp tục sử dụng trong chương trình chọn giống đậu tương.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu thực vật

Tổng cộng một trăm mười giống đậu tương được thu thập từ ngân hàng gen của Viện bảo tồn nguồn sinh học; Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia (NARC); Chương trình Nghiên cứu Hạt có dầu, NARC; Viện Kỹ thuật Di truyền và Công nghệ Sinh học Quốc gia (NIBGE), Faisalabad; Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA) và Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Rau Thế giới (AVRDC), Đài Loan đã được sử dụng trong nghiên cứu.

Thí nghiệm trên đồng ruộng

Thí nghiệm được tiến hành liên tiếp trong hai năm Kharif 2016 và 2017 trên thực địa tại NARC Islamabad, tọa lạc tại 33^o40'24"N, 73^o7'27"E và 502 m so với mặt biển. Kiểu khí hậu được phân loại là cận nhiệt đới ẩm "Cfa" theo phân loại Köppen-Geiger. Kharif 2016 và 2017 được đặc trưng là mùa vụ nóng ẩm với lượng mưa hạn chế (Hình 1). Đất thịt pha sét ẩm đã được chuẩn bị kỹ lưỡng được xử lý với 50 kg DAP cho mỗi mẫu Anh trước khi gieo hạt. Thiết kế đồng ruộng được sử dụng cho thí nghiệm trong đó mỗi cây tham gia nhập được trồng trên mô đất bằng máy khoan cầm tay trong một hàng dài 5m trong khi khoảng cách từ cây đến cây và hàng đến hàng được duy trì tương ứng là 3–4cm và 45cm. Xung quanh ô thí nghiệm được trồng các dòng bông (*Gossypium hirsutum*) và đậu xanh (*Vigna radiata*) nhạy cảm với sự tấn công của ruồi trắng (*Bemisia tabaci*) và rệp (*Aphis glycines*) mang theo các loại virus gây bệnh để tạo điều kiện lý tưởng cho sự xâm nhập của virus khảm đậu tương (SMV). Mầm được sàng lọc để chống lại virus khảm đậu tương ở giai đoạn 49 theo BBCH khi chồi chính có thể thu hoạch đã phát triển đầy đủ. Sự lây nhiễm bệnh được cho điểm trên phiến lá bị nhiễm bệnh theo thang điểm (0–9) như Khan và ctv mô tả (2013).

Bảng 1. Chi tiết các tính trạng kiểu hình quan sát được ở quần thể đậu tương

Đặc điểm	Thời gian	Phương pháp theo dõi
Ngày ra hoa	BBCH* stage 600	Số ngày từ gieo đến ra hoa đầu tiên
Ngày đạt 50% ra hoa	BBCH stage 605	Số ngày từ gieo đến 50% số cây ra hoa
Ngày ra hoa hoàn toàn	BBCH stage 609	Số ngày từ gieo đến ngày cuối cùng ra hoa
Ngày chín	BBCH stage 609	Số ngày từ gieo đến
Chiều cao cây	BBCH stage 409	Chiều cao của thân chính từ đốt lá mầm đến đỉnh sinh trưởng
Số cành/cây	BBCH stage 609	Số cành mang quả trên thân chính
Số quả/cây	BBCH stage 805	Số lượng quả mang hạt trên cây
Năng suất hạt (kg/ha)	BBCH stage 909	Khối lượng của hạt thu được từ 1 hàng chuyển đổi về kg/ha
Khối lượng 100 hạt (g)	BBCH stage 909	Khối lượng của 100 hạt ngẫu nhiên
Màu hoa	BBCH stage 601	Màu của cánh hoa (trắng, tím)

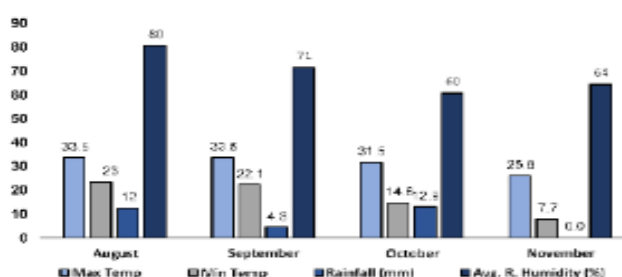
Kiểu sinh trưởng	BBCH stage 409	Dạng thân (đứng, bò, nửa đứng)
Kháng bệnh (điểm 0-9)	BBCH stage 201 – 409	0 = miễn dịch, 1 = kháng, 3 = kháng vừa, 5 = nhiễm vừa, 7 = nhiễm, 9 = nhiễm nặng

(*) *Sổ tay hướng dẫn Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt và Chemical về các giai đoạn phát triển của cây*

Đối với đặc điểm hình thái nông nghiệp, dữ liệu được ghi lại theo bộ mô tả đậu tương của Đa dạng sinh học quốc tế trên 5 cây được chọn ngẫu nhiên của mỗi lần lặp lại đối với số ngày bắt đầu ra hoa (DFI), số ngày ra hoa 50% (DF50%), số ngày đến ra hoa hoàn thành (DFC), số ngày đến khi chín (DM), chiều cao cây (PH), cành cấp 1/cây (PBPP), số quả/cây (NPPP), năng suất hạt (SY, kg/ha), khối lượng một trăm hạt (100SW, g), màu sắc hoa (FC) và kiểu sinh trưởng (PHb) (Bảng 1). Các biện pháp nông nghiệp được khuyến nghị đã được thực hiện để thu được năng suất tốt và các giống riêng lẻ được thu hoạch thủ công sau khi đạt độ chín sinh lý và độ ẩm hạt 17%.

Phân tích dữ liệu

Dữ liệu trung bình của tất cả các tính trạng số lượng được sử dụng để phân tích thống kê mô tả trong gói thống kê Statistica 7.0 (Statsoft, Tulsa-USA) trong khi phân bố tần suất của điểm số bệnh và tính trạng số lượng được trình bày bằng Microsoft Excel 2016. Dữ liệu cũng được phân tích đa biến và bản đồ nhiệt bằng cách sử dụng các gói thống kê factoextra, Phangorn và ggplot2 bằng ngôn ngữ R.



Hình 1. Dữ liệu khí hậu trung bình của Kharif 2016 – 2017 được ghi lại tại NARC, Islamabad

KẾT QUẢ

Phân tích thống kê dữ liệu hình thái nông học của 110 kiểu gen đậu tương đã phân tích cấu trúc di truyền của quần thể. Mười dữ liệu tính trạng số lượng được mô tả ở Bảng 2.

Bảng 2. Thống kê mô tả 10 tính trạng số lượng quan sát được ở 110 kiểu gen đậu tương

Đặc điểm	Trung bình	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Khoảng	Biến thiên	Độ lệch chuẩn	Sai số chuẩn	CV (%)
DFI	37,82	30	47	17	16,33	4,04	0,39	10,69
DF50%	47,13	36	53	17	13,30	3,65	0,35	7,74
DFC	52,76	43	57	14	9,58	3,09	0,30	5,87
DM	95,29	92	98	6	3,73	1,93	0,18	2,03
PH	43,88	14,30	92,70	78	231,37	15,21	1,45	34,66
PBPP	8,29	5	12	7	3,07	1,75	0,17	21,14
NPPP	75,92	12	21	259	210327	45,86	4,37	60,41
SY	660,89	18,89	3407,56	3388,67	487525	698,24	66,57	1,06
HSW	12,54	5,87	25,32	19,45	9,36	3,06	0,29	24,40
Oil %	19,68	14,41	22,89	8,48	1,82	1,35	0,13	6,85

* DFI = số ngày đến khi bắt đầu ra hoa, DF50% = số ngày đến 50% ra hoa, DFC = số ngày đến khi ra hoa kết thúc, DM = số ngày đến khi chín, PH = chiều cao cây (cm), PBPP = cành

cấp 1/cây, NPPP = số quả/cây, SY = năng suất hạt (kg/ha), HSW = khối lượng 1 trăm hạt (g), OC% = hàm lượng dầu (%).

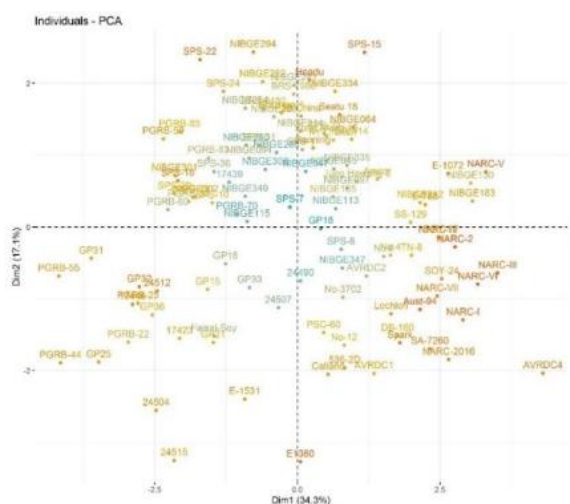
Hệ số biến động cao hơn (CV%) được quan sát đối với năng suất hạt, số quả/cây và chiều cao cây. Trong số 110 giống, 55 giống (50%) có màu hoa trắng, số còn lại có hoa tím. Quần thể cho thấy sự đa dạng đối với kiểu sinh trưởng khi 73 giống (67%) là kiểu mọc đứng, tiếp theo là 20 kiểu nửa đứng (18%) trong khi chỉ có 17 giống (15%) biểu hiện kiểu sinh trưởng dạng bò. Ma trận tương quan của Pearson đã được tính toán cho tất cả các đặc điểm định lượng (Bảng 3).

Bảng 3. Tương quan giữa các tính trạng số lượng trong mầm đậu tương

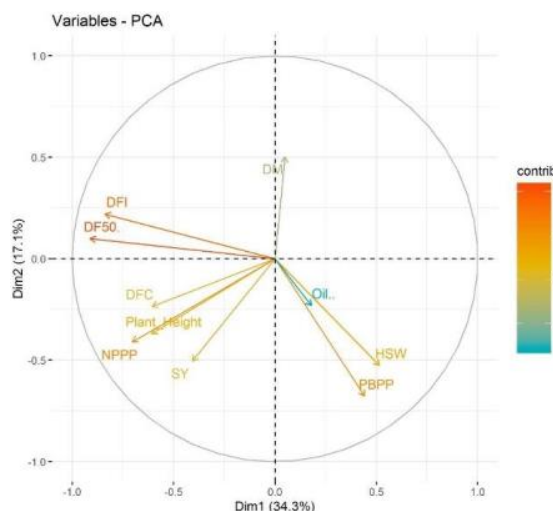
Đặc điểm	DFI	DF50%	DFC	DM	PH	PBPP	NPPP	SY	HSW
DFI	1								
DF50%	-0,79**	1							
DFC	0,45*	0,63*	1						
DM	-0,04	0,03	-0,16	1					
PH	0,35	0,42*	0,21	-0,17	1				
PBPP	-0,55**	-0,44**	0,01	-0,15	-0,12	1			
NPPP	0,43*	0,51*	0,36*	-0,17	0,56*	-0,11	10,44		
SY	0,16	0,30	0,17	0,05	0,35	0,27	-0,17	1	
HSW	-0,39	-0,42*	-0,13	-0,17	-0,14	0,39	0,02	-0,08	1
OC%	-0,06	-0,14	-0,01	-0,12	-0,03	-0,05		-0,17	0,39

* = có ý nghĩa ở $\alpha = 0,005$; ** = Rất có ý nghĩa ở $\alpha = 0,005$

DFI = số ngày đến khi bắt đầu ra hoa, DF50% = số ngày đến 50% ra hoa, DFC = số ngày đến khi hoàn thành ra hoa, DM = số ngày đến khi chín, PH = chiều cao cây (cm), PBPP = cành cấp 1/cây, NPPP = số quả/cây, SY = năng suất hạt (kg/ha), HSW = khối lượng một trăm hạt (g), OC% = hàm lượng dầu (%)



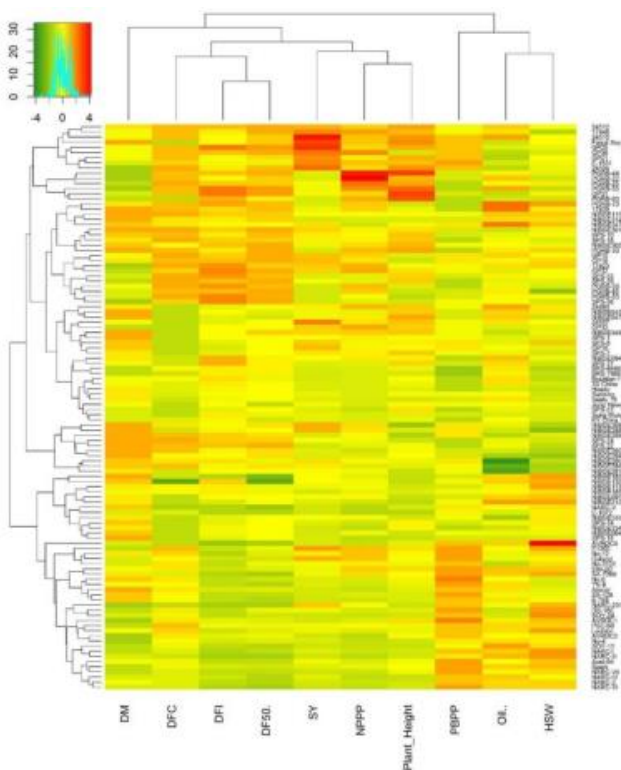
Hình 2a. Sự phân bố của 110 giống đậu tương ở các góc phần tư cho thấy sự biến đổi kiểu hình



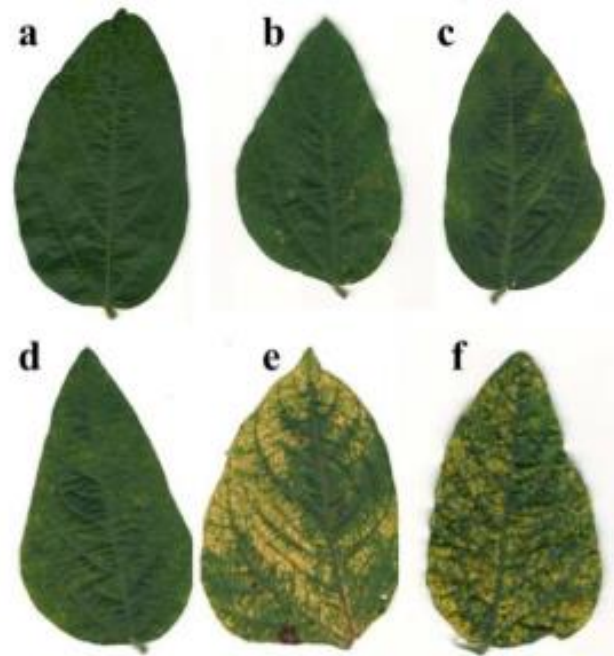
Hình 2b. Sự đóng góp của các đặc điểm nông học trong việc giải thích sự biến đổi kiểu hình

Mối tương quan có ý nghĩa cao được quan sát thấy giữa các tính trạng được nghiên cứu. Mối tương quan thuận có ý nghĩa cao đã được quan sát thấy giữa các thông số hình thái ra hoa, tức là, số ngày bắt đầu ra hoa, số ngày ra hoa đến 50% và số ngày đến khi hoàn thành ra hoa. Số ngày bắt đầu ra hoa và kết thúc ra hoa cũng có mối liên hệ tích cực với

chiều cao cây, số quả/cây và năng suất hạt. Hơn nữa, bắt đầu ra hoa, 50% ra hoa và số ngày đến khi ra hoa kết thúc được phát hiện có tương quan nghịch với các cành cấp 1/cây và trọng lượng 100 hạt. Năng suất hạt cho thấy mối tương quan thuận với số quả/cây và chiều cao cây. Phương pháp tiếp cận đa biến của phân tích thành phần chính đã được áp dụng cho mười dữ liệu tính trạng số lượng quan trọng về mặt kinh tế để ước tính sự biến đổi di truyền. Trong số 10 thành phần chính (PC), ba thành phần đầu tiên được chọn có giá trị Eigen bằng hoặc cao hơn 1. Những thành phần này chiếm 65% tổng số biến đổi trong mẫu được nghiên cứu. Thành phần chính đầu tiên (PC1) đại diện cho 34% sự biến đổi, chủ yếu được tăng thêm bởi khối lượng 100 hạt, cành cấp 1, hàm lượng dầu (%) và số ngày đến khi chín. Bắt đầu ra hoa, 50% ra hoa và hoàn thành ra hoa đóng góp tiêu cực cho PC đầu tiên. Thành phần chính thứ hai cho thấy sự biến động 17% trong quần thể chủ yếu do ảnh hưởng tích cực của số ngày đến ngày chín, bắt đầu ra hoa và số ngày ra hoa đến 50%. Cành cấp 1/cây, trọng lượng 100 hạt và năng suất hạt là những yếu tố đóng góp tiêu cực cho PC2. Tương tự, PC3 mô tả 13% sự biến đổi được cho là do ảnh hưởng tích cực của số ngày đến khi chín, cành cấp 1/cây và năng suất hạt. Hơn nữa, hàm lượng dầu ảnh hưởng tiêu cực đến thành phần chính thứ ba. Các giống được phân bố rải rác theo ô PCA ở cả 4 góc phần tư cho thấy sự hiện diện của các tính trạng được nghiên cứu đa dạng về kiểu hình (Hình 2a). Tương tác giữa các biến được quan sát với tác động tích cực và tiêu cực (Hình 2b). Véc tơ số ngày đến ngày chín di chuyển ngược chiều với năng suất hạt. Tuy nhiên, số ngày đến khi kết thúc ra hoa, chiều cao cây, số quả/cây và năng suất hạt gần như song song với nhau. Tải trọng tương đối cao hơn hoặc độ dài của véc tơ từ ngày bắt đầu ra hoa, số ngày ra hoa đến 50%, số quả/cây và cành cấp 1/cây cho thấy những đặc điểm này rất khác nhau trong quần thể nghiên cứu.



Hình 3. Phân loại dựa trên phân nhóm theo thứ bậc của 110 giống đậu tương cho các tính trạng số lượng ở các nhóm khác nhau



Hình 4. Phân loại mức độ nghiêm trọng của bệnh virus khảm đậu tương; a: kháng cao (HR), b: kháng (R), c: kháng trung bình (MR), d: nhiễm trung bình (MS), e: nhiễm (S) và f: nhiễm nặng (HS)

Phân tích phân nhóm dựa trên bản đồ nhiệt được thực hiện bằng cách sử dụng khoảng cách Euclidean giữa tất cả các giống được nghiên cứu như thể hiện trong biểu đồ dendrogram ở phía bên trái (Hình 3). Tất cả 110 giống được phân bố thành 5 nhóm chính trên cơ sở các tính trạng nông học. Trong biểu đồ dendrogram (từ trên xuống dưới), nhóm 1 bao gồm 15 giống. Những giống này cho thấy xu hướng ra hoa muộn và kéo dài thời gian ra hoa. Chiều cao cây trung bình của các giống này cao nhất ($70\pm 14,3\text{cm}$) và thành thục sớm ($94\pm 1,6$ ngày). Những giống này cũng được đặc trưng với số quả/cây tối đa (145 ± 50 quả) và năng suất hạt cao nhất ($352,7\pm 35\text{g}$). Nhóm 2 gồm 43 giống có trạng thái trung bình ($45,6\pm 10,6\text{cm}$) có số cành cấp 1/cây trung bình thấp nhất ($7,3\pm 1,08$) nhưng hàm lượng dầu cao ($20\pm 1,05\%$). Nhóm này bao gồm các vật liệu tham gia từ Chương trình Nghiên cứu Hạt có dầu NARC và các vật liệu được giới thiệu từ Hàn Quốc và Trung Quốc. Tương tự như vậy, 10 giống được xếp vào nhóm 3 dựa trên sự thành thục muộn của chúng ($97\pm 0,63$ ngày), chiều cao ngắn nhất ($32,81\pm 8,7\text{cm}$), khối lượng 100 hạt ($8,3\pm 1,32\text{g}$) và hàm lượng dầu ($17,5\pm 1,66\%$) thấp nhất. Hầu hết các giống này có nguồn gốc từ ngân hàng gen của USDA. Nhóm 4 có 13 giống với thời gian ra hoa ngắn nhất ($49\pm 2,27$ ngày), chiều cao cây ($31,6\pm 6,75\text{cm}$) và số quả/cây thấp nhất ($46\pm 22,31$). Ngoài ra, những giống này trưởng thành muộn ($96\pm 1,03$ ngày) nhưng có hạt nặng với HSW trung bình là $14,3\pm 2,06\text{g}$. Các giống của nhóm này chủ yếu là từ USDA. Nhóm thứ năm bao gồm 29 giống ra hoa sớm ($33\pm 1,5$ ngày) và trưởng thành sớm ($94\pm 1,60$ ngày), có số cành cấp 1/cây ($10\pm 0,8$), HSW ($15\pm 2,88\text{g}$) và hàm lượng dầu ($20,1\pm 0,84\%$) cao nhất. Hơn nữa, nhóm này có hiệu suất dưới trung bình về số quả/cây và năng suất hạt. Nhóm này bao gồm hầu hết các giống của những năm 1980 và 90 được du nhập từ Hoa Kỳ hoặc các dòng cải tiến của Chương trình Nghiên cứu Hạt có dầu. Hình ảnh dendrogram phía trên trong Hình 3 chỉ các đặc điểm tương quan với nhau. Từ trái sang phải, các đặc điểm liên quan đến hiện tượng ra hoa và ngày đến khi chín được nhóm lại với nhau. Tương tự, các tính trạng năng suất hạt, quả/cây, chiều cao cây và cành cấp 1/cây, khối lượng 100 hạt và hàm lượng dầu (%) lần lượt nằm trong các nhóm giống nhau.

Phản ứng với bệnh virus khảm đậu tương

Độ ẩm tương đối trung bình cao hơn và vùng phụ cận của thí nghiệm đối với cây đậu xanh và bông đã tạo ra một điểm nóng hoàn hảo cho sự phát triển của véc tơ SMV, tức là rệp và ruồi trắng (Hình 4). Điểm số bệnh của tất cả 110 giống cho thấy phản ứng chống lại virus khảm đậu tương rất khác nhau (Bảng 4). Bề mặt lá, vết bệnh và tỷ lệ lá bị vàng so với bình thường được quan sát về mặt kiểu hình (Hình 4). Trên quy mô từ nhiễm cao đến kháng cao, 47 giống được tìm thấy có khả năng chống chịu, tiếp theo là 23 giống kháng vừa và 22 giống kháng cao. Chỉ có sáu giống là Sanning, 3S China, Headu, BRS-8480, BRS-7980 và Brazil-1 cho thấy các triệu chứng nhiễm cao với độc lực của bệnh. Tương tự như vậy, 5 giống là TN8, Seatu 18, KY China, NARC-I và NARC-III dễ bị nhiễm và trong khi SS-129, Amcor, No.6, Jung Hawang 8, Sung Mung 15, No-4 và Spark được phân loại như nhiễm vừa. SY (kg/ha) và hàm lượng dầu (%) của các giống khác nhau với mức độ kháng SMV khác nhau đã được quan sát. Các giống kháng cao (HR) hoặc miễn dịch có năng suất hạt trung bình từ 1.777 kg/ha đến tối đa là 3.111 kg/ha và hàm lượng dầu 21%. Tiếp theo là các dòng kháng (R) với năng suất trung bình là 1.333 kg/ha và hàm lượng dầu 21%. Các kiểu giống kháng vừa cũng có năng suất và hàm lượng dầu trên mức trung bình. Hơn nữa, tất cả ba mức nhiễm là nhiễm, nhiễm vừa và nhiễm nặng đều kém các tính trạng này. Một số giống nhiễm cho thấy năng suất ổn định

do sự phát triển sau khi hình thành quả của các triệu chứng SMV, nhưng những giống này được coi là ngoại lệ.

THẢO LUẬN

Các giống đậu tương đã được trồng từ lâu ở một số vùng nhất định của Bắc Pakistan để tiêu thụ trong nước. Hơn nữa, là một loại cây trồng hiện đại, nó tương đối mới tham gia vào nghiên cứu và phát triển nông nghiệp của địa phương trong khi quá trình phát triển giống của nó bắt đầu từ những năm 80 bởi các viện nghiên cứu quốc gia (Khurshid và ctv, 2017).

Bảng 4. Phản ứng với SMV và mô tả các tính trạng định tính của 110 giống đậu tương

Stt	Kiểu gen	Nguồn gốc	FC	PHb	Phản ứng	Stt	Kiểu gen	Nguồn gốc	FC	PHb	Phản ứng
1	NIBGE045	USDA	W	E	MR	56	SPS-7	NARC	W	E	MR
2	NIBGE	USDA	W	E	MR	57	SPS-8	NARC	W	E	R
3	NIBGE	USDA	P	E	MR	58	SPS-10	NARC	W	E	R
4	NIBGE	USDA	P	Pr	MR	59	SPS-14	NARC	W	E	R
5	NIBGE	USDA	P	Pr	R	60	SPS-15	NARC	W	E	MR
6	NIBGE	USDA	P	Pr	HR	61	SPS-18	NARC	W	E	R
7	NIBGE	USDA	P	Pr	MR	62	SPS-22	NARC	W	E	R
8	NIBGE	USDA	P	Pr	MR	63	SPS-23	NARC	W	E	R
9	NIBGE	USDA	P	Pr	MR	64	SPS-24	NARC	W	E	R
10	NIBGE	USDA	W	Pr	R	65	SPS-29	NARC	W	E	R
11	NIBGE	USDA	P	E	HR	66	SPS-31	NARC	W	E	MR
12	NIBGE	USDA	P	Pr	HR	67	SPS-33	NARC	W	E	MR
13	NIBGE	USDA	W	E	R	68	SPS-36	NARC	W	E	MR
14	NIBGE	USDA	P	E	R	69	SS-129	NARC	P	SE	MS
15	NIBGE	USDA	P	E	R	70	Amcor	USDA	P	SE	MS
16	NIBGE	USDA	W	E	HR	71	No-7302	USDA	W	SE	HR
17	NIBGE	USDA	W	Pr	R	72	Lochlou	USDA	P	SE	R
18	NIBGE	USDA	W	Pr	R	73	TN-8	USDA	P	SE	S
19	NIBGE	USDA	P	Pr	R	74	Aust-94	USDA	P	SE	MR
20	NIBGE	USDA	W	Pr	R	75	E-1531	USDA	P	E	HR
21	NIBGE	USDA	P	Pr	HR	76	Calland	USDA	W	E	HR
22	NIBGE	USDA	W	Pr	MR	77	No.6	USDA	P	SE	MS
23	NIBGE	USDA	P	Pr	R	78	E-1072	USDA	P	SE	R
24	NIBGE	USDA	W	E	R	79	E-788	USDA	P	SE	R
25	NIBGE	USDA	P	E	R	80	NARC-2	NARC	W	E	HR
26	NIBGE	USDA	P	E	R	81	KYChina 1	China	P	SE	S
27	Faisal-Soy	Faisalabal	W	E	HR	82	Jung Hawang 8	S. Korea	W	SE	MS
28	GP15	NARC	W	E	R	83	Sung Mung 15	S. Korea	P	E	MS
29	GP16	NARC	P	E	R	84	Seatu 18	S. Korea	P	E	S
30	GP18	NARC	W	E	R	85	Sanning	S. Korea	W	E	HS
31	GP21	NARC	P	E	HR	86	3S China	China	W	SE	HS
32	GP25	NARC	W	E	HR	87	Headu	S. Korea	W	SE	HS
33	GP31	NARC	W	Pr	R	88	BRS-8480	Brazil	W	E	HS
34	GP32	NARC	W	E	R	89	BRS-7980	Brazil	W	E	HS
35	GP33	NARC	P	E	R	90	Brazilian-1	Brazil	W	SE	HS
36	GP36	NARC	P	E	HR	91	E1360	USDA	W	SE	HR
37	17423	NARC	P	E	R	92	No-4	USDA	P	E	MS
38	17439	NARC	W	E	R	93	Spark	USDA	P	E	MS
39	17446	NARC	P	E	HR	94	536-2D	USDA	P	E	HR

40	24490	NARC	P	E	R	95	No-12	USDA	P	SE	HR
41	24504	NARC	P	E	HR	96	DB-160	USDA	P	SE	MR
42	24507	NARC	W	E	R	97	SOY-12	S. Korea	P	E	MR
43	24512	NARC	W	E	MR	98	SOY-24	S. Korea	P	E	MR
44	24515	NARC	P	E	R	99	AVRDC1	Taiwan	P	E	HR
45	PGRB-22	NARC	P	E	R	100	AVRDC2	Taiwan	P	E	R
46	PGRB-25	NARC	W	E	R	101	AVRDC4	Taiwan	P	SE	R
47	PGRB-30	NARC	W	E	MR	102	PSC-60	NARC	W	SE	HR
48	PGRB-44	NARC	W	E	R	103	SA-7260	NARC	P	SE	HR
49	PGRB-55	NARC	W	E	R	104	NARC-I	NARC	P	E	S
50	PGRB-59	NARC	W	E	R	105	NARC-III	NARC	W	E	S
51	PGRB-60	NARC	W	E	R	106	NARC-IV	NARC	W	E	R
52	PGRB-70	NARC	W	E	MR	107	NARC-V	NARC	P	E	MR
53	PGRB-83	NARC	P	Pr	R	108	NARC-VI	NARC	P	E	MR
54	PGRB-85	NARC	W	Pr	R	109	NARC-VII	NARC	P	E	MR
55	SPS-1	NARC	W	E	R	110	NARC-2016	NARC	P	E	HR

FC = Màu hoa, W = trắng, P = tím, PHb = kiểu sinh trưởng của cây, E = mọc đứng, Pr = bò, SE = nửa đứng, HR = kháng cao, R = kháng, MR = kháng vừa, MS = nhiễm vừa, S = nhiễm, HS = nhiễm nặng

Sự không có sẵn của đa dạng di truyền bản địa trong đậu tương đòi hỏi phải giới thiệu nó từ các vùng khác nhau để phân tích chi tiết cấu trúc di truyền để lại tạo các giống mới. Nghiên cứu hiện tại tập trung vào mục tiêu làm sáng tỏ sự biến đổi di truyền giữa 110 giống và vật liệu đậu tương cho các bộ mô tả quan trọng về mặt kinh tế cũng như xác định các giống có triển vọng năng suất cao và kháng SMV. Gần đây, các nghiên cứu tương tự đã được thực hiện bởi các giám sát để đánh giá sự biến đổi di truyền ở đậu tương ở các quốc gia khác nhau (Malek và ctv, 2014; Andayanie và ctv, 2017; Oliveira và ctv, 2017). Năng suất đậu tương phụ thuộc vào số quả/cây, khối lượng 100 hạt, số cành cấp 1 và chiều cao cây (Carpenter và Board, 1997; Liu và ctv, 2010). Trong nghiên cứu này, quần thể đậu tương có phương sai và hệ số biến động cao hơn đáng kể đối với các tính trạng này. Điều này ngụ ý sự hiện diện của sự khác biệt di truyền đối với các thông số nông học này có thể được sử dụng làm tiêu chí lựa chọn đồng thời cải thiện năng suất hạt. Trước đây, Arshad và ctv (2006), Malik và ctv (2011) cũng báo cáo sự biến đổi cao hơn đối với các tính trạng số lượng này trong khi nghiên cứu sự biến đổi kiểu hình trong mầm đậu tương. Vì các tính trạng đa gen nên các thông số này rất dễ bị môi trường biến đổi. Tuy nhiên, là thành phần quan trọng của năng suất hạt, sự biến đổi trong các đặc điểm này có thể hữu ích cho việc phát triển các giống năng suất cao (Baig và ctv, 2018). Trong nghiên cứu của chúng tôi, mối tương quan giữa các tính trạng số lượng khác nhau được xác định để phân tích sự liên kết nhằm lựa chọn mẫu hình hiệu quả dựa trên mối liên hệ giữa các tính trạng. Chúng tôi đã quan sát thấy mối tương quan thuận chặt chẽ giữa các yếu tố mô tả hình thái học là thời gian bắt đầu ra hoa, 50% ra hoa, kết thúc ra hoa và ngày đến khi chín. Những kết quả này phù hợp với Malek và ctv, (2014) trong khi nghiên cứu sự phân hóa di truyền và liên kết tính trạng ở các giống đậu tương đột biến. Arshad và ctv (2006) đã báo cáo mối liên hệ có ý nghĩa mạnh mẽ giữa số ngày đến khi chín, cành cấp 1/cây và số quả/cây trong khi mối liên hệ âm giữa số ngày đến khi chín, số ngày đến khi ra hoa kết thúc, khối lượng 100 hạt và năng suất hạt đã được tìm thấy. Tương tự như vậy, họ đã báo cáo mối tương quan thuận có ý nghĩa cao giữa số quả/cây, số cành cấp 1/ cây và trọng lượng 100 hạt. Những kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Kumar và ctv (2019) đã xác nhận kết quả của chúng tôi trong khi điều tra mối liên hệ giữa năng suất đậu tương và các đặc điểm liên quan trong điều kiện phía tây Himalaya. Các nhà chọn giống đậu tương bắt buộc phải lựa

chọn tiêu cực các tính trạng có mối quan hệ bất lợi với năng suất hạt giống và đề ra các chiến lược để phá vỡ các liên kết không mong muốn. Các nhà nghiên cứu đã sử dụng rộng rãi các phân tích đa biến về dữ liệu hình thái thực vật để ước tính sự biến đổi di truyền ở các loại cây trồng khác nhau (Arif và ctv, 2015; Saleem và ctv, 2017; Shah và ctv, 2018; Khurshid và ctv, 2019). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phân tích thành phần chính (PCA) cho các tính trạng số lượng để chỉ ra sự biến đổi trong đậu tương và giải thích khả năng tương tác của các tính trạng hoặc biến số này. Hai thành phần chính đầu tiên (PC) cho thấy tổng số 51% biến đổi chủ yếu ở các tính trạng đa gen cao như chiều cao cây, số quả/cây, số cành cấp 1/cây, năng suất hạt và khối lượng 100 hạt. Do đó, những đặc điểm này có thể được đặc trưng hoàn hảo như những ứng cử viên lý tưởng cho các tiêu chí lựa chọn trong một chương trình chọn giống. Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả của Khan và ctv (2014) khi họ sử dụng PCA trên 11 dữ liệu về tính trạng số lượng của 115 mẫu giống đậu tương, trong đó hai PC đầu tiên đã phân tích 55% tổng số biến thể kiểu hình. Malek và ctv (2014) cũng báo cáo mô hình biến động tương tự giữa các tính trạng số lượng của quần thể đậu tương. Các vectơ biến số trong biplot chỉ ra mối quan hệ chặt chẽ giữa các tính trạng quan trọng như hàm lượng dầu, cành cấp 1/cây và khối lượng 100 hạt. Véc tơ cho năng suất hạt được vẽ song song với chiều cao cây và số quả/cây. Điều này ngụ ý rằng các chọn lọc mới trong mầm đậu tương nên được hướng đến số cành và số quả/cây cao hơn để tạo ra các giống năng suất cao với hàm lượng dầu tốt hơn. Zhao và ctv (2007) đã sử dụng PCA để điều tra sự đa dạng về kiểu hình của các giống đậu tương và kết quả của họ đã hỗ trợ cho những phát hiện của chúng tôi. Trong từng cá thể, tất cả 110 giống được phân tán trên bốn góc phân tử cho thấy sự đa dạng. Mô hình phân bố của các giống đậu tương trong lô được tìm thấy là do nguồn gốc tương ứng của chúng, tức là các giống từ NIBGE và NARC được giải quyết chặt chẽ do có thể có liên quan đến nhau về mặt di truyền. Shah và ctv (2018) đã báo cáo xu hướng tương tự của các giống để kết thúc chặt chẽ trong nhóm PCA dựa trên nguồn gốc chung hoặc Viện phát triển. Dữ liệu tính trạng số lượng được sử dụng để phân nhóm giống bằng cách sử dụng phân nhóm thứ bậc. Nhìn chung, quần thể được nghiên cứu được phân bố thành năm nhóm chính trên cơ sở tương đồng về hình thái học. Sự biến đổi các tính trạng là cành cấp 1/cây, chiều cao cây, số ngày đến khi chín, năng suất hạt, số quả/cây và khối lượng 100 hạt là công cụ để phân nhóm giống. Malek và ctv (2014) đã phát hiện thấy mô hình tương tự về khoảng cách Euclide được phân nhóm trong số 27 đột biến đậu tương đối với sự biến đổi kiểu hình và hình thái. Ojo và ctv (2012) phát hiện đã hỗ trợ kết quả của chúng tôi khi họ quan sát thấy sự đa dạng giữa 40 giống đậu tương về các đặc điểm hình thái và thu được bảy nhóm. Các nghiên cứu trước đây về cấu trúc quần thể đậu tương (Harer và Deshmukh, 1992; Cui và ctv, 2001; Aditya và ctv, 2011) cũng báo cáo mức độ biến đổi hình thái cao và được chứng thực với kết quả của chúng tôi. Hơn nữa, chúng tôi quan sát thấy rằng mô hình phân nhóm trong nghiên cứu hiện tại tương quan với nguồn gốc của kiểu gen hoặc giống, tức là, vật liệu từ USDA hoặc các giống của Chương trình Nghiên cứu Hạt có dầu, NARC Islamabad thường nằm trong một lớp phủ chung. Những phát hiện này trước đó cũng đã được báo cáo bởi Perry và McIntosh (1991). Mối quan hệ này có thể là do nền tảng di truyền tương tự vì các giống khác nhau được phát triển tại cùng một Viện nghiên cứu trước đó đã được phát hiện có chung một phả hệ (Westman và Kresovich, 1999; Khurshid và ctv, 2019).

Virus khảm đậu tương là một trong những mầm bệnh nguy hiểm nhất có thể gây tổn thất đến 94% sản lượng hạt đậu tương. Là một thách thức lớn đối với các nhà chọn giống sản xuất hạt giống theo truyền thống tập trung vào việc khai thác khả năng kháng bệnh di truyền ở đậu tương (Kang và ctv, 2005; Klepadlo và ctv, 2016). Chúng tôi đã đánh giá

110 vật liệu về khả năng kháng gen chống lại sự phổ biến của SMV trên thực địa. Khả năng gây bệnh của virus khác nhau đối với vật liệu được nghiên cứu từ mức độ nhiễm nặng đến mức độ đề kháng cao. Các chiến lược sàng lọc tương tự chống lại độc lực của virus khảm đã được các nhà nghiên cứu áp dụng để xác định tính kháng thuốc trong các quần thể đậu tương lớn (Asad và ctv, 2006; Gadde, 2006; Khan và ctv, 2013; Baruah và ctv, 2014). Chúng tôi đã báo cáo tổng số 42% giống kháng, tiếp theo là 20% kháng cao và 21% kháng vừa. Tỷ lệ nhiễm cao là 5,5% trong khi nhiễm vừa và nhiễm được quan sát thấy lần lượt ở 6,4% và 4,5% giống. Các giống từ NARC được phát hành vào năm 1990 được phát hiện là có khả năng kháng vừa, ngoại trừ NARC-II và Ajmeri được phát hiện có khả năng kháng cao. NARC-I và NARC-III nhiễm với bệnh có thể do mất chức năng sống trong các giống này hoặc do sự thích nghi và tiến hóa của kiểu bệnh mới (Khan và ctv, 2016). Các giống từ Hàn Quốc (Sanning, Headu), từ Trung Quốc (3S Trung Quốc) và từ Brazil (BRS8480, BRS7980) rất nhạy cảm với tính kháng virus khảm đậu tương và cũng cho thấy các triệu chứng của virus lùn hại đậu tương (SbDV). Gần 13% mầm NIBGE từ ngân hàng gen USDA được đặc trưng là có khả năng chống lại SMV, tiếp theo là 5% là có khả năng kháng cao. Do đó, vật liệu này có thể được sử dụng để tạo hình tháp gen chống lại virus khảm trên cây đậu tương. Arif và ctv (2000) đã sàng lọc các giống đậu tương về khả năng kháng virus khảm đậu tương và báo cáo có 9 giống có khả năng kháng. Chúng tôi nhận thấy rằng các giống kháng SMV có năng suất hạt và hàm lượng dầu cao. Những kết quả này phù hợp với Andayanie và ctv, (2017) khi họ sàng lọc quần thể giống đậu tương kháng virus khảm và báo cáo năng suất hạt cao hơn có liên quan chặt chẽ với khả năng kháng bệnh. Hơn nữa, để xác nhận việc chọn lọc, khả năng kháng bệnh cần được điều tra kỹ lưỡng bằng cách phân tích kiểu hình và gen chi tiết.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã báo cáo sự biến đổi di truyền đáng kể trong các đặc điểm nông học quan trọng về mặt kinh tế, tức là quả/cây, năng suất hạt kg/ha, trọng lượng 100 hạt và chiều cao cây. Hơn nữa, đánh giá kiểu hình đối với tính kháng virus khảm đậu tương đã xác định được các giống du nhập và địa phương có khả năng kháng hoặc chống chịu với virus khảm đậu tương. Chủ yếu là các giống có nguồn gốc Trung Quốc, Hàn Quốc và Brazil, tức là Sanning, 3S China, Headu, BRS-8480 và BRS-7980 rất nhạy cảm với SMV. Hơn nữa, các giống như 24515, GP-25, Faisal-Soy và NARC-2016 được cho là có năng suất cao và kháng bệnh. Các giống này có thể được các nhà nghiên cứu và nhà lai tạo sử dụng để cải thiện giống đậu tương. Chúng tôi khuyến nghị rằng các nghiên cứu sâu hơn nên được tiến hành để điều tra cơ sở phân tử của khả năng đề kháng chống lại các virus khảm đang phát triển.

https://www.researchgate.net/publication/340182933_Intraspecific_Variation_in_Soybean_Glycine_max_Revealed_by_Multivariate_Approaches_to_Morphometric_Traits_and_Soybean_Mosaic_Virus_Resistance