

## ASSESSMENT OF GENETIC VARIATION OF TOBACCO GENOTYPES (*Nicotiana tabacum*) IN VIETNAM BASED ON AGRO-MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND SSR MARKERS

Nguyen Hong Nhung<sup>1</sup>, Tran Thi Thanh Hao<sup>2</sup>, Nguyen Van Van<sup>2</sup>, Ho Manh Tuong<sup>1</sup>,  
Tran Thi Huyen<sup>1</sup>, Nguyen Dinh Trong<sup>1</sup>, Chu Hoang Ha<sup>1</sup>, Do Tien Phat<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology – VAST, <sup>2</sup>Tobacco Institute One member Company Limited

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 02/5/2022	Tobacco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) is an important non-crop cultivated worldwide including Vietnam. Plant morphology, agronomic traits and chemical components have been mainly used recently for tobacco selection and breeding programs in Vietnam. Molecular markers have been successfully developed and used for tobacco improvement worldwide, but the reports on utilizing these markers for Vietnamese tobacco cultivars are very limited. In this study, variation of 71 local tobacco genotypes was assessed basing 16 important agromorphological traits and 5 SSR markers. The classification based on the agromorphological traits revealed three distinguishable groups with differences in the total leaf number, the leaf length and width as well as the fresh and dry leaf weight. The SSR results showed a great genetic diversity among the tested tobacco population. Particularly, the Shannon's diversity index ( <i>I</i> ) and Unbiased Expected Heterozygosity ( <i>Uhe</i> ) values were more than 0.5. Interestingly, the classification of tested tobacco based on the SSR markers was highly consistent with the results of the agromorphological division, especially for yield-related traits. Our results provide a potential to develop and utilize the SSR markers for tobacco breeding programs in near future.
Revised: 14/7/2022	
Published: 14/7/2022	

### KEYWORDS

Gene resources  
Morphological markers  
SSR markers  
Genetic diversity  
*Nicotiana tabacum*

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG NGUỒN GEN THUỐC LÁ (*Nicotiana tabacum*) TẠI VIỆT NAM DỰA TRÊN ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR

Nguyễn Hồng Nhung<sup>1</sup>, Trần Thị Thanh Hảo<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Vân<sup>2</sup>, Hồ Mạnh Tường<sup>1</sup>,  
Trần Thị Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Đình Trọng<sup>1</sup>, Chu Hoàng Hà<sup>1</sup>, Đỗ Tiến Phát<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Công ty TNHH Một thành viên Viện Thuốc lá

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 02/5/2022	Thuốc lá ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) là một trong những cây công nghiệp quan trọng ở Việt Nam. Hiện nay, công tác tuyển chọn, lai tạo giống thuốc lá ở nước ta chủ yếu dựa trên các đặc điểm hình thái và các tiêu chí chất lượng. Việc phát triển và ứng dụng các chỉ thị phân tử đã mang lại nhiều thành công trong chọn tạo giống thuốc lá trên thế giới, tuy nhiên các nghiên cứu ở Việt Nam vẫn còn rất hạn chế. Trong nghiên cứu này, chúng tôi kết hợp 16 đặc điểm hình thái và 5 chỉ thị phân tử SSR để đánh giá sự đa dạng của 71 nguồn gen thuốc lá Việt Nam. Kết quả đánh giá dựa trên đặc điểm hình thái cho thấy các dòng thuốc lá được phân chia thành 3 nhóm với sự khác biệt về các đặc điểm hình thái quan trọng như tổng số lá, chiều dài, rộng của lá, khối lượng lá khô và tươi. Ở kết quả đánh giá đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR, 71 nguồn gen thuốc lá nghiên cứu có tính đa dạng cao với chỉ số đa dạng di truyền Shannon ( <i>I</i> ) và giá trị khác biệt di truyền ( <i>Uhe</i> ) đều lớn hơn 0,5. Đáng chú ý, kết quả phân nhóm thông qua chỉ thị phân tử SSR có mức độ tương đồng cao với cách chia nhóm dựa trên đặc điểm hình thái, đặc biệt là chỉ tiêu năng suất. Điều này cho thấy tiềm năng phát triển và ứng dụng các chỉ thị phân tử SSR trong hỗ trợ công tác chọn tạo giống thuốc lá ở Việt Nam trong tương lai.
Ngày hoàn thiện: 14/7/2022	
Ngày đăng: 14/7/2022	

### TỪ KHÓA

Nguồn gen  
Đặc điểm hình thái  
Chỉ thị SSR  
Đa dạng di truyền  
*Nicotiana tabacum*

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5932>

\* Corresponding author. Email: [dtpat@ibt.ac.vn](mailto:dtpat@ibt.ac.vn)

## 1. Giới thiệu

Thuốc lá (*Nicotiana tabacum*) là cây công nghiệp quan trọng với giá trị kinh tế cao trên thế giới cũng như ở Việt Nam [1], [2]. Tại Việt Nam, công tác nhập nội và lai tạo giống thuốc lá năng suất chủ yếu dựa trên các đặc điểm hình thái nhưng cho kết quả hạn chế, đồng thời tốn nhiều thời gian và công sức. Vì vậy, việc phát triển các công cụ sinh học phân tử kết hợp với phân tích hình thái trong chọn, tạo giống thuốc lá là chiến lược tiềm năng và đang được quan tâm trong những năm gần đây. Các trình tự lặp lại đơn giản (SSR), được biết đến như là các chỉ thị phân tử hiệu quả đã được ứng dụng trong các nghiên cứu về đa dạng di truyền và chọn tạo giống thuốc lá [3], [4]. Yang và đồng tác giả (2020) ghi nhận 5 trên 7 chỉ thị SSR được thử nghiệm cho tính đa dạng di truyền với 10 giống thuốc lá phân tích [5]. Ngoài ra, 120 chỉ thị SSR cũng đã được phát triển và sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền của 231 dòng thuốc lá trong nghiên cứu của Tong và đồng tác giả [4]. Gần đây, một số nghiên cứu đã xây dựng và phát triển các chỉ thị SSR có tính tương quan cao với các tính trạng hình thái và ứng dụng trong chọn tạo giống cây trồng, trong đó có cây thuốc lá [6]. Điển hình, nghiên cứu của Darvishzadeh và đồng tác giả (2013) trên 35 giống thuốc lá với 8 đặc điểm kiểu hình và 13 chỉ thị SSR cho thấy có sự tương đồng cao về kết quả phân nhóm [6]. Ở Việt Nam, việc kết hợp kết quả phân tích đa dạng quần thể dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử đã rút ngắn thời gian cũng như nâng cao hiệu quả lai tạo giống ngô, bơ [7], [8]. Tuy nhiên, các nghiên cứu sử dụng chỉ thị phân tử để đánh giá đa dạng di truyền của các giống thuốc lá vẫn còn rất hạn chế. Hiện nay, chưa có công bố nào về đánh giá tương quan chỉ thị phân tử SSR và các đặc điểm hình thái trên các giống thuốc lá tại Việt Nam. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 16 đặc điểm hình thái và 5 chỉ thị SSR để đánh giá sự đa dạng của 71 nguồn gen thuốc lá đang lưu giữ tại Viện thuốc lá, đồng thời phân tích sự tương quan của hai loại chỉ thị này.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu: 71 dòng thuốc lá được cung cấp bởi Công ty TNHH một thành viên Viện Thuốc lá với các thông tin về đặc điểm hình thái điển hình (Bảng 1). Các chỉ thị SSR (Bảng 2) liên kết với một số đặc điểm nông sinh học điển hình trên một số giống thuốc lá được tham khảo trong các nghiên cứu trước đây [5].

**Bảng 1.** Thông tin về 16 đặc điểm hình thái của 71 giống thuốc lá nghiên cứu

STT	Tính trạng	Giá trị thấp nhất	Giá trị lớn nhất	Giá trị trung bình
1	Chiều cao sinh học cả chùm hoa (cm)	119,0	238,1	173,5±23,71
2	Chiều cao sinh học (không bao gồm chùm hoa) (cm)	86,0	216,8	138,38±25,94
3	Tổng số lá trên cây (lá)	12,6	35,5	19,74±4,35
4	Dài lá (cm)	36,9	72,6	62,36±7,47
5	Rộng lá (cm)	14,4	39,7	30,86±5,45
6	Góc gân (độ)	39,5	87,1	67,14±11,77
7	Góc lá đóng thân (độ)	36,8	70,1	49,37±7,4
8	Khối lượng lá tươi (gram)	12,0	79,0	49,23±13,29
9	Khối lượng lá khô (gram)	1,8	8,9	6,3±1,7
10	Tỷ lệ lá tươi/khô	6,3	9,5	7,96±0,78
11	Tỷ lệ cọng lá (%)	20,0	40,0	27,59±4,1
12	Tỷ lệ lá cấp 1 và 2 (%)	11,0	90,0	51,84±14,9
13	Đường kính thân (cm)	1,8	3,9	2,73±0,37
14	Độ dài lông (cm)	3,7	9,9	6,67±1,5
15	Năng suất khô thực thu (tấn/ha)	0,6	2,0	1,14±0,28
16	Năng suất khô lý thuyết (tấn/ha)	0,6	3,0	1,66±0,48

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số: Mẫu lá non của 71 giống thuốc lá được tách chiết DNA theo phương pháp CTAB của Ziegenhagen và cộng sự (1993) với một số cải tiến [9]. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA được kiểm tra trên gel agarose 0,8% và quang phổ hấp phụ OD<sub>260/280</sub> sử dụng hệ thống NanoDrop Lite (Thermo scientific, USA). DNA được pha loãng về nồng độ 100 ng/μl và sử dụng trong các PCR.

Phân tích các đặc điểm hình thái: 16 đặc điểm hình thái được mã hóa, sử dụng phần mềm NTSYS để xây dựng cây phả hệ SAHN dựa vào hệ số tương đồng Jaccard và phương pháp UPGMA để phân nhóm [6], [8].

Phân tích các chỉ thị SSR: PCR-SSR của 71 giống thuốc lá với 5 cặp mồi SSR (Bảng 2) được thực hiện trên máy Veriti™ 96 well thermal Cycler (Applied Biosystems, USA), quy trình chạy PCR được thực hiện theo phương pháp của Darvishzadeh và cộng sự (2013) [6]. Sản phẩm PCR-SSR được phân tích thông qua phương pháp điện di trên gel polyacrylamide 15% với đệm 1X TBE, sau đó bản gel sẽ được soi dưới đèn UV và chụp ảnh [6].

**Bảng 2.** Thông tin các cặp mồi SSR sử dụng để đánh giá đa dạng của 71 dòng thuốc lá [5]

STT	Tên chỉ thị	Kiểu lặp	Trình tự mồi (5'-3')
1	TM10481	ATA	CGATTGGTCGCGAATTTACT CGCATCTTTCGTCCTCTGA
2	PT54964	TA	GAGAACCGTACGTTGGTCAAA TTCTTCCTATTCGGTGTTCCTGA
3	TM20580	ACA	TGGAAACGTTTGTCTAAGGGTA GTGCAACGTGGACATTTGAA
4	TM10846	GAA	AGCAGAGCTGCCTATGGAAA AAGATTTGATCGCTGCGTTT
5	PT60728	CA	TGAGTATTCGCACGCACAGT CCACAGTTCCTCTCAGCGTT

Các băng vạch sản phẩm SSR được mã hóa để phân tích sự đa dạng di truyền trên phần mềm Microsoft Excel 2016 và biểu đồ quan hệ di truyền giữa các nguồn gen thuốc lá được xây dựng bằng phần mềm NTSYS 2.02. Để đánh giá hiệu quả phân tích của các chỉ thị SSR, lượng thông tin về tính đa hình PIC (Polymorphic Information Content) hay hệ số đa hình di truyền cho mỗi locus (i) được tính theo công thức  $PIC(i) = 1 - \sum P_{ij}^2$  (trong đó:  $P_{ij}$  là tần suất allen thứ j với locus thứ i) [10]. Phân nhóm dựa trên hệ số tương đồng Jaccard: sau khi các mẫu nghiên cứu được xử lý với phần mềm NTSYS 2.02 để tính hệ số tương đồng di truyền và lập biểu đồ quan hệ di truyền giữa các đối tượng nghiên cứu [11]. Các thông số đa dạng di truyền như số allele trung bình (Na), số allele hiệu quả (Ne), chỉ số đa dạng di truyền Shannon (I) dựa trên phần mềm GenAlEx4 [12].

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Đa dạng của các dòng thuốc lá theo đặc điểm hình thái

#### 3.1.1. Phân tích một số đặc điểm hình thái quan trọng

Số lá là một chỉ tiêu hình thái quan trọng trong số các tính trạng cấu thành nên năng suất của cây thuốc lá thương phẩm [13]. Đối với các nguồn gen thuốc lá được lưu giữ tại Viện nghiên cứu thuốc lá, trong điều kiện trồng trọt thông thường, tổng số lá dao động 16-25 lá và chỉ có 4 dòng thuốc lá có tổng số lá nằm trong khoảng 32-38. Chiều dài lá của các dòng thuốc lá phân bố tập trung ở khoảng 62-72 cm, trong khi chiều rộng lá phân bố đều trong khoảng 26-43 cm. Các tính

trạng kiểu hình khác bao gồm góc gân, góc lá đóng thân, khối lượng lá tươi, khối lượng lá khô, tỷ lệ lá tươi/khô, tỷ lệ cọng lá, tỷ lệ lá cấp 1 và cấp 2 cũng có khoảng biến động lớn (Bảng 1). Sự biến động các tính trạng kiểu hình cũng được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây [6].

### 3.1.2. Mối tương quan của 71 nguồn gen thuốc lá thông qua các đặc điểm hình thái

Nghiên cứu trước đây cho thấy sự phân nhóm dựa trên các đặc điểm hình thái phù hợp với sự phân bố của các dòng thuốc lá theo địa điểm trồng và các đặc tính sinh trưởng [6]. Trong nghiên cứu này, thông tin về tính trạng kiểu hình được chúng tôi thu thập và phân tích theo cây phả hệ SAHN dựa vào hệ số tương đồng Jaccard và phương pháp UPGMA [6], [8]. Cây phân nhóm theo tính trạng kiểu hình của 71 nguồn gen thuốc lá được trình bày ở Hình 1.

Dựa theo đặc điểm kiểu hình, 71 dòng thuốc lá được chia thành 3 nhóm chính gồm nhóm I (38 dòng), nhóm II (29 dòng) và nhóm III (4 dòng) (Hình 2; Bảng 4). Trong đó, nhóm I bao gồm 4 nhóm phụ: Ia gồm 13 dòng, Ib gồm có 15 dòng, Ic gồm 5 dòng và nhóm Id gồm 5 dòng. Nhóm II được chia thành 2 nhóm phụ: IIa gồm 22 dòng, IIb gồm 7 dòng. Trong khi đó, nhóm III chỉ bao gồm 4 dòng. Phân tích hình thái cho thấy, các mẫu được chia theo các phân nhóm trên cây phân loại có liên quan trực tiếp tới các đặc điểm hình thái như độ dài lá, độ rộng lá, khối lượng lá tươi, khối lượng lá khô, năng suất lá khô. Trong đó, các dòng có năng suất cao nhất tập trung ở nhóm I (ví dụ dòng Vir4241-3, Kussaga\_51E, SPG140, Vir315, Coker\_213, Coker\_251, PMRR-4, vv..), tiếp đó là nhóm II và thấp nhất ở nhóm III.

## 3.2. Đa dạng di truyền của 71 dòng thuốc lá thông qua chỉ thị SSR

### 3.2.1. Đa hình các chỉ thị SSR

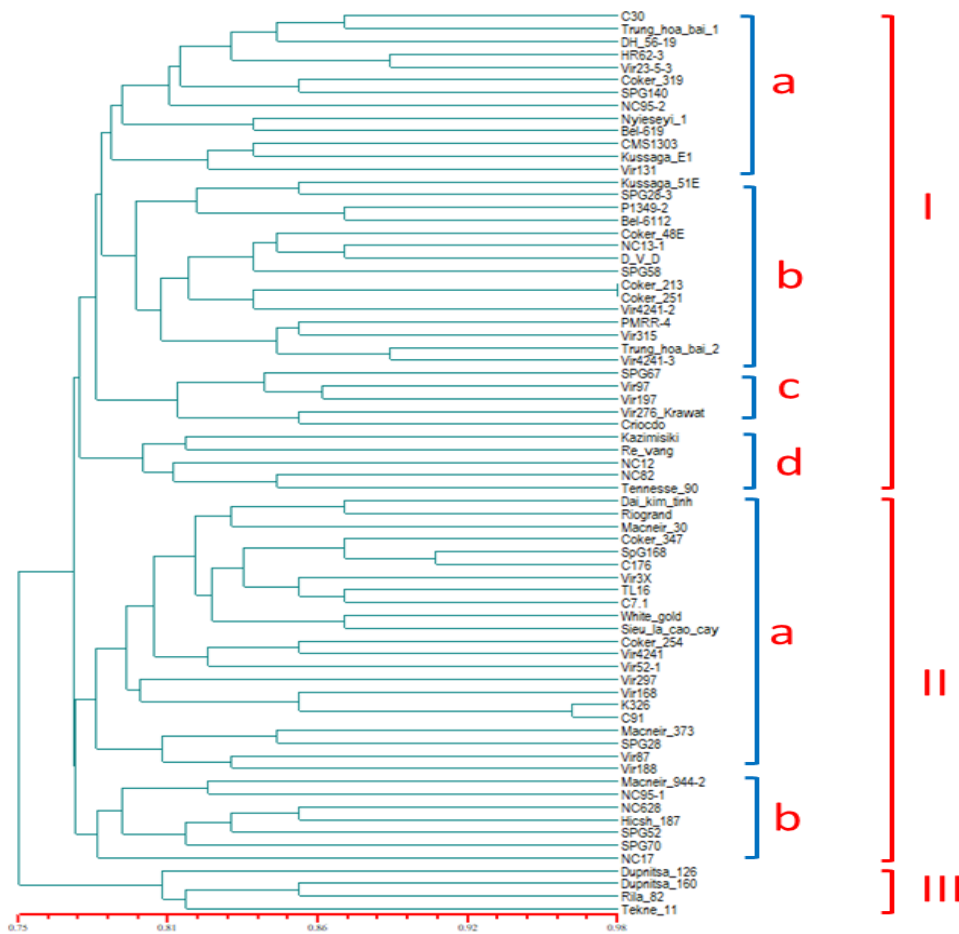
**Bảng 3.** Kết quả phân tích 71 giống thuốc lá với 5 chỉ thị SSR

Locus	Kích thước (bp)	Phân đoạn đa hình	Phân đoạn đơn hình	% phân đoạn đa hình	PIC	I	Uhe	F
TM10481	150-189	3	0	100	0,86	0,985	0,592	0,832
PT54964	216-288	4	0	100	0,89	0,868	0,544	-0,850
TM20580	148-151	2	0	100	0,72	0,630	0,441	1,000
TM10846	121-252	3	0	100	0,91	1,075	0,636	-0,584
PT60728	161-230	4	0	100	0,94	1,374	0,749	-0,344
<b>Tổng</b>		<b>16</b>						
<b>Trung bình</b>		<b>3,4</b>	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>0,864</b>	<b>0,987</b>	<b>0,593</b>	<b>0,011</b>

Khi phân tích 71 dòng thuốc lá với 5 chỉ thị SSR, chúng tôi thu được tổng số 16 alen với kích thước dao động từ 121 đến 288 bp (Bảng 3). Đặc biệt, toàn bộ 16 alen thu được đều ghi nhận sự đa hình giữa các mẫu thuốc lá phân tích. Hàm lượng thông tin đa hình PIC cao và nằm trong khoảng từ 0,72 đến 0,91. Giá trị PIC trung bình của các chỉ thị SSR trong nghiên cứu này (0,864) cao hơn so với các nghiên cứu trước đây trên thuốc lá (0,3603 - 0,538) [14], [15]. Tuy nhiên, số alen trung bình trên mỗi locus (3,4) thấp hơn so với hầu hết các kết quả đã công bố (6,84 - 14,7) [14], [16]. Ngoài ra, các giá trị PIC đều lớn hơn 0,5 cho thấy 5 chỉ thị này rất có giá trị trong phân tích đa dạng di truyền của 71 dòng thuốc lá nghiên cứu.

### 3.2.2. Quan hệ di truyền của 71 dòng thuốc lá thông qua các chỉ thị SSR

Đặc điểm quan hệ di truyền rất cần thiết trong việc lai tạo và chọn giống cây trồng. Các nhóm xa nhau về mặt di truyền có thể trở thành bố và mẹ tiềm năng trong công tác lai tạo [17]. Vì vậy, cùng với phân tích tương quan kiểu hình của các dòng thuốc lá, chỉ thị SSR tiếp tục được sử dụng để đánh giá độ đa dạng di truyền của các mẫu nghiên cứu này (Bảng 3, Hình 2).

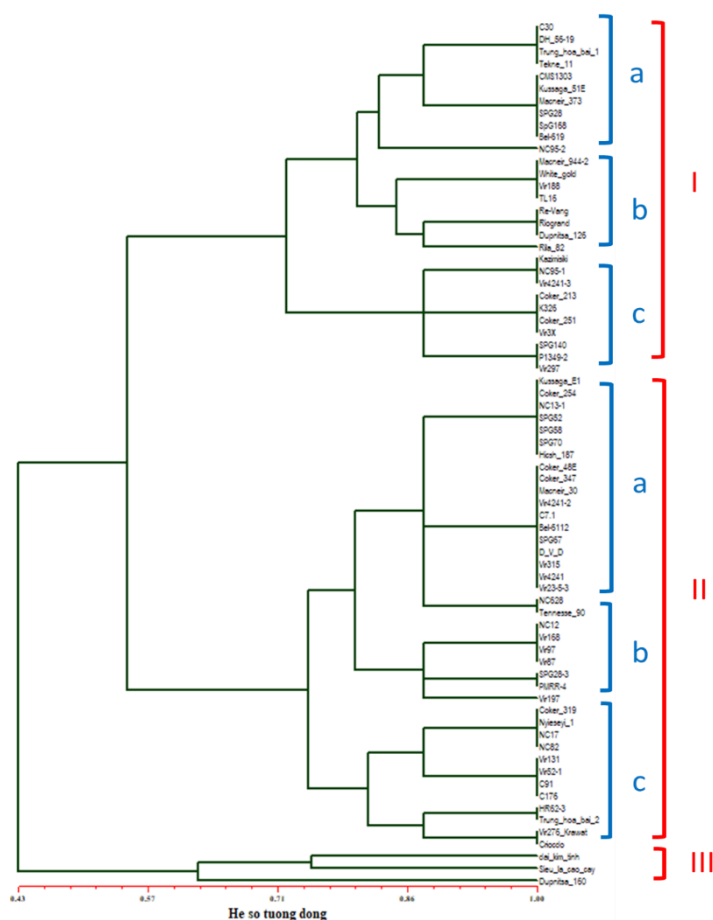


**Hình 1.** Biểu đồ phân nhóm thể hiện sự tương đồng của 71 dòng thuốc lá dựa trên 16 chỉ tiêu hình thái

Chỉ số đa dạng di truyền *Shannon* ( $I$ ) nằm trong khoảng 0,630 đến 1,374 với giá trị trung bình đạt 0,986 (Bảng 4). Kết quả này có sự tương đồng và biến động so với các nghiên cứu gần đây trên thuốc lá. Cụ thể, chỉ số  $I$  trung bình lớn hơn so với kết quả nghiên cứu của He và đồng tác giả (2020) với  $I = 0,7228$  [15]. Tuy nhiên, với giá trị số  $I > 0,5$  cho thấy quần thể mẫu nghiên cứu chưa có nguy cơ cận huyết và an toàn để tạo các tổ hợp lai. Ngoài ra, chỉ số cố định trung bình ( $F$ ) đạt 0,011, cho thấy các dòng thuốc lá nghiên cứu có mức độ đa dạng di truyền cao. Mặc dù vậy, chỉ số  $F > 0$  phản ánh tình trạng suy giảm đa dạng sinh học trong quần thể mẫu thuốc lá nghiên cứu. Giá trị khác biệt di truyền ( $Uhe$ ) đạt từ 0,441 đến 0,749 với trung bình đạt 0,593. Giá trị  $Uhe > 0,5$  tương đương nghiên cứu của Fricano và cộng sự (2012) (0,59), một lần nữa cho thấy các dòng thuốc lá nghiên cứu có sự đa dạng cao về di truyền [16].

Cây phân loại di truyền của 71 dòng thuốc lá dựa trên 5 chỉ thị được chia thành 3 nhóm chính: nhóm I (29 dòng), nhóm II (39 dòng) và nhóm III (3 dòng) (Hình 2; Bảng 4). Trong đó, nhóm I bao gồm 3 nhóm phụ: Ia gồm 11 dòng, Ib gồm 8 dòng. Nhóm II bao gồm 2 nhóm phụ: IIa gồm 20 dòng, IIb gồm 7 dòng.

Từ kết quả phân nhóm dựa trên đặc điểm hình thái và đặc điểm di truyền thông qua các chỉ thị SSR, chúng tôi ghi nhận các dòng thuốc lá có sự khác biệt lớn và có giá trị trong công tác lai tạo, chọn dòng thuốc lá phục vụ sản xuất trong tương lai.



Hình 2. Cây phân loại di truyền của 71 dòng thuốc lá dựa trên 5 chỉ thị SSR

### 3.3. Tương quan giữa đặc điểm hình thái và đặc điểm di truyền của 71 dòng thuốc lá nghiên cứu

Kết quả phân tích sự giống và khác nhau của 71 dòng thuốc lá dựa trên cây phân loại được lập theo đặc điểm hình thái và theo chỉ thị SSR được thể hiện trên Bảng 4. Trong đó, 14 dòng cùng thuộc nhóm I (C30, CMS1303, Kazimisiki, Kussaga\_E51, Coker\_213, Coker\_251, NC95-2, SPG140, P1349-2, DH\_56-19, Trung\_hoa\_bai\_1, Vir4241-3, Bel-619, Re\_vang) và 16 dòng thuộc nhóm II (Coker\_347, Coker\_254, Macneir\_30, NC17, SPG52, SPG58, SPG70, Hicsh\_187, Vir87, Vir168, Vir4241, Vir52-1, C7.1, C176, C91) theo cách phân nhóm của cả đặc điểm hình thái và SSR. Kết quả cũng cho thấy, kết quả phân nhóm 71 dòng thuốc lá dựa theo 5 chỉ thị SSR có độ tương quan cao với kết quả phân tích với 16 chỉ thị kiểu hình. Cụ thể, phần lớn các dòng thuốc lá nằm trong các nhóm dựa theo kết quả phân tích chỉ thị SSR có độ tương đồng cao về các đặc điểm hình thái như độ dài lá, độ rộng lá, khối lượng lá tươi, khối lượng lá khô, năng suất lá khô. Trong đó, các dòng nằm trong nhóm I có các giá trị về hình thái lớn nhất, các dòng cây ở nhóm II mang giá trị trung bình và thấp nhất ở nhóm III. Điều này cho thấy giá trị của các chỉ thị SSR này cho công tác đánh giá đa dạng di truyền và chọn tạo giống thuốc lá. Kết quả đánh giá đa dạng của 71 dòng thuốc lá này kết hợp giữa đặc điểm hình thái và chỉ thị SSR phù hợp với các nghiên cứu trước đó [6]-[8]. Cụ thể các nghiên cứu trước đây trên thuốc lá, ngô, bơ cũng cho kết quả phân nhóm theo kiểu hình và chỉ thị SSR có sự tương đồng cao.

**Bảng 4.** Sự giống và khác nhau của 71 dòng thuốc lá dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị SSR

Kí hiệu dòng	HT	SSR	Kí hiệu dòng	HT	SSR	Kí hiệu dòng	HT	SSR	Kí hiệu dòng	HT	SSR
C30	I	I	NC17	II	II	Trung_hoa_bai_2	I	II	Bel-6112	I	II
CMS1303	I	I	NC82	I	II	Vir23-5-3	I	II	Bel-619	I	I
Dai_kim_tinh	II	III	NC95-1	II	I	Vir276_Krawat	I	II	Re_vang	I	I
Kazimisiki	I	I	NC95-2	I	I	Vir297	II	I	Sieu_la_cao_cay	II	III
Kussaga_E1	I	II	NC628	II	II	Vir131	I	II	Dupnitsa_126	III	I
Kussaga_51E	I	I	SPG28	II	I	Vir315	I	II	Dupnitsa_160	III	III
Coker_319	I	II	SPG28-3	I	II	White_gold	II	I	Rila_82	III	I
Coker_48E	I	II	SPG52	II	II	D_V_D	I	II	Tekne_11	III	I
Coker_213	I	I	SPG58	II	II	Vir3X	II	I	Criocdo	I	II
Coker_251	I	I	SPG67	I	II	Vir87	II	II	Riogrand	II	I
Coker_347	II	II	SPG70	II	II	Vir97	I	II	Tennessee_90	I	II
Coker_254	II	II	SPG140	I	I	Vir197	I	II	TL16	II	I
Macneir_30	II	II	HR62-3	I	II	Vir168	II	II	C7.1	II	II
Macneir_373	II	I	Hicsh_187	II	II	Vir188	II	I	SpG168	II	I
Macneir_944-2	II	I	P1349-2	I	I	Vir4241	II	II	C176	II	II
Nyieseyi_1	I	II	DH_56-19	I	I	Vir4241-2	I	II	K326	II	I
NC12	I	II	PMRR-4	I	II	Vir4241-3	I	I	C91	II	II
NC13-1	I	II	Trung_hoa_bai_1	I	I	Vir52-1	II	II			

Kí hiệu: HT-nhóm được lập theo đặc điểm hình thái; SSR- nhóm được lập theo chỉ thị SSR

#### 4. Kết luận

Dựa trên 16 đặc điểm hình thái và 5 chỉ thị SSR, 71 dòng thuốc lá ở Việt Nam có tính đa dạng cao và có giá trị trong công tác lai tạo và chọn dòng thuốc lá năng suất tốt phục vụ sản xuất. Kết quả phân nhóm các dòng thuốc lá dựa trên 5 chỉ thị SSR có sự tương đồng cao với phân nhóm dựa trên các đặc điểm hình thái, cho thấy tiềm năng ứng dụng các chỉ thị phân tử này phục vụ cho công tác đánh giá đa dạng di truyền và chọn giống thuốc lá ở nước ta.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu được thực hiện bởi kinh phí của nhiệm vụ “Đánh giá nguồn gen cây thuốc lá” cấp Bộ Công Thương năm 2021 (HĐ số 036.2021.QUYGEN.BO/HĐKH-CN).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Food and Agriculture Organization, “Food and Agricultural Commodities Production,” 2016. [Online]. Available: <http://www.fao.org/faostat>. [Accessed Feb. 8, 2020].
- [2] Data of main industrial products, “General Statistics Office,” 2019. [Online]. Available: <https://www.gso.gov.vn/cong-nghiep/>. [Accessed Jan. 21, 2022].
- [3] S. Doganla, A. Frary, M. C. Daunay, R. N. Lester, and S. D. Tanksley, “A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the *Solanaceae*,” *Genetics*, vol. 161, pp. 1697-1711, 2002.

- [4] Z. Tong, X. Chen, D. Fang, J. Zeng, X. Wu, and B. Xiao, "SSR marker-based analyses on genetic diversity and relevant variations of agronomic traits and chemical composition of 231 flue-cured tobacco germplasm resources," *Acta Tabacaria Sinica*, vol. 23, no. 5, pp. 31-58, 2017.
- [5] H. Yang, X. Geng, S. Zhao, and H. Shi, "Genomic diversity analysis and identification of novel SSR markers in four tobacco varieties by high-throughput resequencing," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 150, pp. 80-89, 2020.
- [6] R. Darvishzadeh, L. Mirzaei, H. H. Maleki, H. Laurentin, and S. R. Alavi, "Genetic variation in oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by agromorphological traits and simple sequence repeat markers," *Revista Ciencia Agronomica*, vol. 44, no. 2, pp. 347-355, 2013.
- [7] T. T. M. Le, A. T. Nguyen, T. T. Tran, T. Q. Pham, and L. V. Vu, "Analysis of Genetic Diversity Based on Phenotypes and SSR Markers and Evaluation of Drought Tolerance of Waxy Maize Inbred Lines for Developing Hybrid Varieties for Northern Mountainous Provinces," *Journal of Science and Development*, vol. 12, no. 3, pp. 285-297, 2014.
- [8] T. P. Pham, D. T. Pham, and V. P. Nguyen, "Assessment on the genetic diversity of some avocado (*Persea americana* Mill.) varieties using microsatellite markers," *Version B of Vietnam Journal of Science and Technology*, vol. 61, no. 7, pp.61-64, 2019.
- [9] B. Ziegenhagen, P. Guillemaut, and F. Scholz, "A procedure for mini-preparations of genomic DNA from needles of silver fir (*Abies alba* Mill.)," *Plant Molecular Biology Reports*, vol. 11, pp. 117-121, 1993.
- [10] B. S. Weir, *Genetic data analysis II*, 2nd ed. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates: 377, 1996.
- [11] F. Rohlf, *J.NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system* version 2.02., Setauket, NY: Exeter Software, 1989.
- [12] R. Peakall and P. E. Smouse, "GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update," *Bioinformatics*, vol. 28, pp. 2537-2539, 2012.
- [13] R. Honarnejad and M. Shoai-Deylami, "Gene effect, combining ability and correlation of characteristics in F2 populations of Burley tobacco," *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, vol. 08, no. 02, pp. 135-147, 2004.
- [14] A. Fricano, N. Bakaher, M. Del Corvo, P. Piffanelli, P. Donini, A. Stella, N. V. Ivanov, and C. Pozzi, "Molecular diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a worldwide collection of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm," *BMC Genetics*, vol. 21, p. 1318, 2012.
- [15] B. He, R. Geng, L. Cheng, X. Yang, H. Ge, and M. Ren, "Genetic diversity and fingerprinting of 33 standard flue-cured tobacco varieties for use in distinctness, uniformity, and stability testing," *BMC Plant Biology*, vol. 20, no. 1, p. 378, 2020.
- [16] H. S. Moon, J. M. Nifong, J. S. Nicholson, A. Heineman, K. Lion, R. Van der Hoeven, A. J. Hayes, and R. S. Lewis, "Microsatellite-based analysis of tobacco (*Nicotianatabacum* L.) genetic resources," *Crop Science*, vol. 49, pp. 2149-2159, 2009.
- [17] J. Aleksoski, "Estimation of the heterotic effect in F1 generation of various tobacco genotypes and their diallel crosses," *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, vol. 24, no. 02, pp. 407-411, 2010.