Assessment of cassava mosaic disease resistance and identification of molecular markers associated with resistance in cassava germplasm collected in Vietnam

La Tuan Nghia, Le Thi Thu Trang, Dam Thi Thu Ha, La Hoang Nhat Minh, Hoang Thi Hue, Tran Thi Hue Huong, Duong Thanh Phuong

Abstract

This study evaluated the resistance of cassava germplasm to Sri Lanka Cassava Mosaic Virus (SLCMV), the causal agent of cassava mosaic disease (CMD) and validated molecular markers associated with CMD resistance. Disease resistance was assessed in 200 cassava accessions collected in Vietnam and conserved at the Plant Resources Center. In addition, ten previously reported molecular markers associated with CMD resistance were evaluated to identify those tightly linked to resistance in the study population. Eighteen cassava accessions were identified as resistant to SLCMV, exhibiting disease severity scores of 1 to 2, whereas 182 accessions were susceptible, including 115 accessions with severe infection and disease severity scores of 4 to 5. Three molecular markers, SSRY40, SSRY28, and NS198, were identified as tightly linked to SLCMV resistance, with discrimination accuracies of 92.0%, 94.5% and 91.5%, respectively, in differentiating resistant and susceptible accessions. These markers can be used in marker-assisted selection for SLCMV resistance in cassava breeding programs.

Keywords: Cassava germplasm, cassava mosaic disease, Sri Lanka cassava mosaic virus (SLCMV), resistance-linked molecular markers

Ngày nhận bài: 04/6/2026 Người phản biện: PGS.TS. Lê Hùng Lĩnh, PGS.TS. Nguyễn Tiến Dũng

Ngày duyệt đăng: 07/8/2026 Ngày phản biện: 05/6/2026

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN KIM TIỀN THẢO (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) BẰNG CHỈ THỊ EBAP

Hoàng Thúy Nga[1], Trịnh Minh Vũ[1], Kiều Thị Dung[2], Phan Thúy Hiền[1], Khuất Hữu Trung[2*]

TÓM TẮT

Nghiên cứu này sử dụng 22 chỉ thị EBAP để đánh giá đa dạng di truyền của 26 mẫu nguồn gen kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium*). Kết quả thu được 219 alen đa hình, với số alen trung bình 9,95/chỉ thị. Hệ số thông tin đa hình (PIC) dao động từ 0,69 đến 0,91 (trung bình 0,83) cho thấy, các chỉ thị có khả năng phân biệt kiểu gen cao. Hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu dao động từ 0,26 đến 0,79, phản ánh mức độ đa dạng di truyền tương đối cao. Phân tích UPGMA và PCoA phân chia các mẫu thành hai nhóm di truyền chính. Kết quả AMOVA cho thấy 72% biến dị nằm trong nhóm và 28% giữa các nhóm (PhiPT = 0,275; p < 0,001), chứng tỏ sự phân hóa di truyền có ý nghĩa thống kê. Hai alen đặc trưng xác định ở KT21 (EBAP25) và KT4 (EBAP30) có tiềm năng ứng dụng trong nhận dạng nguồn gen. Nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học cho công tác đánh giá, bảo tồn và chọn giống kim tiền thảo.

Từ khóa: Kim tiền thảo, đa dạng di truyền, chỉ thị EBAP, PCoA, AMOVA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) là loài cây thuốc có giá trị cao với nhiều tác dụng dược lý đã được ghi nhận, bao gồm lợi tiểu, lợi mật, chống viêm, chống ký sinh trùng, chống tiểu đường, tiêu sỏi, kháng khuẩn, tăng cường trí nhớ (Viện Dược liệu, 2005), chống oxy hóa (Li *et al.,* 2022), chữa sỏi thận (Hou *et al.,* 2018), cũng như tác dụng phòng ngừa viêm khớp dạng thấp (Noh *et al.,* 2017). Do có giá trị dược liệu và nhu cầu sử dụng ngày càng tăng, việc bảo tồn, đánh giá và khai thác nguồn gen kim tiền thảo có ý nghĩa quan trọng đối với chọn tạo giống và phát triển vùng nguyên liệu bền vững. Đánh giá đa dạng di truyền của kim tiền thảo là định hướng cần thiết để tạo cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn và sử dụng hiệu quả nguồn vật liệu hiện có.

Phần lớn nghiên cứu trên thế giới về kim tiền thảo tập trung đánh giá thành phần hoạt chất, hoạt tính và giá trị dược liệu (Gao *et al.*, 2024), trong khi các công bố về đánh giá đa dạng di truyền của nguồn gen kim tiền thảo còn khá hạn chế. Yang và cộng sự (2013) đã sử dụng chỉ thị AFLP để đánh giá đa dạng di truyền của 18 mẫu nguồn gen *D. styracifolium* thu thập từ các vùng khác nhau tại Trung Quốc. Kết quả cho thấy, 844 băng

[1]Viện Dược liệu; [2]Viện Di truyền Nông nghiệp

*Tác giả liên hệ, email: khuathuutrung@gmail.com

được khuếch đại, trong đó có 717 băng đa hình, chiếm 84,27%, các mẫu nguồn gen được phân thành 3 nhóm chính. Tuy nhiên, các nghiên cứu về đa dạng di truyền của kim tiền thảo sử dụng các loại chỉ thị phân tử khác còn khá khiêm tốn. Trong nghiên cứu này, chỉ thị đa hình các đoạn khuếch đại dựa trên exon EBAP (Exon-Based Amplified Polymorphism) được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền của tập đoàn kim tiền thảo thu thập tại Việt Nam. EBAP là loại chỉ thị phân tử mới được phát triển dựa trên vùng exon của gen, có khả năng phát hiện đa hình các vùng gen mã hóa có tính bảo thủ tương đối cao trong hệ gen và có tính phổ dụng cao, có thể ứng dụng rộng rãi ở thực vật (Xiong *et al.,* 2022). Bên cạnh đó, EBAP có quy trình thực hiện tương đối đơn giản, chi phí thấp, không yêu cầu hệ gen tham chiếu hoàn chỉnh và có khả năng tạo ra số lượng băng đa hình đủ lớn phục vụ đánh giá đa dạng di truyền.

Xuất phát từ thực tiễn trên, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá đa dạng di truyền của tập đoàn mẫu nguồn gen kim tiền thảo bằng chỉ thị EBAP. Thông qua xác định và so sánh kiểu gen của các mẫu nguồn gen, nghiên cứu hướng đến xác định mức độ tương đồng và quan hệ di truyền giữa các mẫu, phát hiện các băng đa hình có khả năng sử dụng trong phân biệt các mẫu, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn vật liệu bố mẹ phục vụ lai tạo và chọn giống kim tiền thảo ở Việt Nam. Đây là nghiên cứu đầu tiên sử dụng chỉ thị EBAP để đánh giá đa dạng di truyền của nguồn gen kim tiền thảo, bổ sung một chỉ thị phân tử mới trong đánh giá đa dạng di truyền phục vụ công tác lai tạo giống kim tiền thảo ở Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá bánh tẻ 26 mẫu nguồn gen kim tiền thảo (ký hiệu từ KT1 đến KT26 - Bảng 1) được thu thập theo từng cá thể tại các địa điểm khác nhau từ năm 2021. Các mẫu nguồn gen đã được giám định đúng loài kim tiền thảo (*Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr.) dựa trên phân tích so sánh trình tự nrITS (số liệu không công bố trong bài báo này).

Bảng 1. Danh sách các mẫu giống kim tiền thảo được thu thập

TT	Ký hiệu mẫu nguồn gen	Địa điểm thu thập	Tọa độ
1	KT1	Phường Đông Hòa, Đắk Lắk	12°58’29.3”N 109°23’43.2”E
2	KT2	Phường Việt Yên, tỉnh Bắc Ninh	21°19’06.1”N 106°06’45.7”E
3	KT3	Xã Tiên Lục, tỉnh Bắc Ninh	21°24’02.3”N 106°10’29.8”E
4	KT4	Xã Đường An, tỉnh Hải Phòng	20°50’34.2”N 106°09’33.3”E
5	KT5	Xã Ngãi Giao, Thành phố Hồ Chí Minh	10°35’33.4”N 107°13’03.6”E
6	KT6	Phường Đông Sơn, tỉnh Thanh Hóa	19°49’29.3”N 105°40’16.6”E
7	KT7	Phường Sài Gòn, TP. Hồ Chí Minh	10°46’57.6”N 106°42’16.4”E
8	KT8	Xã Văn Lang, tỉnh Phú Thọ	21°32’32.2”N 104°59’53.1”E
9	KT9	Xã Hạ Hòa, tỉnh Phú Thọ	21°33’46.2”N 105°00’20.3”E
10	KT10	Xã Lương Bằng, tỉnh Hưng Yên	20°44’16.3”N 106°03’37.6”E
11	KT11	Xã Hòn Tre, tỉnh An Giang	9°58’20.1”N 104°50’52.3”E
12	KT12	Xã xã Nghĩa Thành, TP. Hồ Chí Minh	10°34’04.5”N 107°12’41.8”E
13	KT13	Phường Quảng Phú, tỉnh Thanh Hóa	19°45’17.3”N 105°50’42.6”E
14	KT14	Xã Vân Sơn, tỉnh Phú Thọ	20°32’54.5”N 105°10’31.4”E
15	KT15	Xã Mẫu Sơn, tỉnh Lạng Sơn	21°47’07.3”N 106°56’17.5”E
16	KT16	Xã Thanh Trì, TP Hà Nội	20°55’33.3”N 105°50’52.9”E
17	KT17	Xã Ea Phê, tỉnh Đắk Lắk	12°43’41.1”N 108°21’47.3”E
18	KT18	Xã Chuyên Mỹ, TP Hà Nội	20°42’57.8”N 105°53’43.7”E
19	KT19	Xã Thiệu Trung, tỉnh Thanh Hóa	19°51’51.3”N 105°39’42.8”E
20	KT20	Xã An Khánh, TP. Hà Nội	21°00’07.9”N 105°43’05.1”E
21	KT21	Phường Đông Sơn, tỉnh Thanh Hóa	19°50’23.4”N 105°39’28.8”E
22	KT22	Xã Hoà Tiến, TP. Đà Nẵng	15°57’39.8”N 108°08’22.2”E
23	KT23	Xã Văn Kiều, tỉnh Nghệ An	18°49’25.1”N 105°29’36.2”E
24	KT24	Xã Cổ Đô, TP. Hà Nội	21°14’53.9”N 105°23’44.2”E
25	KT25	Xã Thượng Bằng La, tỉnh Lào Cai	21°24’50.1”N 104°46’50.0”E
26	KT26	Xã Tân Trụ, tỉnh Tây Ninh	10°30’45.8”N 106°30’28.7”E

Chỉ thị phân tử: 36 mồi EBAP được tham khảo theo công bố của Faqian Xiong và cộng sự (2022) (Bảng 2).

Bảng 2. Danh sách các mồi EBAP sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên mồi	Trình tự mồi (5'→3')	Thành phần GC	Nhiệt độ gắn mồi (°C)
1	EBAP1	GAATTCCGGCGGCGATA	58,82%	50
2	EBAP2	GAATTCCGGCGGCGATC	64,71%	51
3	EBAP3	GAATTCCGGCGGCGATG	64,71%	51
4	EBAP4	GAATTCCGGCGGCGAAC	64,71%	50
5	EBAP5	GAATTCCGGCGGCGTGC	70,59%	51
6	EBAP6	GAATTCCGGCGGCGTAC	64,71%	52
7	EBAP7	GAATTCCGGCGGCGTCG	70,59%	50
8	EBAP8	GAATTCCGGCGGCGTGA	64,71%	50
9	EBAP9	GAATTCCGCCGCCGATA	58,82%	51
10	EBAP10	GAATTCGGCGGCGGATC	64,71%	52
11	EBAP11	ATCGATCGGCGGCGATC	64,71%	50
12	EBAP12	ATATATCGGCGGCGATA	47,06%	51
13	EBAP13	ATATATCGGCGGCGATC	52,94%	50
14	EBAP14	ATATATCGGCGGCGATG	52,94%	50
15	EBAP15	ATATATCGGCGGCGTCG	58,82%	50
16	EBAP16	GAATTCCGGCGGCGACT	64,71%	51
17	EBAP17	GAATTCCGGCGGCGAAA	58,82%	50
18	EBAP18	GAATTCCGGCGGCGTTT	58,82%	50
19	EBAP19	GAATTCCGGCGGCGACG	70,59%	51
20	EBAP20	GAATTCCGGCGGCGAGC	70,59%	51
21	EBAP21	GAATTCCGGCGGCGAGT	64,71%	50
22	EBAP22	GAATTCCGGCGGCGAAT	58,82%	51
23	EBAP23	GAATTCCGGCGGCGATT	58,82%	50
24	EBAP24	GAATTCGGCGGCGGACT	64,71%	51
25	EBAP25	GAATTCGGCGGCGGTAG	64,71%	50
26	EBAP26	GAATTCGGCGGCGGTGA	64,71%	50
27	EBAP27	ATATATCGGCGGCGACT	52,94%	51
28	EBAP28	ATATATGGCGGCGGTCG	58,82%	51
29	EBAP29	AGTACTCGGCGGCGATA	58,82%	51
30	EBAP30	AGTACTCGGCGGCGTAC	64,71%	51
31	EBAP31	TGATCACGGCGGCGATA	58,82%	50
32	EBAP32	TGATCACGGCGGCGTAC	64,71%	50
33	EBAP33	AATATTCGGCGGCGATA	47,06%	51
34	EBAP34	AATATTCGGCGGCGTAC	52,94%	50
35	EBAP35	TTTAAACGGCGGCGATA	47,06%	51
36	EBAP36	TTTAAACGGCGGCGTAC	52,94%	51

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Mẫu lá được thu thập và tách chiết ADN tổng số bằng bộ kit Toppure Plant DNA Extraction (hãng ABT, Việt Nam) và kiểm tra nồng độ bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%.

Phản ứng khuếch đại kiểu gen bằng chỉ thị EBAP được tiến hành trong ống Eppendorf 0,2 mL và được thực hiện trên máy PCR Eppendorf Mastercycle proS (Đức). Tổng thể tích phản ứng là 10 µL, bao gồm 4 µL Master Mix 2X (Thermo Scientific), 2 µL mồi (10 pmol), 2 µL DNA khuôn có nồng độ 50 ng/µL và 2 µL nước khử ion. Chương trình PCR được thiết lập với bước biến tính ban đầu ở 94°C trong 4 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ gồm biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở nhiệt độ 50 - 52°C (tùy thuộc vào nhiệt độ nóng chảy của từng mồi) trong 1 phút và kéo dài ở 72°C trong 1 phút 30 giây. Sau đó, phản ứng được kéo dài ở 72°C trong 5 phút và được bảo quản ở 4°C. Các thí nghiệm được lặp lại 2 lần cho mỗi tổ hợp mẫu giống/chỉ thị EBAP để đảm bảo tính ổn định của kết quả PCR.

Sản phẩm PCR được bổ sung thêm 2 µL gelred DNA Loading Buffer và điện di trên gel agarose 1,5%. Các băng DNA được quan sát dưới tia UV và kích thước sản phẩm PCR được xác định bằng cách so sánh với thang DNA 1 kb.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

Các băng DNA thu được từ phản ứng khuếch đại kiểu gen với chỉ thị EBAP được ghi nhận dưới dạng dữ liệu nhị phân, trong đó ứng với mỗi vị trí (kích thước băng DNA), sự xuất hiện của các băng ADN (các alen) được mã hóa là (1) và sự vắng mặt của băng ADN được

mã hóa là (0). Ma trận nhị phân được dùng để tính hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu nguồn gen. Dựa trên cơ sở ma trận tương đồng, sơ đồ phân nhóm được xây dựng bằng phương pháp UPGMA trên phần mềm NTSYS-pc 2.1 nhằm đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu.

Hệ số thông tin đa hình (Polymorphism Information Content - PIC) được tính bằng công cụ trực tuyến iMEC (Amiryousefi *et al.,* 2018). Phân tích tọa độ chính (Principal Coordinates Analysis - PCoA) được thực hiện bằng phần mềm GenAlEx 6.51b2 (Peakall & Smouse, 2012). Ngoài ra, phân tích phương sai phân tử được thực hiện giữa các nhóm di truyền được xác định dựa trên sự thống nhất giữa topology của sơ đồ phân nhóm UPGMA và kết quả PCoA. Ý nghĩa thống kê của PhiPT được kiểm định bằng 9.999 lần hoán vị.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4 đến tháng 6 năm 2023 tại Viện Di truyền Nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa dạng di truyền của các mẫu nguồn gen kim tiền thảo bằng chỉ thị EBAP

Chỉ thị EBAP đóng vai trò tương tự các chỉ thị mồi đơn khác như RAPD, ISSR. Điểm khác biệt chính là mồi đơn của EBAP có thể đồng thời bắt cặp vào hai vị trí không nằm quá xa nhau trong vùng exon của các gen trong bộ gen của sinh vật nhân thực. Các mồi EBAP có nhiệt độ bắt cặp tương đối cao nên có độ đặc hiệu khuếch đại cao và khả năng lặp lại tốt hơn so với chỉ thị RAPD.

Trong nghiên cứu này, 36 chỉ thị EBAP đã được sử dụng để xác định kiểu gen và phân tích, đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 26 mẫu nguồn gen nghiên cứu. Kết quả cho thấy có 22/36 chỉ thị cho đa hình rõ rệt, các chỉ thị còn lại cho kết quả đơn hình hoặc đa hình không rõ ràng. Thống kê kết quả phân tích tính đa hình bằng kỹ thuật PCR-EBAP với 22 mồi được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Bảng thống kê số alen thu được trên từng mồi EBAP đa hình

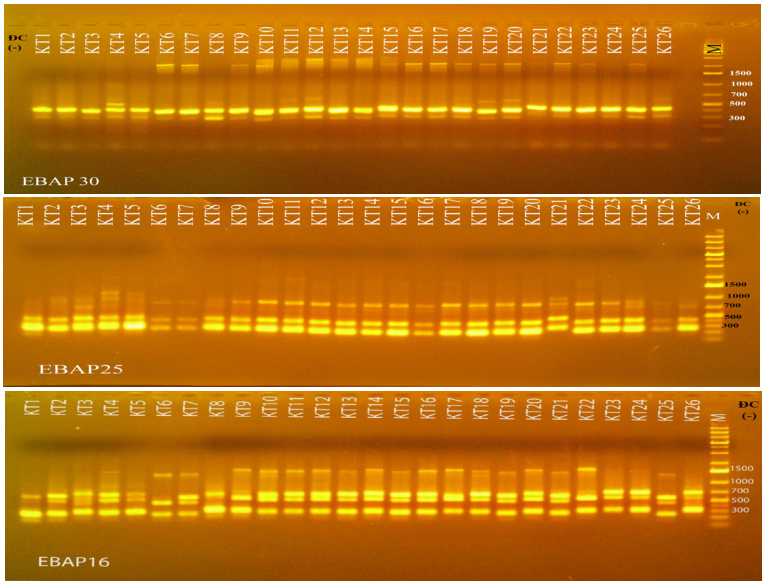
STT	Tên mồi	Số alen	Kích thước alen (bp)	Giống xuất hiện alen đặc trưng và kích thước alen	Hệ số PIC
1	EBAP3	8	300 - 1.200		0,79
2	EBAP5	8	300 - 1.300		0,81
3	EBAP7	6	200 - 1.200		0,77
4	EBAP9	15	200 - 2.000		0,91
5	EBAP10	11	250 - 2.000		0,87
6	EBAP13	13	300 - 1.300		0,87
7	EBAP14	12	400 - 1.700		0,87
8	EBAP15	6	400 - 2.000		0,76
9	EBAP16	8	250 - 1.600		0,84
10	EBAP19	7	250 - 1.900		0,79
11	EBAP21	13	300 - 1.600		0,84
12	EBAP24	12	200 - 1.600		0,85
13	EBAP25	11	250 - 1.800	KT21 (450 bp)	0,81
14	EBAP26	**5**	250 - 1.300		0,69
15	EBAP27	8	350 - 1.600		0,79
16	EBAP28	12	250 - 2.100		0,88
17	EBAP30	6	300 - 2.500	KT4 (500 bp)	0,73
18	EBAP31	11	350 - 2.800		0,85
19	EBAP32	10	200 - 2.200		0,85
20	EBAP33	13	350 - 3.100		0,88
21	EBAP34	12	300 - 2.900		0,86
22	EBAP36	12	300 - 2.700		0,88
Lớn nhất		*15*			*0,91*
Nhỏ nhất		*5*			*0,69*
Trung bình		*9,95*			*0,83*
Tổng		*219*			

Ghi chú: PIC: Hệ số thông tin đa hình.

Theo số liệu bảng 3, kết quả phân tích các mẫu giống kim tiền thảo sử dụng 22 mồi EBAP thu được 219 loại alen có kích thước khác nhau. Số lượng các alen dao động từ 5 đến 15, trung bình là 9,95 alen/chỉ thị. Kích thước các alen dao động khá lớn từ khoảng 200 bp đến 3.100 bp. Trong tổng số 22 mồi nghiên cứu, có 2 mồi xuất hiện alen đặc trưng ở 2 mẫu giống KT4 và KT21. Mẫu giống KT21 với chỉ thị EBAP25 xuất hiện băng ADN ở vị trí có kích thước khoảng 450 bp đặc biệt, và mẫu giống KT4 với chỉ thị EBAP30 xuất hiện băng ADN

ở vị trí có kích thước khoảng 500 bp đặc biệt. Các alen đặc trưng này có tiềm năng phát triển chỉ thị nhận dạng 2 mẫu giống trên nhờ sự xuất hiện của các băng ADN có kích thước khác với các mẫu giống nghiên cứu còn lại (Hình 1).

Mức độ đa dạng kiểu gen của các mẫu nguồn gen kim tiền thảo nghiên cứu được đánh giá thông qua hệ số thông tin đa hình (PIC) của từng mồi EBAP. Giá trị PIC của 22 mồi EBAP dao động từ 0,69 (EBAP26) đến 0,91 (EBAP9), với giá trị trung bình đạt 0,83. Tất cả các mồi đều có giá trị PIC lớn hơn 0,5 cho thấy các marker EBAP có tính thông tin đa hình cao và phù hợp cho việc đánh giá đa dạng di truyền, phân biệt các mẫu giống nghiên cứu. Kết quả này chứng tỏ marker EBAP được sử dụng có hiệu quả và phù hợp cho việc đánh giá đa dạng di truyền của các mẫu giống kim tiền thảo.

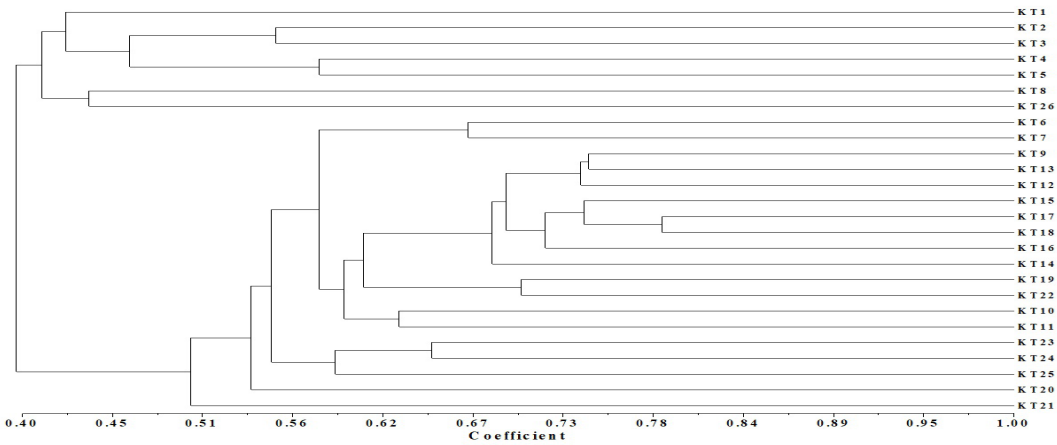


Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm EBAP-PCR của 26 mẫu kim tiền thảo với mồi EBAP30, EBAP25 và EBAP16

Ghi chú: KT1-KT26: là ký hiệu các mẫu giống kim tiền thảo ở bảng 1; M: Marker 1 kb; Đ/c (-): mẫu đối chứng âm.

3.2. Mối quan hệ di truyền của các mẫu nguồn gen kim tiền thảo bằng chỉ thị EBAP

Số liệu thu được từ bản điện di 22 mồi EBAP đa hình của 26 mẫu nguồn gen kim tiền thảo nghiên cứu được thống kê và phân tích bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 và được xây dựng sơ đồ phát sinh chủng loại (Hình 2).



Hình 2. Sơ đồ mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống kim tiền thảo nghiên cứu

Khi đối chiếu với dữ liệu phân bố, một số trường hợp cho thấy sự phù hợp giữa khoảng cách di truyền và nguồn gốc địa lý. KT2 và KT3 đều được thu thập tại Bắc Ninh và nằm gần nhau trong phân tích phân nhóm. Tương tự, một số mẫu nguồn gen có cùng nguồn gốc Thanh Hóa như KT6, KT13 và KT19 cũng có xu hướng nằm trong cùng một nhóm lớn. Tuy nhiên, sự phân nhóm không hoàn toàn tuân theo vùng phân bố. Các mẫu nguồn gen cùng nơi thu thập như KT8, KT9 và KT14 của Phú Thọ, hoặc KT16, KT18, KT20 và KT24 của Hà Nội lại phân bố ở các nhóm khác nhau. Đặc biệt, hai mẫu nguồn gen cùng nguồn gốc Đắk Lắk là KT1 và

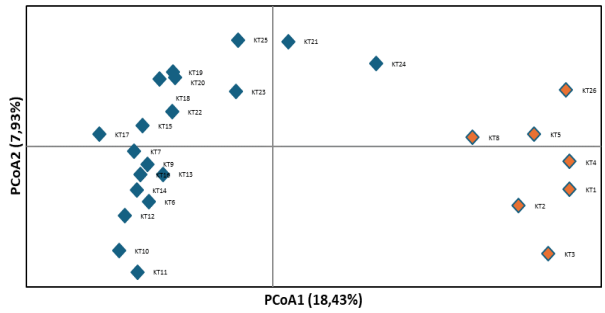
KT17 không nằm trong cùng một nhóm phân tử, trong đó KT1 tách biệt rõ hơn so với các mẫu còn lại.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, 26 mẫu kim tiền thảo có mức độ đa dạng di truyền cao, với hệ số tương đồng dao động từ 0,26 đến 0,79.

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền giữa 26 mẫu nguồn gen kim tiền thảo nghiên cứu

	KT1	KT2	KT3	KT4	KT5	KT6	KT7	KT8	KT9	KT10	KT11	KT12	KT13	KT14	KT15	KT16	KT17	KT18	KT19	KT20	KT21	KT22	KT23	KT24	KT25	KT26
KT1	1,00																									
KT2	0,46	1,00																								
KT3	0,42	0,55	1,00																							
KT4	0,36	0,45	0,48	1,00																						
KT5	0,46	0,45	0,48	0,58	1,00																					
KT6	0,32	0,36	0,38	0,35	0,36	1,00																				
KT7	0,37	0,46	0,38	0,35	0,40	0,67	1,00																			
KT8	0,41	0,43	0,45	0,44	0,43	0,35	0,39	1,00																		
KT9	0,38	0,43	0,42	0,41	0,46	0,55	0,71	0,51	1,00																	
KT10	0,32	0,37	0,37	0,35	0,34	0,55	0,53	0,42	0,63	1,00																
KT11	0,35	0,40	0,44	0,36	0,36	0,53	0,59	0,42	0,61	0,63	1,00															
KT12	0,37	0,42	0,45	0,45	0,45	0,57	0,68	0,43	0,74	0,64	0,72	1,00														
KT13	0,37	0,45	0,44	0,40	0,47	0,53	0,64	0,48	0,74	0,60	0,66	0,74	1,00													
KT14	0,34	0,42	0,41	0,40	0,43	0,58	0,62	0,47	0,65	0,62	0,61	0,69	0,71	1,00												
KT15	0,36	0,40	0,39	0,42	0,48	0,52	0,64	0,46	0,74	0,54	0,57	0,69	0,73	0,71	1,00											
KT16	0,32	0,40	0,41	0,42	0,45	0,50	0,61	0,38	0,68	0,59	0,55	0,66	0,65	0,64	0,71	1,00										
KT17	0,31	0,40	0,39	0,43	0,45	0,55	0,64	0,44	0,72	0,58	0,62	0,72	0,69	0,74	0,76	0,76	1,00									
KT18	0,31	0,41	0,42	0,44	0,50	0,51	0,63	0,47	0,68	0,52	0,58	0,68	0,66	0,64	0,72	0,68	**0,79**	1,00								
KT19	0,33	0,45	0,37	0,42	0,42	0,55	0,62	0,45	0,63	0,57	0,54	0,60	0,60	0,59	0,59	0,54	0,63	0,69	1,00							
KT20	0,28	0,35	0,33	0,37	0,36	0,44	0,52	0,40	0,56	0,49	0,52	0,56	0,61	0,51	0,61	0,50	0,57	0,56	0,61	1,00						
KT21	0,35	0,42	0,36	0,40	0,41	0,47	0,53	0,40	0,50	0,46	0,40	0,48	0,50	0,50	0,50	0,48	0,52	0,56	0,59	0,45	1,00					
KT22	0,32	0,40	0,37	0,41	0,43	0,50	0,57	0,45	0,65	0,59	0,57	0,60	0,58	0,56	0,55	0,60	0,67	0,63	0,70	0,55	0,56	1,00				
KT23	0,37	0,41	0,47	0,39	0,47	0,50	0,61	0,43	0,63	0,50	0,57	0,59	0,67	0,60	0,64	0,61	0,64	0,66	0,60	0,56	0,55	0,58	1,00			
KT24	0,38	0,40	0,46	0,41	0,44	0,40	0,50	0,50	0,57	0,40	0,47	0,54	0,54	0,48	0,56	0,46	0,53	0,57	0,49	0,46	0,45	0,47	0,65	1,00		
KT25	0,33	0,38	0,37	0,40	0,44	0,55	0,61	0,47	0,58	0,47	0,46	0,56	0,58	0,56	0,59	0,51	0,59	0,59	0,56	0,51	0,53	0,53	0,61	0,57	1,00	
KT26	0,39	0,41	0,38	0,40	0,39	**0,26**	0,37	0,44	0,36	0,30	0,33	0,39	0,37	0,36	0,35	0,31	0,35	0,40	0,37	0,36	0,33	0,34	0,39	0,49	0,38	1,00

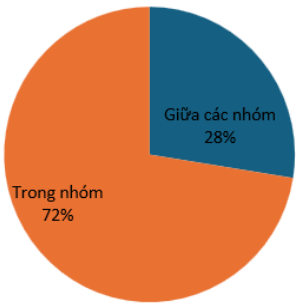
Qua hình 3, phân tích tọa độ chính cho thấy hai trục PCoA đầu tiên giải thích 26,36% tổng biến dị di truyền, trong đó PCoA1 và PCoA2 lần lượt giải thích 18,43% và 7,93%. Các mẫu KT1, KT2, KT3, KT4, KT5, KT8 và KT26 phân bố về phía dương của trục PCoA1 và hình thành một nhóm tương đối riêng biệt. Phần lớn các mẫu còn lại tập trung ở phía âm của PCoA1, trong khi KT21 và KT24 có vị trí trung gian.



Hình 3. PCoA của 26 mẫu giống kim tiền thảo dựa trên 208 locus EBAP đa hình

Ghi chú: PCoA1 và PCoA2 giải thích lần lượt 18,43% và 7,93% tổng biến dị; màu sắc biểu thị hai nhánh chính trên cây UPGMA.

Kết quả PCoA ở hình 4 cho thấy 26 mẫu giống được phân bố thành 2 nhóm chính, nhìn chung phù hợp với cấu trúc nhánh trên cây UPGMA, mặc dù một số mẫu vẫn nằm ở vị trí trung gian. Phân tích AMOVA ở bảng 5 cho thấy biến dị trong nhóm chiếm tỷ lệ cao hơn (72%) so với biến dị giữa hai nhóm (28%), chứng tỏ mức độ đa dạng di truyền trong từng nhóm vẫn khá lớn. Giá trị PhiPT = 0,275 với $p < 0,001$ cho thấy sự phân hóa di truyền giữa hai nhóm rất cao và có ý nghĩa thống kê. Sự xuất hiện của một số mẫu ở vị trí trung gian qua phân tích PCoA cho thấy ranh giới giữa hai nhóm chưa hoàn toàn tách biệt trên hai trục tọa độ đầu tiên. Nhìn chung, sự tương đồng giữa kết quả UPGMA, PCoA và AMOVA hỗ trợ việc phân chia 26 mẫu giống thành hai nhóm di truyền chính.



Hình 4. Tỷ lệ biến dị phân tử giữa và trong hai nhóm di truyền của 26 mẫu giống kim tiền thảo dựa trên 208 locus EBAP đa hình

Bảng 5. Phân tích phương sai phân tử giữa hai nhóm di truyền của 26 mẫu giống kim tiền thảo dựa trên 208 locus EBAP đa hình

Nguồn biến dị	Bậc tự do (df)	Tổng bình phương (SS)	Trung bình bình phương (MS)	Thành phần phương sai	Biến dị (%)	PhiPT	p-value
Giữa hai nhóm	1	131,217	131,217	10,203	28	0,275	< 0,001
Trong nhóm	24	644,090	26,837	26,837	72	–	–
Tổng	*25*	*775,308*	–	*37,040*	*100*	–	–

Ghi chú: ý nghĩa thống kê của PhiPT được kiểm định bằng 9.999 lần hoán vị.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Nghiên cứu đã sử dụng 22 chỉ thị EBAP để đánh giá đa dạng di truyền của 26 mẫu kim tiền thảo, thu được 219 alen với số alen trung bình 9,95 alen/mồi. Giá trị PIC dao động 0,69 - 0,91, trung bình 0,83, cho thấy các chỉ thị có khả năng phân biệt kiểu gen cao. Hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,26 đến 0,79, phản ánh mức độ đa dạng di truyền khá cao. Phân tích UPGMA, PCoA và AMOVA đều cho thấy các mẫu được phân thành hai nhóm di truyền chính, với phần lớn biến dị nằm trong nhóm (72%) và sự phân hóa giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê (PhiPT = 0,275; p < 0,001). Hai alen đặc trưng xác định ở KT21 (EBAP25) và KT4 (EBAP30) có tiềm năng ứng dụng trong nhận dạng nguồn gen.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục kiểm chứng các alen đặc trưng trên tập mẫu lớn hơn để phát triển chỉ thị nhận dạng ổn định. Trong chọn giống, ưu tiên sử dụng các mẫu thuộc các nhóm di truyền khác nhau nhằm khai thác đa dạng di truyền. Đồng thời, cần kết hợp với đánh giá đặc điểm nông sinh học và mở rộng nghiên cứu bằng các chỉ thị phân tử khác để nâng cao hiệu quả bảo tồn và chọn tạo giống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Viện Dược liệu, 2005. *Kỹ thuật trồng và chế biến cây thuốc ở Việt Nam*. Xuất bản lần thứ nhất. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 135-140 (278 trang).

Amiryousefi, A., Hyvönen, J., & Poczai, P., 2018. iMEC: Online Marker Efficiency Calculator**.** *Applications in Plant Sciences*, 6(6), e1159.

Gao H., Zhang X., Li Y., Wang J., Chen Q., 2024. Transcriptome-associated metabolomics reveals the molecular mechanism of flavonoid biosynthesis in *Desmodium styracifolium* under abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 15: 1431148.

Hou J., Chen W., Lu H., Zhao H., Gao S., Liu W., Dong X., Guo Z., 2018. Exploring the therapeutic mechanism of *Desmodium styracifolium* on oxalate crystal-induced kidney injuries using comprehensive approaches based on proteomics and network pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 9: 620.

Li X., Liu C. X., Liang J., Zhou L., Li J., Chen H.Y., Jiang T., Guan Y., Khoo H.E., 2022. Antioxidative mechanisms and anticolitic potential of *Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr. in DSS-induced colitic mice. *Journal of Functional Foods*, 93: 105077.

Noh E., Song H.K., Kim J.M., Lee G.S., Kwon K.B., Lee Y.R., 2017. Extracts of desmodii herba suppresses of rheumatoid arthritis. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 31: 328-333.

Peakall, R., & Smouse, P. E., 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19): 2537-2539.

Xiong F., Liu J., Tang R.H., Yang T., Yang X., He L., Han Z., Qiu L., Zou C., Tang X., Luo C., Zhong R., Jiang J., Huang Z., Wu H., Liu J., He X., 2022. Exon based amplified polymorphism (EBAP): A novel and universal molecular marker for plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, 56: 65-74.

Yang Q., Lu T., Sang X.Y., Chen Q., Zhang C.R., Tang X.M., Cheng X.X., Li S.Y., 2013. Analysis of quality variation and genetic diversity of *Desmodium styracifolium* from different provenances. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 38 (9): 1344-1348.

Assessment of genetic diversity in *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. germplasm using EBAP markers

Hoang Thuy Nga, Trinh Minh Vu, Kieu Thi Dung, Phan Thuy Hien, Khuat Huu Trung

Abstract

This study used 22 EBAP markers to assess the genetic diversity of 26 *Desmodium styracifolium* accessions. A total of 219 polymorphic alleles were detected, with an average of 9.95 alleles per primer. The polymorphism information content (PIC) ranged from 0.69 to 0.91, with a mean of 0.83, indicating high discriminatory power of the markers. Genetic similarity coefficients among the accessions ranged from 0.26 to 0.79, reflecting a relatively high level of genetic diversity. UPGMA and PCoA analyses divided the accessions into two major genetic groups. AMOVA revealed that 72% of the total variation occurred within groups and 28% among groups (PhiPT = 0.275, p < 0.001), indicating significant genetic differentiation. Two unique alleles identified in KT21 (EBAP25) and KT4 (EBAP30) showed potential for germplasm identification. These findings provide a scientific basis for genetic diversity assessment, conservation, and breeding of *D. styracifolium*.

Keywords: Genetic diversity, EBAP markers, *Desmodium styracifolium* (Osbeck) Merr. germplasm, PCoA, AMOVA

Ngày nhận bài: 12/05/2026
Ngày duyệt đăng: 07/8/2026
Người phản biện: PGS.TS. Lã Tuấn Nghĩa, TS. Trần Đức Trung
Ngày phản biện: 12/5/2026