

- Paduchuri, V.Y., G.V. Deogirkar, S.R. Kamdi, M.C. Kale & M.D. Rajurkar**, 2010. In-vitro Callus Induction and Root Regeneration Studies in *Gerbera jamesonii*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 1 (2): 87-90.
- Rostami A.A. and A. Shahsavari**, 2009. Nano-Silver Particles Eliminate the in vitro contaminations of Olive 'Mission' Explants. *Journal of Plant Sciences*, 8 (7): 505-509.
- Shokri S., A. Babaei, M. Ahmadian, M.M. Arab and S. Hessami**, 2015. The effects of different concentrations of nano - silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.) in vitro culture. *International Society for Horticultural Science*, 3 (1): 50-54.
- Shylaja M.R., P. Sashna, V. Chinjusha and P.A. Nazeem**, 2014. An efficient micropropagation protocol for *Gerbera jamesonii* Bolus from flower buds. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 4 (3): 641-643.
- Zainab M. Almutairi**, 2016. Influence of Silver Nano-particles on the Salt Resistance of Tomato (*Solanum lycopersicum*) during Germination. *Int. J. Agric. Biol.*, 18(2): 449-457.

Effects of nanosilver on morphogenesis of tissue cultured gerbera (*Gerbera jamesonii*)

Bui Thi Thu Huong, Dong Huy Gioi,
Tran Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Ngoc Quynh

Abstract

The study aimed to evaluate the effects of silver nanoparticles on *in vitro* propagation of gerbera by *in vitro* leaf material. The results showed that: (i) the optimal medium for formation of callus from the *in vitro* leaf piece of gerbera was MS medium containing 30 g/l saccharose, 6.5 g/l agar, 1.5 mg/l 2.4D, 10 ppm of silvernano, the rate of callus formation was 92.53%; (ii) 85.45% of callus formed shoot after 6 weeks culturing on the MS medium supplemented with 0.7 mg/l BA, 0.1 mg/l IAA and 4 ppm silvernano; (iii) the maximum number of shoots was obtained on MS medium containing 3 mg/l BAP, 0.1 mg/l α -NAA, 2 ppm of silvernano and the multiplication coefficient reached 8.22 times and shoot height was 5.75 cm after 6 weeks culturing; (iv) The optimum medium for *in vitro* rooting was the MS medium supplemented with 50 g/l saccharose, 6.5 g/l agar, 1.0 mg/l α -NAA, 4 ppm of silvernano; 100% of the shoots produced roots, with an average of 5.73 roots/shoot and the average length of roots was 5.93 cm after 4 weeks culturing.

Keywords: Gerbera, *in vitro* leaf, MS medium, nanosilver

Ngày nhận bài: 16/9/2018

Ngày phản biện: 24/9/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Pha

Ngày duyệt đăng: 15/10/2018

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY BÁT GIÁC LIÊN THỤ THẬP Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Lưu Thúy Hòa¹, Khuất Hữu Trung², Trần Đăng Khánh², Phạm Thị Lý Thu², Trần Văn Ôn³

TÓM TẮT

Bát giác liên (*Dyosma* Woodson) là chi thuộc họ Berberidaceae có hoạt chất berberine với hàm lượng cao và được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền. Trong nghiên cứu này, 10 mẫu Bát giác được phân tích bằng 25 chỉ thị RAPD. Kết quả thu được 17 chỉ thị cho đa hình và 816 băng ADN gồm 111 loại băng khác nhau (trung bình là 6,5 loại băng/mẫu), trong đó có 62 băng đa hình (55,86%) và 49 băng đơn hình (44,14%). Các băng có kích thước dao động từ khoảng 250 đến 2000bp. Giá trị PIC của 17 mẫu trong khoảng 0,5 đến 0,88. Giá trị trung bình của hệ số PIC là 0,78 phản ánh các băng ADN được nhân lên là khá đa dạng. Kết quả phân tích hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu nghiên cứu liên dao động từ 0,57 đến 0,91. Ở mức tương đồng di truyền khoảng 0,67 có thể chia 10 mẫu nghiên cứu thành 2 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra 9 trong số 17 mẫu RAPD có thể nhận biết chính xác 5 mẫu giống nghiên cứu là PO1, PO2, PO9, PO10 và PO11. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc nghiên cứu tính đúng giống phục vụ công tác chọn tạo giống, nhân nhanh, bảo tồn và kiểm soát cây giống có chất lượng cao.

Từ khóa: Bát giác liên, *Dyosma* Woodson, RAPD, đa dạng di truyền

¹ Đại học Hải Phòng; ² Viện Di truyền Nông nghiệp, ³ Đại học Dược Hà Nội.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bát giác liên (*Dysosma Woodson*) là chi thuộc họ Berberidaceae. Chi *Dysosma Woodson* được đánh giá là một trong số các chi có hoạt chất berberine với hàm lượng cao. Berberin là alcaloid có đặc tính kháng khuẩn, nấm, đơn bào... được ứng dụng từ lâu đời trong các nền y học truyền thống trên thế giới. Đến nay hoạt chất này còn được đánh giá có tiềm năng rất lớn trong điều trị các bệnh đang phát triển như tiểu đường, ung thư, tăng mỡ máu (Wang *et al.*, 2010).

Ở nước ta, chi *Dysosma Woodson* được biết đến chỉ có một loài duy nhất với tên thường gọi Bát giác liên (*Dysosma difformis*). Mặc dù vậy Bát giác liên phân bố rộng ở nhiều vùng sinh thái khác nhau, đặc biệt là các tỉnh miền núi phía bắc như Lai Châu, Lào Cai, Ba Vì, và Hòa Bình (Nguyễn Kim Cẩn, 2002).

Sự phân bố của Bát giác liên phản ánh sự thích nghi đa dạng của loài, chỉ ở các khu vực địa lý khác nhau, do vậy đánh giá đa dạng di truyền và xác định mối tương quan với hàm lượng berberin của loài, chỉ là cần thiết để bảo tồn và phát triển các nguồn gen *Dysosma Woodson* bản địa. Đặc biệt là hiện nay nguồn gen Bát giác liên đang được khuyến cáo dần dần cạn kiệt (Nguyễn Tiến Bàn, 2007).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Gồm 10 mẫu Bát Giác liên (*Dysosma Woodson*) được thu thập ở độ cao từ 800 - 1.300 m so với mặt nước biển, ở nơi ẩm, dưới tán cây rừng. Địa điểm thu mẫu được định vị GPS và mẫu được lưu tiêu bản tại Bộ môn Thực vật, Trường Đại học Dược Hà Nội (Bảng 1).

Bảng 1. Danh sách ký hiệu các mẫu Bát giác liên (*Dysosma Woodson*)

TT	Mẫu	Vị trí		Thời gian thu mẫu	Địa điểm thu mẫu
		Tọa độ X	Tọa độ Y		
1	PO1	21°4'44.80"N	105°21'54.90"E	2/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
2	PO2	22°17'44.40"N	105°28'11.40"E	3/2016	Bản Thi, Chợ Đồn, Bắc Kạn
3	PO3	21°4'44.80"N	105°21'54.90"E	3/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
4	PO5	21°4'33.40"N	105°21'45.20"E	3/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
5	PO6	21°4'23.00"N	105°21'43.20"E	3/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
6	PO7	21°4'21.70"N	105°21'43.30"E	3/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
7	PO8	21°4'33.10"N	105°21'58.70"E	3/2016	Vườn Quốc gia Ba Vì
8	PO9	23°5'6.00"N	104°56'45.50"E	3/2016	Thanh Long, Thanh Vân, Quận Bạ, Hà Giang
9	PO10	21°36'39.25"N	104°35'22.38"E	4/2016	Văn Chấn, Yên Bái
10	PO11	22°16'29.03"N	105°31'13.14"E	4/2016	Bản Thi, Chợ Đồn, Bắc Kạn

Hai mươi lăm mỗi khác nhau sử dụng trong các phản ứng PCR-RAPD có độ dài 9 - 10 nucleotide thuộc các nhóm BIO, OPA, OPN, OPO, S và UBC của hãng Bioneer.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết ADN tổng số và RAPD-PCR

ADN tổng số được tách chiết từ mẫu lá theo phương pháp CTAB của Obara và Kako (Obara and Kako, 1998) có một số cải tiến. Xác định nồng độ và chất lượng ADN bằng máy quang phổ Jenway - Model 6715. Các mẫu ADN tổng số được pha loãng với đệm TE vô trùng đến nồng độ 50 ng/μl để thực hiện phản ứng PCR.

2.2.2. Phương pháp PCR và điện di sản phẩm PCR

Tổng thể tích phản ứng PCR là 15μl gồm: 1,5μl

Buffer MgCl₂ 25mM; 0,5μl dNTPs 10mM; 1,2μl Taq ADN polymerase 5U/μl; 1,5μl Mỗi 10μM; 2μl ADN khuôn nồng độ 50 ng và 8,3μl nước cất hai lần khử ion.

Phản ứng PCR được tiến hành trên máy PCR Mastercycler epgradient S theo chu trình nhiệt sau: 95°C trong 5 phút, 38 - 40 chu kỳ (94°C trong 1 phút, 33 - 35°C trong 1 phút 10 giây, 72°C trong 1 phút 55 giây); 72°C trong thời gian 7 phút.

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và được phát hiện dưới tia UV bằng phương pháp nhuộm ethidium bromide.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên nền Excel 2014. Hệ số PIC

(Polymorphic Information Content - Thông tin đa hình của từng môi) được tính toán bằng cách áp dụng công thức của Powell và cộng tác viên (1996):

$$PIC = 1 - \sum f_i^2$$

Trong đó: f_i là tần số xuất hiện của alen thứ i .

Hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống được thiết lập theo phương pháp UPGMA bằng chương trình NTSYSpc 2.2 của Rohlf (2002).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các thí nghiệm được thực hiện tại Bộ môn Kỹ thuật Di truyền, Viện Di truyền Nông nghiệp trong năm 2016.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích đa hình ADN bằng chỉ thị RAPD

Kết quả phân tích RAPD-PCR 10 mẫu giống Bát giác liên với 25 môi thu được 17 môi đa hình (Bảng 2). Với 170 phản ứng PCR nhân lên được tổng số 816 băng ADN thuộc 111 loại băng khác nhau (trung bình là 6,5 loại băng/môi), trong đó có 62 băng đa hình (55,86%) và 49 băng đơn hình (44,14%). Số băng nhân lên ở các môi cũng rất khác nhau. Ba môi BIO27, OPA5 và OPN3 đều nhân lên số loại băng nhiều nhất là 9 loại. Môi OPN12 nhân lên số loại băng thấp nhất là 2 loại.

Bảng 2. Thống kê số băng DNA thu được, hệ số PIC của 10 mẫu giống Bát giác liên với 17 môi RAPD

TT	Tên môi/ locus	Tổng số băng khuếch đại	Tổng số loại băng	Số băng đa hình	Số băng đơn hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)	Hệ số PIC
1	BIO16	58	7	4	3	57,1	0,85
2	BIO24	37	8	8	0	100,0	0,80
3	BIO27	40	9	9	0	100,0	0,83
4	BIO28	34	7	7	0	100,0	0,79
5	OPA1	37	6	3	3	50,0	0,77
6	OPA2	77	8	2	6	25,0	0,87
7	OPA5	75	9	2	7	22,2	0,87
8	OPN3	79	9	3	6	33,3	0,88
9	OPN5	69	8	3	5	37,5	0,86
10	OPN7	65	7	3	4	42,9	0,86
11	OPN10	52	6	2	4	33,3	0,82
12	OPN12	18	2	1	1	50,0	0,50
13	OPO19	35	5	3	2	60,0	0,77
14	OPO20	15	3	2	1	66,7	0,50
15	S208	33	4	2	2	50,0	0,73
16	S279	60	8	4	4	50,0	0,85
17	UBC701	32	5	4	1	80,0	0,75
Tổng		816	111	62	49		
TB/tỉ lệ (%)		48	6,5	55,86	44,14	56,35	0,78

Các băng có kích thước rất khác nhau dao động từ khoảng 250 đến 2000 bp. Giá trị PIC của 17 môi dao động trong khoảng 0,5 đến 0,88. Giá trị trung bình của hệ số PIC của 10 mẫu giống Bát giác liên nghiên cứu là 0,78 phản ánh các băng ADN được nhân lên là khá đa dạng.

3.2. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của 10 mẫu giống Bát giác liên

Từ kết quả xử lý số liệu thống kê sản phẩm

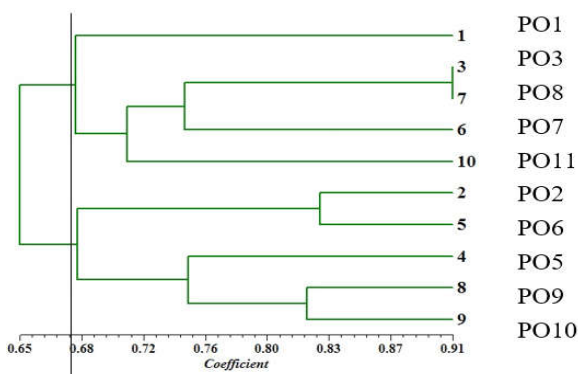
RAPD-PCR theo phương pháp UPGMA sơ đồ hình cây và ma trận hệ số tương đồng về mối quan hệ di truyền của 10 mẫu giống Bát giác liên được thiết lập ở bảng 3 và hình 1. Kết quả phân tích cho thấy, các mẫu trong loài Bát giác liên khá đa dạng, hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống Bát giác liên dao động trong khoảng 0,57 đến 0,91. Trong đó hệ số tương đồng di truyền giữa hai mẫu PO3 và PO8 là cao nhất là 0,91. Hệ số tương đồng di truyền giữa hai mẫu PO2 và PO7 là thấp nhất là 0,57.

Bảng 3. Hệ số tương đồng di truyền giữa 10 mẫu Bát giác liên

	PO1	PO2	PO3	PO5	PO6	PO7	PO8	PO9	PO10	PO11
PO1	1,00									
PO2	0,64	1,00								
PO3	0,65	0,66	1,00							
PO5	0,66	0,78	0,67	1,00						
PO6	0,58	0,83	0,76	0,70	1,00					
PO7	0,74	0,57	0,73	0,59	0,69	1,00				
PO8	0,67	0,62	0,91	0,65	0,73	0,77	1,00			
PO9	0,60	0,65	0,67	0,76	0,72	0,65	0,73	1,00		
PO10	0,58	0,60	0,60	0,74	0,64	0,60	0,65	0,82	1,00	
PO11	0,66	0,62	0,72	0,62	0,70	0,69	0,73	0,70	0,68	1,00

Ở mức tương đồng di truyền khoảng 0,67 có thể chia 10 mẫu nghiên cứu thành 2 nhóm cách biệt di truyền.

Nhóm 1 gồm các mẫu giống: PO1, PO3, PO7, PO8 và PO11 được chia thành hai nhóm phụ, nhóm phụ 1.1 và nhóm phụ 1.2. Mẫu PO1 được thu thập từ Vườn Quốc gia Ba Vì tách riêng thành nhóm phụ 1.1. Bốn mẫu còn lại thuộc nhóm phụ 1.2. Trong số đó 3 mẫu PO3, PO7 và PO8 đều thu thập từ Vườn Quốc gia Ba Vì, còn PO11 thu thập từ Bản Thi, Bắc Kạn.



Hình 1. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu bằng chỉ thị RAPD

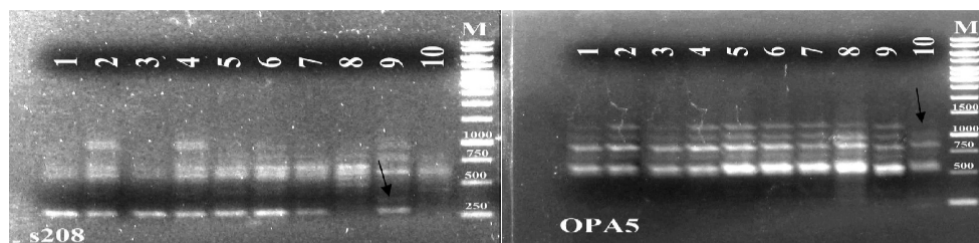
Nhóm 2 gồm các mẫu giống: PO2, PO6, PO5, PO9 và PO10 được chia thành hai nhóm phụ, nhóm

phụ 2.1 và nhóm phụ 2.2. Nhóm phụ 2.1 gồm mẫu giống PO2 thu thập từ Bản Thi, Chợ Đồn, Bắc Kạn và PO6 thu thập từ Vườn Quốc gia Ba Vì. Nhóm phụ 2.2 gồm 3 mẫu giống là PO5, PO9 và PO10. Mẫu giống PO5 được thu thập từ Vườn Quốc gia Ba Vì, PO9 được thu thập từ Thanh Vân, Quán Bạ, Hà Giang và PO10 được thu thập từ Văn Chấn, Yên Bái.

Như vậy, kết quả phân tích đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị RAPD đối với 10 mẫu Bát giác liên nghiên cứu cho thấy khác biệt di truyền các mẫu không bị ảnh hưởng bởi các vùng phân bố. Sự đa dạng về cấu trúc của loài Bát giác liên ở Việt Nam khá cao (hệ số tương đồng giữa các mẫu giống trong loài thấp) có thể do sự di thực, chuyển vùng địa lý hoặc do sinh sản thấp. Chính vì vậy, việc bảo tồn, chọn tạo giống và phát triển nguồn gen cây thuốc trong loài Bát giác liên là việc làm cần thiết.

3.3. Kết quả xác định các chỉ thị đặc trưng nhận dạng một số nguồn gen Bát giác liên

Kết quả phân tích đa hình ADN bằng 17 môi RAPD với 10 mẫu Bát giác liên đã thu được 6 băng cá biệt (băng chỉ xuất hiện ở một mẫu duy nhất và không xuất hiện ở các mẫu còn lại đối với một môi) và 3 băng khuyết cá biệt (băng không xuất hiện ở một mẫu tại vị trí tương ứng có băng của các mẫu còn lại) (Hình 2, Bảng 4).



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm RAPD-PCR của 10 mẫu nghiên cứu với môi S208 và OPA5 (M: GenRuler™ 1kb DNA Ladder)

Bảng 4. Thống kê băng DNA cá biệt của các mẫu giống với các mối RAPD

TT	Tên mỗi/ locus	Mẫu có băng cá biệt	Băng cá biệt			
			Có băng	Kích thước băng cá biệt (bp)	Băng khuyết	Vị trí băng khuyết cá biệt (bp)
1	BIO24	PO2	x	1000		
2	BIO28	PO10	x	730		
3	OPA2	PO11			x	1250
4	OPA5	PO11			x	1200
5	OPN5	PO9	x	300		
6	OPN7	PO2	x	400		
7	OPN10	PO1	x	1800		
8	S208	PO10	x	370		
9	UBC701	PO1			x	500

Qua bảng 4 và hình 2 cho thấy: Mỗi BIO24 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước khoảng 1000 bp ở mẫu PO2. Mỗi BIO28 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước khoảng 730 bp ở mẫu PO10. Mỗi OPA2 xuất hiện băng khuyết cá biệt với kích thước 1.250 bp ở PO11. Mỗi OPA5 xuất hiện băng khuyết cá biệt với kích thước 1.200 bp ở PO11. Mỗi OPN5 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước khoảng 300 bp ở mẫu PO9. Mỗi OPN7 xuất hiện băng cá biệt có kích thước khoảng 400 bp ở mẫu PO2. Mỗi OPN10 xuất hiện băng cá biệt có kích thước khoảng 1800 bp ở mẫu PO1. Mỗi S208 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước khoảng 370 bp ở mẫu PO10. Mỗi UBC701 xuất hiện băng khuyết cá biệt có kích thước khoảng 500 bp ở mẫu PO1. Kết quả nghiên cứu cho thấy 9 trong số 17 mỗi thí nghiệm có thể nhận biết chính xác 5 mẫu nghiên cứu là PO1, PO2, PO9, PO10 và PO11. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc nghiên cứu tính đúng giống phục vụ nhân nhanh, bảo tồn và kiểm soát cây giống có chất lượng cao.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Các mẫu giống trong loài Bát giác liên thu thập tại một số tỉnh miền núi phía Bắc của Việt Nam khá đa dạng. Kết quả phân tích RAPD-PCR 10 mẫu giống Bát giác liên với 25 mỗi thu được 17 mỗi đa hình. Giá trị PIC của 17 mỗi dao động trong khoảng 0,5 đến 0,88. Giá trị trung bình của hệ số PIC của 10 mẫu giống Bát giác liên nghiên cứu là 0,78 phản ánh các băng ADN được nhân lên là khá đa dạng. Kết quả phân tích cho thấy, hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống Bát giác liên dao động trong khoảng 0,57 đến 0,91. Ở mức tương đồng di truyền khoảng 0,67 có thể chia 10 mẫu nghiên cứu

thành 2 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra 9 trong số 17 mỗi thí nghiệm có thể nhận biết chính xác 5 mẫu giống là PO1, PO2, PO9, PO10 và PO11. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc xác định tính đúng giống phục vụ công tác chọn tạo giống, nhân nhanh, bảo tồn và kiểm soát cây giống có chất lượng cao.

4.2. Đề nghị

Cần xác định hàm lượng hoạt chất berberine trong các mẫu thu thập nhằm phục vụ công tác bảo tồn và phát triển các loài dược liệu quý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Tiến Bản, chủ biên, 2007. *Sách đỏ Việt Nam*, Tập 2, Phần Thực vật. NXB KHTN&CN.
- Nguyễn Kim Cẩn, 2002. Nghiên cứu những cây chứa Berberin trên thế giới và trong nước. *Tạp chí Dược liệu*, Tập 7, số 1, 2, 3, 4.
- Obara, O.P., Kako, S., 1998. Genetic diversity and identification of Cymbidium cultivars as measured by amplified polymorphic RAPD markers. *Euphytica*, 99: 95-101.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S and Rafalski A, 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for gemplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
- Rohlf F, 2002, Estimation of the coancestry coefficient: Basic for a short term genetic distance. *Genetics*, 105:767-779.
- Wang Y, Campbell T, Perry B, Beaurepaire C, Qin L., 2010. Hypoglycemic and insulin-sensitizing effects of berberine in high-fat diet- and streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism*, 60 (2): 298-305.

Study on genetic diversity of *Dyosma* by RAPD markers

Luu Thuy Hoa, Khuat Huu Trung, Tran Dang Khanh, Pham Thi Ly Thu, Tran Van On

Abstract

Dyosma (Woodson) is a genus, belonging to Berberidaceae family. This plant contains high berberine constituent and widely used as the medicinal treatments in many countries. Ten samples of *Dyosma* Woodson collected from some different geographical areas in northern Vietnam, were evaluated for their genetic diversity by applying 25 different RAPD markers, of which 17 markers showed polymorphism. Total 170 PCR reactions obtained a total of 816 DNA bands that belonged to 111 different patterns (average 6.5 patterns/primer). Of which, 62 bands were polymorphic bands (55.86%) and 49 monomorphic bands (44.14%). The obtained bands sized from 250 bp to 2000 bp. PIC value of 17 primers changed from 0.5 to 0.88 with a mean of 0.78 which showed amplified DNA bands are very diversified. The analyzed result showed that samples of *Dyosma* in our research were very diverse. Genetic similarity coefficients of 10 samples of *Dyosma* ranged from 0.57 to 0.91. At genetic similarity coefficient of 0.67, total 10 studied samples was divided into 2 different genetic groups. The results showed that 9 out of 17 used RAPD primers defined exactly 5 studied samples (PO1, PO9, PO10 and PO11). This results may be useful for the classification and identification of the genus indigenous nomadic dysentery (*Dyosma*) for conservation and control of high quality seedlings.

Keywords: *Diphtheria*, *Dyosma*, RAPD, genetic diversity

Ngày nhận bài: 18/9/2018
Ngày phản biện: 25/9/2018

Người phản biện: PGS. TS. Đông Huy Giới
Ngày duyệt đăng: 15/10/2018

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA ĐOẠN GEN *rbcL* Ở MỘT SỐ NGUỒN GEN BƯỞI VIỆT NAM

Nguyễn Thị Ngọc Lan¹, Nguyễn Thị Lan Hoa²,
Nguyễn Thị Thanh Thủy³, Lê Tuấn Nghĩa²

TÓM TẮT

Bưởi là một trong những cây ăn quả nhiệt đới quan trọng có giá trị kinh tế ở nhiều nước trên thế giới. Nghiên cứu đa dạng di truyền đoạn gen *rbcL* của tập đoàn 25 nguồn gen bưởi Việt Nam đã xác định được 2 trình tự nucleotit đặc trưng cho giống bưởi Thanh Trà (G2) và bưởi Da Xanh (G27). Đột biến điểm được tìm thấy là đột biến đồng hoán (C>T) tại vị trí 595 của gen ở cả 2 giống bưởi Thanh Trà (G2) và Da Xanh (G27), đột biến này có ý nghĩa trong nhận dạng các nguồn gen bưởi Thanh Trà và bưởi Da Xanh của nước ta. Hai trình tự này đã được đăng ký NCBI với số đăng ký lần lượt là KR073282 và KR073281. Phân tích cây phả hệ bằng phương pháp Neighbor Joining dựa trên trình tự của đoạn gen *rbcL* 600 nucleotid đã nhóm thành công được các trình tự của chi *Citrus* thuộc họ Rutaceae, tách biệt rõ ràng được hai giống bưởi Thanh Trà và Da Xanh của Việt Nam.

Từ khóa: Bưởi, giải trình tự, ADN mã vạch, *rbcL*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bưởi là một trong những loại cây ăn quả nhiệt đới quan trọng và có giá trị kinh tế ở nhiều nước trên thế giới. Bưởi được trồng rộng rãi ở Việt Nam, tuy nhiên mỗi vùng có một số giống bưởi khác nhau do kết quả của quá trình chọn lọc cũng như ảnh hưởng của điều kiện của khí hậu và thổ nhưỡng. Ở nước ta, từ lâu đã hình thành những vùng trồng bưởi với những giống bưởi nổi tiếng như Đoan Hùng (Phú Thọ), bưởi Đường (Hương Sơn), bưởi Phúc Trạch (Hương Khê), bưởi Thanh Trà (Huế)... Các giống bưởi này về mặt hình thái khác nhau không đáng kể

từ lá, hoa cho đến hình dạng trái. Đây chính là một trở ngại trong công tác phân loại, quản lý và chọn tạo nguồn gen.

Ngày nay, với sự phát triển của sinh học phân tử và phương pháp phân tích hệ gen sinh vật đã mở ra hướng tiếp cận mới có vai trò đầy hứa hẹn cải thiện hiệu quả được cách nhận dạng giống cây trồng. Những tiến bộ trong kỹ thuật giải trình tự ADN bằng các đoạn gen ngắn đặc biệt là đoạn gen *rbcL* trong hệ gen lục lạp. Đây là một trong những đoạn gen phổ biến để phân loại cây trồng (Kellogg E. and Juliano ND., 1997). Mặc dù, gen *rbcL* không

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp; ² Trung tâm Tài nguyên thực vật; ³ Bộ Nông nghiệp và PTNT