

ĐA DẠNG DI TRUYỀN GIỐNG HOÀN NGỌC (*Pseuderanthemum* sp.) Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG DỰA VÀO HÌNH THÁI VÀ DẤU SNP

Thiều Văn Đường¹, Phạm Thành Trọng¹ và Trần Văn Bé Năm^{2*}

¹Trường Đại học Tây Đô

²Trường Đại học Cần Thơ

(*Email: tvbnam@ctu.edu.vn)

Ngày nhận: 08/12/2023

Ngày phản biện: 18/12/2023

Ngày duyệt đăng: 15/02/2024

TÓM TẮT

Hoàn Ngọc là cây dược liệu quý chứa các chất β -sitosterol, triterpenoid saponin, 1-triacontanol, salicylic acid và các flavonoid acacetin, apigenin, kaempferol và hoạt tính kháng khuẩn cao trên vi khuẩn gram âm, gram dương và cả trên nấm mốc, nấm men và hỗ trợ trong điều trị một số bệnh viêm nhiễm, huyết áp, bệnh gan, thận, ung thư, tiêu chảy,... Nghiên cứu nhằm đánh giá các đặc tính nông học của 11 mẫu giống Hoàn Ngọc dựa vào hình thái và kết hợp phương pháp sinh học phân tử nhằm xác định mối quan hệ di truyền dựa vào trình tự vùng gen “rbcL”. Kết quả bước đầu đánh giá về sự đa dạng di truyền của 11 mẫu Hoàn Ngọc cho thấy có sự khác biệt nhau từ chiều dài thân, chiều rộng lá cho đến chiều dài rễ. Dựa vào kết quả phân tích từ cây phá hệ có thể xếp 11 mẫu Hoàn Ngọc vào hai nhóm chính. Nhóm I là các giống cây ở Bạc Liêu (Ho1), Sóc Trăng (Ho2) và Tiền Giang (Ho3); Kiên Giang (Ho4); Cà Mau (Ho5); Đồng Tháp (Ho6), An Giang (Ho7); Trà Vinh (Ho8); Khánh Hòa (Ho9). Nhóm II bao gồm 2 mẫu giống Cần Thơ (Ho10) và Hậu Giang (Ho11). Với kỹ thuật sinh học phân tử đã xác định được 11 giống Hoàn Ngọc đều thuộc loài *Pseuderanthemum* sp. Qua đó, có thể ứng dụng vào ngành sản xuất dược liệu được phong phú hơn.

Từ khóa: Dấu SNP, đa dạng di truyền, hình thái

Trích dẫn: Thiều Văn Đường, Phạm Thành Trọng và Trần Văn Bé Năm, 2024. Đa dạng di truyền giống Hoàn Ngọc (*Pseuderanthemum* sp.) ở Đồng bằng sông Cửu Long dựa vào hình thái và dấu SNP. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 19: 126-137.

*TS. Thiều Văn Đường - Giảng viên Khoa Dược - Điều Dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

1. GIỚI THIỆU

Hoàn Ngọc còn gọi là cây Xuân Hoa, được phát hiện đầu tiên ở vườn quốc gia Cúc Phương. Tuy vẫn chưa được công bố trong bộ dữ liệu toàn cầu về cây được liệu của Đại học Illinois (Hoa Kỳ), nhưng loài cây này có hoạt tính sinh học cao có thể ứng dụng trong lĩnh vực y học (Huỳnh Kim Diệu, 2005). Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của cây Hoàn Ngọc chủ yếu được thực hiện ở Thái Lan và Hàn Quốc. Dịch trích ly sử dụng nước ở áp suất thường từ lá cây Hoàn Ngọc cho thấy khả năng làm hạ đường huyết, hạ huyết áp và chống oxy hóa trong một số nghiên cứu (Chayarop, 2011). Cụ thể, với hàm lượng dịch trích 5-25 mg/kg, dịch tách chiết có hiệu quả làm giảm huyết áp trung bình và nhịp tim trên chuột bị bệnh; với hàm lượng 0,25-0,5 g/kg thì dịch có khả năng làm giảm đáng kể lượng đường huyết trong cơ thể chuột bị bệnh nhưng không gây ảnh hưởng trên chuột bình thường. Ngoài ra, dịch trích cũng cho thấy khả năng chống oxy hóa cao, có khả năng phòng trị rất nhiều bệnh như điều trị viêm nhiễm, huyết áp, bệnh gan, thận, ung thư, tiêu chảy,... Qua đó cho thấy trong cây Hoàn Ngọc có các chất β -sitosterol, triterpenoid saponin, 1 - triacontanol, salicylic acid và các flavonoid acacetin, apigenin và kaempferol và hoạt tính kháng khuẩn cao trên vi khuẩn gram âm, gram dương và cả trên nấm mốc, nấm men (Huỳnh Kim Diệu, 2009).

Cây Hoàn Ngọc cũng đã được các nhà khoa học trồng và nghiên cứu tại trường Đại học Cần Thơ. Các báo cáo cho thấy

bên trong cây chứa một hàm lượng cao các chất như calci (1,33 - 2,99%), phospho (0,47%), kali (2,97 - 4,24%), magie (1,2 - 2,16%), mangan (195,63 - 499,67 mg/kg), kẽm (65,17 - 65,21 mg/kg), sắt 141,29 - 238,97 mg/kg), đồng (11,95 - 20,65 mg/kg), protein thô (21,85 - 30,77%), chất xơ (11,17 - 15,01%) (Huỳnh Kim Diệu, 2009). Ngoài ra, nghiên cứu còn cho thấy hàm lượng những chất này trong dịch chiết lá cây vào mùa mưa cao hơn vào mùa khô và lá già chứa nhiều dưỡng chất hơn lá non (Huỳnh Kim Diệu, 2009).

Các nghiên cứu nêu trên chủ yếu tập trung vào khảo sát hoạt tính sinh học, cũng như dược tính của cây Hoàn Ngọc, còn việc nghiên cứu một cách hệ thống liên quan di truyền thực vật hầu như chưa được chú trọng. Với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật, ADN mã vạch đã được phát triển và ứng dụng trong thực tiễn trên cơ sở sử dụng một hay nhiều đoạn ADN có kích thước khoảng từ 400- 800bp như là một tiêu chuẩn để nhận dạng các loài một cách nhanh chóng và chính xác. Các đoạn ADN mã vạch có thể là những đoạn nằm trong hệ gen nhân (18S, 5.8S, 26S, ITS...); (Chen, 2010; Baharum, 2012; Schoch, 2012), hệ gen ty thể (Cytb, CO1...). (Doyle, 1990; Chiouetal., 2007; Hollingsworth, 2009), hệ gen lục lạp (*matK*, *rbcL*, *trnH-psbA*, *rpo*, *trnL-trnF*, *ycf*...) (Yuetal., 2011; Hollingsworth, 2009). Tùy vào đối tượng nghiên cứu mà các đoạn ADN mã vạch sẽ được sử dụng sao cho hợp lý (Chaseetal., 2007; Hollingsworthetal., 2009). Bên cạnh đó, vùng DNA lục lạp “*rbcL*” được giới thiệu là một trong những dấu DNA tốt

nhất cho nghiên cứu phân loại và mối quan hệ di truyền của loài và cấp độ loài phụ. Những tiến bộ trong kỹ thuật giải trình tự ADN bằng các đoạn gen ngắn đặc biệt là vùng gen *rbcL* trong hệ gen lục lạp. Đây là một trong những vùng gen phổ biến để phân loại cây trồng (Kellogg and Juliano., 1997). Mặc dù, vùng gen *rbcL* không được tính là dấu để phân biệt mức độ loài và dưới loài nhưng các nhà nghiên cứu vẫn sử dụng *rbcL* như là một mã vạch để nhận dạng cây trồng. Ưu điểm của đoạn gen này là dễ dàng khuếch đại và giải trình tự được hầu hết các loại cây trồng. Do đó, nghiên cứu về đặc điểm di truyền của giống/loài Hoàn Ngọc thu thập ở Đồng bằng sông Cửu Long được thực hiện nhằm xác định mối quan hệ di truyền giữa 11 mẫu giống/loài Hoàn Ngọc này dựa vào đặc điểm hình thái, nông học và trình tự vùng gen "*rbcL*". nhằm xác định hai tính trạng về chiều cao thân và chiều dài lá, do gen kiểm soát đồng thời cũng ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường, điều này sẽ giúp ích nhiều cho việc cải thiện giống đạt hiệu quả.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Mười một mẫu hạt giống/loài Hoàn Ngọc trồng tại các tỉnh như Bạc Liêu, Cà Mau, Sóc Trăng, Tiền Giang, Kiên Giang, Đồng Tháp, An Giang, Trà Vinh,

Khánh Hòa, Cần Thơ, Hậu Giang đã được thu thập và gieo trồng, khảo sát tại trại thực nghiệm Cần Thơ trong thời gian 18-20 tháng. Các mẫu giống được bố trí trong thí nghiệm theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với ba lần lặp lại. Nghiệm thức là các mẫu giống/loài Hoàn Ngọc được sưu tập tại các tỉnh Đồng bằng Sông Cửu Long.

2.2. Phương pháp quan sát hình thái

Phương pháp quan sát, mô tả hình thái bên ngoài và vi phẫu Hoàn Ngọc được thực hiện dựa theo phương pháp nghiên cứu thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn. (2006) có cải tiến cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Các bộ phận được mô tả bao gồm thân, lá và rễ cây. Tất cả chỉ tiêu nông học đều được đo đếm, ghi nhận và tính trung bình trên 5 cây mẫu.

Phương pháp đo đếm được tiến hành như sau:

Chiều cao thân (cm): tiến hành đo hết phần thân trên mặt đất, đo từ mặt đất đến cuối chồi ngọn (Hình 1-A).

Lá (cm): lá được đo chiều dài từ cuống lá đến chót lá và chiều rộng phần phiến lá lớn nhất (Hình 1-B).

Chiều dài rễ: rễ được đo từ phần dưới mặt đất (miền trưởng thành) đến chóp rễ (Hình 1-C).



(A):



(B)



(C)



(D)

Hình 1. Hình thái cây Hoàn Ngọc

Ghi chú: (A), (B) Lá cây Hoàn Ngọc, (C) Bộ rễ cây Hoàn Ngọc (D) Hoa cây Hoàn Ngọc

2.3. Phương pháp phân tử

Các mẫu lá non, tươi được thu thập và trữ lạnh chuyển về phòng thí nghiệm tại Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ. ADN toàn phần của các mẫu giống/loài Hoàn Ngọc được ly trích từ các mẫu lá tươi theo quy trình tách chiết bằng phương pháp CTAB có cải tiến (Doyle & Doyle, 1990). Chất lượng ADN được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1% sử dụng thuốc nhuộm redsafe (Biobasic, UK) (Ganapathy et al., 2015). Tiếp theo, ADN được khuếch đại bằng phương pháp PCR với cặp mồi đặc hiệu cho vùng gen “*rbcL*” (F:5’ - ATGTCACCACAAACAGAGACTAAA GC-3’; R:5’- TAAAATCAAGTCCACCRCG-3’) và cuối cùng sản phẩm khuếch đại được giải trình tự (White et al., 1990).

Chu trình nhiệt được sử dụng trong phản ứng PCR gồm 35 chu kỳ với các giai đoạn như sau: giai đoạn biến tính ở 95°C trong 5 phút, 60 giây ở 95°C, giai đoạn bắt cặp ở 54°C trong 50 giây, giai đoạn kéo dài thời gian kéo dài ở 72°C trong 90 giây, cuối cùng là giai đoạn ổn định sản phẩm của chuỗi ở 72°C trong 5 phút. Kết thúc quá trình khuếch đại, sản phẩm được ổn định trong 5 phút ở 72°C. Sau cùng, mẫu được trữ ở 10°C cho đến khi lấy mẫu ra để bảo quản. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phổ điện di, chọn mẫu có băng đẹp, rõ đúng kích thước. Sau đó, tiến hành tinh sạch sản phẩm PCR bằng bộ kit Wizard SV gel và PCR Clean-up System, dựa theo phương pháp Sanger (Sanger et al., 1977). Trình tự vùng gen “*rbcL*” được giải bởi Công

ty Sequencing Company tại Hàn Quốc. Số liệu phân tử liên quan đến trình tự vùng gen “*rbcL*” được phân tích xếp nhóm bằng phần mềm Mega X (Smith et al., 2000).

2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Để xác định mối quan hệ di truyền giữa mười một giống/loài Hoàn Ngọc, kết quả thí nghiệm được xây dựng thành giản đồ cây phả hệ bằng phần mềm Mega X với phương pháp Maximum likelihood, mô hình Kimura 2 thông số, chỉ số bootstrap là 1000 lần. Các trình tự vùng gen “*rbcL*” của chín mẫu giống/loài Hoàn Ngọc sử dụng để xây dựng giản đồ phả hệ đều được canh hàng (alignment) bằng phần mềm BioEdit và loại bỏ một số trình tự bị nhiễu ở hai đầu của mỗi trình tự. Các số liệu được ghi nhận như chiều cao thân, chiều dài và chiều rộng lá được tính trung bình, giá trị độ lệch chuẩn, phân tích phương sai (ANOVA) và so sánh khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu giống bởi phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5% bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

Phương sai (Variance) là tham số đặc trưng tiêu biểu nhất cho tính chất phân tán của dãy số liệu. Tính trạng mong muốn là tính trạng có hệ số biến thiên thấp (Coefficient of variation-CV) và mang ý nghĩa trong chọn giống. Hệ số biến dị kiểu gen và kiểu hình tính theo công thức của Burton (1952) và được chia thành ba mức: thấp (< 10%), trung bình (10 – 15%) và cao (> 15%) trong đó:

$$GCV = \frac{\sqrt{V_g}}{\bar{X}} \times 100$$

$$PCV = \frac{\sqrt{V_p}}{\bar{X}} \times 100$$

Trong đó: V_g : phương sai kiểu gen;
 V_p : phương sai kiểu hình; $\bar{X}$: trung bình chung

Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (h^2_b) được tính dựa trên tỉ số của phương sai kiểu gen và phương sai kiểu hình theo giá trị phần trăm (Allard, 1960).

$$h^2_b = \frac{V_g}{V_p} \times 100$$

Trong đó: V_g : phương sai kiểu gen;
 V_p : phương sai kiểu hình.

tính trạng cao cho thấy tính trạng do gen qui định ít chịu ảnh hưởng điều kiện môi trường.

Hệ số di truyền được đánh giá thấp (< 30%), trung bình (30% - 70%) và cao (> 70%). Hệ số di truyền (h^2_b) của một

Tiến độ di truyền được tính theo công thức của Johnson et al., (1955) đề nghị

$$GA = i \cdot h^2_b \cdot \sigma_p$$

Trong đó: i : Vi phân chọn lọc (2.06) ở mức 5% cường độ chọn lọc;

h^2_b : Hệ số di truyền theo nghĩa rộng;

σ_p : Độ lệch chuẩn của kiểu hình.

không có. Bầu 2 noãn trong mỗi ô; núm nhụy tù hoặc xẻ 2 thùy nhỏ không rõ. Quả nang, hình chùy; mỗi ô chứa 2 hạt; hạt đính trên giá noãn có móc cong. Hạt hình trứng, ép dẹt, bề mặt nhiều nếp nhăn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái và nông học

Kết quả quan sát hình thái cây Hoàn Ngọc cho thấy Hoàn Ngọc là cây thân thảo hoặc cây bụi; thân non vuông, thường có lông. Lá nguyên hoặc có răng cưa, nang thạch trên lá. Hoa mọc đối xứng, không có cuống hoặc cuống rất ngắn, cụm hoa chùy hẹp hoặc dạng bông ở nách lá hoặc đỉnh cành. Đài 5 thùy, xẻ sâu, các thùy hình đường, bằng nhau. Tròng trắng ống mảnh, ống tròng dài, họng tròng thường mở rộng một chút, miệng tròng 5 thùy rõ; thùy tròng xếp lợp ở phía ngoài. Nhị 2, đính ở họng tròng, không thò ra hoặc thò ra khỏi tròng, chỉ nhị rất ngắn; bao phấn 2 ô, các ô bằng nhau, đính song song với nhau; gốc bao phấn không có phần phụ dạng lông hoặc cựa; nhị bất thụ 2 hoặc

Kết quả đánh giá các đặc điểm nông học của mười một giống/loài được trình bày ở bảng 1. Cụ thể, chiều cao thân biến thiên từ 57,80cm (Đồng Tháp) đến 169,61 cm (Tiền Giang), đây là biến có sự thay đổi nhiều nhất, kết quả phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan. Về phương sai kiểu hình và kiểu gen tương đương nhau, điều này cho thấy chiều cao thân là do gen đóng góp. Chính vì vậy việc cải thiện giống đạt hiệu quả với thông số tiến bộ di truyền đạt trên 100%, điều này cũng phù hợp với những nghiên cứu của Trịnh Hoàng Minh và ctv., (2021). Kích thước lá giữa các mẫu giống Hoàn Ngọc cho thấy chiều dài lá biến động nhiều hơn chiều rộng, từ 8,94 cm (Đồng Tháp) đến 14,24 cm (Tiền

Giang). Kết quả phân tích hệ số biến thiên giữa kiểu hình và kiểu gen cũng tương đương, và hệ số di truyền theo nghĩa rộng cũng tương đối cao, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Thiều Văn Đường và ctv., (2016). Rễ là cơ quan quan trọng vì có chức năng cung cấp

nước và dinh dưỡng cho cây. Chính vì vậy bộ rễ phát triển tốt sẽ giúp cây cao và phát triển mạnh. Chiều dài rễ giữa các mẫu giống thay đổi từ 8,19 cm (An Giang) đến 27,05cm (Kiên Giang), qua kiểm định Duncan cho thấy sự khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.

Bảng 1. Đặc tính nông học của 11 mẫu giống/loài Hoàn Ngọc

Mẫu Giống	Ký hiệu	Chiều cao thân (cm)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chiều dài rễ (cm)
Bạc Liêu	Ho1	153,30	12,01	3,15	9,12
Sóc Trăng	Ho2	151,07	12,81	3,55	10,36
Tiền Giang	Ho3	169,61	14,24	3,63	11,85
Kiên Giang	Ho4	145,20	14,42	6,59	27,05
Cà Mau	Ho5	150,02	12,18	4,33	15,27
Đồng Tháp	Ho6	57,80	8,94	2,95	15,70
An Giang	Ho7	107,15	10,10	4,25	8,19
Trà Vinh	Ho8	112,05	14,60	3,96	15,29
Khánh Hòa	Ho9	137,12	10,95	3,03	9,09
Cần Thơ	Ho10	122,73	12,52	4,51	14,78
Hậu Giang	Ho11	154,17	12,31	3,19	10,36
T.bình		132,75	12,28	3,92	13,37
Kiểm định		**	*	ns	*
Var. G		132,75	12,28	3,92	13,37
Var. P		895,41	2,90	0,99	25,95
GCV		984,95	3,19	1,08	28,55
PCV		0,23	0,14	0,25	0,38
h2 (%)		0,24	0,15	0,27	0,40
GA (%)		0,91	0,91	0,91	0,91

Ghi chú: Var. G (Variance of genotype): Phương sai kiểu gen; Var. P (Variance of phenotype): phương sai kiểu hình; GCV (Genotypic Coefficient of Variation): hệ số biến thiên kiểu gen; PCV (Phenotypic Coefficient of Variation): hệ số biến thiên kiểu hình; h2 (Heritability in broad sense): hệ số di truyền theo nghĩa rộng; GA (Genetic Advance): tiến bộ di truyền.

3.2. Kỹ thuật sinh học phân tử

3.2.1. Tách chiết DNA và PCR

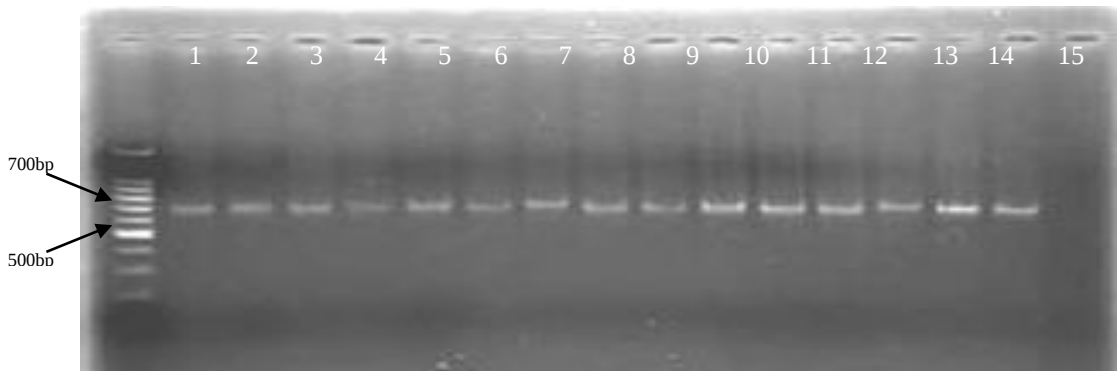
DNA tổng số của 11 mẫu lá được tách chiết, định lượng và kiểm tra độ

trong sạch. Giá trị OD260/OD280 nằm trong khoảng 1,8–2,0, nồng độ DNA tổng số từ 150 ng/μL- 200 ng/μL. Độ trong sạch được kiểm tra bằng cách điện

đi trên gel agarose, sản phẩm tạo ra rõ nét, không đứt gãy đảm bảo chất lượng thực hiện phản ứng PCR. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Huỳnh Kỳ và ctv., (2023) tác giả cho rằng, DNA tách chiết phải đạt nồng độ từ 120 ng/μL - 200 ng/μL mới đủ điều kiện thực hiện phản ứng PCR tiếp theo.

Kết quả gel điện di ở hình 2 cho thấy, sản phẩm PCR của 11 mẫu giống/loài

Hoàn Ngọc được chọn các băng khuếch đại có kích thước 700bp, trên đó không có sự hiện diện của băng phụ. Bước tiếp theo là giải trình tự vùng gen “*rbcL*” và sử dụng phần mềm Blast N để so sánh các trình tự với trình tự DNA của các loài *Pseuderanthemum* có trong ngân hàng dữ liệu NCBI nhằm khẳng định lại các mẫu giống/loài đã được khảo sát hình thái trước đó.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR của 11 giống Hoàn Ngọc

Ghi chú: M thang chuẩn 100 bp, Giếng 1: mẫu Đối chứng; Giếng 2-12 mẫu Ho1 11: giếng 13,14,15 mẫu lặp lại, giếng 16: đối chứng âm

3.2.2 Kết quả giải trình tự của cây Hoàn Ngọc

Kết quả giải trình tự đoạn gen *rbcL* từ 11 giống Hoàn Ngọc được so sánh với trình tự của toàn bộ hệ gen lục lạp (BLAST với dữ liệu trình tự NCBI). Kết quả BLAST cho thấy trình tự 700bp nucleotide của các giống Hoàn Ngọc nằm trong vùng cấu trúc gen của gen *rbcL*. Vì vậy, các trình tự này đã được

phân tích để tìm khung đọc mở (ORF) để dịch mã cho các axit amin tương ứng.

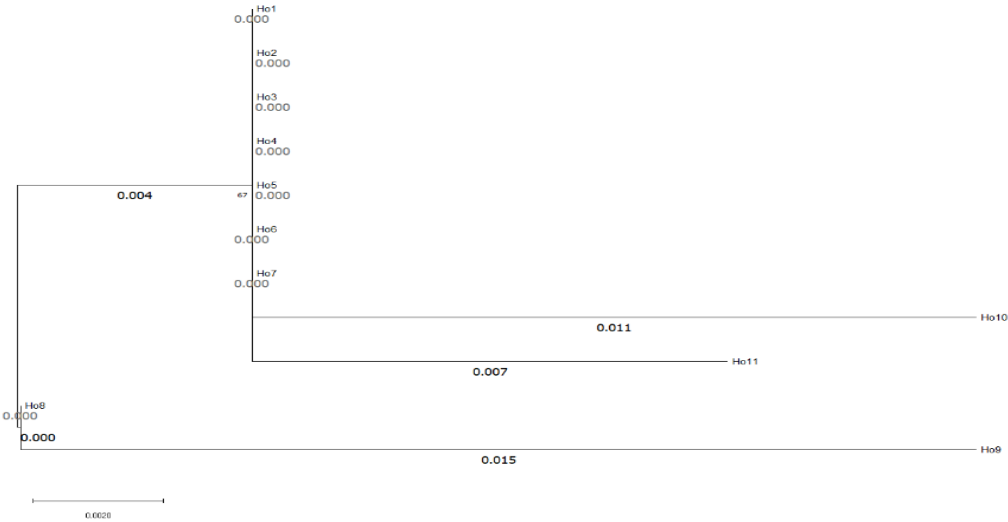
Tiếp tục so sánh trình tự của 11 giống Hoàn Ngọc trên ngân hàng gen NCBI cho thấy, các mẫu đều tương đồng với trình tự loài *Pseuderanthemum* sp. với hệ số dao động từ 92,93% đến 99,86% (bảng 2). Điều này cho thấy độ tin cậy của trình tự “*rbcL*” là khá cao. Trong đó, tên khoa học lần lượt của các mẫu được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định danh của 11 mẫu Hoàn Ngọc

TT	Tỉnh	Kết quả định danh	Tỉ lệ tương đồng (%)
1	Bạc Liêu	<i>Pseuderanthemum graciliflorum</i>	92,93
2	Sóc Trăng	<i>Pseuderanthemum polyanthum</i>	94,63
3	Tiền Giang	<i>Pseuderanthemum polyanthum</i>	96,57
4	Kiên Giang	<i>Pseuderanthemum polyanthum</i>	98,32
5	Cà Mau	<i>Pseuderanthemum graciliflorum</i>	96,54
6	Đồng Tháp	<i>Pseuderanthemum palatiferum</i>	100
7	An Giang	<i>Pseuderanthemum palatiferum</i>	100
8	Trà Vinh	<i>Pseuderanthemum palatiferum</i>	100
9	Khánh Hòa	<i>Pseuderanthemum palatiferum</i>	100
10	Cần Thơ	<i>Strobilanthes ciliata</i> voucher	97,72
11	Hậu Giang	<i>Strobilanthes ciliata</i> voucher	96,57

Mười một mẫu giống/loài Hoàn Ngọc được xác định mối quan hệ di truyền thông qua việc xây dựng cây phả hệ (Phylogenetic tree) dựa trên trình tự vùng gen “*rbcL*” đã được xác định qua Hình 3. Từ kết quả phân tích từ cây phả hệ ghi nhận, các mẫu cây Hoàn Ngọc có chỉ số giống nhau và gần nhau về mặt di truyền được xếp và hai nhóm chính. Nhóm I là các mẫu giống cây ở Bạc Liêu (Ho1), Sóc Trăng (Ho2) và Tiền Giang

(Ho3); Kiên Giang (Ho4); Cà Mau (Ho5); Đồng Tháp (Ho6), An Giang (Ho7); Trà Vinh (Ho8); Khánh Hòa (Ho9). Nhóm II bao gồm 2 mẫu giống Cần Thơ (Ho10) và Hậu Giang (Ho11). Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Huỳnh Kỳ và ctv., 2023 cho rằng, kết quả giải trình tự vùng gen “*rbcL*” nhằm khẳng định lại các giá trị hình thái ban đầu đã xác định được một cách chắc chắn hơn.



Hình 3. Sơ đồ cây phả hệ của 11 giống Hoàn Ngọc

Phân tích cây phả hệ cho thấy, trình tự của vùng gen *rbcL* đã xác định được nhóm các trình tự chỉ trong cùng họ. Thông tin trình tự *rbcL* với 700 nucleotic đã phân biệt chính xác các chi *Pseuderanthemum* nghiên cứu và tham chiếu. Tuy nhiên, về mặt sinh thái thì các mẫu cây giữa các tỉnh có khác nhau do sống ở vùng sinh thái khác nhau nhưng lại có thể giống nhau về mặt di truyền do chúng được di chuyển từ vùng này sang vùng khác một cách ngẫu nhiên.

Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy đã nhóm được các trình tự thuộc chi *Pseuderanthemum* với loài *graciliflorum* hay *polyanthum*. Có thể nói rằng, trình tự của vùng gen *rbcL* đã nhóm được các trình tự chỉ chi *Pseuderanthemum* với loài *graciliflorum* hay *polyanthum* đã phân biệt chính xác các loài Hoàn Ngọc nghiên cứu và tham chiếu. Tuy nhiên đoạn gen *rbcL* đã tách biệt được giống Hoàng ngọc Cần Thơ và Hậu Giang của Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát hình thái cũng như các đặc tính nông học của 11 mẫu giống/loài Hoàn Ngọc cho thấy có sự khác biệt ở một số chỉ tiêu như chiều cao thân, chiều dài lá, chiều dài rễ. Việc giải trình tự vùng gen *rbcL* trên 11 mẫu giống/loài Hoàn Ngọc cho thấy các mẫu giống/loài Hoàn Ngọc thuộc loài *Pseuderanthemum* sp. với hệ số tương đồng cao.

Hệ số di truyền theo nghĩa rộng cao ở hai tính trạng chiều cao thân và chiều dài lá, do vậy có thể xem hai tính trạng này

do gen kiểm soát, nhưng đồng thời cũng chịu sự tác động của các yếu tố môi trường điều này sẽ giúp ích rất nhiều cho việc cải thiện giống đạt hiệu quả hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Burton, G. W., and Devance, E. H., 1952. Estimating heritability in tall fescue (*Festuca arundinacea*) from replicated clonal material. *Agronomy Journal*, 478-481.
2. Chasetal, M.W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P.M., Berg, C.V.D., Madriñán, S., Petersen, G., Seberg, O., Jørgensen, T., Cameron, K. M., Carine, M., Pedersen, N., Hedderson, T. A. J., Conrad, F., Salazar, G. A., Richardson, J. E., Hollingsworth, M. L., Barraclough, T.G., Kelly, L., Wilkinson, M., 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxonomy Journal*, 56, 295-299.
3. Chayarop, K., Peungvicha, P., Wongkrajang, Y., Chuakul, W., Amnuoypol, S., & Temsiririkkul, R., 2011. Pharmacognostic and phytochemical investigations of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. ex Lindau leaves. *Pharmacognosy Journal*, 3(23), 18-23.
4. Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., Leon, C., 2010. Validation of the ITS2 region DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PloS One*5(1), e8613.
5. Chiouetal, S.J., Yen, J.H., Fang, C.L., Chen, H.L., and Lin, T.Y., 2007.

Authentication of medicinal herbs using PCR-amplified ITS2 with specific primers. *Planta medica* 73(13): 1421–1426.

6. Dieu, H. K., Loc, C. B., Yamasaki, S., and Hirata, Y., 2009. The ethnobotanical and botanical study on *Pseuderanthemum palatiferum* as a new medicinal plant in the Mekong Delta of Vietnam. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 39(3), 191-196

7. Doyle, J.L., and Doyle, J.J. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* (12), 13-15.

8. Ganapathy, M., Lakshmanan, A., and Selvarasu Vasuki, M. (2015). Refined method of pure genomic DNA isolation from *forskohlii* (Willd) Briq. An Endangered medicinal plant. *Life Science Archives*.1, 208-216.

9. Huỳnh Kim Diệu, 2009. Nghiên cứu độc tính cấp và bán cấp của lá Xuân Hoa (*Pseuderanthemum palatiferum*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, (11b), 173-178.

10. Huỳnh Kỳ, Nguyễn Văn Mạnh, Đỗ Thị Thanh Thảo, Nguyễn Khánh Duy, Trần In Đô, Chung Trương Quốc Khang, Tống Thị Thùy Trang, Nguyễn Thanh Dự, Phạm Ân Tình, Nguyễn Lê Đức Huy, Huỳnh Như Điền, Phạm Thị Bé Tư, Nguyễn Lộc Hiền và Lê Thị Hồng Thanh., 2023. Đặc điểm hình thái nông học và kiểu gen của 29 giống lúa rẫy canh tác ở điều kiện đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 59(5).

11. Hollingsworth, M.L., and Clark, A.. 2009. Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven cDNA date loci with species-level sampling in three divergent groups of land plant. *Molecular Ecology Resources*, 9 (2), 439-457.

12. Johnson, H. W., Robinson, H. F., and Ev Comstock, R., 1955. Genotypic and phenotypic correlations in soybeans and their implications in selection. *Agronomy journal*, 47 (10), 477-483.

13. Kellogg, E. A., & Juliano, N. D., 1997. The structure and function of

14. Khonsung, Panthong, A., Chiranthanut, N., and Intahphuak, S., 2011. Hypotensive effect of the water extract of the leaves of *Pseuderanthemum palatiferum*. *Journal of natural medicines*, 65, 551-558.

15. Sanger, N. S., and Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 74 (12), 5463-5467. USA

16. Schoch, C.L., and Seifert, K.A., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16), 6241-6246.

17. Trịnh Hoàng Minh và Toàn V. D., 2021. Đặc tính hình thái nông học của các nguồn gen lúa thu thập tại Điện Biên và Lai Châu. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 04: (125)/2021.

18. White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols a guide to methods and applications (315-322). Academic Press, San Diego.

19. Yuetal, J., Xue, J.H., and Zhou, S.L., 2011. New universal matK primers

for DNA barcoding angiosperms. Journal of Systematics DNA Evolution,49(3), 176-181

20. RuBisCO and their implications for systematic studies. American journal of botany, 84(3), 413-428.

GENETIC DIVERSITY OF PSEUDERANTHEMUM SP. VARIETIES IN THE MEKONG DELTA BASED ON MORPHOLOGY AND SNPS MARKER

Thieu Van Duong¹, Pham Thanh Trong¹ and Tran Van Be Nam²

Tay Do University

Can Tho University

(*Email: tvbnam@ctu.edu.vn)

ABSTRACT

Hoan Ngoc is a valuable medicinal plant containing β -sitosterol, triterpenoid saponin, 1-triacontanol, salicylic acid and the flavonoids acacetin, apigenin, kaempferol and high antibacterial activity on gram-negative and gram-positive bacteria and even on molds, yeast. It also supports the treatment of some inflammatory diseases, blood pressure, liver disease, kidney disease, cancer, diarrhea. The study aimed to evaluate the agronomic characteristics of 11 samples of Hoan Ngoc variety based on morphology and combined with molecular biology methods to determine the genetic relationship based on the "rbcL" gene region sequence. Initial results of the evaluation of genetic diversity of 11 Hoan Ngoc samples showed that there were differences from stem length, leaf width to root length. Based on the analysis of results from the family tree, 11 Hoan Ngoc samples can be classified into two main groups. Group I is the cultivars in Bac Lieu (Ho1); Soc Trang (Ho2); and Tien Giang (Ho3); Kien Giang (Ho4); Ca Mau (Ho5); Dong Thap (Ho6); An Giang (Ho7); Tra Vinh (Ho8); Khanh Hoa (Ho9). Group II includes 2 varieties of Can Tho (Ho10); and Hau Giang (Ho11). With molecular biology techniques, 11 varieties of Hoan Ngoc have been identified, all belonging to the species Pseuderanthemum sp. Therefore, it can be applied to wider uses in the pharmaceutical industry.

Keywords: Agronomy, Morphology, SNP marker, Pseuderanthemum