

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA CÁC GIỐNG CÂY BA KÍCH (*Morinda officinalis* How)

Ngô Thị Thu Hiền¹, Kim Ngọc Quang², Nguyễn Mai Thơm³.

¹ Trường Đại học Dược Hà Nội

² NCS Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

³ Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

Từ khóa: Ba kích
(*Morinda officinalis*
How), hình thái, đa dạng
di truyền

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá đặc điểm hình thái và đa dạng di truyền của 11 giống Ba kích được thu thập ở 6 tỉnh miền núi phía Bắc. Các giống Ba kích có đặc điểm chung là thân tròn, thân non màu xanh, rễ trụ mập vạt vẹo, lõi hơi vàng có khía và gai. Sự khác biệt về lông trên thân, trên lá, hình dạng lá và màu sắc ngọn thân là những đặc điểm phân biệt các giống. Các giống có ngọn non màu xanh là BK7, BK8, BK9, BK10, BK11, các giống có ngọn non có màu tím là BK1, BK2, BK3, BK4, BK5 và BK6. Đặc điểm lá có lông ít liên quan đến lông trên thân và trên ngọn non. Giống BK9 ngọn non màu xanh có lông, lá mặt trên nhẵn và mặt dưới có lông, BK5 lá không có lông ở cả hai mặt. Hoa Ba kích màu trắng sau chuyển vàng, đa số các giống có quả là hỗn hợp, riêng giống BK2 là quả đơn, BK7 quả tụ nhiều hơn, quả có màu xanh khi non và vàng đỏ khi chín. Dựa vào cây phân loại cho thấy trình tự vùng ITS-rADN của 11 mẫu Ba kích chia thành 2 nhóm chính: Nhóm 1 chỉ gồm trình tự vùng ITS-rADN của giống BK2. Nhóm 2 gồm trình tự vùng ITS-rADN của 10 giống còn lại, được chia thành 2 nhóm nhỏ, trong đó nhóm 2.1 chỉ có giống BK9, 9 giống còn lại thuộc nhóm 2.2 là BK5, BK6, BK7, BK8, BK4, BK1, BK3, BK10 và BK11.

Morphological characteristics and genetic diversity of some varieties of *Morinda officinalis* How

Our research on *Morinda officinalis* How aim to using morphological characteristic and DNA barcode for species identification base on 11 types of *Morinda officinalis* How in 6 Northern provinces of Vietnam. Varieties of *Morinda officinalis* How have cylindrical stem shape, young stem with green color and zigzag cylindrical root shape and wood pith with thorn. Differentiation of hair on the surfaces of stem and leaves, leaves shape and basal shoot color are considered as morphological characteristic identification between varieties. Varieties BK7, BK8, BK9, BK10, BK11 show green basal shoot whereas others varieties show purple. BK9 show green basal shoot and contains hairs in under leaves only while BK5 contains no hair. White flower of *Morinda officinalis* How can change to yellow. Fruit of BK2 is simple fruit, fruit of BK7 is more convergence, green when young and yellow red when ripen while other varieties is multiple fruit. Result of rDNA barcoding, identification of ITS region and phylogeny construction show closely related of 9 varieties except for BK2 and BK9. Based on the classification tree, ITS-rADN region sequence of 11 varieties of *Morinda officinalis* How was divided into 2 main groups Group 1 including ITS-rADN region sequence of BK2. Group 2 consists of ITS-rADN region sequences of the remaining 10 varieties divided into 2 subgroups. In that group 2.1, there are only BK9 samples, while 9 samples in group 2.2 are BK5, BK6, BK7, BK8, BK4, BK1, BK3, BK10 and BK11.

Keywords: *Morinda officinalis* How; morphology identification, DNA barcoding

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ba kích (*Morinda officinalis* How) là cây dược liệu lâu năm, cây bản địa của Việt Nam có giá trị kinh tế cao, trồng được dưới tán rừng và đang được phát triển ở nhiều địa phương vì nó mang lại nguồn thu nhập đáng kể cho người dân miền núi. Ba kích có tác dụng tăng cường sinh lực, chống độc, chống viêm, hạ huyết áp, bổ thận, trợ dương, tăng cường gân cốt và trừ phong thấp, rễ Ba kích được sử dụng rộng rãi trong dân gian có tác dụng bổ thận, tráng dương, tăng cường gân cốt, tăng sức đề kháng, sức khỏe dẻo dai. Dịch chiết Ba kích có tác dụng chống viêm, giảm huyết áp, chống oxy hóa, tác dụng nhanh với các tuyến cơ năng (Đỗ Tất Lợi, 2004; Đỗ Huy Bích *et al.*, 2004). Nguồn dược liệu Ba kích từ xưa đến nay được cung cấp từ khai thác tự nhiên, chưa được gây trồng rộng rãi và chưa có các nghiên cứu cụ thể phân loại về đặc điểm hình thái cũng như đánh giá mức độ đa dạng di truyền, làm cơ sở để nghiên cứu chọn lọc các giống có chất lượng dược liệu cao. Rasal & Parhe (2017) nhận định đánh giá đa dạng di truyền dựa trên

đặc điểm bình thường chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường và tương tác giữa kiểu gen với môi trường. Một trong những công cụ khoa học hiện đại đã và đang được ứng dụng khá rộng rãi, chính xác và được cho là có nhiều ưu điểm vượt trội trong đánh giá đa dạng loài là sử dụng công nghệ sinh học phân tử, các chỉ thị ADN. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm góp phần xác định các đặc điểm hình thái và đa dạng di truyền của các giống Ba kích bằng chỉ thị phân tử, phục vụ công tác tuyển chọn giống chất lượng cao, nâng cao hiệu quả trong phát triển vùng nguyên liệu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Gồm 11 giống Ba kích được thu thập tại 6 tỉnh khu vực miền núi phía Bắc: Vĩnh Phúc, Phú Thọ, Thái Nguyên, Quảng Ninh và Bắc Giang (chi tiết tại bảng 1). Các giống này sau khi thu thập được trồng sưu tập tại xã Nghĩa Phương, huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang.

Bảng 1. Địa điểm và thời gian thu thập các giống Ba kích tại các địa phương

STT	Ký hiệu mẫu	Nguồn gốc giống	Năm thu thập
1	BK1	Huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc; huyện Phù Ninh, tỉnh Phú Thọ; huyện Phú Lương tỉnh Thái Nguyên; huyện Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh.	2012
2	BK2	Huyện Định Hóa, tỉnh Thái Nguyên; huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc; huyện Phù Ninh, tỉnh Phú Thọ; huyện Hoành Bồ, tỉnh Quảng Ninh.	2012
3	BK3	Huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang; huyện Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh.	2012
4	BK4	Huyện Sơn Động, tỉnh Bắc Giang; huyện Hoành Bồ, tỉnh Quảng Ninh.	2012
5	BK5	Huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc.	2012
6	BK6	Huyện Phù Ninh, tỉnh Phú Thọ.	2012
7	BK7	Huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang; huyện Phú Lương, Định Hóa, tỉnh Thái Nguyên.	2012
8	BK8	Huyện Phù Ninh, tỉnh Phú Thọ.	2012
9	BK9	Huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang.	2012
10	BK10	Huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc.	2012
11	BK11	Huyện Lục Nam, Lục Ngạn, Sơn Động, tỉnh Bắc Giang; huyện Hoành Bồ, tỉnh Quảng Ninh.	2012

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 2/2013 đến tháng 12 năm 2016. Các giống được trồng tại khu thí nghiệm tại xã Nghĩa Phương, huyện Lục Nam, tỉnh Bắc Giang. Mỗi giống được trồng trong 1 ô thí nghiệm diện tích là 100 m². Mô tả đặc điểm hình thái các giống Ba kích được thực hiện theo khóa phân loại dựa trên đặc điểm hình thái của Nguyễn Nghĩa Thìn, 2007 và Bộ môn Thực vật học, Trường Đại học Dược Hà Nội.

Phân tích đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị ITS của các giống đã phân loại để xác định mức độ sai khác về kiểu gen. Sử dụng phương pháp CTAB của P. Doyle và Doyle (1987) có cải tiến.

- Tách chiết DNA tổng số, khuếch đại, giải trình tự vùng gen ITS và psbA-trnH: DNA tổng số từ mô lá được tách chiết. Quy trình thực hiện như sau:

- Chuẩn bị sẵn dung dịch đệm chiết CTAB ở 60°C. Nghiền khoảng 0,3 gam mẫu lá bằng chày cối sứ vô trùng trong nitơ lỏng đến khi thành dạng bột mịn. Hòa tan mẫu đã nghiền nhỏ trong 800 µl CTAB buffer và 60 µl SDS 10%. Thành phần dung dịch đệm chiết: Tris-bazơ 100 mM, EDTA 20 mM, NaCl 1,4 M, CTAB 2%. Ủ mẫu ở 65°C trong bể ổn nhiệt, thời gian 60 phút. Bổ sung chloroform, lắc nhẹ cho tới khi thành dạng nhũ sữa. Ly tâm 10.500 vòng/phút trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Hút dung dịch phía trên chuyển sang ống mới. Tiếp tục chiết lần 2 bằng chloroform, thu được dịch chiết chứa ADN.

- Kết tủa ADN bằng isopropanol đã làm lạnh. Để ở -20°C trong 1 giờ.

- Ly tâm 10.500 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Lấy tủa. Rửa tủa bằng ethanol 70%, ly tâm thu tủa, làm khô và hòa tan trong đệm TE. Loại ARN: bổ sung RNase vào mẫu ADN và ủ ở 37°C trong 1 giờ.

- DNA tổng số sau khi tách chiết được sử dụng làm khuôn cho PCR với các cặp mồi đã thiết kế và tổng hợp. Thành phần PCR được tiến hành với thể tích 15,0 µM gồm: Buffer Mg + 25 Mm, 0,3 µl dNTPs 10 Mm, 0,8 unit Taq ADN polymerase 5U/µl, 1,5 µM mỗi mồi. PCR được thực hiện chu trình nhiệt như sau 94°C - 5 phút; (94°C - 1 phút; 52°C - 45 giây; 72°C - 50 giây) × 35 chu kỳ; 72°C - 7 phút và sau đó giữ ở 4°C. Sau khi hoàn thành chương trình chạy PCR, sản phẩm PCR được bổ sung 4µl ADN Sequencing Stop Solution (Bao gồm: 10 mM NaOH + 95% ornamide + 0,05% bromophenol + 0,05% xylene cyanol). Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%.

- Sản phẩm PCR được thổi gel theo kit Qiagen bằng cách cho đoạn gel vừa cắt vào eppendorf 2 ml, bổ sung buffer QG theo tỷ lệ 3QG: 1 gel, ủ ở nhiệt độ 50°C trong 10 phút, ly tâm tốc độ 13.000 vòng/phút trong cột QIAquick, bổ sung 500 µl buffer QG vào cột QIAquick và ly tâm tốc độ 13.000 vòng/phút để loại hết agarose dư thừa; Bổ sung 750 buffer PE vào cột QIAquick, để cột thẳng đứng 5 phút sau đó ly tâm tốc độ 13.000 vòng/phút. giải trình tự gen tại Công ty Macrogen (Hàn Quốc). Sau đó, các trình tự được tập hợp lại và phân tích bằng chương trình Mega V5.1 để tạo cây đa dạng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái các giống Ba kích

Bảng 2. Đặc điểm hình thái thân, lá, rễ của 11 giống Ba kích đã thu thập

Mẫu giống	Màu sắc thân non	Màu sắc ngọn	Hình dạng thân	Hình dạng lá	Lông trên lá	Hình dạng rễ
BK1	Xanh, có lông dài và dày	Tím có lông ngắn và thưa.	Tròn	Hình thuôn dài, hình mác	Mặt trên nhẵn, mặt dưới có lông ngắn và thưa	Rễ trụ mập, vắn vẹo thắt như ruột gà có lõi màu vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi.
BK2	Xanh, không lông	Tím nhạt không lông	Tròn	Hình trứng, thuôn	Hai mặt lá nhẵn	Rễ trụ mập, vắn vẹo thắt như ruột gà có lõi màu vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK3	Xanh, có lông dài và dày	Tím nhạt có lông ngắn và thưa	Tròn	Hình mũi mác, thuôn hoặc trứng ngược	Mặt trên nhẵn, mặt dưới có lông ngắn và thưa	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK4	Xanh, không lông	Tím nhạt có lông ngắn và thưa	Tròn	Hình thuôn, mác	Mặt trên có lông gai, mặt dưới có lông nhưng mềm	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK5	Xanh, không có lông	Tím nhạt không lông	Tròn	Hình thuôn dài, mũi mác	Hai mặt lá nhẵn không có lông	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK6	Xanh, có lông ngắn và thưa	Tím có lông dài và dày	Tròn	Hình thuôn dài, mác.	Mặt trên có lông gai, mặt dưới có lông nhưng mềm	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK7	Xanh, có lông dài và dày	Xanh nhạt có lông ngắn và thưa	Tròn	Lá mềm, hình thuôn, mác	Mặt trên nhẵn không có lông, mặt dưới có lông ngắn và thưa	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK8	Xanh, có lông dài và dày	Xanh có lông dài và dày	Tròn	Hình trứng, thuôn dài, mác	Mặt trên nhẵn không có lông, mặt dưới có lông ngắn và thưa	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK9	Xanh, có lông	Xanh có lông ngắn	Tiết diện tròn	Hình thuôn, bầu dục	Mặt trên nhẵn không có lông, mặt dưới có lông ngắn mềm	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK10	Xanh, không lông	Ngọn xanh, không lông	Tiết diện tròn	Hình trứng, mũi mác, bầu dục	Hai mặt lá nhẵn không lông	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi
BK11	Xanh, có lông	Ngọn xanh, có lông dày	Tiết diện tròn	Hình thuôn, mác, bầu dục	Mặt trên nhẵn không có lông, mặt dưới có lông ngắn và dày	Rễ trụ mập, vắn vẹo, lõi vàng nhạt, có khía và gai chạy dọc lõi

Các giống Ba kích có đặc điểm chung là thân tròn, rễ trụ mập vắn vẹo, lõi màu vàng nhạt có khía và gai chạy dọc lõi, tuy nhiên về lông trên thân, lông trên lá, hình dạng lá và màu sắc ngọn thân là những đặc điểm phân biệt mẫu giống. Cụ thể, các giống có thân non màu xanh, ngọn non màu tím là BK1,

BK2, BK3, BK4, BK5, BK6; các giống còn lại có thân non màu xanh, ngọn xanh. Đặc điểm lá có lông ít liên quan đến lông trên thân và trên ngọn non. Giống BK9 ngọn non màu xanh có lông, lá mặt trên nhẵn và mặt dưới có lông, giống BK5 lá không có lông ở cả hai mặt.

Bảng 3. Đặc điểm hình thái hoa, quả của các giống Ba kích

Giống	Thời gian ra hoa	Hình thái hoa	Màu sắc hoa	Loại quả/hình dạng quả	Màu sắc quả
BK1	Tháng 3 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng đỏ	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK2	Tháng 2 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK3	Tháng 3 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK4	Tháng 3 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK5	Tháng 4 - 5	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK6	Tháng 3 - 5	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK7	Tháng 3 - 5	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK8	Tháng 2 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK9	Tháng 3 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK10	Tháng 2 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ
BK11	Tháng 3 - 4	Cụm hoa dạng tán	Màu trắng, sau chuyển vàng	Quả tụ và quả đơn	Non xanh, chín màu vàng đỏ

Thời gian ra hoa của các giống Ba kích khá sớm, bắt đầu từ tháng 2 (giống BK2, BK8, BK10), các giống còn lại bắt đầu từ tháng 3. Hoa Ba kích là cụm hoa dạng tán, có màu

trắng chuyển sang vàng, quả khi non màu xanh, khi già chuyển sang màu vàng đỏ. Quả thuộc quả đơn ở giống BK2, quả tụ nhiều ở giống BK7 và hỗn hợp ở các giống còn lại.



Hình 1. Đặc điểm hình thái rễ cây Ba kích

1,2: Hình dạng rễ; 3,4; Tiết diện ngang rễ (3. lõi lớn, 4. Lõi nhỏ); 5: Tím; 6: Trắng



Hình 2. Đặc điểm hình thái thân non cây Ba kích
1. Thân phủ lông dài; 2. thân nhẵn



Hình 3. Đặc điểm hình thái lá và lá kèm cây Ba kích
1. Thân mang lá; 2,3. Hình dạng lá; 4,5. Mặt trên và mặt dưới lá; 6,7. Lá kèm



Hình 4. Đặc điểm bề mặt lá cây Ba kích
1,2. nhẵn; 3,4. phủ lông



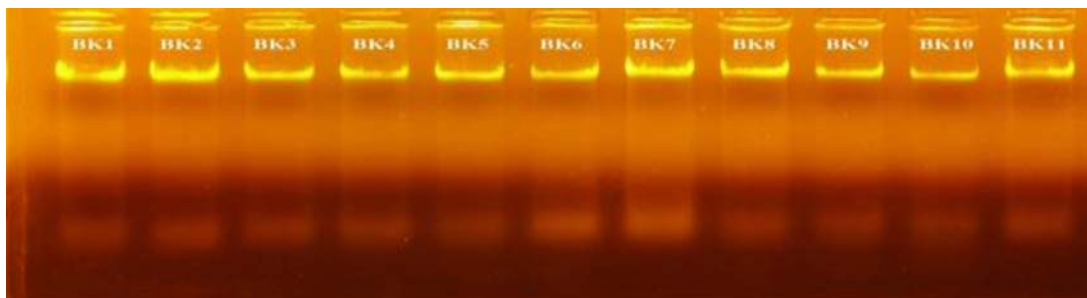
Hình 5. Đặc điểm hình thái quả và hạt của cây Ba kích

3.2. Đánh giá đa dạng di truyền của các giống Ba kích

3.2.1. Kết quả tách chiết DNA tổng số và PCR khuếch đại các vùng gen

Qua kết quả điện di trên gel agarose 1% cho thấy các băng ADN thu được của các giống Ba kích khá gọn và đồng đều chứng tỏ chất lượng ADN của các giống là khá tốt, không bị lẫn tạp

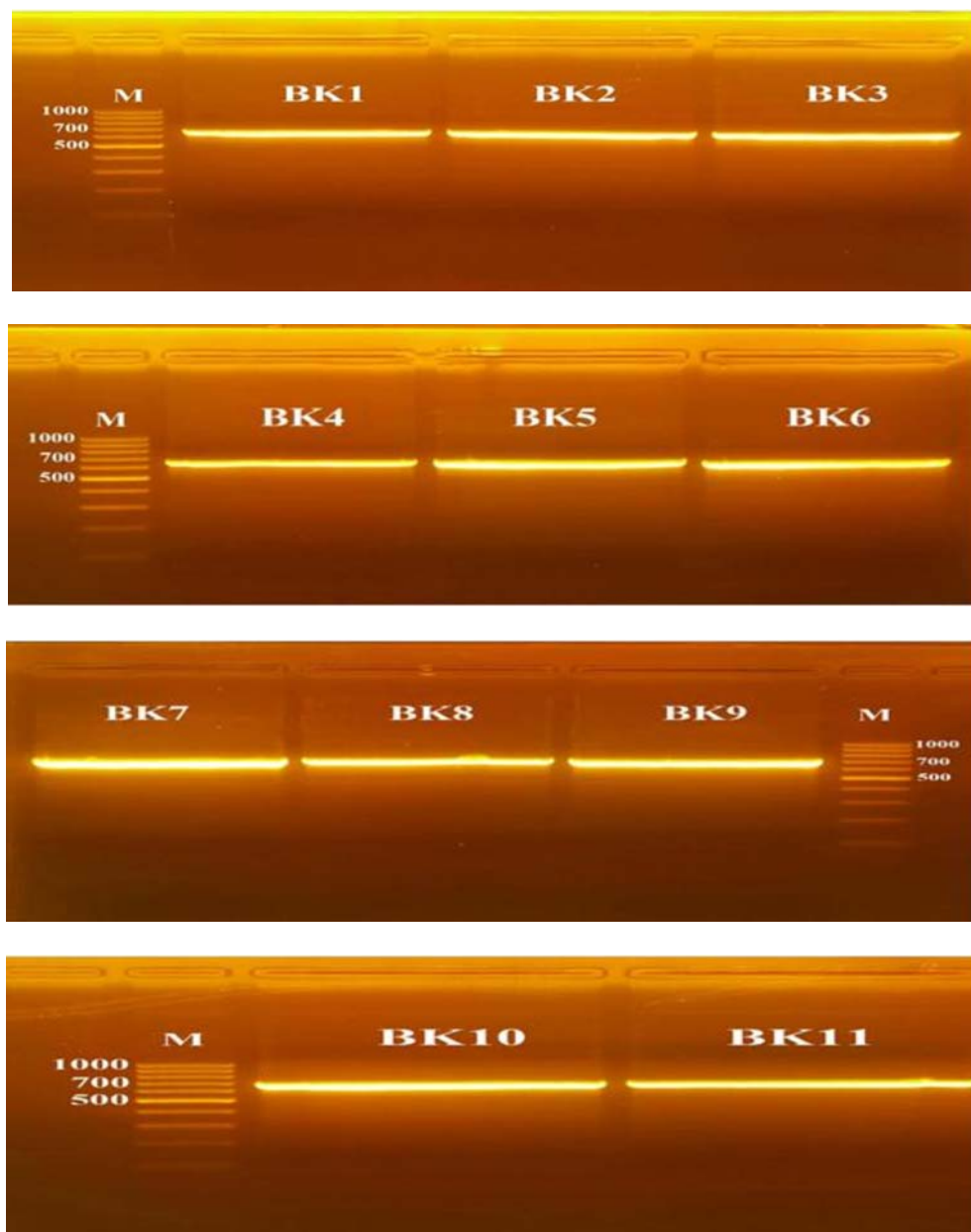
chất, đạt yêu cầu để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Mặt khác, không thấy xuất hiện vệt sáng ARN phía dưới, điều đó chứng tỏ ARN cũng đã được loại bỏ khỏi dịch chiết ADN. Kết quả điện di cũng cho thấy ADN có nồng độ tương đối cao. Các mẫu ADN tổng số được pha loãng về nồng độ 50 ng/μl để thực hiện phản ứng PCR.



Hình 6. Ảnh điện di ADN tổng số của 11 giống Ba kích

Sau khi thực hiện phản ứng PCR, sản phẩm khuếch đại với cặp mồi ITS1/ITS8 và được điện di trên gel agarose 1,5% cho băng đơn hình với kích thước lần lượt khoảng 700 bp. Kết quả khuếch đại sản phẩm PCR tiến hành

thời gel, sử dụng cột Sigma GenElute™ Agarose Spin column (USA) để thu được sản phẩm PCR đặc hiệu, kết quả được thể hiện trong hình 7.



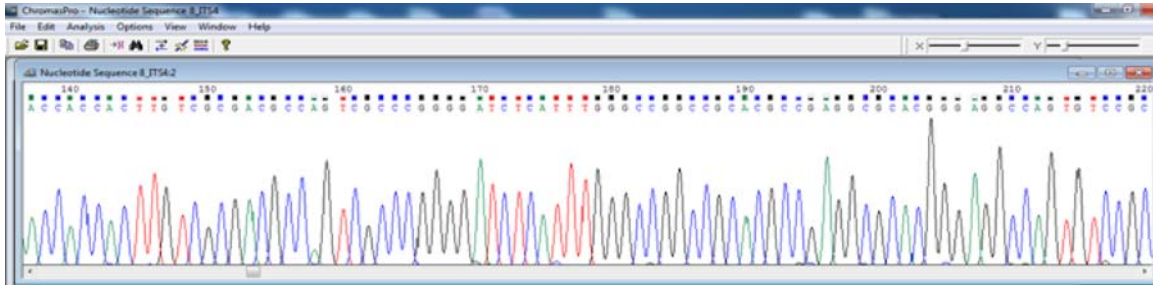
Hình 7. Phổ điện di sản phẩm PCR với cặp mồi ITS1/ITS8 trên 11 giống Ba kích với thang chuẩn Marker: 100bp

3.2.2. Kết quả giải trình tự vùng ITS-rDNA của các giống Ba kích nghiên cứu

* Kích thước đoạn trình tự của các giống Ba kích nghiên cứu

Sản phẩm PCR với cặp mồi ITS1/ITS8 sau khi tinh sạch được phân tích trực tiếp trên máy giải trình tự ABI PRISM 3100 DNA Analyzer

(AppliedBiotech) của Viện Công nghệ Sinh học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam và phần mềm MEGA v6, kết quả cho thấy có các đỉnh (peak) với bốn màu sắc khác nhau tương ứng với bốn loại nucleotide và biểu thị dãy trình tự các nucleotide (Hình 7). Kết quả đã thu được 11 đoạn trình tự ITS của 11 giống Ba kích với số nucleotide khác nhau trên từng mẫu.



Hình 8. Một đoạn giản đồ có các đỉnh với bốn màu sắc khác nhau tương ứng với bốn loại nucleotide

Kết quả phân tích vùng ITS cho thấy trình tự các nucleotide giữa các giống Ba kích có sự khác biệt nhau. Kết quả ở bảng 3 cho thấy, các mẫu nghiên cứu có tỷ lệ Guanin (G) và Cytosine (C) cao hơn tỷ lệ Adenine (A) và Thymine (T) hay nói một cách khác là đều có

thành phần %GC cao hơn thành phần %AT. Giống Ba kích BK8 có thành phần GC cao nhất (61,5%) cao hơn thành phần AT (38,5). Tỷ lệ thành phần %GC trung bình ở cả 11 giống nghiên cứu là 60,5% và tỷ lệ thành phần %AT trung bình là 39,5%.

Bảng 4. Thành phần bốn loại nucleotide của các mẫu nghiên cứu

Giống Ba kích	Tỷ lệ (%)					
	T(U)	C	A	G	GC	AT
BK1	22,0	30,4	16,9	30,7	61,1	38,9
BK2	22,0	30,5	18,9	28,6	59,1	40,9
BK3	22,1	30,1	17,2	30,6	60,7	39,3
BK4	23,1	30,2	16,3	30,4	60,7	39,3
BK5	22,4	30,2	16,3	31,1	61,3	38,7
BK6	22,1	30,4	17,4	30,1	60,5	39,5
BK7	22,3	30,6	17,4	29,8	60,3	39,7
BK8	22,4	30,4	16,1	31,1	61,5	38,5
BK9	22,8	29,9	17,4	29,9	59,8	40,2
BK10	22,4	30,2	16,9	30,4	60,7	39,3
BK11	22,3	29,9	17,7	30,1	60,0	40,0
Trung bình	22,4	30,3	17,1	30,3	60,5	39,5

Kết quả so sánh trình tự nucleotid vùng ITS-rADN của các giống Ba kích

Trình tự đoạn ITS-rADN của 11 giống Ba kích sau khi đã xác định được đem so sánh với nhau. Phép so sánh giống hàng được thực hiện bằng phần mềm Mega v6.0.

Để phân tích mức độ đa dạng của các trình tự ITS-rADN, tiến hành giống hàng các trình tự

thu được. Kết quả cho thấy sự khác biệt giữa các trình tự chủ yếu là các vị trí đa hình đơn (SNP), trong đó 1 nucleotid bị thay thế bởi một nucleotid khác. Đặc biệt ở giống BK2 và BK7 có mất đi một đoạn so với các giống còn lại, ở giống BK2 bị mất 2 đoạn nucleotid đó là từ vị trí 385 đến 388 và từ vị trí 393 đến 426, còn giống BK7 cũng bị mất 2 đoạn nucleotid đó là từ vị trí 346 đến 351 và từ vị trí 361 đến

364 dẫn đến sự khác biệt về kích thước đoạn ADN thu được.

Thực hiện so sánh từng cặp bằng công cụ BLAST, thu được hệ số tương đồng trình tự

vùng ITS-rADN giữa 11 giống Ba kích nghiên cứu. Kết quả hệ số tương đồng này được thể hiện ở bảng 5.

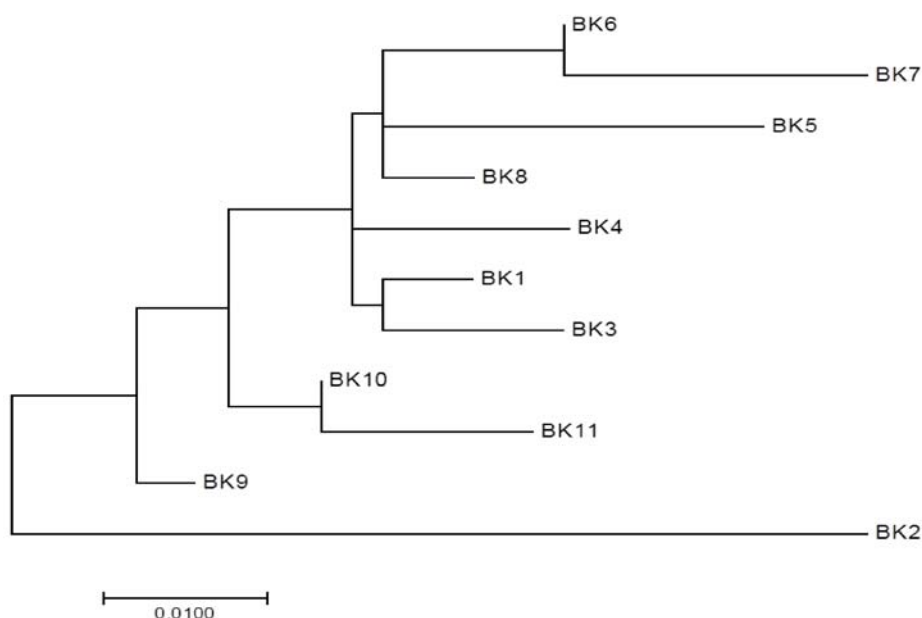
Bảng 5. Hệ số tương đồng trình tự vùng ITS-rADN giữa 11 giống Ba kích (%)

Giống	BK1	BK3	BK10	BK11	BK2	BK9	BK4	BK5	BK8	BK6	BK7
BK1		98	98	97	94	98	98	97	99	98	97
BK3			98	97	94	98	98	97	98	98	96
BK10				99	94	99	98	97	98	98	96
BK11					93	98	96	96	97	97	95
BK2						95	93	92	94	94	92
BK9							97	96	98	98	96
BK4								97	98	98	96
BK5									98	97	96
BK8										98	97
BK6											98
BK7											

Kết quả trong bảng 5 cho thấy có sự tương đồng cao giữa 11 trình tự của 11 giống Ba kích, hệ số tương đồng cao nhất là 99%, còn hệ số thấp nhất là 92%.

* *Cây phân loại trình tự ITS-rADN của 11 giống Ba kích*

Sau khi xác định được trình tự nucleotid vùng ITS-rADN đã tiến hành dựng cây phân loại, kết quả thể hiện ở hình 9.



Hình 9. Cây phân loại 11 giống Ba kích dựa trên so sánh trình tự ITS-rADN

Dựa vào cây phân loại trên cho thấy trình tự vùng ITS-rADN của 11 giống Ba kích được chia thành 2 nhóm chính:

- Nhóm 1: Chỉ gồm trình tự vùng ITS-rADN của giống BK2.

- Nhóm 2: Gồm trình tự vùng ITS-rADN của 10 giống còn lại, được chia thành 2 nhóm nhỏ, trong đó nhóm 2.1 chỉ có giống BK9; 9 giống còn lại thuộc nhóm 2.2 là: BK5, BK6, BK7, BK8, BK4, BK1, BK3, BK10 và BK11.

Kết quả nghiên cứu đã xác định được trình tự nucleotid vùng ITS-rADN của 11 giống Ba kích. Kích thước vùng ITS dao động từ 577 bp đến 615 bp, kích thước trung bình là 610 nucleotid và tỷ lệ % (G+C) dao động từ 59,1% đến 61,5%, trung bình là 60,5%. Với kết quả thu được như vậy thì 11 giống Ba kích nghiên cứu có kết quả tương tự như kích thước và tỷ lệ thành phần (G+C) vùng ITS của nhiều loài thực vật hạt kín đã được công bố. Việc xác định trình tự và sử dụng trình tự nucleotid đoạn ITS-rADN để so sánh nhằm tìm ra mối quan hệ tiến hóa giữa các loài hoặc sự đa dạng di truyền của các cá thể trong cùng một loài đã được sử dụng phổ biến từ lâu trên thế giới.

IV. KẾT LUẬN

Các giống Ba kích có đặc điểm hình thái chung là thân tròn, rễ trụ mập vắn vẹo, lõi hơi vàng có khía và gai. Sự khác biệt về lông trên thân, trên lá, hình dạng lá và màu sắc ngọn thân là những đặc điểm phân biệt các giống Ba kích. Các giống có thân non xanh, ngọn non màu tím là BK1, BK2, BK3, BK4, BK5, BK6; các giống còn lại có thân non xanh, ngọn xanh. Đặc điểm lá có lông ít liên quan đến lông trên thân và trên ngọn non. Giống BK9 ngọn non màu xanh có lông, lá mặt trên nhẵn và mặt dưới có lông, giống BK5 lá không có lông ở cả hai mặt. Hoa Ba kích màu trắng sau chuyển vàng, đa số các giống có quả là hỗn hợp riêng giống BK2 là quả đơn, giống BK7 quả tụ chiếm nhiều hơn, quả có màu xanh khi non và vàng đỏ khi chín.

Dựa vào cây phân loại cho thấy trình tự vùng ITS-rADN của 11 giống Ba kích chia thành 2 nhóm chính: Nhóm 1 chỉ gồm trình tự vùng ITS-rADN của giống BK2; Nhóm 2 gồm trình tự vùng ITS-rADN của 10 giống còn lại, được chia thành 2 nhóm nhỏ, trong đó nhóm 2.1 chỉ có giống BK9, 9 giống còn lại thuộc nhóm 2.2 là BK5, BK6, BK7, BK8, BK4, BK1, BK3, BK10 và BK11.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, 2004. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Y học.
2. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Thu, Nguyễn Tập và Trần Toàn, 2004. Cây thuốc và Động vật làm thuốc Ở Việt Nam, Tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
3. Nguyễn Nghĩa Thìn, 2007. Phương pháp đánh giá thực vật. NXB Đại học Quốc gia.
4. Viện Dược liệu, 2013. Kỹ thuật trồng một số loại cây thuốc. Nxb Khoa học và Kỹ thuật.
5. Jeff J. Doyle and Jane L. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin* vol. 19(1):11 - 15.
6. Rasal, M. M., Parhe, S.D., 2017. Genetic Diversity studies in Mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) Germplasm. *Trends in Biosciences*, 10: 868 - 872.

Email tác giả liên hệ: kimngocquang74@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/08/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 21/08/2020

Ngày duyệt đăng: 24/08/2020