

***NÔNG NGHIỆP - THỦY SẢN***

**ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN CỦA BẢY MẪU GIỐNG/LOÀI CHANH DÂY (*PASSIFLORA EDULIS*) Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG DỰA VÀO HÌNH THÁI VÀ DẤU PHÂN TỬ ITS**

**THIỀU VĂN ĐƯỜNG\*, ĐỖ VĂN MÃI\*, PHẠM THÀNH TRỌNG\*,  
NGUYỄN LÊ OANH TUYỀN\*, TRƯƠNG TRỌNG NGÔN\*\***

***Tóm tắt***

**C**hanh dây (*Passiflora edulis*) là loại cây quý không những dùng làm thuốc trong y học mà chúng còn được chế biến nhiều dạng nước uống khác nhau. Loài này có nguồn gốc từ Bắc Phi, chúng hiện nay được trồng khá phổ biến tại các tỉnh thuộc vùng đồng bằng sông Cửu Long. Theo các nghiên cứu cho thấy Chanh dây có rất nhiều loài, vì vậy xác định đặc điểm di truyền của loài là bước đầu quan trọng trong việc đánh giá đa dạng di truyền. Mục tiêu của nghiên cứu này bước đầu đánh giá được đặc điểm di truyền của một số loài chanh dây thu thập ở bảy tỉnh vùng đồng bằng sông Cửu Long dựa vào đặc điểm hình thái và dấu phân tử ITS. Trên cơ sở dữ liệu đó sẽ xác định được mối quan hệ di truyền giữa chúng bằng cách thiết lập cây nhả hồ dựa trên dấu phân tử DNA ITS từ đó giúp định hướng chiến lược

cây phả hệ dựa trên dữ liệu phân tử DNA-ITS từ đó giúp định hướng chiến lược khai thác và nhân trồng chúng một cách hiệu quả.

**Từ khóa:** Chanh dây, dấu ITS, cây phả hệ

**Abstract**

*Passion fruit (Passiflora edulis) is a precious plant that is used not only for medicinal purposes but also for processing many different forms of drinking. This species is origin from North Africa, it is now widely grown in the Mekong Delta provinces. According to previous studies, there are many kind of Passion fruit, so identifying genetic characteristics of species is an important first step in assessing genetic relationship. The objective of this study was to initially evaluate the agronomic and genetic characteristics of some Passiflora edulis species collected in seven provinces in the Mekong Delta based on morphological and molecular marker of ITS. Through that database, we can determine the genetic relationship among them based on ITS marker to propose an appropriate strategy for exploiting and propagating them effectively.*

**Keywords:** ITS marker, Phylogenetic tree, Passiflora edulis

---

\* Trường Đại học Tây Đô

\*\* Trường Đại học Cần Thơ

### 1. Dẫn nhập

Chanh dây (*Passiflora edulis*), thuộc họ *Passifloraceae* (họ chùm bao), bộ *Malpighiales*, chi *Passiflora*; hiện có hơn 400 loài, trong đó có khoảng 60 loài cho trái ăn được. Nó có tên thường gọi: chanh dây, Mát Mát, lạc tiên, trái Mê Ly; tên tiếng Anh: Passion fruit, Passion vine, Purple granadilla.

Có 3 loại chanh dây phổ biến: chanh dây tím (*Passiflora edulis*), chanh dây vàng (*Passiflora edulis flavicarpa*), chanh dây lam (*Passiflora coerulea*). Nhưng ở Việt Nam thường thấy 2 loại phổ biến nhất là *Passiflora*

*edulis* (quả tím) và *Passiflora edulis flavicarpa* (quả vàng). Hai loại chanh dây có tính thương mại cao là: dạng trái tím (*Passiflora edulis*) được trình bày ở Hình 1, dạng này rất phổ biến ở vùng khí hậu mát (cao độ 1200-2000 m), có vĩ độ cao như Đà Lạt, Tây Nguyên của Việt Nam; và dạng trái vàng (*Passiflora flavicarpa*) ít phổ biến hơn. Quả chanh dây có dạng trứng hoặc hơi tròn, đường kính khoảng 5 - 6cm, nặng khoảng 30 -75g, vỏ cứng láng, bên trong là khối nước quả thơm màu cam, có rất nhiều hạt có màng bao bọc ngoài, hạt màu đen, cứng nhỏ, hình ovan.





**Hình 1. Trái chanh dây vỏ tím**

## **2. Vật liệu và phương pháp**

### **2.1. Vật liệu**

Bảy mẫu giống/loài Chanh dây trồng tại các tỉnh như Cần Thơ, An Giang, Hậu Giang, Sóc Trăng, Bạc Liêu, Đồng Tháp, và Kiên Giang, đã được khảo sát thu mẫu và tiến hành đo đếm các chỉ tiêu nông học cũng như quan sát hình thái. Tại mỗi địa điểm đã tiến hành thu và đo các chỉ tiêu nông học trên 5 cây mẫu với độ tuổi tương đối đồng đều của mỗi cây. Các cây thu mẫu đều có ít nhất là 2 năm tuổi, không tiến hành thu những cây còn non hoặc

những cây quá già hay những cây bị sâu bệnh. Thời gian đã được thực hiện từ ngày 15 tháng 09 đến ngày 30 tháng 12 năm 2020.

### **2.2. Phương pháp hình thái**

Phương pháp quan sát và mô tả hình thái bên ngoài và vi phẫu chanh dây được thực hiện dựa theo phương pháp nghiên cứu thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn (2006) có cải tiến. Các bộ phận mô tả bao gồm: thân, lá, rễ, hoa, quả, và hạt. Phương pháp đo đếm được tiến hành như sau:

- Chiều cao thân (cm): tiến hành đo hết

phần thân trên trên mặt đất, đo từ mặt đất đến cuối chồi ngọn, phương pháp được trình bày ở Hình 2 bên dưới; trong khi đó lá: tiến hành đo hai chỉ số là chiều dài lá từ cuống lá đến chót lá; và chiều rộng phần phiến lá lớn nhất. Riêng rễ: đo từ phần dưới mặt đất (miền trường

thành) đến chóp rễ.

- Hoa: đo chiều dài hoa. Mô tả màu sắc và hình dạng tràng hoa.

- Quả: đo chiều dài quả được trình bày ở Hình 3, kết hợp mô tả màu sắc và hình dạng quả.





Hình 2. Đo chiều cao thân (cm).



Hình 3. Đo chiều dài quả chanh dây (cm)

### 2.3. Phương pháp phân tử

Các mẫu lá non và tươi được thu và trữ lạnh ở  $-20^{\circ}\text{C}$ . Việc tách chiết ADN được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, trường Đại học Cần Thơ. ADN toàn phần của các mẫu giống/loài Chanh dây được ly trích từ các mẫu lá tươi theo quy trình

ITS 1: 5`-TCCGTAGGTGAACCGCGG-3` và

ITS 4: 5`-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3`

Phản ứng PCR bao gồm 35 chu kỳ gia nhiệt, giai đoạn biến tính với 5 phút ở  $95^{\circ}\text{C}$ , 60 giây ở  $95^{\circ}\text{C}$ , thời gian bắt cặp là 50 giây ở  $54^{\circ}\text{C}$ , thời gian kéo dài là 90 giây ở  $72^{\circ}\text{C}$ , kéo dài chuỗi trong 5 phút ở  $72^{\circ}\text{C}$ , và sản phẩm

tách chiết bằng phương pháp CTAB có cải tiến (Doyle and Doyle, 1990). Sau khi tinh sạch việc kiểm tra chất lượng ADN bằng điện di trên gel agarose 1%; sau khi điện di, gel được nhuộm bằng thuốc nhuộm redsafe (Biobasic, UK). Khuếch đại PCR được thực hiện với cặp mồi và giải trình tự vùng ITS (White *et al.*, 1990), trình tự của cặp mồi như sau:

được trữ ở  $10^{\circ}\text{C}$  trong 20 phút. Điện di sản phẩm PCR rồi tinh chế bằng bộ kit Wizard SV gel và PCR Clean-up System (Promega), dựa theo phương pháp Sanger (Sanger *et al.*, 1977).

#### 2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu hình thái đều được tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (Standard deviation-SD) bằng phần mềm Microsoft Excell 10.0. Trọng lượng phân tử được tính toán bằng phần mềm Gel Analyzer. Kết quả giải trình tự đoạn ITS được lưu trữ dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm BioEdit ver. 7.0.5 (Hall, 1999). Sau đó so sánh bằng phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gen NCBI (National Center for Biotechnology Information) dùng cho việc xác định loài. Để xác định mối quan hệ di truyền giữa bảy mẫu giống/loài chanh dây tiến hành xây dựng 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 ITS của bảy mẫu giống chanh dây sử dụng để xây dựng giản đồ phả hệ đều

đồng bằng sông Cửu Long được trình bày ở Bảng 1. Chiều cao thân dao động từ 139,0 cm (An Giang) đến 155,6 cm (Kiên Giang). Kết quả này phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây (*Từ điển Bách Khoa Dược học*).

Chiều dài trung bình lá là 12,8 cm (Bạc Liêu) đến 16,7 cm (Cần Thơ). Kết quả này phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây (*Từ điển Bách Khoa Dược học*) dao động từ 12,0-18,5 cm. Trong khi đó chiều rộng lá biến thiên từ 4,4 cm (Sóc Trăng) đến 6,8 cm (Cần Thơ), kết quả này cho thấy nhỏ hơn các kết quả đã công bố trung bình 7,5 cm (*Từ điển Bách Khoa Dược học*). Chiều dài rễ biến thiên từ 19,2 cm (Sóc Trăng) đến 26,2 cm (An Giang). Chưa tìm thấy kết quả này công bố trong *Từ điển Bách Khoa Dược học*.

Chiều dài hoa dao động từ 8,1 cm (Cần Thơ) đến 8,7 cm (An Giang). Chiều dài ống nhụy



được canh hàng (alignment) bằng phân mềm *BioEdit* và loại bỏ một số trình tự bị nhiễu ở hai đầu của mỗi trình tự.

### 3. Kết quả

#### 3.1. Đặc tính nông học

Các đặc tính nông học của bảy mẫu giống/loài Chanh dây ở bảy tỉnh thuộc vùng

Thờ) den 8,7cm (An Giang). Chưa thay kết quả nào được công bố trong *Từ điển Bách khoa Dược học*. Chiều dài của quả cho thấy biến thiên từ 19,9 cm (Bạc Liêu) đến 21,5 cm (Cần Thơ), kết quả này cho thấy phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây (*Từ điển Bách Khoa Dược học*).

**Bảng 1. Đặc tính nông học của bảy mẫu giống/loài Chanh dây (đơn vị: cm).**

Địa điểm	Chiều cao thân	Chiều dài lá	Chiều rộng lá	Chiều dài rễ	Chiều dài hoa	Chiều dài quả
1. Q. Cái Răng, Cần Thơ	140,2 ± 12,58	16,68 ± 1,90	6,78 ± 0,70	23,4 ± 3,32	8,10 ± 0,64	21,50 ± 0,58
2. H. Phú Tân, An Giang	139,0 ± 13,15	15,86 ± 1,48	6,24 ± 1,44	26,24 ± 3,01	8,70 ± 1,21	20,80 ± 1,29
3. H. Long Mỹ, Hậu Giang	143,8 ± 13,01	14,46 ± 1,39	5,16 ± 0,60	24,26 ± 1,36	8,20 ± 0,37	20,70 ± 1,26



4. Tp. Sóc Trăng, <b>Sóc Trăng</b>	155,0 ± 6,71	15,14 ± 1,92	4,36 ± 1,06	19,24 ± 1,99	8,30 ± 0,53	20,50 ± 1,39
5. H. Hòa Bình, <b>Bạc Liêu</b>	142,4 ± 11,04	12,84 ± 2,24	6,52 ± 0,73	19,48 ± 1,36	8,50 ± 0,72	19,9 ± 2,02
6. Giồng Riềng, <b>Kiên Giang</b>	155,6 ± 12,82	14,72 ± 1,59	6,56 ± 0,77	20,82 ± 1,40	8,50 ± 0,22	20,4 ± 1,89
7. Tx. Hồng Ngự, <b>Đồng Tháp</b>	150,8 ± 13,03	15,1 ± 2,30	5,88 ± 0,63	22,14 ± 2,27	8,30 ± 0,35	20,9 ± 1,29

### 3.2. So sánh trình tự tương đồng

Kết quả so sánh trình tự ITS với ngân hàng NCBI được trình bày ở Bảng 2. Đa số các trình tự của bảy mẫu giống/loài chanh dây đều cho giá trị tương đồng cao, thấp nhất 89,26% (Ch7- Tx Hồng Ngự, Đồng Tháp) và cao nhất 99,99% (Ch1 - Q. Cái Bè, Thành

phố Cần Thơ). Các kết quả này cho thấy các mẫu giống/loài chanh dây đều tương đồng cao với loài *Passiflora edulis var. Edulis*, kết quả cũng phù hợp với các kết quả đã được công bố trước đây (Đỗ Tất Lợi, 2006; Võ Văn chi, 2009).

**Bảng 2. Giá trị tương đồng của 7 mẫu giống/loài Chanh dây so sánh trình tự ITS trên ngân hàng NCBI.**

Giống/ loài	Địa điểm	Ngân hàng NCBI	Giá trị tương đồng	Tác giả
Ch1	Quận Cái Răng, <b>TP. Cần Thơ</b>	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. Edulis 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1</i>	99,09%	Beena, V.L. and Suhara Beevy, S., 2015,
Ch2	Huyện Phú Tân, <b>tỉnh An Giang</b>	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. Edulis 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1</i>	93,37%	Silva,G.S., Souza,M.M., Pamponet,V.C., Oliveira,S.G., Micheli,F. and Melo, C.A., 2015
Ch3	Huyện Long Mỹ, tỉnh Hậu Giang	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. Edulis 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1</i>	97,58%	Inglis,P.W., Ferreira,M.E., Bellon,G., Junqueira,N.T.V. and Faleiro,F.G., 2016

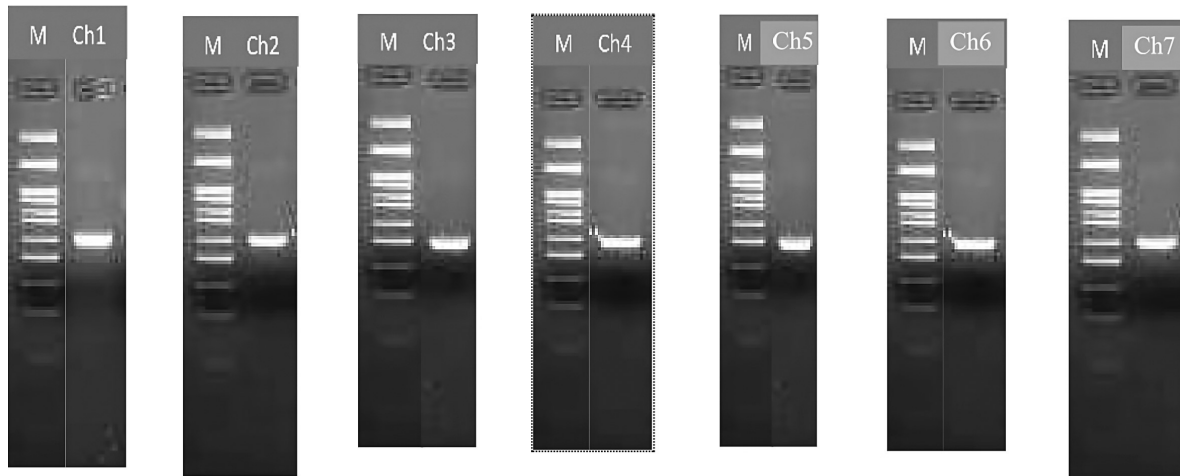


Ch4	Tp. Sóc Trăng, <b>tỉnh Sóc Trăng</b>	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. Edulis 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1</i>	95,96%	Janssens,S.B., Vandelook,F., De Langhe,E., Verstraete,B., Smets,E., Vandenhoutte,I. and Swennen,R., 2016
Ch5	Huyện Hòa Bình, <b>tỉnh Bạc Liêu</b>	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. edulis 18S,</i> <i>internal transcribed</i> <i>spacer 1,</i>	92,96%	Beena,V.L. and Suhara Beevy,S., 2015,
Ch6	H. Giồng Riềng, <b>tỉnh Kiên Giang</b>	<i>Sauropus</i> <i>androgynus 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1,</i>	90,58%	Inglis,P.W., Ferreira,M.E., Bellon,G., Junqueira,N.T.V. and Faleiro,F.G., 2016
Ch7	Thị xã Hồng Ngự, <b>tỉnh Đồng Tháp</b>	<i>Passiflora edulis</i> <i>var. Edulis 18S,</i> <i>Internal transcribed</i> <i>spacer 1</i>	89,26%	Janssens,S.B., Vandelook,F., De Langhe,E., Verstraete,B., Smets,E., Vandenhoutte,I. and

### 3.3. Kết quả trình tự đoạn ITS và mối quan hệ di truyền

Các sản phẩm PCR cho đoạn ITS của bảy mẫu giống/loài chanh dây đều cho bằng

khúc đại ở vị trí khoảng 700bp, kết quả được trình bày ở Hình 4, các kết quả phù hợp với các nghiên cứu trước đây.



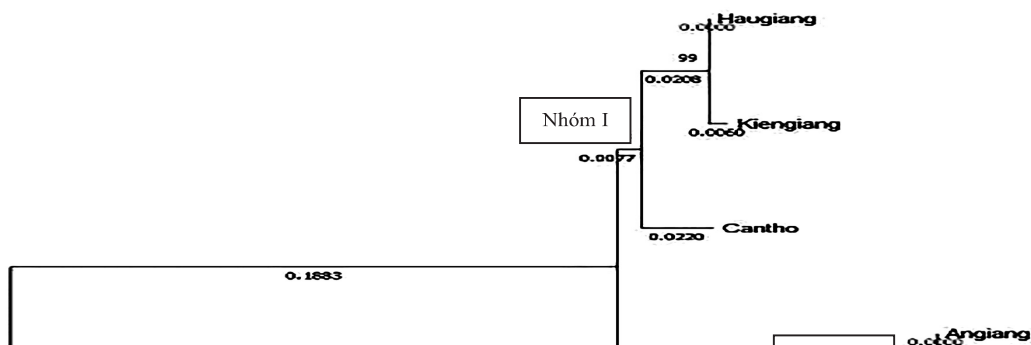
**Hình 4. Sản phẩm PCR của bảy mẫu giống/loài chanh dây thu ở các tỉnh ĐBSCL**

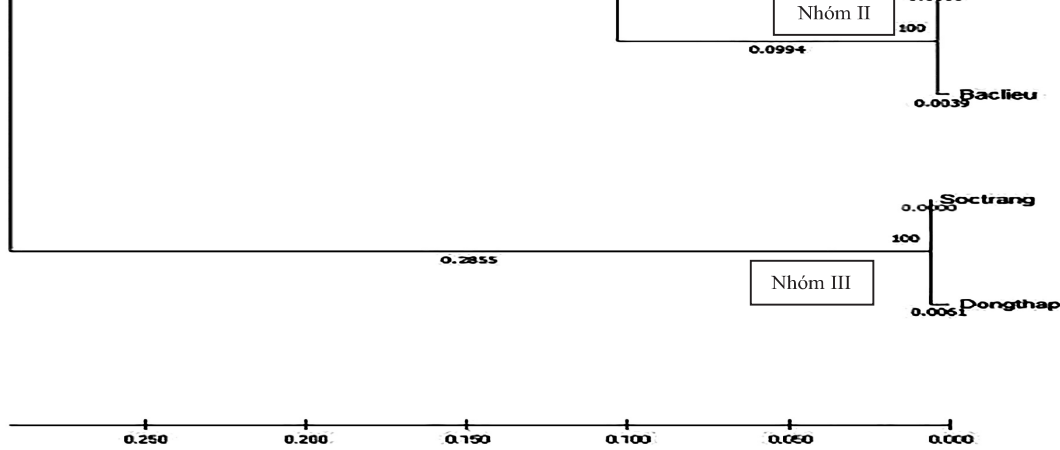
**Ghi chú:** M: Ladder 1000bp, Ch1-Ch7: các mẫu thu thập ở 7 tỉnh ĐBSCL

### 3.4. Mối quan hệ di truyền giữa bảy mẫu giống/loài chanh dây

Mối quan hệ di truyền của bảy mẫu giống/loài chanh dây dựa trên trình tự ITS được trình bày ở Hình 5. Kết quả cho thấy bảy mẫu giống/loài có thể được xếp làm 3 nhóm lớn. Nhóm I bao gồm hai loài ở Sóc Trăng (Ch4) - Đồng Tháp (Ch6) gần nhau về mặt di truyền; có chỉ số giống nhau. Nhóm II bao gồm 2 loài là Bạc Liêu (Ch5) với An Giang (Ch2) gần nhau về

trình tự ITS. Nhóm III bao gồm 3 mẫu giống loài Chanh dây ở Hậu Giang (Ch3), Kiên Giang (Ch7) và Cần Thơ (Ch1). Tuy về mặt sinh thái giữa các tỉnh có khác nhau trong đó các tỉnh thuộc vùng nước ngọt như Cần Thơ, Đồng Tháp, Hậu Giang và An Giang còn lại các tỉnh như Kiên Giang, Bạc Liêu, Sóc Trăng, các tỉnh này thuộc sinh thái nước mặn và lợ, nhưng các loài có thể giống nhau có thể do việc trồng của người dân đem từ vùng này qua vùng khác một cách ngẫu nhiên.





**Hình 5. Môi quan hệ di truyền của 7 mẫu giống/loài Chanh dây**

#### **4. Kết luận và đề xuất**

Qua sơ khởi việc khảo sát các đặc tính nông học của bảy mẫu giống/loài chanh dây tuy có khác biệt giữa các vùng chủ yếu là do điều kiện sinh thái bao gồm đất, thời tiết và kỹ thuật chăm sóc khác nhau. Với việc giải trình tự ITS, tên bảy mẫu giống/loài chanh dây bước đầu cho thấy trùng với loài *Passiflora edulis var. Edulis*.

Do đây là những kết quả bước đầu, vì vậy việc xác định môi quan hệ di truyền cũng như tên loài nên được thực hiện thêm nhiều nơi trong một địa điểm và cũng cần khảo sát thêm trình tự gen chuyên biệt khác liên quan đến đặc điểm hình thái cũng như sinh hóa như hàm lượng các chất có trong lá và quả nhằm có kết luận tương đối chính xác hơn.



### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y Tế, *Giáo trình Dược cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, trang 358, năm 2006;
- [2] Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, trang 1119, năm 2017;
- [3] *Dược Điển Việt Nam IV*, trang 606-607-608, năm 2009;
- [4] *Dược Thư Quốc Gia*, 2002-2009, trang 3081-3087;
- [5] Đỗ Huy Bích và cộng sự, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Tập I, trang 1009-1011, năm 2006;
- [6] Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và Vị thuốc Việt Nam*, Nxb Y học, trang 708-709, năm 2006;
- [7] Doyle, J.J. and Doyle J.L., Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focu*, 12 (6), 13-15, 1990;
- [10] Nguyễn Nghĩa Thìn, *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*, Nxb Giáo Dục, năm 2006;
- [11] Parrotta J. A, *Healing plants of peninsular India*. CABI Publishers. P. 97-99, 2001;
- [12] Ragasa C.Y., Pendon J., Sangalang V., and Rideout J. A., *Philippine Journal of Science*. pp. 347-351, 1999;
- [13] Sanger, Nicklen S., Coulson A.R, *DNA sequencing with chainterminating inhibitors*. *Proc. Natl. Acad Sci. USA*, 74 (12): 5463 - 5467, 1977;
- [14] Trần Nhân Dũng, *Sổ tay Thí nghiệm Công nghệ Sinh học*, Nxb Đại học Cần Thơ, 2014;
- [15] Trương Thị Đẹp, *Thực vật dược*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội, trang 90-100, năm 2007;
- [16] Võ Văn Chi, *Bài thuốc hay từ cây thuốc*



- [8] Ganapathy M., AlaguLakshmanan and Selvarasuvasuki M., Refined method of pure genomic DNA isolation from *Plectranthus forskohlii* (Willd) Briq. An Endangered medicinal plant. Life Science Archieves.vol 1. pp. 208-216, 2015;
- [9] Manikandan S., Ansarali S., and Alagu Akshamanan G.M., Optimizing the pure genomic DNA isolation procedure for *Plectranthus amboinicus*, Journal of Applied and Advances Research, vol.2. pp. 249-255, 2017;
- [17] Thiều Văn Đường, Đỗ Văn Mãi, Trần Công Luận, Vũ Thị Bình, *Giáo trình Dược liệu học*, Nxb Đại học Cần Thơ, năm 2016;
- [18] White T.J., T. Bruns, S. Lee, J. Taylor, 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, 1990.