

DOI:10.22144/ctu.jsi.2016.065

KHẢO SÁT SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ GIỐNG NGHỆ Ở MIỀN NAM VIỆT NAM DỰA TRÊN CHỈ THỊ PHÂN TỬ RAPD VÀ ISSR

Bùi Thị Cẩm Hương, Lưu Thái Danh, Lê Vĩnh Thúc, Huỳnh Kỳ và Nguyễn Lộc Hiền

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 05/08/2016

Ngày chấp nhận: 26/10/2016

Title:

A survey of genetic diversity of *Curcuma* species from Southern - Vietnam using RAPD and ISSR markers

Từ khóa:

Giống/loài nghệ, cây nghệ, chỉ thị phân tử RAPD, chỉ thị phân tử ISSR, đa dạng di truyền

Keywords:

Curcuma species, genetic diversity, ISSR markers, RAPD markers, turmeric

ABSTRACT

The existence of genetic diversity in turmeric (*Curcuma* sp.) is documented in other countries but not in Vietnam, where turmeric is an introduced species. This study is aimed to determine the possible existence of genotypic diversity among 20 turmeric accessions in Southern Vietnam using RAPD and ISSR markers. Analysis of ten RAPD markers (OPA02, OPA03, OPA04, OPA10, OPA13, OPB07, OPB10, OPD02, OPD03 and OPD07) showed a relatively high level of polymorphism: 133 out of total 154 bands were polymorphic, or a ratio of 89.7%. RAPD markers analysis showed the Euclidean distances ranging from 0-8.94 (with a mean of 6.87) and able to cluster into 5 groups. Analysis of ten ISSR markers (ISSR1, ISSR2, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR10, ISSR12, ISSR14, ISSR17 and ISSR18) also showed a relatively high level of polymorphism: 132 out of total 136 bands were polymorphic, or a ratio of 97.1%. ISSR markers analysis showed the Euclidean distances ranging from 1.73-8.54 (with a mean of 6.75) and able to cluster into 5 groups. A total of 292 bands was produced by the combined RAPD and ISSR markers and 272 bands (93.2%) were polymorphic. Using combined RAPD and ISSR markers showed the Euclidean distances ranging from 2.65-12.2 (with a mean of 9.65) and able to cluster into 4 groups. The overall results showed that these 20 turmeric accessions in Southern Vietnam had high levels of diversity.

TÓM TẮT

Sự đa dạng di truyền trên nghệ đã được nghiên cứu trên nhiều quốc gia, tuy nhiên ở Việt Nam vẫn còn rất ít thông tin. Nghiên cứu này nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam dựa trên chỉ thị phân tử RAPD và ISSR. Kết quả phân tích trên 10 đoạn mỗi RAPD (OPA02, OPA03, OPA04, OPA10, OPA13, OPB07, OPB10, OPD02, OPD03 and OPD07) cho tỉ lệ đa hình cao, trong tổng 156 băng khuếch đại có 140 băng đa hình (chiếm 89,7%). Khoảng cách liên kết từ 0 - 8,94 (trung bình 6,87) và chia 20 giống nghệ khảo sát thành 5 nhóm. Kết quả phân tích trên 10 đoạn mỗi ISSR (ISSR1, ISSR2, ISSR5, ISSR6, ISSR7, ISSR10, ISSR12, ISSR14, ISSR17 và ISSR18) cũng cho tỉ lệ đa hình cao trong tổng 136 băng khuếch đại có 132 băng đa hình (chiếm 97,1%). Khoảng cách liên kết từ 1,73 - 8,54 (trung bình 6,75) và chia 20 giống nghệ được chia thành 5 nhóm. Phân tích kết hợp hai chỉ thị phân tử RAPD và ISSR, trong tổng 291 băng khuếch đại có 272 băng đa hình (chiếm 93,2%). Khoảng cách liên kết từ 2,65 - 12,2 (trung bình 9,65) và chia 20 giống nghệ thành 4 nhóm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, 20 giống nghệ thu thập tại các tỉnh miền Nam Việt Nam có sự đa dạng di truyền cao.

Trích dẫn: Bùi Thị Cẩm Hương, Lưu Thái Danh, Lê Vĩnh Thúc, Huỳnh Kỳ và Nguyễn Lộc Hiền, 2016. Khảo sát sự đa dạng di truyền của một số giống nghệ ở miền Nam Việt Nam dựa trên chỉ thị phân tử RAPD và ISSR. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3): 11-19.

1 GIỚI THIỆU

Từ lâu nghệ (*Curcuma* sp.) đã được sử dụng như một thảo dược trong điều trị bệnh ở nhiều nơi trên thế giới. Ngoài ra, nghệ còn có vai trò quan trọng trong công nghệ thực phẩm, mỹ phẩm, nhuộm và hoa viên cây cảnh. Thành phần chính trong củ nghệ chịu trách nhiệm cho các công dụng trên là curcuminoids với 3 dạng curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin, trong đó curcumin là dạng chính (Chempakam & Parthasarathy, 2008). Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu chứng minh rằng nhiều hoạt tính sinh học của curcumin đã được ứng dụng nhiều trong y học hiện đại như khả năng chống oxy hóa, chống đột biến, chống ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng ký sinh trùng và có khả năng giải độc (Akamine *et al.*, 2007). Vì vậy, tiềm năng ứng dụng curcumin trong điều trị bệnh ở người là rất lớn, và nghệ là một trong những loại cây trồng đang được các nhà nghiên cứu quan tâm không chỉ về giá trị sử dụng mà còn về đa dạng di truyền. Trong số các nghiên cứu gần đây, có thể kể đến nghiên cứu về sự biến đổi hàm lượng curcumin tổng số, hoạt chất chống oxy hóa và đa dạng di truyền trong bộ sưu tập nghệ của Thaikert & Paisooksantivatana (2009); đánh giá đa dạng di truyền trên nghệ bằng chỉ thị hình thái (Sigrist *et al.*, 2011), chỉ thị phân tử RAPD (Jan *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2013 và Donipati & Sreeramulu, 2015), chỉ thị phân tử ISSR (Taheri *et al.*, 2012; Nguyễn Lộc Hiền và *ctv.*, 2013 và Saha *et al.*, 2016) hay dựa trên thành phần curcumin (Corcolon *et al.*, 2015). Tuy nhiên, ở Việt Nam, hầu hết các nghiên cứu về nghệ chỉ tập trung vào công dụng và tiềm năng dược liệu; nghiên cứu về đa dạng di truyền trên nghệ còn ít thông tin. Do đó, đề tài này được thực hiện nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam bằng 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR trên cơ sở đó sẽ cung cấp một dữ liệu cơ bản trong công tác quản lý, bảo tồn và nhân giống nghệ.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thu thập mẫu

Mẫu củ của 20 giống nghệ được thu từ các tỉnh khác nhau ở miền Nam Việt Nam và được đánh dấu tương ứng lần lượt: Cần Thơ (CT01-12), An Giang (AG01-04), Bình Dương (BD01-02), Tiền Giang (TG01) và Đồng Tháp (ĐT01). Mẫu củ thu về rửa sạch, để ráo, đặt vào nơi thoáng mát trong 2 ngày và sau đó lấy củ nhánh đem trồng (tháng 4/2015).

Bộ gen của nghệ rất đa dạng $2n=32$ (Sato, 1948), $2n=48$ (Das *et al.*, 1999), $2n=62$ (Raghavan & Venkatasubban, 1943 và Sharma & Bhattacharya, 1959), $2n=64$ (Chakravorti, 1948) and $2n=84$ (Renjith *et al.*, 2001 và Nair & Sasikumar, 2009).

2.2 Trồng giữ giống

Các mẫu giống nghệ thu về được trồng ngẫu nhiên trên từng liếp với kích thước 2 m x 1,3 m, khoảng cách giữa 2 liếp 0,5 m. Đất trồng là đất cát có bổ sung tro trấu: sơ dừa với tỉ lệ 1:1. Chế độ làm cỏ, tưới nước đồng nhất. Phân bón: 90:60:90 kg/ha N, P₂O₅ và K₂O bón vào các thời điểm: 60, 120 và 180 ngày sau khi gieo.

2.3 Chuẩn bị mẫu lá

Thu lá non (lá thứ 2 từ trên xuống) của 20 giống nghệ ở độ tuổi khoảng 60 ngày sau khi trồng). Sau đó, đặt mẫu lá vào trong túi nhựa có dán nhãn riêng và đặt trong thùng đựng đá có túi nước đá trong suốt quá trình vận chuyển đến phòng thí nghiệm để tách chiết DNA.

2.4 Trích DNA, phân tích RAPD-PCR và ISSR-PCR

DNA được ly trích và tinh sạch từ mô lá theo phương pháp CTAB rút gọn (Taylor & Powell, 1982). Mười chỉ thị phân tử RAPD (Bảng 3) và mười chỉ thị phân tử ISSR (Bảng 4) được sản xuất bởi công ty Sinh hóa Phù Sa (Vĩnh Long, Việt Nam) đã được sử dụng để khuếch đại DNA. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR GeneAmp PCR system 2700 với các thành phần (Bảng 1) và chu kỳ gia nhiệt (Bảng 2). Sản phẩm RAPD-PCR và ISSR-PCR được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch TAE 1X bằng máy điện di OWL A2. Sau đó gel được nhuộm với dung dịch ethidium bromide trong 10 phút và chụp ảnh dưới đèn UV.

Bảng 1: Thành phần phản ứng RAPD-PCR và ISSR-PCR

Thành phần	Nồng độ	Nồng độ sau cùng	Thể tích 1 phản ứng (µl)
Nước			16
Dung dịch đệm	10X	1X	2
dNTPs	10mM	0,15mM	0,3
Mồi	10mM	0,25µM	0,5
Taq polymerase	5unit/µl	1U	0,2
DNA khuôn	100ng/µl	100ng	1
Tổng thể tích			20

Bảng 2: Chu kỳ nhiệt của phản ứng RAPD-PCR và ISSR-PCR

Bước	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Chu kỳ
Biến tính	94	4 phút	1
Biến tính	94	30 giây	40
Gắn môi	Tm	30 giây	
Tổng hợp	72	1 phút	
Tổng hợp	72	5 phút	1
Bảo quản	4	∞	

2.5 Phân tích số liệu

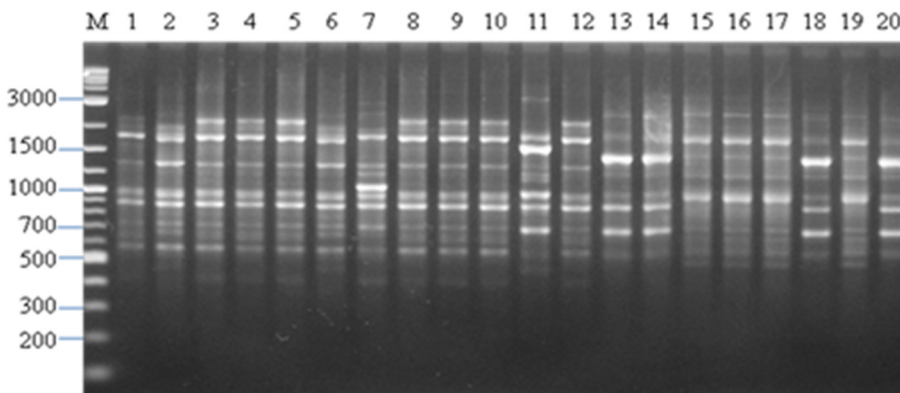
Sự xuất hiện hoặc không xuất hiện của một băng DNA nào đó trên gel sẽ được ghi nhận tương ứng là 1 và 0. Sau khi ghi nhận tất cả các băng trên mỗi mẫu giống, số liệu thu thập được lưu trữ trong phần mềm Excel. Phân tích sơ đồ hình nhánh (Cluster) và đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các giống dựa trên ma trận khoảng cách liên kết

(Euclidean distances) bằng phần mềm NTSYSpc v2.1 theo phương pháp UPGMA.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Chỉ thị phân tử RAPD

Kết quả ly trích DNA cho thấy có 20/20 mẫu nghệ đảm bảo độ tinh sạch thích hợp cho phản ứng PCR (100%). Trong 10 đoạn môi RAPD đã được sử dụng phân tích trên 20 giống nghệ, kết quả cho thấy tất cả đều cho băng khuếch đại và cho băng đa hình (Hình 1). Tổng cộng có 156 băng được ghi nhận với trung bình là $15,6 \pm 3,57$ băng/đoạn môi, trong đó có 140 băng đa hình (chiếm tỉ lệ 89,7%). Số lượng băng đa hình dao động từ 2 băng (đoạn môi OPA 02) đến 19 băng (đoạn môi OPB 07) và trung bình là $14,0 \pm 4,78$ băng đa hình trên mỗi đoạn môi. Đa số các đoạn môi đều cho số lượng băng nhiều và tỉ lệ băng đa hình rất cao trừ đoạn môi OPA02 (chỉ có 7 băng và tỉ lệ băng đa hình chỉ chiếm 28,8%) (Bảng 3).



Hình 1: Phổ điện di đoạn môi OPD02 của 20 giống nghệ miền Nam Việt Nam

(M: NEB 2 log ladder)

Bảng 3: Trình tự chuỗi, sự đa hình và tỉ lệ băng đa hình (%) trên 10 đoạn môi RAPD của 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam

Stt	Môi RAPD	Đoạn trình tự 5'-3'	Kích thước phân tử	Số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)
1	OPA02	TGCCGAGCTG	400 - 1.500	7	2	28,8
2	OPA03	AGTCAGCCAC	400 - 4.000	15	15	100
3	OPA04	AATCGGGCTG	420 - 6.000	17	16	94,1
4	OPA10	GTGATCGCAG	500 - 3.000	15	14	93,3
5	OPA13	CAGCACCCAC	280 - 3.000	13	10	76,9
6	OPB07	GGTGACGCAG	300 - 8.000	19	19	100
7	OPB10	CTGCTGGGAC	500 - 4.000	16	16	100
8	OPD02	GGACCCAACC	400 - 3.500	18	16	88,9
9	OPD03	GTCGCCGTCA	350 - 8.000	19	16	84,2
10	OPD07	TTGGCACGGG	250 - 4.000	17	16	94,1
Tổng				156	140	89,7
Trung bình				$15,6 \pm 3,57$	$14,0 \pm 4,78$	

Kết quả Hình 2 cho thấy, khoảng cách liên kết giữa 20 mẫu nghệ ở miền Nam Việt Nam dao động

từ 0 - 8,94; trung bình là 6,87 và được chia thành 5 nhóm riêng biệt.

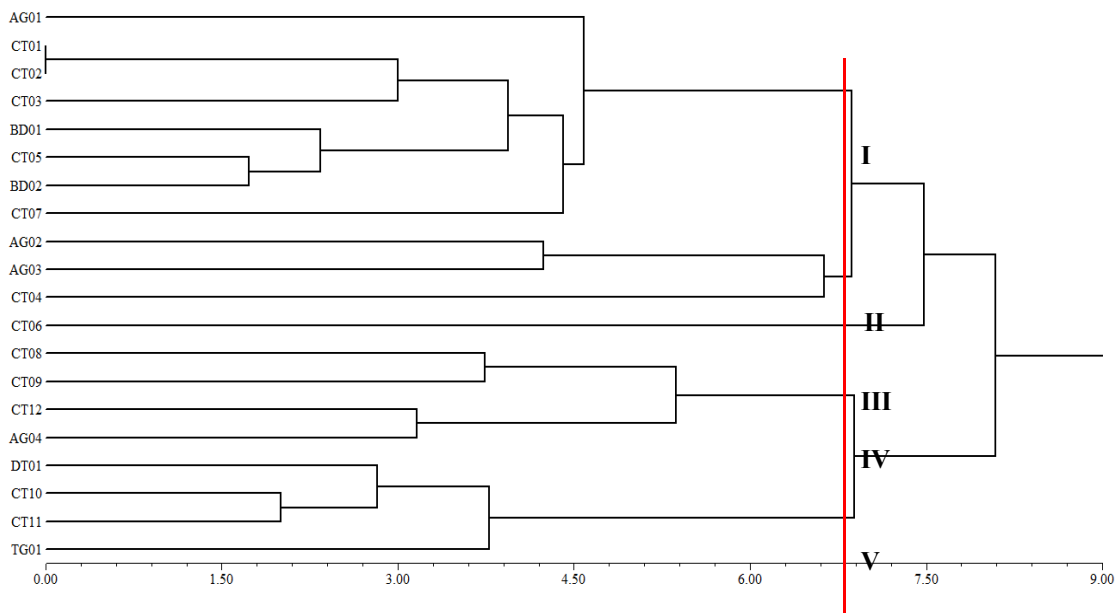
+ Nhóm I: gồm 8 giống (AG01, CT01, CT02, CT03, BD01, CT05, BD02 và CT07) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 0 (giữa 2 giống CT01 và CT02) và cao nhất là 5,00 (giữa giống AG01 với CT07).

+ Nhóm II: gồm 3 giống (AG02, AG03 và CT04) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 4,24 (giữa 2 giống AG02 và AG03) và cao nhất là 6,70 (giữa giống AG03 với CT04).

+ Nhóm III: chỉ có 1 giống (CT06).

+ Nhóm IV: gồm 4 giống (CT08, CT09, CT12 và AG04) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 3,16 (giữa giống CT12 với AG04) và cao nhất là 5,74 (giữa giống CT08 với giống CT12 và AG04).

+ Nhóm V: gồm 4 giống (ĐT01, CT10, CT11 và TG01) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 2,00 (giữa giống CT10 với CT11) và cao nhất là 4,00 (giữa giống CT10 với TG01).



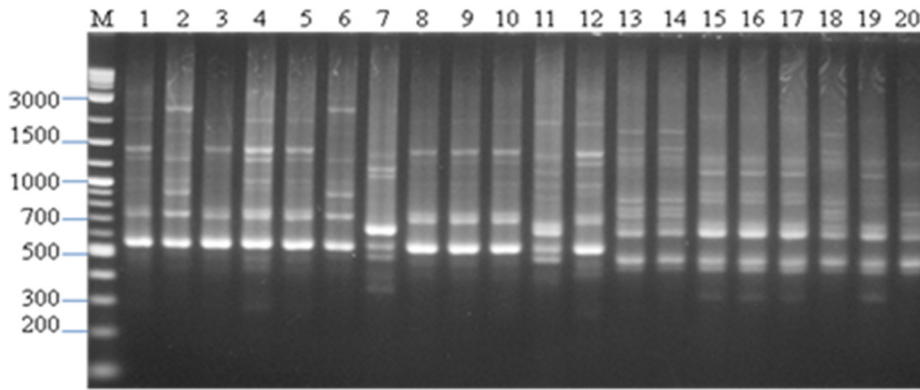
Hình 2: Khoảng cách liên kết giữa 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam dựa trên 10 đoạn môi RAPD

Syamkumar (2008) đã sử dụng 48 đoạn môi RAPD trong phân tích đa dạng di truyền trên 15 loài *Curcuma*, trong 449 băng khuếch đại có 409 băng đa hình (chiếm 91,23%) và đã phân 15 loài *Curcuma* thành 7 nhóm dựa trên hệ số tương đồng. Thaikert & Paisooksantivatana (2009) đã sử dụng 20 đoạn môi RAPD trong phân tích đa dạng di truyền của 67 giống nghệ *C. longa* và 1 mẫu giống nghệ *C. manga* thu thập ở các vùng khác nhau, trong số 184 băng được khuếch đại có 166 băng đa hình (chiếm 89,83%) đã phân 67 giống nghệ *C. longa* và 1 mẫu giống nghệ *C. manga* thành 4 nhóm dựa trên khoảng cách liên kết. Như vậy, việc sử dụng 10 đoạn môi RAPD trong phân tích đa dạng di truyền trên 20 giống nghệ ở miền Nam

Việt Nam cho kết quả tỉ lệ băng đa hình cao phù hợp với các nghiên cứu trên.

3.2 Chỉ thị phân tử ISSR

Trong 10 đoạn môi ISSR đã được sử dụng phân tích trên 20 giống nghệ, kết quả cho thấy tất cả đều cho băng khuếch đại và cho băng đa hình (Hình 3). Tổng cộng có 136 băng được ghi nhận với trung bình là $13,6 \pm 4,03$ băng/đoạn môi, trong đó có 132 băng đa hình (chiếm tỉ lệ 97,1%). Số lượng băng đa hình dao động từ 8 băng (đoạn môi ISSR1) đến 20 băng (đoạn môi ISSR10) và trung bình là $13,2 \pm 4,21$ băng đa hình trên mỗi đoạn môi. Đa số các đoạn môi đều cho số lượng băng nhiều và tỉ lệ băng đa hình rất cao trên 88,9% (Bảng 4).



Hình 3: Phổ điện di đoạn mồi ISSR10 của 20 giống nghệ miền Nam Việt Nam

(M: NEB 2 log ladder)

Bảng 4: Trình tự chuỗi, sự đa hình và tỉ lệ băng đa hình trên 10 đoạn mồi ISSR của 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam

Stt	Mồi ISSR	Đoạn trình tự 5'-3'	Kích thước phân tử	Số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)
1	ISSR1	C(CAC) ₄ CA	600 - 2.000	9	8	88,9
2	ISSR2	(CAA) ₅	600 - 2.100	9	9	100
3	ISSR5	GTC(CT) ₈	700 - 5.000	12	11	91,7
4	ISSR6	(CT) ₈	480 - 5.000	18	18	100
5	ISSR7	GGGC(GA) ₈	500 - 1.400	9	9	100
6	ISSR10	(CAC) ₄ AC	340 - 2.800	20	20	100
7	ISSR12	(GAG) ₃ GC	300 - 2.200	16	15	93,7
8	ISSR14	(GA) ₆ CC	400 - 2.000	12	11	91,7
9	ISSR17	(GA) ₈ C	400 - 3.000	17	17	100
10	ISSR18	(GA) ₈ T	450 - 3.500	14	14	100
Tổng				136	132	97,1
Trung bình				13,6±4,03	13,2±4,21	

Kết quả Hình 4 cho thấy, khoảng cách liên kết của 20 giống nghệ dao động từ 1,73-8,54, trung bình là 6,75 và 20 giống nghệ được chia thành 5 nhóm chính:

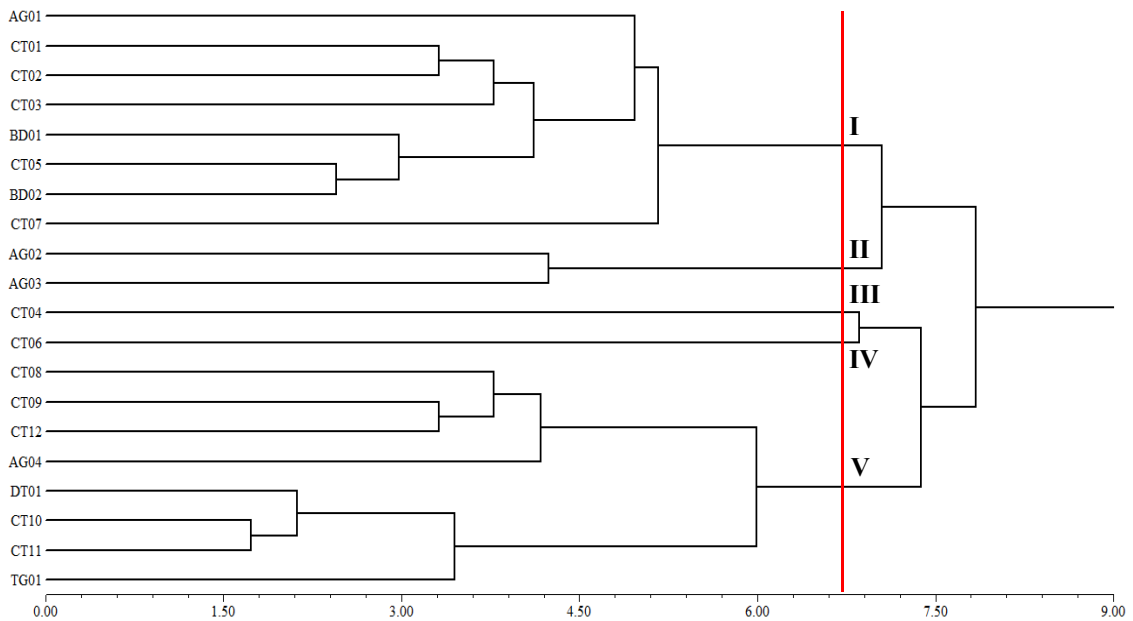
+ Nhóm I: gồm 8 giống (AG01, CT01, CT02, CT03, BD01, CT05, BD02 và CT07) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 2,45 (giữa 2 giống CT05 và BD02) và cao nhất là 5,92 (giữa giống AG01 với CT07).

+ Nhóm II: gồm 2 giống (AG02 và AG03) với khoảng cách liên kết là 4,24.

+ Nhóm III: chỉ có 1 giống (CT04).

+ Nhóm IV: chỉ có 1 giống (CT06).

+ Nhóm V: gồm 8 giống (CT08, CT09, CT12, AG04, ĐT01, CT10, CT11 và TG01) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 1,73 (giữa 2 giống CT10 và CT11) và cao nhất là 6,56 (giữa giống CT08 với CT11).



Hình 4: Khoảng cách liên kết giữa 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam dựa trên 10 đoạn mồi ISSR

Singh *et al.* (2012) đã sử dụng 6 đoạn mồi ISSR để phân tích đa dạng di truyền trên 60 giống nghệ ở 10 vùng khác nhau và tỉ lệ băng đa hình là 52/66 (chiếm 78,79%). Taheri *et al.* (2012) đã sử dụng 16 mồi ISSR nghiên cứu mối quan hệ di truyền trên 5 giống/loài nghệ (*Curcuma alismatifolia*) ở Malaysia, tổng cộng có 139 băng trong đó có 77% băng đa hình và đã phân 5 giống/loài nghệ thành 2 nhóm với hệ số tương đồng dao động từ 0,4 - 0,58. Nguyễn Lộc Hiền *et al.* (2013) đã sử dụng 6 đoạn mồi RAPD trong phân tích đa dạng di truyền trên 24 mẫu nghệ ở tỉnh Bình Dương, trong 76 băng khuếch đại có 74 băng đa hình (chiếm 97,1%) và đã phân 24 mẫu nghệ ở tỉnh Bình Dương thành 4 nhóm dựa trên hệ số tương đồng. Saha *et al.* (2016) đã sử dụng 20 mồi ISSR nghiên cứu mối quan hệ di truyền trên 6 giống/loài nghệ được thu thập tại các vùng khác nhau ở Tripura, Ấn Độ. Kết quả cho

thấy có tổng cộng 103 băng, trong đó tỉ lệ băng đa hình chiếm 86,29% và đã phân 6 giống/loài nghệ thành 2 nhóm. Như vậy, việc sử dụng 10 đoạn mồi ISSR trong phân tích đa dạng di truyền trên 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam cho kết quả tỉ lệ băng đa hình cao hơn các nghiên cứu của Singh *et al.* (2012), Taheri *et al.* (2012) và Saha *et al.* (2016) nhưng thấp hơn kết quả nghiên cứu của Nguyễn Lộc Hiền *et al.* (2013).

3.3 Sự kết hợp 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR

Bảng 5 cho thấy, sự kết hợp 10 đoạn mồi RAPD và 10 đoạn mồi ISSR trên 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam có tổng cộng 292 băng khuếch đại được ghi nhận với 272 băng thể hiện đa hình (chiếm 93,2%).

Bảng 5: Sự đa hình và tỉ lệ băng đa hình dựa trên sự kết hợp giữa 10 đoạn mồi RAPD với 10 đoạn mồi ISSR của 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam

	RAPD	ISSR	RAPD + ISSR
Số đoạn mồi sử dụng	10	10	20
Vùng khuếch đại (bp)	250 - 8.000	300 - 5.000	250 - 8.000
Tổng số băng khuếch đại	156	136	292
Số băng/đoạn mồi	15,6±3,57	13,6±4,03	14,6±3,84
Tổng số băng đa hình	140	132	272
Số băng đa hình/đoạn mồi	14±4,78	13,2±4,21	13,6±4,41
Tỉ lệ băng đa hình (%)	89,7	97,1	93,2

Kết quả Hình 5 cho thấy khoảng cách liên kết của 20 giống nghệ dao động 2,65-12,2, trung bình 9,66 và 20 giống nghệ khảo sát được chia thành 4 nhóm chính như sau:

+ Nhóm I: gồm 8 giống (AG01, CT01, CT02, CT03, BD01, CT05, BD02 và CT07) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 3,00 (giữa 2 giống CT05

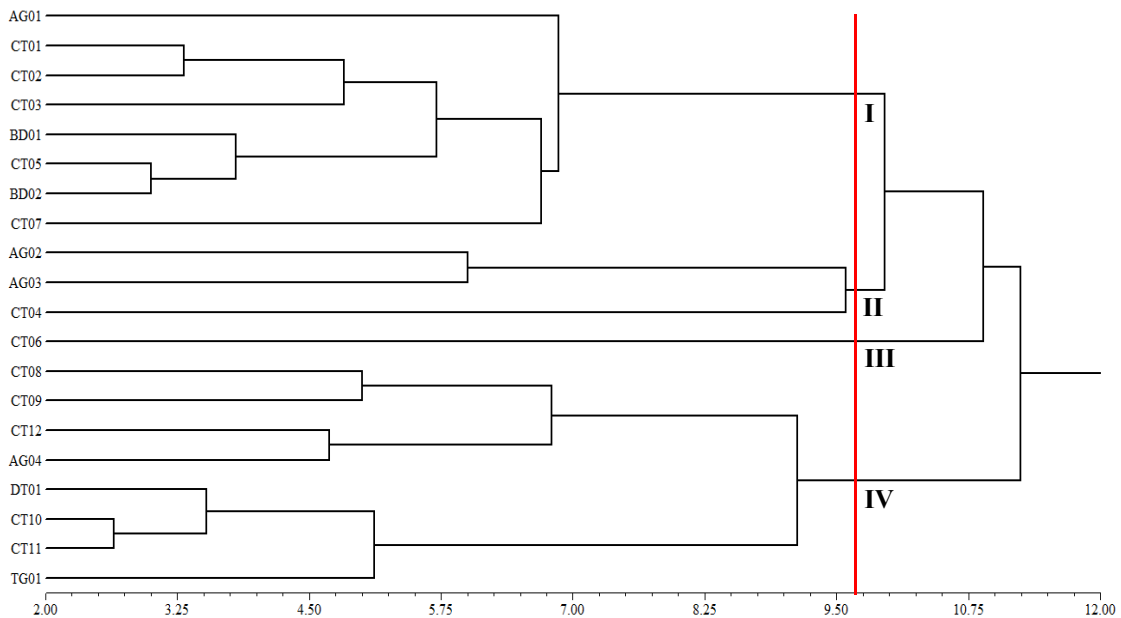
và BD02) và cao nhất là 7,75 (giữa giống AG01 với CT07).

+ Nhóm II: gồm 3 giống (AG02, AG03 và CT04) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 6,00 (giữa 2 giống AG02 và AG03) và cao nhất là 9,64 (giữa giống AG03 với CT04).

+ Nhóm III: chỉ có 1 giống (CT06).

+ Nhóm IV: gồm 4 giống (CT08, CT09, CT12, AG04, ĐT01, CT10, CT11 và TG01) với khoảng cách liên kết thấp nhất là 2,65 (giữa 2 giống CT10 và CT11) và cao nhất là 9,59 (giữa giống CT08 với TG01).

Syamkumar (2008) đã sử dụng kết hợp 48 đoạn môi RAPD và 8 đoạn môi ISSR trong phân tích đa



Hình 5: Khoảng cách liên kết giữa 20 giống nghệ miền Nam Việt Nam dựa trên sự kết hợp giữa 10 đoạn môi RAPD với 10 đoạn môi ISSR

Sơ đồ nhánh của 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR đều phân chia thành 5 nhóm (với khoảng cách liên kết lần lượt là 6,87 và 6,75) nhưng sự sắp xếp các giống vào trong mỗi nhóm khác nhau. Đối với chỉ thị phân tử RAPD, nhóm II gồm 3 giống (AG02, AG03 và CT04) trong khi đó ở chỉ thị phân tử ISSR, 3 giống này lại tách thành nhóm II (gồm 2 giống AG02 và AG03) và nhóm III (chỉ có 1 giống CT04). Ngược lại, ở chỉ thị phân tử RAPD, nhóm IV gồm 4 giống (CT08, CT09, CT12 và AG04); nhóm V gồm 4 giống (ĐT01, CT10, CT11 và TG01) trong khi đó ở chỉ thị phân tử ISSR 8 giống này lại gom lại thành nhóm V. Sơ đồ nhánh trong sự kết hợp 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR được phân chia thành 4 nhóm (với khoảng cách liên kết lần lượt là 9,65) với sự sắp xếp các giống vào trong

dạng di truyền trên 15 loài *Curcuma*, trong số 540 băng được khuếch đại có 496 băng đa hình (chiếm 91,85%) và đã phân 15 loài *Curcuma* thành 7 nhóm trên cả 3 hệ số tương đồng Jaccard's, Sorensen – Dice và Simple Matching. Singh *et al.* (2012) đã sử dụng kết hợp 11 đoạn môi RAPD và 6 đoạn môi ISSR để phân tích đa dạng di truyền trên 60 giống nghệ ở 10 vùng khác nhau, tỉ lệ đa hình là 127/160 (chiếm 79,38%). Như vậy, trong nghiên cứu này việc sử dụng kết hợp 10 đoạn môi RAPD với 10 đoạn môi ISSR để phân tích sự đa dạng của 20 giống nghệ miền Nam Việt Nam cho kết quả tỉ lệ đa hình cao hơn so với nghiên cứu của Syamkumar (2008) và Singh *et al.* (2012).

các nhóm như sau: nhóm I giống với nhóm I của RAPD và ISSR; nhóm II giống với nhóm II của RAPD và giống với sự kết hợp từ nhóm II và III của ISSR; nhóm III giống với nhóm III của RAPD và nhóm IV của ISSR; nhóm IV giống với sự kết hợp từ nhóm IV và V của RAPD và nhóm V của ISSR.

Theo Zheng *et al.* (2015), sự sai khác về khoảng cách di truyền (hệ số Nei's) của 5 quần thể nghệ dựa trên 2 dấu phân tử RAPD và ISSR có thể được giải thích bởi: (1) dấu phân tử RAPD và ISSR cung cấp thông tin khác nhau, và (2) cỡ mẫu của mỗi quần thể không đủ lớn đảm bảo cung cấp thông tin di truyền của quần thể. Tuy nhiên, qua kết quả nghiên cứu có thể kết luận rằng sự kết hợp giữa 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR thích hợp

trong phân tích đa dạng di truyền trên 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam. Sơ đồ nhánh được phân chia thành 4 nhóm, kết quả này cũng phù hợp với kết quả khảo sát một số đặc điểm hình thái của 20 giống nghệ này. Nhóm I: phiến lá hình bầu dục, củ mẹ dạng hình trứng, thịt củ có màu vàng. Nhóm II: phiến lá hình bầu dục dài, gân giữa lá có màu nâu đỏ phân chóp lá, củ mẹ to, mập, dạng hình trứng, vỏ màu vàng nhạt, vàng cam hoặc đỏ nâu, thịt củ màu vàng cam hoặc vàng đỏ. Nhóm III: phiến lá hình bầu dục, cuống ngắn, củ hình trứng, thịt củ vàng nhạt. Nhóm IV: phiến lá dày, hình mũi mác, gân giữa có màu tím, thịt củ dày màu vàng tái hoặc có màu xanh tím ở giữa.

4 KẾT LUẬN

Sử dụng 10 đoạn mồi RAPD và 10 đoạn mồi ISSR để phân tích đa dạng di truyền trên 20 giống nghệ ở miền Nam Việt Nam cho tỉ lệ đa hình cao. Tỉ lệ băng đa hình trên 10 đoạn mồi RAPD là 140/156 (chiếm 89,7%) với khoảng cách liên kết trung bình là 6,87 và được chia thành 5 nhóm. Tỉ lệ băng đa hình trên 10 đoạn mồi ISSR là 132/136 (chiếm 97,1%) với khoảng cách liên kết trung bình là 6,75 và cũng được chia thành 5 nhóm. Sự kết hợp hai chỉ thị phân tử RAPD và ISSR có 272/292 băng đa hình (chiếm 93,2%) với khoảng cách liên kết trung bình là 9,65 và được chia thành 4 nhóm. Kết quả nghiên cứu góp phần đánh giá sự đa dạng di truyền của 20 giống nghệ dựa trên 2 chỉ thị phân tử RAPD và ISSR.

5 ĐỀ XUẤT

Cần kết hợp đánh giá sự đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị hình thái - nông học cũng như các đặc điểm sinh hóa của quần thể nghệ ở miền Nam Việt Nam để có hướng khai thác, bảo tồn và nhân giống loại cây trồng này trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akamine, H., Hossain, M.A., Ishimine, Y., Yogi, K., Hokama, K., Iraha, Y. and Aniya, Y., 2007. Effects of application of N, P and K alone or in combination on growth, yield and curcumin content of turmeric. *Plant Production Science*. 10: 151-154.

Chakravorti, A.K., 1948. Multiplication of chromosome number in relation to speciation of Zingiberaceae. *Sci. Cul*. 14: 137-140.

Chempakam, B. and Parthasarathy, V.A., 2008. *Chemistry of Spices*. Chapter 6. Turmeric. @CAB International. 97-123.

Corcolon, E.A., Laurena, A.C. and Dionisio-Sese, M.L., 2015. Genotypic characterization of turmeric (*Curcuma longa* L.) accessions from Mindanao, Philippines using RAPD markers. *Procedia Chemistry*. 14: 157 – 163.

Das, A.B., Rai, S. and Das, P., 1999. Karyotype analysis and cytophotometric estimation of nuclear DNA content in some members of the Zingiberaceae. *Cytobios*. 97: 23-33.

Donipati, P. and Sreeramulu, S.H., 2015. Relationships among six medicinal species of *Curcuma* assessed by RAPD markers. *International Journal of Recent Scientific Research*. 6(8): 5909-5912.

Jan, H.U., Rabbani, M.A. and Shinwari, Z.K., 2011. Assessment of genetic diversity of indigenous turmeric (*Curcuma longa* L.) germplasm from Pakistan using RAPD markers. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(5): 823-830.

Khan, S., Reema, S.N. and Naeem, R., 2013. Genetic fingerprinting of local turmeric genotypes using RAPDS. *Pakistan Journal of Botany*. 45(S1): 339-346.

Nair, R.R. and Sasikumar, B., 2009. Chromosome Number Variation among Germplasm Collections and Seedling Progenies in Turmeric, *Curcuma longa* L. *Cytologia*. 74(2): 153-157.

Nei, M., and Li, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 76: 5269-5273.

Nguyễn Lộc Hiền, Tô Thị Nhựt, Huỳnh Kỳ và Huỳnh Thanh Tùng. 2013. Sự đa dạng di truyền của quần thể cây nghệ (*Curcuma* sp.) ở tỉnh Bình Dương. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*. 29: 44-51.

Raghavan, T.S. and Venkatasubban, K.R., 1943. Cytological studies in family Zingiberaceae with special reference to chromosome number and cytotaxonomy. *Proc. Indian Acad. Sci. Ser. B*. 17: 118-132.

Renjith, D., Valsala, P.A. and Nybe, E.V., 2001. Response of turmeric (*Curcuma domestica* Val.) to in vivo and in vitro pollination. *J. Spices Arom. Crops*. 10: 135-139.

Saha, K., Sinha, R.K., Basak, S. and Sinha, S., 2016. ISSR fingerprinting to ascertain the genetic relationship of *Curcuma* sp. of Tripura. *American Journal of Plant Sciences*. 7. 259-266.

Sato, D. 1948. The karyotype and phylogeny of Zingiberaceae. *Jap. J. Genet*. 23: 44.

Sharma, A.K. and Bhattacharya, N.K., 1959. Cytology of several members of Zingiberaceae. *Cellule* 59: 297-346.

Sigrist, M.S., Pinheiro, J.B., Filho, J.A.D.A. and Zucchi, M.I., 2011. Genetic divergence among Brazilian turmeric germplasm using morpho-agronomical descriptors. *Brazilian Society of Plant Breeding. Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 70-76.

Singh, S., Panda, M.K. and Nayak, S., 2012. Evaluation of genetic diversity in turmeric (*Curcuma longa* L.) using RAPD and ISSR

- markers. *Industrial Crops and Products*. 37(1): 284–291.
- Syamkumar, S. 2008. Molecular biochemical and morphological characterization of selected *Curcuma* accessions. Thesis submitted to the University of Calicut, India. For the award of degree Doctor of Philosophy (Biochemistry). Indian institute of Spices Research (Indian Council of Agricultural Research).
- Taheri, S., Abdullah, A.L., Abdullah, N.A.P. and Ahmad, Z., 2012. Genetic relationships among five varieties of *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) based on ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*. 11(3): 3069-3076.
- Taylor, B. and Powell, A., 1982. Isolation of plant DNA and RNA. *Focus* 4: 4-6.
- Thaikert, R. and Paisooksantivatana, Y., 2009. Variation of total curcuminoids content, antioxidant activity and genetic diversity in turmeric (*Curcuma longa* L.) collections. *Kasetsart Journal: Natural Science*. 43: 507-518.
- Zheng, W.H., Zhuo, Liang, Y.L., Ding, W.Y. Liang, L.Y. and Wang, X.F., 2015. Conservation and population genetic diversity of *Curcuma wenyujin* (Zingiberaceae), a multifunctional medicinal herb. *Genetics and Molecular Research*. 14(3): 10422-10432.