

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.041

## MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA CÁC MẪU/GIỐNG BÒ NGÓT (*Sauropus androgynus* (L.) MERR.) Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG DỰA VÀO ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ TRÌNH TỰ VÙNG ITS

Đỗ Văn Mai<sup>1</sup>, Thiều Văn Đường<sup>1</sup> và Trương Trọng Ngôn<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Tây Đô

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trương Trọng Ngôn (email: ttngon@ctu.edu.vn)

### ABSTRACT

Sweet bush (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) being a precious vegetable that is used not only for medicinal purposes but also for eating everyday as vegetable. Although this crop is widely cultivated in the Mekong Delta, the study of genetics systematically is not considered well. The objective of this study was to evaluate the genetic characteristics of some samples/varieties collected in eight provinces in the Mekong Delta based on morphology and SNP marker for ITS region. The results showed that there are different phenotypes among the samples of variety due to different environmental and cultivated conditions. For genotypes, all samples of variety belong to the species *Sauropus androgynus* (L.) Merr. as compared ITS sequences with sequences on NCBI. Phylogenetic tree showed that four samples originated from Chau Thanh (Soc Trang), Can Tho, Ca Mau, and Kien Giang differ from the other groups; two samples from Vinh Long, and Thuan Hung (Soc Trang) are similar to the ITS sequence so they belong to same group, meanwhile Hau Giang and Dong Thap samples are close together, genetically.

### TÓM TẮT

Bò ngót (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) là loại rau từ lâu không những dùng làm thuốc trong y học mà chúng còn được dùng như rau ăn lá. Mặc dù bò ngót được trồng nhiều ở Đồng bằng sông Cửu Long, nhưng việc nghiên cứu về di truyền một cách hệ thống chưa được quan tâm. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá được đặc điểm di truyền của một số giống bò ngót thu thập ở bảy tỉnh vùng Đồng bằng sông Cửu Long dựa vào đặc điểm hình thái và dấu single nucleotide polymorphism (SNP) trên vùng trình tự internal transcribed spacer (ITS). Kết quả cho thấy về kiểu hình của các giống có sự khác nhau giữa các vùng trồng do điều kiện môi trường và canh tác. Về kiểu gen hầu hết các giống thuộc loài *Sauropus androgynus* (L.) Merr. khi so sánh với các trình tự ITS trên NCBI. Dựa vào cây phả hệ cho thấy bốn nhóm mẫu giống ở Sóc Trăng, Cần Thơ, Cà Mau, và Kiên Giang khác với 4 mẫu nhóm còn lại. Trong số 4 mẫu nhóm giống này thì nhóm mẫu Vĩnh Long, và Thuận Hưng (Sóc Trăng) có trình tự ITS gần tương đồng với nhau nên xếp chung 1 nhóm, nhóm còn lại bao gồm mẫu nhóm Hậu Giang và nhóm Đồng Tháp gần nhau về mặt di truyền.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 11/09/2020

Ngày nhận bài sửa: 23/12/2020

Ngày duyệt đăng: 28/04/2021

### Title:

Genetic Relationship of samples/varities *Sauropus androgynus* (L.) Merr. in the Mekong Delta based on morphology and sequence of ITS region

### Từ khóa:

Bò ngót (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), cây phả hệ, vùng ITS

### Keywords:

ITS region, Phylogenetic tree, *Sauropus androgynus* (L.) Merr.

## 1. GIỚI THIỆU

Bồ ngót (*Sauropus androgynus* (L) Merr.) hay còn gọi là cây rau ngót, là loài cây bụi mọc hoang ở vùng nhiệt đới châu Á nhưng cũng được trồng làm như loại rau ăn ở một số nước, đặc biệt ở Việt Nam, Ấn Độ, Malaysia, Indonesia, Trung Quốc (Đỗ Huy Bích et al., 2006). Ở Việt Nam, rau bồ ngót được trồng nhiều, đặc biệt là ở các tỉnh phía Bắc và các tỉnh vùng Đồng bằng sông Cửu Long, loại rau này thường được trồng để làm thuốc chữa bệnh, làm hàng rào hoặc dùng làm rau ăn trong bữa ăn hằng ngày (Đỗ Tất Lợi, 2006).

Tuy nhiên, cho đến nay, việc tìm hiểu về đặc điểm di truyền của các mẫu/giống này hầu như chưa được chú trọng và việc nghiên cứu hầu như chưa có hệ thống. Các dấu phân tử ADN hiện nay đã và đang trở thành công cụ hữu ích cho việc xác định giống/loài ở thực vật cũng như động vật. Trình tự vùng ITS của rDNA trong nhân đã và đang được sử dụng rộng rãi cho việc xác định loài cây thuốc truyền thống Trung Quốc (Cheng et al., 2004), (Wang et al., 2005), (Feng et al., 2010). Ngoài ra, vùng ITS của rDNA đã được định nghĩa như đơn vị di truyền chứa ITS1, gen 5.8S rDNA, và ITS2, các vùng này có thể được khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain reaction) với những đoạn mồi chuyên biệt (Sun et al., 2011). Mặt khác một giống hay mẫu khi trồng trong điều kiện môi trường khác nhau thường sẽ có những biểu hiện kiểu hình thay đổi. Nhằm đáp ứng nhu cầu thực tiễn đó, nghiên cứu đặc điểm hình thái và mối quan hệ di truyền của tám mẫu giống bồ ngót đã được thực hiện tại bảy tỉnh vùng Đồng bằng sông Cửu Long nhằm xác định được các đặc tính hình thái, cũng như đặc điểm di truyền của 8 mẫu giống bồ ngót, từ đó thấy được mối quan hệ di truyền giữa chúng với nhau, và có chiến lược phù hợp giúp nhân giống cũng như khai thác nguồn gen này một cách hiệu quả.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Các giống bồ ngót trồng tại các tỉnh Vĩnh Long, Kiên Giang, Thuận Hưng (Sóc Trăng), Châu Thành (Sóc Trăng), Cà Mau, Hậu Giang, Cần Thơ và Đồng Tháp đã được khảo sát và thu mẫu. Tại mỗi địa điểm đã tiến hành thu 8 đến 10 mẫu cây giống ở cùng một độ tuổi trồng (khoảng 6 tháng trồng) ở nhà nông dân. Các mẫu giống cây này sau đó đem về trồng trong chậu đặt trong nhà lưới thí nghiệm. Thời gian thu mẫu cây giống từ tháng 11 năm 2018 đến tháng 05 năm 2019. Mẫu cây giống sau đó được trồng trong chậu, và phát triển một năm sau tiến hành đánh giá, đo đạc các chỉ tiêu hình thái và nông học.

### 2.2. Phương pháp hình thái

Quan sát và mô tả hình thái cây dựa vào các phương pháp nghiên cứu thực vật của Nguyễn Nghĩa Thìn (2006) có cải tiến, các bộ phận mô tả và đo đếm bao gồm rễ, thân, lá, hoa, quả và hạt.

Các chỉ tiêu nông học bao gồm: chiều cao cây được đo từ gốc đến đỉnh ngọn cao nhất sau một năm trồng mỗi mẫu giống đo trên 5 cây. Chiều dài và rộng lá cũng được đo trên 5 lá lấy ở vị trí giữa thân (vì ở vị trí đó, lá sẽ đạt kích thước tiêu biểu) được trình bày ở Hình 1. Trong khi đó để đo chiều dài của rễ, khi cây có quả cây được nhổ lên, rửa sạch đất và đo trên 5 cây cho mỗi mẫu giống như trong Hình 2. Kích thước hoa và quả được đo trên 5 cây mẫu giống ngẫu nhiên như trình bày ở Hình 3 và Hình 4.

### 2.3. Kiểu bố trí

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với nhân tố là mẫu giống. Mỗi mẫu giống được trồng trong 5 chậu, mỗi chậu 1 cây. Chậu có kích thích chiều cao 30,5 cm, đường kính 35 cm có hình trụ tròn với thể tích 29329 cm<sup>3</sup>. Chậu bằng sành bên dưới đáy có nhiều lỗ để thoát nước. Lượng đất trồng mỗi chậu, mỗi chậu chứa khoảng 15-20 kg đất sạch, tổng cộng có 40 chậu. Các chậu được bố trí ở khoảng cách 70 x 50 cm.



Hình 1. Đo chiều dài và rộng lá (cm)



Hình 2. Đo chiều dài rễ (cm)



Hình 3. Đường kính hoa (cm)



Hình 4. Đường kính trái (cm)

#### 2.4. Phương pháp phân tử

Mỗi mẫu giống bồ ngót sau khi thu về trồng trong chậu sau một năm phát triển. Mỗi cây chọn 8-10 mẫu lá non và tươi được thu và trữ đông lạnh ở -20°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 (Trần Nhân Dũng, 2014). ADN toàn phần của các giống bồ ngót được ly trích từ các mẫu lá tươi theo quy trình tách chiết bằng phương pháp CTAB có cải tiến (Doyle & Doyle, 1990); (Ganapathy et al., 2015).

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 hai cặp mồi như sau:

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°C, 60 giây ở 95°C, mỗi bắt cặp 50 giây ở 54°C, kéo dài 90 giây ở 72°C, kéo dài chuỗi trong 5 phút ở 72°C, và sản phẩm được trữ ở 10°C trong 20 phút. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit Wizard SV gel dựa theo phương

pháp Sanger (Sanger et al., 1977). Mỗi loại dideoxynucleotide được đánh dấu bằng chất huỳnh quang có màu khác nhau. ADN được giải trình tự bởi công ty DNA Sequencing Services General Order Information, Hàn Quốc trên máy đọc trình tự tự động.

#### 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu hình thái, nông học được tính giá trị trung bình của 5 mẫu được chọn ngẫu nhiên cho mỗi giống và phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố bằng phần mềm Microsoft Excell 10.0. Trọng lượng phân tử ADN được tính bằng phần mềm Gel Analyzer. Kết quả giải trình tự vùng ITS được lưu dưới dạng FASTA và sau đó được phân tích bằng phần mềm BioEdit ver. 7.0.5 (Hall, 1999). Sau đó dùng BLAST trên hệ thống ngân hàng gen NCBI (National Center for Biotechnology Information) dùng cho việc đánh giá mức độ tương đồng. Cây phả hệ được vẽ bằng phần mềm Mega 7.0 theo phương pháp UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average) (Rohfl, 1997) nhằm xác định mối quan hệ di truyền giữa tám mẫu/giống bồ ngót thu thập ở đồng bằng sông Cửu Long

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đặc tính hình thái và nông học

Các đặc điểm hình thái và nông học của các giống bồ ngót ở bảy tỉnh vùng Đồng bằng sông Cửu Long được trình bày ở Bảng 1. Chiều cao thân dao động từ 22,1 cm (Sóc Trăng) đến 80,0 cm (Giồng Riềng, Kiên Giang). Sự dao động chiều cao của tám mẫu giống cho kết quả phù hợp với kết quả nghiên cứu của Trương Thị Đẹp (2007).

Chiều dài trung bình lá biến thiên từ 4,82 cm (Cà Mau) đến 5,74 cm (Sóc Trăng). Sự biến thiên chiều dài lá phù hợp với các kết quả nghiên cứu đã được công bố ở Dược Thư Quốc gia (2002-2009). Chiều rộng lá biến thiên từ 2,66 cm (Sóc Trăng) đến 3,18 cm (Vĩnh Long và Cần Thơ). Trong khi đó, chiều dài rễ trung bình ngắn nhất là 11,62 cm (Hậu Giang) và dài nhất 21,8 cm (Đồng Tháp).

Chiều dài của rễ trung bình biến thiên từ 11,62 cm (Hậu Giang) đến 21,80 cm (Đồng Tháp). Khoảng biến thiên này cho thấy giá trị cũng tương tự với nghiên cứu đã công bố trước đây liên quan về rễ cây bồ ngót trồng trên đất khác nhau đều có sự thay đổi (Võ Văn Chi, 2009).

Đường kính hoa trung bình biến thiên từ 3,30 cm (Cần Thơ) đến 4,04 cm (Cà Mau). Kết quả này tương đối phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây. Chiều dài của hoa trung bình biến thiên từ 0,82

cm (Cà Mau) đến 1,04 cm (Hậu Giang). Chiều dài của quả trung bình biến thiên từ 0,83 cm (Kiên Giang) đến 1,12 cm (Hậu Giang). Sự dao động chiều dài và đường kính hoa cho thấy tương tự như kết quả nghiên cứu đã được công bố bởi Võ Văn Chi (2009) trong nghiên cứu của mình về cây dược liệu trồng ở môi trường khác. Nhìn chung, kết quả phân tích thống kê ở Bảng 1, với 6 chỉ tiêu nông học, chỉ có chiều cao thân là khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 0.05.

**3.2. So sánh trình tự tương đồng**

ITS là một trong số các dấu ADN phổ biến nhất được dùng để phân tích di truyền và xác định các giống/loài thực vật. Kết quả so sánh trình tự ITS trên ngân hàng NCBI được trình bày ở Bảng 2. Đa số các trình tự của tám mẫu giống bồ ngót đều cho giá trị tương đồng cao, thấp nhất 93,22% (B4 – Châu Thành, tỉnh Sóc Trăng) và cao nhất 99,60% (B8 - Giồng Riềng, tỉnh Kiên Giang). Qua đó, cho thấy các mẫu giống này đều thuộc loài *Sauropus androgynus* (L) Merr.

**Bảng 1. Đặc điểm hình thái và nông học của tám giống bồ ngót (đơn vị: cm)**

Địa điểm	Chiều cao thân	Chiều dài lá	Chiều rộng lá	Chiều dài Rễ	Đường kính hoa	Chiều dài Hoa	Chiều dài Quả
Tam Bình, Vĩnh Long	75,00 a	5,10 a	3,18 a	13,68 b	3,50 a	0,92 a	0,86 a
Thuận Hưng, Sóc Trăng	22,14 d	5,74 a	3,06 a	15,42 b	3,44 a	0,84 a	1,03 a
Cái Răng Cần Thơ	78,00 a	5,10 a	3,18 a	13,68 b	3,30 a	0,92 a	0,86 a
Châu Thành, Sóc Trăng	43,20 c	4,86 a	3,10 a	15,20 b	3,44 a	0,84 a	1,06 a
Phụng Hiệp, Hậu Giang	70,60 ab	5,26 a	3,10 a	11,62 b	3,44 a	1,04 a	1,12 a
Tp. Cà Mau, Cà Mau	63,20 b	4,82 a	3,02 a	11,88 b	4,04 a	0,82 a	1,02 a
Tp. Sa Đéc, Đồng Tháp	35,60 c	5,14 a	2,80 a	21,80 a	3,42 a	0,96 a	1,00 a
Giồng Riềng, Kiên Giang	80,00 a	5,40 a	2,66 a	13,84 b	3,88 a	0,98 a	0,83 a
F	34,477**	0,498 <sup>ns</sup>	1,329 <sup>ns</sup>	6,607*	1,006 <sup>ns</sup>	0,527 <sup>ns</sup>	1,127 <sup>ns</sup>
CV %	14,31	17,67	11,68	19,33	13,73	2,11	19,44

**Bảng 2. Giá trị tương đồng của 8 mẫu giống bồ ngót khi so sánh trình tự trên ngân hàng NCBI**

Giống /loài	Địa điểm	Ngân hàng NCBI	Số nucleotide (bp)	Giá trị tương đồng	Tác giả
B1	Huyện Tam Bình, tỉnh Vĩnh Long	<i>Sauropus androgynus</i> 18S, ITS 1	668	98,88%	Pruesapan et al., 2008
B2	Thuận Hưng Sóc Trăng	<i>Sauropus androgynus</i> Genes for ITS 1	668	98,56%	Pruesapan et al., 2008
B3	Quận Cái Răng, Thành phố Cần Thơ	<i>Sauropus androgynus</i> Genes for ITS 1	668	98,56%	Pruesapan et al., 2008
B4	Huyện Châu Thành, tỉnh Sóc Trăng	<i>Sauropus androgynus</i> Genes for ITS 1	668	93,22%	Pruesapan et al., 2008
B5	Huyện Phụng Hiệp, tỉnh Hậu Giang	<i>Sauropus androgynus</i> 18S, ITS 1	668	99,44%	Pruesapan et al., 2008
B6	Thành phố Cà Mau, tỉnh Cà Mau	<i>Sauropus androgynus</i> 18S, ITS 1	668	98,89%	Pruesapan et al., 2008
B7	Thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp	<i>Sauropus androgynus</i> 18S, ITS 1	668	98,91%	Pruesapan et al., 2008
B8	Huyện Giồng Riềng, tỉnh Kiên Giang	<i>Sauropus androgynus</i> 18S, ITS 1	668	99,60%	Pruesapan et al., 2008

**3.3. Kết quả so sánh trình tự vùng ITS và mối quan hệ di truyền**

Giải trình tự vùng ITS của tám mẫu giống bồ ngót, tất cả 8 mẫu giống sau khi canh hàng (alignment) đều có chiều dài 668 bp. Tiêu biểu kết quả giải trình tự mẫu giống B7 (Tp. Sa Đéc, Đồng

Tháp) đại diện cho trình tự của 8 mẫu giống bồ ngót được trình bày ở Hình 5.

Trình tự Mẫu B7, có tên *Sauropus androgynus* 18S, internal transcribed spacer 1, tương đồng 98,91%

TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATC  
ATTGTGCAAACCTGCAATGCAGTATGACCC

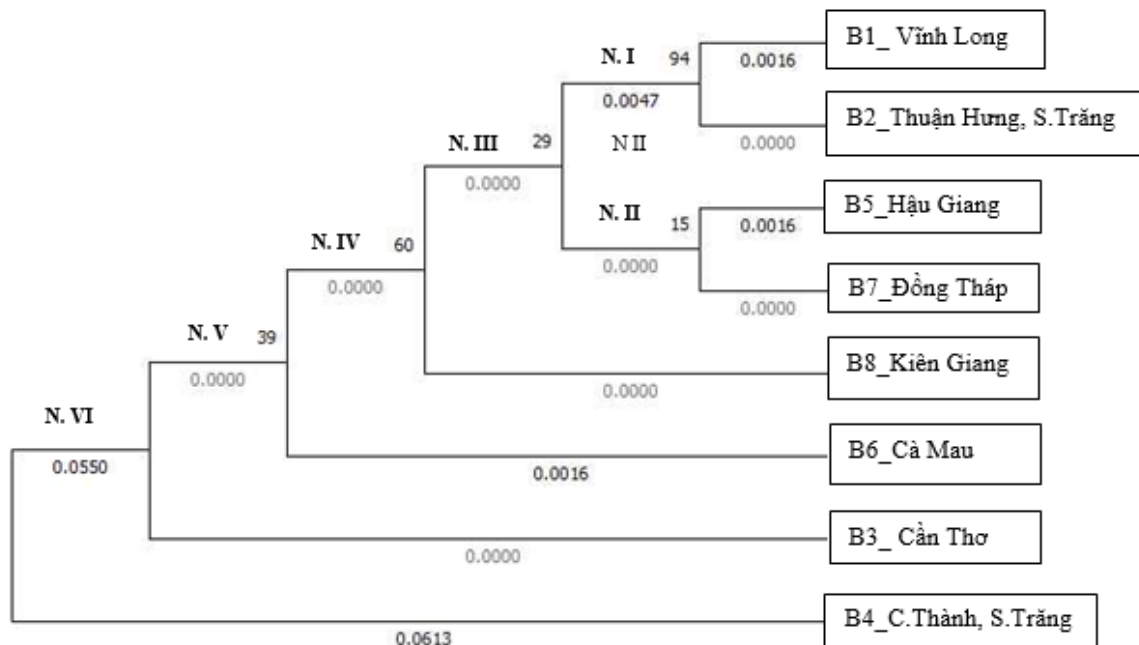
GCGAACAAGTTTACTTACTGCGGATGGTGC  
 CTTGTGCTCCTGACGCAAGGCCCGTAGGG  
 TGCTATGCTCCTTGC GG TGTGCCACTTAAC  
 AAACCCCGGCGCGGAAAGCGCCAAGGAAA  
 ATGAATAGAAAAGCGAGATCACTACTACA  
 ATCACCTCGAAAACGATGTGTGCACGGTAG  
 TTGCATCTCCTTTAATAACCAAACGACTC  
 TCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCG  
 ATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG  
 GTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCG  
 AGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCAAAACC  
 TTCGGGTCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGT  
 CACGTAACGTGCCCCCTCCCTCCCTCAA  
 CGGGGATCGTGAATTTGGGGCGGATAATG  
 GCCTCCCATGAACTCTTTTGGTTGTGGTTGG  
 CCCAAAATGAGACCAAGTCGGTTGGTGGC  
 GTGGCATTCGGTGGTTGAAAATGCCCTCAC  
 AACGCTCGTTCATCTATCCGAACTTGTA  
 GGATCTCGAAATGGAATTAATAAAGATTAT  
 CCGATGCGACCCAGGTCAGGCGGGATTAC  
 CCGCTGAGTTTAA

AAAGAAAACAACACTGCAATGCAGTATGA  
 CCCGCGAACAAGTTTACTTACTGCGGATGG  
 TGCTTGTGCTCCTGACGCAAGGCCCGTA  
 GGGTGTATGCTCCTTGC GG TGTGCCACTT  
 AACAAACCCCGGCGCGGAAAGCGCCAAGG  
 AAAATGAATAGAAAAGCGAGATCACTACT  
 ACAATCACCTCGAAAACGATGTGTGCACGG  
 TAGTTGCATCTCCTTTAATAACCAAACG  
 CTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCA  
 TCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATAC  
 TTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCA  
 TCGAGTTTTTTGAACGCAAGTTGCGCCAAA  
 ACCTTCGGGTCGAGGGCACGTCTGCCTGGG  
 TGTACGTAACGTGCCCCCTCCCTCCCTCCC  
 TTCAAACGGGGATCGTGAATTTGGGGCGGA  
 TAATGGCCTCCCATGAACTTTCTGGTTCGT  
 GGTGGCCAAAATGAGACCAAGTCGGTT  
 GGTGCCGTGGCATTTCGGTGGTTGAAAATGC  
 CCTCACACGCCTCGTTCATCTATCCGAAC  
 TTGTAAGGATCTCGAAATGGAATTAATAAA  
 GATTATCCGATGCGACCCAGGTCAGCGGG  
 ATTACCCGCTGAGTTTAAAGCATATCAATAA  
 GCCGGGAGGAAAA

**Hình 5. Trình tự của mẫu giống B7 (Tp. Sa Đéc, Đồng Tháp)**

Khi so sánh trình tự này với trình tự trên NCBI như bên dưới:

Trình tự so sánh này dựa theo Pruesapan et al. (2008).



**Hình 7. Mối quan hệ di truyền của 8 mẫu/giống bò ngót ở các tỉnh ĐBSCL được phân tích dựa trên trình tự ITS**

Các nhóm được ghi trên nhánh, với chỉ số tương đồng đầu mỗi nhánh, và hệ số bootstrap là 1000.

Qua khảo sát mối quan hệ di truyền của tám mẫu giống bồ ngót thu ở bảy tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long và sau khi trồng một năm. Dựa vào trình tự chuỗi ITS cho thấy các giống bồ ngót thu từ ở Vĩnh Long và huyện Thuận Hưng (Sóc Trăng) gần nhau về mặt di truyền; các giống thu tại Hậu Giang và Đồng Tháp xếp chung một nhóm. Các giống còn lại thu tại Kiên Giang, Cà Mau, Cần Thơ và huyện Châu Thành (Sóc Trăng) được xếp riêng từng nhóm khác nhau, kết quả phân tích mối quan hệ di truyền được trình bày Hình 7. Điền hình vùng Kiên Giang, Cà Mau, và Châu Thành (Sóc Trăng) tuy thuộc vùng gần biển vùng đất ít nhiều có nhiễm mặn trong những tháng mùa khô, còn vùng Cần Thơ là vùng có điều kiện khí hậu tốt hơn do sâu trong đất liền đất hầu như không bị mặn, và đồng thời có thời tiết khí hậu tương đối ôn hòa hơn. Điều này có thể được giải thích các giống này do trồng tại các vùng địa lý có điều kiện sinh thái khác nhau nên ít nhiều có sự thay đổi một ít trình tự nucleotide tại vùng ITS để có thể sống và phát triển được tốt. Trình tự vùng ITS được sử dụng nhiều nhằm xác định cũng như định danh loài thực vật, nấm (White, *et al.*, 1990). Toàn bộ kích thước khuếch đại trong khoảng 600-700bp tùy theo loài, cặp mồi ITS1 và ITS4 được chấp nhận rộng rãi cho sự khác biệt loài/giống vì vậy cũng được dùng để đánh giá sự khác biệt trong điều kiện nơi giống trồng đối với giống cây được liệu (Álvarez & Wendel, 2003; Kress *et al.*, 2005; Kårehed *et al.*, 2008).

## 4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

### 4.1. Kết luận

Các mẫu giống bồ ngót được thu tại bảy tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long và trồng trong chậu sau đó được một năm, kết quả cho thấy có sự thay đổi các đặc tính nông học, đặc biệt là chiều cao thân giữa tám mẫu giống có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 1%, đó là do điều kiện sinh thái môi trường khác nhau bao gồm các yếu tố như đất đai, nhiệt độ, và ẩm độ ở mỗi mùa vụ. Ngoài ra, điều kiện canh tác như cách bón và liều lượng phân bón do người trồng tại mỗi nơi cũng khác nhau.

Về mặt di truyền, khi so sánh vùng trình tự ITS của tám mẫu giống, kết quả cho thấy có sáu mẫu nhóm rõ rệt. Nhóm I có mẫu Vĩnh Long và Thuận Hưng, Sóc Trăng. Nhóm II gồm mẫu Hậu Giang và Đồng Tháp. Bốn nhóm mẫu giống còn lại mỗi nhóm chỉ riêng có 1 mẫu, cụ thể là nhóm III chỉ có mẫu Kiên Giang; nhóm IV chỉ có mẫu Cà Mau; nhóm V là mẫu Cần Thơ; và nhóm VI là Châu Thành, tỉnh Sóc Trăng.

### 4.2. Đề xuất

Cần mở rộng nghiên cứu các mẫu giống bồ ngót hiện đang được trồng ở các huyện và tỉnh khác thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Ngoài ra, nên khảo sát thêm sự biến động các tính trạng về hình thái, nông học qua các mùa vụ khác nhau, nhất là giữa mùa khô với mùa mưa. Do lá là bộ phận chủ yếu được dùng để chế biến trong thức ăn. Đồng thời lá cũng chứa nhiều hợp chất vi lượng như mangan (Mn), kẽm (Zn), sắt (Fe), và vitamin A và C.. (Bộ Y Tế, 2017). nên chịu ảnh hưởng của lượng mưa khi mưa nhiều để làm lá bị bệnh hoặc kích thích nhỏ hơn từ đó ảnh hưởng đến hàm lượng các chất sẽ giảm.

Lá bồ ngót có nhiều công dụng như giúp cơ thể tiêu độc, mát gan, lợi tiểu, giúp nhuận tràng, đó là do các hợp chất chứa nhiều trong lá. Vì vậy, nên nghiên cứu một vài gen liên quan đến hàm lượng của các chất chủ lực chứa trong lá từ đó cho thấy sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường, và có biện pháp cải thiện giống được tốt hơn.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Álvarez, I. J. F. W., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and evolution*, 29(3), 417-434.
- Bộ Y tế. (2017). *Dược Điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học. Tr. 1119.
- Cheng, K. T., Lo, S. F., Lee, C. Y., Chen, C. C., & Tsay, H. S. (2004). The rDNA sequence analysis of three *Dendrobium* species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 12(4), 367-369.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(13), 39-40.
- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương & Nguyễn Thượng Đông. (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tập I, trang 1009-1011.
- Đỗ Tất Lợi. (2006). *Những cây thuốc và Vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. Trang 708-709.
- Feng, T., Liu, S., & He, X. J. (2010). Molecular authentication of the traditional Chinese medicinal plant *Angelica sinensis* based on internal transcribed spacer of nrDNA. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(1), 9-10.
- Ganapathy M., Lakshmanan, A., & Selvarasivasuki, M. (2015). Refined method of pure genomic DNA isolation from *Plectranthus forskohlii* (Willd) Briq- An Endangered medicinal plant. *Life Science Archives*, 1, 208-216.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and

- analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98). [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000.
- Kårehed, J., Groeninckx, I., Dessein, S., Motley, T. J., & Bremer, B. (2008). The phylogenetic utility of chloroplast and nuclear DNA markers and the phylogeny of the Rubiaceae tribe Spermaceae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 49(3), 843-866.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369-8374.
- Nguyễn Nghĩa Thìn. (2006). *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*. Nhà xuất bản Giáo Dục.
- Sun, Y. W., Liao, Y. J., Hung, Y. S., Chang, J. C., & Sung, J. M. (2011). Development of ITS sequence based SCAR markers for discrimination of *Paphiopedilum armeniacum*, *Paphiopedilum micranthum*, *Paphiopedilum delenatii* and their hybrids. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 405-410.
- Trần Nhân Dũng. (2014). *Sổ tay Thí nghiệm Công nghệ Sinh học*. Nxb Đại học Cần Thơ.
- Trương Thị Đẹp. (2007). *Thực vật dược*. Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội. Tr. 90-100.
- Võ Văn Chí. (2009). *Bài thuốc hay từ cây thuốc quý*. Nhà xuất bản Y học. Tr. 216-217.
- Wang, C. Z., Li, P., Ding, J. Y., Jin, G. Q., & Yuan, C. S. (2005). Identification of *Fritillaria pallidiflora* using diagnostic PCR and PCR-RFLP based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Planta medica*, 71(04), 384-386.
- White T.J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor, 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.