

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY HOÀNG LIÊN Ô RÔ TRONG CHI *Mahonia* Nutt. BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Lưu Thúy Hòa¹, Khuất Hữu Trung²,
Trần Đăng Khánh², Trần Văn Ôn³

TÓM TẮT

Nghiên cứu đa dạng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên thuộc chi *Mahonia* Nutt. được thu thập ở các vùng sinh thái khác nhau cho thấy: Các mẫu giống/loài Hoàng liên ô rô thuộc chi *Mahonia* Nutt. rất đa dạng. Kết quả phân tích với 374 phản ứng PCR nhân lên được tổng số 2185 băng DNA thuộc 211 loại băng khác nhau, trong đó có 193 băng đa hình (91,47 %) và 18 băng đơn hình (8,53%). Giá trị PIC của 17 môi với 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô nghiên cứu dao động từ 0,7 đến 0,94 (trung bình là 0,85). Hệ số tương đồng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô dao động trong khoảng 0,33 đến 0,97. Ở mức tương đồng di truyền 63%, 22 mẫu giống nghiên cứu được chia thành 4 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 15 băng cá biệt và 1 băng khuyết duy nhất có thể nhận biết chính xác 10 mẫu giống: MH2, MH3, MH8, MH11, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18 và MH22. Kết quả này rất có ý nghĩa để bổ sung cho các nghiên cứu phân loại ở mức hình thái, định danh các nguồn gen Hoàng liên ô rô và nhận dạng chính xác các giống/loài có hàm lượng berberin cao phục vụ công tác bảo tồn, khai thác nguồn gen cây thuốc quý.

Từ khóa: Hoàng liên ô rô, *Mahonia* Nutt., RAPD, đa dạng di truyền

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng liên ô rô (*Mahonia* Nutt.) là một chi trong họ *Berberidaceae*. Chi *Mahonia* Nutt. gồm nhiều loài có hoạt chất berberine với hàm lượng cao. Trong đó, hoạt chất alcaloid đã được ứng dụng từ lâu đời trong nền y học truyền thống trên thế giới nhờ đặc tính kháng khuẩn, nấm, đơn bào... Ngày nay, hoạt chất này được đánh giá có tiềm năng rất lớn trong điều trị các bệnh hiểm nghèo như: tiểu đường (Vikas Chander, 2017) ung thư, giảm mỡ máu (Yanwen Wang, 2014). Chi *Mahonia* Nutt. phân bố rộng ở nhiều vùng sinh thái của Việt Nam như: Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang, Bắc Kạn, Cao Bằng và Lâm Đồng. Chi *Mahonia* Nutt. gồm nhiều loài nhưng về hình thái các loài/giống Hoàng liên ô rô rất giống nhau (Cadic A., 1987). Điều này dẫn đến dễ nhầm lẫn trong việc định danh loài và khai thác, sử dụng. Gần đây, trên thế giới đã có những nghiên cứu phân biệt ở mức độ loài trong chi *Berberis* (Sodagar, 2012; Tripathi, 2013), mức độ dưới loài ở *Podophyllum hexadrum* (Nag, 2013), so sánh giữa các loài trong cùng họ *Berberidaceae* (Razaei, 2011). Ở Việt Nam cũng đã có công trình đánh giá giữa các loài trong họ *Berberidaceae* (Trần Thị Thúy, 2014). Nhưng đến nay chưa có công trình nào trong nước đánh giá, tư liệu hóa ở mức phân tử đối với chi *Mahonia* Nutt. Mặt khác, giống/loài Hoàng liên ô rô được dùng làm thuốc nên đang bị khai thác với mục đích thương mại để bán sang Trung Quốc khiến nguồn gen này đang dần bị cạn kiệt. Chính vì vậy, việc đánh giá

một cách đầy đủ tính đa dạng di truyền và xác định nguồn gen cho hàm lượng berberin cao nhất của chi *Mahonia* Nutt. là rất cần thiết và rất quan trọng trong việc định hướng công tác bảo tồn và phát triển các nguồn gen *Mahonia* Nutt. bản địa của Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu bao gồm 22 mẫu giống Hoàng liên thuộc chi *Mahonia* Nutt. được thu thập ở các vùng sinh thái khác nhau. Trong đó: 11 mẫu thu thập tại vùng Tây Bắc (Sa Pa, Lào Cai), 8 mẫu thu thập tại vùng Đông Bắc (Chợ Đồn, Bắc Kạn; Quán Bạ, Yên Minh và Đồng Văn, Hà Giang) và 3 mẫu thu thập tại Tây Nguyên (Lạc Dương, Lâm Đồng) (Bảng 1).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

ADN tổng số được tách chiết từ mẫu lá theo phương pháp CTAB của Obara và Kako (Obara và Kako, 1998) có một số cải tiến. Xác định nồng độ và chất lượng ADN bằng máy quang phổ Jenway - Model 6715. Các mẫu ADN tổng số được pha loãng với đệm TE vô trùng đến nồng độ 50ng/μl để thực hiện phản ứng PCR.

Hai mươi lăm môi khác nhau sử dụng trong các phản ứng PCR-RAPD có độ dài 9-10 nucleotide, trong đó 17 môi cho đa hình thuộc các nhóm BIO, OPA, OPN, OPO, S và UBC của hãng Bioneer (Bảng 2).

¹ Viện Sinh - Nông, Trường Đại học Hải Phòng

² Viện Di truyền Nông nghiệp; ³ Trường Đại học Dược Hà Nội

Bảng 1. Danh sách ký hiệu các mẫu thuộc chi Hoàng liên ô rô (*Mahonia* Nutt.)

TT	Kí hiệu	Tên La tinh	Địa điểm thu mẫu
1	MH1	<i>Mahonia</i> Nutt.	Thị trấn Sapa, Lào Cai
2	MH2	<i>Mahonia</i> Nutt.	Thị trấn Sapa, Lào Cai
3	MH3	<i>Mahonia</i> Nutt.	Thị trấn Sapa, Lào Cai
4	MH4	<i>Mahonia</i> Nutt.	Núi Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai
5	MH5	<i>Mahonia</i> Nutt.	Núi Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai
6	MH6	<i>Mahonia</i> Nutt.	Núi Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai
7	MH7	<i>Mahonia</i> Nutt.	Viện dược liệu, Sa Pa, Lào Cai
8	MH8	<i>Mahonia</i> Nutt.	Viện dược liệu, Sa Pa, Lào Cai
9	MH9	<i>Mahonia</i> Nutt.	Viện dược liệu, Sa Pa, Lào Cai
10	MH10	<i>Mahonia</i> Nutt.	Viện dược liệu, Sa Pa, Lào Cai
11	MH11	<i>Mahonia</i> Nutt.	Tả Phìn, Sa Pa, Lào Cai
12	MH12	<i>Mahonia</i> Nutt.	Phó Bảng, Đồng Văn, Hà Giang
13	MH13	<i>Mahonia</i> Nutt.	Xã Lũng Hồ, huyện Yên Minh, Hà Giang
14	MH14	<i>Mahonia</i> Nutt.	Trung tâm giống cây trồng gia súc Phó Bảng, Đồng Văn Hà Giang
15	MH15	<i>Mahonia</i> Nutt.	Trung tâm giống cây trồng gia súc Phó Bảng, Đồng Văn Hà Giang
16	MH16	<i>Mahonia</i> Nutt.	Langbiang, Lạc Dương, Lâm Đồng
17	MH17	<i>Mahonia</i> Nutt.	Langbiang, Lạc Dương, Lâm Đồng
18	MH18	<i>Mahonia</i> Nutt.	Langbiang, Lạc Dương, Lâm Đồng
19	MH19	<i>Mahonia</i> Nutt.	Xã Thanh Vân, Quản Bạ, Hà Giang
20	MH20	<i>Mahonia</i> Nutt.	Xã Thanh Vân, Quản Bạ, Hà Giang
21	MH21	<i>Mahonia</i> Nutt.	Phía Khao, Bản Thi, Bằng Lũng, Chợ Đồn, Bắc Cạn
22	MH22	<i>Mahonia</i> Nutt.	Phía Khao, Bản Thi, Bằng Lũng, Chợ Đồn, Bắc Cạn

Phản ứng PCR được thực hiện trên máy Mastercycler egradient S theo chu trình nhiệt sau: 95°C trong 5 phút, 38 chu kỳ (94°C trong 1 phút, 33- 35°C trong 1 phút 10 giây, 72°C trong 1 phút 55 giây); 72°C trong thời gian 7 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và được phát hiện dưới tia UV bằng phương pháp nhuộm ethidium bromide.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên nền Excel version 5.0. Hệ số PIC (Polymorphic Information Content- Thông tin đa hình của từng môi) được tính toán bằng cách áp dụng công thức của Powell (1996) và Smith (1997): $PIC=1-\sum f_i^2$, trong đó: f_i là tần số xuất hiện của alen thứ i . Hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống được thiết lập theo phương pháp UPGMA bằng chương trình NTSYSpc 2.2 của Rohlf (2003).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích đa hình ADN bằng chỉ thị RAPD

Kết quả phân tích ADN bằng chỉ thị RAPD của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô với tổng số 25 môi thuộc các nhóm BIO, OPA, OPN, OPO, S và UBC thu được 17 môi đa hình và 8 môi đơn hình. Sự đa dạng di truyền của 22 mẫu này thể hiện qua phân tích kỹ thuật RAPD ở đặc điểm của các băng thu được. Đồng thời qua đặc điểm đó chúng tôi đã phát hiện được đặc điểm nhận diện mẫu giống nghiên cứu.

Hai mươi hai mẫu nghiên cứu có cách biệt di truyền rõ rệt. Số liệu thống kê kết quả phân tích đa hình bằng kỹ thuật RAPD cho thấy: Với 374 phản ứng PCR nhân lên được tổng số 2185 băng ADN thuộc 211 loại băng khác nhau, trong đó có 193 băng đa hình (91,47%) và 18 băng đơn hình (8,53%). Băng đa hình chiếm tỷ lệ cao (0.71-1.00) ở từng môi đa hình, trong đó có 7 môi khuếch đại 100% băng đa

hình đối với toàn bộ mẫu nghiên cứu (Bảng 2). Và số băng nhân lên ở các môi thể hiện rất khác nhau, dao động từ 65 băng đến 293 băng. Mỗi OPN5 nhân lên được nhiều nhất là 293 băng, mỗi OPN10 và OPN19 nhân lên số băng ít nhất là 65 băng, trung bình là 128,5 băng/môi. Kích thước băng có chiều dài nhỏ

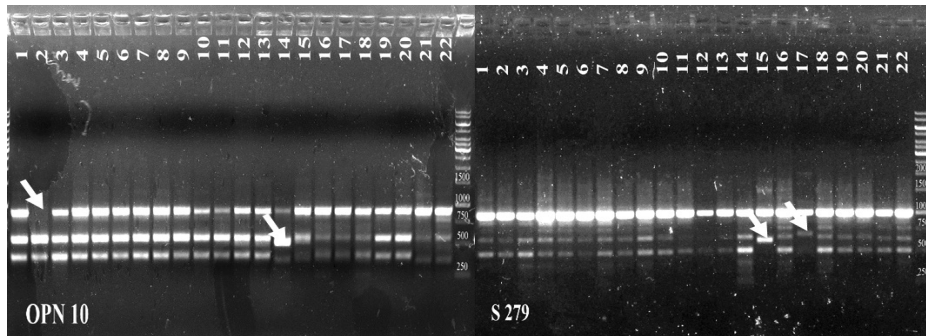
nhất khoảng 200bp và băng có kích thước lớn nhất khoảng 3000bp. Giá trị PIC của 17 môi dao động trong khoảng 0,7 đến 0,94. Giá trị PIC của 17 môi với 22 mẫu giống nghiên cứu dao động từ 0.70 đến 0,94 (Bảng 2).

Bảng 2. Thống kê số băng ADN thu được, hệ số PIC của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô với 17 môi RAPD

TT	Tên môi/ locus	Tổng số băng khuyếch đại	Tổng số loại băng	Số loại băng đa hình	Số loại băng đơn hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)	Hệ số PIC
1	BIO16	152	15	12	3	0,80	0,89
2	BIO24	123	22	22	0	1,00	0,90
3	BIO27	97	10	9	1	0,90	0,84
4	BIO28	123	17	16	1	0,94	0,88
5	OPA1	138	12	10	2	0,83	0,87
6	OPA2	179	18	17	1	0,94	0,91
7	OPA5	106	12	12	0	1,00	0,86
8	OPN3	142	13	13	0	1,00	0,90
9	OPN5	293	21	17	4	0,81	0,94
10	OPN7	144	13	13	0	1,00	0,91
11	OPN10	65	5	5	0	1,00	0,70
12	OPN12	155	13	13	0	1,00	0,89
13	OPO19	65	7	5	2	0,71	0,73
14	OPO20	75	8	7	1	0,88	0,80
15	S208	153	13	11	2	0,85	0,90
16	S279	75	6	5	1	0,83	0,75
17	UBC701	100	6	6	0	1,00	0,82
<i>Tổng</i>		2185	211	193	18		
<i>TB/tỷ lệ (%)</i>		128,5	100	91,47	8,53	91,47	

Kết quả điện di RAPD - PCR của 22 mẫu giống nghiên cứu với môi OPN10 và S279 được đại diện cho kết quả phân tích các môi ngẫu nhiên và được minh họa ở hình 1. Băng cá biệt là băng chỉ xuất hiện ở một mẫu và không xuất hiện ở các mẫu còn lại đối với một môi. Như hình 1 mỗi OPN10 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước 500 bp ở mẫu MH14, mỗi S279 xuất hiện băng cá biệt có 650 bp ở mẫu MH17 và băng cá biệt có 600 bp ở mẫu MH15. Băng khuyết cá biệt là băng không xuất hiện ở một mẫu tại vị trí tương ứng có băng của các mẫu còn lại, như băng khuyết cá biệt ở mẫu MH2 tại vị trí tương ứng có băng 900bp của 21 mẫu nghiên cứu khác. Thêm vào đó là mỗi BIO24 xuất hiện 2 băng cá biệt với kích thước 1600 bp ở mẫu MH16 và 2000bp ở mẫu MH18 và MH15. Mỗi BIO28 xuất hiện 2 băng cá biệt với kích thước 1600 bp ở mẫu MH15 và 1900 bp ở

mẫu MH17. Mỗi OPA2 xuất hiện 2 băng cá biệt với kích thước 1800 bp ở mẫu MH17 và 520 bp ở mẫu MH15. Mỗi OPA5 xuất hiện 2 băng cá biệt với kích thước 1750bp ở mẫu MH17 và 370 bp ở MH3. Mỗi OPN12 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước 1200 bp ở mẫu MH11. Mỗi OPN19 xuất hiện 1 băng cá biệt với kích thước 250 bp ở mẫu MH8. Mỗi OPO20 xuất hiện 2 băng cá biệt với kích thước 1100 bp ở mẫu MH15 và băng 700bp ở mẫu MH22. Như vậy khi phân tích đa hình ADN bằng 17 môi RAPD đa hình trong thí nghiệm này đã thu được 15 băng cá biệt và 1 băng khuyết cá biệt (bảng 3). Kết quả này nhận dạng chính xác một số mẫu giống nghiên cứu, bao gồm 9 môi có thể nhận biết 10 mẫu giống, MH2, MH3, MH8, MH11, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18 và MH22.



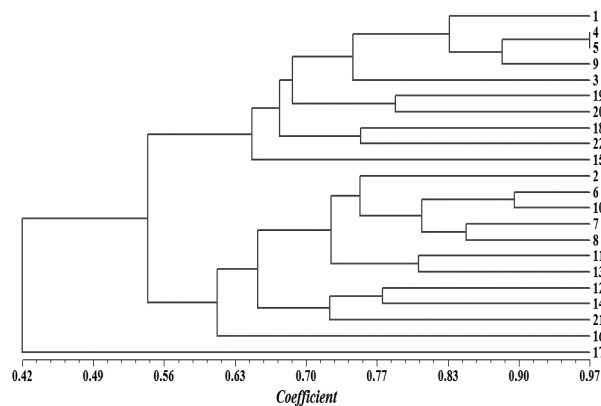
Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm RAPD-PCR của 22 mẫu giống nghiên cứu với mỗi OPN10 và S279 (M: *GenRuler™ 1kb DNA Ladder*)

Bảng 3. Thống kê băng DNA cá biệt của các mẫu giống Hoàng liên ô rô với 9 môi RAPD

TT	Tên môi/locus	Mẫu có băng cá biệt	Băng cá biệt			
			Có băng	Kích thước băng cá biệt (bp)	Băng khuyết	Vị trí băng khuyết cá biệt (bp)
1	BIO24	MH16	x	1600		
		MH18	x	2000		
2	BIO28	MH15	x	1600		
		MH17	x	1900		
3	OPA2	MH15	x	520		
		MH17	x	1800		
4	OPA5	MH3	x	370		
		MH17	x	1750		
5	OPN10	MH2			x	900
		MH14	x	500		
6	OPN12	MH11	x	1200		
7	OPO19	MH8	x	250		
8	OPO20	MH15	x	1100		
		MH22	x	700		
9	S279	MH15	x	600		
		MH17	x	650		

3.3. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô

Kết quả xử lý số liệu thống kê sản phẩm RAPD-PCR, đã thiết lập được sơ đồ hình cây và ma trận hệ số tương đồng về mối quan hệ di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô ở bảng 4 và hình 2. Qua bảng 4 và hình 2 cho thấy: Các mẫu Hoàng liên ô rô thuộc chi *Mahonia* Nutt. rất đa dạng, hệ số tương đồng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô nghiên cứu dao động trong khoảng 0,33 đến 0,97. Hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,97 giữa mẫu giống MH4 và mẫu giống MH5. Mẫu giống MH1 và mẫu giống MH17 có mức sai khác di truyền lớn nhất (hệ số tương đồng di truyền thấp nhất là 0,33).



Hình 2. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống nghiên cứu

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền giữa 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	1,00																					
2	0,65	1,00																				
3	0,79	0,55	1,00																			
4	0,85	0,61	0,74	1,00																		
5	0,84	0,61	0,73	0,97	1,00																	
6	0,65	0,70	0,56	0,71	0,73	1,00																
7	0,65	0,82	0,56	0,74	0,75	0,83	1,00															
8	0,71	0,76	0,59	0,74	0,75	0,85	0,85	1,00														
9	0,81	0,60	0,71	0,88	0,89	0,68	0,70	0,72	1,00													
10	0,63	0,71	0,55	0,65	0,65	0,90	0,75	0,80	0,63	1,00												
11	0,53	0,72	0,46	0,57	0,59	0,68	0,77	0,69	0,56	0,64	1,00											
12	0,50	0,62	0,44	0,53	0,54	0,63	0,66	0,67	0,52	0,61	0,76	1,00										
13	0,57	0,75	0,51	0,61	0,62	0,71	0,80	0,74	0,60	0,71	0,81	0,72	1,00									
14	0,51	0,64	0,49	0,54	0,55	0,62	0,67	0,66	0,53	0,63	0,71	0,77	0,70	1,00								
15	0,66	0,50	0,56	0,63	0,64	0,48	0,48	0,53	0,69	0,50	0,45	0,43	0,47	0,45	1,00							
16	0,51	0,57	0,51	0,49	0,51	0,72	0,59	0,63	0,51	0,75	0,53	0,53	0,59	0,58	0,44	1,00						
17	0,33	0,44	0,37	0,36	0,36	0,56	0,45	0,46	0,34	0,55	0,47	0,44	0,46	0,44	0,34	0,57	1,00					
18	0,66	0,48	0,64	0,67	0,66	0,48	0,50	0,52	0,74	0,49	0,49	0,45	0,48	0,51	0,66	0,53	0,36	1,00				
19	0,69	0,50	0,58	0,69	0,70	0,53	0,53	0,58	0,78	0,53	0,56	0,52	0,54	0,47	0,67	0,46	0,34	0,71	1,00			
20	0,66	0,48	0,63	0,70	0,71	0,53	0,53	0,56	0,68	0,51	0,55	0,52	0,54	0,46	0,63	0,44	0,38	0,60	0,78	1,00		
21	0,51	0,64	0,49	0,51	0,52	0,59	0,63	0,66	0,50	0,60	0,63	0,68	0,61	0,76	0,47	0,62	0,48	0,56	0,48	0,49	1,00	
22	0,67	0,50	0,66	0,68	0,69	0,50	0,51	0,53	0,66	0,50	0,50	0,46	0,49	0,52	0,66	0,50	0,38	0,75	0,64	0,72	0,67	1,00

Ở mức tương đồng di truyền khoảng 63% có thể chia 22 mẫu nghiên cứu thành 4 nhóm chính:

- Nhóm I gồm 10 mẫu giống: MH1, MH4, MH5, MH9, MH3, MH19, MH20, M18, MH22 và MH15. Nhóm I được chia thành 4 nhóm phụ:

Nhóm phụ 1.1 gồm MH1, MH4, MH5, MH9 và MH3. Các mẫu MH4, MH5 và MH9 đều được thu thập từ Sa Pa. Trong đó, MH4 và MH5 có hệ số tương đồng cao nhất cao nhất (0,97) đều được thu thập từ Núi Sa Pả, Sa Pa, Lào Cai

Nhóm phụ 1.2 gồm MH19 và MH20. Hai mẫu này đều thu thập từ Thanh Vân, Quản Bạ, Hà Giang có hệ số tương đồng di truyền là 0,78.

Nhóm phụ 1.3 gồm các mẫu MH18 và MH22. Hai mẫu này được thu thập từ hai địa điểm khác nhau nhưng có hệ số tương đồng di truyền khá cao là 0,75.

Nhóm phụ 1.4 gồm 1mẫu duy nhất là MH15 được thu thập tại Trung tâm giống cây trồng gia súc Phó Bảng, Đồng Văn Hà Giang.

- Nhóm II bao gồm các mẫu MH2, MH6, MH10, MH7, MH8, MH11, MH13, MH 12, MH14 và MH21 được phân thành 2 nhóm phụ:

Nhóm phụ 2.1 gồm MH2, MH6, MH10, MH7 và MH8 đều được thu thập ở Sapa.

Nhóm phụ 2.2 gồm MH11 và MH13. MH11 được thu thập tại Sapa và MH13 thu thập tại Yên Minh, Hà Giang.

Nhóm phụ 2.3 gồm các mẫu MH12, MH14 và MH21. Cả 3 mẫu đều được thu thập ở vùng Đông Bắc: MH12 và MH14 được thu thập tại Hà Giang, MH21 thu thập ở Bắc Cạn.

- Nhóm III gồm một mẫu duy nhất là MH16 được thu thập tại Lạc Dương, Lâm Đồng.

- Nhóm IV chỉ có mẫu MH17 thu thập tại Lạc Dương, Lâm Đồng, có cách biệt di truyền lớn nhất với các mẫu giống còn lại.

Như vậy, kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô cho thấy xu hướng các mẫu cùng vùng phân bố có hệ số tương đồng di

truyền cao hơn (quan hệ di truyền gần gũi hơn) nằm trong cùng nhóm phân loại. Riêng các mẫu thu thập ở Lâm Đồng có độ đa dạng khá cao và được phân ở các nhóm khác nhau. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc bổ sung cho những kết quả phân loại về hình thái và phục vụ công tác thu thập bảo tồn các nguồn gen cây thuốc quý bản địa của Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Các mẫu giống/loài Hoàng liên ô rô thuộc chi *Mahonia* Nutt. rất đa dạng. Kết quả phân tích với 374 phản ứng PCR nhân lên được tổng số 2185 băng DNA thuộc 211 băng khác nhau, trong đó có 193 băng đa hình (91,47%) và 18 băng đơn hình (8,53%). Giá trị PIC của 17 mỗi dao động trong khoảng 0,7 đến 0,94; Giá trị trung bình của hệ số PIC của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô nghiên cứu là 0,85. Hệ số tương đồng di truyền của 22 mẫu giống Hoàng liên ô rô dao động trong khoảng 0,33 đến 0,97. Ở mức tương đồng di truyền 63%, 22 mẫu giống nghiên cứu được chia thành 4 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 15 băng cá biệt và 1 băng khuyết duy nhất có thể nhận biết chính xác 10 mẫu giống, MH2, MH3, MH8, MH11, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18 và MH22. Kết quả này rất có ý nghĩa, bổ sung cho các nghiên cứu phân loại ở mức hình thái để định danh các nguồn gen Hoàng liên ô rô và nhận dạng chính xác các giống/loài có hàm lượng berberin cao phục vụ công tác bảo tồn, khai thác nguồn gen cây thuốc quý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trần Thị Thúy, Lưu Thúy Hòa, Khuất Hữu Trung, Trần Văn Ổn, Phạm Hà Thanh Tùng, 2014. Nghiên

cứu đa dạng di truyền cây Hoàng liên gai thuộc họ Berberidaceae sử dụng chỉ thị phân tử RAPD. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 4: 57-62.

Cadic A., Decourtye L., 1987. Observation preliminaries concemant la biologie florale et la genetique du Berberis: consequences pour la selection. *Ann Amelior. Plants*, 26(2): 295-304.

Nag A., Bhardwaj P., Ahuja P. S. and Sharma R. K., 2013. Identification and characterization of novel UniGene-derived microsatellite markers in *Podophyllum hexandrum* (Berberidaceae)", *J. Genet.* 92: 4-7.

Obara-Okeyo, P. and Kako, S., 1998. Genetic diversity and identification of *cymbidium* cultivars as measured by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 99: 95-101.

Rohlf F.J. 2000. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.02. *Exeter Software*, New York.

Sodagar Najmeh, Ahmad Reza Bahrami, Farshid Memariani, Hamid Ejtehad, Jamil Vaezi, Ahmad Reza Khosravi, 2012. Biosystematic study of the genus *Berberis* L. (Berberidaceae) in Khorassan, NE Iran. *Plant Systematics and Evolution*, Volume 298 (1): 193-203.

Vikas Chander, J.S. Aswal, Rajendra Dobhal, D.P. Uniyal, 2017. A review on Pharmacological potential of Berberine; an active component of Himalayan *Berberis aristata*. *The Journal of Phytopharmacology*; 6 (1): 53-58.

Yanwen Wang, 2014. Berberine decreases cholesterol levels in rats through multiple mechanisms, including inhibition of cholesterol absorption. *Metabolism Clinical and Experimental*, Vol. 63 (9): 1167-1177.

Study on genetic diversity of *Mahonia* Nutt. by RAPD markers

Luu Thuy Hoa, Khuat Huu Trung,
Tran Dang Khanh, Tran Van On

Abstract

The results of RAPD-PCR analysis of 22 *Mahonia* Nutt. samples showed high genetic polymorphism. This studying of genetic diversity of *Mahonia* Nutt. 2185 DNA bands were obtained by 374 PCR amplifications and they were divided in 211 different bands, including 193 polymorphic bands (91.47%) and 18 monomorphic bands (8.53%). The PIC values of the 17 primers ranged from 0.7 to 0.94. The mean value of the PIC coefficient of 22 samplings was 0.85. Genetic similarity coefficients of 22 accessions of *Mahonia* Nutt. family in each pair ranged from 0.33 to 0.97. At 68 percent genetic similarity, 22 accessions were divided into four groups. The experiment showed that 9 primers could identify 10 accessions MH2, MH3, MH8, MH11, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18, and MH22. The results are very useful for accurate classification and identification of native indigenous genetic resources (*Mahonia* Nutt.) for conservation and development.

Key words: Hoang lien o ro, *Mahonia* Nutt., RAPD, Genetic diversity

Ngày nhận bài: 6/4/2017

Người phản biện: TS. Lưu Minh Cúc

Ngày phản biện: 15/4/2017

Ngày duyệt đăng: 24/4/2017

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG HẠT, TÍNH KHÁNG SÂU BỆNH VÀ TÍNH CHỊU HẠN CỦA CÁC GIỐNG LÚA NƯƠNG

Hà Minh Loan¹, Trần Danh Sứ², Trần Thị Huệ Hương²

TÓM TẮT

Trong 4 giống lúa nương nghiên cứu có 3 giống lúa tẻ là Khẩu ký, Khẩu nắm pua, Khẩu mang và cả 3 giống lúa này đều thuộc loài phụ *indica*. Giống lúa Tan nương là lúa nếp và thuộc loài phụ *japonica*. Hàm lượng amyloza của các giống lúa Khẩu ký, Khẩu nắm pua, Tan nương và Khẩu mang lần lượt là 12,9%, 10,9%, 4,5% và 13%. Cả 4 giống đều có độ phân hủy kiềm cao, tương ứng với nhiệt độ hóa hồ thấp. Giống Tan nương và Khẩu mang có hương thơm. Kết quả đánh giá tính kháng rầy nâu bằng lây nhiễm cho thấy giống Khẩu nắm pua nhiễm nặng, ba giống còn lại kháng trung bình. Trong khi đó với bệnh bạc lá thì giống Tan nương kháng cao và các giống còn lại kháng trung bình. Giống Khẩu mang chịu hạn tốt, ba giống Khẩu ký, Khẩu nắm pua và Tan nương không chịu hạn.

Từ khóa: Lúa nương, loài phụ *indica*, *japonica*, amyloza, rầy nâu, bệnh bạc lá, chịu hạn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa nương có vị trí quan trọng trong tài nguyên di truyền lúa Việt Nam do có những phẩm chất đặc biệt như hương vị thơm, ngon và dẻo. Trước đây, lúa nương được trồng phổ biến và chiếm một diện tích khá lớn ở các tỉnh miền núi phía Bắc, sau đó diện tích bị giảm nhiều do việc phát triển những giống lúa cải tiến ngắn ngày, năng suất cao. Cùng với giảm diện tích, các giống lúa nương đã lâu không được chọn lọc và phục tráng nên chất lượng và năng suất giảm dần (Trần Danh Sứ, 2015).

Để khai thác và phát triển các giống lúa địa phương chất lượng cao nói trên, ngoài phục tráng giống thì nghiên cứu chất lượng hạt, tính kháng bệnh, tính chịu hạn của các giống lúa nương là việc làm hết sức cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bốn giống lúa nương gồm: Khẩu ký, Khẩu nắm pua, Tan nương và Khẩu mang.

Giống lúa đối chứng: TN1 và Ptb33 (tính kháng rầy); BB7, IR 24 và BB4 (tính kháng bạc lá); CH5 (tính chịu hạn).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phân loại phụ lúa *indica*, *japonica* theo phương pháp của Oka H. I. (1958)

- Hàm lượng amyloza: Được xác định theo Tiêu chuẩn Quốc gia - TCVN 5716: 1993.

- Đánh giá độ phân hủy kiềm, tính chống chịu của cây lúa theo Hệ thống đánh giá tiêu chuẩn nguồn gen cây lúa (IRRI, 1996). Cụ thể như sau:

+ Độ phân hủy kiềm: Mỗi giống sử dụng 10 hạt gạo ngâm vào dung dịch 1,7% KOH trong 23 giờ ở 30°C, sau đó đánh giá theo thang điểm dưới đây (Bảng 1).

+ Mức nhiễm rầy nâu: Giống đánh giá được gieo vào 50 ô kiểu bàn cờ với 3 lần nhắc lại theo khối ngẫu nhiên. Mỗi ô gieo 15 - 20 hạt, gieo viền xung quanh ô là giống nhiễm. Rầy nâu thu thập về nuôi nhân trong lồng lưới đến thế hệ thứ 3 được dùng đánh giá. Mạ 3 - 4 lá thật bắt đầu thả rầy tuổi 2 - 3, đảm bảo: 4 - 5 rầy / 1 tép mạ.

Sau khi thả rầy, giống đối chứng nhiễm bắt đầu cháy thì tiến hành đánh giá theo thang điểm dưới đây (Bảng 2).

Bảng 1. Thang điểm đánh giá độ phân hủy kiềm

Cấp độ	Phân huỷ kiềm		Nhiệt độ hoá hồ
1	Hạt gạo không ảnh hưởng nhưng có màu phấn trắng	Thấp	Cao
2	Trương lên	Thấp	Cao
3	Trương lên nhưng cổ hạt trương không hoàn toàn và hẹp	Thấp hoặc trung bình	Cao hoặc trung bình
4	Trương lên, cổ hạt trương hoàn toàn và rộng	Trung bình	Trung bình
5	Vỡ ra hoặc bị phân đoạn, cổ hạt trương hoàn toàn và rộng	Trung bình	Trung bình
6	Tỏa lan và hoà trộn với cổ hạt	Cao	Thấp
7	Tan hoàn toàn và trong suốt	Cao	Thấp

¹ Trung tâm Tài nguyên thực vật; ² Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam