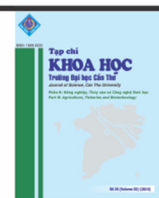




Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
website: sj.ctu.edu.vn



SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA QUẦN THỂ CÂY NGHỆ (*CURCUMA SP.*) Ở TỈNH BÌNH DƯƠNG

Nguyễn Lộc Hiền¹, Tô Thị Nhựt², Huỳnh Kỳ¹ và Huỳnh Thanh Tùng²

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bình Dương

Thông tin chung:

Ngày nhận: 14/09/2013

Ngày chấp nhận: 23/12/2013

Title:

Evaluating genetic diversity of turmeric population in Binh Duong province

Từ khóa:

Đa dạng di truyền, đặc điểm hình thái, hệ số tương đồng, Nghệ, ISSR

Keywords:

Genetic diversity, ISSR, morphological characteristics, similarity coefficient, Turmeric

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma sp.*) is one of the high value *Curcuma* which can be used in spice and medicinal purposes. The project was studied on the difference of genetic diversity to serve for genetic conservation and crop improvement based on morphological characteristics and ISSR markers in the population of *Curcuma sp* at 5 districts of Binh Duong province. For the morphological characteristics, there were from 3-4 alleles determined for one trait. The level of polymorphism of 13 morphological characteristics based on the phylogenetic diagram analysis with the similarity coefficient was fairly high, ranging from 0.55-1.00. From the phylogenetic analysis, this *Curcuma* population was classified into 4 groups with the similarity coefficient ranging from 0.71-1.00. Analysis of six ISSR markers also showed a relatively high level of polymorphism. 74 out of total 76 bands were polymorphic with a ratio of 97.37%. One primer generated an average of 12.67 ± 2.73 bands, of which 12.33 ± 2.94 were polymorphic. The morphological and ISSR markers analysis showed the high similarity ranging from 0.47-0.99 and able to cluster into 4 groups. The overall results showed that this *Curcuma* population had the high diversity which could contribute to the value for genetic conservation and utilization of turmeric population in Binh Duong province.

TÓM TẮT

Nghệ là một trong những cây gia vị và dược liệu có giá trị cao. Nhằm mục đích phát hiện những cấu trúc di truyền khác biệt trong quần thể để phục vụ cho công tác bảo tồn nguồn gen và cải thiện giống, nghiên cứu đánh giá sự đa dạng di truyền dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR đã được thực hiện trong quần thể cây Nghệ thuộc 5 huyện thị ở tỉnh Bình Dương. Mức độ đa hình thông qua phân tích sơ đồ di truyền của 13 đặc điểm hình thái trong quần thể khảo sát tương đối cao với hệ số tương đồng dao động từ 0,55-1. Từ kết quả này có thể phân chia quần thể mẫu Nghệ thành 4 nhóm rõ rệt với hệ số tương đồng di truyền biến thiên trong khoảng từ 0,71-1,00. Phân tích với 6 chỉ thị phân tử ISSR đa hình cũng cho thấy mức độ đa hình tương đối cao. Trong 76 băng DNA tạo ra có 74 băng đa hình chiếm tỉ lệ 97,37%. Trung bình mỗi đoạn mỗi khuếch đại được $12,67-2,73$ băng và có $12,33-2,94$ băng đa hình. Hệ số tương đồng dao động từ 0,46-1,00. Dựa trên mức độ tương đồng di truyền ở 0,62 cũng có thể chia quần thể mẫu thành 4 nhóm. Kết quả phân tích kết hợp giữa đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR mức độ tương đồng cao biến động từ 0,47 đến 0,99 và có thể chia thành 4 nhóm rõ rệt. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có sự đa dạng di truyền trong quần thể cây Nghệ ở tỉnh Bình Dương và góp phần cung cấp những biến dị di truyền trong tự nhiên có giá trị để có chiến lược bảo tồn và khai thác nguồn gen này.

1 GIỚI THIỆU

Ngày nay, các tiến bộ khoa học kỹ thuật đã giúp khám phá thêm những thuộc tính có giá trị trong ẩm thực và dược liệu của nhiều loại cây trồng. Ngoài việc sử dụng như một loại gia vị, cây Nghệ còn đóng vai trò quan trọng trong y học, dược liệu và trong ngành công nghiệp thực phẩm. Tổ chức y tế thế giới (WHO) cũng đã khuyến cáo việc sử dụng loại cây trồng nhiều công dụng này (Vavilova, 1990).

Cây Nghệ ngày càng được các nhà khoa học quan tâm, không chỉ nghiên cứu về tinh dầu curcumin hay các hợp chất có công dụng trong dược liệu từ củ Nghệ, mà còn có các nghiên cứu đánh giá mức độ đa dạng di truyền trên quần thể cây Nghệ ở những vùng địa lý khác nhau để tạo cơ sở cho việc chọn lọc và bảo tồn nguồn gen quý từ cây Nghệ. Trong số các nghiên cứu gần đây, có thể kể đến nghiên cứu về sự biến đổi tinh dầu curcumin tổng số và hoạt chất chống oxy hóa và đa dạng di truyền trong bộ sưu tập Nghệ (Thaikert and Paisooksantivatana, 2009); đánh giá đa dạng di truyền trên giống cây Nghệ bản địa từ Pakistan bằng chỉ thị phân tử RAPD (Hikmat và *ctv*, 2011); hay thông qua các chỉ tiêu hình thái (Mário và *ctv*, 2011). Trong khi đó, ở Việt Nam, các nghiên cứu về Nghệ hầu hết chỉ tập trung vào công dụng và tiềm năng dược liệu của nó. Riêng về mức độ đa dạng di truyền của quần thể Nghệ ở Việt Nam, cho đến nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu. Đây là những thông tin cần thiết để đưa ra các phương án chọn lọc và bảo tồn hiệu quả giống cây trồng mang lại nhiều lợi ích này.

Có nhiều phương pháp khác nhau có thể sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền như phương pháp sử dụng các đặc điểm hình thái, chỉ thị isozyme, hay chỉ thị phân tử (RFLP, RAPD, AFLP, SSR, ISSR). Tùy vào đối tượng, điều kiện và mục đích nghiên cứu mà lựa chọn phương pháp phù hợp nhất. Trong đó, các đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR là những phương pháp phân tích sử dụng khá hiệu quả trong các nghiên cứu về phân loại và cây phát sinh loài hiện nay. ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) là một loại chỉ thị phân tử sử dụng các đoạn lặp lại của các đoạn trình tự đơn giản. Vì vậy, dấu phân tử ISSR mang tính ngẫu nhiên tương tự như dấu phân tử RAPD ngoại trừ đoạn mỗi ISSR được thiết kế từ các khu vực microsatellite và dài hơn đoạn mỗi RAPD. Chỉ thị phân tử ISSR có độ chính xác và khả năng lặp lại cao. Phương pháp phân tích này vừa nhanh, đơn giản và đặc biệt không cần biết trước bộ gen

của đối tượng nghiên cứu. Tại khu vực phía Nam Việt Nam, hiện chưa có báo cáo khoa học nào sử dụng ISSR để làm sáng tỏ sự đa dạng di truyền của cây Nghệ, đặc biệt tại địa bàn tỉnh Bình Dương, nơi được biết đến là trồng nhiều Nghệ.

Từ thực tế trên, nghiên cứu đánh giá sự đa dạng di truyền của quần thể Nghệ ở tỉnh Bình Dương dựa trên đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR được thực hiện để làm cơ sở cho việc bảo tồn nguồn gen và chọn tạo giống mới cho chương trình nhân giống Nghệ trong tương lai.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Đánh giá đặc tính hình thái

Các mẫu củ Nghệ được thu thập tập trung vào các nhà vườn ở các huyện trồng nhiều Nghệ và chọn các bụi củ đã đến tuổi thu hoạch trong các nhà vườn khác nhau và cách xa nhau về khoảng cách địa lý để khảo sát. Mỗi huyện (được chọn thu thập mẫu), sẽ khảo sát từ 4 – 10 nhà vườn (tùy thuộc vào khu vực có nhiều nhà vườn trồng Nghệ), trên mỗi nhà vườn chọn 1 mẫu ngẫu nhiên. Tổng cộng có 36 mẫu đã được thu thập ở 5 huyện thị Bến Cát, Tân Uyên, Dầu Tiếng, Phú Giáo, Thủ Dầu Một (Tỉnh Bình Dương).

Trong quá trình thu thập mẫu, kết hợp phỏng vấn các hộ dân trồng Nghệ để ghi nhận các thông tin về giống, kỹ thuật trồng và một số thông tin có liên quan. Ba mươi sáu mẫu Nghệ được đánh số từ BD01 đến BD36. Có 13 chỉ tiêu hình thái được ghi nhận thuộc 2 nhóm: đặc tính củ và đặc tính thân – lá (Bảng 1). Các đặc điểm hình thái được đánh giá cảm quan và đo đếm thông thường.

2.2 Phản ứng khuếch đại DNA (PCR)

Lá cây Nghệ đã được khảo sát đặc tính hình thái được sử dụng để phân tích sự đa dạng về mặt phân tử ISSR. DNA được ly trích và tinh sạch từ mô lá theo phương pháp CTAB rút gọn (Taylor và Powell, 1982). Có 10 chỉ thị phân tử ISSR được sản xuất bởi công ty Sinh hóa Phù Sa (Vĩnh Long, Việt Nam) đã được sử dụng để khuếch đại DNA (Bảng 2).

Hỗn hợp phản ứng PCR được thực hiện với thể tích 10μl bao gồm nước cất vô trùng, PCR buffer 10X, dNTPs 2 mM, 2,5 mM primer, Taq polymerase 5U/μl và DNA 40 ng/μl. Phản ứng ISSR-PCR được thực hiện qua 40 chu kỳ gia nhiệt trên máy PCR GeneAmp PCR system 2700 như sau: 5 phút ở 94°C, 40 chu kỳ gồm 30 giây ở 94°C, 30 giây ở 45°C và 40 giây ở 72°C, và cuối cùng là 7 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR được trữ ở 4°C.

Sản phẩm 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 hình dưới đèn UV. Các đoạn DNA khuếch đại sẽ được ghi nhận và phân tích.

2.3 Phân tích số liệu

Đối với các đặc tính hình thái, dựa vào sự biểu hiện hay không biểu hiện ở từng tính trạng của mỗi mẫu cây để lập ma trận nhị phân. Ma trận này được dùng làm dữ liệu đầu vào của phần mềm NTSYSpc v2.1 để tính hệ số tương đồng (Similarity coefficient) và phân nhóm các giống.

Đối với chỉ thị phân tử ISSR, 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 cây, 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 cũng dựa trên ma trận hệ số tương đồng (Similarity coefficient) bằng phần mềm NTSYSpc v2.1.



Vàng cam

Vàng

Trắng

Trắng xanh

Trắng tím

Hình 1: Màu sắc củ điển hình khảo sát được trên 36 mẫu Nghệ thuộc tỉnh Bình Dương

3.1.2 Đặc điểm thân - lá

Qua kết quả khảo sát cho thấy, trong số các đặc điểm hình thái cây, thì có 2 tính trạng có số alen cao nhất (bằng 4) là chiều dài lá/chiều rộng lá và chiều dài cuống lá/chiều dài lá. Phần lớn lá Nghệ có màu xanh nhạt (75%); tỉ lệ chiều dài lá/chiều rộng lá vào mức trung bình (4,18-5 cm) chiếm 41,67% phản ánh đúng hình dạng lá Nghệ phổ biến là thon nhọn ở hai đầu như dạng hình lưỡi mác; gân lá thưa (97,22%); phiến lá xanh (75%); màu sắc chồi hoặc thân cây là xanh nhạt (77,78%) và mức độ nảy chồi thấp (80,56%) (Bảng 1).

Sơ đồ di truyền hình nhánh (Hình 2) dựa trên hệ số tương đồng cho thấy hệ số tương đồng về hình thái giữa các mẫu trong quần thể khảo sát là khá cao, dao động từ 0,55-1,00 và có thể chia

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự đa dạng của đặc tính hình thái

Trong 13 đặc điểm hình thái được khảo sát ở 36 cây Nghệ (Bảng 1) thì tất cả đều biểu hiện đa hình. Nếu mỗi biểu hiện của một đặc điểm hình thái được kiểm soát bởi 1 alen thì đối với những đặc điểm có biểu hiện đa hình, trung bình có từ 3 – 4 alen trên 1 đặc điểm.

3.1.1 Đặc điểm củ

Trong số các đặc điểm hình thái củ thì 2 tính trạng có số alen cao nhất (bằng 5) là màu sắc củ và mùi hương củ. Hai tính trạng này cùng với tính trạng hương vị củ, góp phần quan trọng giúp phân biệt các cá thể Nghệ trong khảo sát. Kết quả cũng cho thấy phần lớn củ Nghệ có màu vàng cam (chiếm tỉ lệ 61,11%); chiều dài củ ngắn ≤ 6.80 cm (chiếm tỉ lệ 52,78%); chiều rộng củ trung bình từ 1,51-2,1 cm (chiếm tỉ lệ 61,11%); số lượng chia nhánh củ ít ≤ 5 nhánh (83,33%); có mùi hương đặc trưng của Nghệ và hơi nồng (63,89%); có vị cay nhẹ (63,89%) (Bảng 1, Hình 1).

thành 4 nhóm với mức độ tương đồng di truyền biến thiên trong khoảng từ 0,71-1,00 gồm.

– Nhóm I có 23 cá thể (BD01, BD02, BD30, BD34, BD05, BD16, BD17, BD18, BD31, BD23, BD10, BD08, BD39, BD38, BD26, BD27, BD25, BD32, BD03, BD12, BD22, BD29, BD28) giống nhau ở mức tương đồng khoảng 0,80-1,00. Cả 23 cá thể giống nhau hầu hết ở các đặc điểm màu sắc củ, mùi hương củ, hương vị củ, màu sắc lá, đặc điểm gân lá và phiến lá.

– Nhóm II có 03 cá thể (BD06, BD15, BD35) giống nhau ở mức tương đồng từ 0,74-0,81. Các cá thể đều có chung đặc điểm màu củ vàng, mùi hương đặc trưng của Nghệ nhưng nhẹ không nồng và có vị gừng.

– Nhóm III có 09 cá thể (BD07, BD14, BD33, BD19, BD11, BD24, BD21, BD36, BD37) giống nhau ở mức tương đồng từ 0,71-0,91. Các

cá thể hầu hết có chung đặc điểm màu củ trắng xanh, có mùi hương đặc trưng của Nghệ đen, vị cay và đắng, có sọc tím chạy giữa phiến lá và màu sắc chung của thân cây thường tím.

– Nhóm IV: chỉ riêng cá thể BD20. Điều này cho thấy cá thể BD20 khá đặc biệt trong bộ sưu tập giống Nghệ tại Bình Dương với các đặc điểm tách biệt và chỉ xuất hiện duy nhất trên cá thể này. Đó là màu củ trắng, không mùi, không vị; tỉ lệ

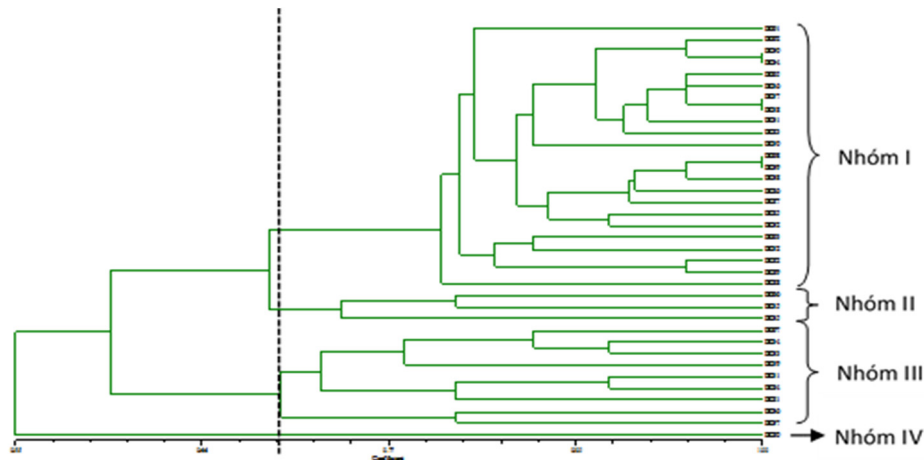
giữa chỉ tiêu chiều dài lá/chiều rộng lá và chiều dài cuống lá/chiều dài lá vào mức rất nhỏ, gân lá dày, thân cây có màu xanh đậm. Mặc dù các nhà vườn đã cung cấp thông tin về giống này trong quá trình thu thập mẫu, nhưng giả thiết đặt ra là cá thể BD20 có thể thuộc loài phụ khác hơn loài Nghệ trồng phổ biến. Tuy nhiên, vì chưa có những phân tích khác xác định nghiên cứu này vẫn sử dụng mẫu này như là loài Nghệ cho phân tích phân tử tiếp theo.

Bảng 1: Sự đa dạng của 13 đặc tính hình thái của quần thể cây Nghệ tại Bình Dương

Đặc điểm khảo sát			Đặc điểm khảo sát		
Đặc điểm củ			Đặc điểm thân lá		
1. Màu sắc củ	Vàng	11,11	7. Màu sắc lá	Xanh nhạt	75,00
	Vàng cam	61,11		Xanh đậm	25,00
	Trắng xanh	16,67	8. Chiều dài lá/chiều rộng lá (cm)	Lớn (>5)	27,78
	Trắng tím	8,33		Trung bình (4.18-5)	41,67
	Trắng	2,78		Nhỏ (3.34-4.17)	27,78
2. Chiều dài củ (cm)	Ngắn ($\leq 6,80$)	52,78		Rất nhỏ (< 3.34)	2,78
	Trung bình (6,81-10,2)	44,44	9. Chiều dài cuống lá/chiều dài lá (cm)	Lớn ($> 0,66$)	36,11
	Dài ($> 10,2$)	2,78		Trung bình (0,51-0,66)	36,11
3. Chiều rộng củ (cm)	Hẹp ($\leq 1,5$)	13,89		Nhỏ (0,34-0,50)	25,00
	Trung bình (1,51-2,10)	61,11		Rất nhỏ ($< 0,34$)	2,78
	Rộng ($> 2,10$)	25,00	10. Đặc điểm gân lá	Dày	2,78
4. Số lượng chi nhánh củ	Ít (≤ 5)	83,33		Thưa	97,22
	Trung bình (5,1-7)	11,11	11. Sọc tím chạy giữa phiến lá	Có nhiều	11,11
	Nhiều (> 7)	5,56		Có ít	13,89
5. Mùi hương củ	Nghệ (nồng)	63,89		Không có	75,00
	Nghệ (nhẹ)	8,33	12. Màu sắc chồi hoặc thân cây	Tím	19,44
	Nghệ đen	19,44		Xanh đậm	2,78
	Không mùi	2,78		Xanh nhạt	77,78
	Khác	5,56	13. Mức độ nảy chồi	Ít (< 4)	80,56
6. Hương vị củ	Cay nhẹ	63,89		Nhiều (≥ 4)	19,44
	Gừng	8,33			
	Cay + đắng	25,00			
	Không vị	2,78			

Kết quả nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu về hình thái của loài Nghệ ở các quốc gia trên thế giới. Hikmat và *ctv.*, (2011) đã sử dụng 21 chỉ tiêu hình thái để đánh giá đa dạng di truyền của 20 mẫu cây Nghệ được thu thập trên ba vùng địa lý khác nhau (Bannu, Haripur and

Kasur) ở Pakistan. Kết quả đó ghi nhận được là phần lớn Nghệ có lá màu xanh, củ màu vàng cam và hoa màu trắng xanh. Các dữ liệu hình thái nông học được phân tích bằng kỹ thuật PCA (Principal Component Analysis) và chia thành 4 nhóm phù hợp với các đặc điểm hình thái nông học ghi nhận cũng như khu vực địa lý thu thập mẫu.



Hình 2: Sơ đồ hình nhánh dựa trên hệ số tương đồng di truyền của 13 đặc điểm hình thái của quần thể mẫu cây Nghệ tại tỉnh Bình Dương

3.2 Sự đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị phân tử ISSR

Kết quả ly trích DNA cho thấy chỉ có 24/36 mẫu đạt kết quả tốt thích hợp cho phản ứng PCR. Trong 10 đoạn mồi ISSR đã được sử dụng trên 24 mẫu cây Nghệ, kết quả cho thấy có 6 đoạn mồi cho kết quả băng rõ trên tất cả 24 mẫu (chiếm 60%) và tất cả đều đa hình. Tổng cộng có 76 băng

được ghi nhận với trung bình là $12,67 \pm 2,73$ băng/đoạn mồi. Trong đó, có 74 băng đa hình, (chiếm tỉ lệ 97,37%). Số lượng băng đa hình dao động từ 9 băng (đoạn mồi ISSR14) đến 17 băng (đoạn mồi ISSR06) và trung bình là $12,33 \pm 2,94$ băng đa hình trên mỗi đoạn mồi. Một số đoạn mồi cho số lượng băng nhiều và tỉ lệ đa hình rất cao (Bảng 2).

Bảng 2: Sự đa hình của 6 chỉ thị ISSR ở quần thể Nghệ tại tỉnh Bình Dương

Primers	Trình tự primer 5'-3'	Tổng số băng	Băng đa hình	Tỉ lệ đa hình (%)
ISSR01	(CA) ₆ AG	14	14	100
ISSR06	(GA) ₈ C	17	17	100
ISSR08	(GA) ₈ T	13	13	100
ISSR14	(AGC) ₄ GT	9	9	100
ISSR15	(TCC) ₅	12	11	91,67
ISSR10	(AC) ₈ G	11	10	90,91
Tổng		76	74	
Trung bình \pm SD		12,67 \pm 2,73	12,33 \pm 2,94	97,10

Syamkumar và ctv. (2007) đã sử dụng 39 đoạn mồi RAPD và 8 đoạn mồi ISSR để phân tích di truyền trên 15 cá thể Nghệ ở Ấn Độ. Kết quả thu nhận được với đoạn mồi RAPD có 352/376 băng đa hình chiếm tỉ lệ 93,62%, trung bình có 9,03 băng/đoạn mồi. Còn với đoạn mồi ISSR thì ghi nhận được 87/91 băng đa hình chiếm tỉ lệ 95,60%, trung bình có 10,88 băng/đoạn mồi. Như vậy, trong nghiên cứu này, với 24 mẫu Nghệ thu thập trên địa bàn tỉnh Bình Dương dùng 6 đoạn mồi ISSR, cho kết quả đa hình cao hơn (12,33 băng đa hình/đoạn mồi).

Kết quả ở Hình 4 cho thấy hệ số tương đồng giữa 24 mẫu Nghệ ở Bình Dương biến động từ 0,46 – 1,00. Dựa trên các dấu phân tử ISSR, thì

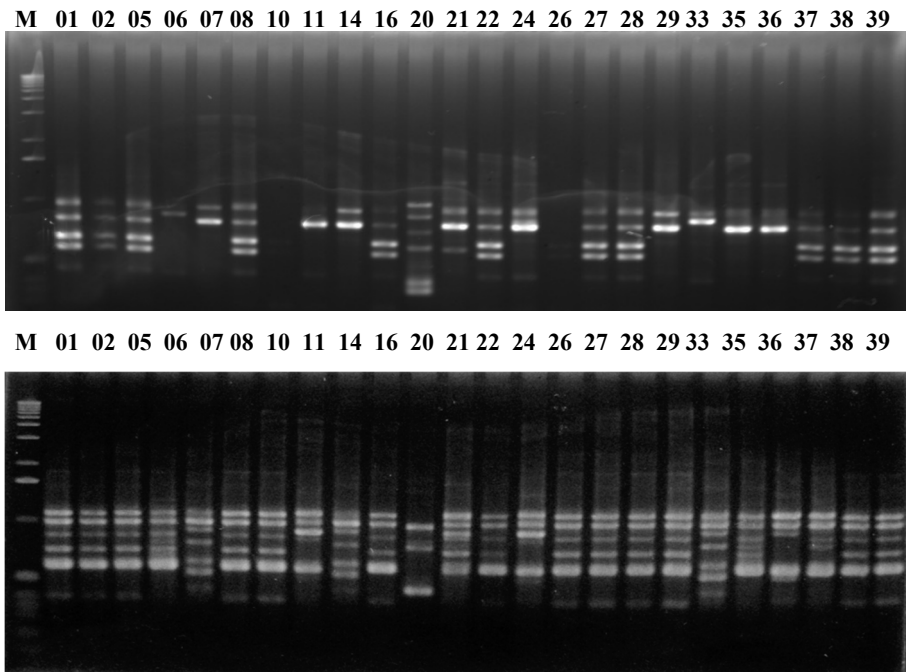
quần thể Nghệ khảo sát có cấu trúc nhóm tương đối rõ rệt và có thể chia thành 4 nhóm riêng biệt. Kết quả này tương đối phù hợp với kết quả hình thái trình bày ở phần trên. Các nhóm bao gồm:

- Nhóm I: gồm 15 cá thể (BD1, BD5, BD8, BD28, BD29, BD39, BD2, BD16, BD27, BD10, BD26, BD22, BD38, BD6, BD35) giống nhau với hệ số tương đồng từ 0,75-1,00.
- Nhóm II: gồm 5 cá thể (BD11, BD24, BD21, BD36, BD37) với hệ số tương đồng từ 0,65-0,86.
- Nhóm III: gồm 3 cá thể (BD7, BD14, BD33) với hệ số tương đồng từ 0,89-0,93.
- Nhóm IV: chỉ riêng cá thể BD20.

Sự phân nhóm này khác với kết quả khảo sát hình thái ở chỗ là nhóm II và III trong kết quả dựa trên dấu phân tử ISSR được tách ra từ nhóm III trong kết quả hình thái. Và các cá thể thuộc nhóm II trong khảo sát hình thái lại được gộp chung thành nhóm I trong kết quả với dấu phân tử. Điều này cho thấy, khi đánh giá đa dạng di truyền mà chỉ dựa trên đặc điểm hình thái sẽ cho kết quả kém chính xác, do một số đặc điểm hình thái luôn chịu

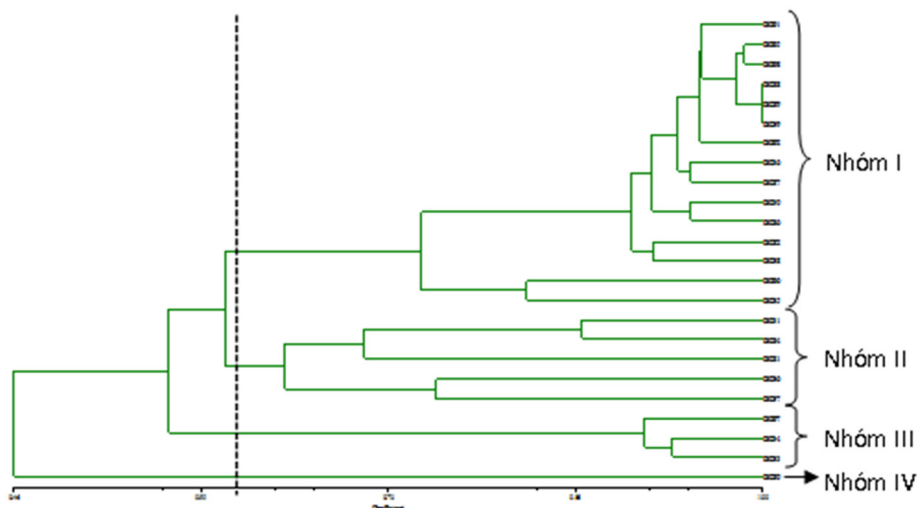
tác động bởi môi trường ngoại cảnh.

Đặc biệt là cá thể BD20 cũng tách hẳn ra khỏi các nhóm trong bộ giống Nghệ khảo sát, tương tự với kết quả ghi nhận được khi khảo sát về hình thái. Trong phổ điện di của cả 6 chỉ thị ISSR đều cho thấy cá thể này có sản phẩm PCR-ISSR khác biệt hoàn toàn với các cá thể còn lại (Hình 3). Một lần nữa cho phép giả thuyết rằng BD20 có lẽ thuộc loài phụ khác với Nghệ đang được trồng phổ biến.



Hình 3 : Phổ điện di của primer ISSR08 (trên) và ISSR10 (dưới)

M: ladder 1 Kb plus Invitrogen; Số thứ tự là số thứ tự cây mẫu



Hình 4: Sơ đồ hình nhánh dựa trên hệ số tương đồng di truyền của 6 chỉ thị phân tử ISSR ở quần thể mẫu cây Nghệ tại tỉnh Bình Dương

Một số nghiên cứu trước đây trên Nghệ cũng cho kết quả tương tự với hệ số tương đồng rất cao trong quần thể khảo sát. Jan và *ctv.*, (2011) sử dụng kỹ thuật RAPD trên 20 mẫu Nghệ bản địa từ Pakistan ghi nhận được hệ số tương đồng vào khoảng 0,20 - 1,00. Các tác giả phân chia bộ giống khảo sát thành 4 nhóm, tương tự các nhóm nhận được khi phân loại theo đặc điểm hình thái, nông học của các nghiên cứu trước đó.

3.3 Phân tích kết hợp đặc tính hình thái và chỉ thị phân tử ISSR

Kết hợp những phân tích trên cả đặc điểm hình thái và chỉ thị phân tử ISSR (Hình 5), có thể chia 24 mẫu khảo sát thành 4 nhóm lớn với hệ số tương đồng di truyền biến thiên trong khoảng từ 0,66–1,00 như sau:

– Nhóm I: gồm 15 cá thể (BD01, BD02, BD05, BD08, BD39, BD29, BD28, BD16, BD27,

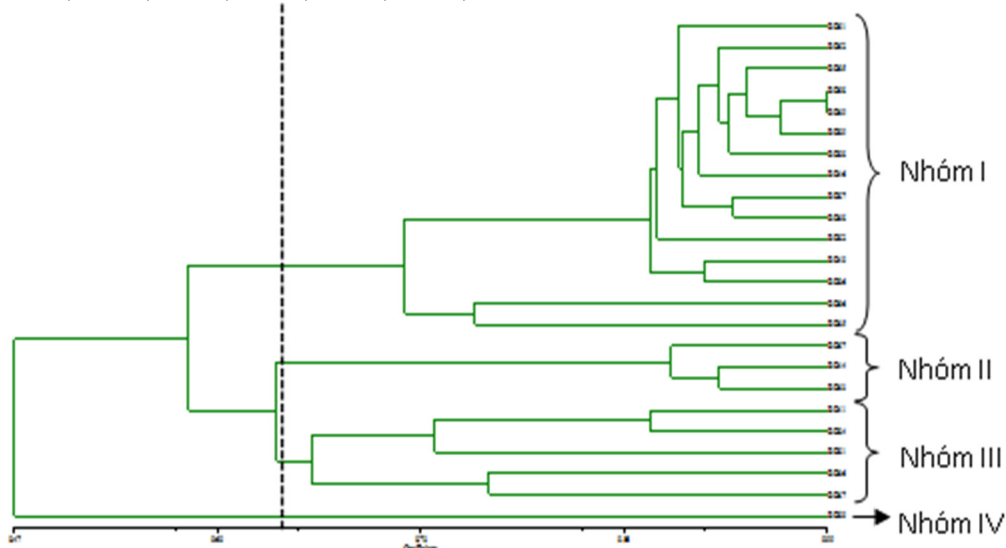
BD38, BD22, BD10, BD26, BD06, BD35) với mức tương đồng từ 0,71-1,00.

– Nhóm II: gồm 3 cá thể (BD07, BD14, BD33) với mức tương đồng từ 0,89-0,92.

– - Nhóm III: gồm 5 cá thể (BD11, BD24, BD21, BD36, BD37) với mức tương đồng từ 0,66-0,88.

– Nhóm IV: chỉ 1 cá thể BD20.

Kết quả này cũng tương tự như kết quả phân tích riêng rẽ 2 phương pháp. Điều này cho thấy 2 phương pháp đánh giá đa dạng di truyền này có thể sử dụng rộng rãi. Đặc biệt, quần thể cây Nghệ trong nghiên cứu này mặc dù mức độ tương đồng khá cao nhưng vẫn biểu hiện sự đa dạng trong nhóm mẫu thu thập và chỉ ra rằng đã có những biến dị trong tự nhiên xuất hiện và có khả năng làm thay đổi đặc tính giống.



Hình 5: Sơ đồ di truyền hình nhánh dựa trên hệ số tương đồng di truyền kết hợp giữa 13 đặc điểm hình thái và 6 chỉ thị phân tử ISSR ở quần thể cây Nghệ tại tỉnh Bình Dương

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy quần thể Nghệ tại Bình Dương có thể hiện sự đa dạng di truyền, tuy rằng mức độ tương đồng tương đối cao. Kết quả này phù hợp với kết quả ghi nhận được trong các nghiên cứu trước đây trên cây Nghệ ở các quốc gia khác. Chỉ thị phân tử ISSR tỏ ra khá hiệu quả trong việc phát hiện cấu trúc của quần thể cũng như khi kết hợp với đặc điểm hình thái. Sự đa dạng di truyền trong quần thể cây Nghệ trong nghiên cứu này có thể được sử dụng để phục vụ công tác bảo tồn nguồn gen và cải thiện giống trên

cây Nghệ nói chung.

Để có được kết quả chính xác và mang tính đại diện hơn cho quần thể cây Nghệ tại Bình Dương, cần thiết khảo sát thêm chỉ tiêu hình thái – nông học như các tính trạng về hoa hay động thái tăng trưởng của cây cũng như cần mở rộng khu vực khảo sát và tăng số lượng mẫu. Trong phân tích di truyền dựa trên chỉ thị phân tử, cũng cần sử dụng thêm các đoạn mồi ISSR khác để làm rõ hơn cấu trúc của quần thể. Những khảo sát các đặc điểm sinh hóa của các mẫu cũng quan trọng để có hướng khai thác trong dược liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hikmat Ullah Jan, Malik Ashiq Rabbani and Zabta Khan Shinwari. 2011. Assessment of genetic diversity of indigenous turmeric (*Curcuma longa* L.) germplasm from Pakistan using RAPD markers. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(5), pp. 823-830.
2. Mário Sérgio Sigríst, José Baldin Pinheiro, Joaquim Adelino de Azevedo Filho and Maria Imaculada Zucchi. 2011. Genetic divergence among Brazilian turmeric germplasm using morpho-agronomical descriptors. Brazilian Society of Plant Breeding. Crop Breeding and Applied Biotechnology 11: 70-76.
3. Ratchadaporn Thaikert and Yingyong Paisooksantivatana. 2009. Variation of Total Curcuminoids Content, Antioxidant Activity and Genetic Diversity in Turmeric (*Curcuma longa* L.) Collections. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 43 : 507 - 518
4. Syamkumar S. and Sasikumar B. 2007. Molecular marker based genetic diversity analysis of Curcuma species from India. Indian Institute of Spices Research, India. Pp 235-241.
5. Taylor B and Powell A. 1982. Isolation of Plant DNA and RNA. Focus 4: 4-6.
6. Vavilova NI. 1990. Turmeric a new spice and medicinal plant. SkogoInstituta-Rastenievodstva-imeni. Vol 4: 77 – 79.