

QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA CÁC GIỐNG ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) Ở VIỆT NAM DỰA VÀO ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ TRÌNH TỰ VÙNG GEN *rbcL*

Đỗ Văn Mai^{1*}, Thiều Văn Đường¹, Trương Trọng Ngôn² và Trần Công Luận^{1**}

¹Trường Đại học Tây Đô, ²Trường Đại học Cần Thơ

(*Email: dvmai@tdu.edu.vn)

Ngày nhận: 23/8/2021

Ngày phản biện: 01/10/2021

Ngày duyệt đăng: 01/12/2021

TÓM TẮT

Cây Đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) hiện nay được trồng phổ biến làm cảnh ở nước ta. Đình lăng đã được đưa vào Dược điển Việt Nam và được sử dụng từ lâu trong y học Phương Đông, được gọi là “Nhân sâm của người nghèo”. Mặc dù Đình lăng là cây dược liệu, nhưng chưa được nghiên cứu về di truyền một cách hệ thống. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá đặc điểm di truyền của một số giống Đình lăng thu thập ở mười tỉnh của Việt Nam dựa vào đặc điểm hình thái và dấu Single Nucleotide Polymorphism (SNP) trên vùng trình tự *rbcL*. 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 *Polyscias fruticosa* (L.) Harms khi so sánh với các trình tự *rbcL* trên NCBI. Dựa vào cây phả hệ cho thấy 10 mẫu giống cây Đình lăng có thể chia làm 2 nhóm lớn. Nhóm I bao gồm giống có từ các tỉnh Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam (phụ nhóm Ia), Cần Thơ, Thanh Hóa, An Giang (phụ nhóm Ib). Nhóm II bao gồm các giống thu từ các tỉnh Nam Định (phụ nhóm IIa), Điện Biên, Phú Thọ (phụ nhóm IIb) và ở TP. Hồ Chí Minh.

Từ khóa: Cây phả hệ, Đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms), gen *rbcL*

Trích dẫn: Đỗ Văn Mai, Thiều Văn Đường, Trương Trọng Ngôn và Trần Công Luận, 2021. Quan hệ di truyền của các giống đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) ở Việt Nam dựa vào đặc điểm hình thái và trình tự vùng gen *rbcL*. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 13: 217-226.

**PGS.TS. Trần Công Luận – Hiệu trưởng – Trưởng Khoa Dược và Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) hay còn gọi là cây Đinh lăng lá xẻ, cây gói cá (Võ Văn Chi, 2018), là loại cây nhỏ dạng bụi, xanh tốt quanh năm, hiện nay được trồng phổ biến làm cảnh ở nước ta, mọc cả ở Lào và miền Nam Trung Quốc (Đỗ Tất Lợi, 2013). Đinh lăng đã được đưa vào Dược điển Việt Nam và được sử dụng từ lâu trong y học Phương Đông với tác dụng bổ dưỡng như “Nhân sâm của người nghèo”, trị suy nhược cơ thể, chữa ho, kiết lỵ, cảm sốt, mụn nhọt, thông tiểu tiện, tiêu hóa kém, phụ nữ sau khi sinh ít sữa... (Võ Văn Chi, 2018). Tuy nhiên, cho đến nay việc tìm hiểu về đặc điểm di truyền của các loài 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 loài ở thực vật và cũng như động vật. ADN lục lạp (*cpDNA*) được xem là vùng bảo tồn cao và thường được dùng trong ADN mã vạch (ADN barcodes) đối với thực vật (Asif H. *et al*). ADN lục lạp có dạng vòng với chiều dài khoảng 85-2000 kilobase (kb); vùng này có chức năng để kiểm soát sản phẩm của hai dạng RNA, đó là *tRNA* và *rRNA*, cũng như hầu hết các protein trong lục lạp. Sự phức hợp các tiểu đơn vị cho protein quang hợp chứa các mã, mà một trong số chúng là ribulose 1.5-biphosphate carboxylase oxygenase (Tamarin R.H., 2001). Trình tự vùng gen *rbcL* của ADN trong lục lạp đã và đang được sử dụng rộng rãi cho việc xác định các loài cây thuộc truyền thống, Gen *rbcL* là một phần của trình tự

ADN nằm trong *cpDNA* và chúng được dùng như ADN mã vạch (Chase M.W. *et al*, 1993; Duvall M.R *et al*, 1993; Hasebe M. *et al*, 1994; Les D.H *et al*, 1991), do vùng gen này là vùng phổ biến và dễ dàng trong việc khuếch đại cũng như phân tích (Newmaster S.G, 2006). Ngoài ra, gen *rbcL* là chỉ thị rất hữu ích dùng trong việc đánh giá mối quan hệ di truyền ở thực vật. Gen này được tìm thấy trong lục lạp là thể đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp ở cây trồng. Nó là protein phong phú có ở lá cây và rất hữu ích trên trái đất (Freeman S., 2008). Do gen này hiện diện như là yếu tố phổ biến giữa sinh vật quang hợp và rất có thể khác với các gen *rbcL* ở thực vật khác nhằm xác định sự giống hay khác nhau về mặt di truyền giữa các giống. Nó mã hóa cho tiểu đơn vị lớn của protein ribulose-1, 5-biphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) (Gielly L., 1994). Một khác biệt giữa các giống hay loài khi trồng trong điều kiện môi trường khác nhau 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 10 mẫu loài Đinh lăng (*P. fruticosa*) đã được thực hiện tại 10 tỉnh rải rác trên khắp lãnh thổ Việt Nam, nhằm mục tiêu xác định được các đặc tính hình thái, cũng như đặc điểm di truyền của các giống *P. fruticosa*. 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. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu Đinh lăng trồng tại 10 tỉnh của Việt Nam bao gồm An Giang (vĩ độ 10.594311, kinh độ 106.981333), Cần Thơ (vĩ độ 10.24984, kinh độ 105.57303), Thành phố Hồ Chí Minh (vĩ độ 10.95913, kinh độ 106.59476), Đồng Nai (vĩ độ 10.05616, kinh độ 105.75675), Gia Lai (vĩ độ 14.06278, kinh độ 107.94242), Quảng Nam (vĩ độ 15.52337, kinh độ 108.27000), Thanh Hóa (vĩ độ 20.02736, kinh độ 105.98890), Nam Định (vĩ độ 20.17030, kinh độ 106.30064), Phú Thọ (vĩ độ 21.21780, kinh độ 105.33176), Điện Biên (vĩ độ 21.40620, kinh độ 102.99828) đã được khảo sát và thu mẫu. Tại mỗi địa điểm, việc thu và đo các chỉ tiêu nông học, hình thái trên 4 cây mẫu ở cùng một độ tuổi (3 năm tuổi) được thực hiện, từ tháng 6 đến tháng 12/2020.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp hình thái

Quan sát và mô tả hình thái cây dựa vào các phương pháp nghiên cứu thực vật của Trương Thị Đẹp (2017) có cải tiến, các bộ phận mô tả và đo đếm bao gồm rễ, thân, lá, hoa, quả và hạt.

Các chỉ thị hình thái bao gồm: Chiều cao thân cây được đo từ gốc đến đỉnh ngọn cao nhất, mỗi mẫu giống đo 4 cây, cách đo được trình bày ở Hình 1. Chiều dài và chiều rộng lá cũng được đo trên 4 lá lấy ở vị trí giữa tính từ lá ở góc lên đến lá ngọn trên cùng (do ở vị trí đó, lá đạt kích thước tiêu biểu cho giống), cách đo được trình bày ở Hình 2. Trong khi đó để đo chiều dài của rễ thì rễ được đào lên, rửa sạch đất và đo trên 4 cây cho mỗi giống như mô tả ở Hình 3. Kích thước hoa và quả được đo trên 4 cây ngẫu nhiên và được trình bày như ở Hình 4, và Hình 5.



Hình 1.
Chiều cao thân



Hình 2.
Kích thước lá



Hình 3.
Kích thước rễ



Hình 4.
Kích thước hoa



Hình 5.
Kích thước quả

2.2.2. Phương pháp phân tử

Mỗi mẫu loài *P. fruticosa* sau khi thu hái được đặt trong thùng đông lạnh mang về phòng thí nghiệm, chọn 3-5 lá

non còn tươi dùng cho việc tách chiết ADN. 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.

* Tách chiết tổng số và tinh sạch ADN

ADN toàn phần được tách chiết từ lá tươi theo quy trình ly trích bằng phương pháp CTAB có cải tiến (Doyle J.J., 1990).

Trước tiên cân 100 mg mẫu lá cây cho vào cối và nghiền mịn trong 1 mL dung dịch CTAB 2X đã được ủ ở 65 °C trong 15 phút. Cho mẫu đã được nghiền trong CTAB vào tuýp và cho thêm CTAB, chuẩn lên vạch 1,5 mL. Trộn đều và ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Sau khi ly tâm xong, rút lần lượt mỗi tuýp 1000 µL lớp dịch trong bên trên và cho vào tuýp mới. Sau đó thêm vào 10 µL β-mercaptoethanol/tuýp. Tiến hành ủ ở nhiệt độ 65 °C trong 60 phút (mỗi 10 phút trộn đều mẫu 1 lần). Tiếp theo cho thêm vào mỗi tuýp 500 µL chloroform, trộn đều và đem ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Hút 750 µL phần dung dịch bên trên cho vào tuýp mới, sau đó tiếp tục thêm vào 500 µL chloroform, trộn đều và ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Chuyển 550 µL dung dịch bên trên và cho vào tuýp mới, sau đó thêm 500 µL chloroform vào mỗi tuýp và ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Rút 350 µL lớp dịch bên trên cho vào tuýp mới, sau đó thêm 5 µL RNase vào mỗi tuýp, lắc đều và ủ mẫu ở nhiệt độ 37 °C trong 2 giờ. Sau 2 giờ ủ mẫu, tiếp tục thêm 300 µL CTAB 2X và 500 µL chloroform vào mỗi tuýp. Đem mẫu đi ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Tiếp theo rút mỗi tuýp 400 µL lớp dịch bên trên và cho

vào tuýp mới, đồng thời thêm 400 µL isopropanol (tỉ lệ 1:1), trộn đều và ủ lạnh ở nhiệt độ -20 °C trong 30 phút. Mẫu được ly tâm 13000 vòng trong phút, tiến hành đổ bỏ cẩn thận phần dung dịch bên trên, giữ lại phần kết tủa lắng tụ bên dưới. Thêm 500 µL ethanol 70% vào mỗi tuýp và ly tâm 13000 vòng trong 5 phút để rửa sạch mẫu, sau đó đổ bỏ phần còn và để lại kết tủa. Thêm tiếp tục 500 µL ethanol 70% vào mỗi tuýp để rửa sạch mẫu lần hai và ly tâm 13000 vòng trong 5 phút. Sau đó đổ bỏ phần còn và để lại kết tủa. Dùng micropipet hút sạch phần còn sót lại trong mỗi tuýp và đem mẫu đi phơi khô (phơi dưới quạt trần) trong 1 giờ. Cuối cùng thêm vào mỗi tuýp 30 µL TE (pH = 8,0) để hòa tan ADN và trữ lạnh ở nhiệt độ -20 °C.

* Khuếch đại ADN bằng phản ứng PCR

Trình tự đoạn môi dùng để khuếch đại ADN của vùng gen “*rbcL*” như sau:

- *rbcL* a-F: 5’-
ATGTCACCACAAACAGAGACTAA
AGC-3’ (Levin R.A., 2003) và

- *rbcL* a-R: 5’-
GTAAAATCAAGTCCACCRCG-3’
(Kress W.J, 2007)

Chu trình nhiệt cho một phản ứng PCR: thực hiện trong 35 chu kỳ gia nhiệt, bao gồm 5 phút ở 95 °C, 30 giây ở 95 °C, 30 giây ở 60 °C, 30 giây ở 72 °C, kéo dài chuỗi trong 5 phút ở 72 °C và sản phẩm được trữ ở 10 °C trong 20 phút.

* Điện di ADN trên gel agarose

ADN sau khi được ly trích và tinh sạch sẽ được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 1%. Sau khi điện di, gel được nhuộm bằng thuốc nhuộm redsafe (Biobasic, UK), và ghi nhận kết quả.

* Điện di sản phẩm PCR và giải trình tự

Điện di sản phẩm PCR rồi tinh sạch bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega). Dựa theo phương pháp Sanger, trình tự nucleotide của sản phẩm PCR được đọc trên hệ thống ABI (ABI, USA) tại Công ty Sinh hóa Phusa Biochem (Cần Thơ) (Sanger S., 1977).

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu hình thái, nông học được tính giá trị trung bình của 4 mẫu được chọn ngẫu nhiên cho mỗi mẫu thu thập, phần mềm MStatc 1.2 được dùng để phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định các trung bình của nghiệm thức. Trọng lượng phân tử của ADN vùng gen *rbcL* khuếch đại được tính toán bằng phần mềm Gel Analyzer. Kết quả giải trình tự được lưu trữ ở dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm BioEdit phiên bản cập nhật mới nhất 7.0.5 (Hall T.A., 1999). Sau đó dùng phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gene NCBI (National Center for Biotechnology Information) xác định loài. Trình tự còn được đăng ký trên ngân hàng gen NCBI bằng chương trình BankIt. Cây phả hệ (Phylogenetic tree) được vẽ bằng phần mềm Mega 7.0 theo phương pháp UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average)

nhằm xác định mối quan hệ di truyền giữa 10 mẫu loài Đinh lăng (*P. fruticosa*) đã được thu thập ở 10 tỉnh Việt Nam.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc tính hình thái và nông học

Đặc điểm nông học của các loài *P. fruticosa* ở 10 tỉnh trên khắp lãnh thổ Việt Nam được trình bày ở Bảng 1. Nhìn chung các đặc điểm này đều có giá trị thay đổi và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05. Chiều cao thân dao động từ 118,0 cm (Điện Biên) đến 131,6 cm (Cần Thơ). Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây (Võ Văn Chi, 2018; Trương Thị Đẹp, 2010).

Chiều dài trung bình lá biến thiên từ 5,9 cm (Điện Biên) đến 7,55 cm (Tp.HCM). Chiều rộng lá biến thiên từ 0,70 cm (Điện Biên) đến 2,05 cm (TP. HCM). Trong khi đó, chiều dài rễ trung bình ngắn nhất là 23,65 cm (Phú Thọ) và dài nhất 36,80 cm (Đồng Nai). Kết quả này phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây (Võ Văn Chi, 2018; Trương Thị Đẹp, 2010).

Đường kính hoa trung bình biến thiên từ 0,56 cm (Phú Thọ) đến 0,66 cm (Cần Thơ). Chiều dài của hoa trung bình biến thiên từ 0,34 cm (HCM) đến 1,42 cm (Thanh Hóa). Đường kính quả trung bình biến thiên từ 0,40 cm (Quảng Nam) đến 0,61 (Phú Thọ). Chiều dài của quả trung bình biến thiên từ 0,38 cm (Quảng Nam) đến 0,60 cm (Phú Thọ). Kết quả này phù hợp với các kết quả đã công bố trước đây (Võ Văn Chi, 2018; Trương Thị Đẹp, 2010).

Bảng 1. Đặc điểm nông học của mười mẫu giống Đinh lăng (đơn vị: cm)

Tỉnh/Địa điểm	Chiều cao thân	Chiều dài lá	Chiều rộng lá	Chiều dài Rễ	Đường kính hoa	Chiều dài Hoa	Đường kính Quả	Chiều dài Quả
1. Điện Biên	118,0 e	5,97 d	0,70 c	25,95 d	0,61 abc	0,40 ab	0,56 bc	0,55 bc
2. Phú Thọ	119,6 e	6,35 c	0,71 c	23,65 d	0,56 c	0,41 ab	0,61 a	0,60 a
3. Nam Định	121,8 d	6,65 c	0,86 bc	29,25 c	0,64 ab	0,37 bcd	0,53 cd	0,52 cd
4. Thanh Hóa	126,6 c	6,65 c	1,00 bc	32,25 bc	0,60 abc	0,42 a	0,43 e	0,41 e
5. Quảng Nam	126,9 c	7,10 b	1,24 b	25,35 d	0,63 abc	0,39 abc	0,40 e	0,38 e
6. Gia Lai	127,6 bc	7,26 ab	1,86 a	25,35 d	0,57 bc	0,35 cd	0,58 ab	0,56 abc
7. TP. HCM	129,6 ab	7,55 a	2,05 a	30,30 c	0,63 abc	0,34 d	0,55 bcd	0,53 cd
8. Đồng Nai	129,9 a	7,30 ab	1,71 a	36,80 a	0,62 abc	0,37 bcd	0,51 d	0,49 d
9. Cần Thơ	131,6 a	7,45 ab	1,79 a	34,25 ab	0,66 a	0,35 d	0,60 a	0,59 ab
10. An Giang	130,5 a	7,49 a	1,87 a	30,40 c	0,64 ab	0,39 abc	0,57 abc	0,56 abc
F	26,610**	12,791**	12,196**	14,739**	0,800*	3,000*	23,750**	25,000**
CV%	1,37	4,39	22,01	7,78	9,18	9,14	5,41	5,64

Ghi chú: Các số có cùng chữ trong một cột khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 0,05.

3.2. Kết quả so sánh trình tự vùng gen *rbcL* và mối quan hệ di truyền giữa 10 mẫu giống

Sản phẩm khuếch đại vùng gen *rbcL* ở 10 mẫu giống Đinh lăng đều cho kích thước khoảng 600 bp. Khi so sánh trình tự của 10 mẫu giống Đinh lăng ở vùng

gen *rbcL* với trình tự gen mẫu gốc trên ngân hàng gen NCBI, kết quả cho thấy trình tự của 10 mẫu giống sau khi BLAST đều đạt mức tương đồng cao khoảng 99,81-100% so với trình tự của loài *Polyscias fruticosa*.

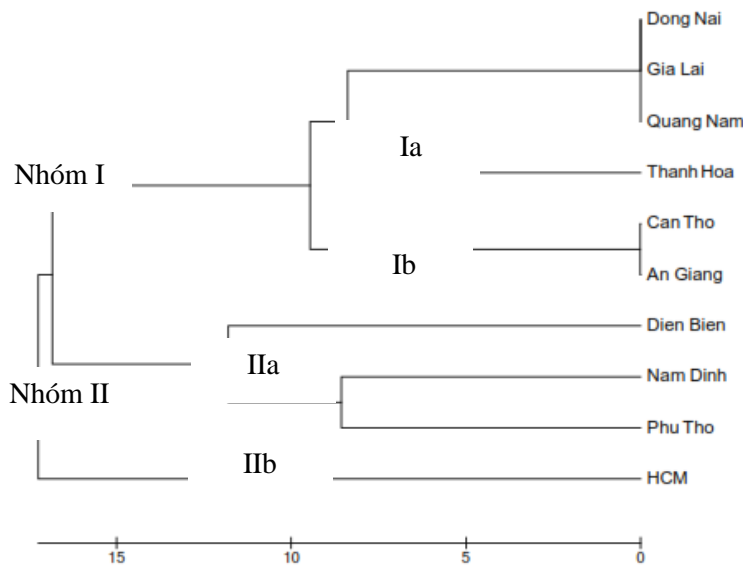
Bảng 2. Khoảng cách di truyền giữa 10 giống Đinh lăng

Tỉnh/giống	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. Cần Thơ	1									
2. Điện Biên	36,300	2								
3. Đồng Nai	19,228	39,409	3							
4. Gia Lai	19,228	39,409	0,000	4						
5. TP. HCM	23,847	38,891	40,111	40,111	5					
6. Nam Định	36,265	25,316	25,110	25,110	36,603	6				
7. Phú Thọ	33,097	21,895	32,582	32,582	25,961	17,124	7			
8. Quảng Nam	19,219	39,409	0,002	0,002	40,111	25,110	32,582	8		
9. Thanh Hóa	16,548	38,512	16,765	16,765	41,822	37,972	36,265	16,756	9	
10. An Giang	0,021	34,893	19,508	19,508	22,813	33,835	27,521	19,499	18,590	10

Kết quả phân tích di truyền của 10 trình tự giống cây Đinh lăng được trình bày trong Bảng 2. Kết quả này cho thấy các mẫu từ Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam và Thanh Hóa là gần giống di truyền (Tiểu nhóm Ia); tương tự, mẫu Cần Thơ và An Giang thuộc phân nhóm Ib. Nam Định và Phú Thọ nằm trong nhóm IIb và Điện Biên thuộc nhóm IIa. Trong khi đó, mẫu HCM khá khác biệt với hai nhóm.

Qua khảo sát mối quan hệ di truyền dựa vào trình tự vùng gen *rbcL* của 10 mẫu giống được trình bày ở Hình 6, kết

quả cho thấy 10 mẫu giống có thể chỉ làm 2 nhóm lớn: Nhóm I bao gồm 6 mẫu giống có từ các tỉnh Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam (phụ nhóm Ia), Cần Thơ, Thanh Hóa, An Giang (phụ nhóm Ib); nhóm II bao gồm các mẫu đến từ các tỉnh Nam Định, Điện Biên, Phú Thọ (phụ nhóm II) và mẫu thuộc Tp. Hồ Chí Minh, điều này cho thấy các điều kiện sinh thái nơi Đinh lăng được trồng và phát triển giống nhau thì vùng gen *rbcL* của mẫu giống đó có mức độ tương đồng cao.



Hình 6. Mối quan hệ di truyền của 10 mẫu giống Đinh Lăng dựa vào trình tự vùng gen “*rbcL*”

4. THẢO LUẬN

Về đặc điểm hình thái và nông học có khác nhau giữa các mẫu giống thu mẫu tại những vùng sinh thái khác nhau trên cả nước. Trong kết quả nghiên cứu đã mô tả kỹ hơn về hình dáng, kích thước của lá, chụm hoa, nhị, nhụy, quả

như đã mô tả ở phần kết quả. Qua đó cho thấy điều kiện sinh thái môi trường cũng tác động ít nhiều đến sự biểu hiện kiểu hình của các mẫu giống Đinh lăng nơi chúng sinh trưởng và phát triển. Những đặc điểm hình thái đã được chụp

chi tiết, cẩn thận để làm minh chứng trong phạm vi nghiên cứu này.

Chỉ tiêu chiều rộng lá cho thấy có sự biến động lớn, điều này cho thấy chỉ tiêu này nhạy cảm với điều kiện môi trường cây sinh trưởng và phát triển. Có thể thấy lá là bộ phận quan trọng của cây giúp cây quang hợp tốt, vì vậy khi điều kiện môi trường thuận lợi chiều rộng lá phát triển tối đa, trong đó ở TP. Hồ Chí Minh và Cần Thơ chiều rộng lá tốt nhất. Còn đường kính hoa tuy có thay đổi nhưng không nhiều giữa các vùng sinh thái khác nhau. Qua đó, cho thấy để cải thiện giống đạt năng suất cao ngoài yếu tố giống còn có thể tác động bởi kỹ thuật trồng như bón phân, cắt tỉa...

Kết quả giải trình tự vùng gen *rbcL*, cho thấy kết quả tương đồng rất cao so với mẫu chuẩn (Cần Thơ 100%, TP. Hồ Chí Minh 100%, Đồng Nai 100%, Gia Lai 100%, Quảng Nam 100%, Thanh Hóa 99,81%, Nam Định 100%, Phú Thọ 99,81% và Điện Biên 99,81%). Chứng tỏ các mẫu thu được cùng loài *P. fruticosa*, chỉ khác nhau về hình thái nông học, nhưng khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu. Đây là cơ sở cho việc hỗ trợ định danh và kiểm nghiệm dược liệu. Điều này phù hợp với tác giả nghiên cứu trước (Võ Văn Chi, 2018; Trương Thị Đẹp, 2010). Giữa các mẫu giống cũng cho thấy có sự khác biệt với 2 nhóm rõ rệt.

5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Kết quả bước đầu cho thấy giống Đinh lăng tuy thu thập từ 10 vùng khác nhau, nhưng các mẫu cho thấy cùng chung một loài là *Polyscias fruticosa*

dựa vào trình tự vùng gen *rbcL*. Các chỉ tiêu nông học không khác biệt nhiều ngoại trừ chiều rộng lá.

Về mặt di truyền, khi so sánh vùng trình tự *rbcL* của 10 mẫu Đinh lăng, kết quả cho thấy các giống có thể chia làm 2 nhóm lớn: Nhóm I bao gồm mẫu giống có từ các tỉnh Đồng Nai, Gia Lai, Quảng Nam (phụ nhóm Ia), Cần Thơ, Thanh Hóa, An Giang (phụ nhóm Ib); nhóm II bao gồm các mẫu đến từ các tỉnh Nam Định, Điện Biên, Phú Thọ (phụ nhóm II) và mẫu thuộc TP. Hồ Chí Minh.

Cần tiến hành nghiên cứu thêm các giống Đinh lăng, cũng như khảo sát trình tự ở những vùng gen khác trong khắp bộ gen của loài để có kết luận chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Asif H., Khan A., Iqbal A., Khan I.A., Heinze B., and Azim M.K., 2013. The chloroplast genome sequence of *Syzygium cumini* (L.) and its relationship with other angiosperms Tree Genetics & Genomes. (9). Pp. 867-877.
2. Chase M.W., Soltis D.E., Olmstead R.G., Morgan D., Les D.H., Mishler B.D., Duvall M.R., Price R.A., Hills H.G., Qiu Y.L., Kron K.A., Rettig J.H., Conti E., Palmer J.D., Manhart J.R., Sytsma K.J., Michaels H.J., Kress W.J., Karol K.G., Clark W.D., Hedren M., Gaut B.S., Jansen R.K., Kim K.J., Wimpee C.F., Smith J.F., Furnier G.R., Strauss S.H., Xiang Q.Y., Plunkett G.M., Soltis P.S., Swensen S.M., Williams S.E., Gadek P.A., Quinn C.J., Eguiarte L.E., Golenberg E., Learn

G.H., Graham S.W., Barrett S.C.H., Dayanandan S., and Albert V.A., 1993. Phylogenetics of Seed Plants: An Analysis of Nucleotide Sequences from the Plastid Gene *rbcL* Annals, Annals of the Missouri Botanical Garden. 80 (3). Pp. 528-580.

3. Đỗ Tất Lợi, 2013. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Hồng Đức - Hà Nội. Tr. 828-830.

4. Doyle J.J., Doyle J.L., 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. Focu. 12(6). Pp. 13-15.

5. Duvall M.R., Clegg M.T., Chase M.W., Clark W.D., Kress W.J., Hills H.G., Eguiarte L.E., Smith J.F., Gaut B.S., Zimmer E.A., and Learn G.H., 1993. Phylogenetic Hypotheses for the Monocotyledons Constructed from *rbcL* Sequence Data, Annals of the Missouri Botanical Garden. 80 (3). Pp. 607-619.

6. Freeman S., 2008. Biological Science. San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings.

7. Gielly L., and Taberlet P., 1994. The Use of Chloroplast DNA to Resolve Plant Phylogenies: Noncoding versus RbcL Sequences. Mol Biol Evol. 11(5). Pp. 769-777.

8. Hall T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, Nucleic Acids Symposium Series. 41. Pp. 95-98.

9. Hasebe M., Omori T., Nakazawa M., Sano T., Kato M., and Iwatsuki K., 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of

leptosporangiate ferns, Proceedings of the National Academy of Sciences. 91. Pp. 5730-5734.

10. Kress W.J, Erickson D.L., 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* a gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. PLoS One. 6. Pp. 1-10.

11. Les D.H., Garvin D.K. and Wimpee C.F., 1991. Molecular evolutionary history of ancient aquatic angiosperms, Proceedings of the National Academy of Sciences. 88(22). Pp. 10119-10123.

12. Levin R.A., Wagner W.L., Hoch P.C., Nepokroeff M, Pires J.C, Zimmer E.A, Sytsma K.J., 2003. Family-level relationships of Onagraceae based on chloroplast *rbcLa* and *ndhF* data. American Journal of Botany. 90. Pp. 107-115.

13. Newmaster S.G., Fazekas A.J., and Ragupathy S., 2006. DNA barcoding in land plants: evaluation of *rbcL* in a multigene tiered approach, Canadian Journal of Botany. 84(3). Pp. 335-341.

14. Sanger S., Nicklen S., and Coulson A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA. 74 (12). Pp. 5463–5467.

15. Tamarin, R.H., 2001. Principles of Genetics. Massachusetts: The McGraw-Hill Companies. The McGraw–Hill Companies.

16. Trương Thị Đẹp, 2010. <http://uphcm.edu.vn/caythuoc/index.php>

?q=book/export/html/314. (Truy cập 01/01/2021).

17. Trương Thị Đẹp, 2017. Thực Vật Dược. NXB Đại học Cần Thơ.

18. Võ Văn Chi, 2018. Từ điển cây thuốc Việt Nam, tập 1. NXB Y Học, Hà Nội. tr.828-829.

GENETIC RELATIONSHIP OF DIFFERENT *Polyscias fruticosa* (L.) HARMS CULTIVARS IN VIETNAM BASED ON MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND SEQUENCES OF “*rbcL*” GENE

Do Van Mai^{1*}, Thieu Van Duong¹, Truong Trong Ngon² and Tran Cong Luan¹
¹Tay Do University, ²Can Tho University
 (*Email: dvmai@tdu.edu.vn)

ABSTRACT

Dinh lang (Polyscias fruticosa (L.) Harms) is a popular ornamental plant in Vietnam. Dinh lang has been recognized in the Pharmacopoeia of Vietnam and has long been used in Oriental medicine, also called as "Ginseng of the poor". Although Dinh lang is considered as a medicinal plant in our country, the genetic study of this crop is still not considered. The objective of this study was to evaluate the genetic characteristics of Dinh lang varieties collected in ten provinces in Vietnam based on morphological characteristics and Single Nucleotide Polymorphism (SNP) marker in the rbcL gene region. The results showed that there is a difference among phenotypes of varieties collected from different regions due to environmental and cultivation conditions. For genotypes, most varieties of Dinh lang belong to the species Polyscias fruticosa (L.) Harms as compared with the rbcL sequences on NCBI. Based on phylogenetic tree, 10 samples of Dinh lang varieties can be divided into two groups: Group I involves samples from Dong Nai, Gia Lai, Quang Nam (sub-group Ia), Can Tho, Thanh Hoa, An Giang (sub-group Ib); Group II includes samples from Nam Dinh (sub-group IIa), Dien Bien, Phu Tho (sub-group IIb) and samples from Ho Chi Minh city.

Keywords: *Polyscias fruticosa (L.) Harms, Phylogenetic tree, rbcL gene*