

Nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống hoa Hồng (*Rosa* spp.) Sa Đéc, Đồng Tháp bằng kỹ thuật PCR-RAPD

Nguyễn Thị Kim Anh^{1,2}, Lê Anh Tuấn^{1,2}, Cao Hữu Dụng³, Phan Ngô Hoang^{1,2,*}

¹Khoa Sinh học – Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Việt Nam

²Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Công ty TNHH DTC Phù Sa, Sa Đéc, Đồng Tháp

Liên hệ

Phan Ngô Hoang, Khoa Sinh học – Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Việt Nam

Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: pnhoang@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 03-07-2023
- Ngày chấp nhận: 23-5-2024
- Ngày đăng: 30-6-2024

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v8i2.1296>



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



TÓM TẮT

Hoa Hồng (*Rosa* spp.) là một loại hoa kiểng có giá trị kinh tế cao, đa dạng về hình thái, màu sắc hoa. Cây hoa Hồng được sử dụng nhiều ở Việt Nam trong lĩnh vực trang trí, công nghệ dược phẩm, mỹ phẩm... Đặc biệt tại làng hoa Sa Đéc (tỉnh Đồng Tháp), cây hoa Hồng đóng một vai trò quan trọng trong sự phát triển kinh tế nông nghiệp tại địa phương. Do đó, các kỹ thuật trồng và phát triển giống hoa Hồng mới ngày càng được quan tâm cải tiến theo hướng tăng cường bộ sưu tập giống trồng, đa dạng về chủng loại, dạng thể, phương thức bảo quản và hiệu quả kinh tế. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật PCR-RAPD được áp dụng trên 18 giống hoa Hồng Sa Đéc, kết quả phân tích ghi nhận được tổng cộng 66 băng điện di, với số lượng băng đa hình đạt 87,88% và 12,12% băng đơn hình. Thông qua sơ đồ phả hệ các giống hoa Hồng được chia thành 2 nhóm chính, với nhiều phân nhóm nhỏ. Sự tương quan giữa những khác biệt di truyền trong bộ gen và một số chỉ thị hình thái học cũng được phân tích và thảo luận. Những kết quả này là cơ sở ban đầu trong việc tìm hiểu mối quan hệ di truyền giữa 18 giống hoa Hồng tại làng hoa Sa Đéc, tiền đề trong công tác sưu tập, bảo tồn và phát triển nguồn giống, cũng như chọn lọc và thiết kế các cặp lai tiềm năng trong lai tạo các giống hoa Hồng mới tại làng hoa Sa Đéc.

Từ khoá: chỉ thị hình thái học, đa dạng di truyền, hoa Hồng, kỹ thuật PCR-RAPD

MỞ ĐẦU

Hoa Hồng thuộc chi *Rosa* (họ Rosaceae) là một loại hoa kiểng với hoa đẹp, đa dạng về màu sắc, hình thái hoa và hương thơm, được khai thác chủ yếu dưới dạng cắt cành hoặc cây trồng chậu¹. Cây thuộc nhóm thân gỗ, bụi thấp hoặc dạng thân leo lâu năm, thân cây có nhiều cành và gai dạng cong. Ngày nay, việc sưu tập, tuyển chọn, lai tạo, cũng như áp dụng các phương pháp cải tiến và phát triển công nghệ trồng trọt đã giúp nguồn giống trồng cây hoa Hồng khá đa dạng chủng loại. Hơn thế nữa, cây hoa Hồng cũng dần dần được xem như một loại cây công nghiệp và ngày càng được quan tâm đầu tư phát triển nhằm đáp ứng nhu cầu công nghệ dược phẩm, mỹ phẩm bên cạnh khai thác phục vụ trang trí².

Nguồn gốc cây hoa Hồng được biết từ những cây hoa hoang dại từ hàng ngàn năm trước với khoảng 200 loài hoang dại trên thế giới, các giống hoa Hồng phổ biến ngày nay là kết quả của sự lai tạo giữa các giống hoa Hồng từ Trung Quốc, Châu Âu và Trung Đông³. Hiện nay, nước ta có rất nhiều giống hoa Hồng bản địa hoặc du nhập từ rất lâu và dần dần đã thuần hóa, thích nghi với điều kiện khí hậu Việt Nam. Từ xưa, hoa Hồng chủ yếu được trồng và phát triển tốt ở các vùng có khí hậu với nhiệt độ thấp như Đà Lạt, Hà Nội, Sa Pa, Lai Châu,... Gần đây việc trồng hoa Hồng

ngày càng phổ biến và mở rộng, đóng một vai trò quan trọng trong kinh tế nông nghiệp địa phương, trong đó làng hoa Sa Đéc (tỉnh Đồng Tháp) là một trong những địa phương có nhiều đầu tư và cũng đã đạt được một số kết quả quan trọng trong công tác phát triển cây hoa Hồng. Việc phân loại cây hoa Hồng còn khá nhiều tranh luận trong nhiều thập kỷ qua và phụ thuộc vào quan điểm của các nhà phân loại học thực vật. Nhiều tác giả Châu Âu đã cố gắng xây dựng khóa phân loại cho cây hoa Hồng dựa trên hình thái học, tuy nhiên có nhiều yếu tố ảnh hưởng như: sự khác biệt hình thái do thích nghi với môi trường, hạn chế khu vực và số lượng mẫu. Do đó, cho đến nay vẫn chưa có khóa phân loại thống nhất cho cây hoa Hồng⁴. Công tác đăng ký và bảo vệ bản quyền giống cây hoa Hồng thường được thực hiện dựa trên đặc điểm hình thái và một số đặc tính sinh lý theo quy tắc của Liên minh Quốc tế về bảo hộ giống cây trồng mới⁵. Tuy nhiên, các đặc tính chuẩn hóa của UPOV có thể sẽ thiếu chuẩn xác khi số lượng các giống hoa Hồng ngày càng gia tăng và sự phân biệt kiểu hình giữa các giống ngày càng trở nên khó khăn⁶.

Trong phân tích đa dạng di truyền ở thực vật với các chỉ thị phân tử như ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)... ngày càng được sử dụng phổ biến, từ

Trích dẫn bài báo này: Anh N T K, Tuấn L A, Dụng C H, Hoang P N. **Nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống hoa Hồng (*Rosa* spp.) Sa Đéc, Đồng Tháp bằng kỹ thuật PCR-RAPD.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2024; 8(2):2920-2930.

những lợi thế rõ ràng của phương pháp so với sử dụng hình thái học truyền thống vì chúng gắn liền với vật chất di truyền, ổn định qua các giai đoạn phát triển của thực vật, ít bị ảnh hưởng bởi yếu tố môi trường⁷. Trong đó, RAPD là kỹ thuật nhân bản DNA hệ gen bằng phản ứng PCR với các môi ngẫu nhiên để đánh giá sự đa hình DNA do sự tái sắp xếp hoặc mất nucleotide ở vị trí bắt mối⁸. PCR-RAPD đã được sử dụng nhằm mục đích xác định mối quan hệ di truyền giữa các giống trồng trong cùng loài với số lượng bằng đa hình cao, kết quả đáng tin và có thể ứng dụng cho các loài khác nhau với các môi chung để thực hiện mà không cần biết trước thông tin DNA⁹. Trên thế giới, PCR-RAPD được áp dụng từ rất sớm như chỉ thị phân tử để xác định đa dạng di truyền và phân loại ở cây hoa Hồng¹⁰⁻¹², các giống hoa Hồng cắt cành^{13,14}, cũng như nghiên cứu đa dạng di truyền của các phân loài hoa Hồng bản địa ở Iran¹⁵, quần thể hoa Hồng thơm *Pelargonium*¹⁶, giữa các loài hoa Hồng hoang dại (*Rosa L. spp.*)¹⁷. Tuy nhiên, tại Việt Nam các nghiên cứu về giống và phân tích mối quan hệ di truyền của các giống hoa Hồng còn ít, đặc biệt là khu vực miền Nam. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của một số giống hoa Hồng (*Rosa spp.*) ở làng hoa Sa Đéc dựa trên một số biểu hiện hình thái và chỉ thị phân tử PCR-RAPD.

VẬT LIỆU PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Sử dụng 18 giống hoa Hồng (*Rosa spp.*) được cung cấp từ vườn sưu tập Công ty TNHH DTC Phù Sa, làng hoa Sa Đéc (phường Tân Quy Đông, thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp) và được trồng trong chậu tại vườn thực nghiệm Sinh lý thực vật, Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM (Bảng 1).

Phân tích hình thái

Các đặc điểm hình thái gồm dạng thân, phiến lá, kiểu dạng hoa, đường kính hoa (chiều ngang lớn nhất khi hoa nở hoàn toàn) của 18 giống hoa Hồng được chụp ảnh và phân tích¹⁸. Mỗi phân tích được thực hiện lặp lại trên 5 mẫu cây hoa Hồng.

Tách chiết DNA bộ gen

Các mẫu lá hoa Hồng được cô lập và bảo quản ở 4°C, DNA của mẫu lá được tách chiết bộ gen bằng bộ tách chiết DNA thực vật i-genomic (iNtRON Biotechnology, Korea). DNA bộ gen được kiểm tra tính nguyên vẹn thông qua điện di trên gel agarose; hàm lượng, độ tinh sạch DNA được xác định bằng cách đo OD, sau

Bảng 1: Tên và kí hiệu của 18 giống hoa Hồng ở Sa Đéc

STT	Tên giống	Kí hiệu
1	Hồng Ba Màu	HBMA
2	Hồng Chùm Sơn	HCSO
3	Hồng Dại	HDAI
4	Hồng Lửa	HLUA
5	Hồng Nhung	HNHU
6	Hồng Nữ Hoàng	HNHO
7	Hồng Nữ Hoàng Xanh	HNHX
8	Hồng Pháp	HPHB
9	Hồng Pháp Leo	HPLE
10	Hồng Thái	HTHA
11	Hồng Tiểu Muội Đỏ	HTMD
12	Hồng Tiểu Muội Hồng	HTMH
13	Hồng Tiểu Muội Nhung	HTMN
14	Hồng Tiểu Muội Trắng	HTMT
15	Hồng Trứng Đỏ	HTDO
16	Hồng Trứng Vàng	HTVA
17	Hồng Tường Vy	HTVY
18	Hồng Vàng	HVAN

đó các mẫu DNA được pha loãng về cùng một nồng độ 100 ng/ μ l và bảo quản ở 20°C để thực hiện phản ứng PCR-RAPD.

Phân tích đa dạng di truyền giữa 18 giống trồng hoa Hồng bằng kỹ thuật PCR-RAPD

Sử dụng 10 môi ngẫu nhiên được lựa chọn để thực hiện phản ứng PCR-RAPD nhằm phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu hoa Hồng (Bảng 2). Phản ứng khuếch đại thực hiện với thể tích phản ứng 25 μ L: 2 μ L mỗi (0,8 ng/ μ L), 12,5 μ L toptaq master mix kit, 1 μ L (100 ng/ μ L) DNA bộ gen, 9,5 μ L nước. Thực hiện phản ứng PCR với chu kỳ nhiệt: 94°C (3 phút), 40 chu kỳ tiếp theo: 94°C (30 giây), 34°C (30 giây), 72°C (1 phút) và sau cùng 72°C (10 phút); sản phẩm PCR được nhận dạng bằng điện di trên gel agarose sau khi nhuộm ethidium bromide, với hiện diện của thang DNA 100 bp, dưới nguồn sáng tử ngoại.

Phân tích kết quả gel điện di và xử lý thống kê

Kết quả điện di sản phẩm PCR- RAPD với các môi ngẫu nhiên được sử dụng để xác định các phân đoạn DNA đa hình và đơn hình dựa trên sự xuất hiện của

Bảng 2: Trình tự mỗi ngẫu nhiên được sử dụng cho phân tích PCR-RAPD

STT	Mỗi	Trình tự (5'-3')	Tài liệu tham khảo
1	RAPD-1	CTGCTTCGAG	Panwar và cộng sự, 2015 ¹²
2	RAPD-10	TGCCGAGCTG	
3	RAPD-13	CCAGTCCCAA	
4	RAPD-20	AGCCCCAAG	
5	RAPD-21	CTGCCACGAG	
6	RAPD-24	TTTGGGCCCC	
7	RAPD-26	TGCCGAGCTG	
8	RAPD-7	AGCGCCATTG	Mohapatra và Rout, 2006 ¹⁹
9	RAPD-14	CCCGTTGCCT	Henuka và cộng sự, 2015 ²⁰
10	RAPD-4	AGGTGACCGT	Debener và cộng sự, 1996; Riaz và cộng sự, 2011; Panwar và cộng sự, 2015 ^{12,21,22}

các băng điện di giữa các mẫu nghiên cứu. Các băng xuất hiện trên băng điện di được ghi nhận là 1, không xuất hiện là 0 và lập bảng mã hóa nhị phân cho toàn bộ 18 giống hoa Hồng, với 10 primer.

Bảng mã hóa nhị phân được sử dụng để xây dựng ma trận hệ số tương đồng Jaccard bằng phần mềm NTSYS-pc phiên bản 2.1, chức năng SIMQUAL²³. Sơ đồ cây phả hệ (dendrogram) được xây dựng theo phương pháp UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Averages) bằng phần mềm R, phiên bản 4.12 với các gói thư viện “vegan” và “phangorn”. Phân tích tọa độ chính (PCoA) được biểu diễn bằng phần mềm GenALEx phiên bản 6.5²⁴.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đặc điểm hình thái một số giống hoa Hồng Sa Đéc

Sự đa dạng ở cây hoa Hồng được đánh giá dựa trên hình dáng cây, màu sắc và kích thước hoa¹⁸. Trong nghiên cứu này, 18 mẫu hoa Hồng khảo sát ghi nhận 2 dạng hình thái hoa gồm 12 mẫu dạng hoa cụm (mang từ 2 đến 5 hoa trên cùng 1 trục mang hoa) và 6 mẫu có dạng hoa đơn (chỉ mang 1 hoa trên 1 trục mang hoa) (Bảng 3, Hình 1). Đối với những mẫu hoa Hồng mang cụm hoa, thường đi kèm là kích thước hoa nhỏ, không vượt quá 5 cm; những mẫu hoa Hồng mang hoa đơn có kích thước hoa thường lớn hơn 5 cm. Bên cạnh đó, kiểu dáng thân và đặc điểm của lá cũng được sử dụng trong phân loại các giống hoa Hồng¹⁸. Trong tự nhiên, hoa Hồng có các dạng thân như: thân bụi, thân gỗ và thân leo. Các mẫu hoa Hồng Sa Đéc thuộc hai dạng gồm thân leo với 3 mẫu (hồng Đại, hồng

Pháp Leo và hồng Tường Vy), và 15 mẫu còn lại thuộc nhóm thân bụi. Tất cả 18 mẫu hoa Hồng đều mang dạng lá kép lông chim mọc cách, hình dạng lá thuôn dài, lá kép mang từ ba đến bảy lá chét. Khi phân tích bề mặt phiến lá, thu được kết quả: bề mặt phiến lá nhẵn (ở cả 2 mặt của phiến lá) được tìm thấy ở 17 mẫu hoa Hồng, chỉ riêng mẫu hoa Hồng Đại là mẫu luôn luôn mang 7 lá chét trên 1 lá kép và bề mặt phiến lá có sự hiện diện nhiều lông tơ ở cả hai bề mặt phiến lá (Bảng 3, Hình 2).

Kết quả tách chiết DNA bộ gen

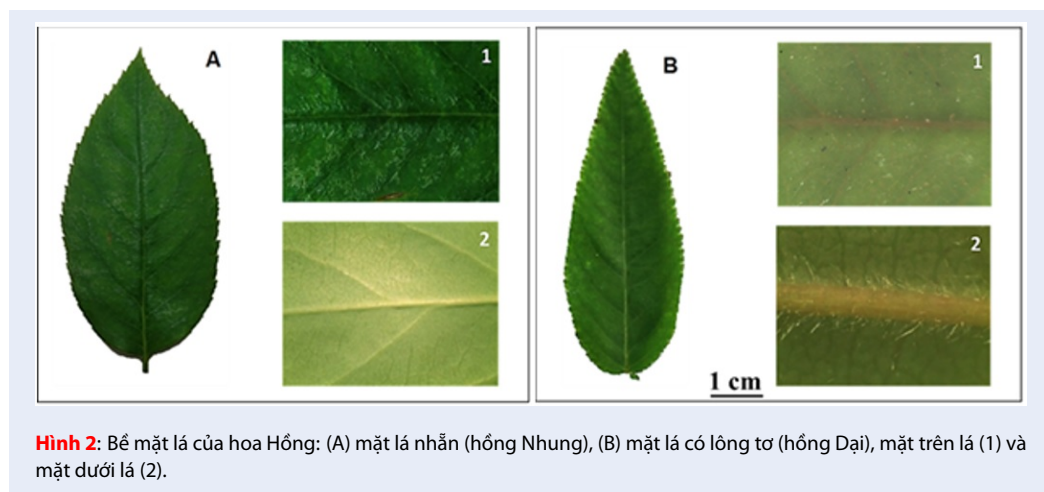
DNA của 18 giống hoa Hồng thu được có nồng độ từ 111 ng/μL đến 247 ng/μL và tỉ lệ OD₂₆₀/OD₂₈₀ từ 1,73 đến 1,88. Kết quả tách chiết cho thấy mẫu DNA thu được rất ít bị nhiễm protein và các đại phân tử khác. Sự hiện diện của các dải băng DNA tách biệt trên bản điện di phản ánh mức độ tinh khiết của bộ gen được phân lập và nguồn DNA này có thể sẵn sàng cho các phản ứng PCR (Hình 3). Nồng độ, độ tinh sạch của mẫu DNA thu được tương tự như các nghiên cứu trước trên cây hoa Hồng và phù hợp để thực hiện các phản ứng PCR-RAPD^{10,12,13,15} (Bảng 4).

Phân tích đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị PCR-RAPD

Các nghiên cứu về đa hình DNA có ý nghĩa rất quan trọng trong công tác nhân giống cây trồng vì chúng mang lại cái nhìn sâu sắc hơn về sự đa dạng di truyền²⁵. Kết quả phân tích điện di sản phẩm DNA từ PCR-RAPD của 18 mẫu hoa Hồng ghi nhận cả 10 môi RAPD đều cho các băng đa hình, tổng cộng có 66 băng điện di, trong đó có 58 băng đa hình, đạt 87,88% và 8



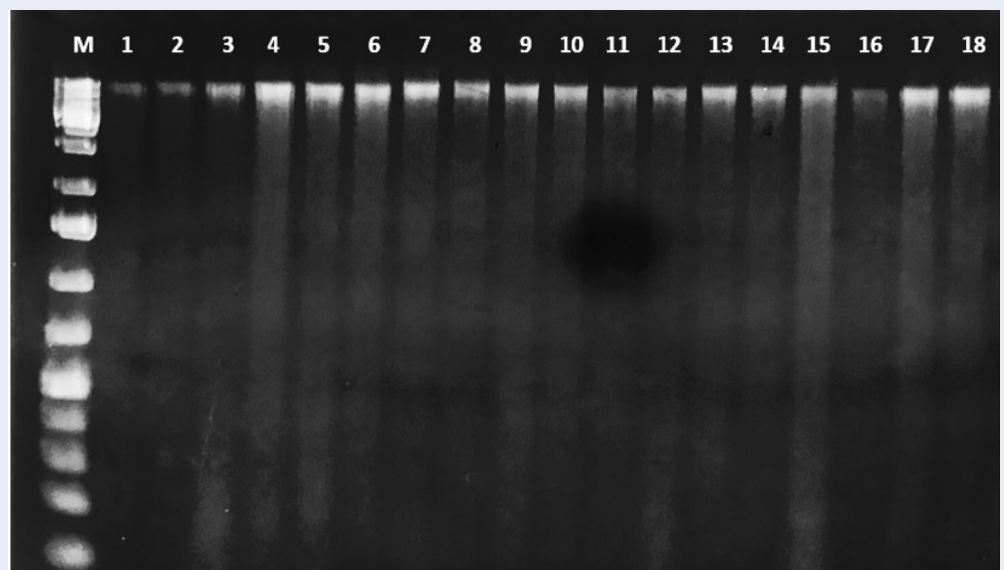
Hình 1: Các dạng hoa trên cùng một chủng ở hoa Hồng: (A) hoa đơn (hồng Lửa), (B) cụm hoa (hồng Chùm Sơn).



Hình 2: Bề mặt lá của hoa Hồng: (A) mặt lá nhẵn (hồng Nhung), (B) mặt lá có lông tơ (hồng Dại), mặt trên lá (1) và mặt dưới lá (2).

Bảng 3: Một số đặc tính hình thái của 18 mẫu hoa Hồng Sa Đéc

STT	Tên giống	Kiểu thân		Phiến lá		Dạng hoa		Đường kính hoa	
		Leo	Bụi	Nhẵn	Lông tơ	Đơn	Cụm	Lớn	Nhỏ
1	Hồng Ba Màu		X	X			X		X
2	Hồng Chùm Sơn		X	X			X		X
3	Hồng Đại	X			X				
4	Hồng Lửa		X	X		X		X	
5	Hồng Nhung		X	X		X		X	
6	Hồng Nữ Hoàng		X	X		X		X	
7	Hồng Nữ Hoàng Xanh		X	X		X		X	
8	Hồng Pháp		X	X			X		X
9	Hồng Pháp Leo	X		X			X	X	
10	Hồng Thái		X	X		X		X	
11	Hồng Tiểu Muội Đỏ		X	X			X		X
12	Hồng Tiểu Muội Hồng		X	X			X		X
13	Hồng Tiểu Muội Nhung		X	X			X		X
14	Hồng Tiểu Muội Trắng		X	X			X		X
15	Hồng Trứng Đỏ		X	X			X		X
16	Hồng Trứng Vàng		X	X			X		X
17	Hồng Tường Vy	X		X			X	X	
18	Hồng Vàng		X	X		X		X	



Hình 3: Điện di đồ phân tích DNA hệ gen. M: thang chuẩn DNA 1 kb; 1-18: Các mẫu DNA tổng số tách từ lá cây hoa Hồng, theo thứ tự mẫu nghiên cứu.

Bảng 4: Nồng độ và chất lượng DNA trích từ lá của 18 giống hoa Hồng

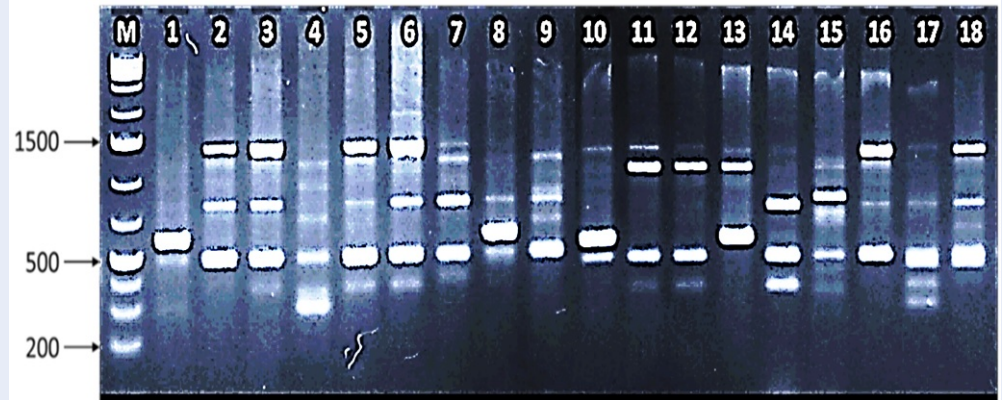
TT	Tên giống	OD 260/280	Nồng độ DNA (ng/ μ L)
1	Hồng Ba Màu	1,73	122
2	Hồng Chùm Sơn	1,85	161
3	Hồng Đại	1,84	193
4	Hồng Lửa	1,76	142
5	Hồng Nhung	1,76	163
6	Hồng Nữ Hoàng	1,75	222
7	Hồng Nữ Hoàng Xanh	1,85	178
8	Hồng Pháp	1,76	112
9	Hồng Pháp Leo	1,85	133
10	Hồng Thái	1,88	182
11	Hồng Tiểu Muội Đỏ	1,75	111
12	Hồng Tiểu Muội Đỏ Nhung	1,87	134
13	Hồng Tiểu Muội Hồng	1,79	125
14	Hồng Tiểu Muội Trắng	1,76	127
15	Hồng Tiểu Muội Vàng	1,75	127
16	Hồng Trứng Đỏ	1,78	155
17	Hồng Tường Vy	1,83	247
18	Hồng Vàng	1,85	118

bằng đơn hình, đạt 12,12%. Số lượng băng trên từng kiểu gen biến thiên từ 5 băng (mỗi RAPD-1 và RAPD-4), và mỗi cho nhiều băng nhất là 8 băng (RAPD-14), số lượng băng trung bình trên mỗi kiểu gen là 6,6. Kích thước băng lớn nhất khoảng 2000 bp và nhỏ nhất khoảng 200 bp (Hình 4).

Phân tích hệ số tương đồng Jaccard của 18 mẫu khảo nghiệm ghi nhận hệ số này nằm trong khoảng từ 0,28 đến 0,72 hay nói cách khác sự khác biệt di truyền giữa các giống hoa Hồng trong khoảng 28 - 72 % (Bảng 5). Phương pháp UPGMA được sử dụng để phân nhóm các giống hoa Hồng theo sự tương quan di truyền giữa các giống với nhau. Phân tích sơ đồ cây phả hệ, 18 giống hoa Hồng tại Sa Đéc trong nghiên cứu này được phân chia làm 2 nhóm, trong đó chỉ Hồng Trứng Vàng (HTVA) ở nhóm I có bộ gen khác biệt với 17 giống còn lại trong nghiên cứu này (nhóm II). Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng các chỉ thị phân tử trong việc xác định giống bản địa hoặc nguồn gen lạ du nhập vào địa phương và được bảo tồn cho đến thời điểm này.

Nhóm II được chia thành 2 nhóm với 4 nhóm nhỏ và nhiều phân nhánh. Nhóm II.1, ngoại trừ Hồng Đại (HDAI) không có phát hoa tại Sa Đéc, đa số các giống hoa Hồng với đặc trưng dạng hoa cụm, đường kính

hoa nhỏ hơn 5 cm, đa số là dạng thân bụi, riêng HPLE và HDAI thuộc dạng thân leo. Nhóm này gồm hai nhóm: II.1A, gồm 3 giống HDAI, HTMD và HTMH; hoa Hồng đại (HDAI) có dạng thân leo và nhiều lông tơ trên phiến lá, còn lại HTMD và HTMH có hình thái hoàn toàn giống nhau ngoại trừ hoa màu đỏ hoặc màu hồng. Với kỹ thuật phân tích, HTMD và HTMH (Hồng tiểu muội đỏ và Hồng tiểu muội hồng) có sự khác biệt di truyền không đáng kể, mức độ tương đồng đạt tới 72%, cao nhất trong tất cả các giống hoa Hồng trong khảo cứu này. Với nhóm II.1B với 4 giống bao gồm HCSO, HTMT, HPLE và HTMN, về cơ bản các giống ở nhóm này có dạng hoa cụm, thân bụi, đường kính hoa nhỏ, ngoại trừ HPLE có dạng thân leo và đường kính hoa lớn; Hồng tiểu muội trắng và tiểu muội nhưng trong nhóm này mặc dù có hình thái cây rất giống nhau nhưng vẫn thuộc về hai nhánh khác biệt. Nhóm II.2, với 10 giống chia thành 2 nhóm nhỏ: II.2A với 4 giống bao gồm HLUA, HTHA, HNHX và HTVY với hệ số tương đồng khoảng 42 - 45%; nhóm II.2B với 6 giống Hồng còn lại có hệ số tương đồng khoảng 50 - 54% (bảng 5, Hình 5). Về hình thái, có 9 trong 10 giống này dạng thân bụi, ngoại trừ Tường Vy (HTVY) dạng thân leo, hoa dạng cụm và đường



Hình 4: Điện di đồ trên gel agarose 1,5% sản phẩm các phản ứng PCR-RAPD với mỗi RAPD-26 trên 18 mẫu hoa Hồng Sa Đéc. M: Khối lượng thang chuẩn DNA 1 kb; 1-18: Sản phẩm PCR-RAPD các mẫu hoa Hồng, theo thứ tự mẫu nghiên cứu.

kính lớn; có 6 giống có hoa dạng đơn, đường kính hoa lớn và 3 giống có hoa dạng cụm, đường kính hoa nhỏ (HBMA, HPHB và HTDO). Theo Mirzaei và cộng sự (2015), cấu trúc di truyền của quần thể thực vật phản ánh sự tương tác của các quá trình khác nhau bao gồm lịch sử tiến hóa lâu dài của loài, sự thay đổi trong phân bố, phân mảnh môi trường sống, cách ly quần thể, đột biến, hệ thống giao phối, chọn lọc tự nhiên... Sự khác biệt về địa lý và sinh thái là nguyên nhân phổ biến trong phân bố đa dạng di truyền trong quần thể²⁶. Trong nghiên cứu này, sự đa dạng di truyền của 18 giống hoa Hồng tại Sa Đéc được thể hiện rõ qua sơ đồ phá hệ với sự phân cụm thành nhiều nhóm nhỏ. Sự đa dạng về nguồn gốc di truyền của giống Hồng được khảo sát thể hiện qua chỉ số khoảng cách di truyền sẽ là những cơ sở khoa học bước đầu cho công tác chọn, lai tạo và bảo tồn các giống hoa Hồng tại địa phương. Để tìm hiểu sự đa dạng di truyền giữa 18 giống hoa Hồng, phân tích tọa độ chính (PCoA) dựa trên dữ liệu hệ số khác biệt di truyền Jaccard được thực hiện. Kết quả cho thấy ba trục tọa độ chính đầu tiên giải thích tổng cộng 59,73% tổng phương sai hệ số khác biệt di truyền, tương ứng trục 1 = 46,69%, trục 2 = 7,32% và trục 3 = 5,72%. Sự phân bố của các kiểu gen qua phân tích PCoA hai chiều cho kết quả tương tự sơ đồ cây phá hệ giữa 18 giống hoa Hồng quan sát (Hình 6). Sự phân bố rời rạc giữa các điểm mẫu trên biểu đồ phân tích tọa độ chính một lần nữa xác thực tính đa hình của các giống hoa Hồng Sa Đéc trong nghiên cứu này thông qua phản ứng PCR-RAPD. Sự đa dạng di truyền giữa các giống hoa Hồng được khảo sát có ý nghĩa quan trọng trong việc chọn lọc và thiết kế các cặp lai để tạo các giống hoa Hồng mới trong tương lai.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, phân tích mối quan hệ di truyền thông qua các đặc điểm hình thái thực vật và chỉ thị phân tử PCR-RAPD của 18 giống hoa Hồng Sa Đéc đã được thực hiện. DNA bộ gen của toàn bộ các giống hoa Hồng khảo sát được phân lập đảm bảo tính nguyên vẹn và có độ tinh khiết cao. Kỹ thuật PCR-RAPD phù hợp để sử dụng trong đánh giá di truyền ở các giống hoa Hồng Sa Đéc với số lượng băng đa hình cao. Thông qua hệ số tương quan di truyền Jaccard kết hợp sơ đồ cây phá hệ theo phương pháp UPGMA và kết quả phân tích biểu hiện hình thái cho thấy 18 giống hoa Hồng Sa Đéc được chia làm 2 nhóm chính và nhiều phân nhóm nhỏ, trong đó HTVA có bộ gen khác biệt so với 17 giống còn lại trong nghiên cứu này. Công bố này là nghiên cứu đầu tiên về mối quan hệ di truyền giữa các giống hoa Hồng tại làng hoa Sa Đéc, kết quả này có ý nghĩa đặc biệt trong công tác bảo tồn và phát triển nguồn giống trồng tiến tới thiết kế các cặp lai nhằm có thể tạo giống lai mới góp phần công tác phục tráng giống hoa Hồng trong thời gian tới tại tỉnh Đồng Tháp.

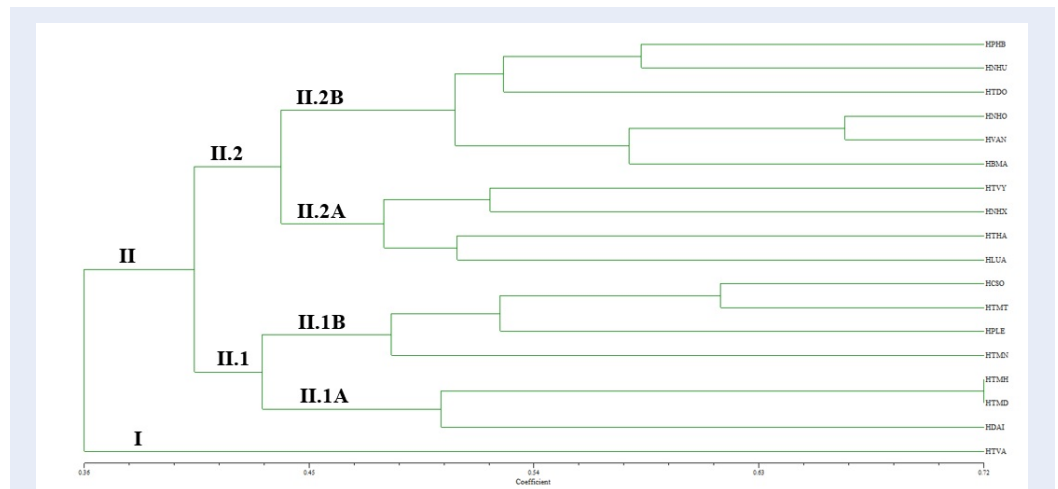
LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM trong khuôn khổ đề tài cơ sở với mã số T2021-17. Nhóm tác giả cảm ơn Công ty TNHH DTC Phù Sa (phường Tân Quy Đông, thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp) đã hỗ trợ nguồn vật liệu và tạo điều kiện thuận lợi để thực hiện nghiên cứu này.

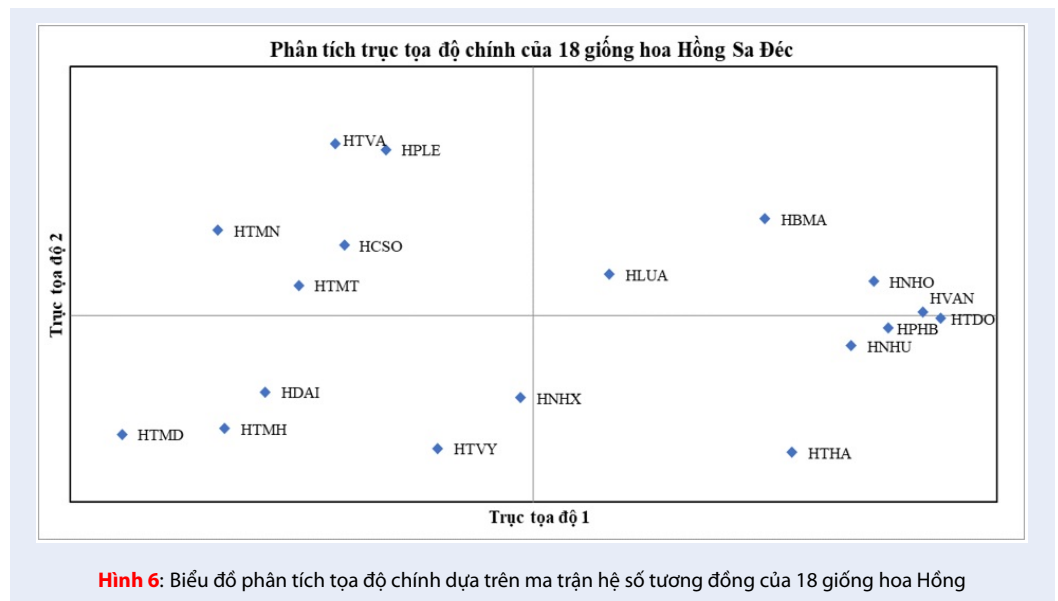
Bảng 5: Ma trận hệ số tương đồng của 18 mẫu hoa Hồng được phân tích bằng PCR-RAPD

	HPHB	HNHU	HNHO	HTDO	HBMA	HVAN	HTVY	HNHX	HCSO	HTMN	HTMH	HTMD	HTMT	HTHA	HDAI	HUUA	HTVA	HPLE
HPHB	1,00																	
HNHU	0,59	1,00																
HNHO	0,48	0,54	1,00															
HTDO	0,54	0,52	0,49	1,00														
HBMA	0,52	0,58	0,55	0,53	1,00													
HVAN	0,48	0,50	0,67	0,49	0,61	1,00												
HTVY	0,47	0,43	0,42	0,33	0,41	0,43	1,00											
HNHX	0,48	0,43	0,42	0,35	0,35	0,40	0,52	1,00										
HCSO	0,44	0,49	0,40	0,48	0,50	0,43	0,45	0,43	1,00									
HTMN	0,40	0,39	0,35	0,29	0,47	0,36	0,41	0,38	0,48	1,00								
HTMH	0,37	0,45	0,35	0,40	0,49	0,42	0,53	0,44	0,53	0,50	1,00							
HTMD	0,28	0,36	0,29	0,29	0,35	0,33	0,42	0,35	0,40	0,41	0,72	1,00						
HTMT	0,45	0,38	0,40	0,40	0,42	0,38	0,43	0,47	0,62	0,49	0,45	0,40	1,00					
HTHA	0,44	0,47	0,50	0,42	0,45	0,54	0,49	0,46	0,37	0,30	0,41	0,33	0,43	1,00				
HDAI	0,36	0,41	0,40	0,37	0,48	0,35	0,43	0,40	0,49	0,37	0,51	0,50	0,47	0,47	1,00			
HUUA	0,43	0,51	0,51	0,47	0,52	0,45	0,47	0,51	0,50	0,47	0,49	0,35	0,48	0,51	0,39	1,00		
HTVA	0,28	0,30	0,38	0,29	0,48	0,33	0,36	0,32	0,46	0,41	0,35	0,29	0,34	0,27	0,37	0,44	1,00	
HPLE	0,41	0,40	0,46	0,33	0,51	0,43	0,37	0,40	0,49	0,49	0,39	0,36	0,57	0,34	0,44	0,51	0,50	1,00

Dữ liệu được phân tích theo công thức tính hệ số tương đồng Jaccard thông qua chức năng SIMQUAL, phần mềm NTSYS-pc phiên bản 2.1



Hình 5: Sơ đồ cây phả hệ thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 18 giống hoa Hồng Sa Đéc



Hình 6: Biểu đồ phân tích tọa độ chính dựa trên ma trận hệ số tương đồng của 18 giống hoa Hồng

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

NTSYS: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System

PCoA: Principal Coordinate Analysis

PCR : Polymerase Chain Reaction

RADP : Random Amplified Polymorphic DNA

UPGMA: Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Averages

UPOV: International Union for the Protection of New Varieties of Plants

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả đồng ý không có bất kì xung đột lợi ích nào liên quan đến các kết quả đã công bố.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Ý tưởng: Phan Ngô Hoang. Thực hiện các thí nghiệm: Nguyễn Thị Kim Anh và Cao Hữu Dụng. Xử lý dữ liệu và viết bản thảo: Lê Anh Tuấn và Nguyễn Thị Kim Anh. Thảo luận, cập nhật hoàn chỉnh bản thảo: Phan Ngô Hoang.

TÍNH KHẢ DỤNG CỦA DỮ LIỆU

Các dữ liệu thô, hình ảnh, bảng kết quả được tạo và phân tích trong nghiên cứu này có sẵn từ tác giả liên hệ đối với các yêu cầu hợp lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Özçelik H, Korkmaz M, Özgökçe F, Ünal M, Sakçalı S. Ecological and Geographical Characteristics of Turkish Roses (*Rosa L. Spp.*). *SDU J Sci.* 2013;8:9-21;.
2. Korkmaz M. A new natural hybrid of *Rosa* (*Rosaceae*) from Turkey. *Phytotaxa.* 2016;245:207-215; Available from: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.245.3.3>.
3. Shi S, Zhang Z. Genetic and Biochemical Aspects of Floral Scents in Roses. *Int J Mol Sci.* 2022;23:1-16; PMID: 35887360. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms23148014>.
4. De Cock K. Genetic diversity of wild roses (*Rosa spp.*) in Europe, with an in-depth morphological study of Flemish populations. Ghent University; 2008;.
5. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. GENEVA. TG/11/8. 2004; Available from: www.upov.int.
6. Talas Oğraş T, Koban Baştanlar E, Karakaş Metin Ö, Kandemir I, Özçelik H. Assessment of genetic diversity of rose genotypes using ISSR markers. *Turk J Botany.* 2017;41:347-355; Available from: <https://doi.org/10.3906/bot-1608-32>.
7. Doveri S, Powell W, Maheswaran M, Lee D. Molecular Markers- History, Features and Application. In: Kole C, Abbott AG, editors. Principles and practices of plant genomics, Volume 1: genome mapping. Science Publishers, Inc.; 2008. p. 23-67;.
8. Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 1990;18:6531-6535; Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>.
9. Thanh ND. Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật. *Tap chí Sinh học.* 2014;36:265-294;.
10. Millan T, Osuna F, Cobos S, Torres AM, Cubero JI. Using RAPDs to study phylogenetic relationships in *Rosa*. *Theor Appl Genet.* 1996;92:273-277; PMID: 24166177. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00223385>.
11. Khan AI, Awan FS, Sadia B, Rana RM, Khan IA. Genetic diversity studies among coloured cotton genotypes by using rapid markers. *Pakistan J Bot.* 2010;42:71-77;.
12. Panwar S, et al. Molecular fingerprinting and assessment of genetic diversity in rose (*Rosa × hybrida*). *Indian J Biotechnol.* 2015;14:518-524;.
13. Torres AM, Millán T, Cubero JI. Identifying Rose Cultivars Using Random Amplified Polymorphic DNA Markers. *HortScience.* 2019;28:333-334; Available from: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.28.4.333>.
14. Cubero JI, Millan T, Osuna F, Torres AM, Cobos S. Varietal identification in *Rosa* by using isozyme and RAPD markers. *ISHS Acta Hortic.* 1995;424:261-264; Available from: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1996.424.46>.
15. Saidi A, Eghbalnegad Y, Hajjibarat Z. Study of genetic diversity in local rose varieties (*Rosa spp.*) using molecular markers. *Banat J Biotechnol.* 2017;VIII:148-157; Available from: [https://doi.org/10.7904/2068-4738-VIII\(16\)-148](https://doi.org/10.7904/2068-4738-VIII(16)-148).
16. Yi QY, Yi SW, Qin TF, Li CY. Using RAPD and ISSR Molecular Markers to Analyze the Genetic Diversity of Rose scented Pelargonium Populations. *Flavour Fragr J.* 2018;33:75-81; Available from: <https://doi.org/10.1002/ffj.3427>.
17. Korkmaz M, Dogan NY. Analysis of Genetic Relationships Between Wild Roses (*Rosa L. Spp.*) Growing in Turkey. *Erwerbs-Obstbau.* 2018;60:305-310; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10341-018-0375-9>.
18. Lingdi L, et al. *Rosaceae*. In: Flora of China. Science Press & Missouri Botanical Garden Press; 2003. p. 46-434;.
19. Mohapatra A, Rout GR. Optimization of primer screening for evaluation of genetic relationship in rose cultivars. *Biol Plant.* 2006;50:295-299; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0024-2>.
20. Rai H, et al. Characterization and analysis of genetic diversity among different species of rose (*Rosa species*) using morphological and molecular markers. *Indian J Agric Sci.* 2015;85:240-245; Available from: <https://doi.org/10.56093/ijas.v85i2.46518>.
21. Riaz A, Hameed M, Khan AI, Younis A, Awan FS. Assessment of biodiversity based on morphological characteristics and RAPD markers among genotypes of wild rose species. *African J Biotechnol.* 2011;10:12520-12526; Available from: <https://doi.org/10.5897/AJB11.866>.
22. Debener T, Bartels C, Mattiesch L. RAPD analysis of genetic variation between a group of rose cultivars and selected wild rose species. *Mol Breed.* 1996;2:321-327; Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00437910>.
23. Rohlf FJ. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software; 2009;.
24. Peakall R, Smouse PE. GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics.* 2012;28:2537-2539; PMID: 22820204. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
25. Paplauskienė V, Dabkevičienė G. Genetic variability determination using ISSR-PCR markers in red clover varieties. *Biologija.* 2008;54:56-59; Available from: <https://doi.org/10.2478/v10054-008-0011-y>.
26. Mirzaei L, Rahmani F, Beigmohamadi M. Assessment of genetic variation among *Rosa species* using ISSR genetic markers. 2015;7:254-260;.

Study on genetic diversity of Rose varieties (*Rosa* spp.) in Sa Dec, Dong Thap using PCR-RAPD technique

Thi Kim Anh Nguyen^{1,2}, Anh Tuan Le^{1,2}, Huu Dung Cao³, Ngo Hoang Phan^{1,2,*}

ABSTRACT

Roses (*Rosa* spp.) are highly valuable ornamental plants known for their diverse flower shapes and colors. Rose plants are widely used in Vietnam for decoration, essential oil production, and the cosmetics industry. In Sa Dec Flower Village (Dong Thap province), the Roses plant plays a crucial role in the agricultural economy development. Therefore, techniques for cultivating and developing new varieties of Roses are increasingly emphasized, focusing on diversification to increase the collection of varieties, diversify types and species, preserve forms, and enhance economic efficiency. In this study, PCR-RAPD technique was used on 18 Sa Dec's rose varieties, resulting in a total of 66 polymorphic bands, with 87.88% being polymorphic and 12.12% monomorphic. The dendrogram analysis revealed that the 18 rose varieties from Sa Dec could be divided into two main groups with several smaller subgroups. The correlation between genetic variations in the genome and morphological markers of the 18 rose varieties was analyzed and discussed. The results lay the initial background for understanding the genetic relationships among 18 rose varieties from Sa Dec Flower Village, which could serve as a foundation for collecting, preserving, and developing genetic resources, as well as selecting and designing hybrid pairs to create new rose varieties in Sa Dec Flower Village.

Key words: genetic diversity, morphological characteristics, PCR-RAPD, roses

¹Faculty of Biology and Biotechnology,
University of Science, Vietnam

²Vietnam National University Ho Chi
Minh City, Vietnam

³DTC Phu Sa Co., Ltd., Sa Dec, Vietnam

Correspondence

Ngo Hoang Phan, Faculty of Biology and
Biotechnology, University of Science,
Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh
City, Vietnam

Email: pnhoang@hcmus.edu.vn

History

- Received: 03-07-2023
- Accepted: 23-5-2024
- Published Online: 30-6-2024

DOI : <https://doi.org/10.32508/stdjns.v8i2.1296>



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Nguyen T K A, Le A T, Cao H D, Phan N H. Study on genetic diversity of Rose varieties (*Rosa* spp.) in Sa Dec, Dong Thap using PCR-RAPD technique. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2024, 8(2):2920-2930.