

## PHÂN TÍCH ĐA DẠNG DI TRUYỀN GIỐNG ỚT XIÊM ĐỊA PHƯƠNG Ở QUẢNG NGÃI BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Nguyễn Ngọc Truyen\*, Nguyễn Quang Cơ, Nguyễn Thiện Tâm, Trần Cao Uy,  
Dương Ngọc Phước, Nguyễn Văn Đức, Dương Thanh Thủy

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế.

\*Tác giả liên hệ: nguyenngoctruyen@huaf.edu.vn

Nhận bài: 05/05/2020 Hoàn thành phản biện: 17/09/2020 Chấp nhận bài: 23/10/2020

### TÓM TẮT

Sự đa dạng di truyền của 15 mẫu giống ớt Xiêm địa phương của Quảng Ngãi và mối quan hệ giữa chúng với 5 giống ớt A Rieu và 5 giống ớt Bay đã được đánh giá dựa trên kết quả của 10 mồi RAPD. Hệ số tương đồng di truyền giữa 25 mẫu ớt dao động từ 0,56 đến 1,0. Hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ về cây phát sinh loài đã phân ớt A Rieu của Quảng Nam và ớt Bay của Gia Lai thành các nhóm khác nhau. Ớt Xiêm của Quảng Nam thuộc vào cả 2 nhóm và việc phân chia ớt Xiêm vào các nhóm này có mối liên hệ mật thiết với hình dạng quả, Ớt Xiêm với dạng quả lớn thuộc cùng phân nhóm với ớt A Rieu, ớt Xiêm dạng quả nhỏ đến trung bình thuộc cùng phân nhóm với ớt Bay.

**Từ khóa:** Đa dạng di truyền, Giống ớt địa phương, RAPD, Ớt Xiêm

## ANALYZING GENETIC DIVERSITY OF LOCAL XIEM CHILLI OF QUANG NGAI PROVINCE BY RAPD MARKERS

Nguyen Ngoc Truyen\*, Nguyen Quang Co, Nguyen Thien Tam, Tran Cao Uy,  
Duong Ngoc Phuoc, Nguyen Van Duc, Duong Thanh Thuy

University of Agriculture and Forestry, Hue University.

### ABSTRACT

Genetic diversity of 15 Xiem chili accessions of Quang Ngai province and its relationship with 5 A Rieu chili accessions of Quang Nam and 5 Bay chili accessions of Gia Lai was assessed by using 10 PCR - RAPD primer. The genetic dissimilarity of the total of 25 accessions was ranged from 0,56 to 1,0. RAPD analysis combined with the construction of phylogenetic tree revealed that big Xiem accessions had the same cluster to A Rieu, while small to medium Xiem accessions had the same cluster to Bay.

**Keywords:** Genetic diversity, Local chilli variety, RAPD, Xiem chilli

### 1. MỞ ĐẦU

Cây ớt (*Capsicum* spp.) là cây lấy quả thuộc chi *Capsicum*, họ Cà (Solanaceae). Quả ớt là một trong các loại rau gia vị có giá trị kinh tế cao được sử dụng tại Việt Nam và nhiều nước trên thế giới. Với hình thức sử dụng đa dạng như ăn tươi, phơi khô xay làm bột ớt, chế biến tương ớt, ... cây ớt có tiềm năng phát triển rất lớn và yêu cầu quá trình chọn giống đa dạng theo nhiều hướng khác nhau. Quả ớt

chứa các loại vitamin A, C, D, các chất khoáng như: Ca, Fe, Na, S... và một số loại axit amin, protein và chất béo (Bosland và Votava, 2003; Trương Thị Hồng Hải và Trần Thị Thanh, 2017).

Ở nước ta, ớt được sử dụng như một loại gia vị phổ biến có giá trị kinh tế cao, được trồng rộng rãi khắp cả nước. Vùng trồng ớt tập trung chủ yếu ở khu vực miền Trung và duyên hải Nam Trung Bộ (Trương Thị Hồng Hải và Trần Thị Thanh,

2017). Ngoài ra, để đảm bảo cho nhu cầu sử dụng và xuất khẩu, ớt còn được trồng ở các tỉnh miền Bắc như: Thanh Hóa, Hải Dương và Thái Bình. Cùng với các giống ớt cao sản đang được trồng phổ biến, các giống ớt bản địa cũng đang được chú ý phát triển trong những năm gần đây. Những giống ớt địa phương này thường được phát triển ở khu vực miền núi, nhất là các tỉnh ở khu vực miền Trung như Thừa Thiên Huế, Quảng Nam, Quảng Ngãi và khu vực Tây Nguyên. Các giống ớt địa phương này có mùi thơm và vị cay đặc trưng được ưa thích, tuy nhiên, chúng thường có quả nhỏ, năng suất thấp (Nguyễn Văn Đức, 2018). Ở khu vực Sơn Hà, Quảng Ngãi, ớt Xiêm được coi là cây đặc sản địa phương có giá trị về mặt thương mại, giá trị cao, phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng. Những năm gần đây, các hoạt động đốt nương làm rẫy, chặt phá rừng và cháy rừng đã làm giảm diện tích phân bố ớt Xiêm trong tự nhiên, làm ảnh hưởng tới nguồn gen cây ớt. Bên cạnh đó, những nghiên cứu về cây ớt địa phương, đặc biệt về đa dạng di truyền các giống ớt

địa phương để làm cơ sở cho công tác phân loại, bảo tồn và là nguồn gen cho quá trình chọn tạo giống còn hạn chế. Do đó, việc điều tra, thu thập để từng bước tiến tới tư liệu hóa nguồn gen, cũng như nghiên cứu phân loại, bảo tồn và khai thác hợp lý nguồn gen các giống ớt địa phương đặc biệt là ớt Xiêm là rất cần thiết. Chính vì vậy chúng tôi tiến hành “Phân tích đa dạng di truyền và mối quan hệ giữa giống ớt Xiêm địa phương của Quảng Ngãi với các giống ớt địa phương lân cận dựa trên chỉ thị RAPD và trình tự ITS” nhằm mục đích đánh giá đa dạng di truyền của các mẫu ớt Xiêm thu thập ở Quảng Ngãi và xác định mối quan hệ di truyền với các giống ớt địa phương khác ở Quảng Nam và Gia Lai.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu ớt được sử dụng trong nghiên cứu được thu thập ở các tỉnh Quảng Ngãi, Gia Lai và Quảng Nam. Tên các mẫu giống được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1.** Danh sách mẫu ớt thu thập sử dụng trong nghiên cứu

Mã *	Nơi thu thập	Mã *	Nơi thu thập
XL6	Quảng Ngãi	XN9	Quảng Ngãi
XL7	Quảng Ngãi	XN10	Quảng Ngãi
XL8	Quảng Ngãi	B6	Gia Lai
XL9	Quảng Ngãi	B7	Gia Lai
XL10	Quảng Ngãi	B8	Gia Lai
XTB6	Quảng Ngãi	B9	Gia Lai
XTB7	Quảng Ngãi	B10	Gia Lai
XTB8	Quảng Ngãi	AR6	Quảng Nam
XTB9	Quảng Ngãi	AR7	Quảng Nam
XTB10	Quảng Ngãi	AR8	Quảng Nam
XN6	Quảng Ngãi	AR9	Quảng Nam
XN7	Quảng Ngãi	AR10	Quảng Nam
XN8	Quảng Ngãi		

\*: Mẫu được mã dựa vào đặc điểm hình thái và địa điểm thu thập. XL: Ớt Xiêm dạng quả lớn, XTB: Ớt Xiêm dạng quả trung bình; XN: Ớt Xiêm dạng quả nhỏ. B: Ớt Bay; AR: Ớt A Riêu.

## 2.2. Tách chiết DNA tổng số và chạy PCR - RAPD

DNA được chiết tách từ mẫu lá Ớt theo quy trình của Doyle và Doyle (1990) cải tiến. Sau khi tách chiết DNA, tiến hành kiểm tra sản phẩm của DNA tổng số bằng

**Bảng 2.** Danh sách 10 môi thể hiện sự đa hình

STT	Tên môi	STT	Tên môi
1	OPAT25	6	OPAB3
2	OPK4	7	OPE4
3	OPTA4	8	OPBB5
4	OPAA01	9	OPB8
5	OPAA04	10	OPK1

Phản ứng PCR - RAPD được thực hiện trên máy Mastercycler với tổng thể tích 15µl. Thành phần và nồng độ của các chất tham gia phản ứng gồm 200ng DNA, 1.5 µl PCR buffer có MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mM dNTP, biến tính DNA ở nhiệt độ 94°C trong 5 phút; tiếp theo là 40 chu kỳ gia nhiệt với các bước sau: biến tính 94°C trong 30 giây, bắt cặp với môi ở 33°C trong 30 giây, tổng hợp DNA ở 72°C và kết thúc phản ứng PCR bằng giai đoạn ổn định sản phẩm ở 72°C trong 8 phút và lưu trữ ở 4°C.

Sản phẩm PCR - RAPD được điện di trên gel agarose 1% với điện thế 120V, cường độ 3A trong thời gian 45 phút. Sau khi tiến hành điện di, soi bản gel dưới đèn tia UV và chụp ảnh.

## 2.3. Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được phân tích, xử lý dựa trên các phần mềm Excel version 5.0, chương trình thống kê cho ngành sinh học và các phần mềm chuyên dụng;

Với các bảng gel của chỉ thị RAPD, các băng DNA được ghi nhận dựa trên sự

cách điện di trên gel agarose 0,8%. Nồng độ và độ tinh sạch của mẫu được kiểm tra trên máy Nanodrop. Mẫu DNA sau đó được bảo quản trong tủ lạnh -20°C.

DNA của 25 mẫu giống Ớt sau khi được ly trích và tinh sạch được khảo sát sự đa hình với 160 môi RAPD - PCR. Để phân tích đa dạng di truyền, 10 trong số 160 môi cho băng đa hình đã được lựa chọn. Các môi PCR - RAPD dùng trong nghiên cứu do hãng Bioneer cung cấp.

có mặt hay vắng mặt của chúng ở các mẫu nghiên cứu theo thang DNA chuẩn (DNA ladder), xuất hiện băng là “1”, không xuất hiện là “0”, các dòng không xuất hiện băng DNA ở tất cả các alen (khuyết số liệu) là số “9”. Các số liệu này được đưa vào xử lý theo chương trình NTSYSpc 2.01 của F.J Rohlf (2000) để tính ma trận tương đồng giữa các cặp mẫu. Việc tính toán ma trận tương đồng được dựa theo công thức:

$$J_{ij} = \frac{2n_{ij}}{n_i + n_j}$$

Trong đó:

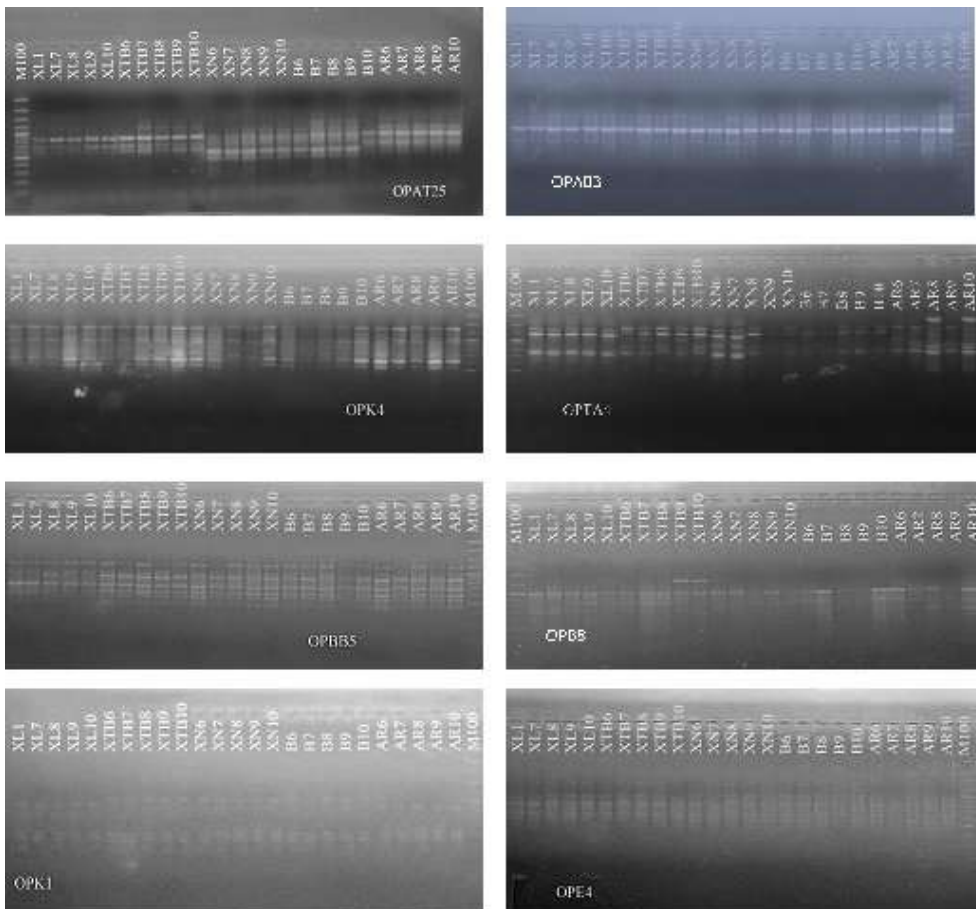
- $n_{ij}$  là số băng ADN có ở cả hai mẫu  $i$  và  $j$ ;
- $n_i$  và  $n_j$  là tổng số băng ADN của từng cá thể  $i$  và  $j$  tương ứng;
- $J_{ij}$  là hệ số tương đồng giữa hai mẫu  $i$  và  $j$ .

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đánh giá đa dạng di truyền của 25 giống ớt nghiên cứu

Nhìn chung các mẫu đều cho sản phẩm khuếch đại DNA ở hầu hết các mẫu. Các băng thu được có kích thước nằm trong khoảng 350 - 1300 bp (Hình 1). Mỗi OPAT25 cho sản phẩm khuếch đại DNA nhiều nhất (11 băng). Các mẫu còn lại cho sản phẩm khuếch đại DNA trong khoảng 6 - 8 băng. Khác nhiều băng khuếch đại giống nhau cho 25 mẫu nghiên cứu ở các mẫu cho thấy mối quan hệ gần nhau của ớt Xiêm Quảng Ngãi, ớt A Rieu Quảng Nam và ớt Bay Gia Lai. Tuy nhiên, đáng chú ý là các mẫu của giống Xiêm quả lớn và ớt Xiêm quả trung bình có một số vị trí băng khuếch đại khác với các mẫu giống ớt xiêm quả nhỏ ở mỗi OPAT25 và giống ớt

Xiêm quả lớn cũng có những băng khác biệt với các mẫu giống ớt khác ở mỗi OPTA4. Điều này chứng tỏ, ớt Xiêm của Quảng Ngãi có sự đa dạng và các đặc điểm kiểu hình của quả cũng phản ánh được những đặc điểm đa dạng di truyền của giống. Kết quả về sự sai khác giữa các giống ớt quả nhỏ và quả lớn cũng được ghi nhận trong quần thể 13 giống ớt thu thập từ nhiều vùng sinh thái khác nhau của Ấn Độ bằng chỉ thị RAPD và SSR (Tilahun và cs., 2013). Makari và cs. (2009) cũng đã ứng dụng chỉ thị phân tử RAPD trong đánh giá sự đa dạng di truyền của 10 giống ớt thương phẩm ở Ấn Độ. Các kết quả trên đều khẳng định rằng chỉ thị RAPD là công cụ hữu ích trong việc đánh giá đa dạng di truyền ở mức phân tử cho cây ớt.

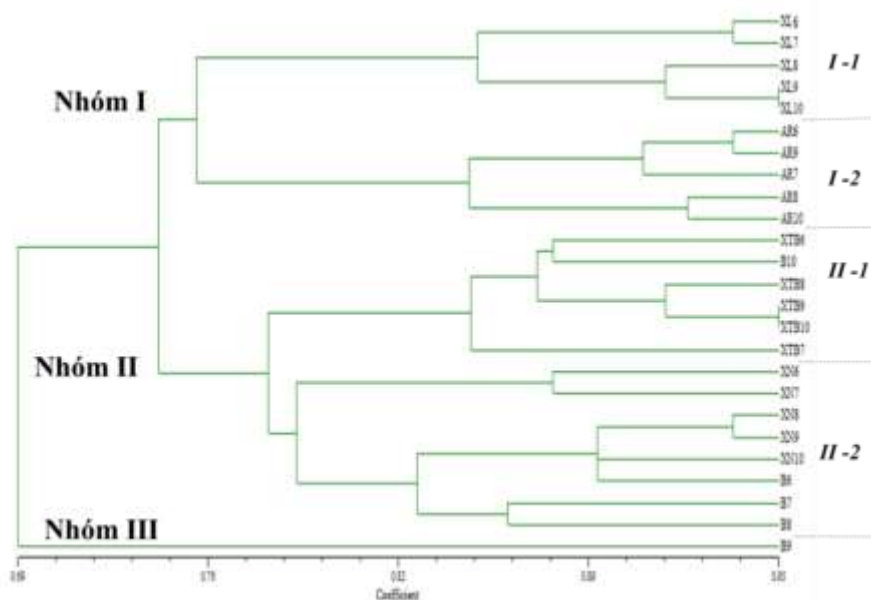


Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RAPD với các mẫu khác nhau

### 3.2. Mối quan hệ di truyền của các giống ớt nghiên cứu

Sau khi tiến hành phân tích đa dạng di truyền bằng phần mềm NTSYS 2.01 thu được kết quả sơ đồ cây về quan hệ di truyền của 25 mẫu ớt thu thập như Hình 2. Hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu

ớt dao động từ 0,56 đến 0,95 (Bảng 3). Hệ số tương đồng cao nhất là giữa XL9 với XL10 và giữa XTB9 với XTB10, hệ số tương đồng thấp nhất là giữa XL10 với B9. Điều này cho thấy có sự sai khác về di truyền giữa các mẫu ớt nghiên cứu.



**Hình 2.** Sơ đồ hình cây về quan hệ di truyền giữa các mẫu ớt nghiên cứu dựa trên chỉ thị RAPD

Ở mức độ tương đồng di truyền bằng 0,75 các mẫu ớt được chia thành 3 nhóm lớn: nhóm I gồm 10 mẫu; nhóm II gồm 14 và nhóm III chỉ có 1 mẫu duy nhất là B9. Nhóm I và nhóm II có thể chia ra thành 2 phân nhóm nhỏ. Phân nhóm I - 1 gồm 5 mẫu ớt Xiêm dạng quả lớn thu thập ở Quảng Ngãi (XL1, XL7, XL8, XL9, XL10), phân nhóm I - 2 gồm 5 mẫu ớt A Riêu thu thập từ Quảng Nam (AR6, AR7, AR8, AR9, AR10), phân nhóm II - 1 gồm 5 mẫu ớt Xiêm có dạng quả trung bình của Quảng Ngãi (XTB6, XTB7, XTB8, XTB9, XTB10) và 1 mẫu ớt Bay của Gia Lai (B10), phân nhóm II - 2 gồm 5 mẫu ớt Xiêm có dạng quả nhỏ (XN6, XN7, XN8, XN9, XN10) và 3 mẫu ớt Bay (B6, B7, B8). Tuy nhiên, các mẫu ớt có mức tương đồng di truyền cao, hệ số tương đồng thấp nhất là giữa giống B9 của Gia Lai và XL10 của

Quảng Ngãi. Các mẫu ớt Xiêm tương đồng di truyền trong khoảng 0,69 đến 0,95. Hai cặp mẫu giống ớt giống nhau đến 95% là XL9 và XL10, XTB9 và XTB10 (Bảng 3).

Nhìn chung, ớt Xiêm Quảng Ngãi đa dạng về mặt hình dạng quả và sơ đồ hình cây cũng đã chỉ ra mối quan hệ giữa các giống ớt Xiêm khác nhau với địa phương thu thập. Giống ớt Xiêm có dạng quả lớn có mối quan hệ gần với ớt A riêu ở Quảng Ngãi hơn các giống ớt Xiêm khác, trong khi đó ớt Xiêm có dạng quả trung bình và nhỏ có quan hệ gần với ớt Bay của Gia Lai. Đáng chú ý là ớt Xiêm dạng quả lớn và ớt A Riêu lập ra 2 phân nhóm riêng biệt (I - 1 và I - 2) ở hệ số tương đồng 77%. Mức độ đa dạng di truyền cho thấy sự khác biệt giữa các giống có thể sử dụng cho việc chọn tạo giống mới.

**Bảng 3.** Hệ số tương đồng di truyền của 25 mẫu ớt khảo sát dựa trên chi thị RAPD

	XL6	XL7	XL8	XL9	XL10	XTB6	XTB7	XTB8	XTB9	XTB10	XN6	XN7	XN8	XN9	XN10	B6	B7	B8	B9	B10	AR6	AR7	AR8	AR9	AR10
XL6	1.00																								
XL7	0.94	1																							
XL8	0.91	0.91	1																						
XL9	0.84	0.84	0.94	1																					
XL10	0.80	0.80	0.89	0.95	1																				
XTB6	0.70	0.70	0.80	0.83	0.81	1																			
XTB7	0.70	0.73	0.80	0.83	0.78	0.88	1																		
XTB8	0.70	0.73	0.80	0.83	0.78	0.91	0.91	1																	
XTB9	0.69	0.69	0.78	0.78	0.77	0.86	0.86	0.92	1																
XTB10	0.67	0.67	0.77	0.77	0.78	0.84	0.81	0.91	0.95	1															
XN6	0.72	0.72	0.78	0.81	0.77	0.83	0.77	0.86	0.81	0.83	1														
XN7	0.75	0.72	0.78	0.75	0.70	0.77	0.73	0.77	0.75	0.73	0.88	1													
XN8	0.66	0.63	0.72	0.69	0.67	0.83	0.77	0.80	0.78	0.77	0.81	0.84	1												
XN9	0.69	0.66	0.72	0.69	0.67	0.77	0.73	0.73	0.72	0.70	0.78	0.81	0.94	1											
XN10	0.69	0.69	0.72	0.75	0.73	0.80	0.73	0.80	0.75	0.73	0.84	0.81	0.88	0.91	1										
B6	0.73	0.70	0.80	0.77	0.72	0.84	0.78	0.81	0.80	0.78	0.80	0.83	0.89	0.89	0.89	1									
B7	0.64	0.64	0.73	0.67	0.63	0.78	0.75	0.78	0.77	0.78	0.77	0.73	0.86	0.83	0.77	0.88	1								
B8	0.66	0.69	0.72	0.69	0.67	0.77	0.77	0.73	0.72	0.70	0.69	0.72	0.81	0.81	0.81	0.86	0.86	1							
B9	0.64	0.61	0.61	0.58	0.56	0.72	0.63	0.69	0.67	0.69	0.70	0.70	0.73	0.73	0.73	0.78	0.81	0.80	1						
B10	0.70	0.70	0.80	0.80	0.75	0.88	0.78	0.88	0.86	0.88	0.83	0.73	0.80	0.77	0.80	0.88	0.88	0.80	0.78	1					
AR6	0.77	0.77	0.83	0.83	0.78	0.78	0.78	0.81	0.83	0.78	0.80	0.80	0.77	0.73	0.77	0.78	0.75	0.73	0.69	0.84	1				
AR7	0.70	0.67	0.70	0.73	0.72	0.78	0.72	0.78	0.77	0.75	0.77	0.67	0.73	0.70	0.77	0.72	0.72	0.67	0.75	0.81	0.85	1			
AR8	0.73	0.73	0.83	0.83	0.81	0.72	0.75	0.75	0.77	0.75	0.73	0.73	0.70	0.67	0.70	0.75	0.69	0.70	0.59	0.78	0.91	0.78	1		
AR9	0.70	0.70	0.77	0.77	0.75	0.81	0.75	0.81	0.83	0.81	0.80	0.73	0.80	0.77	0.80	0.78	0.78	0.73	0.75	0.88	0.94	0.94	0.84	1	
AR10	0.72	0.72	0.75	0.75	0.73	0.70	0.67	0.73	0.75	0.73	0.75	0.72	0.69	0.66	0.69	0.70	0.67	0.63	0.61	0.77	0.89	0.80	0.92	0.86	1

**IV. KẾT LUẬN**

Kết quả phân tích đa dạng di truyền của 25 mẫu giống Ớt bằng chi thị phân tử RAPD với 10 môi ngẫu nhiên cho thấy hệ số tương đồng di truyền của các giống Ớt nghiên cứu dao động từ 56 đến 95%. Mỗi quan hệ di truyền giữa các mẫu giống ớt được thể hiện trên hệ số tương đồng di truyền và sơ đồ về cây phát sinh loài, theo đó các giống ớt Xiêm có hình dạng khác nhau có mối quan hệ gần với các giống ớt khác nhau: Giống ớt Xiêm có dạng quả lớn có mối quan hệ gần với ớt A Riêu hơn các giống ớt Xiêm khác, trong khi đó ớt Xiêm có dạng quả trung bình và nhỏ có quan hệ gần với ớt Bay.

**LỜI CẢM ƠN**

Chi phí phân tích kết quả được tài trợ từ đề tài cấp tỉnh Quảng Ngãi “ Nghiên cứu bảo tồn và phát triển vùng ớt Xiêm rừng tại huyện Sơn Hà, tỉnh Quảng Ngãi”, Mã số: 01/2018/HĐ-ĐTKHCN do ThS. Nguyễn Ngọc Truyền làm chủ trì đề tài.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

**1. Tài liệu tiếng Việt**

Nguyễn Văn Đức, Trần Cao Úy, Đinh Chí Thanh, Dương Văn Hậu, Châu Võ Trung Thông và Phạm Thị Kim Liên. (2018). Đánh giá thực trạng sản xuất và tiêu thụ ớt cay A Riêu tại xã Mã Cooih, huyện Đông Giang, tỉnh Quảng Nam. *Tạp chí khoa học và công nghệ*

*nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 2(2), 663 - 672.*

Trương Thị Hồng Hải và Trần Thị Thanh. (2017).

Đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất của một số giống ớt cay F1 nhập nội trong vụ Đông - Xuân 2015 - 2016 tại Thừa Thiên Huế. *Tạp chí khoa học, Đại học Huế, 126(3C), 43 - 53.*

**2. Tài liệu tiếng nước ngoài**

Rogers, S. O., & Bendich, A. J. B. (1988). *Extraction of DNA from plant tissues.* Plant molecular Biology Manual. Kluwer Academic Publishers, A6, 1 - 10.

Bosland, P. W., & Votava, E. J. (2003). *Peppers: Vegetable and Spice capsicums.* CAB International, England, p.233.

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). *Isolation of plant DNA from fresh tissue.* Focus, 12(13), 39 - 40.

Makari, H. K., Ravikumar P. H. S., Abhilash M., & Mohan, K. H. D. (2009). Genetic diversity in commercial varieties of chilli as revealed by RAPD method. *Indian Journal of Science and Technology, 2(4), 91-94.*

Tilahun, S., Paramaguru, P., & Bapu, R. K. (2013). *Genetic diversity in certain genotypes of chilli and paprika as revealed by RAPD and SSR analysis.* Asian Journal of Agricultural Sciences, 5(2), 25 - 31.