

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ GIỐNG LẠC LÀY (*Trichosanthes cucumerina* L.)

Trương Thị Hồng Hải<sup>1\*</sup>, Hồ Thị Hoàng Nhi<sup>1</sup>, Sonexay Rasphone<sup>2</sup>, Hồ Ngọc Hân<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Savannakhet, Lào

### TÓM TẮT

Lạc lày (*Trichosanthes cucumerina* L.) là một loại rau có giá trị dinh dưỡng cao và cũng là một loại thảo dược trị bệnh quan trọng. Ở Việt Nam, loài cây này được trồng và sử dụng ngày càng nhiều. Để nâng cao năng suất và chất lượng của lạc lày, chọn lọc các giống địa phương và giống lai F1 mang các ưu thế lai phù hợp với điều kiện Việt Nam nói chung và Thừa Thiên Huế nói riêng cần được chú trọng phát triển để phục vụ công tác chọn tạo giống trong thời gian tới. Tuy nhiên, các kiến thức về đa dạng di truyền của lạc lày vẫn còn rất hạn chế ở Việt Nam. Ở nghiên cứu này, bốn giống lạc lày, trong đó có 1 giống địa phương được thu thập ở Savannakhet, Lào; 2 giống F1 của Thái Lan và 1 giống F1 của Việt Nam, đã được tách chiết, tinh sạch DNA, sau đó các môi RAPD được sàng lọc và thực hiện chỉ thị RAPD để đánh giá sự khác biệt di truyền giữa bốn giống. Các chỉ số PIC, EMR, MI, Rp, na, ne, h và I đã cho thấy 18 môi UBC-RAPD được chọn lọc là thích hợp cho nghiên cứu sự đa dạng di truyền. Đã có 199 băng khuếch đại được tạo ra, trong đó 91 băng là băng đa hình. Môi UBC#475 cho thấy mức độ đa hình cao nhất với các chỉ số PIC, EMR, MI, Rp lần lượt là 0,357; 10,286; 3,673 và 8,000. Ngoài ra, kết quả phân tích cây phân cụm dựa vào phương pháp UPGMA đã chỉ ra rằng giống lạc lày lai F1 (HUIB\_Tc4) có sự khác biệt di truyền so với 3 giống còn lại là giống địa phương (HUIB\_Tc1) và hai giống thuần (HUIB\_Tc2 và HUIB\_Tc3).

*Từ khóa:* Chỉ thị DNA, đa dạng di truyền, lạc lày, RAPD, *Trichosanthes cucumerina*.

### MỞ ĐẦU

Lạc lày (*Trichosanthes cucumerina* L.) thuộc họ Cucurbitaceae, là một loài cây leo thường được dùng làm rau và thuốc thảo dược (Yang *et al.*, 2023). Chúng phân bố nhiều ở các vùng ôn đới châu Á như Trung Quốc và vùng nhiệt đới như Bangladesh, Ấn Độ, Nepal, Pakistan, Sri Lanka, Myanmar, Việt Nam, Indonesia; Malaysia, Philippines và Australia (Sandhya *et al.*, 2010).

Đây là loài cây giàu chất dinh dưỡng với 18 amino acid đã được tìm thấy trong quả, bao gồm: glycine, alanine, serine, proline, valine, threonine, isoleucine, leucine, aspartate, lysine, methionine, histidine, arginine, glutamate, phenylalanine, tyrosine, tryptophan và cystine (Osuagwu *et al.*, 2022). Đồng thời, chúng cũng chứa hàm lượng rất cao các chất béo, chất xơ, carb, khoáng chất, vitamin A và vitamin E. Tác dụng dược lý và trị liệu của lạc lày là nhờ vào flavonoid, carotenoids, phenolic acid, chất xơ hòa tan và không hòa tan và các khoáng chất quan trọng có rất nhiều trong cây. Trong y học cổ truyền của Sri Lanka và Ấn Độ, lạc lày được sử dụng trong điều trị khó tiêu; sốt; mụn nhọt; vết loét và các bệnh phát ban trên da như bệnh chàm, viêm da, vẩy nến, viêm, loét và tiểu đường. Bên cạnh đó, trong toàn bộ rễ, lá, quả và hạt của lạc lày có hoạt tính kháng khuẩn, chống viêm, trị giun sán, bảo vệ dạ dày và chống oxy hóa (Bobade *et al.*, 2022).

Lạc lày được trồng và sử dụng ngày càng rộng rãi ở nhiều nước Đông Nam Á. Ở Việt Nam, lạc lày còn có các tên dân dã khác như mướp nhạt, lạc lè, mướp rừng hay bầu rần. Trên thị trường các nước Việt Nam, Lào và Thái Lan, hiện có nhiều giống lạc lày với màu sắc, hình thái, kích thước khác nhau, và tồn tại ở nhiều dạng như giống địa phương, giống thuần và giống lai F1. Điều này tạo nên sự đa dạng biến dị trong quá trình phát triển giống. Hiện nay, xu hướng tạo ra các giống lạc lày F1 mang ưu thế lai về năng suất và chất lượng ngày càng được phát triển (Islam *et al.*, 2022). Tuy nhiên để chọn lọc và tạo ra các giống ưu việt này, việc nắm vững kiến thức về đặc điểm di truyền là điều kiện tiên quyết (Ilakiya *et al.*, 2022). Để nâng cao năng suất và chất lượng của lạc lày, chọn lọc các giống địa phương và giống lai F1 mang các ưu thế lai phù hợp với điều kiện Việt Nam nói chung và Thừa Thiên Huế nói riêng cần được chú trọng phát triển để phục vụ công tác chọn tạo giống trong thời gian tới.

Trong số các loại chỉ thị DNA, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) là chỉ thị trội thường được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền với nhiều ưu điểm như: nhanh chóng, tiết kiệm, đơn giản, hiệu quả; chỉ cần một lượng nhỏ DNA khuôn mẫu và không cần biết trước trình tự DNA cũng như trình tự môi (Ghorpade *et al.*, 2022). Bên cạnh đó, trên đối tượng chi *Trichosanthes* đã có nhiều công bố cho thấy việc ứng dụng chỉ thị RAPD trong phân tích đa dạng di truyền (Goswami *et al.*, 2009; Adhikari *et al.*, 2014). Chính vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã sử dụng chỉ thị RAPD để đánh giá sự đa dạng di truyền của bốn giống lạc lày (giống địa phương, giống thuần và giống lai F1) được thu thập từ ba nước Việt Nam, Lào và Thái Lan.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

Bốn giống lạc lầy sử dụng trong nghiên cứu này đã được thu thập từ ba nước Việt Nam, Lào và Thái Lan (Bảng 1). Trong đó, có một giống địa phương (HUIB\_Tc1), hai giống thuần (HUIB\_Tc2 và HUIB\_Tc3) và một giống lai F1 (HUIB\_Tc4). Bên cạnh đó, 100 mỗi UBC-RAPD (University of British Columbia, Công ty Bioneer, Korea) và các hóa chất cần thiết đã được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng kỹ thuật Y sinh tiên tiến, Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế.

**Bảng 1. Danh sách các giống lạc lầy được sử dụng cho nghiên cứu**

STT	Mã Code	Tên giống	Nguồn gốc của giống
1	HUIB_Tc1	Lạc lầy địa phương	Savannakhet, Lào
2	HUIB_Tc2	Lạc lầy AAA	Công ty TNHH CHUA YONG SENG SEED, Bangkok, Thái Lan
3	HUIB_Tc3	NAKEE	Công ty TNHH SEEDLIND, Nakompathom, Thái Lan
4	HUIB_Tc4	Lạc lầy lai F1 RADO 248	Công ty TNHH Hạt giống Rạng Đông, Hồ Chí Minh, Việt Nam

### Phương pháp

#### Tách chiết và tinh sạch genomic DNA

Genomic DNA từ lá lạc lầy được tách chiết theo phương pháp CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) (Doyle và Doyle, 1987). Sau đó, genomic DNA thu được sẽ được nhuộm với SYBR Green I (Invitrogen, USA), điện di trên 1% agarose gel và đo OD bằng máy quang phổ Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA). Mẫu DNA có giá trị A260/A280 nằm trong khoảng 1,8-2,0 được coi là tinh khiết và đạt yêu cầu cho thí nghiệm. Trong khi đó, DNA chưa đạt sẽ được đưa qua cột silica và kiểm tra lại.

#### Chỉ thị RAPD

Để đánh giá sự đa dạng di truyền giữa các giống lạc lầy ở các quốc gia khác nhau (Việt Nam, Lào và Thái Lan), chúng tôi đã chọn một mẫu genomic DNA lạc lầy Việt Nam (HUIB\_Tc4) và một mẫu có nguồn gốc từ nước khác (HUIB\_Tc1) để khảo sát mỗi. Đầu tiên, hai mẫu genomic DNA này được pha loãng về nồng độ khoảng 15-18 ng/ $\mu$ L để sàng lọc 100 mỗi UBC-RAPD. Trong đó, 18 mỗi đã được lựa chọn dựa vào sản phẩm khuếch đại DNA có số băng khuếch đại lớn, các băng rõ nét và có băng đa hình (Bảng 2). Các mỗi này sau đó sẽ được sử dụng để PCR cho cả 4 giống lạc lầy.

**Bảng 2. Trình tự của các mỗi UBC-RAPD đã được chọn lọc**

STT	Tên mỗi UBC-RAPD	Trình tự 5'-3'	Nhiệt độ nóng chảy ( $T_m$ )
1	UBC#424	ACGGAGGTTC	32°C
2	UBC#428	GGCTGCGGTA	34°C
3	UBC#434	TCGCTAGTCC	32°C
4	UBC#442	CTACTCGGTT	30°C
5	UBC#452	CTAATCACGG	30°C
6	UBC#453	AGTACAAGGG	30°C
7	UBC#458	CTCACATGCC	32°C
8	UBC#460	ACTGACCGGC	34°C
9	UBC#463	AGGCGGAAGC	34°C
10	UBC#465	GGTCAGGGCT	32°C
11	UBC#466	TTCTTAGCGG	30°C
12	UBC#467	AGCACGGGCA	34°C
13	UBC#469	CTCCAGCAA	30°C
14	UBC#475	CCAGCGTATT	30°C
15	UBC#476	TTGAGGCCCT	32°C
16	UBC#495	CTTTCCTTCC	30°C
17	UBC#497	GCATAGTGCG	32°C
18	UBC#498	GACAGTCCTG	32°C

Mỗi phản ứng khuếch đại DNA (PCR) (10  $\mu$ L) bao gồm các thành phần: 16,75 mM  $MgCl_2$  (Bioline-Meridian, UK); 6,7 mM deoxyribonucleotide triphosphate mix (Bioline-Meridian, UK); 2X MyTaq Mix (Meridian Bioscience, USA); 10 pmol của mỗi UBC-RAPD; 5-10 ng/ $\mu$ L của DNA tổng số và nước cất. Chu kỳ phản ứng được thực hiện lần lượt theo các bước: 95°C trong 5 phút (1 chu kỳ); 95°C trong 1 phút, 35°C trong 2 phút, 72°C trong 2 phút (40 chu kỳ) và 72°C trong 10 phút (1 chu kỳ). Sản phẩm PCR sau đó được nhuộm với SYBR Green I rồi điện di trên 2% agarose gel và quan sát dưới ánh sáng UV của hệ thống đọc gel (Vilber, Pháp). GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Scientific) được sử dụng để ước lượng kích thước của các đoạn DNA (marker chuẩn).

### Phân tích dữ liệu

Ma trận nhị phân được xây dựng bằng cách: ký hiệu số "1" đối với các băng DNA có xuất hiện (băng rõ ràng, không biến dạng), ký hiệu số "0" nếu không xuất hiện băng hoặc băng quá mờ. Kích thước mỗi băng DNA sẽ được ước tính dựa trên marker chuẩn. Dữ liệu ma trận này sau đó được dùng để tính toán các chỉ số đánh giá mỗi như: tổng số băng (TB), số băng đa hình (PB), số băng đơn hình (MB), tỉ lệ băng đa hình (PPB (%)), chỉ số đa dạng di truyền - PIC (Polymorphism Information Content), chỉ số sai khác của mỗi cặp môi - Rp (Resolving power), chỉ số đa dạng trung bình của các locus đa hình - MI (Marker Index) và chỉ số EMR (Effective multiplex ratio). Ngoài ra, ma trận nhị phân cũng được phân tích bằng phần mềm POPGENE 1.32 để tìm ra chỉ số mức độ đa dạng kỳ vọng (Nei's gene diversity - h), chỉ số đa dạng Shannon (Shannon's information index - I), số allele quan sát được ( $n_a$ ) và số allele hữu hiệu (Effective number of allele -  $n_e$ ) (Kumar *et al.*, 2014; Rasphone *et al.*, 2022). Tiếp đó, ma trận nhị phân được sử dụng để tính khoảng cách di truyền và phát triển cây phân cụm UPGMA trong phần mềm PHYLIP 3.698.

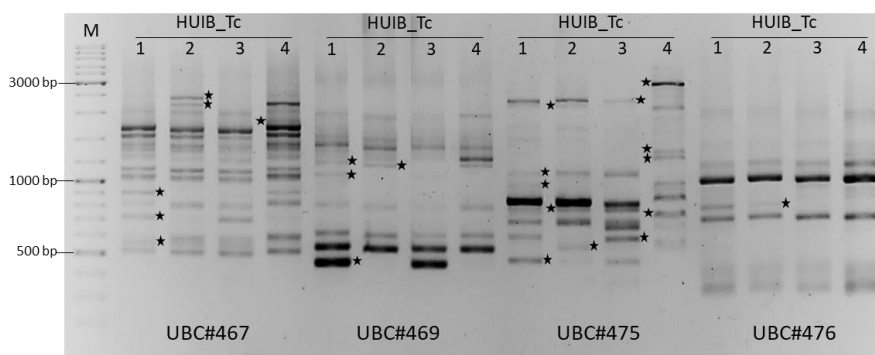
### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cả 4 giống lặc lầy đều có băng genomic DNA đậm, rõ nét, không bị smear, nồng độ sau khi tinh sạch trên 20 ng/ $\mu$ L với giá trị A260/A280 trên 1,8 (Hình 1). Do đó, các DNA này thích hợp để sử dụng cho PCR.

18 môi UBC-RAPD được chọn lọc trước đó đã được sử dụng để khuếch đại 4 mẫu DNA lặc lầy. Kết quả cho thấy cả 18 môi đều có khả năng khuếch đại DNA tốt, với 199 băng DNA được tạo thành (trung bình 11,056 băng/môi). Có 6 môi RAPD cho tỉ lệ băng đa hình trên 50% là UBC#434, UBC#442, UBC#452, UBC#463, UBC#475 và UBC#498. Trong đó, UBC#475 là môi có số băng khuếch đại đa hình (PB) nhiều nhất (12 băng đa hình) và có tỉ lệ băng đa hình (PPB) cao nhất là 85,714%. Ngược lại, môi UBC#476 có tỉ lệ băng đa hình thấp nhất (14,286%). Có 91 băng đa hình được tạo ra ở mỗi môi (trung bình 5,056 băng đa hình/môi) và tỉ lệ các băng đa hình trung bình là khá thấp (chỉ 45,23%) (Hình 2, Bảng 3). Tỉ lệ đa hình này cao hơn so với nghiên cứu trước đó của Adhikari và đồng tác giả (2014) trên đối tượng *Trichosanthes dioica* R. (31,03%), nhưng thấp hơn so với kết quả nghiên cứu đa hình các giống *Trichosanthes anguina* L. do Alam và đồng tác giả (2011) tiến hành (55,13%). Sự chênh lệch này là do sự khác biệt về nguồn gốc đối tượng nghiên cứu.



Hình 1. Genomic DNA của 4 giống lặc lầy sau khi tách chiết và tinh sạch



Hình 2. Sản phẩm PCR của 4 giống lặc lầy được khuếch đại bởi các môi UBC#467, UBC#469, UBC#475 và UBC#476

Trong đó: UBC#475 là môi có nhiều băng đa hình nhất và UBC#476 là môi có ít băng đa hình nhất. Ngôi sao dùng để chỉ vị trí các băng đa hình. M: GeneRuler DNA Ladder Mix (Thermo Scientific).

**Bảng 3. Các chỉ số đánh giá môi UBC-RAPD và chỉ số đa dạng di truyền của quần thể 4 giống lạc lầy**

STT	Tên môi UBC-RAPD	TB	PB	PPM (%)	MB	PIC	EMR	MI	Rp	n <sub>a</sub>	n <sub>e</sub>	h	I
1	UBC#424	14	5	35,714	9	0,152	1,786	0,271	3,500				
2	UBC#428	14	7	50,000	7	0,205	3,500	0,719	4,500				
3	UBC#434	11	7	63,636	4	0,250	4,455	1,114	4,000				
4	UBC#442	8	6	75,000	2	0,375	4,500	1,688	6,000				
5	UBC#452	9	5	55,556	4	0,236	2,778	0,656	3,500				
6	UBC#453	9	3	33,333	6	0,167	1,000	0,167	3,000				
7	UBC#458	11	3	27,273	8	0,136	0,818	0,112	3,000				
8	UBC#460	10	5	50,000	5	0,225	2,500	0,563	4,000				
9	UBC#463	13	7	53,846	6	0,221	3,769	0,834	4,500				
10	UBC#465	11	2	18,182	9	0,080	0,364	0,029	1,500				
11	UBC#466	9	3	33,333	6	0,139	1,000	0,139	2,000				
12	UBC#467	17	6	35,294	11	0,147	2,118	0,311	4,000				
13	UBC#469	10	4	40,000	6	0,163	1,600	0,260	2,500				
14	<b>UBC#475</b>	<b>14</b>	<b>12</b>	<b>85,714</b>	<b>2</b>	<b>0,357</b>	<b>10,286</b>	<b>3,673</b>	<b>8,000</b>				
15	UBC#476	7	1	14,286	6	0,071	0,143	0,010	1,000				
16	UBC#495	13	5	38,462	8	0,163	1,923	0,314	3,500				
17	UBC#497	8	4	50,000	4	0,203	2,000	0,406	2,500				
18	UBC#498	11	6	54,545	5	0,216	3,273	0,707	3,500				
<b>Trung bình</b>		<b>11,056</b>	<b>5,056</b>	<b>45,23</b>	<b>6,00</b>	<b>0,195</b>	<b>2,656</b>	<b>0,665</b>	<b>3,583</b>	<b>1,457</b>	<b>1,300</b>	<b>0,173</b>	<b>0,257</b>
<b>SD</b>										<b>0,499</b>	<b>0,375</b>	<b>0,202</b>	<b>0,292</b>

TB: Tổng số băng, PB: Số băng đa hình, MB: Số băng đơn hình, PPM: Tỷ lệ băng đa hình (%), PIC: Chỉ số đa dạng di truyền, Rp: Chỉ số sai khác của mỗi cặp môi, MI: Chỉ số đa dạng trung bình của các locus đa hình, EMR: Chỉ số multiplex hữu hiệu, n<sub>a</sub>: Số allele quan sát được, n<sub>e</sub>: Số allele hữu hiệu, h: Chỉ số mức độ đa dạng kỳ vọng, I: Chỉ số đa dạng Shannon

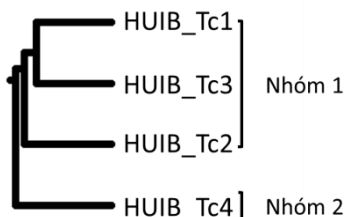
Khi chỉ số MI càng cao thì việc ứng dụng một kĩ thuật nào đó (ở nghiên cứu này là chỉ thị RAPD) để đánh giá lượng lớn các băng được khuếch đại là hiệu quả hơn so với việc chỉ dựa vào các băng đa hình (Powell et al., 1996). Trung bình chỉ số MI ở mỗi môi là 0,665. Trong đó, chỉ số MI cao nhất là 3,673 ở môi UBC#475, tiếp theo là môi UBC#434 và UBC#442 với giá trị MI lần lượt là 1,114 và 1,688. Trong khi đó, UBC#476 là môi có chỉ số MI thấp nhất (MI = 0,01) (Bảng 3).

Một chỉ thị phân tử hiệu quả là khi nó phân nhóm tốt các kiểu gen trong quần thể. Chỉ số Rp là đơn vị thể hiện sự tương quan giữa các kiểu gen với chỉ thị phân tử DNA, khi Rp càng cao thì chỉ thị phân tử phân nhóm kiểu gen càng hữu hiệu và ngược lại (Prevost và Wilkinson, 1999). Bên cạnh đó, chỉ số EMR cũng là thông số chỉ ra mức độ hiệu quả của môi (Srisamoot và Padsri, 2018). Dựa vào đó, môi UBC#475 là chỉ thị phân tử tốt nhất để phân chia kiểu gen của các giống lạc lầy do có giá trị Rp và EMR cao nhất (Rp = 8,0 và EMR = 10,286) (Bảng 3).

Theo nghiên cứu trước đó của Botstein và đồng tác giả (1980), một môi có chỉ số PIC > 0,5 thì được coi là có mức đa hình cao. Ngược lại, chỉ số PIC nằm trong khoảng 0,25 - 0,5 cho mức đa hình trung bình và với chỉ số PIC < 0,25 cho mức đa hình thấp. UBC#434, UBC#442 và UBC#475 là ba môi duy nhất cho thấy hệ số PIC nằm trong khoảng 0,25 - 0,5 và thể hiện mức độ đa hình trung bình. Trong khi đó, kết quả phân tích tất cả các môi cho thấy mức độ đa hình thấp, với chỉ số PIC trung bình là 0,195 và hầu hết các môi đều có chỉ số PIC nhỏ hơn 0,25 (Bảng 3). Tuy nhiên, giá trị PIC trung bình này là khá tương đồng với công bố của Adhikari và đồng tác giả (2014) (PIC = 0,192). Đồng thời, các giá trị n<sub>a</sub>, n<sub>e</sub>, h và I lần lượt là 1,457; 1,300; 0,173 và 0,257 trong nghiên cứu của chúng tôi là khá thấp. Điều này cho thấy sự ít đa dạng di truyền trong quần thể bốn giống lạc lầy. Mặc dù vậy, kết quả này là cao hơn so với kết quả của Adhikari và đồng tác giả (n<sub>a</sub> = 1,3103; n<sub>e</sub> = 1,1804; h = 0,1110 và I = 0,1670). Vì vậy, 18 môi UBC-RAPD được sử dụng là hiệu quả, thể hiện được mức độ đa hình và thích hợp để đánh giá sự đa dạng di truyền của quần thể 4 giống lạc lầy.

**Bảng 4. Khoảng cách di truyền giữa các giống lạc lấy từ kết quả phân tích phần mềm PHYLIP 3.698**

	HUIB_Tc1	HUIB_Tc2	HUIB_Tc3	HUIB_Tc4
HUIB_Tc1	0,0000	0,0195	0,0157	0,0217
HUIB_Tc2	0,0195	0,0000	0,0169	0,0190
HUIB_Tc3	0,0157	0,0169	0,0000	0,0191
HUIB_Tc4	0,0217	0,0190	0,0191	0,0000



**Hình 3. Cây UPGMA thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 4 giống lạc lấy**

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy rằng sự khác biệt di truyền giữa 4 giống lạc lấy là không nhiều. Khoảng cách di truyền giữa 4 giống dao động từ 0,0157 đến 0,0217. Giống HUIB\_Tc1 và HUIB\_Tc4 có sự khác biệt lớn nhất, với khoảng cách di truyền là 0,0217. Trong khi đó, giống HUIB\_Tc1 và HUIB\_Tc3 ít khác biệt nhất (khoảng cách di truyền là 0,0157). Bên cạnh đó, cây phân cụm UPGMA chia các giống lạc lấy thành hai nhóm, nhóm 1 bao gồm ba giống là HUIB\_Tc1, HUIB\_Tc2 và HUIB\_Tc3; nhóm 2 chỉ gồm giống HUIB\_Tc4 (Hình 3). Vì các giống thuộc cùng một nhóm trên cây UPGMA sẽ cho thấy sự tương đồng di truyền cao hơn nên có thể nhận định rằng giống HUIB\_Tc4 có sự khác biệt di truyền nhiều hơn so với 3 giống còn lại. Nguyên nhân để giải thích là vì HUIB\_Tc4 là giống lai F1, do đó nó mang nhiều biến dị hơn so với các giống địa phương (HUIB\_Tc1) và giống thuần (HUIB\_Tc2 và HUIB\_Tc3). Trong công bố trước đó của Islam và đồng tác giả (2022) đã chỉ ra rằng ngày càng nhiều giống F1 mang các ưu thế lai được tạo ra trên thị trường, với mục đích tăng năng suất và chất lượng của lạc lấy.

Trong nghiên cứu này, mặc dù các giống được thu thập từ ba nước khác nhau là Việt Nam, Lào và Thái Lan nhưng sự khác biệt di truyền là không lớn. Điều này là do ngoài yếu tố vị trí địa lý thì các yếu tố khác như khả năng phát tán và các ảnh hưởng từ môi trường sống cũng có thể tạo nên sự khác biệt di truyền trong quần thể.

**KẾT LUẬN**

Sự ít khác biệt di truyền giữa 4 giống lạc lấy đã được đánh giá thông qua 18 mồi UBC-RAPD trong nghiên cứu này. Giá trị của các chỉ số PIC, EMR, MI, Rp, na, ne, h và I đã cho thấy các mồi được sử dụng là thích hợp. Trong số 18 mồi UBC-RAPD, UBC#475 là mồi cho kết quả đa hình cao nhất, với các chỉ số PIC, EMR, MI, Rp lớn nhất lần lượt là 0,357; 10,286; 3,673 và 8,000. Đặc biệt, giống lạc lấy lai F1 (HUIB\_Tc4) đã cho thấy có sự khác biệt di truyền so với 3 giống còn lại bao gồm một giống địa phương (HUIB\_Tc1) và hai giống thuần (HUIB\_Tc2 và HUIB\_Tc3).

*Lời cảm ơn:* Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ của nhóm nghiên cứu tiêu biểu Đại học Huế, mã số: NCTB.DHH.2024.03.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Adhikari S, Biswas A, Bandyopadhyay TK, Ghosh PD (2013). A preliminary report on the genetic variation in pointed gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb.) as assessed by random amplified polymorphic DNA. *Acta Biol Hung*, 65(2): 156-164.

Alam SS, Jahan N, Habib MA, Islam MN (2011). Cytogenetical and molecular characterization of five commercial varieties in *Trichosanthes anguina* L. *Cytologia*, 77(2):155-162.

Bobade AA, Thatte CV, Tijare RB (2022). *Trichosanthes cucumerina*: A perspective on various medicinal uses or activities. *GSC Biol Pharm Sci*, 20(03): 141-147.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis R (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32(3): 314-331.

Doyle J, Doyle J (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19(1): 11-15.

Ghorpade BB, Salokhe SS, Ghuge VG, Adsul AT (2022). Molecular Characterization of Different Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] genotypes by RAPD Markers. *J Biotechnol Bioinform Res*, 4(4): 1-6.

Goswami S, Tripathi V, Kumar N, Prakash A (2009). Molecular characterisation of dioecious *Trichosanthes dioica* roxb. using RAPD markers. *Indian J Genet*, 69(1): 76-78.

Ilakiya T, Premalakshmi V, Arumugam T, Sivakumar T (2022). Variability analysis in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) crosses under drought stress. *J Appl Nat Sci*, 14(S1): 49-52.

- Islam MR, Rahman MM, Pramanik S, Ferdousi J (2022). Heterosis studies in snake gourd (*Trichosanthes cucumerina* var. *anguina* L.). *Bangladesh J Agril Res*, 47(1): 1-12.
- Kumar A, Mishra P, Singh SC, Sundaresan V (2014). Efficiency of ISSR and RAPD markers in genetic divergence analysis and conservation management of *Justicia adhatoda* L, a medicinal plant. *Plant Syst Evol*, 300: 1409-1420.
- Osugwu AN, Aguoru CU, Omoigui LO, Olasan JO (2022). Amino acid Profile of *Trichosantes cucumerina* (L.) from four Geopolitical Zones in Nigeria. *J Exp Molec Biol*, 23(1), 37-45.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey SV, Rafalski A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed*, 2: 225-238.
- Prevost A, Wilkinson MJ (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet*, 98: 107-112.
- Sandhya S, Vinod KR, Sekhar JC, Aradhana R, Nath VS (2010). An updated review on *Tricosanthes cucumerina* L. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 1(2): 56-60.
- Srisamoot N, Padsri I (2018). Assessing genetic diversity of some *Anthurium andraeanum* Hort. cut-flower cultivars using ISSR markers. *Genom Genet*, 11(1&2): 1-8.
- Rasphone S, Ho NTH, Dang LT, Nguyen BLQ, Truong HTH (2022). Genetic diversity analysis of black pepper (*Piper* spp.) with RAPD markers. *HUJOS: Natural Science*, 131(1D): 49-59.
- Yang JY, Chien YY, Chiu YC, Mejia HM, Tan CM (2023). Chapter 7 - Diversity, distribution, and status of phytoplasma diseases in Taiwan. Tiwari AK, Caglayan K, Al-Sadi AM, Azadvar M, Abeysinghe S, eds. *Phytoplasma Diseases in Asian Countries, Diversity, Distribution, and Current Status*. Academic Press, 1: 149-168.

## EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF SOME SNAKE GOURD VARIETIES (*Trichosanthes cucumerina* L.)

Truong Thi Hong Hai<sup>1\*</sup>, Ho Thi Hoang Nhi<sup>1</sup>, Sonexay Rasphone<sup>2</sup>, Ho Ngoc Han<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, Hue University, Vietnam

<sup>2</sup>Savannakhet University, Laos

### SUMMARY

Snake gourd (*Trichosanthes cucumerina* L.) is a vegetable with high nutritional value and an important medicinal herb. In Vietnam, this plant is grown and used more and more. To improve the productivity and quality of snake gourd, the selection of local varieties and F1 hybrid varieties with hybrid advantages suitable for the conditions of Vietnam in general and Thua Thien Hue in particular should be focused on developing to serve the needs of farmers. However, knowledge about the genetic diversity of snake gourd is still very limited in Vietnam. In this study, DNA of four snake gourd varieties, including one local variety collected in Savannakhet, Laos; two F1 varieties from Thailand and one F1 variety from Vietnam, were extracted and purified. Then, RAPD primers were screened and RAPD markers were performed to evaluate the genetic differences between varieties. The PIC, EMR, MI, Rp, na, ne, h, and I indexes showed that 18 selected UBC-RAPD primers were suitable for studying genetic diversity. There were 199 amplified bands created, of which 91 were polymorphic. UBC#475 showed the highest level of polymorphism with PIC, EMR, MI, and Rp indexes of 0.357, 10.286, 3.673, and 8.000, respectively. In addition, the results of clustering tree analysis based on the UPGMA method have shown that the F1 hybrid variety (HUIB\_Tc4) has genetic differences compared to the remaining three varieties, the local variety (HUIB\_Tc1) and two pure varieties (HUIB\_Tc2 and HUIB\_Tc3).

**Keywords:** DNA marker, genetic diversity, RAPD, snake gourd, *Trichosanthes cucumerina*.

---

\* Author for correspondence: Tel: 0961423419; Email: tthai@hueuni.edu.vn