

## **ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN CÂY HOA DÂM BỤT (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) THU THẬP Ở HÀ NỘI VÀ HƯNG YÊN**

Phạm Thị Ngọc\*, Ngô Thị Hồng Tươi, Nguyễn Thị Bích Hồng, Đoàn Thu Thủy

*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: [ptngoc@vnua.edu.vn](mailto:ptngoc@vnua.edu.vn)

Ngày nhận bài: 05.12.2022

Ngày chấp nhận đăng: 18.04.2023

### **TÓM TẮT**

Nghiên cứu này nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu về đa dạng di truyền phục vụ công tác chọn tạo giống cây hoa dâm bụt. Hai mươi tư mẫu hoa dâm bụt (kí hiệu DB1 - DB24) thu thập ở Hà Nội và Hưng Yên được đánh giá 12 đặc điểm hình thái và đa dạng di truyền bằng 9 chỉ thị phân tử SSR và ISSR. Kết quả cho thấy các mẫu dâm bụt có sự đa dạng về hình thái lá và màu sắc hoa, với 5 nhóm màu sắc hoa chính là trắng, hồng, vàng, cam và đỏ. Màu đỏ chiếm ưu thế với 9 mẫu giống. Kết quả phân tích đa dạng di truyền dựa trên 12 chỉ thị hình thái cho thấy ở mức tương đồng 0,55, các mẫu giống được phân thành 05 nhóm, trong đó DB4 và DB20 ở 2 nhóm riêng biệt. 9 chỉ thị SSR và ISSR cho 33 alen với trung bình 3,67 alen/chỉ thị và 100% alen đa hình. Giá trị PIC của 9 chỉ thị dao động từ 0,05 đến 0,47 trong đó chỉ thị HB15 có giá trị PIC cao nhất. Dựa trên chỉ thị phân tử, ở mức tương đồng 0,64; 24 mẫu giống được chia thành 03 nhóm.

Từ khóa: Chỉ thị ISSR, SSR, đa dạng di truyền, *Hibiscus rosa sinensis*.

### **Genetic Diversity of *Hibiscus rosa-sinensis* L. accessions Collected in Hanoi and Hung Yen province**

### **ABSTRACT**

The study aims to evaluate for morphological characteristics and genetic diversity of hibiscus. Twenty-four Hibiscus accessions collected in Hanoi and Hung Yen provinces (denoted as DB1 - DB24) were evaluated based on 12 morphological markers and 9 molecular markers (SSR and ISSR). The results showed that Hibiscus accessions exhibited significant variation in leaf morphology and flower colors, with 5 flower color groups, i.e white, pink, yellow, orange and red. The red color was predominant with 9 accessions. The genetic diversity analysis using 12 morphological characteristics grouped hibiscus accessions into 5 groups at similarity coefficient of 0.55 similarity, of which DB4 and DB20 were in each separate group. Nine molecular markers SSR and ISSR produced 33 allens with average of 3.67 allens/markers and all were polymorphic. PIC values ranged from 0.05 to 0.47 in which HB15 marker had the highest PIC value. With the similarity coefficient at 0.64, 24 accessions were divided into 3 distinct clusters.

Keywords: Genetic diversity, *Hibiscus rosa-sinensis*, ISSR, SSR.

### **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

*Hibiscus* L. là một chi của bộ Hibisceae, thuộc họ Malvaceae (Borssum-Waalkes, 1966). Chi này có khoảng 300 loài mọc ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên khắp thế giới. Chúng có thể là dạng cây thân gỗ nhỏ hay thân bụi

hoặc thân thảo. *Hibiscus rosa-sinensis* L. từ lâu đã được trồng ở Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, các đảo ở Thái Bình Dương và hiện là một trong những loại cây bụi được trồng rộng rãi nhất ở khắp các vùng nhiệt đới với mục đích làm cây cảnh trang trí (Kimbrough, 1997). Loài này cũng là một loại cây trồng trong chậu rất quan

trọng ở châu Âu, Hoa Kỳ và các nước khu vực ôn đới khác, nơi nhiệt độ không xuống dưới 12°C.

*Hibiscus rosa-sinensis*, còn được gọi là Hoa hồng Trung Quốc (Rose of China) là dạng cây bụi thân gỗ có hoa sặc sỡ với nhiều biến thể về hình dạng và màu sắc hoa. Hoa có kích thước khác nhau, tùy thuộc vào giống và có thể là dạng cánh đơn hoặc kép. Có tới 75 dạng hoa của loài này đã được ghi nhận (Sharma & Sharma, 1962). Về mặt tế bào học, loài này có bộ nhiễm sắc thể dạng đa bội và dị bội cao (Singh & Khoshoo, 1989), thường được nhân giống bằng phương pháp nhân vô tính.

Ở Việt Nam, dâm bụt cũng là loài cây cảnh rất thông dụng, được trồng nhiều tại các khu vực ven biển do cây có biên độ sinh thái rất lớn, có khả năng chịu đựng được các điều kiện khí hậu khắc nghiệt cao: nắng nóng, mưa bão... Hoa dâm bụt ở nước ta chủ yếu thuộc loài *Hibiscus rosa sinensis*, hoa có màu đỏ tươi, nhị và vòi nhụy dài. Tuy nhiên hiện nay, ở một số vùng trồng cây cảnh lớn như Đà Lạt, Hà Nội, Hưng Yên... cũng có trồng một số giống dâm bụt hoa lớn, màu sắc rực rỡ như màu hồng, cam, vàng, trắng... và có cả dạng hoa cánh kép.

Cây hoa dâm bụt có nhiều lợi ích, như cánh hoa được sử dụng làm thuốc nhuộm tự nhiên cho thực phẩm và đồ uống (Oktiarni & cs., 2013); cánh hoa cũng chứa các khoáng chất, vitamin C và các chất chống oxy hóa rất có lợi cho sức khỏe con người (Ahad & cs., 2011; Raduan & cs., 2013; Meena & cs., 2014; Zubairi & Jaies, 2014). Ngoài ra, *Hibiscus* được sử dụng như một thành phần của các sản phẩm công nghiệp, biểu tượng tôn giáo và khu vực ở một số quốc gia (Magdalita & cs., 2011).

Mặc dù là cây trồng làm cảnh rất phổ biến nhưng cho đến nay có rất ít các tài liệu trong nước công bố các dữ liệu phân tích về đa dạng hình thái nguồn gen cây hoa dâm bụt ở nước ta. Chính vậy, việc nghiên cứu, đánh giá về các đặc điểm thực vật học của tập đoàn cây hoa dâm bụt thu thập trong nước nhằm tạo nguồn cơ sở dữ liệu cho các nhà nghiên cứu cũng như người sản xuất và người tiêu dùng là rất cần thiết.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Hai mươi tư mẫu giống hoa dâm bụt thu thập tại Hà Nội và Hưng Yên được ký hiệu từ DB1 đến DB24.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thu thập và đánh giá đặc điểm hình thái

Các mẫu giống được thu thập như sau: mỗi mẫu lấy đủ cành, lá và hoa. Tiến hành ghi chép đặc điểm để nhận biết ngoài thiên nhiên như: kích thước cây, màu sắc hoa, lá... Đánh dấu để phân biệt giữa các mẫu, mỗi mẫu lưu trong một túi riêng.

Các chỉ tiêu theo dõi: chiều dài lá (cm); chiều rộng lá (cm); màu sắc lá; đường kính hoa (cm); số cánh hoa/bông; chiều dài cánh hoa (cm); chiều rộng cánh (cm); chiều dài vòi nhụy (cm); số thùy/nhụy hoa; chiều dài cuống hoa (cm); số nhị hoa (nhị/hoa); màu sắc hoa. Các tính trạng chất lượng được phân nhóm theo bảng 1.

#### 2.2.2. Tách chiết ADN hoa dâm bụt

ADN được tách chiết theo phương pháp của Martinez-Gonzalez & cs. (2017), trong đó bổ sung thêm bước ủ hỗn hợp mẫu lá sau nghiền với đệm CTAB ở 80°C trong 5 phút để biến tính và loại bỏ các hợp chất polysaccharide. ADN kết tủa được hoà tan trong 50µl TE 0.1X.

#### 2.2.3. Phương pháp PCR

Mẫu ADN tổng số được kiểm tra bằng điện di trước khi sử dụng cho phản ứng PCR. Chu trình nhiệt PCR được thực hiện với bước biến tính ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ, điều kiện cho mỗi chu kỳ tiếp theo như sau: biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn môi ở 38-50°C tùy từng môi trong 30 giây, kéo dài mạch ở 72°C trong 1 phút, kết thúc kéo dài mạch ở 72°C trong 7 phút. Giữ mẫu PCR ở nhiệt độ dưới 15°C (Patel & cs., 2012). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% sử dụng loading dye có sẵn chất nhuộm ADN của hãng ABT Gelred ở hiệu điện thế 150V trong thời gian 40 phút. Quan sát kết quả điện di dưới đèn UV và chụp ảnh.

**Bảng 1. Thang điểm sử dụng để phân nhóm các mẫu giống dâu bụt**

Tính trạng	Kiểu hình	Tính trạng	Kiểu hình
Hình dạng phiến lá	1 - Hình oval; 2 - Hình thoi; 3 - Hình tim	Độ bóng phiến lá	1 - Không bóng; 2 - Bóng; 3 - Rất bóng
Chóp lá	1 - Nhọn; 2 - Tù	Số răng cưa trên mép lá	1 - Răng cưa thưa: < 15 2 - Răng cưa trung bình: 15-20 3 - Răng cưa dày: 21-30 4 - Răng cưa rất dày: > 30
Gốc lá	1 - Tù; 2 - Tròn	Đặc điểm gân lá	1 - Phẳng 2 - Lồi
Màu sắc lá	1 - Xanh đậm; 2 - Xanh; 3 - Xanh nhạt	Màu chủ đạo của cánh hoa	1 - Trắng; 2 - Hồng; 3 - Vàng; 4 - Cam; 5 - Đỏ; 6 - Tím
Dạng hoa	1 - Hoa đơn (chỉ có 5 cánh) 2 - Đơn mào (có một cụm cánh hoa ở phía trên 5 cánh hoa cơ bản; như một bông hoa 2 tầng) 3 - Hoa kép (có cánh hoa phụ bên cạnh 5 cánh hoa cơ bản) 4 - Dạng hình lồng đèn	Số màu trên cánh hoa	1 - Màu 2 - Màu 3 - Màu
Kiểu nở hoa	1 - Nở hoàn toàn; các cánh tách rời nhau 2 - Nở không hoàn toàn (các cánh xếp chồng lên nhau)	Màu sắc của mắt cánh hoa (gốc cánh hoa)	0 - Không có; 1 - Trắng; 2 - Hồng; 3 - Vàng; 4 - Cam; 5 - Đỏ

**Bảng 2. Danh sách chỉ thị phân tử sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây hoa dâu bụt thu thập**

Tên mỗi	Mỗi xuôi	Mỗi ngược	Nhiệt độ gắn mỗi	Nguồn tham khảo
<b>Mỗi ISSR</b>				
HB-08	GAGAGAGAGAGAGG		44	Hammad (2009), Eldakak & cs. (2021)
HB-09	GTGTGTGTGTGTGG		38	Patel & cs. (2012), Eldakak & cs. (2021)
HB-10	GAGAGAGAGAGACC		38	Hammad (2009), Eldakak & cs. (2021)
HB-13	GAGGAGGAGGC		38	Eldakak & cs. (2021)
HB-15	GTCGTGTCGCGC		44	Patel & cs. (2012)
IG-10	AGAGAGAGAGAGAGAGT		48	Patel & cs. (2012)
IG-14	GAGAGAGAGAGAGAGAA		48	Patel & cs. (2012)
<b>Mỗi SSR</b>				
H-AMLP1	ACCGTTCTTTGTTTTAGATT	CAGGGAAAACCACAAAGGAA	44	Eldakak & cs. (2021)
H-DAT2	TGTC AAGCTGTCAAGGGTGA	CCGATCCGTGTTTTTCAAGT	50	Sharma & cs. (2016), Eldakak & cs. (2021)

#### 2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Excel 2016. Hệ số tương đồng di truyền Jaccard và phương pháp UPGMA trong NTSYSpc 2.1 được sử dụng để phân tích, đánh giá sự đa dạng di truyền và phân nhóm (cây di truyền). Đối với cây di truyền dựa trên chỉ thị hình thái, sử dụng 12 tính trạng hình thái theo dõi. Cây đa dạng di truyền

dựa trên 9 chỉ thị phân tử được xây dựng bằng phương pháp nhóm cặp không trọng số UPGMA trong đó các băng ADN thu được khi điện di sản phẩm PCR sử dụng mỗi chỉ thị được coi là các alen và được ký hiệu là 1 ở mẫu giống xuất hiện băng và 0 ở mẫu giống không có băng ADN tương ứng. Toàn bộ kiểu alen của tất cả mẫu giống được nhập trực tiếp bằng phần mềm NTedit. Dữ liệu số hóa sau đó được phân tích

mức độ tương đồng phần mềm NTSYS-pc version 2.1 từ đó nhóm các mẫu giống, các nhánh của cây đa dạng thể hiện mức độ tương đồng của nhóm.

Hệ số hàm lượng thông tin đa dạng PIC (Polymorphic Information) của mỗi chỉ thị được tính theo công thức:  $PIC(i) = 1 - \sum P_{ij}^2$  (Weir, 1996). Trong đó:  $P_{ij}$  là tần suất alen thứ  $j$  với locus SSR  $v$  thứ  $i$ .

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đa dạng hình thái của các mẫu giống dâm bụt

Dựa trên 12 đặc điểm hình thái của lá và hoa, 24 mẫu giống dâm bụt thu thập được phân nhóm như ở bảng 3. Kết quả cho thấy có sự đa dạng khá cao về cả đặc điểm hình thái lá và hoa. Theo đó, kiểu hình phiến lá chiếm ưu thế là dạng hình oval, với 18 mẫu giống, chiếm 70,83%. Trong số này có 03 mẫu giống có lá dạng hình oval hơi tròn là DB4, DB8 và DB10. Có 04 mẫu giống lá có dạng hình thoi (DB15, DB17, DB18 và DB23), 02 mẫu giống có phiến lá dạng hình tim là DB3 và DB22.

Hình dạng chóp lá của các mẫu giống có hai dạng là tù và nhọn, các mẫu giống có phiến lá dạng hình oval và hình tim đều có chóp lá dạng nhọn, với 21 mẫu giống; 03 mẫu giống phiến lá dạng oval hơi tròn (DB4, DB8 và DB10) thì có chóp lá tù, chiếm tỉ lệ 12,5%. Hình dạng gốc lá của hầu hết các mẫu giống đều là dạng tròn (chiếm 87,5%), chỉ có các mẫu giống DB15, DB16, DB20 là gốc tù. Đặc điểm gân lá của tất cả các mẫu giống dâm bụt đều là gân lá lồi.

Cấu tạo, đặc điểm hình thái lá (màu sắc lá, đặc điểm mép lá,...) là một trong những đặc điểm quan trọng để đánh giá, phân biệt giữa các nhóm giống khác nhau. Kết quả thống kê ở bảng 4 cho thấy hình thái lá của các mẫu giống dâm bụt thu thập rất đa dạng, lá trưởng thành có kích thước chiều dài từ 2,8-9,43cm, ngắn nhất là giống DB18, dài nhất là DB1. Chiều rộng từ 1,54-8,56cm, hẹp nhất là DB18, rộng nhất là DB3.

Hầu hết các giống có lá màu xanh lục, chỉ có giống DB7, DB24 có màu xanh lục đậm và giống

DB16 có màu xanh lục sáng. Tất cả các mẫu giống lá đều có gân lồi. Còn về mức độ bóng của phiến lá, 19 mẫu (chiếm 79,17%) có phiến lá không bóng; có 03 mẫu có phiến lá bóng là DB3, DB12 và DB17; 02 mẫu có phiến lá rất bóng (DB4, DB10).

Sự đa dạng về hình thái lá còn thể hiện ở đặc điểm răng cưa quanh mép lá. Tất cả các mẫu giống lá dâm bụt thu thập đều có mép lá xẻ răng cưa, tuy nhiên có sự biến thiên lớn về mức độ sâu và số lượng răng cưa quanh mép lá. Dựa vào sự biến thiên về số lượng răng cưa trên lá, chúng tôi tạm chia thành 04 nhóm đó là: 1 - răng cưa thưa: < 15; 2 - răng cưa trung bình: 15-20; 3 - răng cưa dày: 21-30; 4 - răng cưa rất dày: > 30. Kiểu răng cưa dày chiếm ưu thế, với 11 trên tổng số 24 mẫu giống thu thập, tiếp theo là dạng thưa và trung bình, với lần lượt là 5 và 6 mẫu giống cho mỗi loại. Dạng không có răng cưa và răng cưa rất dày chỉ có 1 mẫu giống cho mỗi loại, với DB4 là mẫu có lá không có răng cưa và DB3 là mẫu có lá có viền xẻ răng cưa dày (Bảng 4).

Hình thái hoa có sự đa dạng rất lớn ở tất cả các tính trạng nghiên cứu, đặc biệt là về màu sắc hoa. Qua phân tích cho thấy, 24 mẫu giống dâm bụt thu thập có 5 nhóm màu sắc hoa, trong đó nhóm màu đỏ chiếm ưu thế với 37,5%. Một số mẫu giống trên cánh chỉ có một màu (DB1, DB8, DB12, DB14, DB18). Những mẫu giống khác ngoài màu chính (chủ đạo) trên cánh hoa còn có thể xuất hiện các sọc, gân khác màu hoặc gam màu xen kẽ (DB2, DB3, DB4, DB5...). Bên cạnh màu sắc cánh hoa, tâm hoa là một chỉ tiêu khá đặc trưng của các mẫu giống hoa dâm bụt. Tâm hoa dâm bụt thường có màu khác với màu cánh hoa như là điểm nhấn ở phần trung tâm của bông hoa. Phần lớn các mẫu giống nghiên cứu có họng hoa màu đỏ nhưng sẫm.

Cánh hoa dâm bụt được chia thành 3 nhóm là nhóm cánh đơn, nhóm cánh kép và nhóm cánh dạng mào gà. Trong số 24 mẫu giống thu thập, dạng cánh chiếm ưu thế là dạng cánh đơn, với 18 mẫu giống, đây là dạng cánh đặc trưng của dâm bụt, với 5 cánh/hoa. Chỉ có 01 mẫu giống dạng mào gà (DB4) và còn lại 05 mẫu giống có dạng cánh kép, bao gồm DB5, DB7, DB12, DB13, DB24.

Hình dạng hoa của tất cả các mẫu giống đều là dạng hình kèn, tuy nhiên chúng có sự biến thiên rất lớn về mức độ sâu của họng hoa cũng như mức độ cong của cánh hoa khi nở. Cây dâm bụt thuộc nhóm ra hoa liên tục với số lượng lớn, tuy nhiên độ bền hoa chỉ từ một đến hai ngày.

Dựa trên những số liệu trong bảng 5 cho thấy các mẫu giống hoa dâm bụt có sự chênh lệch lớn về kích thước cánh hoa. Các mẫu giống hoa cánh đơn có chiều dài trung bình cao nhất, dao động từ 5,68-8,9cm, chiều rộng từ 1,1-7,76cm, chiều dài vòi nhụy từ 6,1-9,64cm.

So với những kết quả nghiên cứu đánh giá đa dạng hình thái của loài *Hibiscus rosa-sinensis* như của Slamet (2018), Tapkir (2022) thì các mẫu giống dâm bụt được thu thập ở Hà Nội và Hưng Yên có sự đa dạng tương tự về màu sắc, hình dạng hoa, kiểu hoa...

### 3.2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền

#### 3.2.1. Phân tích đa dạng kiểu hình của các mẫu giống dâm bụt

Chỉ tiêu về hình thái là một trong những chỉ tiêu quan trọng được ứng dụng rộng rãi trong đánh giá đa dạng di truyền. Dựa trên 12 tính trạng hình thái về lá và hoa (Bảng 3), 24 mẫu giống dâm bụt thu thập được phân tích mức độ đa dạng di truyền bằng phần mềm NTSYS 2.1. Kết quả (Hình 3) cho thấy 24 mẫu giống dâm bụt có hệ số tương đồng dao động từ 0,39 đến 1,00. Theo đó, ở mức độ tương đồng 0,55, các mẫu giống được chia thành 05 nhóm: nhóm I: DB20, nhóm II: DB4; Nhóm III: DB12, DB7, DB24, DB13, và DB5; Nhóm IV: DB3 và DB22; Nhóm V: gồm 15 mẫu giống còn lại. Trong đó, DB1 và DB9 là 2 mẫu giống có mức độ tương đồng cao nhất, với hệ số tương đồng là 1,00. So sánh với kết quả phân nhóm dựa trên các đặc điểm hình thái ở bảng 3 và bảng 5 cho thấy có sự tương đồng khá cao. DB20 là mẫu giống duy nhất có kiểu hình hoa lồng đèn, DB4 cũng là mẫu giống duy nhất có dạng hoa mào gà, do vậy thuộc 1 nhóm riêng (nhóm I và II). Nhóm III là những mẫu giống có kiểu hoa cánh kép. Nhóm V là những hoa có dạng cánh đơn, trong đó DB1 và DB9 là 2 mẫu giống có đặc

điểm kiểu hình hoa gần như giống nhau, chỉ khác về độ đậm của màu sắc cánh hoa (màu hồng). Hai mẫu giống DB3 và DB22 thuộc nhóm 3 cũng có các đặc điểm hình thái lá và hoa tương tự như nhau.

#### 3.2.2. Đa dạng di truyền của tập đoàn dâm bụt thu thập dựa trên chỉ thị phân tử

Sau khi tách ADN tổng số chúng tôi kiểm tra mức độ tinh sạch và nguyên vẹn bằng kỹ thuật điện di và đo quang phổ Nanodrop. Kết quả điện di (Hình 4) cho thấy 24 mẫu ADN tổng số thu được xuất hiện vạch băng rõ ràng, kích thước lớn, ít bị đứt gãy do đó đáp ứng tốt cho mục đích sử dụng làm ADN khuôn cho chỉ thị SSR và ISSR.

Bảy chỉ thị ISSR và 02 chỉ thị SSR đã được sử dụng để phân tích mối quan hệ di truyền của 24 mẫu giống dâm bụt thu thập. Kết quả phân tích sản phẩm PCR trên gel agarose 2% cho thấy tất cả các mẫu đều có đa hình (Hình 4-7).

Các chỉ thị đã tạo ra tổng số 33 alen và tất cả đều là alen đa hình, như vậy tỉ lệ đa hình ở cả 09 mẫu đều đạt 100% (Bảng 6). Trung bình mỗi chỉ thị cho 3,67 alen đa hình. HB08 là chỉ thị có số alen đa hình cao nhất, với 8 alen và cũng là chỉ thị có tổng số alen trên tất cả 24 mẫu giống là cao nhất (44 alen). Tiếp theo là mỗi HB13 và IG10, với 04 alen đa hình. Các chỉ thị còn lại đều có 03 alen đa hình. Số alen trung bình cho mỗi mẫu giống dao động từ 0,75 đến 1,83, trung bình đạt 1,23 alen/mẫu giống. Hammad (2009), đã sử dụng 10 chỉ thị ISSR để phân tích đa dạng di truyền của 4 mẫu giống dâm bụt với 4 màu hoa khác nhau (đỏ, hồng, cam và trắng) cho kết quả 9/10 chỉ thị cho vạch băng, với tổng số băng thu được là 89, trong đó có 39 băng đa hình. Như vậy so với kết quả nghiên cứu của Hammad, các giá trị về tỷ lệ đa hình của các locus và số băng nhân bản được của chúng tôi đều cao hơn.

Giá trị PIC thể hiện sự đa dạng di truyền của các alen trên từng locus. Giá trị PIC càng lớn thì sự đa hình càng cao và ngược lại. Kết quả cho thấy giá trị PIC của 9 chỉ thị SSR và ISSR dao động từ 0,15-0,47. Hệ số PIC trung bình của 9 mẫu đạt 0,277.

Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây hoa dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) thu thập ở Hà Nội và Hưng Yên

**Bảng 3. Phân loại 24 mẫu giống dâm bụt thu thập dựa trên các đặc điểm hình thái**

Tính trạng	Phân lớp kiểu hình	Số lượng mẫu	Tần số (%)	Tính trạng	Phân lớp kiểu hình	Số lượng mẫu	Tần số (%)
Hình dạng phiến lá	1 - Hình oval	18	75,00	Đặc điểm gân lá	1 - Phẳng	0	0
	2 - Hình thoi	4	16,67		2 - Lồi	24	100
	3 - Hình tim	2	8,33				
Chóp lá	1 - Nhọn	21	91,67	Dạng hoa	1 - Hoa đơn (chỉ có 5 cánh)	18	75,0
	2 - Tù	3	8,33		2 - Mào gà (có một cụm cánh hoa ở phía trên 5 cánh hoa cơ bản, như một bông hoa 2 tầng);	1	4,17
					3 - Hoa kép (có cánh hoa phụ bên cạnh 5 cánh hoa cơ bản);	5	20,83
Gốc lá	1 - Tù	3	12,50	Màu chủ đạo của cánh hoa	1 - Trắng	1	4,17
	2 - Tròn	21	87,50		2 - Hồng	4	16,67
					3 - Vàng	5	20,83
					4 - Cam	5	20,83
					5 - Đỏ	9	37,50
					6 - Tím	0	0
Màu sắc lá	1 - Xanh đậm	2	8,33	Màu sắc của mắt cánh hoa (gốc cánh hoa)	0 - Không có	12	50,0
	2 - Xanh	21	87,5		1 - Trắng	0	0
	3 - Xanh nhạt	1	4,17		2 - Hồng	4	16,67
					3 - Vàng	0	0
					4 - Cam	0	0
5 - Đỏ	8	33,33					
Độ bóng phiến lá	1 - Không bóng	20	83,33	Số màu trên cánh hoa	1 màu	11	45,83
	2 - Bóng	2	8,33		2 màu	9	37,5
	3 - Rất bóng	2	8,33		3 màu	4	16,67
Số răng cưa trên mép lá	1 - Thừa: < 15	6	25,0	Kiểu nở hoa	1 - Nở hoàn toàn, các cánh tách rời nhau;	5	20,83
	2 - Trung bình: 15-20	6	25,0		2 - Nở không hoàn toàn (các cánh xếp chồng lên nhau)	19	79,17
	3 - Dày: 21 - 30	11	45,83				
	4 - Rất dày: > 30	1	4,17				

**Bảng 4. Đặc điểm hình thái lá của các mẫu giống dâm bụt thu thập**

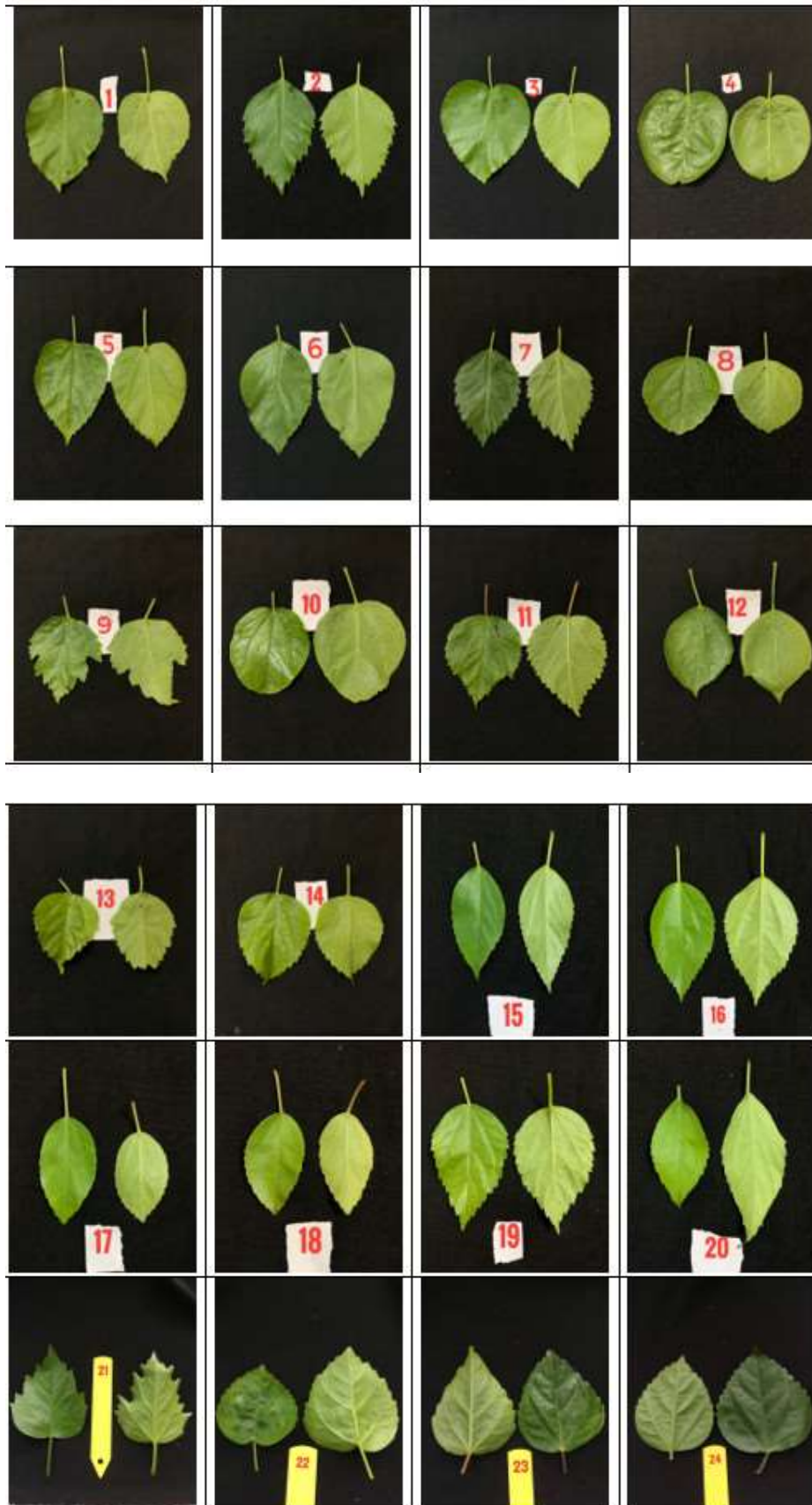
Ký hiệu mẫu	Màu sắc lá	Chiều dài phiến lá (cm)	Chiều rộng phiến lá (cm)	Chiều dài cuống lá (cm)	Dạng phiến lá	Dạng chóp lá	Dạng gốc lá	Đặc điểm mép lá (răng cưa)	Đặc điểm gân lá	Độ bóng phiến lá	Bề mặt phiến lá
DB1	Xanh	9,43 ± 0,45	7,30 ± 0,28	4,43 ± 0,07	Oval	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Cong
DB2	Xanh	9,08 ± 0,22	5,23 ± 0,34	1,79 ± 0,06	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB3	Xanh	8,15 ± 0,37	8,56 ± 0,50	3,45 ± 0,07	Tim	Nhọn	Tròn	Rất dày	Lồi	Bóng	Cong
DB4	Xanh	6,61 ± 0,26	7,67 ± 0,25	3,14 ± 0,08	Oval	Tù	Tròn	Thưa	Lồi	Rất bóng	Cong
DB5	Xanh	7,96 ± 0,21	7,33 ± 0,16	3,19 ± 0,14	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB6	Xanh	9,07 ± 0,68	7,16 ± 0,34	2,50 ± 0,27	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB7	Xanh đậm	8,01 ± 0,23	5,22 ± 0,16	1,81 ± 0,10	Oval	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Cong
DB8	Xanh	6,76 ± 0,24	4,95 ± 0,16	2,29 ± 0,07	Oval	Tù	Tròn	Thưa	Lồi	Không bóng	Cong
DB9	Xanh	7,17 ± 0,21	5,50 ± 0,21	2,18 ± 0,09	Oval	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Cong
DB10	Xanh	7,70 ± 0,23	7,33 ± 0,19	2,80 ± 0,16	Oval	Tù	Tròn	Thưa	Lồi	Rất bóng	Cong
DB11	Xanh	8,06 ± 0,20	6,42 ± 0,27	2,80 ± 0,08	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB12	Xanh	7,43 ± 0,26	5,59 ± 0,25	3,67 ± 0,09	Oval	Nhọn	Tròn	Thưa	Lồi	Bóng	Cong
DB13	Xanh	5,10 ± 0,26	3,73 ± 0,45	1,28 ± 0,08	Oval	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Cong
DB14	Xanh	7,94 ± 0,32	6,10 ± 0,40	2,48 ± 0,08	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB15	Xanh	6,48 ± 0,77	3,03 ± 0,39	1,51 ± 0,19	Thoi	Nhọn	Tù	Trung bình	Lồi	Không bóng	Phẳng
DB16	Xanh nhạt	7,21 ± 0,89	4,16 ± 0,52	2,10 ± 0,60	Oval	Nhọn	Tù	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB17	Xanh	3,22 ± 0,44	1,82 ± 0,26	1,22 ± 0,50	Thoi	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Phẳng
DB18	Xanh	2,8 ± 0,34	1,54 ± 0,21	1,08 ± 0,27	Thoi	Nhọn	Tròn	Thưa	Lồi	Không bóng	Cong
DB19	Xanh	5,77 ± 0,28	3,79 ± 0,23	1,42 ± 0,15	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB20	Xanh	4,84 ± 0,58	2,34 ± 0,19	1,56 ± 0,62	Thoi	Nhọn	Tù	Trung bình	Lồi	Không bóng	Phẳng
DB21	Xanh	8,91 ± 0,40	6,23 ± 0,46	3,18 ± 0,28	Oval	Nhọn	Tròn	Trung bình	Lồi	Không bóng	Phẳng
DB22	Xanh	6,39 ± 0,42	5,39 ± 0,46	2,30 ± 0,19	Tim	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong
DB23	Xanh	8,21 ± 0,40	6,27 ± 0,34	2,27 ± 0,31	Oval	Nhọn	Tròn	Thưa	Lồi	Không bóng	Cong
DB24	Xanh đậm	8,67 ± 0,48	7,10 ± 0,45	1,73 ± 0,41	Oval	Nhọn	Tròn	Dày	Lồi	Không bóng	Cong

Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây hoa dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) thu thập ở Hà Nội và Hưng Yên

**Bảng 5. Đặc điểm hình thái hoa của các mẫu giống dâm bụt thu thập**

Dạng hoa	Ký hiệu mẫu	Dài cánh (cm)	Rộng cánh (cm)	Dài vòi nhụy (cm)	Số chỉ nhị	Số thùy xé trên núm nhụy	Màu sắc chính của cánh hoa	Màu sắc góc cánh hoa	Số màu trên hoa	Hình dạng hoa	
Hoa cánh đơn	DB1	8,82 ± 0,08	7,7 ± 0,16	7,92 ± 0,15	67	5	Hồng tía	-	1	Hình kèn	
	DB2	7,10 ± 0,12	5,44 ± 0,09	6,90 ± 0,16	66	5	Đỏ	Đỏ thẫm	2	Hình kèn	
	DB3	8,32 ± 0,28	7,40 ± 0,23	8,00 ± 0,32	68	5	Vàng cháy	Đỏ thẫm	3	Hình kèn	
	DB6	8,75 ± 0,18	7,48 ± 0,27	7,86 ± 0,21	70	5	Đỏ tươi	Đỏ thẫm	2	Hình kèn	
	DB8	8,90 ± 0,22	7,76 ± 0,30	8,02 ± 0,19	68	5	Cam nhạt	-	1	Hình kèn	
	DB9	6,94 ± 0,27	5,40 ± 0,35	6,16 ± 0,24	72	5	Hồng nhạt	Hồng đậm	2	Hình kèn	
	DB10	8,48 ± 0,30	7,20 ± 0,27	7,88 ± 0,26	69	5	Vàng	Đỏ thẫm	2	Hình kèn	
	DB11	5,68 ± 0,15	4,50 ± 0,22	6,10 ± 0,16	71	5	Đỏ tươi	Đỏ thẫm	2	Hình kèn	
	DB14	8,70 ± 0,22	5,38 ± 0,29	8,88 ± 0,19	71	5	Vàng nhạt	-	1	Hình kèn	
	DB15	6,98 ± 0,19	5,18 ± 0,28	9,08 ± 0,28	73	5	Đỏ nhạt	-	1	Hình kèn	
	DB16	6,56 ± 0,18	4,36 ± 0,18	8,40 ± 0,22	73	5	Cam nhạt	Đỏ thẫm	3	Hình kèn	
	DB17	6,38 ± 0,19	3,22 ± 0,19	8,48 ± 0,19	72	5	Hồng	Hồng đậm	2	Hình kèn	
	DB18	6,50 ± 0,16	3,54 ± 0,11	8,42 ± 0,26	75	5	Trắng	-	1	Hình kèn	
	DB19	7,30 ± 0,25	5,28 ± 0,25	9,36 ± 0,24	76	5	Đỏ	-	1	Hình tròn	
	DB20	7,04 ± 0,21	1,10 ± 0,16	9,64 ± 0,11	80	5	Đỏ	Sọc trắng	2	Hình lồng đèn	
	DB21	7,34 ± 0,27	6,32 ± 0,19	6,52 ± 0,19	74	5	Đỏ tươi	Đỏ thẫm	2	Hình kèn	
	DB22	7,66 ± 0,15	7,40 ± 0,16	8,74 ± 0,11	72	5	Cam nhạt	Đỏ thẫm	3	Hình kèn	
	DB23	8,70 ± 0,16	7,54 ± 0,29	7,88 ± 0,15	76	5	Cam	-	1	Hình kèn	
	Mào gà	DB4	5,46 ± 1,95	4,65 ± 0,72	3,68 ± 0,17	71	5	Hồng	Hồng đậm	2	Hình tròn
	Hoa cánh kép	DB5	6,16 ± 0,24	4,40 ± 0,37	3,92 ± 0,24	35	4	Cam	-	1	Hình tròn
DB7		4,40 ± 0,16	3,44 ± 0,17	3,18 ± 0,19	30	4	Đỏ tươi	-	1	Hình tròn	
DB12		5,45 ± 0,13	3,36 ± 0,30	0	0	0	Vàng	-	1	Hình tròn	
DB13		5,02 ± 0,19	3,24 ± 0,24	4,06 ± 0,11	37	4	Đỏ	-	2	Hình tròn	
DB24		4,58 ± 2,19	3,58 ± 1,96	4,14 ± 0,11	67	5	Vàng	Hồng đậm	3	Hình tròn	



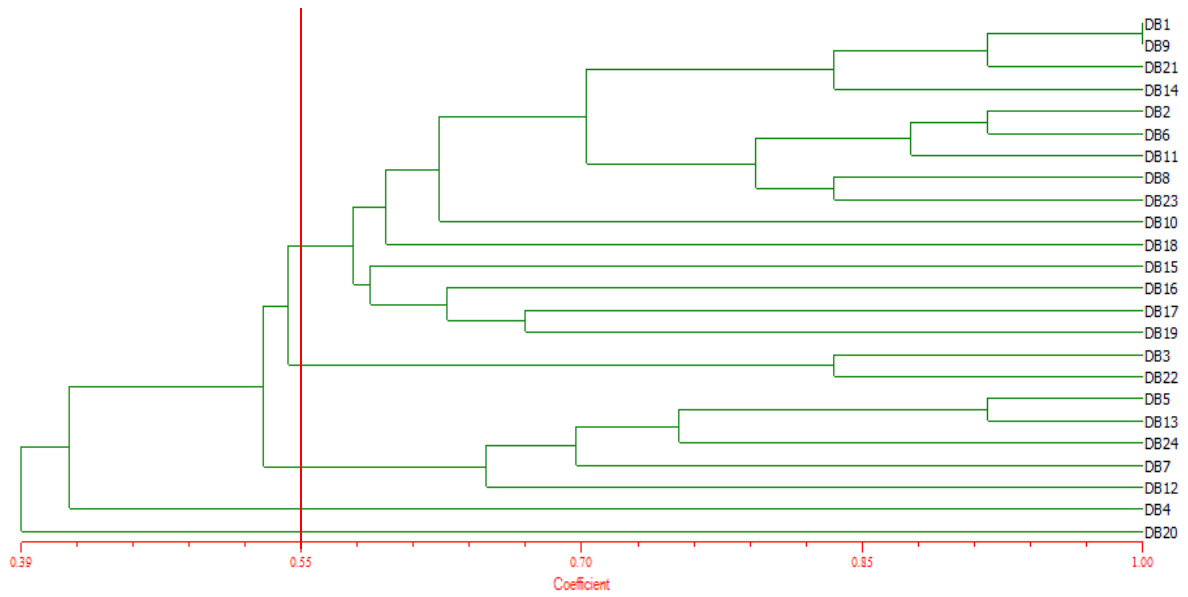


Hình 1. Hình thái lá của các mẫu giống dâu bự thu thập

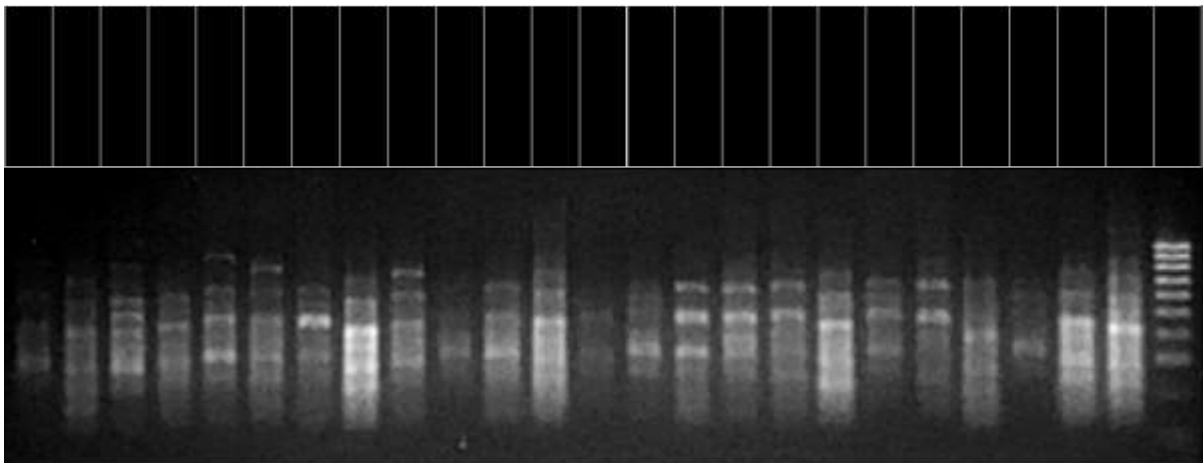
Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây hoa dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) thu thập ở Hà Nội và Hưng Yên



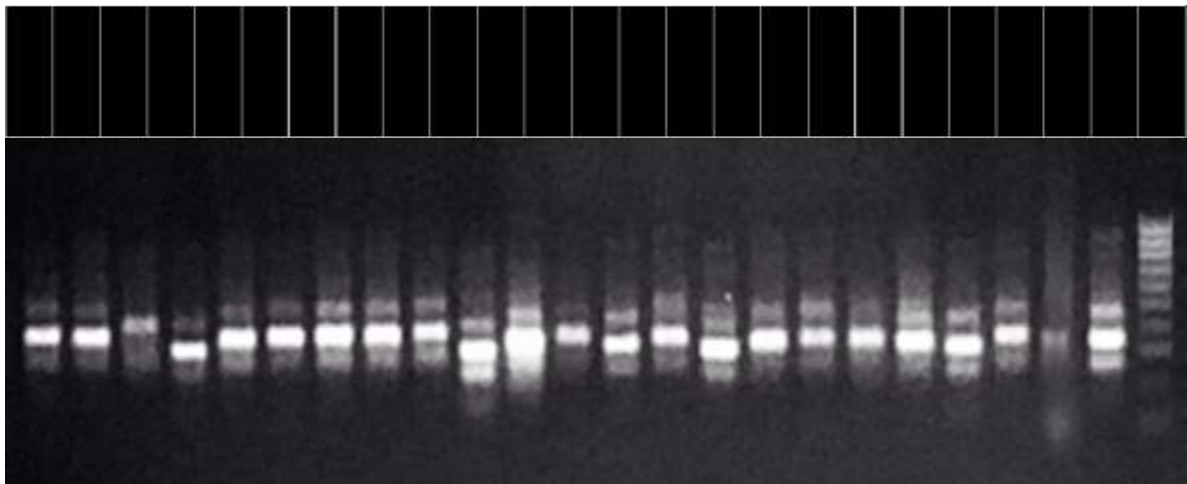
Hình 2. Hình thái hoa của các mẫu giống dâm bụt thu thập



**Hình 3. Cây đa dạng di truyền của 24 mẫu giống dựa trên các chỉ thị hình thái**



**Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR 24 mẫu dâm bột sử dụng chỉ thị HB08**



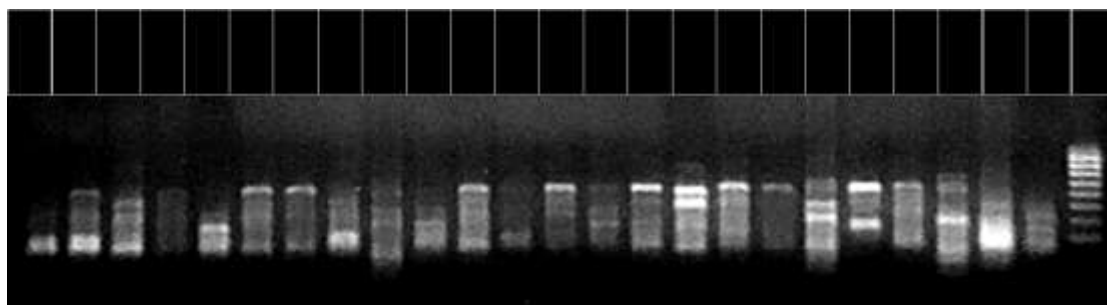
**Hình 5. Kết quả điện di sản phẩm PCR 24 mẫu dâm bột sử dụng chỉ thị HB13**



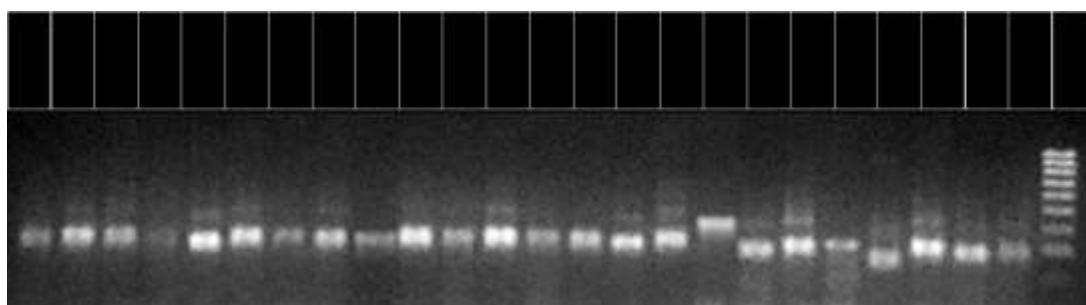
Kết quả đánh giá đa dạng di truyền (Hình 8) cho thấy, 24 mẫu giống dâm bụt có hệ số tương đồng dao động từ 0,56 đến 0,88. Theo đó, ở mức độ tương đồng 0,64, các mẫu giống được chia thành 03 nhóm: Nhóm I: DB3; Nhóm II: DB5; Nhóm III: là 22 mẫu giống còn lại, trong số đó DB10 và DB12, DB9, DB15 và DB16, DB7 và DB13 giống nhau ở hệ số tương đồng di truyền là 0,88.

So với kết quả phân loại dựa trên các đặc điểm hình thái lá và hoa của 24 mẫu giống dâm bụt thu thập thì sự phân nhóm cây di truyền

dựa trên các chỉ thị phân tử không thể hiện được sự tương đồng về hình thái giữa các mẫu giống trong cùng một nhóm, ví dụ như các mẫu giống thuộc nhóm III có cả dạng hoa cánh đơn, cánh kép và mào gà đồng thời cũng khác nhau về màu sắc. Tuy nhiên, cũng có một số sự tương đồng giữa hai cây di truyền, ví dụ như DB7 và DB13 có hệ số tương đồng di truyền là 0,88 (hệ số cao nhất dựa trên các chỉ thị phân tử) thì trong phân nhóm di truyền dựa trên chỉ thị hình thái 02 mẫu giống này cũng nằm cùng nhóm III và có hệ số tương đồng khá cao (0,65).



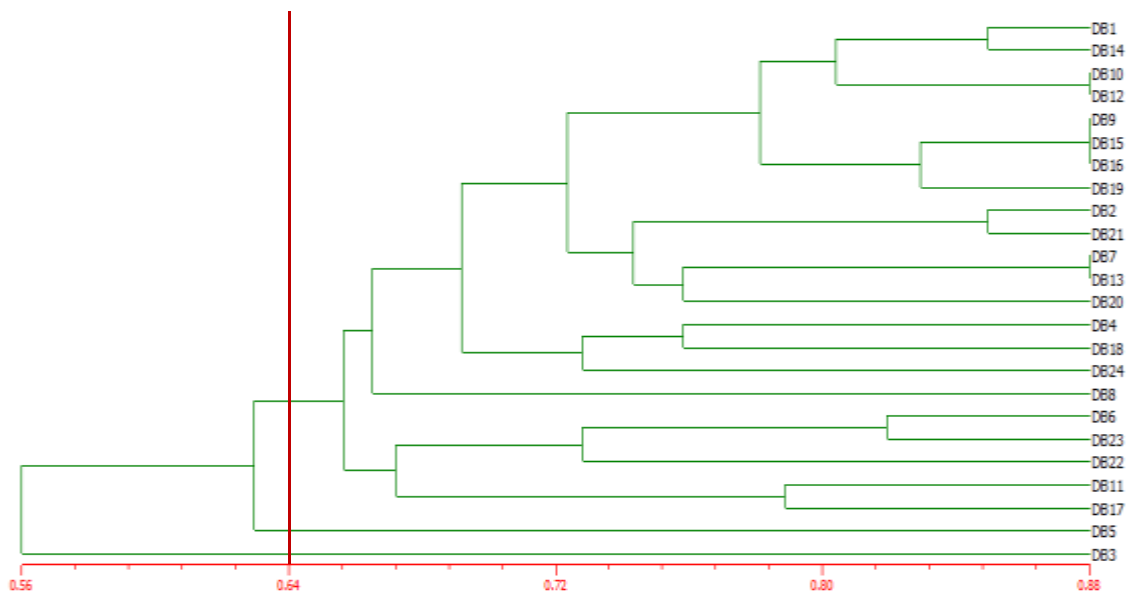
Hình 6. Kết quả điện di sản phẩm PCR 24 mẫu dâm bụt sử dụng chỉ thị IG10



Hình 7. Kết quả điện di sản phẩm PCR 24 mẫu dâm bụt sử dụng chỉ thị H-AMLFP1

Bảng 6. Giá trị hàm lượng thông tin đa dạng (PIC) của các chỉ thị sử dụng

Chỉ thị	Số alen	Số alen đa hình	Tỷ lệ đa hình (%)	Tổng số alen	Số alen/mẫu giống	Giá trị PIC
HB08	8	8	100	44	1,83	0,31
HB09	2	2	100	22	0,92	0,44
HB10	3	3	100	24	1,00	0,34
HB13	4	4	100	44	1,83	0,05
HB15	3	3	100	40	1,67	0,47
IG10	4	4	100	18	0,75	0,24
IG14	3	3	100	25	1,04	0,32
H-AMLFP1	3	3	100	27	1,13	0,17
HDAT2	3	3	100	22	0,92	0,15
Tổng số	33	33		266		
Trung bình	3,67	3,67		29,55	1,23	0,277



Hình 8. Cây đa dạng di truyền của 24 mẫu giống bằng chỉ thị phân tử

#### 4. KẾT LUẬN

Đánh giá đặc điểm hình thái của 24 mẫu giống hoa dâm bụt có sự đa dạng tương đối lớn, đặc biệt là về kích thước, kiểu hình và màu sắc hoa cũng như về hình dạng và kích thước lá.

Kết quả phân tích đa dạng di truyền bằng 12 chỉ thị hình thái ở mức tương đồng 0,55, các mẫu giống được chia thành 05 nhóm. Phân tích bằng chỉ thị phân tử ở mức độ tương đồng 0,64, các mẫu giống được chia thành ba nhóm.

Phân tích mối quan hệ di truyền của tập đoàn dâm bụt thu thập bằng 9 mỗi SSR và ISSR cho thấy tất cả các alen đều là alen đa hình, trung bình mỗi chỉ thị cho 3,67 alen đa hình. Giá trị PIC đạt trung bình là 0,277. Như vậy, các mẫu dâm bụt thu thập được khá đa dạng về nguồn gen. So với kết quả phân loại dựa trên các đặc điểm hình thái lá và hoa thì sự phân nhóm cây di truyền dựa trên các chỉ thị phân tử không thể hiện được sự tương đồng về hình thái giữa các mẫu giống trong cùng một nhóm.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài: “Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây hoa dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)”, mã số T2022-74-63.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahad A.H., Yesupadam P., Ramyasree P., Suma Padmaja B., Sravanthi M. & Guru Prakash P. (2011). Isolation and physicochemical characterization of *Hibiscus rosasinensis* leaves mucilage. *International Journal of Current Research*. 3(4): 210-212. ISSN. 0975-833X.
- Eldakak M.M., Younes S., Shalabi H.G., Eltayeb H. & Yacout M.M. (2021). Molecular Marker Analysis Tools as A Cornerstone for the Phylogenetic Analysis of *Hibiscus* Species in Egypt. *New Valley Journal of Agricultural Science*. 1(2): 63-75.
- Hammad I. (2009). Genetic Variation among *Hibiscus Rosa-sinensis* (Malvaceae) of Different Flower Colors Using Issr and Isozymes. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(1): 113-125. ISSN 1991-8178.
- Kimbrough W.D. (1997). *Hibiscus*. In *Encyclopedia Americana*, Grolier Inc., Danbury, Connecticut. p. 174.
- Magdalita P.M., Gonzales-Lee V.R.C. & Pimentel R.B. (2011). Development and horticultural characteristics of hibiscus hybrids' Women in Public Service Series'. *Philippine Journal of Crop Science*. 36(2): 56-62. ISSN : 0115-463X.
- Martinez-Gonzalez C.R., Ramirez-Mendoza R., Jimenez-Ramirez J., Gallegos-Vazquez C. & Luna-Vega I. (2017). Improved method for genomic DNA extraction for *Opuntia* Mill. (Cactaceae). *Plant Methods*. 13(82).
- Meena A.K., Jain A., Pandey K. & Singh R.K. (2014). Acute toxicity and genotoxic activity of *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract. *American Journal of*

- Phytomedicine and Clinical Therapeutics. 2(4): 524-529. ISSN 2321-2748.
- Oktiarni D., Ratnawati D. & Sari B. (2013). Pemanfaatan Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscusrosa-sinensis* Linn.) sebagai Pewarna Alami dan Pengawet Alami Pada Mie Basah. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. pp. 103-110.
- Patel R., Patel A., Vaghasiya D. & Nagee A. (2012). Elucidation of Genetic Diversity among Five Cultivars of *Hibiscus Rosa-Sinensis* Using Single Primer Amplification Reaction (Spar). Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSRJPBS). 1(4): 15-19.
- Raduan S.Z., Abdul Aziz M.W.H., Roslida A.H., Zakaria Z.A., Zuraini A. & Hakim M.N. (2013). Anti-inflammatory effects of *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Hibiscus rosasinensis* var. alba ethanol extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 5(4): 754-762. ISSN: 0975-1491.
- Sharma A.K. & Sharma A. (1962) Polyploidy and chromosome evolution of *Hibiscus*. La Cellule. 62: 281-300.
- Sharma H.K., Sarkar M., Choudhary S.B., Kumar A.A., Maruthi R.T., Mitra J. & Karmakar P.G. (2016). Diversity analysis based on agro-morphological traits and microsatellite based markers in global germplasm collections of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Industrial Crops and Products. 89: 303-315.
- Singh F. & Khoshoo T.N. (1989) Cytogenetic basis of evolution in garden Hibiscus. The Nucleus. 32: 62-67.
- Slamet A. (2018). The Diversity of *Hibiscus rosa-sinensis* based on Morphological Approach. Scientiae Educatia. Jurnal Pendidikan Sains. 7(1): 33-41.
- Tapkir S.A. (2022). *Hibiscus Rosa sinensis*: A review of Morphology of H. *Rosa sinensis* plant, its nutrients and pharmacological properties. Journal of emerging technologies and innovative research (JETIR). 9(2).
- Weir B. (1996) Genetic data analysis II: methods for discrete popula-tion genetic data. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Zubairi S.I. & Jaies N.S. (2014). Daun Hibiscus rosa sinensis: Analisis proksimat, aktiviti antioksidan dan kandungan bahan inorganik. Malaysian Journal of Analytical Sciences. 18(2): 260-270.