

ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG AXIT OLEANOLIC VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN ĐÌNH LĂNG LÁ NHỎ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) THU THẬP TẠI VIỆT NAM

Trịnh Việt Nga^{1,2}, Nguyễn Cao Kiệt¹, Bùi Minh Trí,
Phạm Thị Minh Tâm¹, Nguyễn Hữu Hồ², Huỳnh Văn Biết¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hàm lượng axit oleanolic và đa dạng di truyền của 8 mẫu giống đình lăng lá nhỏ được thu thập từ nhiều vùng khác nhau ở Việt Nam. Hàm lượng axit oleanolic trong lá được xác định bằng kỹ thuật HPLC. Đồng thời, tính đa dạng nguồn gen của 8 mẫu giống đình lăng lá nhỏ được thực hiện thông qua kỹ thuật ISSR-PCR. DNA tinh sạch của các mẫu giống được khuếch đại với 12 mồi ISSR. Kết quả chỉ ra rằng hàm lượng axit oleanolic ở mẫu D7 có giá trị cao nhất đạt 1,18%; sản phẩm khuếch đại PCR khi sử dụng mồi UBC841 và UBC844 của mẫu D7 có một băng DNA khác biệt hoàn toàn (tần suất khoảng 200 bp và 400 bp). Từ kết quả của kỹ thuật ISSR-PCR, cây quan hệ di truyền của 8 mẫu đình lăng lá nhỏ được xây dựng dựa trên ma trận và khoảng cách di truyền và mối tương đồng di truyền giữa các mẫu đã được thảo luận. Tám mẫu đình lăng được chia làm 4 nhóm: nhóm I gồm D1, D2; nhóm II gồm D5, D6, D7; nhóm III gồm D3, D4; nhóm IV gồm D8.

Từ khóa: Axit oleanolic, đình lăng lá nhỏ, ISSR, khác biệt di truyền.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) có nguồn gốc từ đảo Polynésie thuộc Thái Bình Dương, sau đó phát tán và phân bố rải rác khắp các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Võ Văn Chi và Trần Hợp, 1999). Cây đình lăng thuộc họ Ngũ gia bì (Araliaceae) có họ hàng với họ Nhân sâm (Võ Duy Huan và cs, 1998). Theo phân loại của Phạm Hoàng Hộ (2002), chi đình lăng bao gồm nhiều loài được trồng ở các nơi khác nhau. Mỗi loài có thành phần được chất và giá trị dược liệu khác nhau.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy trong đình lăng chứa thành phần hoạt chất chính thuộc nhóm saponin chủ yếu là axit oleanolic, được biết đến là thành phần có hoạt tính quyết định các tác dụng sinh học đối với cơ thể động vật và con người (Võ Duy Huan và cs, 1998; Nguyễn Thị Ánh Tuyết và cs, 2005). Axit oleanolic có các công dụng chính bao gồm chống viêm (Takagi và cs, 1980), ức chế tế bào ung thư (Yoshimi và cs, 1992), chống đông máu (Zaki và cs, 2016), chống oxy hóa (Zhang và cs, 2017). Chính vì thế, việc đánh giá hàm lượng axit oleanolic giữa các dòng trong loài đình lăng lá nhỏ là rất cần thiết để lựa chọn được nguồn giống có hàm lượng axit oleanolic cao.

Kỹ thuật ISSR được sử dụng khá rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng di truyền, đặc điểm di truyền quần thể, chỉ thị phân tử phân tích nguồn gốc và nhận diện giống, loài, xác định sự khác biệt trong hệ gen. Đây là kỹ thuật rất hữu ích trong việc tìm mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống (Nguyễn Đức Thánh, 2015). So với AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) và RAPD (Random amplified polymorphic DNA), ISSR có ưu điểm là đơn giản, dễ thực hiện và có độ tin cậy cao (Kumar và cs, 2014).

Đã có một số công trình nghiên cứu về đa dạng di truyền cũng như về hàm lượng axit oleanolic trên cây đình lăng như nghiên cứu của Plunkett và cs (2001), Nguyễn Thị Phương Thảo và cs (2011), Chử Thị Thanh Huyền và cs (2012), Nguyễn Thị Ngọc Trâm và Đặng Trọng Lương (2014), Phạm Thu Thi và cs (2016). Tuy nhiên, các kết quả chỉ dừng lại ở tình đa dạng di truyền hoặc hàm lượng axit oleanolic mà chưa có sự kết hợp. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá hàm lượng axit oleanolic và sự khác biệt di truyền của một số mẫu đình lăng lá nhỏ được thu thập tại Việt Nam trong mối tương quan với chất lượng của chúng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Tám mẫu đình lăng lá nhỏ đã được thu thập ở các vùng khác nhau (Bảng 1, hình 1).

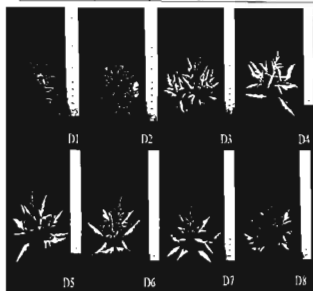
¹ Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh

² Viện Sinh học Nhiệt đới

Email: trnhvietnga@gmail.com

Bảng 1. Đặc điểm hình thái của 8 mẫu đỉnh lạng được sử dụng trong nghiên cứu

Ký hiệu mẫu	Điểm thu mẫu (huyện/tỉnh)	Đặc điểm lá
D1	Viện Sinh học Nhiệt đới (Thủ Đức - TP. HCM)	Lá nhuyển, xẻ thùy
D2	Châu Thành - Tiền Giang	Lá nhuyển, xẻ thùy
D3	Vạn Ninh - Khánh Hòa	Lá nhỏ, xẻ thùy
D4	Viện Dược liệu (Thanh Trì - Hà Nội)	Lá nhỏ, xẻ thùy
D5	Hải Hậu - Nam Định	Lá nhỏ, xẻ thùy
D6	Tứ Kỳ - Hải Dương	Lá nhỏ, xẻ thùy
D7	Thủ Đức - TP. HCM (xuất xứ: Viện Nghiên cứu và Phát triển Lâm nghiệp - Trường ĐH Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên)	Lá nhỏ, xẻ thùy
D8	Cám Mỹ - Đồng Nai	Lá nhỏ, xẻ thùy



Hình 1. Hình thái lá của tám mẫu lá đỉnh lạng lá nhỏ (D1 - D8)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá hàm lượng axit oleanolic của 8 mẫu đỉnh lạng

Cây được thu thập và được trồng lưu giữ 4 năm tại Viện Sinh học Nhiệt đới. Chọn 5 - 10 lá bánh tẻ trên một cây vào buổi sáng mùa khô tháng 2, lấy mẫu lá không bị sâu bệnh, bắt đầu từ vị trí lá thứ 3 tính từ ngọn, đều các hướng xung quanh cây rồi cho mỗi mẫu vào trong mỗi bao ziploc nhỏ có ghi ký hiệu mẫu (~ 10 g/mẫu). Mẫu lá được sấy chân không ở 40°C trong khoảng 3 ngày cho đến khối lượng không đổi sau đó xay mịn, rây với sàng 1 mm và bảo quản đến khi phân tích. Cân 1 ± 0,001 g mẫu hòa tan trong 25 mL MeOH, siêu âm trong 30 phút. Chiết mẫu liên tục đến khi mất màu. Gom mẫu, cô quay và định mức đến 50 mL bằng MeOH. Lọc mẫu bằng màng lọc 0,45 µm. Hệ thống phân tích chạy trên phần mềm Chromeleon với điều kiện: column C18 (250 mmx4,6 mm, 5 µm); C18 guard column (10 mmx4,6

mm, 5 µm); pha động, MeOH:H₂O (95:5, v/v). Axit oleanolic chuẩn (mã hiệu SKU 42515) đã được sử dụng có độ tinh khiết ≥ 97% (Merck, Đức).

2.2.2. Đánh giá sự khác biệt di truyền bằng kỹ thuật ISSR-PCR

** Ly trích DNA tổng số*

50 mg lá tươi đỉnh lạng của mỗi mẫu giống thu từ một cây được nghiền trong 600 µL dung dịch ly trích (NaCl (0,125 M); Tris-HCl (0,01 M); EDTA (0,01 M); SDS (0,5%)) sau đó trộn lẫn nhẹ và ủ mẫu ở 65°C trong 1 giờ. Thêm 600 µL dung dịch Phenol: Chloroform: Isoamyl Alcohol (25:24:1), sau đó trộn lẫn và ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 10 phút, thu dịch nổi. Bổ sung một lượng Chloroform: Isoamyl Alcohol (24:1) bằng thể tích dịch nổi đã thu, trộn nhẹ, ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 10 phút, thu dịch nổi. Sau đó, bổ sung một lượng Isopropanol bằng thể tích dịch đã thu. Tiếp theo, dịch trích được đảo nhẹ, ủ ở 4°C trong 15 phút. Tiếp đến, ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 10 phút, bỏ dịch. Sau đó, rửa bằng ethanol 70% lạnh 3 lần, ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 3 phút, bỏ dịch, làm khô mẫu, thêm 50 µL TE để hòa tan tủa DNA. Dịch chiết sau đó được bảo quản lạnh ở -20°C. Chất lượng của các mẫu DNA được thông qua điện di gel agarose 1%, do tỉ lệ hấp thụ A₂₆₀/A₂₈₀ và xác định nồng độ DNA trên máy BioDrop (BioDrop, Anh).

** Phản ứng PCR và điện di sản phẩm*

Thành phần phản ứng: 6,25 µL master mix (2X); 1 µL mỗi cơ nồng độ 10 µM; 4,25 µL nước nuclease free; 1 µL DNA nồng độ 50 ng/µL. Tổng thể tích 12,5 µL.

Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR: tiền biến tính 95°C trong 5 phút; 35 chu kỳ; biến tính: 95°C

trong 30 giây, gán mỗi: 55°C trong 30 giây, keo dài mỗi: 72°C trong 50 giây; ổn định: 72°C trong 7 phút.

Sản phẩm PCR được phát hiện bởi điện di trên gel agarose 1,5% sau thời gian 30 phút. Gel được nhuộm với GelRed sau đó chụp hình trên máy UV Transilluminator.

Các mồi ISSR sử dụng:

Tên mồi	Trình tự mồi
UBC811	(GA) ₈ C
UBC825	(AC) ₅ T
UBC840	(GA) ₈ YT
UBC841	(GA) ₈ YC
UBC843	(CT) ₈ RA
UBC844	(CT) ₈ RC
UBC854	(CT) ₈ RG
UBC855	(AC) ₈ YT
UBC856	(AC) ₈ YA
UBC860	(TG) ₈ RA
UBC880	(GGAGA) ₃
UBC890	VHV(GT) ₇

(NAPS Unit - UBC primers set#9)

2.3. Phân tích và đánh giá mối quan hệ di truyền

Phản ứng PCR của từng mẫu phân tích được tiến hành 3 lần lặp lại, các mẫu có các sản phẩm DNA khuếch đại với kích thước bằng nhau được sử dụng để ghi nhận kết quả, nếu 3 lần lặp lại cho kích thước không bằng nhau thì tiến hành PCR và điện di lại từng mẫu. Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016 để mã hóa dưới dạng nhị phân các băng DNA thu được. Sự hiện diện hoặc không hiện diện của một băng nào đó trên gel sẽ được ghi nhận lần lượt là 1 hoặc 0. Tiến hành xây dựng cây quan hệ di truyền dựa trên hệ số tương đồng di truyền (hệ số Dice), kiểu phân nhóm UPGMA bằng phần mềm NTSYSpc 2.10m.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định hàm lượng axit oleanolic

Kết quả phân tích từ bảng 2 cho thấy các mẫu dinh lăng là nhỏ có chứa hàm lượng axit oleanolic (theo khối lượng khô) dao động từ 0,69 đến 1,18% (w/w). Kết quả trên phù hợp với kết quả của Nguyễn Thị Phương Thảo và cs (2011) khi phân tích mẫu gồm cả thân và lá dinh lăng có hàm lượng axit oleanolic (theo khối lượng khô) đạt 1,5% (w/w), cao hơn rất nhiều so với hàm lượng axit oleanolic ở rễ dinh lăng của tác giả chỉ đạt 0,063%.

Bảng 2. Hàm lượng axit oleanolic của 8 mẫu dinh lăng theo trọng lượng khô

Ký hiệu mẫu	Nơi thu mẫu	Hàm lượng % (w/w)
D1	Viện Sinh học Nhiệt đới (Thủ Đức - TP. HCM)	1,12
D2	Châu Thành - Tiền Giang	1,08
D3	Van Ninh - Khánh Hòa	1,15
D4	Viện Dược liệu (Thanh Trì - Hà Nội)	1,14
D5	Hải Hậu - Nam Định	1,07
D6	Từ Kỳ - Hải Dương	1,12
D7	Thủ Đức - TP. HCM (xuất xứ: Viện Nghiên cứu và Phát triển Lâm nghiệp - Trường ĐH Nông Lâm Thủ Đức)	1,18
D8	Cẩm Mỹ - Đồng Nai	1,09

Kết quả trên cũng cao hơn nhiều so với hàm lượng ở rễ cây dinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) đã được thu ở Nam Định với trung bình (theo khối lượng khô) là 0,086 mg/g (0,0086%) trong nghiên cứu của Chử Thị Thanh Huyền và cs (2012). Điều này cho thấy, trên lá dinh lăng thường có hàm lượng axit oleanolic cao và cao hơn rất nhiều lần so với hàm lượng ở rễ. Mẫu D7 cho hàm lượng axit oleanolic cao nhất so với các mẫu còn lại đạt 1,18%, trong khi đó mẫu D5 cho kết quả thấp nhất chỉ đạt 1,07%.

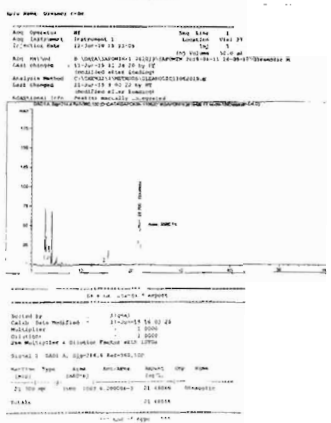
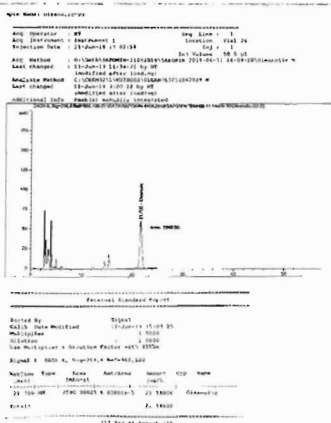
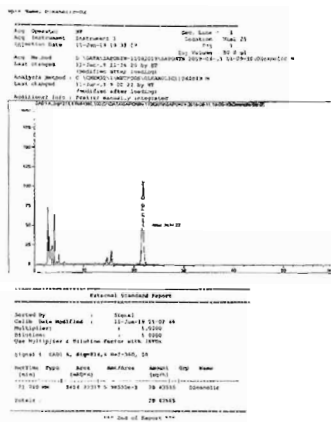
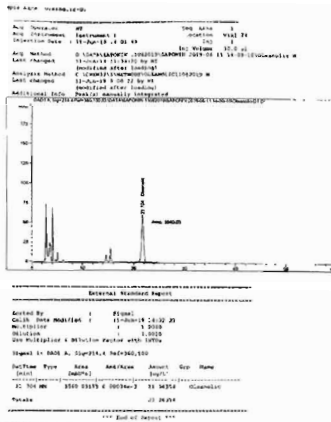
Như vậy, trong nghiên cứu này, mẫu dinh lăng là nhỏ D7, thu thập tại Thủ Đức - TP HCM, có hàm lượng axit oleanolic cao nhất so với các mẫu khác, đạt 1,18%, đây là mẫu triển vọng cho nghiên cứu nhân giống, lưu giữ dòng dinh lăng có hàm lượng axit oleanolic cao.

3.2. Khuếch đại DNA bằng PCR với các mồi ISSR

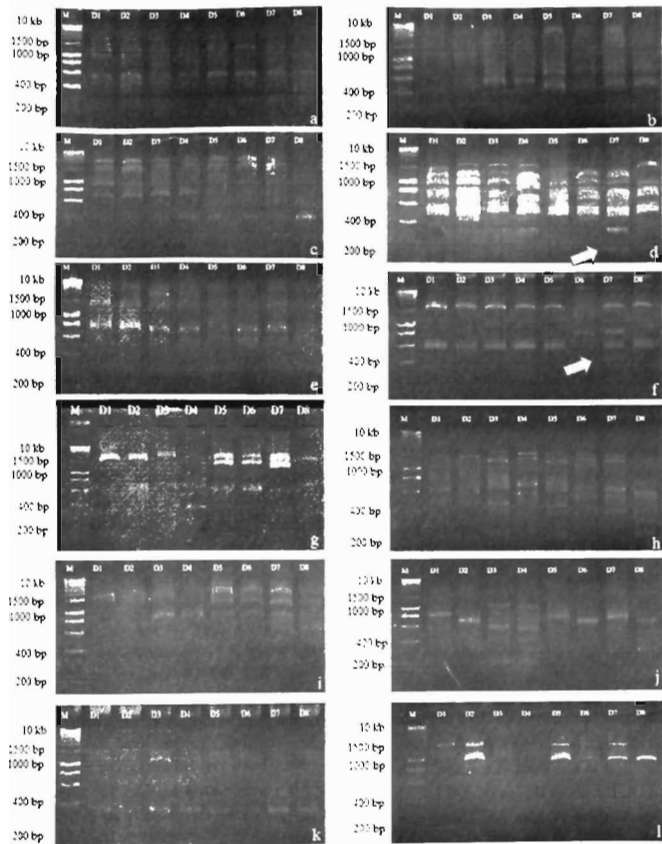
Tuy được xếp cùng nhóm dinh lăng là nhỏ (đa số có hình thái là tương tự nhau) nhưng nhận thấy mẫu D1 và D2 có kích thước nhỏ hơn - là

nhuyền; ngoài ra, cả 8 mẫu được thu thập từ nhiều vùng khác nhau nên khảo sát sự đa dạng di truyền là vấn đề đã được quan tâm. Trong một nghiên cứu khác, Trinh Việt Nga và cs (2019) đã ghi nhận có sự khác biệt di truyền nhất định dựa trên phân tích mã vạch DNA 18 mẫu dinh lăng trong đó bao gồm những mẫu dinh lăng là nhỏ đùng ở nghiên cứu này.

Kết quả điện di các sản phẩm khuếch đại với môi UBC841 và UBC844 (Hình 4) cho thấy ở mẫu D7 mỗi tạo ra một băng DNA đặc trưng, hoàn toàn khác biệt (lần lượt khoảng 200 bp và 400 bp) so với các mẫu còn lại.



Hình 2. Hình ảnh sắc ký đồ của 8 mẫu dinh lăng là nhỏ D1 – D4



Hình 4. Sản phẩm PCR của các primer ISSR khuếch đại từ các mẫu lá dinh lăng D1 - D8, M: thang DNA 1 kb, a: UBC811, b: UBC825, c: UBC840, d: UBC841, e: UBC843, f: UBC844, g: UBC854, h: UBC855, i: UBC856, j: UBC860, k: UBC880, l: UBC890

Kết quả khuếch đại trên 8 mẫu dinh lăng khi sử dụng 12 mồi ISSR cho kích thước trong khoảng 200 - 3000 bp với mức độ đa hình cao (Bảng 3). Trong đó, tỉ lệ đa hình đối với 3 mồi UBC841, UBC844, UBC856 cho kết quả tốt nhất đạt 100% trong khi đó mồi

UBC880 cho tỉ lệ đa hình thấp nhất chỉ đạt 22,22%. Qua đó cho thấy, các mồi UBC841, UBC844, UBC856 hỗ trợ tốt hơn các mồi còn lại trong việc phân loại các mẫu dinh lăng lá nhỏ khi cho tỉ lệ đa hình cao.

Bảng 3. Tỷ lệ đa hình đối với 8 mẫu đỉnh lăng dựa trên 12 mỗi ISSR

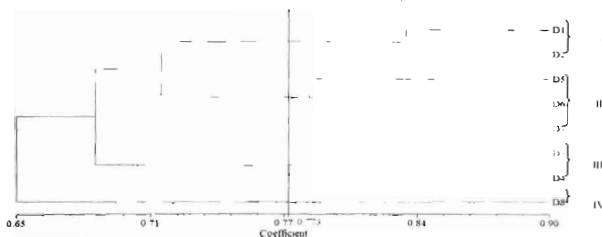
Mẫu	Kích thước băng	Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỷ lệ băng đa hình (%)
UBC811	300 - 1500	7	5	71,43
UBC825	400 - 2500	7	6	85,71
UBC840	300 - 2000	7	4	57,14
UBC841	200 - 2000	12	12	100
UBC843	300 - 3000	6	5	83,33
UBC844	400 - 1500	6	6	100
UBC854	200 - 2000	8	7	87,50
UBC855	300 - 2500	8	7	87,50
UBC856	600 - 3000	6	6	100
UBC860	200 - 1400	6	5	83,33
UBC880	200 - 1500	9	2	22,22
UBC890	400 - 1500	7	5	71,43

Bảng 4. Ma trận khoảng cách di truyền của 8 mẫu đỉnh lăng lá nhỏ dựa vào 12 mỗi ISSR

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
D1	1,00							
D2	0,83	1,00						
D3	0,72	0,75	1,00					
D4	0,69	0,70	0,90	1,00				
D5	0,73	0,74	0,74	0,69	1,00			
D6	0,71	0,72	0,65	0,64	0,80	1,00		
D7	0,73	0,67	0,67	0,62	0,78	0,82	1,00	
D8	0,57	0,70	0,65	0,66	0,69	0,69	0,60	1,00

Kết quả từ bảng 4 cho thấy 8 mẫu đỉnh lăng lá nhỏ có mức độ tương đồng di truyền cao, dao động trong khoảng 0,57 - 0,90, trong đó mẫu D1 và D8 có khoảng cách di truyền xa nhất với giá trị 0,57 còn mẫu D3 và D4 có khoảng cách di truyền gần nhất với giá trị 0,90. Từ kết quả trên, hệ số trung bình di truyền là 0,773 được sử dụng để thực hiện phân nhóm cây quan hệ di truyền của 8 mẫu đỉnh lăng lá nhỏ dựa trên 12 mỗi ISSR.

3.3. Xây dựng ma trận khoảng cách di truyền và cây quan hệ di truyền dựa trên sản phẩm PCR của 12 mỗi ISSR



Hình 5. Cây quan hệ di truyền dựa trên sản phẩm PCR của 12 mỗi ISSR (0,773: hệ số trung bình di truyền)

Kết quả cây quan hệ di truyền (Hình 5) cho thấy các mẫu đỉnh lăng lá nhỏ được chia thành 4 nhóm: nhóm I gồm D1, D2; nhóm II gồm D5, D6, D7; nhóm III gồm D3, D4; nhóm IV gồm D8. Thông qua kết quả trên, mẫu D1, D2 (lá nhuyễn) xếp cùng nhóm phù hợp về mặt hình thái, nhóm các mẫu D5, D6, D7 lần lượt có nguồn gốc từ Hải Hậu - Nam Định, Từ Kỳ - Hải Dương và Thái Nguyên (được du nhập vào Thủ Đức - TP. HCM) có sự đặc trưng và sự gần gũi về địa lý do cùng đến từ khu vực đồng bằng và trung du Bắc bộ. Chính vì vậy, các chỉ thị di truyền cho phép xếp 3 mẫu này cùng 1 nhóm là hợp lý. Hai mẫu D3

(thu từ Vạn Ninh - Khánh Hòa), D4 (thu từ Viện Dược liệu, Thanh Trì - Hà Nội) có sự tương đồng cao trong khi chúng nằm ở hai khu vực cách xa nhau, điều này gợi ý rằng có thể đã có sự di thực của một trong hai mẫu.

4. KẾT LUẬN

Hàm lượng axit oleanolic cao ở các mẫu đỉnh lăng lá nhỏ (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8) dao động trong khoảng 1,07% - 1,18%, trong đó hàm lượng cao hơn ở mẫu D7.

Mười hai mỗi ISSR cho kết quả với tỷ lệ đa hình cao, cao nhất ở 3 mẫu UBC841, UBC844, UBC856.

Mẫu đỉnh lãng lá nhỏ D7 có một băng khác biệt hoàn toàn ở sản phẩm khuếch đại từ hai môi UBC841, UBC844 (kích thước băng lãn lượt khoảng 200 bp và 400 bp) so với các mẫu khác cho thấy sự đặc trưng di truyền của mẫu.

Cây quan hệ di truyền dựa trên chỉ thị ISSR có hai mẫu D1, D2 xếp cùng nhóm phù hợp về mặt hình thái khi cả hai đều có dạng lá nhuyển, ba mẫu D5, D6, D7 xếp cùng nhóm phù hợp với nguồn gốc địa lý, hai mẫu D3, D4 tương đồng cao về di truyền, gợi ý khả năng di thực của một trong hai mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chữ Thi Thanh Huyền, Nguyễn Thị Kiều Anh, Trịnh Thị Nhung, Nguyễn Huy Văn, Lâm Thu Bích Hồng, 2012. Nghiên cứu định lượng acid oleanolic trong cao khô đỉnh lãng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, *Tạp chí Dược học*, 438: 34 - 38.
- Kumar A., Mishra P., Singh S.C., 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. doi: 10.1007/s00606-013-0970-z.
- Nguyễn Đức Thành, 2015. Các kỹ thuật chỉ thị DNA trong nghiên cứu và chọn lọc thực vật. *Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, Hà Nội, 413 trang.
- Nguyễn Thị Ánh Tuyết, Nguyễn Tấn Thiện, Nguyễn Kim Phi Phụng, 2005. Góp phần tìm hiểu thành phần hoá học của đỉnh lãng. *Tạp chí Hoá học*, 43(5): 624 - 627.
- Nguyễn Thu Ngọc Trâm, Đặng Trọng Lương, 2014. Nghiên cứu đa hình di truyền tập đoàn các giống đỉnh lãng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) có ở Việt Nam bằng kỹ thuật RAPD. *Tạp chí Dược học*, 457: 25 - 30.
- Nguyễn Thu Phương Thảo, Võ Thị Bạch Tuyết, Nguyễn Minh Đức, 2011. Xây dựng phương pháp định lượng acid oleanolic trong đỉnh lãng lá xẻ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms.) bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 15(1): 593 - 597.
- Plunkett G. M., Lowry II P. P. and Burke M. K., 2001. The phylogenetic status of Polyscias (Araliaceae) based on nuclear its sequence data, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88(2): 213 - 230.
- Phạm Hoàng Hồ, 2002. Cây cỏ Việt Nam, quyển III. Nhà xuất bản Trẻ, trang 516 - 518.
- Takagi K., Park E. H. and Kato H., 1980. Antiinflammatory activities of hederagenin and crude saponin isolated from *Sapindus mukorossi* Gaertn, *Chemical and Pharmacological Bulletin*, 28(4): 1183 - 1188.
- Trịnh Việt Nga, Nguyễn Cao Kiệt, Bùi Minh Trí, Nguyễn Hữu Hồ, Phạm Thị Minh Tâm, Huỳnh Văn Biệt, 2019. Phân tích trình tự DNA barcode của một số mẫu Đỉnh lãng được thu thập tại Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 2: 25 - 34.
- Vo Duy Huan, Satoshi Y., Kazuhiro O., Ryoji K., Kazuo Y., Nguyen Thoi Nham and Hoang Minh Chau, 1998. Oleanane saponin from *Polyscias fruticosa*, *Phytochemistry*, 47(3): 451 - 457.
- Võ Văn Chi và Trần Hợp, 1999. Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học, trang 425 - 428.
- Yoshimi N., Wang A., Morishita Y., Tanaka T., Sugie S., Kawai K., Yamahara J. and Mori H., 1992. Modifying effects of fungal and herb metabolites on azoxymethane - induced intestinal carcinogenesis in rats, *Japanese Journal of Cancer Research*, 83(12): 1273 - 1278.
- Zaki A., Ashour A., Mira A., Kishikawa A., Nakagawa T., Zhu Q. and Shimizu K., 2016. Biological activities of acid oleanolic derivatives from *Calendula officinalis* seeds, *Phytother. Research*, 30(5): 835 - 841.
- Zhang Z., Jiang M., Xie X., Yang H., Wang X., Xiao L., Wang N., 2017. Oleanolic acid ameliorates

high glucose-induced endothelial dysfunction via PPAR δ activation, *Sci Rep.*, 7:1 - 8.

EVALUATION OF ACID OLEANOLIC CONTENT AND GENETIC DIVERSITY OF *Polyscias fruticosa* (L) Harms ACCESSIONS COLLECTED IN VIETNAM

Trình Việt Nga^{1,2}, Nguyễn Cao Kiệt¹, Bùi Minh Trí¹,
Phạm Thị Minh Tâm¹, Nguyễn Hữu Hồ², Huỳnh Văn Biet¹

¹Nong Lam University, Ho Chi Minh city

²Institute of Tropical Biology

Summary

This study aims to evaluate the content of oleanolic acid and genetic diversity of 8 *Polyscias fruticosa* (L) Harms accessions collected from different regions in Vietnam. The oleanolic acid contents in leaves were determined by HPLC technique. At the same time, the genetic diversity of 8 *Polyscias fruticosa* (L) Harms accessions was done through ISSR-PCR. The purified DNAs of leaves were amplified with 12 ISSR primers. The results indicated that oleanolic acid content in the *Polyscias fruticosa* (L) Harms was highest in the *Polyscias fruticosa* (L) Harms D7 accession, reached 1.18%; the *Polyscias fruticosa* (L) Harms D7 accession gave specific DNA bands when using two primers UBC841, UBC844 (about 200 bp and 400 bp, respectively). Through ISSR-PCR analysis, phylogenetic tree was constructed based on genetic distance matrix and genetic similarity between accessions was discussed. Eight accessions of *Polyscias* were divided into 4 groups: group I included D1, D2; group II included D5, D6, D7; group III included D3, D4; group IV included D8.

Keywords: Genetic diversity, ISSR, oleanolic acid, *Polyscias fruticosa*.

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Khiêm

Ngày nhận bài: 20/01/2020

Ngày thông qua phản biện: 21/02/2020

Ngày duyệt đăng: 28/02/2020