

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC NGUỒN GIỐNG CÂY ĐÀN HƯƠNG TRẮNG (*Santalum album* L.) TẠI VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ISSR

Ngô Đức Nhạc¹, Võ Đại Hải², Nguyễn Công Phương¹, Nguyễn Thị Huyền³, Lê Sơn³

¹ Trung tâm Khoa học Lâm nghiệp Đông Bắc Bộ

² Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

³ Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, mức độ đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của 120 mẫu Đàn hương trắng (*Santalum album* L.) từ 8 nguồn giống/xuất xứ thu ở các rừng trồng tại Hòa Bình, Quảng Ninh và Bắc Giang được đánh giá thông qua sử dụng chỉ thị phân tử ISSR. Qua sàng lọc từ 20 mồi ban đầu, đã xác định được 5 chỉ thị ISSR có mức độ đa hình cao để sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả thu được 62 phân đoạn DNA trong đó có 41,73% phân đoạn đa hình. Các mẫu Đàn hương trắng thuộc 8 xuất xứ có mức độ đa dạng di truyền ở mức thấp với các giá trị trung bình lần lượt là $Na = 1,417$; $Ne = 1,225$; $I = 0,223$; $h = 0,149$ và $P = 41,73\%$. Phân tích AMOVA về mức độ sai khác di truyền tối đa giữa các xuất xứ ở mức độ tương đối cao đạt 49% và mức độ sai khác di truyền giữa các mẫu trong cùng xuất xứ đạt 51% ($\Phi_{PT} = 0,509$). Kết hợp cây quan hệ di truyền với cấu trúc quần thể STRUCTURE đã phân chia các xuất xứ thành 3 nhóm, với nhóm I gồm 4 nguồn giống có nguồn gốc Ấn Độ (AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 và VNam1), nhóm II gồm 3 xuất xứ có nguồn gốc từ Indonesia (InĐo1 và InĐo2) và nhóm III gồm 2 nguồn giống có xuất xứ từ Ấn Độ là xuất xứ đã được công nhận tại Việt Nam (VNam2 và AnĐo4). Kết quả này cung cấp cơ sở di truyền trong xác định nguồn gen tiềm năng, phục vụ công tác lưu giữ và khai thác các mẫu Đàn hương trắng nhập nội ở Việt Nam.

Từ khóa: Chỉ thị phân tử, đa dạng di truyền, Đàn hương trắng, ISSR

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY AND RELATIONSHIP OF INTRODUCED *Santalum album* L. PROVENANCES IN VIETNAM USING ISSR MARKERS

Ngô Đức Nhạc¹, Võ Đại Hải², Nguyễn Công Phương¹, Nguyễn Thị Huyền³, Lê Sơn³

¹ Forest Science Centre of North-Eastern Vietnam

² Vietnamese Academy of Forest Sciences

³ Institute of Forest Tree Improvement and Biotechnology

ABSTRACT

The best five ISSR primers, selected from the screening of 20 primers, were used to evaluate the genetic diversity of 120 samples of *Santalum album* L. belonging to 8 seed sources/provenances collected at the plantations in Hoa Binh, Quang Ninh and Bac Giang provinces. The results obtained were 62 DNA fragments, including 41.73% polymorphic fragments. *S. album* L. samples from 8 seedlots have low levels of diversity transmission with average values such as $Na = 1.417$; $Ne = 1.225$; $I = 0.223$; $h = 0.149$ and $P = 41.73\%$. AMOVA analysis of the maximum level of transmission bias between provenances at a relatively high level reached 49% and the level of bias between samples within the same provenance reached 51% ($\Phi_{PT} = 0.509$). The genetic relationship tree combined with the STRUCTURE population structure has been divided into 3 groups, with group I (AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 and VNam1) originating from India, group II originating from Indonesia (InĐo1 and InĐo2) and Group III (VNam2 and AnĐo4). This result provides foundation knowledge for future research and development programs of *Santalum album* L. in Vietnam.

Keywords: DNA markers, genetic diversity, ISSR, *Santalum album* L.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đàn hương trắng (*Santalum album* L.) thuộc chi Đàn hương (*Santalum*), họ Đàn hương (*Santalaceae*) được miêu tả khoa học từ những năm 1753 (The Plant List, 2010). Đàn hương trắng có hai loài chính là Đàn hương trắng Ấn Độ (*S. album*) và Đàn hương trắng Úc (*Santalum spicatum*). Đây là cây thân gỗ nhưng đôi khi nó cũng phát triển như một cây bụi thẳng đứng hoặc hiếm khi thành cây leo, đạt đến chiều cao 4 m (Asian Regional Workshop, 1998). Thân cây phân nhánh, lá cây mảnh dài từ 10 - 30 cm. Loài cây này có nhựa màu trắng, không mùi trong khi tâm gỗ có màu hơi vàng đến nâu sẫm và có mùi thơm nồng. Tại Việt Nam, Đàn hương trắng được các nhà khoa học nghiên cứu từ năm 2005, nhưng phải đến năm 2014 mới thu được những thành công bước đầu. Sau hơn 4 năm trồng khảo nghiệm trên một số tỉnh thành trên cả nước, tốc độ sinh trưởng và phát triển của cây Đàn hương trắng cho thấy, chúng thích nghi tốt với khí hậu và thổ nhưỡng tại Việt Nam (Vũ Văn Thoại, 2020).

Hiện nay, việc trồng Đàn hương trắng ở nước ta được người dân ở các địa phương trồng ồ ạt không kiểm soát. Mặt khác, các nghiên cứu về

loài cây này còn nhiều hạn chế, thiếu các thông tin về đặc điểm sinh học và lập địa gây trồng, các yêu cầu sinh lý, sinh thái và sinh trưởng, chưa được áp dụng biện pháp kỹ thuật trồng và chăm sóc để đạt hiệu quả cao. Đặc biệt, các thông tin về mức độ đa dạng di truyền cũng như mối quan hệ di truyền của các xuất xứ được nhập về nước ta là chưa rõ ràng.

Trong nghiên cứu này, mức độ đa dạng di truyền nguồn gen cây Đàn hương trắng (*S. album* L.) thuộc 8 xuất xứ/nguồn giống đang được trồng khảo nghiệm tại một số tỉnh ở nước ta được đánh giá bằng sử dụng chỉ thị phân tử ISSR, từ đó cung cấp cơ sở khoa học trong việc đề xuất các giải pháp hợp lý phục vụ cho công tác nghiên cứu phát triển cây Đàn hương ở nước ta một cách hiệu quả và bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu là 120 mẫu Đàn hương trắng thuộc 8 xuất xứ/nguồn giống đang được trồng khảo nghiệm tại Hòa Bình, Quảng Ninh và Bắc Giang với các thông tin được trình bày cụ thể ở bảng 1.

Bảng 1. Danh sách các xuất xứ/nguồn giống Đàn hương trắng được nghiên cứu

STT	Xuất xứ	Số lượng	Kí hiệu mẫu	Nguồn gốc	Địa điểm, năm trồng
1	AnĐo1	15	AĐ1.1 - AĐ1.15	Nhập từ Ấn Độ năm 2019	- Trồng tại Hòa Bình - Năm 2021
2	AnĐo2	15	AĐ2.1 - AĐ2.15		
3	AnĐo3	15	AĐ3.1 - AĐ3.15		
4	InĐo1	15	IĐ1.1 - IĐ1.15	Nhập từ Indonesia năm 2019	
5	InĐo2	15	IĐ2.1 - IĐ2.15		
6	VNam1	15	VN1.1 - VN1.15	Hạt thu từ các cây trội của xuất xứ Karnataka - Ấn Độ (Trồng 2014 đã được công nhận xuất xứ theo quyết định số Quyết định số 1305/QĐ-BNN-TCLN của Bộ NN và PTNT)	
7	VNam2	15	VN2.1 - VN2.15	Hạt thu từ các cây trội của xuất xứ Karnataka - Ấn Độ (Trồng 2014 đã được công nhận xuất xứ theo quyết định số Quyết định số 1305/QĐ-BNN-TCLN của Bộ NN và PTNT)	
8	AnĐo4	15	AĐ4.1 - AĐ4.15	Nhập hạt tại Ấn Độ năm 2018	
Tổng số		120 mẫu			

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp đánh giá đa dạng di truyền

* Tách chiết ADN tổng số:

Các mẫu lá sau khi thu thập được tiến hành tách chiết theo phương pháp CTAB của Doyle và Doyle (1987). Điện di kiểm tra ADN tổng số trên gel agarose 0,8% và quan sát bằng máy soi gel sử dụng tia UV.

Nồng độ ADN tổng số và độ tinh sạch được xác định bằng máy đo quang phổ hấp thụ

Nano drop. ADN làm khuôn cho phản ứng PCR phải đạt nồng độ ≥ 20 ng/ μ l và có độ tinh sạch $OD_{260/280\text{ nm}}$ từ 1,8 - 2,0.

* Phản ứng PCR với môi ISSR:

Qua sàng lọc từ 20 môi ban đầu, 5 môi ISSR đã được chọn lọc để sử dụng trong nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền cây Đàn hương trắng của 8 xuất xứ có trình tự được mô tả ở bảng 2.

Bảng 2. Trình tự môi ISSR được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên môi	Trình tự môi (5' - 3')	Nhiệt độ gắn môi T_a (°C)	Nguồn tham khảo
1	UBC811	GAGAGAGAGAGA GAGAC	46,8	Isshiki <i>et al.</i> , 2008
2	UBC818	CACACACACACA CACAG	51,0	
3	UBC851	GTGTGTGTGTGTGTGTCTG	53,9	
4	UBC855	ACACACACACACACT	51,4	
5	UBC881	GGG TGGGGT GGGGTG	59,3	

Phản ứng khuếch đại gen được tiến hành trên máy PCR model 9700 với tổng thể tích 20 μ l bao gồm: DreamTaq PCR Mastermix 2X (10 μ l), ADN tổng số (2 μ l), môi 10 μ M (1 μ l) và d.H₂O (7 μ l). Phản ứng PCR diễn ra theo chu trình nhiệt như sau: Biến tính 94°C trong 4 phút; 35 chu kỳ gồm: 94°C trong 60 giây, T_a (Bảng 2) trong 45 giây và 72°C trong 60 giây; 72°C trong 7 phút.

Kết thúc phản ứng PCR, sản phẩm PCR được kiểm tra trên agarose 1,8% trong dung dịch đệm TAE 1X có bổ sung thuốc nhuộm Redsafe (tỷ lệ thể tích 5 μ l/100 ml) với hiệu điện thế 75 V trong thời gian 60 phút. Tiến hành quan sát trên máy soi gel sử dụng tia UV, kích thước các băng được so sánh dựa theo thang GenRuler 1 kb DNA Ladder (hãng Thermo Scientific).

2.2.2. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được thu theo quy ước là 1 = phân đoạn ADN xuất hiện và 0 = phân đoạn ADN không xuất hiện khi điện di sản phẩm PCR, được nhập vào Excel và tiến hành xử lý bằng các phần mềm.

Sử dụng phần mềm POPGENE (Yeh *et al.*, 1999) tính toán các thông số đánh giá đa dạng di truyền của các xuất xứ cây Đàn hương trắng được nghiên cứu. Các thông số được tính toán như N_a (số lượng alen quan sát được), N_e (số lượng alen có hiệu lực), PPB (phần trăm phân đoạn đa hình), h (hệ số đa dạng di truyền Nei, 1973), I (chỉ số đa dạng di truyền Shannon), khoảng cách di truyền, mức độ tương đồng di truyền, các chỉ số đa dạng di truyền như H_T (chỉ số đa dạng nguồn gen của tổng các nguồn giống), H_S (chỉ số đa dạng gen trung bình trong

nguồn giống), G_{ST} (chỉ số sai khác di truyền Nei giữa các nguồn giống), N_m (chỉ số trao đổi gen giữa các nguồn giống).

Bên cạnh đó, sử dụng phần mềm GenAlEx 6.5 (Peakall *et al.*, 2006) để phân tích phương sai phân tử (AMOVA) xác định biến đổi di truyền giữa các xuất xứ và các mẫu trong cùng xuất xứ. Phân tích tọa độ chính PCoA (Principal Coordinates Analysis) thể hiện mức độ khác biệt di truyền giữa các xuất xứ Đền hương trắng. Phần mềm MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) xây dựng ma trận tương đồng và cây quan hệ di truyền giữa các mẫu và các xuất xứ Đền hương trắng được nghiên cứu.

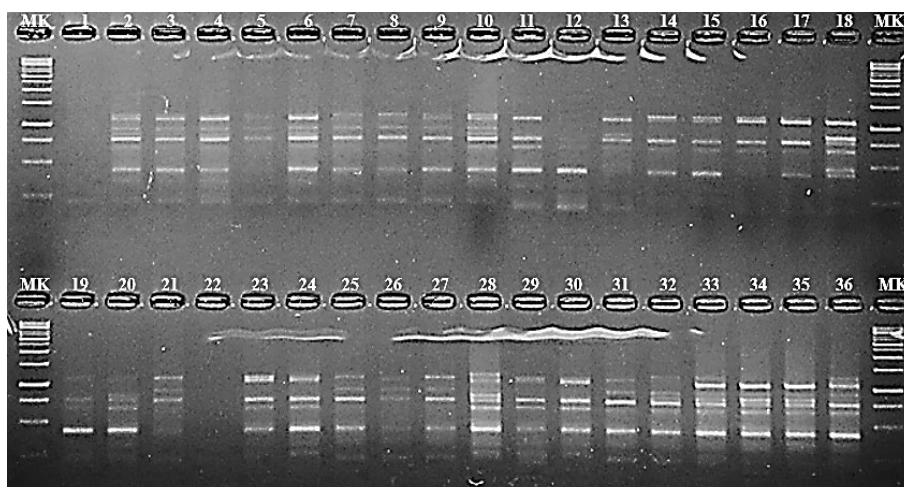
Phân tích xác định cấu trúc quần thể 120 mẫu Đền hương trắng bằng phần mềm STRUCTURE version 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000), với các

thông số gồm: số lượng quần thể dự đoán trước dựa trên nguồn gốc các giống Đền hương trắng được trồng khảo nghiệm là 8, số lượng quần thể tối ưu K được kiểm nghiệm từ 1 - 10 bằng mô hình hỗn hợp với 10.000 lần lặp. Giá trị K tối ưu theo phương pháp ΔK cao nhất trong phần mềm STRUCTURE HARVESTER v0.6 (Earl *et al.*, 2012) được sử dụng để ước tính số nhóm mỗi bản sao được lặp lại.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phản ứng PCR với môi ISSR

Phân tích sản phẩm PCR với 5 chỉ thị ISSR thu được 62 phân đoạn ADN nhân bản với kích thước dao động từ 100 bp đến 2.500 bp (Hình 1) trong đó số phân đoạn đa hình trung bình là 26 chiếm 41,73%.



Hình 1. Ảnh điện di sản phẩm PCR-ISSR của các mẫu Đền hương trắng được nghiên cứu (MK: thang DNA 1 kb; 1 - 36: các mẫu nghiên cứu)

Trong nghiên cứu này, với 5 chỉ thị ISSR được sử dụng nhận thấy các chỉ thị phân tử cho kết quả khuếch đại các phân đoạn AND khác nhau. Từ những kết quả thu được, tiến hành thu thập và mã hóa dữ liệu để đánh giá mức độ đa dạng di truyền cho 120 mẫu cây Đền hương trắng của 8 xuất xứ có nguồn gốc khác nhau.

3.2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền Đền hương trắng

3.2.1. Đa dạng di truyền của các xuất xứ Đền hương trắng

Thông qua đánh giá và phân tích số liệu bằng phần mềm POPGENE thu được kết quả với các thông số về mức độ đa dạng di truyền của Đền hương trắng (Bảng 3).

Bảng 3. Các thông số đa dạng di truyền của 8 xuất xứ Đàn hương trắng

STT	Xuất xứ	Chỉ số đa dạng di truyền				
		<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>h</i>	<i>P (%)</i>
1	AnĐo1	1,468	1,214	0,214	0,136	46,77
2	AnĐo2	1,371	1,215	0,191	0,127	37,10
3	AnĐo3	1,419	1,200	0,195	0,125	41,94
4	InĐo1	1,323	1,218	0,183	0,125	32,26
5	InĐo2	1,355	1,199	0,181	0,119	35,48
6	VNam1	1,709	1,587	0,452	0,317	70,97
7	AnĐo4	1,371	1,228	0,199	0,134	37,10
8	VNam2	1,323	1,180	0,165	0,108	32,26
Trung bình		1,417	1,255	0,223	0,149	41,73

Ghi chú: *Na* (số lượng alen quan sát được), *Ne* (số lượng alen có hiệu lực), *I* (chỉ số Shannon), *h* (hệ số đa dạng di truyền Nei), *P* (tỷ lệ phân đoạn đa hình).

Kết quả thu được cho thấy, 120 mẫu Đàn hương thuộc 8 xuất xứ có mức độ đa dạng di truyền với các giá trị trung bình lần lượt là $Na = 1,417$; $Ne = 1,225$; $I = 0,223$; $h = 0,149$ và $P = 41,73\%$.

Số alen quan sát được nằm trong khoảng 1,313 (InĐo1 và VNam2) đến 1,709 (VNam1) và số alen có ý nghĩa nằm trong khoảng 1,180 (VNam2) đến 1,587 (VNam1). Trong đó, tại xuất xứ VNam1 đều thu được số alen quan sát và số alen có nghĩa cao nhất trong 8 xuất xứ được nghiên cứu. Tương tự, chỉ số thông tin Shannon nằm trong khoảng 0,165 (VNam2) đến 0,452 (VNam1) và giá trị cao nhất tại xuất xứ VNam1, tiếp theo là AnĐo1 (0,214), AnĐo4 (0,199), AnĐo3 (0,195) và AnĐo2 (0,191).

Hệ số đa dạng di truyền theo *Nei* của 8 xuất xứ Đàn hương trắng nằm ở mức thấp đến trung bình. Trong đó, xuất xứ VNam1 cho giá trị di truyền cao nhất và cao hơn hẳn so với các xuất xứ còn lại ($h = 0,317$) và thấp nhất tại xuất xứ VNam2 ($h = 0,108$). Đối với các xuất xứ Ấn Độ (AnĐo1 - AnĐo4) hệ số di truyền nằm trong khoảng 0,125 đến 0,136 và các xuất xứ Indonesia với InĐo1, InĐo2 có hệ số di truyền lần lượt là 0,125 và 0,119. Tỷ lệ phần trăm đa

hình của 8 xuất xứ Đàn hương trắng được nghiên cứu, cao nhất tại xuất xứ VNam1 chiếm 70,97% và thấp nhất tại xuất xứ InĐo1 và VNam2 là 32,26%.

Nhìn chung, trong 8 xuất xứ Đàn hương trong nghiên cứu thì xuất xứ VNam1 có mức độ đa dạng di truyền cao vượt trội hơn hẳn so với các xuất xứ Đàn hương còn lại ($Na = 1,709$; $Ne = 1,587$; $h = 0,317$; $I = 0,452$ và $PPB = 70,97\%$). Như vậy, các xuất xứ Đàn hương trắng hiện có ở nước ta có đa dạng di truyền ở mức thấp, hướng nghiên cứu và phát triển loài cây này trong thời gian tới có thể là nhập thêm các xuất xứ mới hoặc tiến hành lai tạo giữa các cây bố, mẹ để cải thiện mức độ đa dạng di truyền. Bên cạnh đó việc chọn giống cũng nên tiến hành với cường độ chọn lọc thấp hoặc nên tiến hành xây dựng các quần thể lưu trữ nguồn gen riêng biệt so với quần thể chọn và phát triển giống nhằm hạn chế sự suy giảm về đa dạng di truyền.

3.2.2. Mức độ biến đổi di truyền của các xuất xứ Đàn hương trắng

Kết quả phân tích mức độ biến đổi phân tử (AMOVA) giữa các xuất xứ Đàn hương trắng nghiên cứu được thể hiện qua bảng 4.

Bảng 4. Kết quả phân tích biến dị di truyền AMOVA của các mẫu Đàn hương trắng trong 8 xuất xứ nghiên cứu

AMOVA	Giá trị
Giữa các xuất xứ	49%
Giữa các cá thể trong xuất xứ	51%
<i>PhiPT</i>	0,509; $p \leq 0,001$

Kết quả cho thấy, mức độ sai khác di truyền tối đa giữa các xuất xứ Đàn hương trắng ở mức độ tương đối cao đạt 49%, trong khi mức độ sai khác di truyền giữa các mẫu trong cùng xuất xứ đạt 51% với giá trị $PhiPT = 0,509$ với $p \leq 0,001$. Có thể do các xuất xứ Đàn hương trắng được trồng khảo nghiệm có nguồn gốc nhập nội khác nhau nên 8 xuất xứ Đàn hương trắng có mức độ biến dị di truyền khá cao.

Mức độ sai khác di truyền giữa các xuất xứ Đàn hương trắng trong nghiên cứu này cao hơn so

với nghiên cứu của Sandeep và đồng tác giả (2020) về loài Đàn hương tại Ấn Độ sử dụng chỉ thị ISSR. Với mức độ sai khác di truyền tối đa trong quần thể đạt 85,40% và mức độ sai khác di truyền giữa các quần thể là 14,60%. Bên cạnh đó, nhóm tác giả không phát hiện mối tương quan đáng kể nào giữa các biến dị về hình thái và sai khác di truyền ở các quần thể Đàn hương trắng được nghiên cứu ($r = 0,44$; $p < 0,0001$).

3.2.3. Khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng di truyền của các xuất xứ Đàn hương trắng

Kết quả phân tích khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng giữa 8 xuất xứ Đàn hương trắng cho thấy, khoảng cách di truyền giữa các xuất xứ là tương đối lớn nằm trong khoảng từ 0,070 đến 0,362 và mức độ tương đồng giữa các xuất xứ dao động trong khoảng 0,696 (69,6%) đến 0,932 (93,2%) (Bảng 5).

Bảng 5. Khoảng cách di truyền (dưới vạch) và mức độ tương đồng (trên vạch) của 8 xuất xứ Đàn hương trắng được nghiên cứu

Xuất xứ	AnĐo1	AnĐo2	AnĐo3	InĐo1	InĐo2	VNam1	AnĐo4	VNam2
AnĐo1	-	0,839	0,852	0,759	0,857	0,842	0,726	0,739
AnĐo2	0,176	-	0,932	0,757	0,825	0,797	0,696	0,734
AnĐo3	0,160	0,070	-	0,809	0,848	0,799	0,761	0,789
InĐo1	0,276	0,278	0,213	-	0,883	0,771	0,729	0,743
InĐo2	0,154	0,193	0,165	0,124	-	0,813	0,748	0,764
VNam1	0,172	0,227	0,225	0,260	0,206	-	0,729	0,780
AnĐo4	0,321	0,362	0,274	0,316	0,291	0,316	-	0,923
VNam2	0,303	0,310	0,236	0,297	0,269	0,248	0,080	-

Xuất xứ AnĐo4 có khoảng cách di truyền xa nhất so với các xuất xứ còn lại (trừ xuất xứ VNam2) rồi giảm dần theo thứ tự lần lượt là AnĐo2 (0,362), AnĐo1 (0,321), InĐo1 (0,316), VNam1 (0,316), InĐo2 (0,291) và AnĐo3 (0,274). Tương tự, xuất xứ VNam2 cũng có khoảng cách di truyền xa so với các xuất xứ khác lần lượt là AnĐo2 (0,310), AnĐo1 (0,303), InĐo1 (0,297), InĐo2 (0,269), VNam1 (0,248), và AnĐo3 (0,236). Do đó, khoảng cách di

truyền giữa hai xuất xứ AnĐo4 và VNam2 là gần nhau nhất, với khoảng cách là 0,080.

Khoảng cách di truyền giữa xuất xứ InĐo1 và InĐo2 thu được là tương đối gần với khoảng cách là 0,124. Tuy nhiên, xuất xứ InĐo1 lại có khoảng cách di truyền tương đối xa so với 4 xuất xứ AnĐo2, AnĐo1, VNam1 và AnĐo3 lần lượt là 0,278; 0,276; 0,260 và 0,213. Với xuất xứ InĐo2 có khoảng cách di truyền gần hơn với 4 xuất xứ trên so với InĐo1, lần lượt là VNam1

(0,206), AnĐo2 (0,193), AnĐo3 (0,165) và AnĐo1 (0,154).

Xuất xứ VNam1 có khoảng cách di truyền ở mức trung bình so với 3 xuất xứ có nguồn gốc từ Ấn Độ bao gồm AnĐo1 (0,172), AnĐo2 (0,227) và AnĐo3 (0,225). Bên cạnh đó, 3 xuất xứ này lại có khoảng cách di truyền gần với nhau và dao động trong khoảng từ 0,070 đến 0,176; với xuất xứ AnĐo2 với AnĐo3 là 0,070; AnĐo1 và AnĐo3 là 0,160 và AnĐo1 và AnĐo2 là 0,176.

Mức độ tương đồng (trên vạch) thu được ở bảng 5 cho thấy, mức độ tương đồng di truyền của 8 xuất xứ Đàn hương trắng được nghiên cứu ở mức trung bình, dao động từ 0,696 đến 0,932. Giá trị cao nhất giữa 3 xuất xứ AnĐo1 - AnĐo2 - AnĐo3 nằm trong khoảng từ 0,839 (83,9%) đến 0,932 (93,2%), trong đó hai xuất xứ AnĐo2 và AnĐo3 là có mức độ tương đồng di truyền cao nhất, đạt 93,2%. Bên cạnh đó, xuất xứ

InĐo4 và xuất xứ VNam2 cũng có mức độ tương đồng di truyền cao đạt 0,923 (92,3%); InĐo1 và InĐo2 là 0,883 (88,3%). Ngược lại, tại xuất xứ AnĐo4 và InĐo2 có mức độ tương đồng di truyền thấp nhất chỉ đạt 0,696 tương ứng với 69,6%.

Nhìn chung, từ kết quả phân tích khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng của 8 xuất xứ Đàn hương trắng nhận thấy sự đồng nhất giữa hai giá trị này và có ý nghĩa về mặt khoa học làm cơ sở cho việc phát triển trồng loài cây này tại nước ta trong thời gian tới.

3.2.4. Mối quan hệ di truyền của các xuất xứ Đàn hương trắng

Thông qua phân tích bằng phần mềm POPGENE, các chỉ số đa dạng di truyền giữa 8 xuất xứ Đàn hương trắng được trình bày cụ thể ở bảng 6.

Bảng 6. Các chỉ số đa dạng di truyền giữa các xuất xứ Đàn hương trắng

Thông số di truyền	Trung bình ± SD
Số lượng mẫu	120
H_T	0,3029 ± 0,0169
H_S	0,1488 ± 0,0070
G_{ST}	0,5087
N_m	0,4829

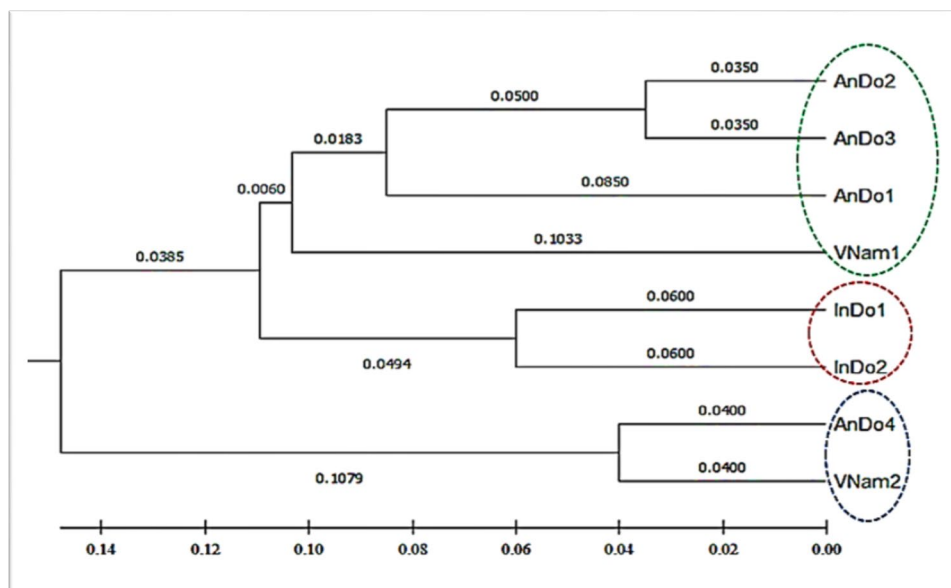
Ghi chú: H_T - chỉ số đa dạng nguồn gen của tổng các xuất xứ; H_S - chỉ số đa dạng gen trung bình trong từng xuất xứ; G_{ST} - chỉ số sai khác di truyền Nei giữa các xuất xứ; N_m - chỉ số trao đổi gen giữa các xuất xứ.

Kết quả thu được cho thấy, các mẫu Đàn hương trắng thuộc 8 xuất xứ nghiên cứu có chỉ số đa dạng di truyền nguồn gen trong từng xuất xứ là $H_S = 0,1488$ chiếm khoảng 49%, chỉ số đa dạng nguồn gen của các xuất xứ $H_T = 0,3029$, tương đồng với kết quả phân tích AMOVA thu được ở trên. Chỉ số sai khác di truyền G_{ST} giữa 8 xuất xứ là 0,5087 chứng tỏ có tới 51% (>10%) sự sai khác di truyền giữa các xuất xứ nghiên cứu và có giá trị cao. Dựa trên chỉ số sai khác di truyền giá trị N_m đạt 0,4829, cho thấy, tần số trao đổi gen giữa các xuất xứ Đàn hương trắng được nghiên cứu là rất thấp. Nguyên nhân chính là

do các xuất xứ Đàn hương trắng có nguồn gốc nhập từ các nước khác nhau (Ấn Độ, Indonesia) và có khoảng cách xa nhau về mặt địa lý. Dẫn đến các xuất xứ được nghiên cứu có sự khác biệt lớn về di truyền nhưng khả năng có sự trao đổi nguồn gen giữa các xuất xứ là không đáng kể. Do đó, kết quả nghiên cứu thu được cho thấy, có sự sai khác về mặt di truyền giữa 8 xuất xứ Đàn hương trắng nên cần tập trung phát triển và lưu giữ nguồn gen cây này trong rừng trồng ở nước ta.

Một số nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền của cây Đàn hương trắng trồng tại một số nước như Úc, Ấn Độ, Đông Timor, Indonesia sử dụng chỉ thị ISSR, RAPD, SSR được công bố cho thấy, mức độ sai khác về mặt di truyền giữa các cá thể trong cùng quần thể chiếm từ 78,3% giữa 5 xuất xứ Đàn hương trắng ở Nam Ấn Độ (Suma and Balasundaran, 2003) đến 84% giữa 2 xuất xứ thuộc vùng Đông Nusa Tenggara - Ấn Độ (Nurochman *et al.*, 2019), thậm chí có thể lên tới 92% (Fatima *et al.*, 2021) và 97% (Fatima *et al.*, 2021) trong tổng số mức độ khác biệt di truyền được xác định bằng chỉ thị phân tử, đồng nghĩa việc khác biệt di truyền giữa các xuất xứ chỉ đạt từ 16% đến 21,7%. Từ đó, làm cơ sở tiền đề cho việc bảo tồn, phát triển đa dạng nguồn gen cho công tác trồng rừng Đàn hương hiện nay tại một số nước trong đó có Việt Nam.

Sử dụng phần mềm MEGA X xây dựng cây quan hệ di truyền giữa 8 xuất xứ Đàn hương trắng dựa trên mức độ tương đồng cũng như khoảng cách di truyền ở bảng 5. Từ kết quả trên cây phân loại nhận thấy, 8 xuất xứ Đàn hương trắng chia thành 2 nhánh chính và có sự phân chia rõ rệt. Nhánh lớn chính thứ nhất bao gồm 2 xuất xứ AnĐo4 và VNam2, nhánh chính thứ hai bao gồm 6 xuất xứ còn lại. Nhánh chính thứ hai được chia thành hai nhánh nhỏ hơn, nhánh nhỏ thứ nhất gồm hai xuất xứ InĐo1 và InĐo2, nhánh nhỏ thứ hai lại được chia thành hai nhánh nhỏ hơn bao gồm 4 xuất xứ còn lại. Có thể thấy, ở nhánh nhỏ thứ hai có sự phân chia rõ rệt thành hai nhánh nhỏ, với xuất xứ VNam1 ở riêng một nhánh và ở nhánh còn lại là 3 xuất xứ có nguồn gốc từ Ấn Độ (AnĐo1, AnĐo2 và AnĐo3) (Hình 3).

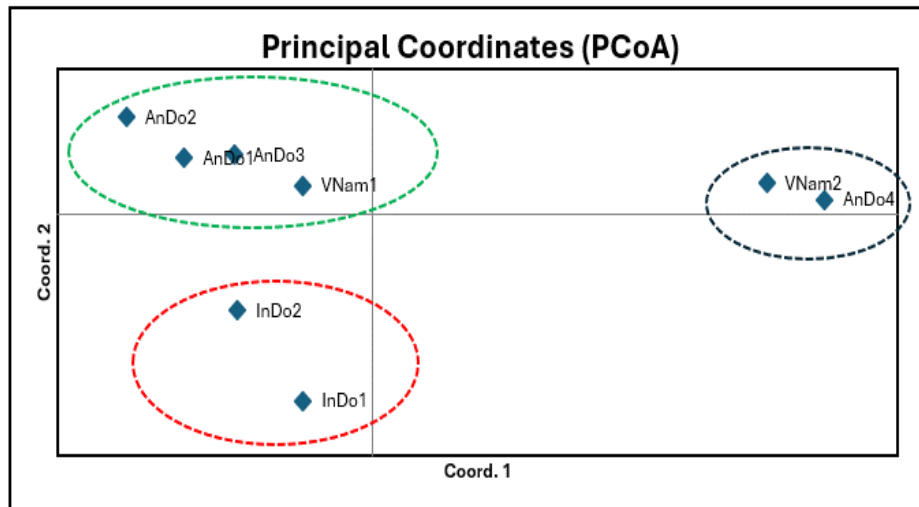


Hình 3. Cây quan hệ di truyền của 8 xuất xứ Đàn hương trắng nghiên cứu

Như vậy, qua kết quả phân tích và xây dựng cây quan hệ di truyền của 8 xuất xứ Đàn hương trắng cho thấy, sự phân chia rõ ràng giữa các xuất xứ với nhau. Kết quả thu được có sự tương đồng với kết quả đã phân tích ở trên.

Tiếp theo, tiến hành phân tích Principal Coordinates Analysis (PCoA) cho 8 xuất xứ

Đàn hương trắng cho thấy, sự phân bố rõ ràng và có sự tương đồng với kết quả xây dựng cây quan hệ di truyền bảng 6 và hình 3. Kết quả cho thấy, 8 xuất xứ chia thành 3 khu vực tách biệt rõ ràng với khu vực I gồm 4 xuất xứ AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 và VNam1; khu vực II gồm 2 xuất xứ InĐo1 và InĐo2; khu vực III gồm 2 xuất xứ AnĐo4 và VNam2 (Hình 4).



Hình 4. Kết quả phân tích PCoA của 8 xuất xứ Đàn hương trắng được nghiên cứu

3.3. Kết quả phân tích cấu trúc quần thể Đàn hương trắng được nghiên cứu

Phân tích phân nhóm dựa trên kết quả đánh giá kiểu gen ISSR để làm rõ cấu trúc quần thể trong tập đoàn các mẫu Đàn hương trắng được nhập từ

Ấn Độ, Indonesia và một số giống nhập đã được công nhận tại Việt Nam. Kết quả phân tích về khả năng phân nhóm các mẫu Đàn hương trắng có sự tương đồng di truyền bằng phần mềm STRUCTURE được thể hiện ở bảng 7 và hình 5.

Bảng 7. Kết quả xác định số quần thể tối ưu K trong các xuất xứ Đàn hương trắng bằng phần mềm Structure Harvester

K	Lần lặp	LnP(K) TB	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln'(K)	Δ K
1	10	-6.983,98	0,679542	NA	NA	NA
2	10	-5.779,94	82,84955	1.204,2	163,2	1,969594
3	10	-4.732,46	13,11142	1.047,3	481,7	36,738202
4	10	-4.166,87	60,74533	565,6	187,8	3,091102
5	10	-3.747,73	113,1967	419,1	290,5	2,566682
6	10	-3.556,57	51,97012	191,2	137,5	2,645366
7	10	-3.372,11	59,35216	184,5	226,2	3,811487
8	10	-3.280,87	212,2322	91,2	1.050,0	4,947177
9	10	-3.861,24	1.529,801	-580,4	1.742,9	1,139325
10	10	-3.265,77	513,2363	595,5	NA	NA

Ghi chú: $\Delta K = |Ln'(K)|/StdevLnP(K)$, giá trị ΔK lớn nhất tương ứng với số nhóm quần thể được tối ưu (A), và đỉnh của Biểu đồ (B)

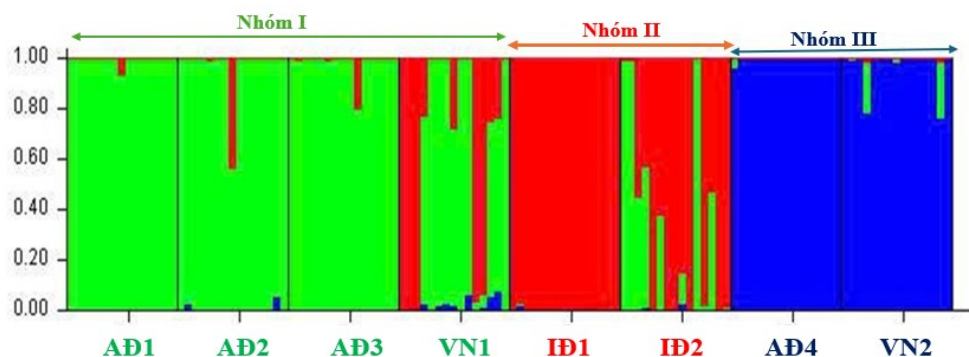
Kết quả cho biết, giá trị xác suất quần thể được phân thành các nhóm khác nhau về mặt di truyền đối với mỗi giá trị K (Bảng 7). Tại giá trị giá thiết K = 1 thì giá trị LnP(K) thu được là nhỏ nhất, với K = 2 thì giá trị LnP(K) tăng dần và giá trị ΔK được xác định bằng 1,969594. Khi giá

thiết giá trị K = 3 thì giá trị ΔK thu được là lớn nhất đạt 36,738202; với giá trị K từ 4 - 10 thì giá trị ΔK lại giảm đi giữa các lần chạy lặp lại với mỗi giá trị K tương ứng và nằm trong khoảng 1,139325 đến 4,947177. Như vậy, kết quả thu được cho thấy, khả năng các mẫu Đàn hương

trắng thuộc 8 xuất xứ nghiên cứu phân thành 3 nhóm khác nhau về mặt di truyền là cao nhất.

Tỷ lệ xác suất các xuất xứ được nghiên cứu được chỉ định thuộc mỗi nhóm tương ứng. Trong đó, tỷ lệ xác suất thuộc nhóm thứ I cao là

4 xuất xứ AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 và VNAm1; tỷ lệ xác suất thuộc nhóm thứ II là InĐo1 và InĐo2; còn xuất xứ AnĐo4 và VNAm2 tỷ lệ xác suất thuộc nhóm thứ III cao.



Hình 5. Cấu trúc quần thể xác định dựa trên kiểu gen ISSR của 8 xuất xứ

Qua kết quả hình 5 cho thấy, rằng, 8 xuất xứ Đền hương trắng trong nghiên cứu được chia thành 3 nhóm, với nhóm I (AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 và VNAm1) có nguồn gốc Ấn Độ, nhóm II có nguồn gốc Indonesia (InĐo1 và InĐo2) và nhóm III (VNAm2 và AnĐo4) là giống được công nhận giống tại Việt Nam được trồng khảo nghiệm tại tỉnh Bắc Giang và Quảng Ninh như đã thảo luận ở trên.

IV. KẾT LUẬN

Phân tích 120 mẫu Đền hương trắng của 8 xuất xứ với 5 chỉ thị ISSR thu được 62 phân đoạn AND, trong đó có 41,73% phân đoạn đa hình; các mẫu Đền hương có mức độ đa dạng di

truyền thấp với các giá trị trung bình lần lượt là $N_a = 1,417$; $N_e = 1,225$; $I = 0,223$; $h = 0,149$ và $P = 41,73\%$. Mức độ sai khác di truyền tối đa giữa các xuất xứ ở mức độ tương đối cao đạt 49% và mức độ sai khác di truyền giữa các mẫu trong cùng xuất xứ đạt 51% ($PhiPT = 0,509$). Dựa vào đặc điểm di truyền, 8 xuất xứ Đền hương trắng được chia thành 3 nhóm, với nhóm I gồm 4 nguồn giống có nguồn gốc Ấn Độ (AnĐo1, AnĐo2, AnĐo3 và VNAm1), nhóm II gồm 3 xuất xứ có nguồn gốc từ Indonesia và nhóm III gồm 2 nguồn giống có xuất xứ từ Ấn Độ là xuất xứ đã được công nhận tại Việt Nam (VNAm2 và AnĐo4).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Doyle J.J., Dickson E.E., 1987. Preservation of Plant Samples for DNA Restriction Endonuclease Analysis. *Taxon*. 36(4): 715 - 22.
2. Earl D.A., Vonholdt B.M., 2012. Structure Harvester: A Website and Program for Visualizing Structure Output and Implementing the Evanno Method. *Conserv. Genet. Resour.* 4:359 - 361.
3. Fatima T., Srivastava A., Hanur V.S., Srinivasa Rao M., 2021. Assessment of Genetic Diversity and Population Genetic Structure of *Santalum album* L. in India by Genic and Genomic SSR markers, bioRxiv.
4. Isshiki S., Iwata N., Khan M.M.R., 2008. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horticulture*. 117: 186 - 190.

5. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms, *Mol Biol Evol.* 35(6):1547 - 1549.
6. Nurochman D., Matangaran J.R., Santosa G., Suharjito D., Sari R. K., 2019. Evaluation of genetic diversity of sandalwood (*Santalum album* L.) in aceh, Indonesia and it's essential oil characteristics: Evaluasi keragaman genetik cendana di Aceh, Indonesia dan karakteristik minyaknya. *Malaysian Journal of Science.* 38(2): 31 - 46.
7. Peakall R., DNA P.E., Smouse, 2006. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching DNA research. *Molecular Ecology Notes.* 6(1): 288 - 295.
8. Pritchard J.K., Stephens M.J., Donnelly P.J., 2020. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics.* 155:945 - 959.
9. Sandeep C., Kumar A., Rodrigues V., Viswanath S., Shukla A.K., Sundaresan V., 2020, Morpho-genetic divergence and population structure in Indian *Santalum album* L. *Trees.* 34: 1113 - 1129.
10. Suma T.B., Balasundaran M., 2003. Isozyme variation in five provenances of *Santalum album* in India. *Australian Journal of Botany.* 51(3): 243 - 249.
11. The Plant List, 2010. *Santalum album* L. 356 - 371.
12. Vũ Văn Thoại, 2020. Nghiên cứu chọn giống, trồng và chế biến sản phẩm trà từ lá Đàn hương trắng (*Santalum album* L.) ở một số vùng sinh thái (Tây Bắc, Nam Trung Bộ và Tây Nguyên).
13. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T., Ye Z.H., Mao J. X., 1999. POPGENE, version 1,32: the user friendly software for population genetic analysis. Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Edmonton, AB, Canada.

Email tác giả liên hệ: leson@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 13/01/2025

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 10/02/2025; 11/02/2025

Ngày duyệt đăng: 14/02/2025