

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ BÀN KHÔNG CÁNH (*Sonneratia apetala* Buch - Ham) Ở VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ ISSR

Nguyễn Thị Việt Hà¹, Lê Văn Thành², Nguyễn Thị Huyền¹,
Lê Thị Thủy¹, Trần Thị Thu Hà¹, Mai Thị Phương Thúy¹,
Hà Thị Huyền Ngọc¹, Tạ Văn Hân², Lê Sơn¹

¹ Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

² Viện Nghiên cứu Sinh thái và Môi trường rừng - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Bàn không cánh (*Sonneratia apetala* Buch - Ham) là loài cây nhập nội được trồng ở một số hệ sinh thái rừng ngập mặn ở Nam Định và Thái Bình và đã chứng tỏ khả năng thích nghi tốt với điều kiện Việt Nam. Các rừng trồng Bàn không cánh ở các tỉnh này đang là nguồn cung cấp hạt duy nhất cho các chương trình trồng rừng ven biển. Tuy nhiên, việc đánh giá đa dạng di truyền cũng như quan hệ di truyền giữa các nguồn vật liệu giống chưa được thực hiện. Trong nghiên cứu này, 8 chỉ thị ISSR đã được sử dụng để đánh giá tính đa dạng cũng như mối quan hệ di truyền giữa các xuất xứ (nguồn giống) và giữa các mẫu trong cùng xuất xứ Bàn không cánh hiện đang có tại Việt Nam. Kết quả phân tích 90 mẫu Bàn không cánh từ 6 xuất xứ đã thu được tổng số 87 phân đoạn ISSR-PCR, trong đó có 63 phân đoạn đa hình (chiếm 72,61%). Các chỉ tiêu đa dạng di truyền của các xuất xứ tương đối cao ($h = 0,257$, $I = 0,385$). Phân tích quan hệ di truyền giữa các xuất xứ cho thấy các xuất xứ có sự tương đồng khá cao về mặt di truyền, biến động từ 0,892 tới 0,966. Các xuất xứ Bàn không cánh được chia làm 2 nhánh lớn, nhánh 1 chỉ có xuất xứ nhập từ Myanmar năm 2003, trong khi nhánh 2 bao gồm 5 xuất xứ còn lại (Hải Nam, Quảng Đông, Myanmar năm 1995, Tanintharyi - Myanmar, Ayeyarwady - Myanmar) được chia làm các nhóm nhỏ có quan hệ di truyền gần gũi với nhau. Từ các kết quả thu được, một số định hướng cho nghiên cứu chọn giống và phát triển giống Bàn không cánh trong tương lai cũng đã được đề cập.

Từ khóa: Bàn không cánh, chỉ thị phân tử, đa dạng di truyền, ISSR

Evaluation of genetic diversity and relationship of introduced *Sonneratia apetala* Buch - Ham provenances in Vietnam using ISSR markers

Sonneratia apetala Buch - Ham has been planted in some mangrove ecosystems in Nam Dinh and Thai Binh provinces. Despite of being widely used in afforestation in these areas, there is no baseline of genetic information of this species regarding to genetic diversity. The use of molecular markers to assess genetic diversity among *S. apetala* provenances will, therefore, provide the essential information for breeding and deployment program for this species. In this study, 8 ISSR markers were used to evaluate the genetic diversity and relationship between 6 provenances of *S. apetala*, which were imported and planted in Nam Dinh and Thai Binh. A total of 87 DNA fragments were detected, in which 63 were polymorphic (72.61%). The result showed the high level of genetic diversity of studied samples ($h = 0.257$). The genetic similarity coefficient among provenances ranged from 0.892 to 0.966. The phylogeny of *S. apetala* were divided into 2 branches, the first one has only provenance from Myanmar in 2003 and the other consisted of 5 remained provenances (Hainan, Guangdong, Myanmar in 1995, Tanintharyi - Myanmar, Ayeyarwady - Myanmar). Some recommendations for breeding and deployment programs were also addressed.

Keywords: DNA markers, genetic diversity, ISSR, *Sonneratia apetala* Buch - Ham

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bần không cánh (*Sonneratia apetela* Buch - Ham) là 1 trong 5 loài Bần thuộc chi *Sonneratia* (Phạm Hoàng Hộ, 2000) có phân bố tự nhiên ở Banglades, Ấn Độ và Myanma. Bần không cánh đã được nhập nội và trồng tại Việt Nam từ những năm 2003. Loài cây này được trồng ở nhiều vùng cửa sông, ven biển Bắc Bộ và Bắc Trung Bộ như Giao Thủy (Nam Định), Tiền Hải (Thái Bình) (Lê Văn Thành *et al.*, 2018). Quá trình trồng thử nghiệm cho thấy, Bần không cánh thích nghi tốt với điều kiện sinh thái ở các địa điểm trồng, cây sinh trưởng, phát triển nhanh, ra hoa kết quả bình thường, có sinh khối lớn, có khả năng chịu rét, chịu lạnh tốt và phù hợp với khí hậu các tỉnh phía Bắc, có tiềm năng để thay thế một số loài cây ngập mặn đang bị suy thoái (Hà Thị Mừng *et al.*, 2016). Do đó, việc đẩy mạnh nghiên cứu và phát triển loài cây này là rất cần thiết, nhằm góp phần ứng phó với biến đổi khí hậu của vùng ven biển. Hiện nay, nguồn giống cây Bần không cánh phục vụ cho mục tiêu chọn giống, trồng và phục hồi rừng ngập mặn ven biển hiện nay khá hạn chế, chủ yếu nhờ vào tái sinh tự nhiên. Trong một số chương trình trồng rừng ven biển, các địa phương đã sử dụng nguồn hạt thu từ các rừng trồng đã có chủ yếu được nhập về từ Myanmar và Trung Quốc với thông tin về nguồn gốc chưa đầy đủ. Việc làm này có thể đáp ứng được nhu cầu về cây giống cho việc trồng rừng ở các hệ sinh thái ngập mặn ven biển, dù vậy, để có thể nâng cao giá trị của loài cây về lâu dài cần có chương trình chọn giống có hệ thống dựa trên cơ sở đánh giá tính đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của các nguồn vật liệu giống hiện có ở nước ta. Tuy nhiên, hiện nay chưa có công bố nào về phân tích đa dạng nguồn gen Bần không cánh ở Việt Nam. Sự thiếu hụt về các thông tin di truyền có thể làm giảm hiệu quả các chương trình chọn giống do việc sử dụng 1 nguồn giống, hoặc các nguồn giống có tính đa dạng di truyền thấp và có quan hệ gần gũi để làm vườn giống, rừng giống sẽ gây

ra hiện tượng thoái giống do quá trình tự thụ phấn hoặc giao phấn cận huyết.

Ngày nay, việc ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trên cơ sở phân tích RFLP, AFLP, ISSR, RAPD, SSR... để đánh giá mức độ đa dạng di truyền quần thể đã được áp dụng trên nhiều đối tượng cây trồng (White *et al.*, 2007). Trong đó, kỹ thuật ISSR đã được sử dụng rộng rãi do chi phí này sử dụng đoạn mồi có kích thước lớn hơn nên kết quả khả năng lặp lại, mức độ tin cậy cao hơn (Mishra *et al.*, 2003), ngoài ra còn có ưu điểm là tương đối đơn giản, hiệu quả cao và tiết kiệm thời gian trong việc đánh giá đa dạng nguồn gen cây.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá đa dạng di truyền cho 6 nguồn giống (xuất xứ) đang được trồng tại các tỉnh Nam Định và Thái Bình bằng việc sử dụng các chỉ thị phân tử ISSR. Đây cũng là các nguồn cung cấp hạt giống và cây giống cho các chương trình trồng rừng ven biển của các địa phương trên. Việc phân tích đa dạng di truyền và quan hệ di truyền giữa các xuất xứ nhằm đưa ra những giải pháp hợp lý phục vụ cho công tác chọn lọc cây trội, phát triển nguồn giống để từ đó góp phần phát triển hệ sinh thái rừng ngập mặn, nâng cao hiệu quả kinh tế - xã hội đồng thời giảm ảnh hưởng của hiện tượng biến đổi khí hậu ở vùng cửa sông, ven biển nước ta.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu là mẫu lá của 90 cây Bần không cánh (3 mẫu/cây) được thu từ 6 nguồn giống (15 cây/xuất xứ) hiện đang được trồng tại tỉnh Nam Định và Thái Bình (bảng 1). Mỗi nguồn giống được coi như là một xuất xứ trong nghiên cứu này. Các mẫu Bần không cánh sau khi thu thập tại hiện trường được bảo quản lạnh và vận chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử (Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam) để tiến hành tách chiết ADN tổng số.

Bảng 1. Các nguồn giống (xuất xứ) Bần không cánh (*Sonneratia apetela* Buch - Ham)

| STT | Xuất xứ nguyên sản | Ký hiệu | Địa điểm trồng | Số lượng mẫu |
|-----|----------------------------|---------|--|--------------|
| 1 | Hải Nam, Trung Quốc | HN | Xã Thụy Xuân, huyện Thái Thụy, tỉnh Thái Bình | 15 |
| 2 | Quảng Đông, Trung Quốc | QĐ | | 15 |
| 3 | Nhập từ Myanmar (năm 1995) | VN1 | Xã Đông Hoàng, Tiền Hải, Thái Bình | 15 |
| 4 | Nhập từ Myanmar (năm 2003) | VN2 | Cửa Ba Lạt, xã Nam Phú, Tiền Hải, Thái Bình và Giao Thủy, Nam Định | 15 |
| 5 | Tỉnh Tanintharyi, Myanmar | MY1 | Xã Thụy Xuân, huyện Thái Thụy, tỉnh Thái Bình | 15 |
| 6 | Tỉnh Ayeyarwady, Myanmar | MY2 | | 15 |

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết ADN tổng số

Tách chiết ADN tổng số của các mẫu được thực hiện dựa trên phương pháp của Doyle JJ. và Doyle JL. (1987) có cải tiến một số bước, cụ thể như sau: 100 mg mẫu lá sau khi nghiền mịn bằng nitor lỏng được đựng trong ống eppendorf 2 ml, bổ sung 800 μ l đệm chiết (EDTA 0,5M pH 8, 100 mM Tris HCl pH 8, 500 mM NaCl, 3% CTAB, 1% PVP và 0,1% β -mecaptoethanol). Ủ hỗn hợp dịch chiết và mẫu ở 50°C trong vòng 60 phút. Ly tâm 20.000 vòng/phút trong thời gian 10 phút, dùng pipet hút phần dịch sang ống eppendorf 2 ml mới và bổ sung 30 μ l RNase rồi ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Tiếp tục bổ sung 800 μ l Chlorofom:Isoamylalcohol (tỷ lệ thể tích 24:1), lắc đều và ly tâm 20.000 vòng/phút trong 10 phút, dùng pipet hút lớp trên cùng, tiếp theo ủ ở -20°C trong 45 phút. Ly tâm 20.000 vòng/phút trong 10 phút rồi thu tủa ADN, rửa tủa bằng Ethanol 70° lạnh kết hợp với ly tâm. Để ADN ở nhiệt độ phòng trong 5 phút rồi hòa tan bằng 50 μ l đệm 1xTAE và bảo quản trong tủ lạnh -20°C.

ADN tổng số sau khi tách chiết được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 0,8% và quan sát bằng máy soi gel sử dụng tia UV. Nồng độ ADN tổng số được xác định bằng máy đo quang phổ hấp thụ Nanodrop. ADN sử dụng chạy PCR phải đạt nồng độ \geq

20ng/ μ l và độ tinh sạch từ 1,8 - 2 sẽ được sử dụng làm nguyên liệu cho phản ứng PCR.

2.2.2. Kỹ thuật PCR-ISSR

Các môi ISSR được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền 90 mẫu Bần không cánh của 6 xuất xứ bằng có trình tự được mô tả trong bảng 2.

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

| STT | Môi | Trình tự |
|-----|--------|----------------------|
| 1 | UBC808 | AGAGAGAGAGAGAGAGC |
| 2 | UBC809 | AGAGAGAGAGAGAGAGG |
| 3 | UBC818 | CACACACACACA CACAG |
| 4 | UBC823 | TGTGTGTGTGTG TG TGGA |
| 5 | UBC827 | ACACACACACACACCG |
| 6 | UBC851 | GTGTGTGTGTGTGTCTG |
| 7 | UBC856 | ACACACACACACACACYA |
| 8 | UBC865 | CCGCCGCCGCCGCCGCCG |

Phản ứng khuếch đại gen được thực hiện trên máy PCR 9700 (GeneAmp PCR System 9700, Mỹ) với tổng thể tích 15 μ l cho mỗi phản ứng, bao gồm: H₂O deion (3,5 μ l), Mastermix 2X (7,5 μ l), 50 ng/ μ l ADN (3 μ l) và 10 μ M môi (1 μ l). Mỗi phản ứng được tiến hành lặp lại 3 lần để xác định tính ổn định của kiểu gen các mẫu nghiên cứu.

Phản ứng ISSR-PCR được thực hiện qua các bước như sau: Biến tính 4 phút ở 94°C; 35 chu kỳ gia nhiệt gồm 45 giây ở 94°C, 60 giây ở

56°C và 45 giây ở 72°C; cuối cùng là 5 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR được giữ ở tủ lạnh 4°C và được kiểm tra trên gel agarose 1,8% trong dung dịch đệm 1xTAE có bổ sung thuốc nhuộm Redsafe với tỷ lệ thể tích 5 µl/100 ml đệm, chạy ở hiệu điện thế 90V trong vòng 70 phút. Kết quả điện di được quan sát bằng máy soi gel sử dụng tia UV, kích thước các băng được so sánh dựa trên thang ADN chuẩn 1kb (Thermo Scientific).

*** Phương pháp xử lý số liệu**

Phân tích số liệu bằng chương trình NTSYSpc version 2.0 theo quy ước: 1 = phân đoạn ADN xuất hiện và 0 = phân đoạn ADN không xuất hiện khi điện di sản phẩm PCR.

Hàm lượng thông tin đa hình (giá trị PIC - Polymorphism Information Content) của các mồi ISSR nghiên cứu được xác định theo công thức:

$$PIC_i = 1 - \sum P_{ij}^2$$

Trong đó: P_{ij} là tần suất alen thứ j với locus thứ i. Hệ số này được tính toán bằng phần mềm PIC calculator. Tổng số các băng ADN có cùng kích thước (được coi là cùng 1 alen) sẽ được sử dụng để tính toán giá trị PIC. Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn).

Số liệu kiểu gen sẽ được phân tích bằng phần mềm GenALEx 6.5 để xác định các thông số đa dạng di truyền như hệ số đa dạng di truyền theo Nei (h), số alen quan sát được (N_s), phần trăm các phân đoạn đa hình ($PPB\%$), khoảng cách di truyền, mức độ tương đồng... Phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu theo phương pháp Nei và Li (1979) bằng phần mềm MEGA X. Phân tích tọa độ chính (Principal Coordinates Analysis-PCoA) thể hiện mức độ khác biệt về di truyền giữa các nguồn giống được tiến hành bằng phần mềm GenALEx 6.5.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tách chiết ADN tổng số

Kết quả kiểm tra ADN tổng số 90 mẫu Bần không cánh trên bản gel agarose 0,8% cho thấy các băng ADN thể hiện rõ ràng, không bị đứt gãy, độ sắc nét cao. Kết quả đo nồng độ ADN thu được từ 90 mẫu Bần không cánh đều có nồng độ ADN > 20 ng/µl, các chỉ số OD_{260/280} đạt tiêu chuẩn với giá trị từ 1,8 - 2, chứng tỏ các mẫu ADN tổng số thu được có chất lượng tốt, độ tinh sạch cao, đủ điều kiện để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Đa dạng di truyền các xuất xứ Bần không cánh hiện có ở nước ta

Kết quả phân tích cho thấy với 8 chỉ thị ISSR nghiên cứu tổng số thu được 87 phân đoạn ADN (băng) với kích thước dao động từ 250bp đến 2.500bp, trong đó có 63 phân đoạn đa hình đạt trung bình 72,61% (bảng 3). Chỉ số PIC dao động từ 0,48 đến 0,53 với giá trị trung bình đạt 0,51 cho cả 8 chỉ thị nghiên cứu. Theo Botstein và đồng tác giả (1980), nếu chỉ số PIC > 0,5 thì mồi được sử dụng cho kết quả đa hình cao, ngược lại chỉ số PIC nằm trong khoảng 0,25 < PIC < 0,5 cho kết quả đa hình trung bình và với chỉ số PIC < 0,25 thì kết quả đa hình thấp. Nhìn chung, tất cả các chỉ số PIC của 10 mồi ISSR đều cao hơn 0,5 và điều này cho thấy 8 chỉ thị phân tử được dùng trong nghiên cứu này đạt mức đa hình cao.

Phân tích các chỉ tiêu đa dạng di truyền của các xuất xứ Bần không cánh cho thấy: Hệ số đa dạng di truyền trung bình của Bần không cánh được nghiên cứu là tương đối cao ($h = 0,257$) (bảng 3). Trong 6 xuất xứ, thì xuất xứ MY1 (Tanintharyi, Myanmar) có hệ số đa dạng di truyền cao nhất đạt 0,282; tiếp theo là xuất xứ HN với h là 0,281 và xuất xứ VN1 có hệ số đa dạng di truyền thấp nhất đạt 0,206. Mức độ đa dạng di truyền của các xuất xứ Bần không cánh hiện có ở Việt Nam tương đương với mức độ đa dạng di truyền của 3 quần thể

tự nhiên ở Bangladesh khi được đánh giá bằng các mồi SSR và RAPD (tương ứng 0,239 và 0,310) (Ahmed *et al.*, 2017). So sánh với một số loài cây thuộc hệ sinh thái ven biển cho thấy mức độ đa dạng di truyền của Bần không cánh thấp hơn so với 3 đối tượng thuộc chi

Ceriops (Họ Đước) là *C. decandra* và *C. tagal*, *C. australis* khi phân tích bằng 11 mồi ISSR ($h = 0,308$ (Yelin Huang *et al.*, 2008) nhưng lại cao hơn so với *Punica granatum* L. ($h = 0,21$) (Narzary *et al.*, 2010).

Bảng 4. Các thông số đánh giá đa dạng di truyền cây Bần không cánh

| Nguồn giống/Xuất xứ | Ký hiệu | Các chỉ số đa dạng di truyền | | | | PPB (%) |
|------------------------|---------|------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | Na | Ne | I | h | |
| Hải Nam, Trung Quốc | HN | 1,471 | 1,486 | 0,415 | 0,281 | 73,56 |
| Quảng Đông, Trung Quốc | QĐ | 1,540 | 1,471 | 0,404 | 0,271 | 77,01 |
| Myanmar - 1995 | VN1 | 1,333 | 1,331 | 0,318 | 0,206 | 66,67 |
| Myanmar - 2003 | VN2 | 1,425 | 1,487 | 0,405 | 0,276 | 71,26 |
| Tanintharyi, Myanmar | MY1 | 1,655 | 1,472 | 0,426 | 0,282 | 82,76 |
| Ayeyarwady, Myanmar | MY2 | 1,287 | 1,399 | 0,341 | 0,229 | 64,37 |
| <i>Trung bình</i> | | <i>1,452</i> | <i>1,441</i> | <i>0,385</i> | <i>0,257</i> | <i>72,61</i> |
| <i>SE</i> | | <i>0,039</i> | <i>0,016</i> | <i>0,012</i> | <i>0,008</i> | <i>2,76</i> |

Chú thích: Na (số lượng alen quan sát được - Number of Observed Alleles), Ne (số lượng các alen có hiệu lực - Number of Effective Alleles), I (Chỉ số Shannon) và h (hệ số đa dạng di truyền theo Nei - Nei's gene diversity, PPB: tỷ lệ phần trăm các phân đoạn đa hình).

Các chỉ số đa dạng di truyền khác cũng được phân tích như Na, Ne và I đạt trung bình tương ứng là 1,452; 1,441 và 0,385 đều cho thấy mức độ đa dạng di truyền ở mức độ tương đối cao.

Tiến hành phân tích AMOVA (Analysis of Molecular Variance - mức độ thay đổi phân tử) cho thấy mức độ sai khác về phân tử giữa các mẫu ở 6 xuất xứ nghiên cứu đạt 11% trong khi mức độ sai khác về mặt phân tử giữa các mẫu trong cùng xuất xứ là 89%. Sự khác biệt về mặt di truyền này có nghĩa thống kê với $P \leq 0,001$ (bảng 4).

Bảng 4. Kết quả phân tích AMOVA mẫu Bần không cánh của 6 xuất xứ nghiên cứu

| AMOVA | Tỷ lệ |
|---------------------------------|--------------|
| Giữa các xuất xứ | 11% |
| Giữa các mẫu trong cùng xuất xứ | 89% |
| <i>P-value</i> | $\leq 0,001$ |

Thông thường các loài cây có khả năng giao phấn chéo cao thì mức độ thay đổi phân tử giữa các mẫu trong xuất xứ sẽ cao hơn so với

mức độ thay đổi giữa các xuất xứ (Rao and Hodgkin, 2002). Kết quả phân tích AMOVA của 90 mẫu nghiên cứu bước đầu có thể nhận định Bần không cánh là loài cây có khả năng giao phấn chéo cao. Kết luận này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của Ahmed và đồng tác giả (2017) khi các tác giả xác định tỷ lệ dị hợp tử quan sát được (Ho-observed heterozygosity) cao hơn so với giá trị của tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (He-expected heterozygosity) trong các quần thể tự nhiên ở Bangladesh. Tuy nhiên, để xác định chính xác mức độ giao phấn chéo của loài này ở các rừng trồng tại nước ta việc tiếp tục đánh giá sâu hơn là cần thiết.

Dù vậy, với kết quả phân tích bước đầu có thể đưa ra nhận định: Việc tiến hành thu thập và xây dựng rừng giống/vườn giống bao gồm các cá thể/gia đình/xuất xứ có quan hệ di truyền xa nhau sẽ đảm bảo được tính đa dạng di truyền cần thiết cho loài cây này và là hướng đi thiết thực trong thời gian tới trong công tác chọn tạo và phát triển giống Bần không cánh cho hệ sinh thái ven biển.

3.3. Xác định mối quan hệ di truyền giữa các xuất xứ Bàn không cánh

Đánh giá khoảng cách di truyền giữa 6 xuất xứ Bàn không cánh cho thấy: Mặc dù có mức độ đa dạng di truyền khá cao nhưng khoảng

cách di truyền giữa 6 xuất xứ hiện đang được trồng tại Nam Định và Thái Bình là không cao (chỉ từ 0,030 đến 0,114), mức độ tương đồng di truyền cao, biến động từ 0,892 tới 0,966 (bảng 5).

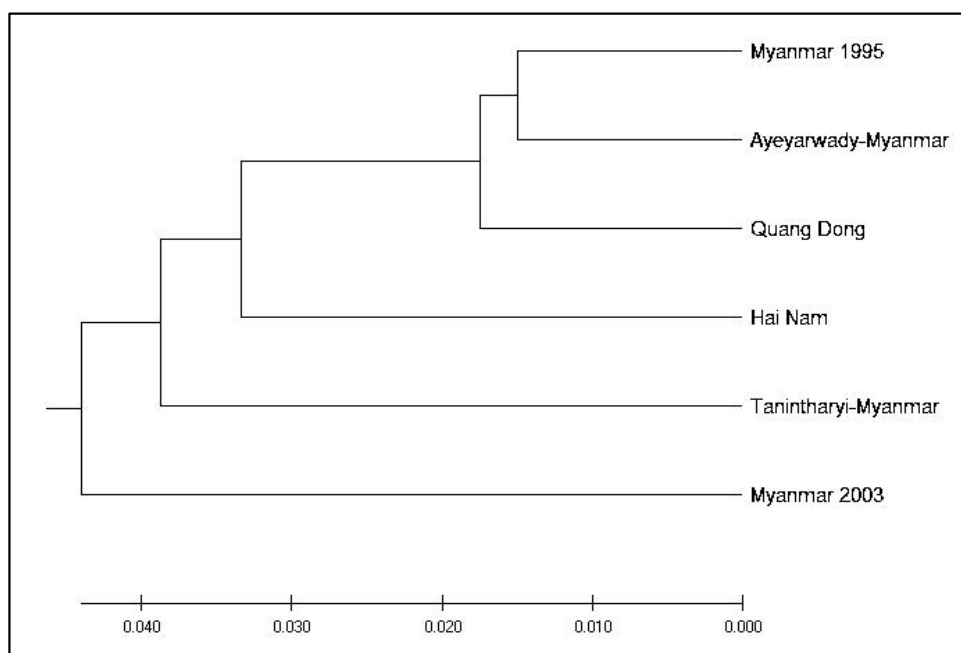
Bảng 5. Khoảng cách di truyền (phần dưới vạch) và mức độ tương đồng di truyền (phần trên vạch) của 6 xuất xứ nghiên cứu

| HN | QĐ | VN2 | VN1 | MY1 | MY2 | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| - | 0,965 | 0,892 | 0,920 | 0,927 | 0,920 | HN |
| 0,036 | - | 0,939 | 0,966 | 0,936 | 0,961 | QĐ |
| 0,114 | 0,063 | - | 0,929 | 0,900 | 0,912 | VN2 |
| 0,084 | 0,035 | 0,074 | - | 0,910 | 0,910 | VN1 |
| 0,076 | 0,066 | 0,106 | 0,095 | - | 0,930 | MY1 |
| 0,084 | 0,049 | 0,092 | 0,030 | 0,073 | - | MY2 |

Ghi chú: HN - Hải Nam, QĐ - Quảng Đông, Myanmar 2003 - VN2, Myanmar 1995 - VN2, Tanintharyi, Myanmar - MY1 và Ayeyarwady, Myanmar - MY2.

Tiến hành xây dựng cây quan hệ di truyền mẫu Bàn không cánh dựa trên mức độ tương đồng di truyền sử dụng phương pháp UPGMA bằng mềm MEGA X cho thấy: 6 xuất xứ Bàn không cánh được chia làm 2 nhánh lớn, ở nhánh 1 chỉ có xuất xứ Myanmar 2003, ở nhánh 2 bao gồm 5 xuất xứ còn lại và được chia làm các nhóm nhỏ.

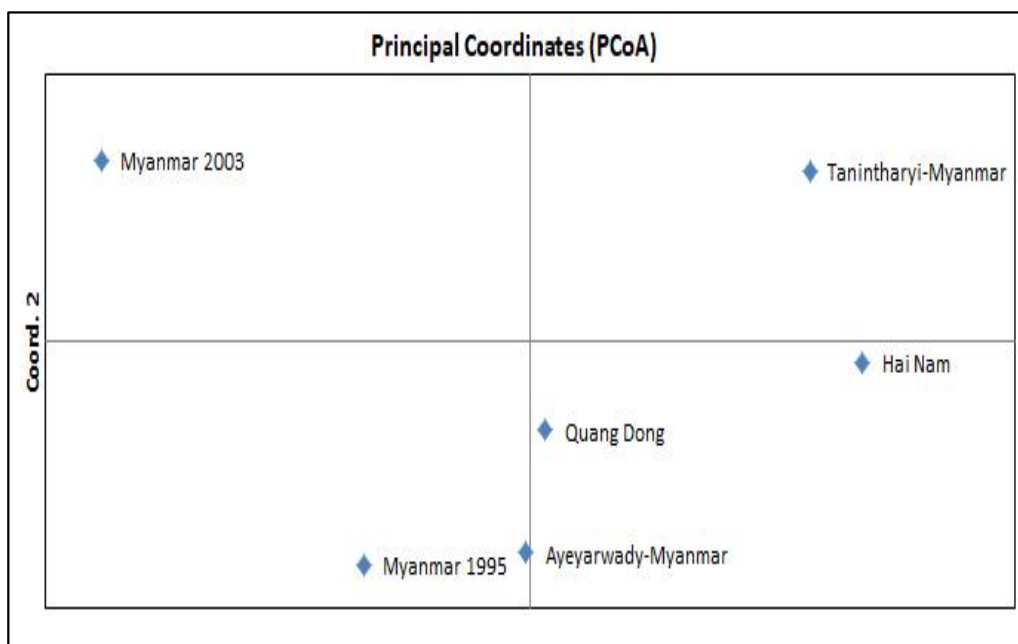
Các nhánh này lại được chia thành các nhóm nhỏ hơn, nhóm thứ nhất chỉ có xuất xứ của Tanintharyi, nhóm thứ hai có là xuất xứ Hải Nam và nhóm còn lại là chia tiếp thành 2 nhóm nhỏ. Trong đó, có một nhóm là xuất xứ Quảng Đông, nhóm còn lại bao gồm xuất xứ Ayeyarwady và xuất xứ Myanmar 2003 (hình 1).



Hình 1. Cây quan hệ di truyền của 6 xuất xứ Bàn không cánh

Phân tích PCA của 6 xuất xứ cho thấy, xuất xứ nhập từ Myanmar năm 2003 trồng tại Nam Định và Thái Bình được phân bố khá riêng biệt và xa hơn so với 5 xuất xứ còn lại; 2 xuất xứ là Myanmar 1995 và Ayearwady có

phân bố khá gần nhau (hình 2), kết quả này đồng nhất với kết quả khi phân tích cây quan hệ di truyền (hình 1) và kết quả phân tích khoảng cách di truyền giữa các xuất xứ (bảng 6).



Hình 2. Kết quả phân tích PCA của 6 xuất xứ nghiên cứu

Dựa vào các phân tích này có thể nhận định như sau:

- Các cây Bản không cánh được nhập từ Myanmar năm 1995 hiện trồng tại xã Đông Hoàng, Tiền Hải (Thái Bình) có chung nguồn gốc với xuất xứ Bản không cánh nhập từ tỉnh Ayeyarwady - Myanmar hiện đang được trồng tại xã Thụy Xuân, Huyện Thái Thụy (Thái Bình).

- Các xuất xứ nhập từ Trung Quốc (Hai Nam, Quảng Đông) có quan hệ di truyền gần gũi với các xuất xứ tự nhiên tại tỉnh Ayeyarwady và Tanintharyi (Myanmar). Bản không cánh không có tự nhiên ở Trung Quốc mà mới chỉ được dẫn nhập và trồng từ năm 1985, có thể các lô hạt nhập từ 2 địa điểm của Trung Quốc có quan hệ di truyền gần gũi với các xuất xứ tự nhiên tại Myanmar.

- Các cây Bản không cánh được du nhập và trồng thử nghiệm tại Nam Định và Thái Bình năm 2003 từ Myanmar có khoảng cách di truyền xa hơn và tách biệt so với nhóm các xuất xứ còn lại. Xuất xứ này cũng có các chỉ số đa dạng di truyền cao hơn so với các xuất xứ khác.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy các mẫu Bản không cánh từ các xuất xứ khác nhau hiện đang được trồng tại Nam Định và Thái Bình có mức độ đa dạng di truyền tương đối cao (0,257). Tuy nhiên, khoảng cách di truyền giữa 6 xuất xứ khá thấp, dao động từ 0,030 đến 0,114. Từ các kết quả trên có thể nhận định:

- Xuất xứ Bản không cánh được nhập về nước ta từ năm 1995 có quan hệ di truyền gần gũi

với xuất xứ Ayeyarwady, Myanmar. Các xuất xứ du nhập từ Trung Quốc có quan hệ di truyền gần gũi với các xuất xứ tự nhiên tại Ayeyarwady và Tanintharyi (Myanma).

- Xuất xứ Bần không cánh nhập từ Myanmar - 2003 có khoảng cách di truyền xa hơn so với các xuất xứ còn lại và đây cũng là xuất xứ có mức độ đa dạng di truyền cao nhất trong các xuất xứ hiện có ở nước ta.

Lời cảm ơn

Bài báo là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài “Nghiên cứu kỹ thuật trồng Bần không cánh (*Sonneratia apetala* Buch-Ham) góp phần phòng chống thiên tai và ứng phó với biến đổi khí hậu ở vùng cửa sông, ven biển Bắc Bộ và Bắc Trung Bộ”. Xin chân thành cảm ơn Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed A., Rashid M., Hasan S., Islam Md Nurul, and Rashid P., 2017. Rapt and ssr analysis of afforested *Sonneratia apetala* Buch-Ham. Population from the coastal areas of Bangladesh. Bangladesh Journal of Botany, 46 (3): 1001 - 1007
2. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetic, 32(3): 314 - 331.
3. Doyle J.J. and Doyle J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11 - 15.
4. Hà Thị Mừng, Lê Văn Thành, Đinh Thanh Giảng, 2016. Bần không cánh (*Sonneratia apetala* Buch - Ham) - Loài cây trồng rừng ngập mặn góp phần ứng phó với biến đổi khí hậu vùng ven biển Bắc Bộ. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp*.
5. Mishra P.K., Fox R.T.V., Culhamm A., 2003. Inter - simple sequence repeat and aggressiveness analysis revealed high genetic diversity, recombination and long range dispersal in *Fusarium culmorum*. School of Plant Sciences, The University of Reading. Whiteknights, Reading PG6 6AS, UK. Association of Applied Biologists.
6. Narzary D., Rana T.S., Ranade S.A., 2010. Genetic diversity in inter-simple sequence repeat profiles across natural populations of Indian pomegranate (*Punica granatum* L.). Plant Biol (Stuttg). 12(5): 806 - 13
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. Phạm Hoàng Hộ, 2000. Cây cỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Trẻ, TP Hồ Chí Minh.
9. Rao V R and Hodgkin T, 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plants genetic resources. Plant Cell, Tissue and organ Culture 68: 1 - 19.
10. Lê Văn Thành, Đỗ Thị Kim Nhung, Phạm Ngọc Thành, Trần Văn Cao, Nguyễn Khắc Hiếu, 2018. Đặc điểm cây trội Bần không cánh (*Sonneratia apetala* Buch-Ham) ở vùng ven biển Bắc Bộ và Bắc Trung Bộ, Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 17: 132 - 138
11. White T.L., Adams W.T., Neale D.B., 2007. Forest genetics. CABI Publishing, Cambridge, MA, USA.
12. Yelin Huang, Fengxiao Tan, Guohua Su, Shulin Deng, Hanghang He, Suhua Shi, 2008. Population genetic structure of three tree species in the mangrove genus *Ceriops* (Rhizophoraceae) from the Indo West Pacific. Genetica. 113: 47 - 56.

Email tác giả liên hệ: nguyenvietha295@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/08/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 28/09/2021

Ngày duyệt đăng: 01/10/2021