

## ỨNG DỤNG MỘT SỐ MÃ VẠCH ADN TRONG PHÂN TÍCH QUAN HỆ DI TRUYỀN VÀ ĐỊNH DANH MỘT SỐ LOÀI GIỎI TẠI GIA LAI

Nguyễn Thị Huyền<sup>1</sup>, Mai Thị Phương Thúy<sup>1</sup>, Trần Thị Thu Hà<sup>1</sup>,  
Lê Thị Thủy<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Việt Hà<sup>1</sup>, Hà Huyền Ngọc<sup>1</sup>, Trần Cao Nguyên<sup>2</sup>,  
Triệu Thái Hưng<sup>2</sup>, Ninh Việt Khương<sup>2</sup>, Trần Hoàng Quý<sup>2</sup>,  
Phạm Tiến Bằng<sup>3</sup>, Lê Việt Dũng<sup>3</sup>, Nguyễn Trí Bảo<sup>3</sup>, Lê Sơn<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu Lâm sinh - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

<sup>3</sup> Trung tâm Lâm nghiệp Nhiệt đới - Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

### TÓM TẮT

Giới ăn hạt đang được coi là cây lâm nghiệp đa mục đích có giá trị kinh tế cao. Tuy nhiên, một số loài giới có giá trị kinh tế khác nhau lại chưa có sự phân biệt rõ ràng về hệ thống phân loại và định danh dựa trên các đặc điểm hình thái. Sử dụng mã vạch ADN được nhận định là công cụ hữu ích cho việc phân tích quan hệ di truyền, giám định và xác định loài. Nghiên cứu này sử dụng 3 vùng gen lục lạp *matK*, *rbcL* và *rpoCl* để phân tích quan hệ di truyền của 4 loài giới thuộc chi Giới (*Michelia*) hiện đang được trồng phổ biến tại Gia Lai. Kết quả phân tích trình tự nucleotide của các mẫu gGiới tại 3 vùng gen nghiên cứu có sự tương đồng từ 97,8% đến 99,8%. Mỗi quan hệ di truyền giữa các mẫu Giới nghiên cứu được phân biệt rõ ràng giữa mẫu Giới không ăn hạt với 3 mẫu còn lại khi phân tích phát sinh chủng loại bằng giải trình tự ở cả 3 vùng gen. Đối với mẫu Giới ăn hạt trồng và Giới ăn hạt tự nhiên không có sự khác biệt về mặt di truyền và gần gũi nhau trên cây phát sinh chủng loại nên có thể nhận định hai mẫu này là cùng một loài. Trình tự nucleotide ở 3 vùng gen này của bốn loài giới nghiên cứu có sự tương đồng cao với trình tự của Giới ăn quả (*M. hypolampra*) và Giới bắc (*M. macclurei*) đã được công bố trên Ngân hàng gen. Việc kết hợp cả 3 vùng gen *matK*, *rbcL* và *rpoCl* có thể được sử dụng để phân tích phát sinh chủng loại và mối quan hệ di truyền của 4 mẫu giới được nghiên cứu.

**Từ khóa:** Chi Giới,  
mã vạch ADN,  
*matK*, *rbcL*, *rpoCl*.

### Using DNA barcodes to evaluate genetic relationship of *Michelia* species in Gia Lai

The genus *Michelia* includes some high value- multipurposes species that are using for planting programs widely in Vietnam. Despite the differences in economical values between species, the taxonomy of this genus is still unclear due to the difficulties in morphological classification. In this study, three chloroplast gene regions *matK*, *rbcL* and *rpoCl* were used to analyse the genetic relationship of four *Michelia* species, which are widely planted in Gia Lai. The genetic similarity coefficients of four species in three chloroplast gene regions ranged from 97.8% to 99.8%. The phylogenetic analysis in all three gene regions of the studied samples clearly separated the unedible *Michelia* sp. from the other samples. There was high genetic similarity between cultivated edible *Michelia* sp. and the natural edible *Michelia* sp., therefore, these two samples can be identified as the same species. In comparison with other sequences of other *Michelia* species in NCBI, studied species had closest genetics relationship with *M. hypolampra* and *M. macclurei*. In summary, combining 3 gene regions *matK*, *rbcL* and *rpoCl* can analyse the phylogenetic ability and genetic relationship of the studied *Michelia* samples.

**Keywords:** DNA  
barcode, *Michelia*,  
*matK*, *rbcL*, *rpoCl*

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Giỏi (*Michelia*) là một chi thực vật có hoa thuộc họ Mộc lan (*Magnoliaceae*) với khoảng 70 loài (Vũ Quang Nam *et al.*, 2017, 2019). Giỏi là cây thân gỗ và cây bụi thường xanh, có nguồn gốc ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới của Nam Á và Đông Nam Á, bao gồm cả miền Nam Trung Quốc. Chi Giỏi có lá, hoa và hình dáng tương tự với chi Mộc lan (*Magnolia*) nhưng hoa lại mọc thành cụm giữa các nách lá chứ không mọc đơn ở đầu cành như của chi Mộc lan. Trong chi Giỏi, đa số là cây thân gỗ lớn đa tác dụng, vừa cung cấp gỗ có giá trị để làm gỗ xây nhà, đóng đồ gia dụng; vừa được trồng làm cảnh, làm thuốc hay sử dụng quả, hạt như một chất gia vị đặc biệt đang được ưa chuộng trên thị trường.

Ở Việt Nam, chi Giỏi có khoảng 25 loài, phân bố rộng khắp cả nước (Vũ Quang Nam *et al.*, 2017). Hiện nay, nhu cầu trồng Giỏi ăn hạt ở các địa phương là rất lớn. Riêng tại tỉnh Gia Lai, giỏi đang được coi là loài cây có giá trị kinh tế cao, thường được trồng xen canh với một số loài cây nông nghiệp khác. Hiện nay các địa phương trong tỉnh đang trồng 4 loài giỏi khác nhau và đều được gọi là Giỏi xanh, cả 4 loài đều là cây đa mục đích có giá trị kinh tế cao, cung cấp gỗ và lâm sản ngoài gỗ (quả). Tuy nhiên, trong 4 loài này chỉ có 1 loài giỏi được quan tâm và thu mua với giá cao, do vậy việc cần thiết là xác định chính xác tên loài giỏi này và sử dụng trong các nghiên cứu cũng như thực tiễn sản xuất. Dù vậy, việc phân biệt một số loài thuộc chi Giỏi bằng các đặc điểm hình thái gặp nhiều khó khăn do các loài này

có sự tương đồng về hình thái (thân, vỏ, lá). Hiện nay, việc phân biệt loài bằng chỉ thị phân tử trên cơ sở phân tích một số vùng ADN đã và đang được ứng dụng rộng rãi đối với cây lâm nghiệp (Nguyễn Văn Thọ *et al.*, 2019; Trần Thị Liễu *et al.*, 2020). Các mã vạch ADN (DNA barcode) đã được khẳng định là công cụ hữu hiệu để xác định mối quan hệ di truyền và định danh các loài thuộc họ Mộc Lan nói riêng (Yu *et al.*, 2014) cũng như nhiều loài thực vật ở vùng cận nhiệt đới nói chung (Liu *et al.*, 2015).

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định mối quan hệ di truyền của 4 loài giỏi thu thập tại Gia Lai qua việc phân tích so sánh trình tự nucleotide các vùng gen *matK*, *rbcL* và *rpoCl*. Từ đó, xây dựng được cơ sở khoa học cho việc gây trồng, bảo tồn và phát triển nguồn gen cây giỏi tại Gia Lai nói riêng và khu vực Tây Nguyên nói chung.

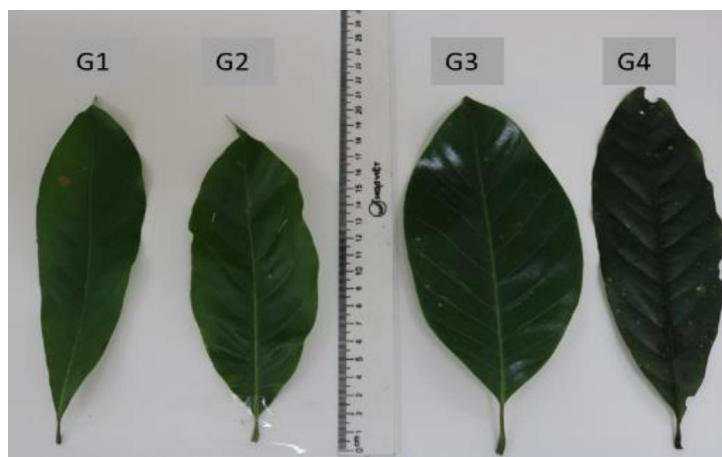
## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm mẫu lá (hình 1) của 4 loài giỏi (3 mẫu/loài) được trồng tại Trạm thực nghiệm Lâm nghiệp Kon Hà Nừng thuộc Trung tâm Lâm nghiệp Nhiệt đới (Kbang, Gia Lai). Mẫu lá bánh tẻ, không bị sâu bệnh được thu và bảo quản trong silicagel và chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu Giống và CNSH Lâm nghiệp (Hà Nội) để tách chiết ADN. Danh sách mẫu theo tên loài được gọi theo cách gọi của người dân địa phương dựa trên các chỉ tiêu hình thái được liệt kê ở bảng 1 sau đây.

**Bảng 1.** Danh sách mẫu giỏi nghiên cứu

STT	Tên mẫu (tên địa phương)	Nguồn gốc	Ký hiệu
1	Giỏi ăn hạt tự nhiên (Giỏi xanh, Giỏi xanh Sơ Pai, Giỏi Sơ Pai)	Cây tự nhiên trong rừng	G1
2	Giỏi ăn hạt trồng (Giỏi xanh, Giỏi xanh Sơ Pai, Giỏi Sơ Pai)	Cây từ rừng trồng do Liên hiệp Kon Hà Nừng trồng từ năm 1986	G2
3	Giỏi chanh (Giỏi xanh, Giỏi bà, Giỏi xanh quả to)	Cây tự nhiên trong rừng	G3
4	Giỏi không ăn hạt (Giỏi tanh, Giỏi chanh) (do hạt có vị đắng nên không sử dụng làm gia vị được)	Cây tự nhiên trong rừng	G4



**Hình 1.** Hình thái các mẫu lá của 4 loài giòi nghiên cứu

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Tách chiết ADN

ADN tổng số được tách chiết từ các mẫu lá sử dụng bộ GeneJET Plant Genomic ADN Purification Mini Kit (Thermofisher) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm ADN tổng số 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). Các mẫu có nồng độ  $\geq 20$  ng/ $\mu$ l và độ tinh sạch từ 1,8 - 2,0 được lưu giữ ở  $-20^{\circ}\text{C}$  sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

### 2.2.2. Phản ứng PCR

Nhân bản các vùng gen *matK*, *rbcL*, *rpoC1* bằng kỹ thuật PCR với các cặp mồi đã được thiết kế được trình bày tại bảng 2 sau đây:

**Bảng 2.** Trình tự các mồi được sử dụng nghiên cứu

STT	Mồi	Trình tự 5'-3'	
1	<i>matK</i>	Kim3	CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG
		Kim1R	ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC
2	<i>rbcL</i>	<i>rbcL</i> 1F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC
		<i>rbcL</i> 724R	TCGCATGTACCTGCAGTAGC
3	<i>rpoC1</i>	<i>rpoC1</i> F	GTGGATACACTTCTTGATAATGG
		<i>rpoC1</i> R	TGAGAAAACATAAGTAAACGGGC

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 100  $\mu$ l gồm 50  $\mu$ l Mastermix 10X (Invitrogen), 2  $\mu$ l mồi xuôi (F) 10pM, 2  $\mu$ l mồi ngược (R) 10pM, 5  $\mu$ l ADN tổng số, 41  $\mu$ l nước deion. Chương trình chạy PCR được tiến hành theo chu trình nhiệt: 4 phút ở  $94^{\circ}\text{C}$ , 40 chu kỳ (1 phút 30 ở  $94^{\circ}\text{C}$ , 45 giây  $56^{\circ}\text{C}$ , 1 phút 30 ở  $72^{\circ}\text{C}$ ) và sau đó là 1 chu kỳ ở  $72^{\circ}\text{C}$  trong 7 phút.

Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,8%, sau đó tinh sạch bằng

GeneJET PCR Purification Kit (Thermofisher). Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được tiến hành xác định trình tự các vùng gen trên máy giải trình tự ABI3130 bằng cách đọc trình tự với 2 chiều theo mồi xuôi và mồi ngược.

### 2.2.3. Phân tích số liệu

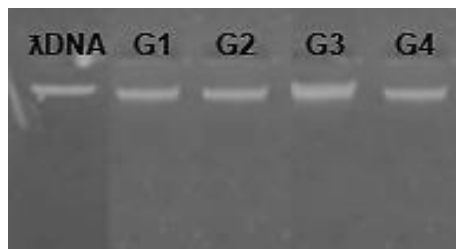
Kết quả giải trình tự của các đoạn gen được đối chiếu với nhau theo 2 chiều nhằm loại bỏ các vị trí lỗi trong quá trình giải trình tự và phát hiện các đa hình nucleotide đơn. Mức độ

sai khác và mối quan hệ các mẫu nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm Bioedit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Trình tự các vùng gen *matK*, *rpcC1* và *rpcL* của các mẫu giới phân tích được so sánh với các trình tự tương ứng đã được công bố và các loài thân thuộc có sẵn trên Ngân hàng gen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>). Phần mềm MEGA X được sử dụng để xây dựng cây phát sinh chủng loại.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

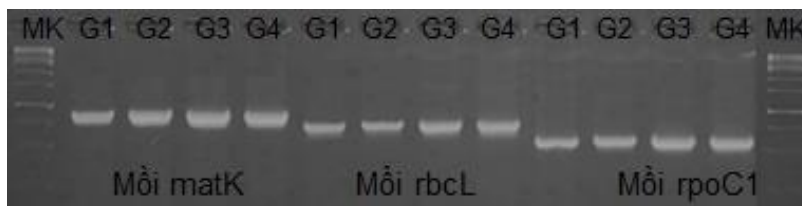
#### 3.1. Kết quả tách chiết ADN và phản ứng PCR

ADN tổng số của 4 mẫu giới sau khi tách chiết được tiến hành kiểm tra chất lượng trên bản gel điện di. Kết quả cho thấy băng ADN lên sáng, rõ nét và không bị đứt gãy, đủ điều kiện để sử dụng cho phản ứng PCR (hình 2). Kết quả kiểm tra nồng độ ADN bằng máy nanodrop cũng cho thấy, nồng độ ADN thu được đạt từ 20 µg/µl, với độ tinh sạch theo tỷ lệ OD260/280 > 1,8. Kết quả này khẳng định đã tách chiết được ADN với nồng độ cao và tinh sạch để tiến hành nhân bản các vùng gen phân tích (đoạn ADN) bằng kỹ thuật PCR.



**Hình 2.** Kết quả điện di ADN của 4 mẫu giới nghiên cứu

ADN tổng số các mẫu giới nghiên cứu được sử dụng để nhân bản các vùng gen nghiên cứu bằng kỹ thuật PCR theo các thông số đã được trình bày tại phần 2.2.2. Phản ứng PCR được tiến hành lặp lại 3 lần cho mỗi mẫu thí nghiệm. Kiểm tra sản phẩm PCR của 4 mẫu giới với 3 vùng gen trên bản gel điện di cho thấy, xuất hiện các băng ADN sáng, không đứt gãy, gọn và không xuất hiện các băng phụ. Các băng thu được có kích thước tương ứng với kích thước của các vùng gen *matK*, *rbcL*, và *rpoC1* theo lý thuyết tương ứng khoảng 800 bp, 650 bp, và 500 bp. Như vậy, sản phẩm PCR rất đặc hiệu, sau khi tinh sạch có thể sử dụng trực tiếp để xác định trình tự nucleotide các vùng gen nghiên cứu.



**Hình 3.** Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel điện di.  
(MK: marker 1kb, G1: Giới ăn hạt tự nhiên, G2: Giới ăn hạt trồng, G3: Giới chanh, G4: Giới không ăn hạt)

#### 3.2. Kết quả phân tích trình tự nucleotide của các vùng gen và xác định mối quan hệ di truyền giữa 4 loài giới nghiên cứu

So sánh trình tự nucleotide của các mẫu trong cùng 1 loài (3 lần lặp/mẫu) cho thấy: Giữa các mẫu trong cùng loài ở cả 3 lần lặp không có sự khác biệt về trình tự nucleotide ở các vùng gen nghiên cứu (tương đồng 100%).

Kết quả so sánh các trình tự của 4 loài giới nghiên cứu dựa trên 3 vùng gen nghiên cứu được tóm tắt tại bảng 3 dưới đây. Kết quả cho thấy, chiều dài trung bình của các vùng gen *matK* là 791,5 bp; *rbcL* là 650,3 bp và *rpoC1* là 523 bp, có kích thước tương ứng với kết quả chạy sản phẩm PCR (hình 3).

**Bảng 3.** Thành phần nucleotide của 4 mẫu giỗ được nghiên cứu

Mẫu	Vùng gen <i>matK</i>			Vùng gen <i>rbcL</i>			Vùng gen <i>rpoC1</i>		
	%AT	%GC	Chiều dài (bp)	%AT	%GC	Chiều dài (bp)	%AT	%GC	Chiều dài (bp)
G1	63,89	36,11	792	54,81	45,19	655	57,30	42,70	526
G2	64,08	35,92	785	54,88	45,12	656	57,22	42,78	525
G3	63,68	36,32	793	54,80	45,20	646	57,09	42,91	521
G4	63,69	36,31	796	54,66	45,34	644	57,01	42,99	520
<b>Trung bình</b>	<b>63,84</b>	<b>36,16</b>	<b>791,5</b>	<b>54,79</b>	<b>45,21</b>	<b>650,3</b>	<b>57,15</b>	<b>42,85</b>	<b>523</b>

Ghi chú: G1: Giỗ ăn hạt tự nhiên, G2: Giỗ ăn hạt trồng, G3: Giỗ chanh, G4: Giỗ không ăn hạt.

Kết quả phân tích và so sánh trình tự nucleotide các vùng gen giữa 4 mẫu nghiên cứu được trình bày tại bảng 4 cho thấy:

- Vùng gen *matK* có sự tương đồng dao động từ 97,8% đến 99,3% giữa các mẫu nghiên cứu, trong đó giữa mẫu giỗ ăn hạt trồng (G2) và giỗ ăn hạt tự nhiên (G1) có tỷ lệ tương đồng cao hơn so với các mẫu còn lại.

- Vùng gen *rbcL* cho mức độ tương đồng cao nhất là 99,8% giữa mẫu giỗ ăn hạt tự nhiên và giỗ ăn hạt trồng, trong khi tỷ lệ tương đồng thấp nhất là 97,8% giữa mẫu giỗ không ăn hạt và giỗ ăn hạt trồng.

- Vùng gen *rpoC1* các mẫu giỗ cho kết quả tương đồng từ 98,8% đến 99,8%, trong đó mẫu giỗ ăn hạt tự nhiên và giỗ ăn hạt trồng có tỷ lệ tương đồng đạt 99,8%.

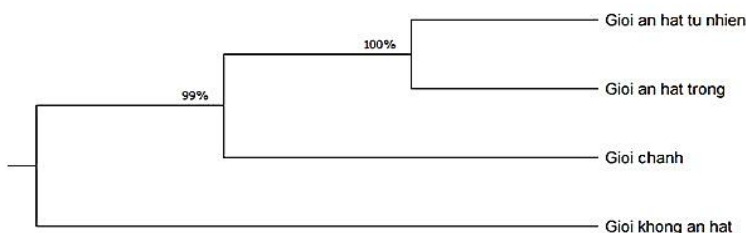
**Bảng 4.** Hệ số tương đồng của 4 mẫu giỗ tại 3 vùng gen

Mẫu	Vùng gen <i>matK</i>			Vùng gen <i>rbcL</i>			Vùng gen <i>rpoC1</i>		
	G2	G3	G4	G2	G3	G4	G2	G3	G4
G1	0,993	0,988	0,987	0,998	0,983	0,980	0,998	0,990	0,988
G2	-	0,987	0,978	-	0,981	0,978	-	0,990	0,988
G3		-	0,988		-	0,996		-	0,996

Ghi chú: G1: Giỗ ăn hạt tự nhiên, G2: Giỗ ăn hạt trồng, G3: Giỗ chanh, G4: Giỗ không ăn hạt.

Kết hợp cả 3 vùng gen để phân tích mối quan hệ di truyền và phát sinh chủng loại giữa 4 mẫu giỗ được nghiên cứu cho thấy các mẫu có quan hệ di truyền khá gần gũi, cây phát sinh chủng loại được chia thành 2 nhóm: Nhóm thứ nhất chỉ chứa mẫu giỗ không ăn hạt có sự khác biệt về mặt di truyền (2,8% ở vùng các vùng gen *matK* và *rbcL*) với các mẫu còn lại

và có thể phân biệt được khi sử dụng cả 3 vùng gen nghiên cứu. Nhóm thứ hai gồm mẫu Giỗ chanh có sự phân tách rõ ràng và quan hệ gần gũi với mẫu Giỗ ăn hạt trồng và Giỗ ăn hạt tự nhiên. Hai mẫu Giỗ ăn hạt tự nhiên và Giỗ ăn hạt trồng có sự tương đồng gần như 100% và có thể nhận định rằng chúng là cùng một loài (hình 4).



**Hình 4.** Cây phát sinh chủng loại của 4 mẫu giỗ nghiên cứu

Nghiên cứu của Hà Văn Huân và đồng tác giả (2018) khi phân tích kết hợp các vùng gen *matK*, *rbcL*, *trnH-psbA* và *yef 1b* để phân biệt loài 4 giới (*M. chevaleiri*, *M. tonkinensis*, *M. bailonii* và *M. braianensis*) cũng cho thấy sự tương đồng cao về mặt di truyền giữa các đối tượng nghiên cứu (tối đa 3,2%). Tác giả cũng khẳng định việc kết hợp cả 4 vùng gen nói trên là công cụ hữu hiệu để định danh các loài giới được nghiên cứu.

**3.3. Kết quả phân tích xác định loài và mối quan hệ di truyền giữa 4 loài giới nghiên cứu và một số loài giới khác**

Tiến hành so sánh trình tự của 4 mẫu giới đã được phân tích với các trình tự một số loài thuộc chi Giới đã được công bố trên Ngân hàng gen Quốc tế NCBI để xác định mức độ

tương đồng và khả năng phân biệt các loài nghiên cứu với các loài khác bằng công cụ BLAST trên NCBI và phần mềm Bioedit. Kết quả so sánh được tóm tắt tại bảng 5 cho thấy:

- Ở vùng gen *matK*: Các mẫu nghiên cứu có sự tương đồng cao (99-100%) so với các trình tự một số loài đã được công bố.
- Vùng gen *rbcL* cho thấy 4 mẫu được nghiên cứu giống 99,54-100% so với các loài giới khác nhưng không tìm thấy sự tương đồng với mẫu Giới xanh (*M. mediocris*) tại vùng gen này.
- Đối với vùng gen *rpoC1*: Các mẫu nghiên cứu giống trên 99% với trình tự các loài đã công bố, riêng loài giới bắc (*M. macclurei*) và Giới xanh (*M. mediocris*) chưa có trình tự tại vùng gen này.

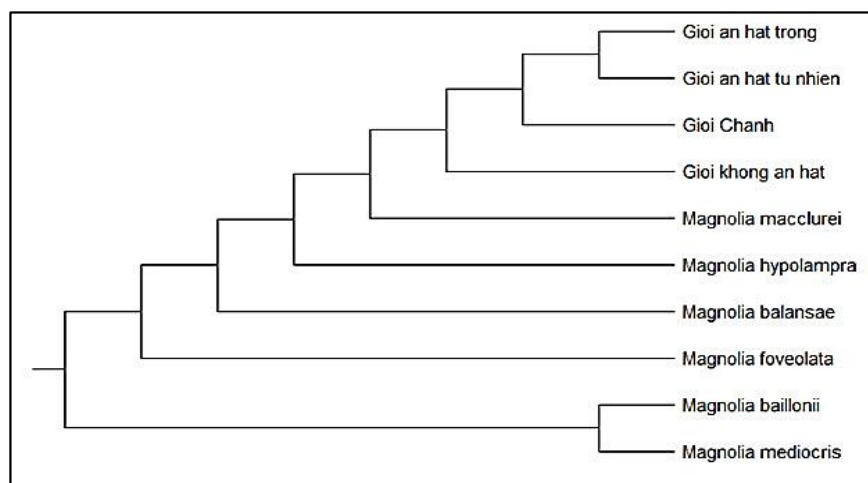
**Bảng 5.** Tỷ lệ tương đồng (%) của 4 mẫu nghiên cứu với các loài trên Ngân hàng gen

Vùng gen <i>matK</i>					
Loài	Tên gọi	G1	G2	G3	G4
<i>Magnolia baillonii</i>	Giới xương	99,87	99,87	99,62	99,00
<i>Magnolia balansae</i>	Giới lông	99,75	99,87	99,50	99,00
<i>Magnolia foveolata</i>	Giới lá láng	99,87	99,87	99,62	99,37
<i>Magnolia hypolampra</i>	Giới ăn quả	99,87	100	99,62	-
<i>Magnolia macclurei</i>	Giới bắc	99,75	99,87	99,50	99,00
<i>Magnolia mediocris</i>	Giới xanh	99,87	100	99,62	99,37
Vùng gen <i>rbcL</i>					
Loài	Tên gọi	G1	G2	G3	G4
<i>Magnolia baillonii</i>	Giới xương	99,54	99,54	99,54	99,54
<i>Magnolia balansae</i>	Giới lông	99,85	99,85	99,85	99,85
<i>Magnolia foveolata</i>	Giới lá láng	99,85	99,85	99,85	99,85
<i>Magnolia hypolampra</i>	Giới ăn quả	99,85	99,85	99,85	99,85
<i>Magnolia macclurei</i>	Giới bắc	99,85	99,85	100	100
<i>Magnolia mediocris</i>	Giới xanh	-	-	-	-
Vùng gen <i>rpoC1</i>					
Loài	Tên gọi	G1	G2	G3	G4
<i>Magnolia baillonii</i>	Giới xương	99,81	99,81	99,81	99,81
<i>Magnolia balansae</i>	Giới lông	99,81	99,81	99,81	99,81
<i>Magnolia foveolata</i>	Giới lá láng	99,81	99,81	99,81	99,81
<i>Magnolia hypolampra</i>	Giới ăn quả	99,44	99,44	99,44	99,44
<i>Magnolia macclurei</i>	Giới bắc	-	-	-	-
<i>Magnolia mediocris</i>	Giới xanh	-	-	-	-

Ghi chú: G1: Giới ăn hạt tự nhiên, G2: Giới ăn hạt trồng, G3: Giới chanh, G4: Giới không ăn hạt.

Phân tích mối quan hệ phát sinh chủng loại dựa trên cơ sở phân tích trình tự các vùng gen của các mẫu nghiên cứu cùng với trình tự một số loài giổi đã được công bố trên Ngân hàng gen bằng phần mềm MEGA X, kết quả cho thấy: Cây phát sinh chủng loài

được chia thành 2 nhóm chính, trong đó 4 loài giổi nghiên cứu có mối quan hệ gần gũi với loài giổi bắc (*M. macclurei*) và Giổi ăn quả (*M. hypolampa*), nhánh còn lại bao gồm Giổi xanh (*M. mediocris*) và Giổi xương (*M. baillonii*) (hình 5).



**Hình 5.** Cây phát sinh chủng của 4 mẫu giổi nghiên cứu và một số loài giổi khác

Phân tích quan hệ di truyền giữa loài giổi *M. shiluensis* và 28 loài giổi khác dựa trên trình tự đầy đủ hệ gen lục lạp (Completed Chloroplasts Genome) tại Trung Quốc, các tác giả cũng khẳng định việc phân biệt *M. shiluensis* với 4 loài có quan hệ họ hàng gần gũi khác (*M. odora*, *M. laevifolia*, *M. insignis* và *M. cathcartii*) là chưa rõ ràng do chúng có sự tương đồng rất cao về trình tự các vùng gen phân tích cũng như sự chưa nhất quán trong việc phân biệt loài qua các chỉ tiêu hình thái (Deng *et al.*, 2020). Theo Liu và đồng tác giả (2015), việc sử dụng các vùng gen phổ biến hiện có chỉ có thể phân biệt và định danh được chính xác 90% số loài thực vật ở vùng cận nhiệt đới được nghiên cứu. Vì vậy, việc phát triển các vùng gen mới, có tính đặc hiệu loài cao trong tương lai là cần thiết để có thể phân biệt được các loài hoặc dưới loài có quan hệ gần gũi.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra sự gần gũi về quan hệ di truyền giữa các loài giổi nghiên cứu ở Gia Lai cũng như sự khó

khăn nhất định trong việc định danh các loài này khi so sánh với các loài đã được nghiên cứu trước đó. Việc tiến hành nghiên cứu định danh loài trên cơ sở phân tích kết hợp giữa các hình thái và trình tự của các vùng gen bảo thủ (hoặc mã vạch ADN) khác trong thời gian tới là giải pháp hữu hiệu để phân loại và định danh một cách chính xác các loài giổi hiện đang được trồng tại Gia Lai. Trình tự thu được từ các vùng gen nghiên cứu của 4 loài giổi trong nghiên cứu này sẽ là cơ sở dữ liệu quan trọng trong các nghiên cứu về quan hệ di truyền và định danh các loài thuộc chi *Michelia* trong tương lai.

#### IV. KẾT LUẬN

- Đã tách chiết thành công ADN tổng số 4 mẫu giổi nghiên cứu và khuếch đại thành công đoạn ADN cho tất cả 4 mẫu với kích thước các vùng gen *matK*, *rbcL*, và *rpoC1* lần lượt là khoảng 800 bp, 650 bp, và 500 bp. Phân tích so sánh trình tự nucleotide của 4 mẫu giổi ở cả 3 vùng gen cho thấy ít có sự

khác biệt, các mẫu có sự tương đồng từ 97,8% đến 99,8%.

- Kết hợp các vùng gen *matK*, *rbcL*, và *rpoCI* để xem xét phát sinh chủng loại cho thấy hai mẫu Giỏi ăn hạt trồng và Giỏi ăn hạt tự nhiên không có sự khác biệt về mặt di truyền và phân tách rõ ràng với các mẫu khác nên có thể nhận định rằng chúng là cùng một loài. Mẫu Giỏi không ăn hạt có sự khác biệt và tách nhóm rõ ràng với 3 mẫu còn lại nên có thể được phân biệt bằng việc sử dụng 3 vùng gen nghiên cứu.

- So sánh với trình tự nucleotide của một số loài giỏi khác đã được công bố trên Ngân hàng gen Quốc tế NCBI cho thấy: 4 loài giỏi nghiên cứu có quan hệ di truyền gần gũi với Giỏi ăn quả (*M. hypolampra*) và Giỏi bắc (*M. macclurei*).

- Các loài trong nhóm Giỏi ăn hạt có quan hệ di truyền khá gần gũi, khó phân biệt bằng hình thái đồng thời chưa có các dữ liệu về trình tự các vùng gen nghiên cứu trên Ngân hàng gen Quốc tế, do đó việc tiếp tục tiến hành xây dựng cơ sở dữ liệu di truyền để phục vụ công tác giám định ADN các loài giỏi là cần thiết cho việc phát triển và bảo tồn nguồn gen cây giỏi ở Việt Nam.

#### Lời cảm ơn

Bài báo là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài "Nghiên cứu hoàn thiện các biện pháp kỹ thuật tạo giống và trồng rừng thâm canh theo hướng đa mục đích hai loài Trắc và Giỏi xanh tại tỉnh Gia Lai". Xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học Công nghệ, UBND tỉnh Gia Lai đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Deng Y., Luo Y., He Y., Qin X., Li C., Deng X., 2020. Complete Chloroplast Genome of *Michelia shiluensis* and a Comparative Analysis with Four Magnoliaceae Species. *Forests*, 11(3):267. <https://doi.org/10.3390/fl11030267>
2. Ha Van Huan, Hoang Minh Trang and Nguyen Van Toan, 2018. Identification of DNA Barcode Sequence and Genetic Relationship among Some Species of Magnolia Family. *Asian Journal of Plant Sciences*, 17: 56 - 64.
3. Trần Thị Liễu, Đinh Thị Phòng, Nguyễn Văn Hùng, 2020. Đa dạng di truyền quần thể cây trội Giỏi ăn hạt (*Michelia tonkinensis* A. Chev.) ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam dựa trên chỉ thị SSR. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*. Số 4: 50 - 61.
4. Liu, J., Yan, H.-F., Newmaster, S.G., Pei, N., Ragupathy, S. and Ge, X. J., 2015. The use of DNA barcoding as a tool for the conservation biogeography of subtropical forests in China. *Diversity Distrib.*, 21: 188 - 199. <https://doi.org/10.1111/ddi.12276>
5. Vũ Quang Nam, Đào Ngọc Chương, 2017. Một số loài giỏi ăn hạt (*Michelia* spp.) ở Việt Nam. Báo cáo Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 7. Hà Nội, Việt Nam: 283 - 288.
6. Vũ Quang Nam, Nguyễn Thị Thơ, Nguyễn Thị Hải Hà, Trần Văn Đăng, 2019. Đa dạng di truyền loài giỏi ăn hạt (*Michelia tonkinensis*) tại khu rừng thực nghiệm, Trường Đại học Lâm nghiệp dựa trên chỉ thị phân tử RAPD. *Tạp chí Sinh học* (Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam), tập 41, số 2: 419 - 426.
7. Nguyễn Văn Thọ, Nguyễn Hoàng Nghĩa, Lê Thị Mai Linh, 2019. Mối quan hệ di truyền của các loài thuộc chi Luông (*Dendrocalamus* Nees) trên cơ sở phân tích trình tự nucleotide các vùng *MatK*, *rbcL*, *psbA-trnH* (cpADN) và ITS - rADN. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*. Số chuyên san 2019. (2): 44 - 56.
8. Yu, H., Wu, K., Song, J., Zhu, Y., Yao, H., Luo, K., Dai, Y., Xu, S., & Lin, Y., 2014. Expedient identification of Magnoliaceae species by DNA barcoding. *Plant Omics*, 7(1): 47 - 53.

**Email tác giả liên hệ:** [nguyenhuyen215.ht@gmail.com](mailto:nguyenhuyen215.ht@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