

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC BIẾN CHỦNG THÔNG CARIBE ĐƯỢC TRỒNG TẠI VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ ISSR

Trần Đức Vượng¹, Nguyễn Đức Kiên¹, Nguyễn Thị Huyền¹, Hà Thị Huyền Ngọc¹,
Lê Thị Thủy¹, Nguyễn Thị Việt Hà¹, Trần Thị Thu Hà¹, Lê Sơn¹

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

TÓM TẮT

Thông caribe (*Pinus caribaea* Morelet) được chia thành 3 biến chủng là *hondurensis*, *bahamensis* và *caribaea* dựa vào vị trí phân bố tự nhiên của loài ở các vùng địa lý khác nhau. Đánh giá tính đa dạng di truyền của các biến chủng bằng việc sử dụng 5 chỉ thị ISSR phân tích 93 mẫu nghiên cứu, kết quả có 58 phân đoạn DNA được nhân bản với phân đoạn đa hình chiếm 92,16%, hệ số đa dạng di truyền trung bình $h = 0,329$; hệ số Shannon trung bình $I = 0,491$ và tỷ lệ phân đoạn đa hình trung bình $PPB = 92,16\%$. Trong đó, đa dạng di truyền cao nhất thuộc về biến chủng *hondurensis* ($I = 0,542$; $h = 0,364$ và $PPB = 100\%$) và thấp nhất là biến chủng *bahamensis* ($I = 0,453$; $h = 0,308$ và $PPB = 79,41\%$). Chỉ số sai khác di truyền G_{ST} chỉ đạt 0,0932, chứng tỏ mức độ sai khác về mặt di truyền giữa các biến chủng là tương đối thấp chỉ chiếm 9,32% (< 10%). Giá trị chỉ số trao đổi gen (Nm) giữa các biến chủng được tính toán đạt 4,867 cho thấy tần số trao đổi gen giữa các biến chủng là tương đối cao. Kết quả phân tích về mức độ thay đổi phân tử giữa 3 biến chủng Thông caribe cho thấy, mức độ thay đổi phân tử giữa 3 biến chủng là thấp chỉ đạt 9% và giữa các gia đình trong cùng một biến chủng là cao (đạt 91%) với giá trị $p < 0,001$. Khoảng cách di truyền dao động từ 0,034 đến 0,113 và mức độ tương đồng dao động từ 0,894 (84,9%) đến 0,967 (96,7%). Đối với 3 biến chủng được nghiên cứu, biến chủng *hondurensis* và *bahanensis* có mối quan hệ di truyền gần gũi với nhau hơn so với biến chủng *caribaea*.

Từ khóa: Biến chủng, cấu trúc quần thể, đa dạng di truyền, Thông caribe

Evaluation of the genetic diversity and population structure of *Pinus caribaea* in Vietnam

Pinus caribaea Morelet is divided into 3 variants *hondurensis*, *bahamensis* and *caribaea* based on the species magnetic distribution in different geographic regions. The results showed that 58 DNA segments were accounted with polymorphic segments accounting for 92.16%, mean genetic diversity coefficient $h = 0.329$; mean Shannon coefficient $I = 0.491$, and average polymorphic fraction ratio $PPB = 92.16\%$. The highest genetic diversity belongs to the var. *hondurensis* ($I = 0.542$; $h = 0.364$ and $PPB = 100\%$) and the lowest is the var. *bahamensis* ($I = 0.453$; $h = 0.308$ and $PPB = 79.41\%$). The G_{ST} genetic differentiation index is only 0.0932, proving that the level of genetic difference between variants is relatively low at only 9.32% (< 10%). The calculated gene exchange index (Nm) value of 4.8670 indicates that the frequency of gene exchange between variants is relatively high. Analysis of the level of molecular change between

Keywords: Genetic diversity, *Pinus caribaea*, population structure, variants

3 variants, the species showed that the level of molecular change between 3 strains was low at only 9% and between families within the same strain was high (reaching 91%) with a p-value of < 0.001 . The genetic distance ranged from 0.034 to 0.113 and the degree of similarity ranged from 0.894 (84.9%) to 0.967 (96.7%). In the genetic relationship at species level, the var. *hondorensis* and var. *bahamensis* have a closer genetic relationship with each other than the var. *caribaea*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thông caribe (*Pinus caribaea* Morelet) có xuất xứ từ vùng Trung Mỹ, là loài cây nhiệt đới gỗ lớn, sinh trưởng nhanh và có thể thích nghi được với nhiều vùng sinh thái khác nhau. Dựa vào sự phân bố tự nhiên của loài ở các vùng địa lý, Thông caribe được chia thành 3 biến chủng là *hondurensis*, *bahamensis* và *caribaea* (Nikles, 1967). Thông caribe đã được trồng khảo nghiệm ở rất nhiều nước trên thế giới, tập trung chủ yếu ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới, trong đó có Việt Nam. Đối với 3 biến chủng được khảo nghiệm thì biến chủng *hondurensis* có sinh trưởng tốt nhất trên tất cả các khảo nghiệm, trong đó các xuất xứ vùng ven biển có sinh trưởng vượt trội hơn so với các xuất xứ ở vùng lục địa (Barnes *et al.*, 1978; Dvorak *et al.*, 1993; Greaves, 1980). Các xuất xứ của biến chủng *caribaea* có sinh trưởng kém nhất nhưng có dạng thân đẹp nhất và các xuất xứ của biến chủng *bahamensis* lại có sinh trưởng tốt trên các lập địa khô cằn, tầng đất nông hoặc vùng cao (Greaves, 1980; Greaves, 1981). Như vậy, giữa các biến chủng có sự sai khác về khả năng sinh trưởng ở một số chỉ tiêu nghiên cứu. Tuy nhiên, Thông caribe được du nhập vào nước ta qua nhiều nguồn khác nhau và không được ghi chép xuất xứ một cách hệ thống và cụ thể. Vì vậy, việc đánh giá mức độ đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể của các biến chủng là rất cần thiết để đưa ra các mục tiêu và hoạt động phù hợp cho các chương trình nghiên cứu và phát triển loài cây này ở nước ta một cách hiệu quả.

Hiện nay, việc đánh giá mức độ đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể và quan hệ di truyền đã được triển khai với sự hỗ trợ đắc lực của các chỉ thị phân tử. Trong đó, các chỉ thị ISSR, SSR, RAPD... được sử dụng rộng rãi khi đánh giá đa dạng di truyền ở mức độ quần thể, loài và xuất xứ, đặc biệt là cho các loài cây lâm nghiệp. Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá mức độ đa dạng di truyền, cấu trúc quần thể cũng như quan hệ di truyền giữa biến chủng Thông caribe đã được du nhập và trồng ở nước ta bằng các chỉ thị phân tử ISSR nhằm cung cấp thêm thông tin một cách đầy đủ hơn về nguồn gen của loài, từ đó có những đề xuất về định hướng cho việc phát triển Thông caribe ở nước ta trong thời gian tới.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

93 mẫu Thông caribe (là 93 cây trọt đã được chọn lọc để phục vụ cho việc phát triển giống) được phân chia theo 3 biến chủng dựa trên dữ liệu ghi chép trước đó kết hợp với việc đánh giá hình thái của các mẫu thông theo hệ thống phân loại (Farjon, Styles, 1997) (bảng 1). Mẫu lá được thu trong khảo nghiệm hậu thế tại Cẩm Lĩnh, Ba Vì, Hà Nội và bảo quản lạnh đưa về phòng thí nghiệm để tiến hành tách chiết DNA. Sử dụng 5 chỉ thị ISSR để đánh giá mức độ đa dạng di truyền, quan hệ di truyền và cấu trúc quần thể các biến chủng Thông caribe (bảng 2).

Bảng 1. Danh sách mẫu Thông caribe theo biến chủng được nghiên cứu

STT	Biến chủng	Số lượng mẫu
1	<i>caribaea</i>	29
2	<i>hondurensis</i>	55
3	<i>bahamensis</i>	9
Tổng cộng		93

Bảng 2. Trình tự mỗi ISSR sử dụng nghiên cứu

STT	Tên mỗi	Trình tự mỗi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mỗi (°C)	Tài liệu tham khảo
1	UBC811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	46,8	Isshiki <i>et al.</i> , 2008
2	UBC851	GTG TGT GTG TGT GTG TCT G	53,9	
3	UBC855	ACA CAC ACA CAC ACA CT	51,4	
4	UBC856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	52,8	
5	UBC881	GGG TGG GGT GGG GTG	59,3	

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số

Sử dụng phương pháp CTAB của Doyle và Doyle (1987) có cải tiến để tách chiết DNA tổng số: Nghiền mịn mẫu lá bằng Ni tơ lỏng, ủ 50 mg mẫu trong đệm chiết CTAB 2% ở 60°C thời gian 60 phút, ly tâm thu dịch nổi và ủ RNase trong 30 phút ở 37°C. Tiến hành loại bỏ protein và các tạp chất khỏi DNA bằng dung dịch C:I (24:1), kết tủa DNA bằng Isopropanol lạnh trong 60 phút ở từ -20°C, thu hồi tủa DNA bằng cách ly tâm 14.000 vòng/phút 20 phút ở 4°C và rửa tủa 2 lần bằng Ethanol 70%. Để khô DNA ở nhiệt độ phòng, sau đó hòa tan bằng dung dịch TE 1X. Kiểm tra độ tinh sạch DNA trên gel agarose 1% và đo nồng độ DNA tổng số trên máy quang phổ NanoDrop.

2.2.2. Phương pháp PCR - ISSR

DNA tổng số của 93 mẫu Thông caribe thuộc 3 biến chủng thu được khuếch đại gen bằng 5 chỉ thị ISSR thực hiện trên máy PCR model AG 22331 của Eppendorf với tổng thể tích 20µl gồm các thành phần: 10µl Mastermix 2X, 2µl mỗi ISSR 10µM, 2µl DNA tổng số và 6µl

nước deion. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: Biến tính ở 94°C trong 4 phút, tiếp theo là 40 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: biến tính 94°C trong 45 giây, gắn mỗi trong thời gian 40 giây, kéo dài chuỗi 72°C trong 45 giây và kết thúc phản ứng ở 72°C trong 4 phút, giữ sản phẩm PCR ở 4°C. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,8% cùng với thang GeneRuler 1kb Plus DNA Ladder (hãng Thermo Scientific) ở hiệu điện thế 70V trong 60 phút, sau đó quan sát trên máy soi gel chứa tia UV.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập theo quy ước: 1- phân đoạn DNA xuất hiện và 0 - phân đoạn DNA không xuất hiện khi điện di sản phẩm PCR.

Hàm lượng thông tin đa hình (giá trị PIC - Polymorphism Information Content) của các mỗi 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. Tổng số các băng DNA có cùng kích

thước (được coi là cùng 1 alen) sẽ được sử dụng để tính toán giá trị PIC.

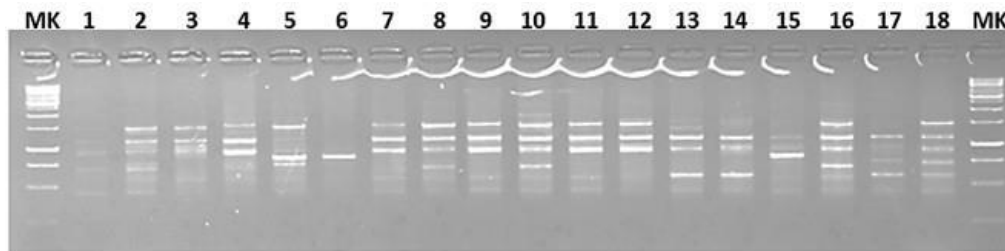
Các thông số đánh giá đa dạng di truyền của các biến chủng như tỷ lệ phần trăm băng đa hình (PPB), hệ số đa dạng di truyền theo Nei (h), chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon (I), số alen quan sát được (N_a), số alen có ý nghĩa (N_e)... sử dụng phần mềm GenAlEx 6.5 (Peakall *et al.*, 2006) trên cơ sở phân tích mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) để tính toán mức độ khác biệt giữa các xuất xứ và giữa các cá thể trong cùng xuất xứ. Các giá trị về chỉ số đa dạng di truyền như chỉ số đa dạng nguồn gen của tổng các nguồn giống (H_T), chỉ số đa dạng gen trung bình trong nguồn giống (H_S), chỉ số sai khác di truyền theo Nei giữa các nguồn giống (G_{ST}), chỉ số trao đổi gen giữa các nguồn giống (N_m) được tính toán bằng phần

mềm POPGENE (Yeh *et al.*, 1997). Thiết lập ma trận khoảng cách di truyền để phân tích thành phần tọa độ (PCoA) và lập cây quan hệ di truyền bằng phần mềm MEGA X (Sudhir Kumar *et al.*, 2018) theo phương pháp NJ (Neighbor Joining) với hệ số bootstrap 1000.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích đa dạng di truyền trong các biến chủng Thông caribe

Sử dụng 5 chỉ thị ISSR để phân tích đa dạng di truyền các biến chủng Thông caribe, kết quả đã tiến hành nhân bản được 58 phân đoạn DNA có kích thước dao động từ 250bp đến 2000bp, với phân đoạn đa hình chiếm 92,16% (53 phân đoạn) và phân đoạn đồng hình trung bình đạt 7,84% khi phân tích với 93 mẫu DNA.



Hình 1. Kết quả khuếch đại vùng gen mồi UBC811 của Thông caribe

Ghi chú: MK: Marker 1kb (Thermo Scientific), Giếng 1 đến 18: mẫu DNA Thông caribe).

Các thông số đa dạng tin di truyền của 3 biến chủng được phân tích (bảng 3), kết quả cho thấy hệ số đa dạng di truyền theo Nei trung bình $h = 0,329$; hệ số đa dạng di truyền theo Shannon trung bình $I = 0,491$ và tỷ lệ phân đoạn đa hình trung bình PPB = 92,16%. Trong đó, đa dạng di truyền cao nhất thuộc về biến chủng *hondurensis* ($I = 0,542$; $h = 0,364$ và PPB = 100%) và thấp nhất là biến chủng *bahamensis* ($I = 0,453$; $h = 0,308$ và PPB = 79,41%). Điều này có thể lý giải là do biến chủng *hondurensis* có sự phân bố tự nhiên rộng hơn và được phát triển mạnh mẽ

với khả năng sinh trưởng nhanh hơn so với các biến chủng còn lại (Sanchez, 2012), trong khi biến chủng *bahamensis* và *caribaea* lại có phân bố nhỏ lẻ, nằm rải rác trên một diện tích giới hạn trong 1 - 2 quần đảo thuộc Cu Ba và Bahamas (Camacho *et al.*, 2018). Mặt khác, số lượng mẫu nghiên cứu thuộc về biến chủng *hondurensis* nhiều hơn so với hai biến chủng còn lại cũng có thể là nguyên nhân chính dẫn đến kết quả phân tích này.

Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy, hiện tượng tự thụ phân cũng được xác định ở cả 3 biến chủng ($F_{st} > 0$). Khi đánh giá mức độ tự

thụ phấn của 2 biến chủng *bahamensis* và *caribaea* cũng cho kết quả là tỷ lệ thụ phấn thấp nhưng khá rõ ở một số xuất xứ tự nhiên được nghiên cứu (Zheng, Ennos, 1999). Ở một số nghiên cứu trước đây cũng đã kết luận xác định được mức độ thụ phấn của Thông caribe là khoảng 5 - 10% (Matheson *et al.*, 1989; Zheng, Ennos, 1997). Việc trồng ngoài

khu vực phân bố tự nhiên của Thông caribe có thể làm ảnh hưởng đến khả năng ra hoa và kết quả, đó cũng có thể là nguyên nhân dẫn đến hiện tượng giảm tỷ lệ thụ phấn chéo tại các lâm phần/rừng giống ở nước ta và tương tự đối với một số rừng giống Thông caribe tại Úc (Zheng, Ennos, 1999).

Bảng 3. Các thông số đa dạng di truyền của các biến chủng Thông caribe

Biến chủng	Số mẫu phân tích	Chỉ số đa dạng di truyền				
		<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>h</i>	<i>PPB (%)</i>
<i>Caribaea</i>	29	1,971	1,523	0,477	0,314	97,06
<i>Hondurensis</i>	55	2,000	1,623	0,542	0,364	100,00
<i>Bahamensis</i>	9	1,588	1,539	0,453	0,308	79,41
TB		1,853	1,562	0,491	0,329	92,16
SE		0,051	0,032	0,020	0,015	6,43

Ghi chú: *Na*: số alen quan sát, *Ne*: số alen có hiệu quả; *I*: chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon; *h*: chỉ số đa dạng di truyền theo Nei; *PPB*: phần trăm phân đoạn đa hình.

Kết quả phân tích các chỉ số đa dạng di truyền của 3 biến chủng Thông caribe bằng phần mềm POPGENE cho thấy chỉ số sai khác di truyền *G_{ST}* chỉ đạt 0,0932, chứng tỏ mức độ sai khác về mặt di truyền giữa các biến chủng là tương đối thấp (bảng 4). Giá trị chỉ số trao đổi gen (*N_m*) giữa các biến chủng được tính toán đạt 4,867 cho thấy tần số trao đổi gen giữa các biến chủng là tương đối cao. Kết quả này cho thấy, việc định danh các cây trội để thu hạt theo từng biến chủng dựa vào các đặc điểm hình thái là tương đối khó khăn, chưa kể đến việc xuất hiện các cá thể lai tự nhiên giữa các biến chủng cũng ảnh hưởng đến khả năng phân biệt các biến chủng bằng chỉ tiêu hình thái. Đối với kết quả nghiên cứu của Sanchez và đồng tác giả (2014) cũng cho thấy, mức độ trao đổi gen giữa các quần thể nghiên cứu của biến chủng *bahamensis* là tương đối rõ ràng ($r^2 = 0,56$; $p = 0,005$, $F_{st} = 0,000$) và đặc biệt là các quần thể tự nhiên trên đảo có khoảng cách

địa lý gần nhau như Turks và Caicos (13,1 km). Trong một vài trường hợp đặc biệt, phân của Thông caribe có thể được phát tán với khoảng cách lên tới 1.000 km (Williams, 2010) nên hiện tượng trao đổi gen vẫn có thể xảy ra với các khoảng cách địa lý xa hơn.

Bảng 4. Chỉ số đa dạng di truyền của 3 biến chủng Thông caribe

Thông số di truyền	Mean ± SD
<i>H_T</i>	0,3624 ± 0,0165
<i>H_S</i>	0,3286 ± 0,0134
<i>G_{ST}</i>	0,0932
<i>N_m</i>	4,8670

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

Đánh giá sinh trưởng giữa xuất xứ trong và ngoài nước, các tác giả đều nhận định rằng trong 15 năm đầu thì biến chủng *hondorensis*

có xu hướng sinh trưởng nhanh hơn so với 2 biến chủng còn lại, nhưng ở biến chủng *caribae* thì có thân thẳng đẹp và sinh trưởng tốt hơn trong khi biến chủng *bahamensis* lại ở mức trung gian và có chất lượng thân cây tốt (Hà Huy Thịnh *et al.*, 2011; Sanchez, 2012; Santos *et al.*, 2016). Như vậy, việc sử dụng chỉ thị phân tử để xác định biến chủng với mục tiêu phát triển giống Thông caribe vào sản xuất cũng như đánh giá chính xác các thông số di truyền là việc làm cần thiết trong các chương trình cải thiện giống.

3.2. Mức độ biến dị phân tử giữa các biến chủng Thông caribe

Kết quả phân tích biến dị phân tử (AMOVA) giữa 3 biến chủng Thông caribe cho thấy, mức độ thay đổi phân tử giữa 3 biến chủng là thấp chỉ đạt 9% và giữa các gia đình trong cùng một biến chủng là cao (đạt 91%) với giá trị $p < 0,001$.

Bảng 5. Mức độ thay đổi phân tử giữa các biến chủng và trong biến chủng Thông caribe

Mức độ biến đổi di truyền	Tổng sự biến đổi (%)	Giá trị P
Giữa các biến chủng	9,00	< 0,001
Trong cùng biến chủng	91,00	

Kết quả này tương tự với kết quả phân tích 316 cá thể của 15 quần thể tự nhiên ở Thông caribe (bao gồm cả 3 biến chủng) bằng chỉ thị SSR (Camacho *et al.*, 2018) cho thấy mức độ thay đổi phân tử giữa các quần thể cũng như giữa các biến chủng chỉ dao động trong khoảng 7,76 đến 8,84%. Dựa trên các mô hình toán học và các giả thuyết về nguồn gốc phát sinh của Thông caribe kết hợp với kết quả về đánh giá đa dạng di truyền của các tác giả khẳng định rằng cả 3 biến chủng đều có nguồn

gốc từ khu vực Trung Mỹ cách đây khoảng 8000 đến 10000 năm trước đây (Drovak *et al.*, 2005; Delgado *et al.*, 2011; Camacho *et al.*, 2018). Như vậy, mức độ thay đổi phân tử giữa các biến chủng Thông caribe là không lớn và việc định danh các cây trội/gia đình/cá thể theo từng biến chủng chỉ đạt mức độ chính xác một cách tương đối, đặc biệt là đối với các lâm phần không được lưu trữ và ghi chép đầy đủ dữ liệu về nguồn gốc xuất xứ nguồn vật liệu giống được sử dụng.

3.3. Khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng của các biến chủng Thông caribe

Khoảng cách di truyền và mức độ tương đồng di truyền giữa 3 biến chủng được tính theo phương pháp của Nei (1973). Kết quả cho thấy, khoảng cách di truyền dao động từ 0,034 đến 0,113 và mức độ tương đồng dao động từ 0,894 (84,9%) đến 0,967 (96,7%). Trong đó, biến chủng *caribaea* có khoảng cách di truyền với biến chủng *bahamensis* lớn (0,113) và lớn hơn so với khoảng cách di truyền giữa biến chủng *caribaea* và biến chủng *hondurensis* (0,088). Khoảng cách di truyền tương đối nhỏ giữa hai biến chủng *bahamensis* và biến chủng *hondurensis* chỉ đạt 0,034 (bảng 6). Kết quả này đồng nghĩa với mức độ tương đồng giữa 3 biến chủng Thông caribe ở mức cao, trong đó biến chủng *hondurensis* và biến chủng *bahamensis* có mức độ tương đồng cao nhất đạt tới 96,70%, tiếp theo là giữa biến chủng *bahamensis* và biến chủng *caribaea* đạt 89,40%.

Kết quả thu được có sự tương đồng với các nghiên cứu trước đây trên thế giới về mức độ sai khác di truyền giữa các biến chủng Thông caribe (Delgado *et al.*, 2011; Camacho *et al.*, 2018). Điều này khẳng định, mức độ sai khác về mặt di truyền giữa các biến chủng là không cao.

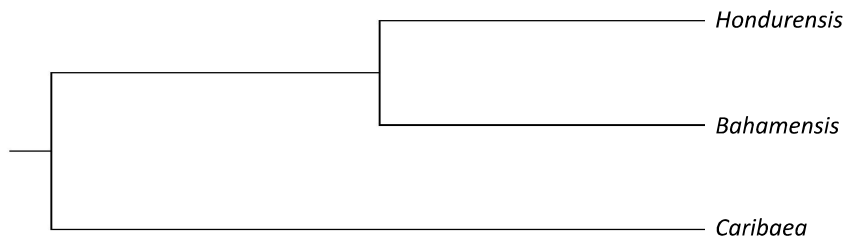
Bảng 6. Khoảng cách di truyền (dưới vạch) và mức độ tương đồng (trên vạch) giữa 3 biến chủng Thông caribe

<i>Caribaea</i>	<i>Hondurensis</i>	<i>Bahamensis</i>	
-	0,916	0,894	<i>Caribaea</i>
0,088	-	0,967	<i>Hondurensis</i>
0,113	0,034	-	<i>Bahamensis</i>

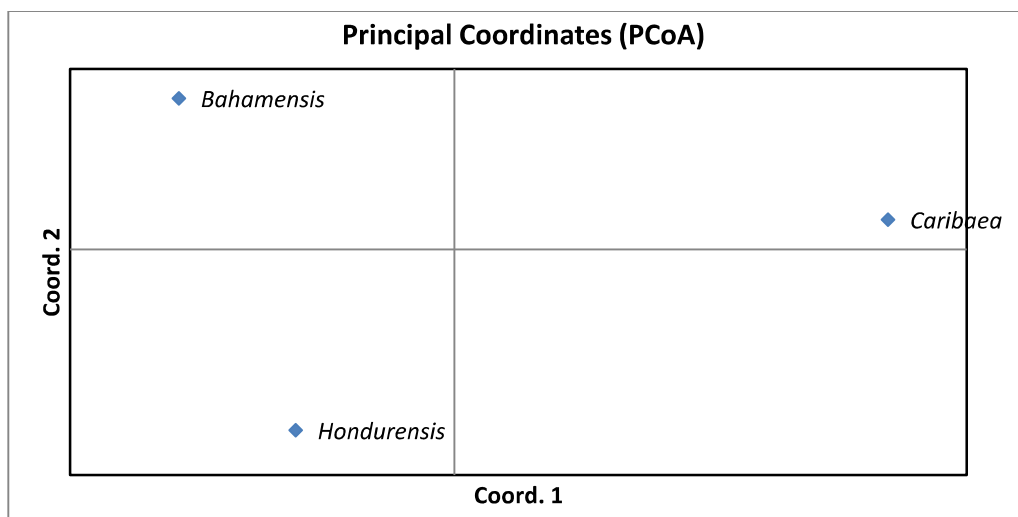
3.4. Mối quan hệ di truyền của các biến chủng Thông caribe

Tiến hành xây dựng cây quan hệ di truyền dựa vào hệ số tương đồng di truyền và sử dụng phần mềm MEGA X phân nhóm theo UPGMA, kết quả thu được thể hiện ở hình 1 sau đây. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền của Thông caribe ở 3 biến chủng được

chia làm 2 nhánh chính, trong đó nhánh lớn thứ nhất là biến chủng *caribaea* và nhánh lớn thứ hai gồm 2 biến chủng *bahamensis* và *hondurensis*. Kết quả phân nhóm trên biểu đồ tọa độ PCoA (hình 2) cũng phản ánh kết quả đồng nhất với cây quan hệ di truyền (hình 1) và kết quả phân tích mối quan hệ di truyền (bảng 6).



Hình 1. Cây quan hệ di truyền của 3 biến chủng Thông caribe

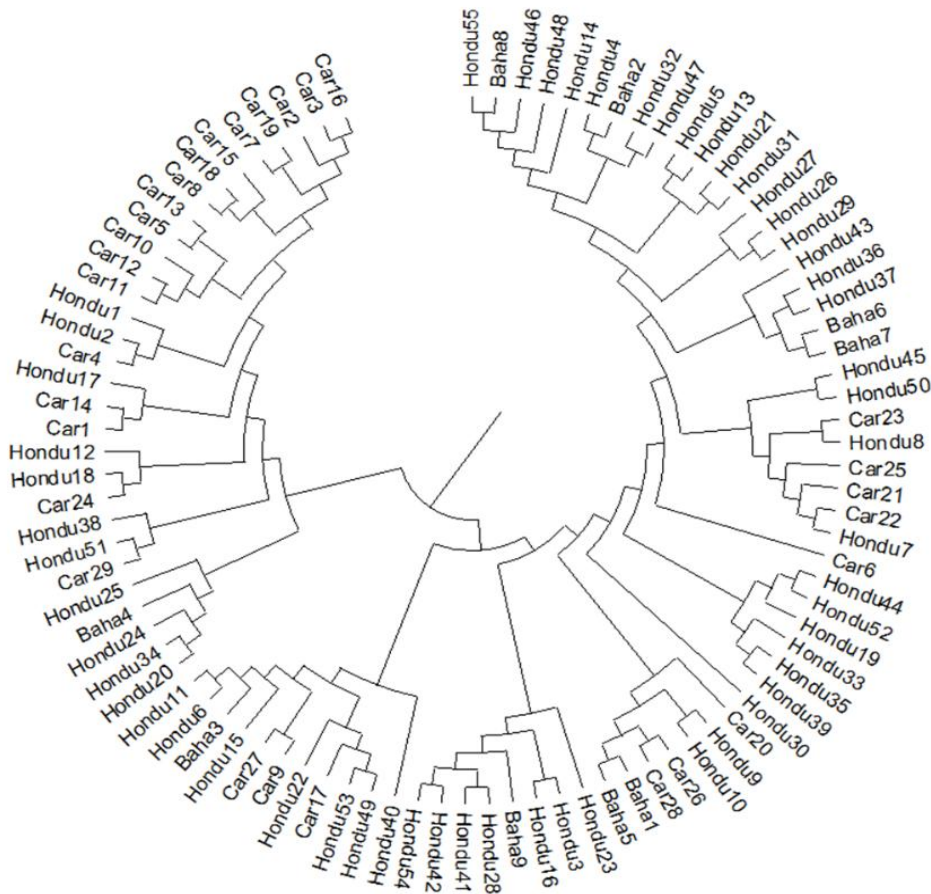


Hình 2. Kết quả phân tích PCoA cho 3 biến chủng Thông caribe

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền giữa các biến chủng Thông caribe cho thấy biến chủng *hondurensis* và *bahamensis* lại có quan hệ gần gũi hơn so với biến chủng *caribaea*. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Camacho và đồng tác giả (2018) đã xác định chỉ có 26% trong tổng số sự khác biệt về mặt di truyền giữa các biến chủng có liên quan đến khoảng cách địa lý. Về vị trí địa lý, địa điểm phát sinh của Thông caribe trước khi được phân tách thành 3 biến chủng do hoạt động của quá trình thành thềm lục địa và biến đổi khí hậu từ thời kỳ trước là Cu Ba nằm giữa các quần đảo Bahamas và khu vực Trung Mỹ (Dvorak *et al.*, 2005). Phần lớn sự khác biệt về

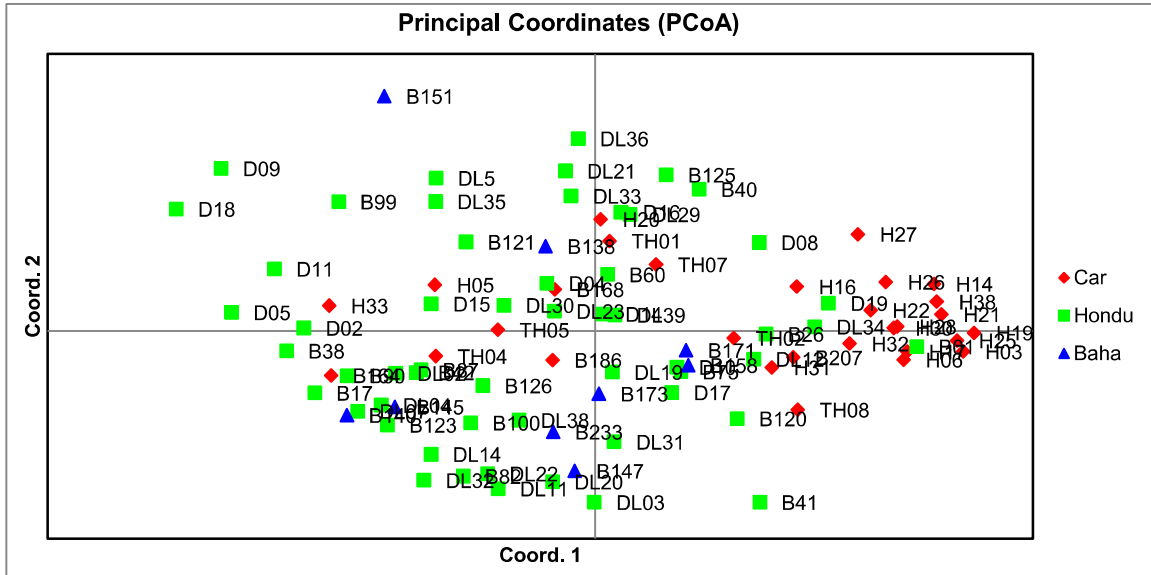
mặt di truyền là kết quả của quá trình trao đổi gen/di cư (gene flow/migration) theo 2 chiều qua và chiều trở lại (do xảy ra tự nhiên hoặc do hoạt động của con người) giữa hai biến chủng *bahamensis* và biến chủng *hondurensis* được xác định là xảy ra nhiều hơn so với sự trao đổi gen với biến chủng *caribaea* (Camacho *et al.*, 2018). Như vậy, kết quả này một lần nữa giải thích cho sự khác biệt di truyền rất thấp giữa 3 biến chủng Thông caribe được nghiên cứu.

Khi tiến hành phân tích cây quan hệ di truyền và phân tích PCoA cho 93 mẫu Thông caribe thuộc 3 biến chủng, kết quả được trình bày ở hình 3 và hình 4 dưới đây.



Hình 3. Cây quan hệ di truyền các mẫu Thông caribe phân theo biến chủng

Ghi chú: Car - biến chủng *caribaea*, Hondu - biến chủng *hondurensis*, Baha - biến chủng *bahamensis*.



Hình 4. Kết quả phân tích PCoA cho các mẫu Thông caribe phân theo biến chủng

IV. KẾT LUẬN

Mức độ đa dạng di truyền của các biến chủng Thông caribe ở nước ta không có nhiều sự sai khác so với các xuất xứ tự nhiên, hệ số đa dạng di truyền đạt 0,329, trong đó biến chủng *hondurensis* có mức độ đa dạng di truyền cao hơn so với hai biến chủng còn lại. Mức độ khác biệt về mặt di truyền giữa các biến chủng Thông caribe là không đáng kể chỉ chiếm 9%, chứng tỏ các nguồn giống này có mối quan hệ di truyền gần gũi và cũng xảy ra hiện tượng trao đổi gen qua lại giữa các biến chủng. Do đó, việc nhận biết và phân mẫu ra các biến

chủng dựa vào các chỉ tiêu hình thái chỉ phản ánh được một phần bản chất di truyền của các mẫu Thông caribe được nghiên cứu. Đối với 3 biến chủng được nghiên cứu, biến chủng *hondurensis* và *bahanensis* có mối quan hệ di truyền gần gũi với nhau hơn so với biến chủng *caribaea*. Mặc dù vậy, việc phân chia các mẫu nghiên cứu theo biến chủng dựa trên chỉ tiêu hình thái chưa phản ánh được hết bản chất di truyền của chúng, do đó, các nghiên cứu ở mức độ sâu hơn với quy mô lớn hơn cần được thực hiện để có thể đưa ra phương pháp xác định biến chủng một cách chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barnes R.D., Nikles D.G., Burley J., 1978. Progress and problems of genetic improvement of tropical forest trees. Department of Forestry commonwealth Forestry Institute university of Oxford, Brisbane, Queensland, Australia, 4 - 7 April.
2. Camacho V.R., Barbolla L.J., Morillo I. R., Vázquez-Lobo A., Piñero D. and Delgado P., 2018. Genetic variation and dispersal patterns in three varieties of *Pinus caribaea* (Pinaceae) in the Caribbean Basin. *Plant Ecology and Evolution*, 151 (1): 61-76.
3. Delgado P., Piñero D., Rebolledo V., Jardon L., Chi F., 2011. Genetic variation and demographic contraction of the remnant populations of Mexican Caribbean pine (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*: Pinaceae). *Annals of Forest Science*, 68: 121-128.
4. Doyle J.J. and Doyle J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, Vol. 19: 11-15.

5. Dvorak W.S., Hamrick J.L., Gutiérrez E.A., 2005. The origin of Caribbean pine in the seasonal swamps of the Yucatán. *International Journal of Plant Science* 166: 985 - 994. <https://doi.org/10.1086/449314>.
6. Dvorak W.S., Ross K.D. and Lui Y., 1993. Performance of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* in Brazil, Colombia and Venezuela. CAMCORE bulletin on tropical forestry (USA), No. 11, 47p.
7. Farjon A. and Styles B.T., 1997. *Pinus* (Pinaceae). *Flora Neotropica Monograph* 75, pp. 1-291 (297 pages).
8. Greaves A., 1981. Progress in the *Pinus caribaea* Morelet and *Pinus oocarpa* Schiede International provenance trials. *The Commonwealth Forestry Review*, Vol. 60, No. 1 (183): 35 - 43
9. Greaves A., 1980. Review of *Pinus caribaea* Morelet and *Pinus oocarpa* Schiede international provenance trials. Occasional Paper, Commonwealth Forestry Institute, University of Oxford, No. 12, 89pp.
10. Hà Huy Thịnh, Lê Đình Khả, Phí Hồng Hải, Nguyễn Đức Kiên, Đoàn Thị Mai và Trần Hồ Quang, 2011. Chọn tạo giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu (tập 3). Nhà xuất bản Nông nghiệp.
11. 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.
12. Matheson A.C., Bell J.C., Barnes R.D., 1989. Breeding systems and genetic structure in some Central American pine populations. *Silvae Genetica*, 38(3): 107 - 113.
13. Nei M., 1973. Analysis of genetic diversity in subdivided populations. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 70: 3321-3323.
14. Nikles D.G., 1967. Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (*Pinus caribaea* Mor.) and Slash Pine (*Pinus elliottii*) Engelm. PhD thesis, College of Natural Resources, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA.
15. Peakall R., Smouse P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288 - 95.
16. Rao N.K., 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 3(2): 136 - 145.
17. Sanchez M.D., 2012. Conservation genetics and biogeography of the Caribbean pine (*Pinus caribaea* var. *bahamensis*) in the Bahaman archipelago. PhD thesis, Birkbeck, University of London.
18. Sanchez M.D., Ingrouille M.J., Cowan R.S., Hamilton M.A., Fay M.F., 2014. Spatial structure and genetic diversity of natural populations of the Caribbean pine, *Pinus caribaea* var. *bahamensis* (Pinaceae), in the Bahaman archipelago. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 174. 10.1111/boj.12146.
19. Santos D.W., Souza D.C.L., Moraes M.L.T., Aguiar A.V., 2016. Genetic variation of wood and resin product in *Pinus caribaea* var *hondurensis* Barret & Golfari. *Silvae Genetica* (2016) 65 - 1, 31-37.
20. Sudhir Kumar, Glen Stecher, Michael Li, Christina Knyaz and Koichiro Tamura, 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), DOI:10.1093/molbev/msy096.
21. Williams C.G., 2010. Long-distance pine pollen still germinates after meso-scale dispersal. *American Journal of Botany* 97(5): 846 - 855. DOI: 10.3732/ajb.0900255.
22. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H., Mao J.X., 1997. POPGENE, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.
23. Zheng Y.Q., Ennos R. A., 1997. Changes in the mating systems of populations of *Pinus caribaea* Morelet var *caribaea* under domestication. *Forest Genetic*, 4(4): 209 - 215.
24. Zheng YQ., Ennos R. A., 1999. Genetic variability and structure of natural and domesticated populations of Caribbean pine (*Pinus caribaea* Morelet). *Theoretical and applied genetics*, Vo. 98: 765 - 771. <https://doi.org/10.1007/s001220051133>.

Email tác giả chính: leson@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 25/11/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 09/12/2022

Ngày duyệt đăng: 12/12/2022