

LÀM SÁNG TỎ TÊN KHOA HỌC CHO MỘT SỐ LOÀI THUỘC CHI TRE (*BAMBUSA* Schreb.) Ở VIỆT NAM DO BIẾN ĐỔI HÌNH THÁI TRÊN CƠ SỞ GIẢI MÃ TRÌNH TỰ GEN *trnL-trnF*, *psbA-trnH* VÀ *matK*

Vũ Thị Thu Hiền*, Trần Thị Việt Thanh, Nguyễn Khắc Khôi, Đinh Thị Phòng

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện KHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

*Email: coi.hien@gmail.com

Đến Tòa soạn: 4/5/2012; Chấp nhận đăng: 20/12/2012

TÓM TẮT

Ba cặp môi đặc hiệu *trnL/trnF*, *psbA3'/trnH* và *matK19F/matK* được sử dụng để nhân bản đoạn gen đích cho 19 mẫu thuộc ba loài tre ở Việt Nam là tre Bụng phật (*B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure), tre Vàng sọc (*B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *wamin* McClure) và tre Đùi gà (*B. ventricosa* McClure) cần làm sáng tỏ tên khoa học do biến đổi hình thái theo điều kiện sống. Kết quả đều nhân được đoạn DNA có kích thước 1000 bp cho vùng gen *trnL-trnF*, 680 bp cho vùng *psbA-trnH* và 1500 bp cho gen *matK*. So sánh trình tự nucleotide của 19 mẫu tre ở cả 3 vùng gen cho thấy giữa các mẫu trong cùng 1 loài giống nhau 100%. Mức độ tương đồng nucleotide giữa tre Bụng phật, tre Vàng sọc và loài *B. vulgaris* trên Genbank (EF137524) là 98,1 % đối với vùng gen *trnL-trnF* và 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH*. Mức độ tương đồng nucleotide gen *psbA-trnH* giữa tre Đùi gà và *B. ventricosa* trên Genbank (EF137524) là 99,0 %. Mức độ tương đồng nucleotide của loài tre Đùi gà và *B. tuldoidea* trên Genbank (GU063083) là 99,7 % đối với vùng gen *trnL-trnF*, 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH* và gen *matK*. Kết quả nhận được khẳng định hai loài tre Bụng phật và tre Vàng sọc là cùng loài *B. vulgaris* và loài tre Đùi gà có thể cùng loài với loài hóp nhỏ (*B. tuldoidea*).

Từ khóa: biến đổi hình thái, cpDNA, tre, tương đồng nucleotide.

1. MỞ ĐẦU

Chi tre (*Bambusa* Schreb.) phân bố rộng rãi khắp mọi nơi ở Việt Nam. Đây là nguồn tài nguyên có giá trị trong nhiều lĩnh vực như công nghiệp, gia dụng, cảnh quan, thực phẩm... Lần đầu tiên vào cuối thế kỉ XIX, nhà thực vật học người Pháp là Balansa (1890) [1] đã phân loại tre Việt Nam có 5 chi và 7 loài, trong đó có 2 loài mới. Nhưng đến năm cuối thế kỉ 20 công trình phân loại tre của Lê Nguyên (1971) [2] và Phạm Hoàng Hộ (1972, 1993, 2000) [3 - 5] đã công bố khá đầy đủ với số lượng lên tới 22 chi và 123 loài. Nguyễn Khắc Khôi và Nguyễn Thị Đò (2005) [6] đã công bố Danh lục các loài tre trúc của Việt Nam có 29 chi và 127 loài. Trong hợp tác nghiên cứu giữa Viện Khoa học Lâm Nghiệp Việt Nam với các chuyên gia Trung Quốc đã công bố danh sách các loài và chi tre trúc ở Việt Nam có 25 chi và 216 loài [7], trong đó chi tre

(*Bambusa* Schreb.) có 67 loài, thì có tới 37 loài chưa định loại được tên loài (dạng sp. và aff.). Bên cạnh đó Lê Viết Lâm (2008) [8] cũng đã phát hiện thêm 4 loài mới, trong đó 2 loài chưa xác định tên. Hiện nay, việc phân loại và định loại tên loài cho tre vẫn chủ yếu dựa trên phương pháp hình thái, tuy nhiên phương pháp đòi hỏi mẫu vật phải có đầy đủ các đặc điểm phân loại đặc biệt là cơ quan sinh sản, mà đối với tre thì các mẫu vật chỉ có cơ quan dinh dưỡng, hầu hết không có đặc điểm về cơ quan sinh sản (hoa, quả) vì chu kỳ ra hoa tới vài chục năm. Hơn nữa trong một số trường hợp, phương pháp phân loại bằng hình thái khó thực hiện hoặc nhầm lẫn do mẫu mang đặc điểm trung gian hoặc đồng hình. Hai loài tre Bụng phật và tre Vàng sọc có chung tên khoa học là *Bambusa vulgaris* [6, 7, 8, 9], giữa hai loài có một số đặc điểm khác nhau như: chiều cao thân khí sinh, độ dài lóng thân, dạng lóng. Tre Bụng phật có dạng lóng phòng, lóng thẳng và lóng phòng và thẳng (1/2 thân phía dưới phòng, 1/2 thân phía trên thẳng); còn tre Vàng sọc thì chỉ có dạng lóng thẳng và tròn đều. Theo các tác giả Nguyễn Khắc Khôi (2007) [10], Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006) [7] đều đồng ý các dạng này chỉ là biến thể của một loài dựa trên một số đặc điểm hình thái nhưng vẫn thiếu tính xác thực vì không có cơ quan sinh sản. Tương tự, đối với tre Đùi gà theo Lê Nguyên (1971) [2], Lê Viết Lâm (2008) [8], Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006) [7] cho rằng tre Đùi gà có tên khoa học là *B.ventricosa*, nhưng Nguyễn Khắc Khôi (2007) [10], Vũ Văn Dũng (2007) [9] và Dransfield và Widjaja (1995) [11] cho rằng tre Đùi gà là sự biến danh của loài *B. tuldoidea* (tên Việt Nam là Hóp nhỏ). Khó khăn này không chỉ ở Việt Nam mà ngay cả trên thế giới. Vì vậy, việc định loại tên loài ở chi tre vẫn còn rất nan giải cần có sự hỗ trợ của kỹ thuật phân tích DNA. Nhờ có kỹ thuật này, trong cơ sở dữ liệu Genbank đã lưu giữ 16542 trình tự nucleotide cho phân loại Họ phụ tre (*Bambusoideae*), trong đó có 607 trình tự nucleotide cho chi *Bambusa*, trong số này rất nhiều loài cũng có ở Việt Nam [12, 13]. Đó là cơ sở cho nghiên cứu này. Đến nay, ở Việt Nam có khá nhiều công trình công bố về hiệu quả của việc giải mã trình tự một số vùng gen giúp cho định loại tên loài ở nhiều đối tượng sinh vật [14, 15, 16], nhưng đối với các loài tre mới chỉ có Nguyễn Minh Tâm (2006) [17] đã sử dụng một số chỉ thị isozyme để nhận dạng cho hai loài tre của Việt Nam. Mặc dù các kết quả thu nhận chưa nhiều nhưng cũng là cơ sở để ứng dụng phương pháp phân tích DNA góp phần làm sáng tỏ tên khoa học cho một số loài thuộc chi tre (*Bambusa* Schreb.) do biến đổi hình thái ở Việt Nam.

Xuất phát từ cơ sở trên, nghiên cứu này sử dụng ba vùng gen lục lạp (*trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*) để làm sáng tỏ tên khoa học do sự biến đổi hình thái theo điều kiện sống cho ba loài tre Bụng phật (*B. vulgaris*), tre Vàng sọc (*B. vulgaris*) và tre Đùi gà (*B. ventricosa*).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 19 mẫu của 3 loài tre cần làm sáng tỏ tên khoa học do biến đổi hình thái là 8 mẫu tre Bụng phật (3 mẫu dạng lóng phòng, 3 mẫu dạng lóng thẳng và 2 mẫu dạng lóng phòng và thẳng); 8 mẫu tre Đùi gà (2 mẫu dạng thân có lóng phòng, 3 mẫu dạng thân có lóng phòng thẳng và 3 mẫu dạng thân có lóng thẳng toàn bụi) và 3 mẫu tre Vàng sọc. Các mẫu tre do Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cung cấp. Danh sách và một số đặc điểm hình thái các mẫu có kí hiệu và nơi thu thập như trong bảng 1.

Thông tin về trình tự nucleotide, kích thước lý thuyết và nhiệt độ bắt cặp của ba cặp mồi đặc hiệu sử dụng trong nghiên cứu như trong bảng 2.

Bảng 1. Nguồn gốc và kí hiệu mẫu của 3 loài sử dụng trong nghiên cứu

Tên loài	Tên khoa học	Kí hiệu mẫu	Mã hiệu mẫu*	Địa điểm thu mẫu	Một số đặc điểm hình thái
Tre Bụng phật	<i>B. vulgaris</i> Schrader ex Wendland cv. <i>vittata</i> McClure	K3005/5	VNMN B000246	Chợ Đồn, BK*	Cả thân khí sinh đều có lông phỏng (như Bụng phật). Bẹ mo 10 - 13 cm × 10 - 13 cm × 8 - 9 cm.
		K3005/15	VNMN B000256	Tân Sơn, Hòa Bình	
		K3005/16	VNMN B000257	Chí Linh, Hải Dương	
		K3005/9	VNMN B000250	Châu Mộng, Phú Thọ	
		K3005/10	VNMN B000251	Chợ Đồn, BK*	Cả thân khí sinh các lông đều thẳng. Bẹ mo dài hơn 15 - 20 cm.
		K3005/12	VNMN B000253	Hà Nội	
		K3005/13	VNMN B000254	Ba Vì	
		K3005/14	VNMN B000255	Ba Vì	
Tre Vàng sọc	<i>B. vulgaris</i> Schrader ex Wendland cv. <i>wamin</i> McClure	K3011/3	VNMN B000298	Ba Vì, Hà Nội	Lông thẳng và tròn đều, vỏ thân có màu vàng tươi xen lẫn sọc xanh. Bẹ mo 22 cm × 15 - 17 cm × 8,3 cm.
		K3011/4	VNMN B000299	Chợ Đồn, BK*	
		K3011/8	VNMN B000303	Tuyên Quang, Chiêm Hóa	
Tre Đùi gà	<i>B. ventricosa</i> McClure	K3006/1	VNMN B000258	Thanh Ba, Phú Thọ	Dạng thân khí sinh có lông phỏng đều (như đùi gà). Bẹ mo 17 - 19 cm × 7,8 cm × 7,8 cm.
		K3006/2	VNMN B000259	Thanh Ba, Phú Thọ	
		K3006/5	VNMN B000262	Thanh Ba, Phú Thọ	
		K3006/6	VNMN B000263	Chân Mộng, Phú Thọ	Dạng thân có lông phỏng và thẳng trên cùng một thân.
		K3006/7	VNMN B000264	Ba Vì, Hà Nội	
		K3006/11	VNMN B000268	Quản Bạ, Hà Giang	Dạng thân có lông thẳng toàn bụi cây. Bẹ mo dài hơn 10 - 15 cm
		K3006/12	VNMN B000269	Văn Bàn, Lào Cai	
		K3006/14	VNMN B000271	Đồng Hỷ, Thái Nguyên	

* Ghi chú: Mã hiệu mẫu lưu giữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (VNMN); BK*: Bắc Kạn

Bảng 2. Thông tin của ba cặp mồi dùng trong nghiên cứu

Gen	Kí hiệu mồi	Trình tự nucleotide (5' - 3')	Kích thước lí thuyết (bp)	Nhiệt độ bắt cặp (T _m) °C
<i>trnL-trnF</i>	<i>trnLF/trnFR</i>	CGAAATCGGTAGACGCTACG ATT TGA ACTGGT GACACGAG	1000	55
<i>psbA-trnH</i>	<i>psbA3'f/trnH</i>	GTTATGCATGAACGTAATGCTC CGCGCATGGTGGATT CACAATCC	680	55
<i>matK</i>	<i>matK19F/matKR</i>	CGTTCTGACCATATTGCACTATG TACGAGCTAAAGTTCTAGC	1500	50

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ mẫu lá và thân tre theo quy trình của Dolye và Dolye (1987) [18]. Tinh sạch DNA tổng số bằng bộ kit Genomic DNA Purification kit (#KO512, Fermentas).

Nhân bản PCR và đọc trình tự: Mỗi phản ứng PCR có thể tích 25 μ l với các thành phần: 13 μ l H₂O deion; 2,5 μ l buffer 10X; 1 μ l MgCl₂ 25 mM; 2,5 μ l dNTPs 2,5 mM; 1,25 μ l mỗi xuôi (10 pmol); 1,25 μ l mỗi ngược (10 pmol); 0,5 μ l *Taq* polymerase (5 U/ μ l); 3 μ l DNA (10 – 20 ng). Phản ứng được thực hiện trên máy PCR model 9700 (GeneAmp PCR System 9700, Mỹ). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: 94 °C trong 3 phút; tiếp sau là 35 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: 94 °C trong 50 giây, 50 đến 55 °C trong 55 giây, 72 °C trong 45 giây; kết thúc phản ứng nhân gen ở 72 °C trong 10 phút, giữ sản phẩm ở 4 °C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5 %, cắt lấy phân đoạn DNA quan tâm trên bàn soi UV và tinh sạch bằng bộ Kit Extraction Gel (QIAGEN). Phản ứng xác định trình tự được đọc theo cả 2 chiều trên máy đọc trình tự ABI PRISM[®] 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học.

Xử lý số liệu: Dữ liệu được xử lý bằng các phần mềm chuyên dụng Bioedit, Mega 4.0, Clustal X, DNASTar, ...vv. Trình tự DNA của 3 loài nghiên cứu được so sánh với các trình tự đã công bố trên Genbank tương ứng với 3 vùng gen lục lạp.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái của ba loài tre biến đổi hình thái theo điều kiện sống

Đến nay, việc định loại tên loài đối với tre vẫn chủ yếu dựa vào các bộ phận sinh dưỡng (tre rất hiếm khi ra hoa) nên rất khó định loại bằng phương pháp hình thái truyền thống. Theo các tác giả Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006) [7], Nguyễn Khắc Khôi và Nguyễn Thị Đỗ (2005) [6], Lê Việt Lâm (2008) [8] và Vũ Văn Dũng (2007) [9] hai loài tre Bụng phật và tre Vàng sọc cùng có tên khoa học là *B. vulgaris* Schrader ex Wendland bởi sự giống nhau cơ bản ở nhiều đặc điểm hình thái, nhưng là các thứ trồng khác nhau nên hai loài tre này cũng có đặc điểm khác nhau do điều kiện trồng trọt. Điển hình là: chiều cao thân khí sinh (13 - 15 m đối với tre Vàng sọc, 4 - 6 m đối với tre Bụng phật), độ dài lông thân (tre Vàng sọc dài 20 - 30 cm, tre Bụng phật dài 4 - 10 cm), lông tre Vàng sọc thẳng, tròn đều, lông tre Bụng phật phình to và ngắn. Bên cạnh đó, dạng lông thân cũng khác nhau giữa các mẫu trong cùng loài (bảng 1).

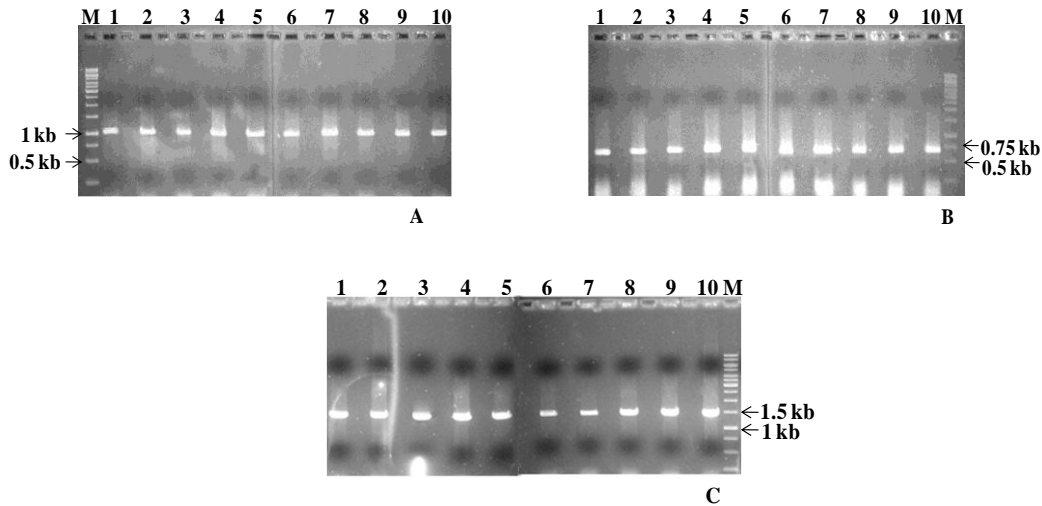
Tương tự, thân khí sinh của tre Đùi gà khi mọc tự nhiên cao 9-11 m, thân hướng thẳng và các lông dài, thẳng, tròn đều, khi trồng trong điều kiện khó khăn trong vườn hay chậu cây, chỉ cao 1 – 3 m, thân không thẳng, phình to phía gốc có hình đùi gà hay bình nước. Khi trồng làm cảnh thì trong bụi có 2 loại lông: (1) thân có lông phồng to hình đùi gà ở phía dưới, phía trên có lông thẳng và (2) thân có lông thẳng tròn đều trên toàn bộ chiều cao [7, 10]. Do có nhiều đặc điểm hình thái giống nhau, nên một số tác giả cho rằng tre Đùi gà (*B. ventricosa*) chỉ là tên đồng nghĩa (synonym) của Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) [9, 11]. Một số nhà thực vật Trung Quốc cũng cho rằng tre Đùi gà có thể cùng loài với Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) [19, 20, 21]. Tuy nhiên một số tác giả lại không đồng tình quan điểm này.

Mặc dù vậy cho đến nay tên loài của ba loài tre trên vẫn chưa được thống nhất vì không có cơ quan sinh sản. Do đó cần phân tích DNA để làm sáng tỏ các quan điểm: (1) Các dạng biến đổi hình thái giữa các mẫu trong loài có phải là cùng một loài tre Bụng phật hoặc tre Vàng sọc

hoặc tre Đùi gà; (2) tre Bụng phật và tre Vàng sọc có phải là cùng loài *B.vulgaris* và (3) tre Đùi gà và Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) có phải cùng loài với nhau hay không?

3.2. Kết quả nhân bản PCR vùng gen đích

Ba cặp mồi đặc hiệu (*trnLF/trnLR*, *psbA3'f/trnH*, *matK19F/matKR*) đã được sử dụng để nhân bản các đoạn gen đích của 19 mẫu tre. Kết quả phân tích sản phẩm PCR bằng định đã nhân được các đoạn gen có kích thước lí thuyết như dự đoán. Cụ thể khoảng 1000 bp đối với gen *trnL-trnF*, 680 bp đối với gen *psbA-trnH* và 1500 bp đối với gen *matK* (hình 1).



Hình 1. Sản phẩm PCR đại diện của một số mẫu tre phân tích với cặp mồi *trnLF/trnFR* (A), *psbA3'f/trnH* (B) và *matK19F/matKR* (C) điện di trên gel agarose 1,5 %. (giếng 1: K3005/5; giếng 2: K3005/9; giếng 3: K3005/13; giếng 4: K3011/3; giếng 5: K3011/4; giếng 6: K3011/8; giếng 7: K3006/1; giếng 8: K3006/2; giếng 9: K3006/6; giếng 10: K3006/11; M: marker phân tử 1 kb)

3.3. Mức độ tương đồng nucleotide giữa các mẫu trong một loài tre nghiên cứu

Khi giải mã trình tự nucleotide cho 19 mẫu tre của 3 loài tre Bụng phật (8 mẫu), tre Đùi gà (8 mẫu) và tre Vàng sọc (3 mẫu) khi phân tích với 3 cặp mồi đều có chung kết quả là trình tự nucleotide có độ dài khoảng 995 bp đối với vùng gen *trnL-trnF*, 620 bp đối với vùng gen *psbA-trnH* và 1500 bp đối với gen *matK*.

Trình tự nucleotide giữa các mẫu trong cùng 1 loài tre Bụng phật, tre Vàng sọc và tre Đùi gà giống nhau 100 % ở cả ba vùng gen (*trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*) (Bảng 3, 4). Như vậy cho phép kết luận sự khác nhau về mặt hình thái giữa các dạng mẫu trong cùng một loài chỉ là do điều kiện trồng trọt và môi trường sống ở từng địa phương.

Bảng 3. Mức độ tương đồng nucleotide của loài tre Vàng sọc phân tích với 3 vùng gen *trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*

TT	Tên loài	Vùng gen <i>trnL-trnF</i>			Vùng gen <i>psbA-trnH</i>			Vùng gen <i>matK</i>		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	K3011/3		100	100		100	100		100	100
2	K3011/4	0,0		100	0,0		100	0,0		100
3	K3011/8	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0	

Bảng 4. Mức độ tương đồng nucleotide của loài tre Bụng phật phân tích với 3 vùng gen *trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*

T T	Tên loài	Vùng gen <i>trnL-trnF</i>						Vùng gen <i>psbA-trnH</i>						Vùng gen <i>matK</i>					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	K3005/5		100	100	100	100	100		100	100	100	100	100		100	100	100	100	100
2	K3005/15	0,0		100	100	100	100	0,0		100	100	100	100	0,0		100	100	100	100
3	K3005/16	0,0	0,0		100	100	100	0,0	0,0		100	100	100	0,0	0,0		100	100	100
4	K3005/9	0,0	0,0	0,0		100	100	0,0	0,0	0,0		100	100	0,0	0,0	0,0		100	100
5	K3005/10	0,0	0,0	0,0	0,0		100	0,0	0,0	0,0	0,0		100	0,0	0,0	0,0	0,0		100
6	K3005/12	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	

Bảng 5. Mức độ tương đồng nucleotide của loài tre Đùi gà phân tích với 3 vùng gen *trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*

T T	Tên loài	Vùng gen <i>trnL-trnF</i>						Vùng gen <i>psbA-trnH</i>						Vùng gen <i>matK</i>					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	K3006/1		100	100	100	100	100		100	100	100	100	100		100	100	100	100	100
2	K3006/2	0,0		100	100	100	100	0,0		100	100	100	100	0,0		100	100	100	100
3	K3006/5	0,0	0,0		100	100	100	0,0	0,0		100	100	100	0,0	0,0		100	100	100
4	K3006/6	0,0	0,0	0,0		100	100	0,0	0,0	0,0		100	100	0,0	0,0	0,0		100	100
5	K3006/7	0,0	0,0	0,0	0,0		100	0,0	0,0	0,0	0,0		100	0,0	0,0	0,0	0,0		100
6	K3006/11	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	

3.4. Kết quả so sánh trình tự nucleotide giữa loài tre Bụng phật, tre Vàng sọc và loài *B. vulgaris* đã công bố trình tự trên Genbank

Để làm sáng tỏ là tre Bụng phật và tre Vàng sọc có phải là cùng loài *B. vulgaris* hay không chúng tôi đã so sánh trình tự nucleotide của hai vùng gen *trnL-trnF* và *psbA-trnH* giữa loài tre Bụng phật, tre Vàng sọc với loài *B. vulgaris* (EF137524) đã công bố trên ngân hàng Genbank (trình tự nucleotide gen *matK* cho loài *B. vulgaris* hiện vẫn chưa có trên Genbank). Kết quả cho thấy, mức độ tương đồng là 98,1 % đối với vùng gen *trnL-trnF* và 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH* (bảng 6).

Bảng 6. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mỗi *trnL/trnF* và *psbA3'/trnH* giữa loài tre Bụng phật, tre Vàng sọc và loài *B. vulgaris* (mã số EF137524)

Vùng gen <i>trnL-trnF</i>					Vùng gen <i>psbA-trnH</i>			
TT	Tên loài	1	2	3	Tên loài	1	2	3
1	K3005/5		100	98,1	K3005/5		100	100
2	K3011/3	0,0		98,1	K3011/3	0,0		100
3	<i>B. vulgaris</i>	1,5	1,5		<i>B. vulgaris</i>	0,0	0,0	

*Ghi chú: K3005/5 đại diện cho tre Bụng phật, K3011/3 đại diện cho tre Vàng sọc, *B. vulgaris* (mã số EF137524) trên Genbank.

Kết quả phân tích phân tử trên đây cho phép khẳng định tre Bụng phật và tre Vàng sọc là cùng loài *B. vulgaris*.

3.5. Kết quả so sánh trình tự nucleotide giữa loài tre Đùi gà với loài *B. ventricosa* và loài *B. tuldoides* đã công bố trình tự trên Genbank

Hiện nay, trên ngân hàng Genbank vẫn chưa có công bố nào về trình tự nucleotide hai vùng gen *trnL-trnF* và *matK* đối với loài *B. ventricosa*. Vì vậy, chúng tôi chỉ so sánh mức độ tương đồng nucleotide vùng gen *psbA-trnH* giữa tre Đùi gà (*B. ventricosa*) với loài *B. ventricosa* (GU063074) và cho kết quả là 99,0 % (bảng 7).

Bảng 7. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mỗi *psbA3'/trnH* của loài tre Đùi gà với loài *B. ventricosa* (mã số GU063074)

TT	Tên loài	1	2	3	4
1	K3006/1		100	100	99,0
2	K3006/5	0,0		100	99,0
3	K3006/11	0,0	0,0		99,0
4	<i>B. ventricosa</i>	0,2	0,2	0,2	

Để làm sáng tỏ tre Đùi gà (*B. ventricosa*) và Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) có cùng loài hay 2 loài độc lập, chúng tôi so sánh trình tự nucleotide loài tre Đùi gà với loài *B. tuldoides* (GU063083), kết quả cho thấy mức độ tương đồng nucleotide giữa 2 loài là 99,7 % đối với vùng gen *trnL-trnF* (bảng 8), 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH* (bảng 9) và 100 % đối với vùng gen *matK* (bảng 8).

Bảng 8. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mồi *trnL*/*trnFR* và *matK*19F/*matKR* giữa loài tre Đùi gà với loài Hóp nhỏ *B. tuldoides* (mã số GU063083)

Vùng gen <i>trnL-trnF</i>						Vùng gen <i>matK</i>					
TT	Tên loài	1	2	3	4	Tên loài	1	2	3	4	
1	K3006/1		100	100	99,7	K3006/1		100	100	100	
2	K3006/5	0,0		100	99,7	K3006/5	0,0		100	100	
3	K3006/11	0,0	0,0		99,7	K3006/11	0,0	0,0		100	
4	<i>B. tuldoides</i>	0,0	0,0	0,0		<i>B. tuldoides</i>	0,0	0,0	0,0		

Bảng 9. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mồi *psbA3'*/*trnH* của loài tre Đùi gà với loài *B. tuldoides* (mã số GU063083)

TT	Tên loài	1	2	3	4
1	K3006/1		100	100	100
2	K3006/5	0,0		100	100
3	K3006/11	0,0	0,0		100
4	<i>B.tuldoides</i>	0,0	0,0	0,0	

Kết quả phân tích phân tử trên đây cho phép nhận định tre Đùi gà chỉ là tên đồng nghĩa của Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) và chỉ là giống trồng (cv.).

Trình tự nucleotide một số vùng gen nhân (ITS) và lục lạp (cpDNA) không chỉ ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu mối quan hệ chủng loại (phylogenetic) mà còn là công cụ có hiệu quả cao trong phân loại (taxonomy), nhận dạng (identity) loài ở nhiều đối tượng sinh vật [14, 22, 23, 24]. Ngay ở tre, cũng có khá nhiều công bố về mối quan hệ chủng loại và nhận dạng loài. Chẳng hạn Yang và cộng sự (2010) [24] đã xác định trình tự nucleotide của vùng gen nhân (*GBSSI*) và ba vùng gen lục lạp (*psbA-trnH*, *rpl32-trnL* và *rps16* intron) để lập cây phát sinh chủng loại cho 64 loài thuộc tông phụ tre. Từ kết quả giải mã trình tự bốn vùng gen các tác giả cũng đề nghị chuyển loài *D. rongchengensis* về chi *Bambusa*, ngược lại các tác giả lại không đồng ý quan điểm của Staleton và Xia (1996) [25] là chuyển loài *D. membranaceus* về chi *Bambusa*. Tương tự Yang và cộng sự (2007) [26] cũng đã giải mã trình tự nucleotide gen *GBSSI* và *trnL* cho một số loài cần xem xét của 7 chi *Schizostachyum*, *Cephalostachyum*, *Dinochloa*, *Leptocanna*, *Melocanna*, *Melocalamus* và *Pseudostachyum*. Kết quả so sánh trình tự nucleotide các tác giả đề nghị chuyển loài *C.virgatum* và loài *C. pergracile* về chi *Schizostachyum*. *Melocanna* và *Pseudostachyum* là những chi độc lập.

4. KẾT LUẬN

Đã nhân bản thành công đoạn DNA cho tất cả 19 mẫu thuộc ba loài tre nghiên cứu có kích thước 1000 bp đối với vùng gen *trnL-trnF*, 680 bp đối với vùng *psbA-trnH* và 1500 bp cho gen *matK*. Giữa các mẫu trong cùng 1 loài tre giống nhau 100 % khi so sánh trình tự nucleotide ở cả ba vùng gen *trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*.

Mức độ tương đồng nucleotide giữa tre Bụng phật, tre Vàng sọc và loài *B. vulgaris* trên Genbank (EF137524) là 98,1 % đối với vùng gen *trnL-trnF* và 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH*. Kết quả cho phép khẳng định tre Bụng phật và tre Vàng sọc là cùng loài *B. vulgaris*.

Mức độ tương đồng nucleotide giữa tre Đùi gà và *B. tuldoides* trên Genbank (GU063083) là 99,7 % đối với vùng gen *trnL-trnF*, 100 % đối với vùng gen *psbA-trnH* và gen *matK*. Cho phép nhận định tre Đùi gà chỉ là tên đồng nghĩa của Hóp nhỏ (*B. tuldoides*) và chỉ là giống trồng (cv.)

Lời cảm ơn. Công trình được hoàn thành bởi kinh phí của đề tài “Góp phần xác định các loài thuộc chi tre (*Bambusa* Schreb.) ở Việt Nam bằng phương pháp DNA hỗ trợ phương pháp phân loại hình thái truyền thống” mã số: VAST.ĐL.02/11-12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Balansa B. - Catalogue des Gramine'es de l' Indo-chine Francaise: Bambuse'es, J. Bot. Appl. (Desvaux). **4** (1890) 27-32.
2. Lê Nguyễn - Nhận biết, gây trồng, bảo vệ và khai thác tre trúc, Nhà xuất bản Nông thôn, 1971, tr. 75.
3. Phạm Hoàng Hộ - *Bambusoideae*. Cây cỏ miền Nam Việt Nam, Bộ giáo dục, Trung tâm học liệu Sài Gòn **2** (1972) 844-869.
4. Phạm Hoàng Hộ - *Bambusoideae*. Cây cỏ Việt Nam, Montreal **3** (1993) 742-774.
5. Phạm Hoàng Hộ - *Bambusoideae*. Cây cỏ Việt Nam, Nhà xuất bản Trẻ Tp. Hồ Chí Minh **3** (2000) 600-627.
6. Nguyễn Khắc Khôi, Nguyễn Thị Đỏ - *Bambusoideae*. Danh lục các loài thực vật Việt Nam, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2005, tr. 750-773.
7. Nguyễn Hoàng Nghĩa - Tre trúc Việt Nam, Nxb Nông Nghiệp, 2006.
8. Le Viet Lam - A Taxonomic Revision of the genus *Bambusa* (Poaceae-Bambusoideae) from North Vietnam, A thesis submitted for the Degree of Doctoral at the graduate school of the Chinese Academy of Sciences, 2008.
9. Vũ Văn Dũng - *Bambusa*. Tên cây rừng Việt Nam, Nxb Nông nghiệp, 2007, tr. 270-271.
10. Nguyễn Khắc Khôi - *Bambusoideae*. Danh lục đỏ Việt Nam, phần thực vật, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 2007, tr. 346-347.
11. Dransfield S and Widjaja E.A. – Bamboos, Prosea, 1995, tr. 7.
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore?term=Bambusa>
13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore?term=Bambusoideae>
14. Đinh Thị Phòng, Nguyễn Văn Hùng, Dương Văn Tăng, Trần Thị Việt Thanh, Vũ Thị Thu Hiền - Ứng dụng phương pháp phân tích DNA vào việc định loại mẫu vật quý hiếm tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Proceeding Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ nhất hệ thống Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, 2011, tr. 195-201.
15. Lê Trần Bình, Phan Văn Chi, Nông Văn Hải, Trương Nam Hải, Lê Quang Huân - Áp dụng các kĩ thuật phân tử trong nghiên cứu tài nguyên sinh vật Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2003.
16. Vũ Thị Thu Hiền, Lưu Đàm Cư, Đinh Thị Phòng - Xác định trình tự đoạn gen tRNA –Leu cho hai loài *D. tonkinensis* và *D. conchinchinensis* phục vụ việc phân loại mẫu vật tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Tạp chí Công nghệ sinh học **7** (4) (2009) 471-477.

17. Nguyễn Minh Tâm - Đa dạng di truyền của hai loài tre có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam, Báo cáo tổng kết dự án hợp tác với Nhật (IPGRI), 2006.
18. Doyle J. J. and Doyle J. L. - A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Phytochem Bull* **19** (1987) 11-15.
19. Ohrnberger D. - *The Bamboos of the World*, Elsevier (1999).
20. Stapleton C.M.A. - *Bambusa ventricosa* versus *Bambusa tuldooides*, *Bamboo* **23** (2002) 17-18.
21. Young R. A. - Bamboos in American horticulture (IV), *The National Horticultural Magazine* **25** (1946) 257-283.
22. Lin S. Y., Geun P. W., Woung K. O., Kwan - Ribosomal DNA internal transcribed spacer 1 and internal transcribed 2 regions as targets for molecular identification of medically important *Zanthoxylum schinifolium*, *African Journal of Biotechnology* **9** (30) (2010) 4661-4673.
23. Starr J.R., Robert F.C.N., Briannan C. - Plant DNA barcodes and species resolution in sedges (*Carex*, Cyperaceae), *Molecular Ecology Resources* **9** (2009) 151-163.
24. Yang J. B., Yang H. Q., Li D. Z., Wong K. M., Yang Y. M. - Phylogeny of *Bambusa* and its allies (Poaceae: Bambusoideae) inferred from nuclear *GBSSI* gene and plastid *psbA-trnH*, *rpl32-trnL* and *rps16* intron DNA sequences, *Taxon* **59** (4) (2010) 1102-1110.
25. Stapleton C.M.A. and Xia N.H. - A new combination in *Bambusa* (Gramineae-ambusoideae), *Kew Bull* **52** (1996) 235-238.
26. Yang H. Q., Sheng P., Zhu L. D. - Generic delimitations of *Schizostachyum* and its allies (Gramineae: Bambusoideae) inferred from *GBSSI* and *trnL-F* sequence phylogenies, *Taxon* **56** (1) (2007) 45-54.

ABSTRACT

CLARIFICATION THE SCIENTIFIC NAMES FOR SOME BAMBOO SPECIES (*BAMBUSA* Schreb.) IN VIETNAM CAUSED BY THE MORPHOLOGICAL VARIATION BASED ON *trnL-trnF*, *psbA-trnH* AND *matK* SEQUENCES

Vu Thi Thu Hien*, Tran Thi Viet Thanh, Nguyen Khac Khoi, Dinh Thi Phong

Vietnam National Museum of Nature, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

*Email: coi.hien@gmail.com

In this study, three suitable nucleotide regions (*trnLF/trnFR*, *psbA3'/trnH* and *matK19F/matKR*) were used to decode nucleotide sequences for 19 samples of three species *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure, *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *wamin* McClure and *B. ventricosa* McClure, which needed to clarification the scientific name because the morphological variation in living conditions. Results were successfully amplified for all samples with sequence length of 1000 bp for the *trnL-trnF*, 680 for the *psbA-trnH* and 1500 bp for *matK*. Comparison of nucleotide sequences of three gene regions shown the samples of the same species have similarity 100 %. The level of nucleotide similarity between *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure, *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv.

wamin McClure and *B. vulgaris* species (coded EF137524 in Genbank) was 98.1 % for *trnL-trnF* and 100 % for the *psbA-trnH*. The level of nucleotide similarity between *B. ventricosa* McClure and *B. ventricosa* (coded EF137524 in Genbank) was 99.0 % for *psbA-trnH*. The level of nucleotide similarity between *B. ventricosa* McClure and *B. tuldoidea* (coded GU063083 in Genbank) was 99.7 % for *trnL-trnF*, 100 % for *psbA-trnH* and *matK* gene region. The obtained results confirmed two bamboo species *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure and *B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *wamin* McClure are the same species *B. vulgaris*. *B. ventricosa* McClure was the same *B. tuldoidea* species.

Keywords: cpDNA, bamboo, nucleotide similarity, morphological variation.