

NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC DÒNG SƠN TA (*RHUS SUCCEDANEA* L.) Ở VÙNG MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ SSR VÀ SCOT

Nguyễn Hồng Chiên[✉], Nguyễn Thị Kim Linh, Trịnh Thị Kim Mỹ, Nguyễn Xuân Trường, Nguyễn Văn Chung, Lê Thị Trang, Nguyễn Hữu La

Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc

[✉]Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: donanvvn@yahoo.com

Ngày nhận bài: 14.12.2020

Ngày nhận đăng: 18.4.2021

TÓM TẮT

Cây sơn (*Rhus succedanea* L.) được trồng để lấy nhựa sơn, nguồn nguyên liệu quý rất cần thiết cho nhiều ngành công nghiệp và thủ công nghiệp. Việc khảo sát, đánh giá kiểu hình cũng như kiểu gen là cần thiết nhằm tăng hiệu quả cho quá trình chọn tạo giống mới. Trong nghiên cứu này, mối quan hệ di truyền ở mức độ phân tử của 90 mẫu sơn ta thu thập ở ba xuất xứ Tam Nông, Thanh Sơn (Phú Thọ) và Chiêm Hóa (Tuyên Quang) được phân tích bằng các chỉ thị SSR và ScoT. Kết quả cho thấy có sự đa dạng lớn trong số những cá thể nghiên cứu, hệ số tương đồng di truyền từ 0,41 đến 0,98. Nhóm mẫu thu thập được ở Chiêm Hóa có sự khác biệt đáng kể với nhóm mẫu thu thập được ở Tam Nông. Các cặp mẫu có mức độ tương đồng di truyền cao, ở mức 0,95 đến 0,98, hầu hết là những cặp mẫu có cùng nguồn gốc địa lý. Mức độ tương đồng cao của những cặp mẫu này có khả năng do tập quán tuyển chọn hạt từ những cây sơn có năng suất cao để làm hạt giống của những người trồng sơn. Kết quả thu được trong nghiên cứu này có thể cung cấp những dẫn liệu cần thiết phục vụ cho công tác chọn tạo giống sơn mới.

Từ khóa: chỉ thị phân tử, đa dạng di truyền, *Rhus succedanea* L., Sơn ta, SSR

MỞ ĐẦU

Cây sơn (*Rhus succedanea* L.) thuộc họ Đào lộn hột (*Anacardiaceae*) là loài cây rụng lá, phân bố rộng rãi ở Châu Á. Ở Việt Nam, cây sơn có ở các tỉnh như Quảng Ninh, Bắc Kạn, Bắc Giang, Phú Thọ, Hoà Bình, Hà Tây, Ninh Bình, Nghệ An, Quảng Trị, Đà Nẵng, Kon Tum, Đắk Lắk, và Lâm Đồng. Cây sơn Phú Thọ có tên khoa học là *Rhus succedanea*, Linné. Var. *Dumoutieri*, còn cây sơn miền Nam và Campuchia có tên gọi là *Mélanorea Laccifera* Pierre. Hai giống sơn bản địa này khác hẳn giống sơn *Rhus vernicifera* D.C. của Nhật Bản. Cây sơn là cây nhị bội với số lượng nhiễm sắc thể $2n=30$.

Cây sơn được trồng để lấy nhựa sơn - nguồn nguyên liệu quý rất cần thiết cho nhiều ngành

công nghiệp và thủ công nghiệp như làm đồ mỹ nghệ (sơn, các sản phẩm thủ công, đồ thờ, hàng sơn mài, sơn dầu...) sơn tàu thuyền, sản xuất các vật liệu cách điện.

Do không chắc chắn về nguồn gốc và bản chất di truyền của những cây *Rhus succedanea*, xác định đa dạng di truyền ở cây sơn bằng các chỉ thị phân tử khác nhau đã được thực hiện, như chỉ thị RAPD (Goto *et al.*, 1997), ISSR và AFLP (Hiraoka *et al.*, 2009), SSR (Hiraoka, Watanabe, 2010), SCoT (Jaikaewdang *et al.*, 2014). Gần đây, SNPs (Single nucleotide polymorphisms) đã trở thành chỉ thị di truyền lựa chọn trong phân tích những hệ gen đã được giải trình tự một phần hay được giải trình tự hoàn toàn do tính duy nhất của hệ gen (Kumar *et al.*, 2012). SNP đã được sử dụng rộng rãi để phân tích đa dạng di truyền ở

nhiều loài như lúa (Tang *et al.*, 2016), lúa mì (Ren *et al.*, 2013), cà chua (Wang *et al.*, 2016), cọ (Ong *et al.*, 2015). Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu nào dùng chỉ thị SNP để phân tích đa dạng di truyền ở *R. succedanea* hay thậm chí là ở chi *Rhus*.

Ở Việt Nam, chỉ thị SSR và ScoT cũng được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền ở nhiều loài như lúa (Ngô Thị Hồng Tươi *et al.*, 2014), sắn (Nguyễn Phương Thảo *et al.*, 2015), vải (Nguyễn Thị Ngọc Lan *et al.*, 2017)...., tuy nhiên đến nay chưa có nghiên cứu nào được tiến hành trên cây sơn. Trong nghiên cứu này, các chỉ thị SSR và ScoT được sử dụng với mục đích xác định được mối quan hệ di truyền của các dòng sơn thu thập được ở ba xuất xứ Chiêm Hóa, Thanh Sơn và Tam Nông, làm cơ sở lý thuyết và thực tiễn trong công tác chọn tạo giống sơn ta.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Lá non của 90 mẫu sơn được thu thập, gồm 30 mẫu thu thập ở Chiêm Hóa (Tuyên Quang), 30 mẫu thu thập ở Thanh Sơn và 30 mẫu thu thập ở Tam Nông (Phú Thọ). Các mẫu thu thập được đánh số theo thứ tự: tên vùng (được viết tắt: CH - Chiêm Hóa, TN - Tam Nông, TS - Thanh Sơn), thứ tự vườn sản xuất (các vườn do các hộ gia đình trồng và chăm sóc) và thứ tự cây. Chẳng hạn như mẫu CH3.16 là mẫu số 16 thu ở vườn số 3 tại Chiêm Hóa. 90 mẫu sơn ta sử dụng trong nghiên cứu này là các cây trội được tuyển chọn theo tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8755: 2017, Giống cây lâm nghiệp - Cây trội.

Phương pháp

Xử lý mẫu

Sau khi hái, mẫu lá sơn non (lá thứ 2 và lá thứ 3) được lau sạch bụi bẩn và tạp chất bằng khăn giấy mềm tẩm cồn ethanol 70% trước khi lưu giữ trong nitrogen lỏng. Bảo quản mẫu lá trong điều kiện trên giúp đảm bảo lá sơn còn tươi,

không dập nát, giúp thuận lợi cho công tác tách chiết DNA.

Tách chiết, kiểm tra nồng độ và chất lượng DNA

Lá cây thường chứa nhiều polysaccharide, polyphenol và các chất chuyển hóa thứ cấp khác, là những chất gây khó khăn cho quá trình tách chiết DNA và ảnh hưởng đến nồng độ cũng như độ tinh sạch của DNA tổng số thu được. Để loại bỏ tối đa các chất này, quy trình tách chiết DNA tổng số của Elias và đồng tác giả (2004) có cải tiến đã được áp dụng để tách chiết DNA từ mẫu lá của các dòng sơn.

Các mẫu DNA tổng số được xử lý RNA, sau đó được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% và scan trên máy DigiDoc-It của hãng UVP. Độ tinh sạch, nguyên vẹn của DNA được đánh giá qua hình ảnh điện di, nồng độ tương đối của các mẫu DNA được xác định thông qua phương pháp so sánh cường độ quang giữa các băng điện di mẫu DNA sơn và DNA ladder.

Nhân gen bằng kỹ thuật PCR với 06 cặp mồi SSR và 05 mồi ScoT

Phản ứng PCR (Polymerase chain reaction) được tiến hành trên máy PCR AB Veriti 96-well. Mỗi phản ứng được thực hiện trong thể tích 25 μ L, bao gồm: 1X PCR master mix, 400nM mồi và 50ng DNA khuôn.

- Trường hợp cặp mồi SSR: Hỗn hợp được chuyển vào máy PCR theo chu trình nhiệt gồm: 94°C - 5 phút (Bước 0); 94°C - 45 giây; 57°C - 61°C (thay đổi với từng cặp mồi, Bảng 1) - 1 phút; 72°C - 50 giây; trừ bước 0, lặp lại chu trình nhiệt 40 chu kỳ; 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được giữ ở 16°C.

- Trường hợp mồi ScoT: hỗn hợp được chuyển vào máy PCR theo chu trình nhiệt gồm: 94°C - 5 phút (Bước 0); 94°C - 45 giây; 50°C (giống nhau ở tất cả các mồi ScoT, Bảng 2) - 2 phút; 72°C - 1 phút; trừ bước 0, lặp lại chu trình nhiệt 40 chu kỳ; 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được giữ ở 16°C.

Bảng 1. Danh sách các cặp mồi SSR.

STT	Locus	Trình tự mồi	Motif lặp	Nhiệt độ gắn mồi (°C)
1	bcrs001	F: TATTATGTGGAGGTGATTGGTGTG R: GAAGGCGGTAAGAGAAGAAACATA	(AC) ₁₈	59
2	bcrs004	F: TCTGTTACACGTTGCTATTGTACAGG R: GATGATGATTCAAACATTCAAACAAAA	(TC) ₁₅	57
3	bcrs035	F: GGATAACACTGCAATACTAAGGGG R: ATTGGGTTTTCGATCACTTATCTC	(CT) ₁₅ GTCT(AT) ₂ (AC) ₁₈	58
4	bcrs041	F: ATTCCTTCCCCATAAGGATCATT R: TACCTAGTGAGGGAGGAAAAGAGA	(CT) ₁₄	61
5	bcrs043	F: CTCTTATTCCTTTGAACTGAAAACG R: GTGCAGACTTTTGTATTATATAGTCG	(GA) ₁₃	57
6	bcrs073	F: ATTGGAAGATATTAGTGCGTCTG R: GGTATTTTGGGGGTTTTGTTTTT	(TG) ₁₂	58

Ghi chú: F - mồi xuôi; R - mồi ngược

Bảng 2. Danh sách các mồi SCoT.

Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi (°C)
SCoT46	ACAATGGCTACCACTGAG	50
SCoT47	ACAATGGCTACCACTGCC	50
SCoT48	ACAATGGCTACCACTGGC	50
SCoT52	ACAATGGCTACCACTGCA	50
SCoT55	ACAATGGCTACCACTACC	50

Điện di và ghi nhận kết quả nhân gen SSR-PCR, SCoT-PCR

Sau khi tiến hành phản ứng nhân gen PCR, sản phẩm được điện di trên gel agarose 2% (đối với các chỉ thị SSR) hoặc gel agarose 1,6% (đối với các chỉ thị ScoT) có bổ sung dung dịch nhuộm Redsafe TM (20,000x) ở nồng độ 5% (v/v) ở điều kiện 50V-80V/120 phút. Kết quả nhận dạng di truyền các mẫu sơn bằng chỉ thị SSR và SCoT được ghi nhận từ ảnh điện di theo nguyên tắc: với từng mẫu sơn, tại mỗi vị trí allele, nếu có băng xuất hiện ký hiệu là 1, nếu không có băng DNA ký hiệu là 0. Dữ liệu kiểu gen từ hình ảnh điện di được chuyển thành dữ liệu nhị phân trên phần mềm Excel 2007.

Phân tích phân nhóm di truyền các dòng sơn

Dữ liệu kiểu gen SSR và ScoT của các dòng

sơn được xử lý, phân tích bằng phần mềm NTSYS pc 2.1 (Applied Biosatistics). Dữ liệu kiểu gen từ hình ảnh điện di được sử dụng để xây dựng ma trận tương đồng (Similarity matrix). Dựa trên ma trận hệ số tương đồng di truyền SM, cây phân nhóm di truyền được xây dựng bằng phương pháp UPGMA.

KẾT QUẢ

Trong nghiên cứu này, 11 chỉ thị phân tử bao gồm 06 chỉ thị SSR và 05 chỉ thị ScoT được sử dụng để nhận dạng DNA của các mẫu sơn. Các chỉ thị phân tử này đã được sử dụng trong nghiên cứu về đa dạng di truyền của cây sơn. 06 chỉ thị SSR đã được nhóm tác giả Hiraoka và Watanabe (2010) phát triển và sử dụng trong phân tích mối quan hệ di truyền của các dòng sơn tại Nhật Bản. Chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu này là

những chỉ thị được thiết kế dựa trên trình tự cDNA của cây sơn, vì vậy đây là những mồi SSR đặc hiệu. Cho đến nay, số lượng chỉ thị SSR còn rất hạn chế do những khó khăn liên quan đến việc xác định trình tự lặp trên hệ gen và thiết kế mồi đặc hiệu cho đoạn trình tự đó. Vì vậy, ngoài 06 chỉ thị SSR, 05 chỉ thị ScoT đã được lựa chọn sử dụng trong nghiên cứu này. Các mồi ScoT này cũng đã được dùng để phân tích đa dạng di truyền của các dòng sơn tại Thái Lan (Jaikaewdang *et al.*, 2014).

Kết quả điện di sản phẩm PCR với 06 cặp mồi SSR trên tổng số 90 mẫu sơn cho thấy ba cặp

mồi bcrs004, bcrs043 và bcrs073 là những mồi chỉ cho một phân đoạn DNA có kích thước ~200 bp ở tất cả 90 mẫu. Trái lại, các mồi khác cho kết quả là hai hoặc ba phân đoạn DNA. Mồi bcrs001 cho hai phân đoạn DNA có kích thước ~180 bp đến 200 bp. Tương tự, mồi bcrs004 cho các phân đoạn DNA dài từ ~200 bp đến 300 bp. Trong khi đó, mồi bcrs035 cho ba phân đoạn DNA với kích thước từ 200 bp đến 300 bp.

Như vậy, trong số 06 chỉ thị SSR sử dụng trong nghiên cứu, có 3 chỉ thị cho kết quả là các băng DNA đa hình với tổng cộng 7 allele, trung bình là 2,33 allele/locus (Bảng3).

Bảng 3. Số băng và hệ số PIC của 6 cặp mồi SSR.

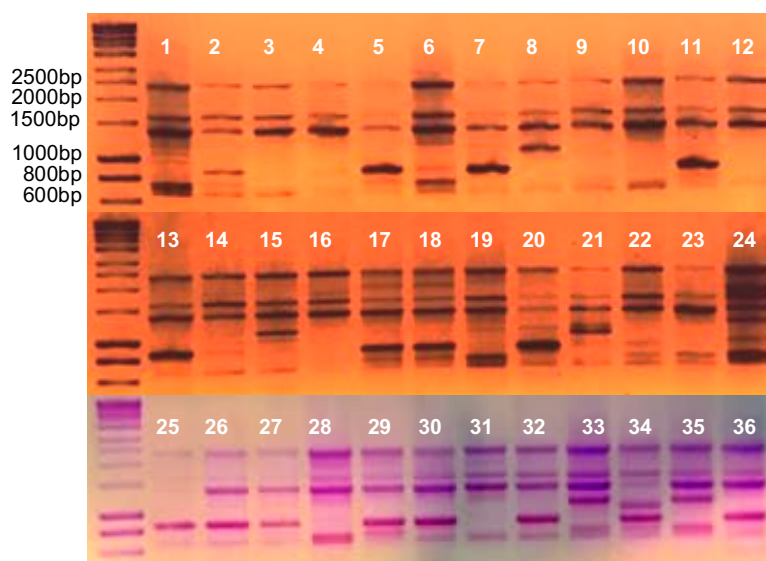
STT	Chỉ thị SSR	Hệ số đa dạng			
		Tổng số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)	Hệ số PIC
1	Bcrs001	2	2	100	0,495
2	Bcrs004	1	0	0	0
3	Bcrs035	3	2	66,67	0,516
4	Bcrs041	2	2	100	0,54
5	Bcrs043	1	1	100	0,044
6	Bcrs073	1	0	0	0
Tổng		10	7	-	-
Trung bình		1,67	-	44,44	0,265

Kết quả ở bảng trên cho thấy hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của 6 chỉ thị SSR dao động từ 0 đến 0,54, trung bình đạt 0,265 (Bảng 3). Các chỉ thị có hệ số PIC lớn hơn hoặc bằng 0,5 sẽ cho sự phân biệt cao về tỷ lệ đa hình của chỉ thị đó (DeWoody *et al.*, 1995). Như vậy, khi sử dụng sáu chỉ thị SSR trên 90 mẫu sơn trong nghiên cứu này, hai chỉ thị bcrs035 và bcrs041 là những chỉ thị cho sự phân biệt tốt về tỉ lệ đa hình.

Khi sử dụng các chỉ thị SSR, số lượng allele nhận được rất hạn chế, vì vậy nghiên cứu này đã kết hợp sử dụng 05 chỉ thị ScoT. Các chỉ thị ScoT này đã được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền của 96 mẫu sơn ở Thái Lan (Jaikaewdang *et al.*, 2014). Khi dùng mồi ScoT, nhóm tác giả thu được các phân đoạn DNA có kích thước từ vài trăm đến vài nghìn nucleotit. Với kích thước

lớn như vậy, việc ghi nhận kết quả khi điện di sản phẩm PCR trên gel agarose trở nên dễ dàng hơn. Do mồi ScoT không phải là mồi đặc hiệu, nên tất cả 5 mồi sử dụng trong nghiên cứu này đều được thực hiện 3 lần vào các ngày khác nhau và chỉ những băng luôn xuất hiện ở những vị trí xác định trong những lần chạy PCR khác nhau mới được ghi nhận.

Kết quả điện di sản phẩm PCR của 90 mẫu sơn cho thấy mồi ScoT48 cho các phân đoạn DNA có kích thước từ 600 bp đến 2500 bp. Phân đoạn DNA có kích thước 600 bp xuất hiện ở 47 mẫu sơn, trong khi đó phân đoạn DNA có kích thước ~2500 bp xuất hiện ở tất cả 90 mẫu. Ngược lại, chỉ có 27 mẫu sơn xuất hiện phân đoạn DNA có kích thước ~700 bp. Như vậy, chỉ thị ScoT48 cho 7 băng, trong đó có 6 băng đa hình, tỉ lệ 85,7%.



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR với môi ScoT48 của 36 mẫu sơn. Ladder 1kb (200 bp - 10037 bp).

Bảng 4. Số băng và hệ số PIC của các môi ScoT.

STT	Chỉ thị ScoT	Hệ số đa dạng			Hệ số PIC
		Số băng	Số băng đa hình	Tỉ lệ băng đa hình (%)	
1	ScoT46	8	8	100	0,83
2	ScoT47	7	7	100	0,583
3	ScoT48	7	6	85,7	0,538
4	ScoT52	7	7	100	0,825
5	ScoT55	2	2	100	0,022
Tổng số		31	30	-	-
Trung bình		6,2	-	97,14	0,556

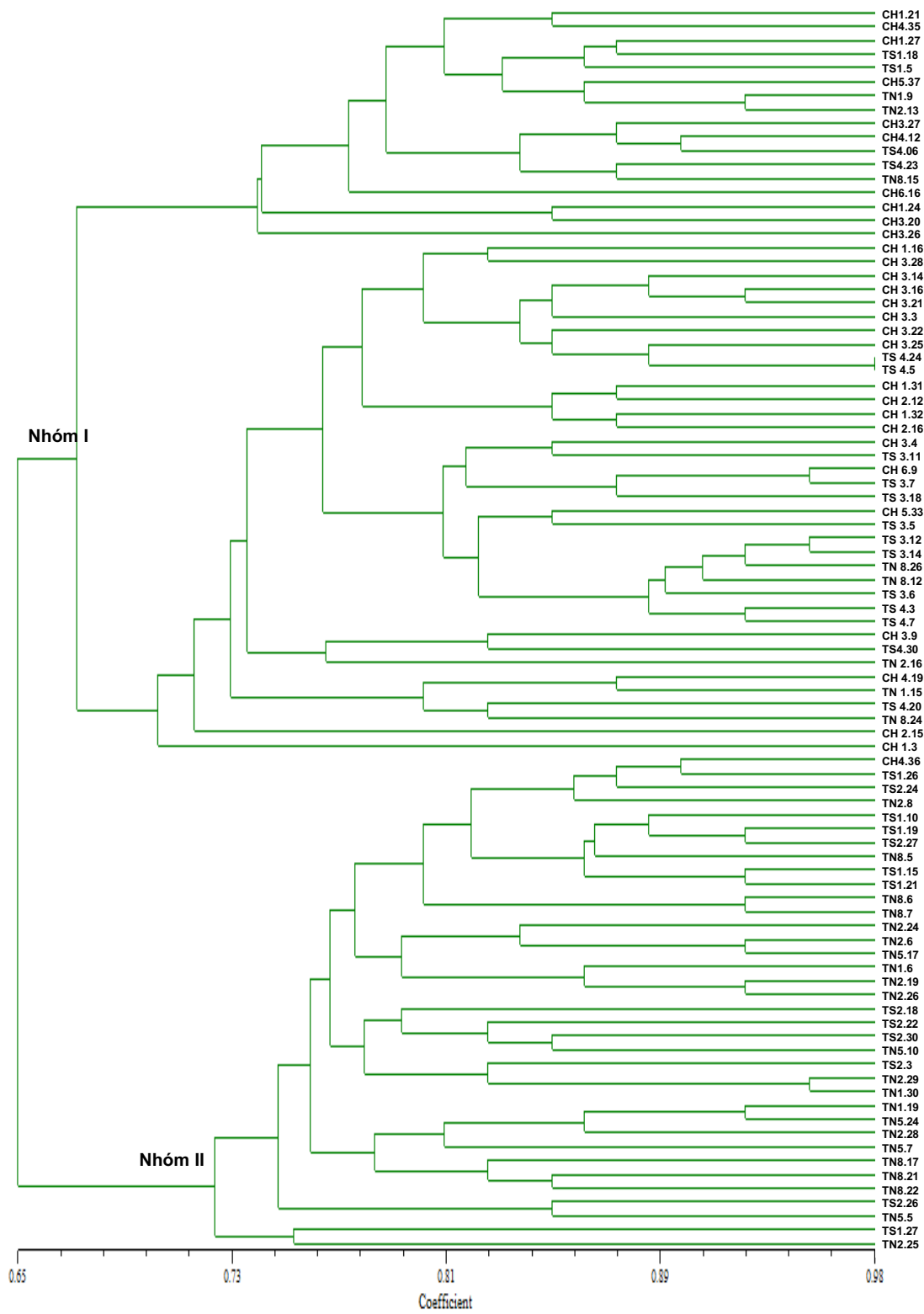
Với môi ScoT47, bảy phân đoạn DNA được xác định trên gel agarose, số băng đa hình là 7, đạt tỉ lệ 100%; hệ số PIC là 0,583 (Bảng 4). Trong số 90 mẫu sơn, 87 mẫu xuất hiện phân đoạn DNA kích thước ~1200 bp, trong khi đó chỉ có 6 mẫu có xuất hiện phân đoạn DNA kích thước ~2000 bp và 22 mẫu xuất hiện phân đoạn DNA kích thước ~500 bp.

Trái với môi ScoT47, môi ScoT55 chỉ cho 2 băng DNA và cả 2 phân đoạn DNA này xuất hiện ở 89 mẫu sơn.

Với môi ScoT52, tổng số băng được xác định trên gel agarose là 7 băng và tất cả các băng đều là băng đa hình, tỉ lệ 100%. Các băng có kích thước từ khoảng 600 bp đến 2500 bp. Chỉ có 23

mẫu sơn xuất hiện phân đoạn DNA kích thước ~1100 bp, 29 mẫu xuất hiện băng DNA có kích thước khoảng 1500 bp, trong khi đó có 57 mẫu xuất hiện phân đoạn DNA kích thước ~2500 bp.

Với môi ScoT46, tám phân đoạn DNA có kích thước từ ~570 bp đến 2300 bp được xác nhận trên gel agarose. Số băng đa hình là 8, đạt tỉ lệ 100%. Hệ số PIC là 0,83. Trong số tám phân đoạn DNA này, phân đoạn DNA có kích thước ~1500 bp xuất hiện ở nhiều mẫu sơn nhất (59 mẫu), trái lại, băng DNA có kích thước ~570 bp chỉ xuất hiện ở 4 mẫu sơn. Phân đoạn DNA có kích thước lớn, ~2000 bp xuất hiện ở 52 mẫu sơn, trong khi đó phân đoạn DNA có kích thước ~2300 bp chỉ xuất hiện ở 29 mẫu sơn.



Hình 2. Sơ đồ dạng cây về quan hệ di truyền của 90 mẫu Sơn ta.

Hệ số PIC của 5 chỉ thị ScoT dao động từ 0,022 đến 0,83, trung bình là 0,556 (Bảng 4). Kết quả này cho thấy các chỉ thị ScoT46, 47, 48 và 52 là những chỉ thị cho sự phân biệt tốt về tỉ lệ đa hình. Như vậy, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy các chỉ thị ScoT là những chỉ thị cho sự phân biệt tốt về tỉ lệ đa hình và rất hữu ích khi sử dụng để đánh giá mức độ đa dạng di truyền của các mẫu sơn.

Với 06 mỗi SSR và 05 mỗi ScoT, chúng tôi thu nhận được đặc trưng nhận dạng của 90 mẫu sơn được khảo sát với tổng số 41 băng. Sử dụng công cụ Excel với phương pháp được trình bày trong phần phương pháp nghiên cứu, chúng tôi thu được hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu sơn. Kết quả ở hình 1 cho thấy 90 mẫu sơn thu thập ở ba xuất xứ Chiêm Hóa, Tam Nông và Thanh Sơn được chia thành hai nhóm lớn, nhóm I và nhóm II; hệ số tương đồng di truyền của các mẫu dao động từ 0,41 đến 0,98. Nhóm I gồm 54 mẫu, trong đó có 29 mẫu thu thập ở Chiêm Hóa, 17 mẫu thu thập ở Thanh Sơn và chỉ có 8 mẫu thu thập ở Tam Nông. Như vậy, có tới 29/30 mẫu sơn thu thập ở Chiêm Hóa và hơn một nửa mẫu sơn thu thập ở Thanh Sơn thuộc nhóm I. Cũng trong nhóm I, cặp mẫu TS4.24 và TS4.5 có mức độ tương đồng di truyền cao nhất, đạt 0,98. Ngoài ra, một số cặp mẫu khác cũng có mức độ tương đồng di truyền cao, như cặp mẫu TS3.12 và TS3.14, hay cặp mẫu CH3.16 và CH3.21 có mức độ tương đồng di truyền lần lượt là 0,95 và 0,93. Nhóm 2 có 36 mẫu, trong đó có 22 mẫu sơn thu thập ở Tam Nông, 13 mẫu thu thập ở Thanh Sơn và 1 mẫu thu thập ở Chiêm Hóa. Từ kết quả này có thể thấy hầu hết mẫu sơn thu thập được ở Tam Nông nằm trong nhóm II. Trong nhóm này, cặp mẫu TN1.30 và TN2.29 có hệ số tương đồng di truyền cao nhất (0,95), 06 cặp mẫu có hệ số tương đồng di truyền ở mức 0,93, ví dụ như TN2.19 và TN2.26; TN8.6 và TN8.7... Trong số 90 mẫu thu thập được, cặp mẫu TN8.26 và TN2.24 có hệ số tương đồng di truyền thấp nhất, chỉ đạt 0,41. Tiếp đó là 05 cặp mẫu có mức độ tương đồng di truyền ở mức 0,44, đó là TN2.24 và CH5.33, TN2.24 và TS3.14, TN2.24 và TS4.7, TN8.6 và CH5.33, TN8.7 và TS3.11.

THẢO LUẬN

Ở nước ta cây sơn mọc hoang từ Hòa Bình, Quảng Ninh vào đến tận Lâm Đồng, cây cũng được trồng nhiều ở Phú Thọ, trên các đồi ở Hà Giang, Tuyên Quang để lấy gỗ và lấy sơn (Võ Văn Chi, 2004). Hiện nay, cây sơn đã và đang được phát triển trên diện rộng tại tỉnh Phú Thọ (2.000 ha), Tuyên Quang (600 ha) và nhiều vùng khác. Theo Đỗ Ngọc Quý (2008) ở Phú Thọ có 3 vùng sơn ở tả ngạn và hữu ngạn sông Hồng: (1) Vùng Tiên Kiên, Chu Hóa, Lâm Thao, Đào Xá, Vinh Quang, Cổ Tuyết, Thanh Thủy, Vạn Xuân, Mê Linh ở huyện Tam Nông; (2) Vùng Phú Hộ, Phú Lộc, Phù Ninh, Chí Tiên, Võ Lao, Thanh Ba và (3) vùng Thanh Sơn, Đồn Vàng.

Khi sử dụng chỉ thị SSR trong phân tích đa dạng di truyền các dòng sơn ta, số lượng allele nhận được trong nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với nghiên cứu tương tự trước đây được thực hiện bởi Hiraoka và Watanabe (2010). Với 06 cặp mỗi SSR, Hiraoka và Watanabe đã nhận được 70 allele, trung bình 11,67 allele/locus, khi phân tích đa dạng di truyền trên cây sơn (*Rhus succedanea* L.). Sự khác biệt rất lớn về số lượng allele thu được trong nghiên cứu này với nghiên cứu trước đó có thể do sự khác nhau về phương pháp nhận dạng các băng DNA. Hiraoka và Watanabe (2010) đã xác định kích thước các phân đoạn DNA bằng phương pháp điện di mao quản nên việc ghi nhận kết quả PCR rất chính xác. Với phương pháp này, các phân đoạn DNA có kích thước khác nhau dù chỉ 2 nucleotit cũng sẽ được xác định. Tuy nhiên, phương pháp này chưa được sử dụng rộng rãi ở nước ta mà hiện nay các nghiên cứu chủ yếu sử dụng phương pháp điện di trên gel agarose để nhận dạng các phân đoạn DNA.

Với 05 mỗi ScoT, khi phân tích 96 mẫu sơn Jaikaewdang và đồng tác giả (2014) nhận được 36 băng DNA, nhiều hơn 5 băng so với tổng số băng thu được trong nghiên cứu này. Số lượng băng DNA khác nhau chủ yếu do khác nhau về số phân đoạn DNA thu được từ mỗi ScoT55 giữa hai nghiên cứu. Chỉ có 2 phân đoạn DNA

thu được từ mỗi ScoT55 trong nghiên cứu này, trong khi Jaikaewdang và đồng tác giả (2014) nhận được 6 phân đoạn DNA. Khác biệt về số lượng băng DNA khi sử dụng cùng một môi có thể do sự khác nhau về nguồn gốc mẫu. Ngoài ra, hệ số PIC trung bình trong nghiên cứu này là 0,556 cao hơn hệ số PIC trung bình mà nhóm tác giả Jaikaewdang và đồng tác giả (2014) nhận được (0,345). Điều này có thể do các cá thể trong tập hợp mẫu được dùng để phân tích đa dạng di truyền trong hai nghiên cứu hoàn toàn khác nhau. Số lượng mẫu sơn trong hai nghiên cứu là tương đương, vì vậy hệ số PIC 0,556 thể hiện mức độ đa dạng di truyền cao của các mẫu sơn trong nghiên cứu này.

Từ sơ đồ dạng cây có thể thấy rằng, hầu hết các mẫu thu thập ở Chiêm Hóa thuộc vào nhóm I, trong khi các mẫu thu từ Thanh Sơn (Phú Thọ) và các mẫu thu từ Tam Nông (Phú Thọ) đều có ở nhóm I và nhóm II. Các mẫu sử dụng trong nghiên cứu này đều là các cây trội tuổi 4-6 đã được điều tra, theo dõi về sinh trưởng, hình thái, năng suất, chất lượng nhựa sơn trong thời gian 03 năm. Vì vậy, các mẫu thu từ Thanh Sơn và Tam Nông đều có trong hai nhóm có thể do tập quán thu mua và tuyển chọn hạt từ những cây trội để sản xuất cây giống của người dân ở hai vùng Thanh Sơn và Tam Nông. Người trồng sơn ở Thanh Sơn có thể đã đem hạt của một số cây trội từ vùng Tam Nông về trồng và ngược lại. Do vậy, những mẫu ở Thanh Sơn cùng nhóm với một số mẫu ở Tam Nông (hoặc ngược lại) có thể là những cá thể có quan hệ họ hàng gần.

Kết quả trong nghiên cứu này cũng cho thấy, hầu hết các cặp mẫu có mức độ tương đồng di truyền cao, ở mức 0,95 đến 0,98, đều là những cặp mẫu có cùng nguồn gốc địa lý (ví dụ như mẫu TS4.24 và TS4.5 là những mẫu thu ở Thanh Sơn), được thu thập trong cùng một diện tích trồng sơn (tại vườn số 4). Mức độ tương đồng cao của những cặp mẫu này có khả năng do các cá thể này có cùng bố/mẹ hay là anh chị em với nhau. Ngoài ra, cặp mẫu TS3.7 và CH6.9 là hai mẫu có nguồn gốc ở Thanh Sơn (Phú Thọ) và Chiêm Hóa (Tuyên Quang) cũng có hệ số tương đồng cao (0,95). Khi kiểm tra mức độ tương đồng di truyền

với chỉ thị SSR, kết quả cho thấy hai mẫu này giống nhau ở tất cả các allele. Thêm vào đó, phân tích sơ đồ dạng cây cho thấy hầu hết các mẫu thu thập ở Thanh Sơn và Chiêm Hóa đều thuộc vào nhóm I. Kết quả này có thể do việc nhân giống sơn ở Tuyên Quang chủ yếu là từ hạt được thu mua tại các vườn sản xuất sơn ta ở Phú Thọ, nơi có truyền thống trồng cây sơn lấy nhựa lâu đời từ những năm đầu của thế kỉ XX. Vì vậy, hai mẫu TS3.7 và CH6.9 có thể là những cá thể có cùng bố mẹ.

KẾT LUẬN

Kết quả phân tích đa dạng di truyền các mẫu sơn thu thập được ở ba xuất xứ khác nhau cho thấy các mẫu thu thập có sự đa dạng khá cao (0,41 - 0,98). Kết quả cũng cho thấy nhóm mẫu thu thập được ở Chiêm Hóa có sự khác biệt đáng kể với đa số mẫu thu thập được ở Tam Nông. Kết quả thu được trong nghiên cứu này có thể cung cấp những dẫn liệu cần thiết phục vụ cho công tác chọn tạo giống sơn mới.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành nhờ kinh phí của Đề tài "Nghiên cứu khai thác và phát triển nguồn gen Sơn ta (*Rhus succedanea* L.) tại một số tỉnh trung du và miền núi phía Bắc, Việt Nam", mã số NVQG-2017/19.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- DeWoody JA, Honeycutt RL, Skow LC (1995) Microsatellite markers in white-tailed deer. *J Hered* 86(4): 317-319.
- Đỗ Ngọc Quý (2008) *Cây Sơn - Kỹ thuật trồng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Elias M, Muhlen GS, McKey D, Roa AC, Tohme J (2004) Genetic diversity of traditional South American landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): an analysis using microsatellites. *Economic Botany* 58: 242-256.
- Goto S, Watanabe A, Ikeda K (1997) Use of RAPD markers for cultivar identification in *Rhus succedanea* L. *Jpn For Soc* 79: 229-233.
- Hiraoka Y, Kuramoto N, Okamura M, Ohira M, Taniguchi T and Fujisawa Y (2009) Clone

Tạp chí Công nghệ Sinh học **19**(3): 471-480, 2021

identification and genetic relationship among candidates for superior trees in *Rhus succedanea* L. using ISSR, AFLP and RAPD markers. *J Jpn For Soc* 91: 246–252.

Hiraoka Y and Watanabe A (2010) Development and Characterization of Microsatellites, Clone Identification, and Determination of Genetic Relationships among *Rhus succedanea* L. Individuals. *J Japan Soc Hort Sci* 79(2): 141–149.

Jaikaewdang K, Eiadthong W, Peyachoknagul S (2014) Genetic Variation Analysis of Wax Tree (*Rhus succedanea* L.) in Thailand by Start Codon Targeted (SCoT) Markers. *Thai J For* 33(2) : 19-27.

Kumar S, Banks TW, Cloutier S (2012) SNP discovery through next-generation sequencing and its applications. *Int J Plant Genomics* 831460: 1-15.

Ngô Thị Hồng Tươi, Phạm Văn Cường, Nguyễn Văn Hoan. Phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống lúa cẩm bằng chỉ thị SSR (2014). *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 12(4): 485-494.

Nguyễn Phương Thảo, Nguyễn Chi Mai, Phan Minh Tuấn, Trần Mỹ Linh, Lê Quỳnh Liên, Lê Quang Trung, Nguyễn Tường Vân (2015) Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn các giống sắn (*Manihot esculenta* Crantz) dựa vào đa hình trình tự gen GBSS1. *Tạp chí Sinh học* 37(2): 213-219.

Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Lan Hoa, Nguyễn Thị Thanh Thủy (2017) Nghiên cứu nhận dạng phân tử một số nguồn gen vải địa phương bằng chỉ thị ScoT. *Tạp chí Khoa học công nghệ nông nghiệp Việt Nam* 4(77): 14-17.

Ong PW, Maizura I, Abdullah NAP, Rafii MY, Ooi LCL, Low ETL and Singh R (2015) Development of SNP markers and their application for genetic diversity analysis in the oil palm (*Elaeisguineensis*). *Genet Mol Res* 14(4): 12205-12216.

Ren J, Sun D, Chen L, You FM, Wang J, Peng Y, Nevo E, Sun D, Luo M-C and Peng J(2013) Genetic Diversity Revealed by Single Nucleotide Polymorphism Markers in a Worldwide Germplasm Collection of Durum Wheat. *IntJ Mol Sci* 14(4): 7061-7088.

Tang W, Wu T, Ye J, Sun J, Jiang Y, Yu J, Tang J, Chen G (2016) SNP-based analysis of genetic diversity reveals important alleles associated with seed size in rice. *BMC Plant Biology* 16:93.

Võ Văn Chi (2004) *Từ điển thực vật thông dụng*, tập 2: Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật.

Wang T, Zou QD, Qi SY, Wang XF, Wu YY, Liu N, Zhang YM, Zhang ZJ and Li HT (2016) Analysis of genetic diversity and population structure in a tomato (*Solanum lycopersicum* L.) germplasm collection based on single nucleotide polymorphism markers. *Genet Mol Res* 15(3): 15038209.

STUDY ON THE GENETIC DIVERSITY OF WAX TREES (*RHUS SUCCEDANEA* L.) IN NORTHERN MOUNTAINOUS REGION OF VIETNAM BY SSR AND SCOT MARKERS

Nguyen Hong Chien, Nguyen Thi Kim Linh, Trinh Thi Kim My, Nguyen Xuan Truong, Nguyen Van Chung, Le Thi Trang, Nguyen Huu La

Northern Mountainous Agriculture and Forestry Science Institute

SUMMARY

Wax tree has been cultivated to get lacquer, a valuable source of material that is necessary for many industries and handicrafts. Evaluating not only phenotype but also genotype is essential in order to increase the efficiency of new breeding program. In this study, the genetic relationship at the molecular level of 90 wax trees collected in three regions, i.e., Tam Nong, Thanh Son (Phu Tho) and Chiem Hoa (Tuyen Quang), was analyzed by SSR and ScoT markers. The results revealed a significant diversity among the individuals, with similarity coefficient from 0.41 to 0.98. The sample group collected in Chiem Hoa was significantly different from that in Tam Nong. Most of samples which had a high level of genetic similarity, from 0.95 to 0.98, were pairs of samples at the same geographical origin. The high similarity degree of these samples is likely due to the practice of selecting seeds from

high-yield wax tree to be kept for seeds. These results provide the necessary information for new wax tree breeding program.

Keywords: molecular markers, genetic diversity, *Rhus succedanea* L., SSR, wax tree