

**Định danh lại loài Nưa (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) ở Trà Cú (Trà Vinh)
dựa vào trình tự DNA của gen *matK* và *rbcL***

Phạm Thị Mận*, Phạm Văn Bốn, Ninh Văn Tuấn, Vũ Đình Hưởng

Trung tâm Ứng dụng Khoa học Kỹ thuật Lâm nghiệp Nam Bộ

**Re-identification of Arrowroot (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze)
in Tra Cu (Tra Vinh) based on the DNA sequences of *matK* DNA *rbcL* genes**

Pham Thi Man*, Pham Van Bon, Ninh Van Tuan, Vu Dinh Huong

Southern Center of Application for Forest Technology and Science

*Corresponding author: ptm.cnsh40@gmail.com

<https://doi.org/10.55250/jo.vmf.12.5.2023.061-069>

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm định danh lại loài Nưa (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) ở Trà Cú (Trà Vinh), đồng thời xác định sự sai khác ở cấp độ phân tử giữa các mẫu tại hai địa điểm khác nhau là Trà Vinh và An Giang. Hai trình tự DNA của gen (*matK* và *rbcL*) được sử dụng để phân tích di truyền 5 mẫu lá được lấy từ 5 cây khác nhau (3 mẫu ở Trà Vinh và 2 mẫu ở An Giang). Kết quả, trình tự của cả 2 vùng gen của cả 5 mẫu đều được khuếch đại thành công 100%, với biểu hiện bằng khoảng 930 bp ở gen *matK* và 1.400 bp ở gen *rbcL*. Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu dựa trên trình tự DNA (nucleotide, polypeptide) của cả 2 vùng gen trên đều cho thấy có sự tương đồng cao giữa các mẫu nghiên cứu, cả 5 mẫu nghiên cứu đều thuộc cùng một nhóm với giá trị bootstrap 89% dựa vào trình tự của *matK* và 100% dựa vào trình tự *rbcL*. Trình tự DNA của cả 2 vùng gen *matK* và *rbcL* đều chỉ ra 5 mẫu nghiên cứu thuộc cùng nhóm loài Nưa (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) đã được công bố trên thế giới với giá trị bootstrap 100% cho cả 2 vùng gen. Kết quả nghiên cứu thu được đã khẳng định rằng, cây Nưa đang được trồng ở Trà Cú (Trà Vinh) có tên khoa học là (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze); và có sai khác không đáng kể so chúng ở An Giang cũng như trên thế giới cấp độ phân tử.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 23/06/2023

Ngày phản biện: 26/07/2023

Ngày quyết định đăng: 17/08/2023

Từ khóa:

matK, Nưa, phát sinh loài, *rbcL*, trình tự DNA.

ABSTRACT

In order to re-identify the species of Arrowroot (*Tacca leontopetaloides*) in Tra Cu (Tra Vinh), DNA at the same time determines the difference at the molecular level compared to them elsewhere. Two DNA barcodes (*matK* DNA *rbcL*) were used for genetic analysis of 5 leaf samples taken from 5 different individuals (3 samples in Tra Vinh DNA 2 samples in An Giang). As a result, the sequences of both genomic regions of all 5 samples were successfully amplified 100%, with bDNA expression of about 930 bp in the *matK* gene DNA 1,400 bp in the *rbcL* gene. The results of the analysis of genetic relationships between the samples based on DNA sequences (nucleotides, polypeptides) of both gene regions showed that there was a high similarity between the samples, all 5 studied samples belonged to the same group with a bootstrap value of 89% based on *matK* sequence DNA 100% based on *rbcL* sequence. The DNA sequences of both *matK* DNA *rbcL* gene regions indicated that five studied samples showed the highest similarity with *Tacca leontopetaloides* species with 100% bootstrap values for both gene regions. The findings confirmed that the species that is being grown in Tra Cu (Tra Vinh) is *Tacca leontopetaloides*; DNA there is no significant difference compared to them in An Giang as well as in other countries at the molecular level.

Keywords:

Arrowroot, DNA barcode, *matK*, phylogeny, *rbcL*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nưa là tên gọi chung cho nhiều loài khác cây khác nhau thuộc chi Nưa (*Amorphophollus*), họ Ráy (*Araceae*). Các tài liệu đã được công bố, hiện nay nước ta có khoảng 25 loài Nưa thuộc chi này [1]. Ở Trà Cú (Trà Vinh), hiện có một loài cây được trồng tương đối phổ biến để cung cấp tinh bột làm thực phẩm cũng được gọi là Nưa đem lại giá trị kinh tế cho người dân địa phương. Theo đánh giá dựa trên đặc điểm hình thái, loài này có tên khoa học là (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze), thuộc họ Râu hùm (*Taccaceae*). Tuy nhiên, một số cơ sở sản xuất ở địa phương đang nhầm lẫn loài cây này với các loài thuộc chi Nưa (*Amorphophallus*), thậm chí dùng hình ảnh của cây Nưa thuộc chi này để quảng bá cho sản phẩm của mình. Lý giải cho sự nhầm lẫn này là do, cây Nưa ở Trà Cú có nhiều đặc điểm hình thái rất giống với một số loài Nưa thuộc chi *Amorphophallus*.

Việc phân loại thực vật theo hình thái là phương pháp thông dụng, ít tốn kém. Tuy nhiên, phương pháp này rất khó áp dụng trong việc phân biệt các loài có hình thái giống nhau, dễ gây nhầm lẫn. Những hạn chế này có thể được giải quyết bởi kỹ thuật sinh học phân tử. Sự khuếch đại và giải trình tự các đoạn gen mong muốn giúp cung cấp một lượng thông tin di truyền rất lớn của các loài. Các trình tự gen được sử dụng vào nhiều lĩnh vực khác nhau, trong đó có định danh loài là xây dựng cây phân loại. Các nghiên cứu về giải trình tự gen, thông tin di truyền đã cho thấy, nhiều trình tự có tính ổn định rất cao giữa các cá thể trong loài nhưng lại có sự khác biệt giữa các cá thể khác loài, chúng có liên quan đến nguồn gốc phát sinh giữa các loài [2, 3]. Dựa vào sự khác biệt của trình tự gen có thể khẳng định chính xác một cá thể bất kỳ nào đó thuộc loài nào nếu như trình tự của loài đó đã

được công bố, đồng thời có thể kiểm tra lại tính chính xác của nhiều loài đã được định danh theo hình thái trước đây [4-6]. Để đảm bảo độ tin cậy, trong định danh loài hay nghiên cứu về quan hệ di truyền người ta thường sử dụng nhiều hơn một trình tự đặc trưng của loài [7]. Bùi Văn Thắng và cộng sự sử dụng 2 đoạn trình tự mã vạch DNA đặc trưng là *matK*, *trnL* để tiến hành phân lập, xác định và phân tích trình tự DNA làm cơ sở cho việc giám định loài Nưa (*Amorphophollus*) ở tỉnh Thanh Hóa [8]. Huỳnh Hữu Đức và cộng sự [9] đã sử dụng 9 vùng gen DNA (*rbcL*, *matK*, *rpoB1*, *rpoB2*, *rpoC1*, *rpoC2*, *ITS1*, *ITS2*, *ITS*) để phân tích di truyền và nhận diện một số loài Lan kim tuyến, kết quả cho thấy vùng gen *ITS1*, *ITS2* cho thấy rõ sự khác biệt giữa các loài. Hà Văn Huân và cộng sự [10] đã sử dụng trình tự của vùng gen *ITS*, *rbcL*, *trnH-psbA* và *ITS2* để giám định loài Hoàng đàn (*Cupressus tonkinensis*), kết quả đã chỉ ra sử dụng trình tự gen *ITS* để giám định loài này ở Việt Nam. Huỳnh Thị Thu Huệ [11] sử dụng 2 chỉ thị vạch DNA là *rbcL* và *trnL* để đánh giá khả năng phân loại của chúng với một số mẫu Bách bộ (*Stemonaceae*) ở khu vực phía Bắc, kết quả chỉ ra vùng gen *trnL* cho thấy khả năng phân biệt tốt hơn so với vùng gen *rbcL*. Nguyễn Hùng Mạnh và cộng sự [12] đã xác định đặc điểm vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của phân loài Vân sam phan xi păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rurhforth) ở Việt Nam, qua đó tác giả đã xác định được quan hệ di truyền của phân loài này với cây Vân sam ở Trung Quốc. Mã vạch DNA của vùng gen *matK* để định danh loài Cáp gai nhỏ (*Capparis* sp.) và tác giả đã xác định được loài nghiên cứu thuộc loài *Capparis micracantha* [13]. Nguyễn Văn Việt và cộng sự [14] đã thử nghiệm ba vùng DNA (*matK*, *rbcL* và *trnH-psbA*) cho nhận

dạng loài Gõ đỏ (*Azelia xylocarpa*), tác giả đã chỉ ra khả năng phân biệt mức độ loài dựa vào mã vạch 3 vùng gen lần lượt theo thứ tự từ cao đến thấp là *matK*, *rbcL* và *psbA-trnH*. Tác giả khuyến cáo nên sử dụng tổ hợp mã vạch của 2 vùng gen *matK* và *rbcL* để định danh loài cây này. Như vậy, có thể sử dụng nhiều chỉ thị DNA khác nhau để định danh loài, tùy thuộc mỗi loài để lựa chọn chỉ thị nào cho hiệu quả. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng trình tự DNA của 2 gen *matK* và *rbcL* để định danh lại loài nghiên cứu, đồng thời đánh giá sự sai khác ở cấp độ phân tử của chúng ở hai địa điểm nghiên cứu.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất

Đối tượng nghiên cứu: Mẫu lá non (khoảng 1 tuần tuổi) của 3 cây Nưa (ký hiệu là TV1, TV2 và TV3) được lấy từ xã An Quảng Hữu (9°43'N; 106°10'E), huyện Trà Cú, tỉnh Trà Vinh và 2 cây Nưa (ký hiệu là AG1 và AG2) được lấy từ xã Thới Sơn (10°61'N; 105°03'E), huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang.

Trình tự các cặp mồi *rbcL* (Taca-F-*rbcL*: TCCTTTTAGTAAAAGATTGGGCCGAG; Taca-R-*rbcL*: ATGTCACCACAAACAGAAAC) với nhiệt độ gắn mồi 54°C; mồi *matK* (Taca-F-*matK*: CGATCTATTCATTCAATATTTTC; Taca-R-*matK*: TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT) với nhiệt độ gắn mồi 52°C. Các trình tự nucleotide được xác định tại Công ty TNHH Công nghệ Sinh học BiolDNA Nam Khoa. Địa chỉ: Lô I5-2a Đường N7, Khu Công Nghệ Cao, Quận 9, Thành phố Hồ Chí Minh.

Hóa chất: Kit tách chiết DNA tổng số (Plant DNA Isolation Kit) của hãng Norgen, Canada; hóa chất cho phản ứng PCR nhân bản các đoạn mã vạch DNA: Master mix của hãng iNtRon Biotechnology, Hàn Quốc; Tinh sạch sản phẩm

PCR bằng ExoSAP-IT của hãng Thermo fisher Scientific, Mỹ. Hóa chất điện di trên gel Agarose: Agarose, DNA marker...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết DNA tổng số từ các mẫu lá của cây Nưa theo hướng dẫn sử dụng Kit (Plant ADN Isolation Kit) nhân bản các đoạn gen *matK*, *rbcL* từ các mẫu DNA tổng số bằng kỹ thuật PCR, mỗi phản ứng PCR được thực hiện trong tổng thể tích 25 µl, bao gồm: 2x Master mix 12,5 µl, 10 pmol/ µl mồi xuôi (1,0 µl), 10 pmol/ µl mồi ngược (1,0 µl), mẫu DNA 1,5 µl (tương ứng 50 ng), dH₂O 10 µl. Chương trình phản ứng PCR: 95°C trong vòng 60 giây; (95°C : 15 giây, 52 – 54°C: 15 giây, 72°C : 30 giây) lặp lại 40 chu kỳ; 72°C trong vòng 60 giây. Sản phẩm được điện di trên gel agarose 1%. Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng ExoSAP-IT Clean up kit và được sử dụng làm khuôn giải trình tự. Trình tự DNA được so sánh với các trình tự có trên cơ sở dữ liệu GenBank. Phần mềm MEGA6 được sử dụng để thực hiện so sánh các trình tự này, vùng DNA được xếp đống cột bằng chương trình CLUSTAL W. Mô hình tamura và Nei được sử dụng để xác định khoảng cách di truyền. Phương pháp Neighbor-Joining được sử dụng để xây dựng cây phát sinh loài với bootstrap 1000 dùng để đánh giá độ tin cậy các nhánh của cây phát sinh loài.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

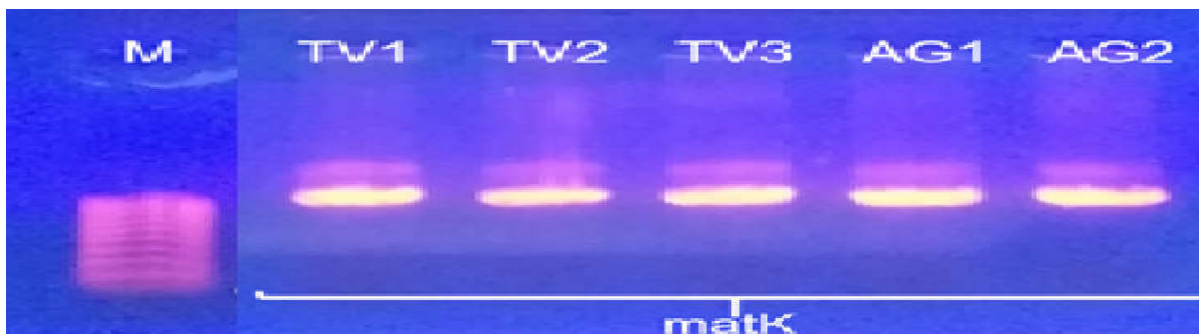
3.1. Gene *MatK*

Sản phẩm khuếch đại trình tự mục tiêu của gen *matK*

Trình tự vùng gen *matK* lục lạp được khuếch đại bằng cặp mồi xuôi ngược, mồi xuôi là Taca-F-*matK* và mồi ngược là Taca-R-*matK*. Kết quả PCR cho thấy, các mẫu này đều biểu hiện băng khoảng 930 bp đặc hiệu cho gene *matK* (Hình 1). Điều này chứng tỏ, cặp mồi

Tacca-F-matK và Tacca-R-matK và chu trình nhiệt thực hiện phản ứng PCR phù hợp với việc

khuếch đại gen matK từ các mẫu thực vật này.



Hình 1. Sản phẩm PCR khuếch đại gene matK các mẫu thực vật

(Mẫu TV1, TV2, TV3: mẫu Trà Vinh; AG1, AG2: mẫu An Giang; M – thang chuẩn 100 bp)

Đánh giá biến đổi di truyền và quan hệ phát sinh loài dựa trên trình tự gen matK

Sản phẩm PCR của gene matK khoảng 930 bp, sau khi giải trình tự nucleotide, vùng nhiễu hai đầu được loại bỏ, đoạn trình tự còn lại được sử dụng để phân tích có kích thước 885 bp. Kết quả xếp dòng cột trình tự matK các mẫu thực vật cho thấy, có 8 vị trí biến đổi nucleotide, chiếm khoảng 0,9% trình tự matK được phân tích (Hình 2). Biến đổi trong trình tự này thuộc

dạng thay thế nucleotide, các dạng biến đổi chèn và mất nucleotide không được tìm thấy trong trình tự phân tích. Tất cả các mẫu thực vật phân tích đều sự biến đổi nucleotide so với nhóm các mẫu Tacca leontopetaloides (MK153196, MK153193, MK153194, MK153212, AY973839) trên thế giới ở các vị trí là 162, 635, 663, 706, 852, 853, 882, 883. Cả 3 mẫu được thu ở Trà Vinh (TV1 – 3) đều có sự tương đồng 100% so với 2 mẫu được thu ở An Giang.

	11	1111112222	2222233333	3333333333	4444555555	5555555666	6666666777	7777777888	888888
MK153196.1 Tacca leontopetaloides	12458803	5666791344	5999901133	3456778994	7789023444	5566689122	3346678000	1113678223	556888
MK153193.1 Tacca leontopetaloides	1425120656	2025104909	2147922748	9775785037	4995689089	4834885812	4553964689	0672687197	233123
MK153194.1 Tacca leontopetaloides	TTAAAACTAT	TTGATGCGTA	CACTGTGCAA	ATCACCTTGG	GCCCAAAAAA	CCCTACGTC	ATATCCGTAG	CCTAGGACCA	ATGGGA
MK153212.1 Tacca leontopetaloides									
AY973839.1 Tacca leontopetaloides									
MK153197.1 Tacca maculata									
MK153192.1 Tacca palmata									
MK153200.1 Tacca palmata									
MK153204.1 Tacca palmata									
MK153201.1 Tacca plantaginea									
AY973842.1 Tacca plantaginea									
MK153205.1 Tacca reducta									
MK153224.1 Tacca sumatrana									
MK153232.1 Tacca sp_1									
MK153226.1 Tacca sp.									
MK153225.1 Tacca bibracteata									
MK153202.1 Tacca borneensis									
MK153218.1 Tacca borneensis									
MK153219.1 Tacca borneensis									
MK153199.1 Tacca chantrieri									
MK153234.1 Tacca chantrieri									
MK153213.1 Tacca chantrieri									
MK153222.1 Tacca cristata									
MK153223.1 Tacca cristata									
AY973838.1 Tacca integrifolia									
MK153203.1 Tacca havilandii									
MK153210.1 Tacca havilandii									
MK153233.1 Tacca integrifolia									
MK153195.1 Tacca integrifolia									
MK153198.1 Tacca integrifolia									
AG1-MF_D01_04_StdSeq50_POP7_Z									
AG2-MR_E01_05_StdSeq50_POP7_Z									
TV1-MF_F01_06_StdSeq50_POP7_Z									
TV2-MF_G01_07_StdSeq50_POP7_Z									
TV3-MF_H01_08_StdSeq50_POP7_Z									

Hình 2. Sự biến đổi vị trí các nucleotide trong trình tự gene matK của các mẫu cây nghiên cứu (AG1, AG2, TV1, TV2, TV3)

(Dấu "." biểu thị cho các vị trí nucleotide giống nhau)

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, khoảng cách di truyền lớn nhất giữa nhóm thực vật phân tích với các nhóm thực vật thuộc chi Râu hùm (*Tacca*) trên thế giới dựa trên trình tự gen *matK*

là $0,0422 \pm 0,0086$ (*T. plantaginea*), khoảng cách nhỏ nhất với $0,0023 \pm 0,0015$ (*T. maculata* là) và *Tacca leontopetaloides* là $0,0082 \pm 0,0026$.

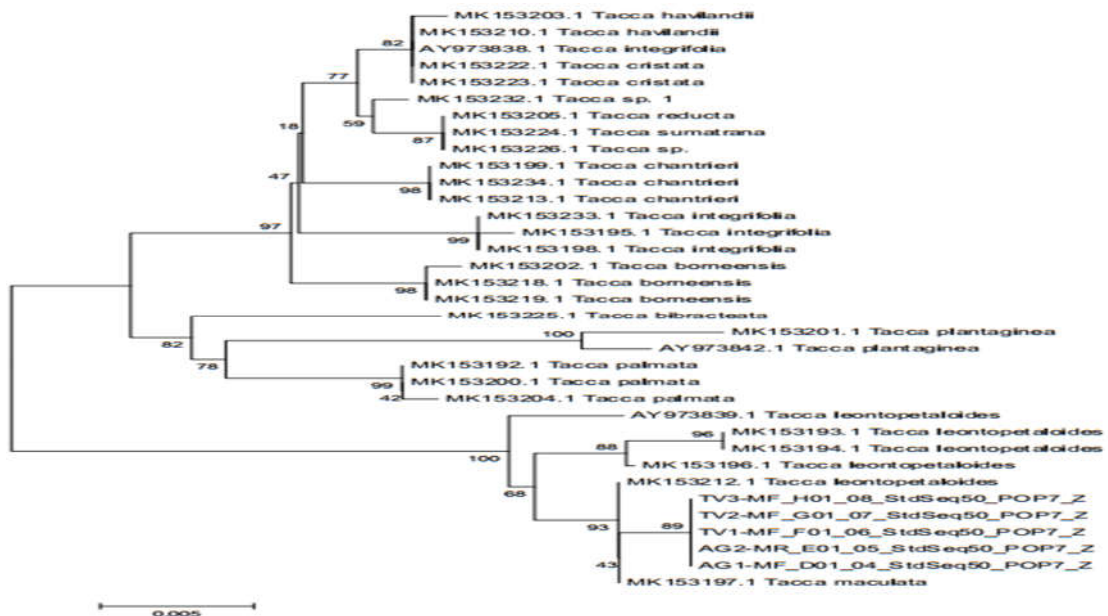
Bảng 1. Khoảng cách di truyền giữa các nhóm cây dựa trên trình tự *matK*

	TL	TM	Tpa	TP	TB	TCh	TCr	TH	TI	VN
<i>Tacca Leontopetaloides</i> (TL)		0,0020	0,0068	0,0084	0,0070	0,0072	0,0070	0,0071	0,0074	0,0026
<i>Tacca maculata</i> (TM)	<i>0,0059</i>		0,0068	0,0083	0,0071	0,0073	0,0071	0,0072	0,0075	0,0015
<i>Tacca Palmata</i> (Tpa)	<i>0,0330</i>	<i>0,0306</i>		0,0051	0,0047	0,0045	0,0046	0,0047	0,0051	0,0070
<i>Tacca Plantaginea</i> (TP)	<i>0,0422</i>	<i>0,0398</i>	<i>0,0212</i>		0,0061	0,0057	0,0061	0,0061	0,0065	0,0086
<i>Tacca borneensis</i> (TB)	<i>0,0351</i>	<i>0,0342</i>	<i>0,0204</i>	<i>0,0286</i>		0,0031	0,0030	0,0031	0,0034	0,0074
<i>Tacca chantrieri</i> (TCh)	<i>0,0352</i>	<i>0,0338</i>	<i>0,0176</i>	<i>0,0266</i>	<i>0,0095</i>		0,0030	0,0031	0,0035	0,0075
<i>Tacca cristata</i> (TCr)	<i>0,0340</i>	<i>0,0326</i>	<i>0,0188</i>	<i>0,0278</i>	<i>0,0084</i>	<i>0,0080</i>		0,0005	0,0035	0,0073
<i>Tacca havilDNAii</i> (TH)	<i>0,0346</i>	<i>0,0332</i>	<i>0,0194</i>	<i>0,0284</i>	<i>0,0089</i>	<i>0,0086</i>	<i>0,0006</i>		0,0036	0,0074
<i>Tacca integrifolia</i> (TI)	<i>0,0368</i>	<i>0,0354</i>	<i>0,0215</i>	<i>0,0306</i>	<i>0,0110</i>	<i>0,0107</i>	<i>0,0095</i>	<i>0,0101</i>		0,0077
VN	<i>0,0082</i>	<i>0,0023</i>	<i>0,0330</i>	<i>0,0422</i>	<i>0,0366</i>	<i>0,0362</i>	<i>0,0350</i>	<i>0,0356</i>	<i>0,0378</i>	

Ghi chú: Ma trận tam giác dưới (số in nghiêng) biểu thị khoảng cách di truyền, ma trận tam giác trên (số in đậm) biểu thị sai số.

Kết quả phân tích trình tự *matK* của các mẫu thực vật với các nhóm loài *Tacca* trên thế giới cho ra cây phát sinh loài bên dưới (Hình 3). Phân tích cây phát sinh loài cho thấy, toàn bộ 5

mẫu thực vật đều thuộc cùng 1 nhóm với nhau với giá trị bootstrap đạt 89%. Chúng cùng nằm trong nhóm loài *Tacca leontopetaloides* trên thế giới với giá trị bootstrap đạt 100%.



Hình 3. Cây phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gene *matK* của các mẫu thực vật (Giá trị bootstrap lặp lại 1.000)

Kết quả phân tích trình tự polypeptide dịch mã từ gene *matK* các mẫu thực vật cho thấy có sự thay thế trình tự của 3 amino acid ở cả 5 mẫu thực vật so với các mẫu *T. leontopeloides* trên

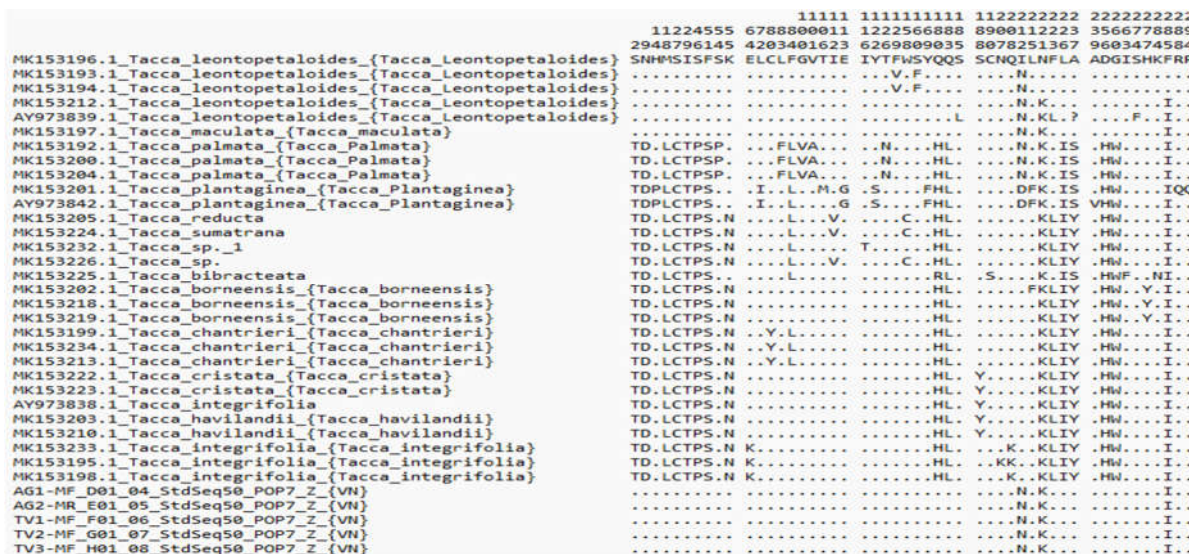
thế giới ở các vị trí: 212, 221 và 285. Các đoạn polypeptide phân tích không có đột biến thêm hay mất amino acid (Hình 4).

Ở một nghiên cứu khác trên đối tượng

Amorphophalluss spp, tại tỉnh Thanh Hóa, tác giả Bùi Văn Thắng [8] sử dụng trình tự gen *matK* để định danh được 2 loài Nưa tại địa phương. Một nhóm thuộc loài Nưa giống với trình tự nucleotide của gen *matK* loài Nưa chuông (*Amorphophalluss paeoniifolius*) với mã số trên Genbank là AF387410 tới 100%. Một nhóm khác là tương đồng với Nưa krausei

(*Amorphophalluss krausei*) mã số AF387453 tới 99%.

Như vậy, việc sử dụng trình tự gen *matK* đem lại hiệu quả cao trong việc định danh loài. Kết quả phân tích trình tự DNA và trình tự polypeptide dịch mã từ gen *matK* trong nghiên cứu cho thấy cả 5 mẫu Nưa được nghiên cứu đều là loài *Tacca leontopeloides* (L.) Kuntze.



Hình 4. Vị trí biến đổi amino acid trong trình tự polypeptide dịch mã từ gene *matK*

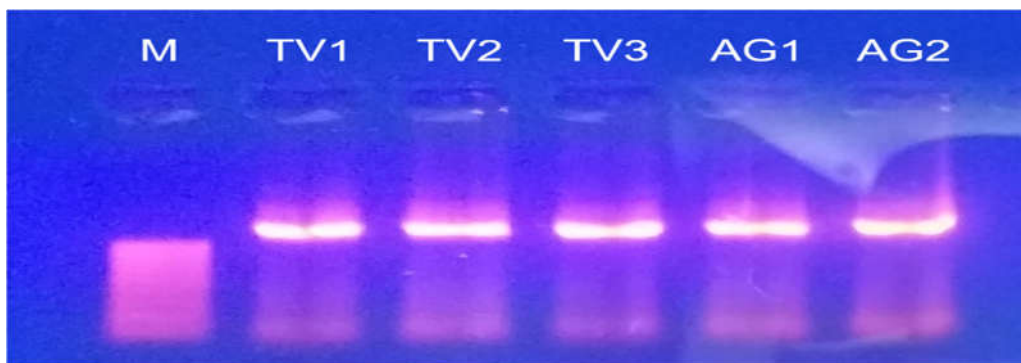
(Dấu “.” Biểu thị cho amino acid giống nhau)

3.2. Gene *rbcL*

Sản phẩm khuếch đại trình tự mục tiêu gen *rbcL*

Trình tự vùng gen *rbcL* lục lạp được khuếch đại bằng cặp mồi xuôi – ngược, mồi xuôi là *Tacca-F-rbcL* và mồi ngược là *Tacca-R-rbcL*. Kết quả PCR

cho thấy, các mẫu thực vật đều cho băng kích thích khoảng 1.400 bp đặc hiệu cho gene *rbcL* (Hình 5). Điều này chứng tỏ, cặp mồi *Tacca-F-rbcL* và *Tacca-R-rbcL* với chu trình nhiệt cho phản ứng PCR như trên phù hợp cho việc khuếch đại gene *rbcL* từ các mẫu thực vật này.



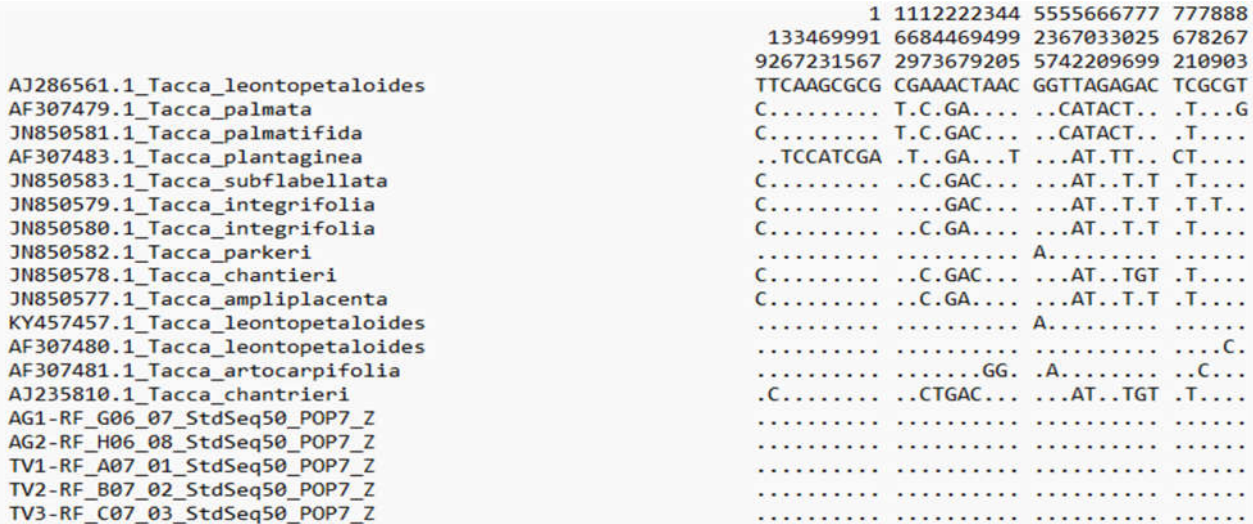
Hình 5. Sản phẩm PCR gene *rbcL* các mẫu thực vật

(Mẫu TV1, TV2, TV3: mẫu Trà Vinh; AG1, AG2: mẫu An Giang. M – thang chuẩn 100 bp)

Đánh giá biến đổi di truyền và quan hệ phát sinh loài dựa trên trình tự gen *rbcL*

Sản phẩm PCR của gen *rbcL* là 1.200 bp, sau khi loại bỏ vùng nhiễu hai đầu, đoạn trình tự còn lại được dùng để phân tích có kích thước 879

bp. Kết quả xếp đúng cột trình tự *rbcL* cả 5 mẫu thực vật cho thấy, không có vị trí biến đổi nucleotide nào xuất hiện trong cả đoạn nucleotide được phân tích (Hình 6).



Hình 6. Sự biến đổi vị trí các nucleotide trong trình tự gene *rbcL* của các mẫu thực vật được phân tích (Dấu “.” biểu thị cho các nucleotide giống nhau)

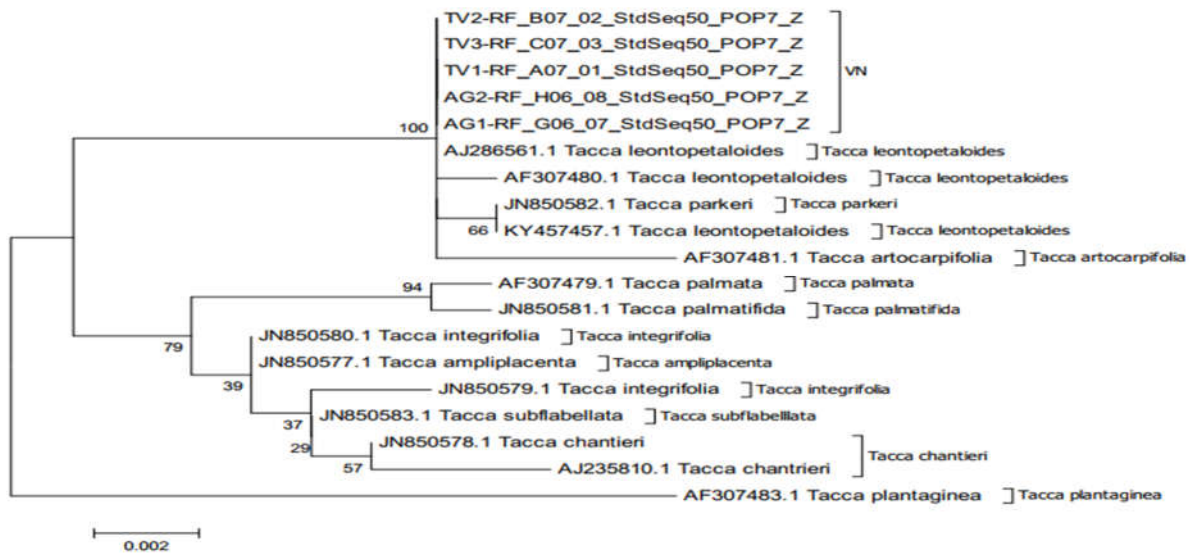
Khoảng cách di truyền giữa nhóm các mẫu thực vật phân tích (VN) với nhóm *Tacca leontopetaloides* nhỏ nhất với giá trị 0,0005 ± 0,0005, lớn nhất là 0,0132 ± 0,0054 với nhóm *Tacca plantaginea* (Bảng 2).

Bảng 2. Khoảng cách di truyền giữa các nhóm thực vật dựa trên trình tự *rbcL*

	TL	TP	Tpa	TPI	TS	TI	TPk	TC	TA	Tar	VN
<i>Tacca leontopetaloides</i> (TL)		0,0044	0,0046	0,0054	0,0039	0,0037	0,0008	0,0041	0,0037	0,0023	0,0005
<i>Tacca palmata</i> (TP)	0,0100		0,0015	0,0054	0,0030	0,0030	0,0045	0,0036	0,0027	0,0052	0,0044
<i>Tacca palmatifida</i> (TPa)	0,0100	0,0014		0,0055	0,0025	0,0028	0,0047	0,0030	0,0028	0,0053	0,0045
<i>Tacca plantaginea</i> (TPI)	0,0137	0,0132	0,0132		0,0050	0,0048	0,0055	0,0052	0,0048	0,0061	0,0054
<i>Tacca subflabellata</i> (TS)	0,0078	0,0051	0,0036	0,0117		0,0010	0,0040	0,0015	0,0011	0,0046	0,0038
<i>Tacca integrifolia</i> (TI)	0,0074	0,0054	0,0047	0,0113	0,0011		0,0038	0,0018	0,0010	0,0044	0,0036
<i>Tacca parkeri</i> (TPk)	0,0007	0,0102	0,0102	0,0139	0,0080	0,0076		0,0042	0,0038	0,0025	0,0011
<i>Tacca chantieri</i> (TC)	0,0089	0,0069	0,0054	0,0128	0,0018	0,0029	0,0091		0,0019	0,0048	0,0040
<i>Tacca ampliplacenta</i> (TA)	0,0070	0,0043	0,0043	0,0110	0,0007	0,0011	0,0073	0,0025		0,0044	0,0036
<i>Tacca artocarpifolia</i> (Ta)	0,0034	0,0124	0,0124	0,0162	0,0102	0,0098	0,0036	0,0113	0,0095		0,0022
VN	0,0005	0,0095	0,0095	0,0132	0,0073	0,0069	0,0007	0,0084	0,0065	0,0029	

Ghi chú: Ma trận tam giác dưới (số in nghiêng) biểu thị khoảng cách di truyền, ma trận tam giác trên (số in đậm) biểu thị sai số.

Kết quả xây dựng cây phát sinh loài dựa trên trình tự *rbcL* của các mẫu thực vật phân tích so với các nhóm *Tacca* trên thế giới được thu thập dữ liệu từ Genbank cho thấy, cả 5 mẫu thực vật phân tích thuộc cùng một nhóm và nằm trong nhóm *Tacca leontopetaloides* với giá trị bootstrap 100% (Hình 7). Nhóm tương đồng cao nhất với loài có mã số trên Genbank là AJ286561.

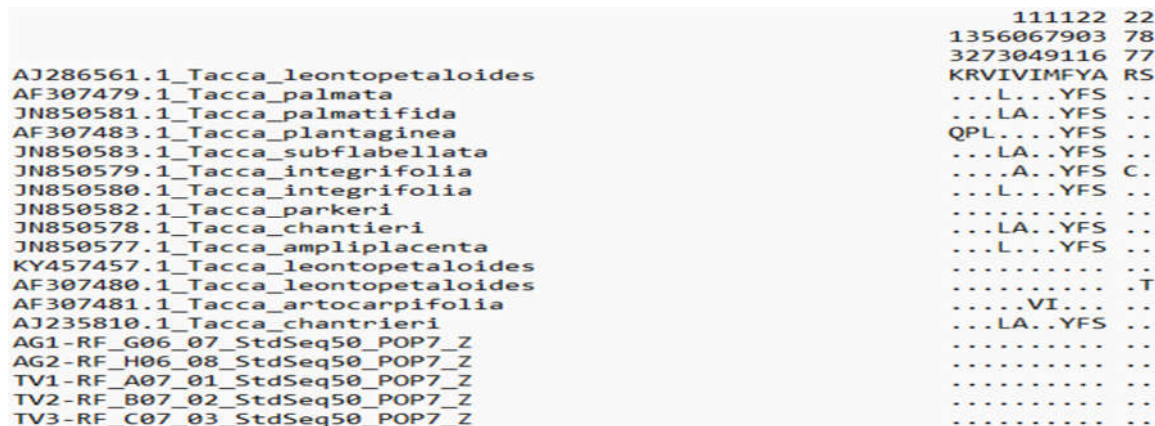


Hình 7. Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên trình tự gene *rbcL* của các mẫu

(Giá trị bootstrap được lặp lại 1.000)

Kết quả phân tích trình tự chuỗi polypeptide dịch mã từ gene *rbcL* đã chỉ ra, không có vị trí amino acid nào bị thay đổi. Cả 5 mẫu thực vật phân tích đều có trình tự amino acid giống nhau

và giống hoàn toàn với trình tự amino acid dịch mã từ trình tự gene *rbcL* của nhóm cây *T. leontopetaloides* trên thế giới (Hình 8).



Hình 8. Vị trí biến đổi amino acid trong trình tự polypeptide dịch mã từ gene *rbcL*

Như vậy, kết quả phân tích trình tự DNA và polypeptide dịch mã từ gen *rbcL* là tương tự với gen *matK*. Cả 5 mẫu nghiên cứu ở 2 địa phương (An Giang và Trà Vinh) đều có sự tương đồng và đều là loài *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze.

4. KẾT LUẬN

Kết quả phân tích trình tự 2 gene *matK* và *rbcL* của 5 mẫu cho thấy các mẫu Nứa đang được trồng phổ biến ở xã An Quảng Hữu, huyện Trà Cú, tỉnh Trà Vinh và xã Thới Sơn, huyện Tịnh

Biên, tỉnh An Giang là cùng 1 loài. Chúng có tên khoa học là *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, thuộc chi *Tacca*, họ Rêu hùm (*Taccaceae*). Có sự sai khác không đáng kể ở cấp độ phân tử giữa các mẫu trong nghiên cứu cũng như cùng loài ở một số khu vực khác trên thế giới.

Lời cảm ơn

Tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Trà Vinh đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

Kết quả được công bố trong bài báo thuộc phạm vi của đề tài “Nghiên cứu kỹ thuật nhân giống, trồng cây Nưa tại huyện Trà Cú, tỉnh Trà Vinh”. Mã số đề tài: CT.NN.06-2021.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Trần Văn Tiến (2017). Nghiên cứu thành phần, phân bố các loài Nưa (*Amorphophallus* spp.) củ có glucomannan và chọn loài có triển vọng phát triển trồng ở một số tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam. Luận án tiến sĩ. Học viện Khoa học và Công nghệ.

[2]. Yang Z. & Rannala B. (2010). Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. . Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (107): 9264-9269.

[3]. Rannala B. & Yang Z. (2003). Bayes estimation of species divergence times DNA ancestral population sizes using DNA sequences from multiple loci Genetics. (164): 1645-1656.

[4]. Sutou M., Kato T. & Ito M. (2011). Recent discoveries of armyworms in Japan DNA their species identification using DNA barcoding Mol. Ecol. Resour. (11): 992-1001.

[5]. CDNAek K. & Kuntner M. (2015). DNA barcoding gap: reliable species identification over morphological DNA geographical scales. Mol. Ecol. Resour. (15): 268-277.

[6]. Hassold S., Porter P. L., Martin R. B., Annick R., Lolona R. & Alex W. (2016). DNA barcoding of Malagasy rosewoods: towards a molecular identification of CITES-listed *Dalbergia* species. PLOS ONE. 11(6): e0157881.

[7]. Hồ Văn Hiếu, Nguyễn Thị Hà, Lê Thành Đô, Đoàn Đức Hùng, Nguyễn Thị Mai, Tạ Phương Mai, Phạm Anh Tuấn, Phạm Thị Khoa & Ngô Giang Liên (2020). Sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong định danh loài bộ xít hút máu ở miền Trung Việt Nam. Tạp chí Khoa học & Công nghệ Việt Nam. 62(9): 5-10.

[8]. Bùi Văn Thắng, Nguyễn Thị Hải Hà, Vũ Quang Nam, Nguyễn Thế Đại, Phan Văn Quỳnh & Nguyễn Ngọc

Ánh (2017). Giám định một số loài Nưa tại Thanh Hóa bằng các dẫn liệu hình thái và phân tử. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. (3): 9-17.

[9]. Huỳnh Hữu Đức, Nguyễn Trường Giang, Dương Hoa Xô, Hà Thị Loan, Phan Đình Yên, Trần Trọng Tuấn & Đỗ Đăng Giáp (2019). Nghiên cứu sử dụng một số DNA barcode trong phân tích di truyền và nhận diện một số loài lan kim tuyến (*Anoectochilus* spp.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên san: Công nghệ Sinh học (1): 14-23.

[10]. Hà Văn Huân, Hoàng Minh Trang & Bùi Thị Mai Hương (2020). Nghiên cứu xác định đoạn DNA barcode cho loài Hoàng đàn (*Cupressus tonkinensis*) phục vụ giám định loài. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. (1): 3 – 10.

[11]. Huỳnh Thị Thu Huệ, Đào Quang Hà, Lê Hồng Điệp & Nguyễn Đăng Tôn (2021). Đánh giá khả năng phân loại của hai chỉ thị *rbcL* và *trnL* với một số mẫu Bách bộ (*Stemonaceae*) thu tại phía Bắc Việt Nam. Tạp chí Khoa học & Công nghệ Việt Nam. 63(8): 25-29.

[12]. Nguyễn Hùng Mạnh, Nguyễn Thị Hồng Mai, Nguyễn Thị Phương Trang & Nguyễn Văn Sinh (2021). Xác định đặc điểm vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của phân loài Vân sam Phan Xi Păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rurhforth) ở Việt Nam. Tạp chí Khoa học & Công nghệ Việt Nam. 63(3): 28-32.

[13]. Nguyễn Thị Thu Nga & Sỹ Danh Thường (2020). Định danh loài Cáp gai nhỏ (*Capparis* sp.) ở Khu bảo tồn thiên nhiên Tà Kóu huyện Hàm Thuận Nam, tỉnh Bình Thuận bằng mã vạch DNA. Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc. 143-148.

[14]. Nguyễn Văn Việt, Sounthone douangmala, Phạm Quang Chung & Trần Việt Hà (2016). Thử nghiệm ba vùng DNA lục lạp tiềm năng (*matK*, *rbcL* và *trnH-psbA*) cho nhận dạng loài Gõ đỏ (*Azelia xylocarpa* (Kurz) Craib). Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn. 11: 94-98.