

IDENTIFICATION AND GENEETIC DIVERSITY ASSESSMENT OF VANG TAM SPECIES (*Manglietia fordiana*) FROM THAI NGUYEN USING MOLECULAR MARKERS

Nguyen Thi Thoa^{1*}, Nguyen Thanh Hang², Le Van Phuc¹, Lo Trung Kien³

¹TNU - University of Agriculture and Forestry, ²Center of Crop Research for Adaptation to Climate Change

³Dien Bien Provincial Forest Protection Department

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 15/5/2025	Molecular markers are considered modern and effective tools in molecular biology research, particularly in species identification and assessing genetic diversity. These tools allow for accurate and reliable detection of genetic variation among individuals, thereby providing insights into the genetic structure of populations. This study applied molecular markers to identify and analyze the genetic diversity of <i>Manglietia fordiana</i> in Thai Nguyen province. The results revealed significant genetic variation among individuals, indicating a rich gene pool within the population. Genetic diversity plays a crucial role not only in maintaining adaptability and resilience to environmental changes but also in preserving the genetic integrity of the species against external threats. The data obtained serve as a foundation for conservation, management, and sustainable development programs for <i>Manglietia fordiana</i> . This contributes to both the improved breeding strategies and the natural populations. The findings are particularly important given the species' current risk of decline due to overexploitation and habitat loss.
Revised: 25/8/2025	
Published: 25/8/2025	
KEYWORDS	
Molecular markers	
Species identification	
Geneetic diversity	
<i>Manglietia fordiana</i>	
Genetic variation	

ĐỊNH DANH VÀ ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI VÀNG TÂM (*Manglietia fordiana*) TẠI THÁI NGUYÊN BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Nguyễn Thị Thoa^{1*}, Nguyễn Thanh Hằng², Lê Văn Phúc¹, Lò Trung Kiên³

¹Trường Đại học Nông lâm – ĐH Thái Nguyên, ²Trung tâm Nghiên cứu cây trồng thích ứng với Biến đổi khí hậu

³Chi cục Kiểm lâm tỉnh Điện Biên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 15/5/2025	Chỉ thị phân tử được xem là công cụ hiện đại và hiệu quả trong nghiên cứu sinh học phân tử, đặc biệt trong định danh loài và đánh giá đa dạng di truyền. Các chỉ thị này cho phép phát hiện chính xác và tin cậy các biến dị di truyền giữa các cá thể, qua đó giúp làm rõ cấu trúc di truyền của quần thể. Nghiên cứu này đã ứng dụng chỉ thị phân tử để định danh và phân tích sự đa dạng di truyền của loài Vàng tâm (<i>Manglietia fordiana</i>) tại tỉnh Thái Nguyên. Kết quả cho thấy sự biến dị di truyền rõ rệt giữa các cá thể, phản ánh sự phong phú của nguồn gene trong quần thể. Đa dạng di truyền có vai trò quan trọng trong việc duy trì khả năng thích nghi và phục hồi của loài trước điều kiện môi trường thay đổi, đồng thời góp phần bảo vệ tính toàn vẹn di truyền trước các tác động tiêu cực từ bên ngoài. Dữ liệu thu được từ nghiên cứu là cơ sở quan trọng cho các chương trình bảo tồn, quản lý và phát triển bền vững loài Vàng tâm, qua đó nâng cao hiệu quả trong công tác chọn giống và bảo vệ quần thể tự nhiên. Điều này càng có ý nghĩa trong bối cảnh loài Vàng tâm đang đứng trước nguy cơ suy giảm do khai thác quá mức và mất môi trường sống.
Ngày hoàn thiện: 25/8/2025	
Ngày đăng: 25/8/2025	
TỪ KHÓA	
Chỉ thị phân tử	
Định danh loài	
Đa dạng di truyền	
Vàng tâm	
Biến dị di truyền	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12809>

* Corresponding author. Email: nguyenthithoa@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu

Thái Nguyên, một tỉnh trung du thuộc vùng Đông Bắc Bộ, nổi bật với hệ sinh thái phong phú và đa dạng sinh học, trong đó có nhiều loài động thực vật quý hiếm và đặc hữu. Tuy nhiên, do nhiều nguyên nhân khác nhau, số lượng loài và cá thể trong tự nhiên đang suy giảm nghiêm trọng. Một trong số đó là loài Vàng tâm (*Manglietia fordiana*). Đây là loài cây gỗ lớn thuộc họ Mộc lan (Magnoliaceae), thường phân bố tại các khu rừng thường xanh hỗn giao, chủ yếu trên các đồi đất hoặc vùng ẩm thấp trong thung lũng. Cây có thể cao tới 20 m, thân thẳng, gỗ màu vàng, thơm, thớ mịn và có khả năng chống mối mọt tốt, nên được xếp vào nhóm gỗ quý, thường được sử dụng để chế tác đồ nội thất và mỹ nghệ. Ngoài ra, vỏ, quả và rễ cây còn được người dân vùng cao sử dụng làm thuốc [1]. Với giá trị kinh tế và thương mại cao, Vàng tâm đã chịu áp lực khai thác ngày càng lớn trong những năm gần đây. Hệ quả là số lượng cá thể trong tự nhiên giảm sút rõ rệt, quần thể bị thu hẹp và phân bố trở nên rời rạc. Trước nguy cơ tuyệt chủng, loài này đã được xếp vào nhóm Sẽ nguy cấp (VU A1c,d) trong Sách đỏ Việt Nam năm 2007 [2].

Trong bối cảnh đó, chỉ thị phân tử trở thành công cụ hữu hiệu, hỗ trợ đắc lực cho việc định danh chính xác tên khoa học của loài cũng như đánh giá đa dạng di truyền trong và giữa các loài [3]. Khái niệm mã vạch DNA lần đầu được đề xuất bởi Paul Hebert, nhà nghiên cứu tại Đại học Guelph (Canada) vào năm 2003 [4], nhằm hỗ trợ nhận diện sinh vật thông qua một đoạn DNA ngắn (khoảng 400–800 bp) đóng vai trò như một chuỗi mã nhận dạng độc nhất – tương tự như mã vạch sản phẩm trong siêu thị. Công trình của Hebert được xem là nghiên cứu đầu tiên ứng dụng phân loại phân tử ở động vật, sử dụng đoạn gene ty thể *cytochrome oxidase subunit 1* (*CO1*). Tuy nhiên, tốc độ tiến hóa của gene ty thể ở thực vật chậm hơn động vật, khiến nó không đủ độ biến dị để phân biệt các loài. Do đó, các vùng gene thuộc hệ gene lục lạp và gene nhân đã được ưu tiên sử dụng trong phân tích phát sinh loài thực vật. Tính đến năm 2009, khoảng tám locus gene đã được sử dụng làm mã vạch DNA cho thực vật, gồm cả gene lục lạp và gene nhân [5], [6]. Trong đó, các vùng ITS, *matK*, *trnH-psbA* và *rbcL* được xác định là mã vạch tiêu chuẩn nhờ tính ổn định và khả năng phân biệt cao [7], [8].

Bên cạnh đó, phương pháp RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) cũng cho thấy hiệu quả cao trong việc đánh giá đa dạng di truyền, với ưu điểm không cần thông tin về trình tự DNA trước đó. RAPD được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu phân loại, bảo tồn và cải tiến giống cây trồng, vật nuôi [9].

Tại Thái Nguyên, cho đến nay chưa có nghiên cứu nào kết hợp giữa mã vạch DNA và RAPD để phân tích đa dạng di truyền của cây Vàng tâm, loài gỗ quý đang trên đà suy giảm. Sự thiếu hụt dữ liệu di truyền đã hạn chế hiệu quả các nỗ lực bảo tồn và phát triển nguồn gene tại địa phương. Việc kết hợp hai phương pháp này có thể mang lại góc nhìn toàn diện hơn: mã vạch DNA hỗ trợ định danh chính xác loài, trong khi RAPD đánh giá mức độ biến dị giữa các cá thể. Đây là hướng nghiên cứu tiềm năng nhằm bảo tồn và phát triển bền vững loài Vàng tâm trong tương lai.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Bảng 1. Danh sách 30 mẫu Vàng tâm thu thập được tại tỉnh Thái Nguyên

Số lượng mẫu	Tên mẫu	Kí hiệu mẫu	Địa điểm thu mẫu
4	ĐTƯ 01, ĐTƯ 02, ĐTƯ 03, ĐTƯ 04	V1, V2, V3, V4	Huyện Đại Từ
4	ĐHY 01, ĐHY 02, ĐHY 03, ĐHY 04	V5, V6, V7, V8	Huyện Đồng Hỷ
4	VNH 01, VNH 02, VNH 03, VNH 04	V9, V10, V11, V12	Huyện Võ Nhai
3	PLU 01, PLU 02, PLU 03	V13, V14, V15	Huyện Phú Lương
15	ĐHO 01, ĐHO 02, ĐHO 03, ĐHO 04, ĐHO 05, ĐHO 06, ĐHO 07, ĐHO 08, ĐHO 09, ĐHO 10, ĐHO 11, ĐHO 12, ĐHO 13, ĐHO 14, ĐHO 15	V16, V17, V18, V19, V20, V21, V22, V23, V24, V25, V26, V27, V28, V29, V30	Huyện Định Hóa

Tổng cộng 30 mẫu cây Vàng tâm đã được thu thập từ các địa điểm khác nhau trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên. Sau khi thu mẫu, các mẫu cây được đưa về phòng thí nghiệm và bảo quản trong túi zip, kèm theo đầy đủ thông tin nhận dạng như tên mẫu, ngày thu và địa điểm thu mẫu. Thông tin chi tiết về các mẫu được trình bày trong Bảng 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số từ mẫu mô thực vật

Các mẫu được làm lạnh bằng nitơ lỏng ở nhiệt độ -196°C và nghiền thành bột mịn. Từ đó, lấy 0,5 gam bột để tiến hành tách chiết DNA tổng số bằng phương pháp CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide). DNA sau khi tách chiết được kiểm tra định tính bằng điện di trên gel agarose 1,0% có bổ sung thuốc nhuộm RedSafe. Cuối cùng, nồng độ và độ tinh sạch của DNA được xác định bằng thiết bị NanoDrop (Thermo Scientific).

2.2.2. Phương pháp định danh loài

Việc thiết kế các cặp mồi đặc hiệu được thực hiện dựa trên cơ sở nghiên cứu của Shilin Chen, Lenvin Kress và Erickson [10] (Bảng 2).

Bảng 2. Thông tin mồi sử dụng để định danh

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	Kích thước dự kiến (bp)
ITS2-S2F	ATG CGA TAC TTG GTG TGA AT	500
ITS2-S3R	GAC GCT TCT CCA GAC TAC AAT	
<i>rbcL</i> -F	ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC	700
<i>rbcL</i> -R	GTA AAA TCA AGT CCA CCR* CG	
<i>matK</i> -F	TAA TTT ACG ATC AAT TCA TTC	900
<i>matK</i> -R	ACA AGA AAG TCG AAG TAT	

Phản ứng khuếch đại được thực hiện trong thể tích tổng 20 μl , bao gồm: 14,8 μl nước khử ion (DiH_2O), 2 μl đệm phản ứng DreamTaq 2X, 0,1 μl dNTP (nồng độ 40 mM), 1 μl mồi xuôi và 1 μl mồi ngược (nồng độ 10 pmol/ μl), 0,1 μl enzyme Taq polymerase (5 U/ μl) và 1 μl DNA khuôn (50 ng/ μl). Phản ứng được tiến hành theo chu trình nhiệt như sau: biến tính ban đầu ở 94°C trong 4 phút, sau đó lặp lại 35 chu kỳ gồm: biến tính ở 94°C trong 1 phút, gắn mồi ở 55°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°C trong 1 phút. Kết thúc phản ứng với bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 3 phút. Quá trình khuếch đại được thực hiện trên máy PCR Gradient (Analytik Jena, Đức). Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng bộ kit của Thermo Scientific (Mỹ) và tiến hành giải trình tự trên hệ thống ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer tại Công ty 1st BASE, Singapore.

Các trình tự gene sau khi thu nhận được phân tích bằng các phần mềm chuyên dụng. Sau đó, tiến hành đăng ký các trình tự gene đặc trưng lên cơ sở dữ liệu NCBI (National Center for Biotechnology Information).

2.2.3. Phương pháp phân tích sự đa dạng di truyền

Bảng 3. Thông tin mồi RAPD sử dụng trong đánh giá đa dạng di truyền

TT	Tên mồi	Trình tự xuôi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi ($^{\circ}\text{C}$)	TT	Tên mồi	Trình tự xuôi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi ($^{\circ}\text{C}$)
1	CP4	CTGGGCACGA	38	6	OPB18	CAATCGCCGT	33
2	CP7	TTCCGCCACC	37	7	OPE14	GTCCACACGG	38
3	CP8	CCGCTACCGA	38	8	OPG13	CCAGACCCTG	37
4	CP17	CTGCTGGGAC	37	9	RM1	TGCGGCTGAG	37
5	OPB11	CCACAGCAGT	35	10	RM5	AACGGTGACC	32

Phản ứng RAPD được thực hiện trên máy PCR Gradient với thể tích phản ứng 15 μl , bao gồm các thành phần sau: 7,5 μl PCR Master Mix Green 2X, 5,3 μl nước khử ion, 1,2 μl mồi (nồng độ 20 pmol) và 1 μl DNA (nồng độ 20 ng/ μl). Điều kiện chu trình PCR như sau: biến tính ban đầu ở 94°C trong 5 phút; tiếp theo là 40 chu kỳ gồm: biến tính ở 94°C trong 45 giây, gắn mồi ở 38°C

trong 45 giây (nhiệt độ phản ứng có thể được điều chỉnh phù hợp với nhiệt độ nóng chảy (T_m) của cặp môi sử dụng), kéo dài ở 72 °C trong 1 phút; kết thúc phản ứng với bước kéo dài cuối ở 72 °C trong 7 phút. Sản phẩm PCR được bảo quản ở 4 °C. Thông tin trình tự 10 mỗi RAPD được thể hiện trong Bảng 3.

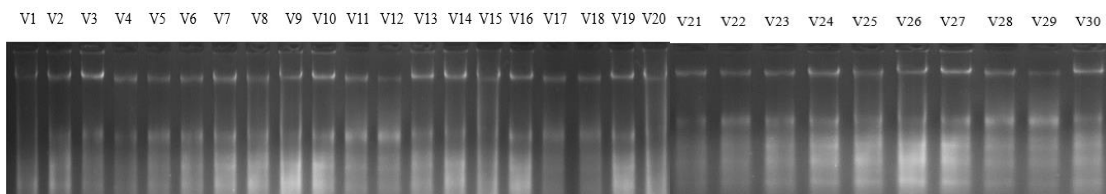
Sản phẩm khuếch đại được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2% có bổ sung thuốc nhuộm RedSafe, chạy ở hiệu điện thế 80V, cường độ dòng 400 mA trong thời gian 1 giờ 15 phút. Kết quả được quan sát và chụp ảnh bằng hệ thống soi gel (Analytik Jena, Đức).

Các băng DNA hiện trên gel được mã hóa thành dữ liệu nhị phân và nhập vào phần mềm bảng tính Microsoft Excel thuộc bộ ứng dụng Microsoft Office. Sự xuất hiện của băng DNA được ghi là '1', không xuất hiện là '0'. Mỗi quan hệ di truyền giữa các mẫu được phân tích và thể hiện dưới dạng biểu đồ bằng phần mềm Nedit và NTSYSpc phiên bản 2.0.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả tách chiết DNA từ mô thực vật

Kết quả tách chiết DNA tổng số của 30 mẫu Vàng tâm cho thấy, chất lượng DNA sau khi tách chiết tương đối tốt, các band sáng đều. Kết quả được thể hiện trong Hình 1.



Hình 1. Kết quả điện di kiểm tra DNA tổng số của 30 mẫu Vàng tâm

Hàm lượng và độ tinh sạch của DNA sau khi tách chiết là yếu tố then chốt quyết định sự thành công của phản ứng PCR. DNA đạt chất lượng cao cần đảm bảo tính toàn vẹn về cấu trúc và không bị nhiễm tạp chất ảnh hưởng đến quá trình khuếch đại.

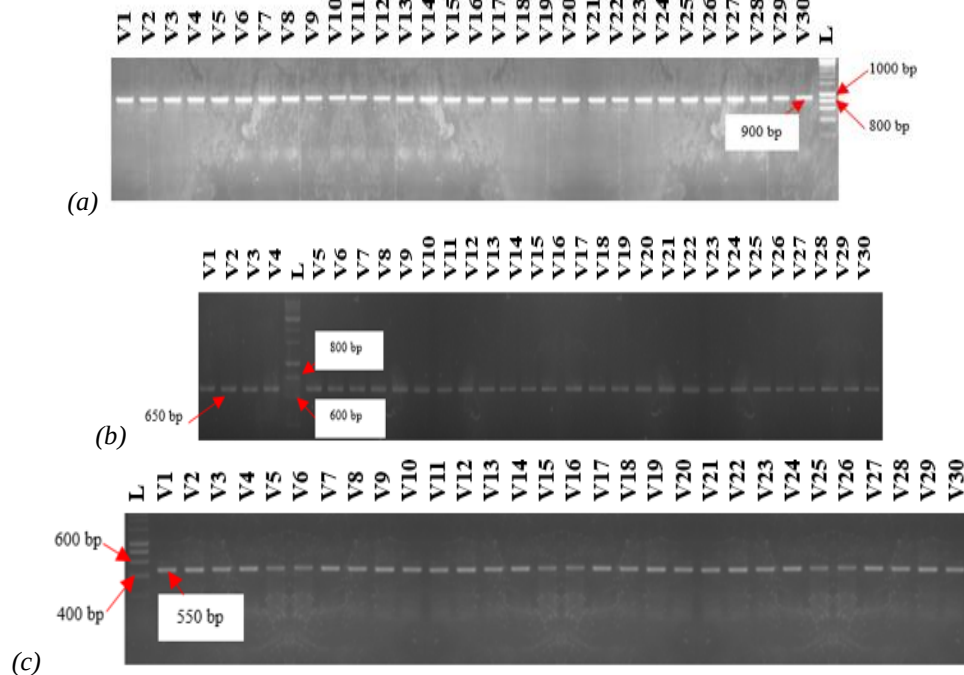
Bảng 4. Kết quả tách chiết DNA tổng số từ 30 mẫu cây Vàng tâm sử dụng trong nghiên cứu

STT	Mẫu	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	Hàm lượng (ng/μl)	STT	Mẫu	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	Hàm lượng (ng/μl)
1	V1	1,88	687,4	16	V16	1,88	855,2
2	V2	1,98	884,0	17	V17	1,96	563,2
3	V3	1,83	886,4	18	V18	1,84	550,4
4	V4	1,90	697,2	19	V19	1,91	803,7
5	V5	1,97	686,9	20	V20	1,96	562,2
6	V6	1,84	690,9	21	V21	1,82	636,2
7	V7	1,90	823,5	22	V22	1,90	618,5
8	V8	1,95	709,8	23	V23	1,92	632,8
9	V9	1,83	863,5	24	V24	1,85	806,5
10	V10	1,96	903,3	25	V25	1,85	723,6
11	V11	1,87	712,2	26	V26	1,90	833,2
12	V12	1,98	623,4	27	V27	1,86	912,8
13	V13	1,81	745,4	28	V28	1,88	602,4
14	V14	1,92	801,6	29	V29	1,90	532,6
15	V15	1,97	595,0	30	V30	1,92	836,9

Dựa trên kết quả trình bày ở Bảng 4, có thể nhận thấy rằng DNA sau khi tách chiết có độ tinh sạch (tỷ lệ OD₂₆₀/OD₂₈₀) dao động trong khoảng từ 1,81-1,98 cho thấy mẫu DNA đạt độ tinh sạch cao và không bị nhiễm tạp chất đáng kể. Hàm lượng DNA thu được dao động từ 532,6-912,8 ng/μl. Các mẫu DNA này sẽ được pha loãng về nồng độ 50 ng/μl trước khi sử dụng cho phản ứng PCR.

3.2. Kết quả phân tích định danh loài

Ba đoạn gene gồm *matK*, *rbcL* và ITS2, thuộc vùng gene lục lạp và gene nhân đều được khuếch đại thành công. Kết quả ở Hình 2 cho thấy, sản phẩm PCR chỉ cho một băng duy nhất. Đối chiếu với thang chuẩn 1 kb của hãng Bioline kích thước sản phẩm PCR đúng như dự kiến: gene *matK* (900 bp), *rbcL* (650 bp) và ITS2 (550 bp).



Hình 2. Kết quả khuếch đại các gene chỉ thị DNA mã vạch
Đường chạy L: DNA Hyperladder 1 kb – Hãng Bioline;
Đường chạy V1-V30: tương ứng 30 mẫu Vàng tâm nghiên cứu
(a) chỉ thị *matK*, (b) chỉ thị *rbcL*, (c) chỉ thị ITS2

STT	Tên loài	Mã genebank	Mức độ tương đồng (%)	STT	Tên loài	Mã genebank	Mức độ tương đồng (%)	STT	Tên loài	Mã genebank	Mức độ tương đồng (%)
1	<i>Manglietia sapaensis</i>	MZ464486	99,75	1	<i>Manglietia acuminata</i>	HQ235604	100	1	<i>Manglietia fordiana</i>	MH270473	97,29
2	<i>Manglietia sp.</i>	KJ510874	99,75	2	<i>Manglietia biondii</i>	MH657927	100	2	<i>Manglietia kwangtungensis</i>	MN990543	97,29
3	<i>Manglietia lotungensis</i>	KJ510869	99,75	3	<i>Manglietia biondii</i>	KRS29727	99,81	3	<i>Manglietia insignis</i>	MN990505	97,02
4	<i>Manglietia yunnanensis</i>	KJ510868	99,75	4	<i>Manglietia forrestii</i>	KRS29674	99,81	4	<i>Manglietia chevalieri</i>	MN990544	96,25
5	<i>Manglietia insignis</i>	AB623291	99,75	5	<i>Manglietia tomentosa</i>	LC685126	99,81	5	<i>Manglietia aromatica</i>	MN990504	95,93
6	<i>Manglietia utilis</i>	AB623287	99,75	6	<i>Manglietia obovata</i>	LC690708	99,81	6	<i>Manglietia fordiana</i>	MH270474	91,60
7	<i>Manglietia fordiana</i>	HQ427416	99,75	7	<i>Manglietia salicifolia</i>	LC692973	99,81	7	<i>Manglietia officinalis</i>	MN990499	95,39
8	<i>Manglietia nitida</i>	AB021006	99,75	8	<i>Manglietia kobus</i>	LC691793	99,81	8	<i>Manglietia decurva</i>	MN990519	94,85
9	<i>Manglietia aromatica</i>	AY008993	99,75	9	<i>Manglietia compressa</i>	LC689399	99,81	9	<i>Manglietia wilsonii</i>	MN990549	94,58
10	<i>Manglietia grandis</i>	AY008992	99,75	10	<i>Manglietia fordiana</i>	MH270421	99,81	10	<i>Manglietia tripetala</i>	MN990535	94,31

Hình 3. Kết quả so sánh trình tự consensus trên ngân hàng gen NCBI
(a) Chỉ thị *matK*, (b) Chỉ thị *rbcL*, (c) Chỉ thị ITS2

Kết quả giải trình tự các mẫu nghiên cứu cho thấy, tín hiệu ở đầu và cuối chuỗi có chất lượng thấp, trong khi đoạn giữa cho tín hiệu rõ và chính xác. Điều này phù hợp với lý thuyết, do phản ứng PCR thường kém ổn định ở giai đoạn đầu và cuối, làm giảm chất lượng giải trình tự tại các vị trí này. Sau khi hiệu chỉnh và loại bỏ các nucleotide bị nhiễu ở hai đầu, chiều dài của các đoạn trình tự thu được lần lượt là khoảng 868 bp đối với *matK*, 520 bp đối với *rbcL* và 373 bp đối với

ITS2. Trình tự consensus của các mẫu Vàng tâm được xác định bằng phần mềm BioEdit và được sử dụng để thực hiện truy vấn BLAST trên cơ sở dữ liệu NCBI. Kết quả phân tích đã chỉ ra rằng, loài Vàng tâm ở Thái Nguyên có sự tương đồng với một số loài thuộc chi *Manglietia* đã được công bố trên ngân hàng gen, cụ thể như sau: đối với chỉ thị *matK* là 99,75%; đối với chỉ thị *rbcL* từ 99,81% đến 100%; và từ 94,31% đến 97,29% đối với chỉ thị ITS2.

Kết quả này là cơ sở khẳng định rằng, trong khuôn khổ thí nghiệm với ba chỉ thị, 30 mẫu Vàng tâm sử dụng trong nghiên cứu đều thuộc chi *Manglietia*, họ Magnoliaceae. Trình tự gene đặc trưng của ba chỉ thị đã được đăng ký và công bố trên ngân hàng gene NCBI với các mã số Ngân hàng gene lần lượt là PP964026 (*matK*), PP964027 (*rbcL*) và PP930983 (ITS2).

3.3. Kết quả phân tích đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị RAPD

Để phân tích mối quan hệ di truyền giữa 30 mẫu Vàng tâm, nhóm nghiên cứu đã sử dụng 10 môi RAPD ngẫu nhiên, mỗi môi có độ dài 10 nucleotide (thông tin trình tự mỗi được trình bày trong Bảng 3). Kết quả chi tiết được thể hiện trong Bảng 5.

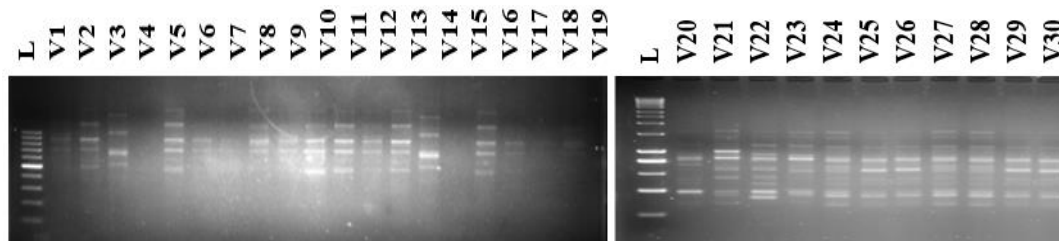
Bảng 5. Kết quả phân tích đa dạng di truyền của các môi RAPD trên 30 mẫu Vàng tâm tại tỉnh Thái Nguyên

STT	Tên môi	Tổng số phân đoạn được khuếch đại	Số phân đoạn đa hình	
			Số lượng	Tỉ lệ (%)
1	CP4	16	16	100
2	CP7	8	8	100
3	CP8	2	2	100
4	CP17	8	8	100
5	OPB11	8	8	100
6	OPB18	4	4	100
7	OPE14	7	7	100
8	OPG13	11	11	100
9	RM1	8	8	100
10	RM5	10	10	100
	Tổng	82	82	
	Trung bình/môi	8,2	8,2	

Kết quả Bảng 5 cho thấy, cả 10 môi RAPD đều được nhân bản với tổng số phân đoạn được khuếch đại là 82 băng DNA (sản phẩm PCR), trung bình 8,2 băng/môi (số lượng dao động từ 2 đến 16 băng). Trong đó, chỉ thị CP4 nhân bản được tổng số băng lớn nhất (16 băng) và chỉ thị CP8 là môi nhân bản được ít số băng nhất (2 băng). Điều này cho thấy, mức độ đa hình di truyền cao giữa các mẫu Vàng tâm. Điều này khẳng định tính hiệu quả của các môi trong việc đánh giá sự đa dạng di truyền của quần thể Vàng tâm tại tỉnh Thái Nguyên. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Vũ Quang Nam và cộng sự [10] trên 25 mẫu lá Mỡ Ba Vì (*Manglietia conifera*), trong đó 10/11 môi RAPD cho tỷ lệ đa hình 100%, chỉ duy nhất môi OPE14 xuất hiện đơn hình.

Kết quả PCR-RAPD đại diện 2 môi (CP4 và CP7) cụ thể được thể hiện như sau:

• Môi CP4

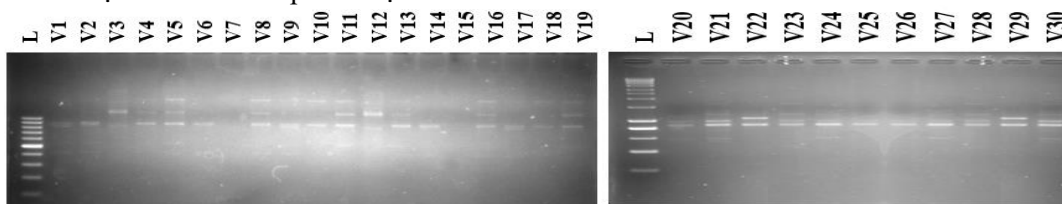


Hình 4. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR-RAPD của 30 mẫu Vàng tâm với môi CP4 (Ghi chú: Giếng L: FastGenec 1kb DNA Marker Plus - NIPPON Geneetics EUROPE V1-V 30: tương ứng với 30 mẫu nghiên cứu)

Kết quả từ Hình 4 cho thấy, mỗi CP4 khuếch đại được 16 phân đoạn DNA, tất cả đều là đa hình với kích thước từ 200 đến 1500 bp. Mẫu V27 có số phân đoạn nhiều nhất (13 phân đoạn), trong khi V4 và V18 không xuất hiện phân đoạn nào. Các mẫu còn lại dao động từ 1 đến 12 phân đoạn. Điều này cho thấy mỗi CP4 phản ánh rõ sự khác biệt về cấu trúc DNA giữa các mẫu nghiên cứu.

• Môi CP7

Hình 5 trình bày kết quả điện di sản phẩm RAPD từ 30 mẫu nghiên cứu với môi CP7, cho thấy tổng cộng 8 phân đoạn DNA được khuếch đại, có kích thước từ 400 đến 1500 bp. Mẫu V21 có số phân đoạn nhiều nhất (6 phân đoạn), trong khi V7 và V15 không xuất hiện phân đoạn nào. Các mẫu còn lại có từ 1 đến 5 phân đoạn DNA.



Hình 5. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR-RAPD của 30 mẫu Vàng tâm với môi CP7
(Ghi chú: Giếng L: FastGenee 1kb DNA Marker Plus - NIPPON Genetics EUROPE)

V1-V 30: tương ứng với 30 mẫu nghiên cứu)

Hệ số tương đồng di truyền thể hiện mức độ quan hệ di truyền giữa các mẫu Vàng tâm. Hai mẫu có hệ số tương đồng càng cao thì mức độ giống nhau về mặt di truyền càng lớn; ngược lại, hệ số tương đồng thấp cho thấy sự khác biệt di truyền lớn và quan hệ di truyền giữa các mẫu càng xa. Sử dụng phần mềm NTSYSpc phiên bản 2.0, bảng hệ số tương đồng di truyền (Bảng 6) và cây sơ đồ dạng hình cây (Hình 6) đã được xây dựng nhằm phản ánh mối quan hệ di truyền của 30 mẫu Vàng tâm với nhau. Kết quả trong Bảng 6 cho thấy, hệ số tương đồng di truyền giữa 30 mẫu nghiên cứu dao động trong khoảng 0,44 đến 0,95. Trong đó, hai cặp mẫu V6 - V7 và V25 - V26 có hệ số tương đồng lớn nhất là 0,95. Còn hai cặp mẫu V1 - V21 và V1 - V22 có hệ số tương đồng thấp nhất là 0,44.

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26	V27	V28	V29	V30
V1	1,00																													
V2	0,84	1,00																												
V3	0,49	0,48	1,00																											
V4	0,72	0,73	0,57	1,00																										
V5	0,78	0,74	0,51	0,79	1,00																									
V6	0,70	0,71	0,57	0,78	0,67	1,00																								
V7	0,65	0,66	0,57	0,73	0,62	0,95	1,00																							
V8	0,63	0,70	0,63	0,77	0,68	0,82	0,77	1,00																						
V9	0,70	0,68	0,52	0,62	0,62	0,85	0,83	0,82	1,00																					
V10	0,65	0,63	0,60	0,67	0,73	0,78	0,78	0,79	0,76	1,00																				
V11	0,66	0,70	0,59	0,73	0,73	0,74	0,70	0,80	0,70	0,79	1,00																			
V12	0,71	0,65	0,59	0,73	0,76	0,74	0,72	0,73	0,67	0,72	0,71	1,00																		
V13	0,68	0,65	0,59	0,76	0,60	0,72	0,67	0,68	0,67	0,67	0,78	0,73	1,00																	
V14	0,67	0,63	0,62	0,60	0,63	0,78	0,76	0,67	0,71	0,68	0,52	0,67	0,65	1,00																
V15	0,66	0,62	0,56	0,63	0,67	0,74	0,72	0,66	0,62	0,65	0,63	0,71	0,73	0,77	1,00															
V16	0,65	0,68	0,62	0,67	0,56	0,63	0,59	0,70	0,59	0,66	0,72	0,72	0,77	0,66	0,72	1,00														
V17	0,63	0,55	0,63	0,56	0,57	0,79	0,77	0,68	0,74	0,65	0,56	0,71	0,63	0,79	0,76	0,62	1,00													
V18	0,60	0,51	0,65	0,57	0,60	0,73	0,76	0,62	0,66	0,68	0,55	0,65	0,60	0,76	0,74	0,56	0,87	1,00												
V19	0,60	0,51	0,62	0,60	0,63	0,78	0,76	0,67	0,66	0,66	0,62	0,67	0,67	0,71	0,70	0,59	0,87	0,90	1,00											
V20	0,78	0,67	0,49	0,63	0,66	0,60	0,57	0,56	0,60	0,65	0,63	0,61	0,61	0,55	0,56	0,60	0,51	0,55	0,55	1,00										
V21	0,44	0,67	0,44	0,66	0,49	0,60	0,55	0,61	0,60	0,62	0,68	0,59	0,59	0,45	0,51	0,57	0,41	0,45	0,48	0,76	1,00									
V22	0,44	0,45	0,71	0,49	0,72	0,50	0,50	0,56	0,50	0,57	0,51	0,49	0,49	0,48	0,49	0,55	0,54	0,52	0,50	0,67	0,49	1,00								
V23	0,57	0,59	0,52	0,72	0,77	0,71	0,66	0,72	0,61	0,71	0,77	0,62	0,60	0,51	0,57	0,56	0,52	0,54	0,56	0,67	0,77	0,55	1,00							
V24	0,62	0,61	0,48	0,77	0,77	0,63	0,59	0,57	0,56	0,63	0,67	0,67	0,65	0,54	0,57	0,61	0,50	0,54	0,56	0,77	0,77	0,55	0,76	1,00						
V25	0,56	0,65	0,46	0,61	0,61	0,84	0,79	0,71	0,74	0,70	0,68	0,61	0,66	0,62	0,66	0,60	0,63	0,60	0,65	0,63	0,63	0,59	0,74	0,74	1,00					
V26	0,54	0,62	0,46	0,63	0,63	0,82	0,77	0,71	0,74	0,70	0,68	0,61	0,61	0,60	0,66	0,57	0,61	0,57	0,62	0,63	0,68	0,59	0,79	0,74	0,95	1,00				
V27	0,52	0,61	0,45	0,62	0,62	0,71	0,66	0,67	0,66	0,68	0,67	0,67	0,62	0,54	0,55	0,61	0,52	0,51	0,54	0,67	0,79	0,55	0,78	0,83	0,79	0,82	1,00			
V28	0,51	0,60	0,51	0,63	0,63	0,77	0,72	0,76	0,70	0,74	0,71	0,66	0,66	0,57	0,61	0,62	0,59	0,57	0,60	0,61	0,73	0,51	0,82	0,74	0,83	0,85	0,89	1,00		
V29	0,54	0,52	0,63	0,59	0,59	0,60	0,60	0,54	0,57	0,60	0,49	0,51	0,54	0,55	0,56	0,57	0,56	0,60	0,57	0,63	0,59	0,80	0,57	0,70	0,71	0,68	0,60	0,56	1,00	
V30	0,57	0,63	0,52	0,57	0,57	0,63	0,59	0,65	0,61	0,61	0,67	0,52	0,57	0,49	0,52	0,56	0,45	0,49	0,51	0,65	0,77	0,62	0,73	0,68	0,74	0,72	0,73	0,67	0,70	1,00

Hình 6. Hệ số tương đồng di truyền của 30 mẫu Vàng tâm tại Thái Nguyên

Mức độ tương đồng giữa các mẫu được biểu thị bằng hệ số sai khác di truyền. Những mẫu có hệ số tương đồng di truyền gần nhau sẽ được xếp vào cùng một nhóm. Khi xét ở ngưỡng mức độ tương đồng là 0,65, 30 mẫu nghiên cứu được phân chia thành bốn nhóm:

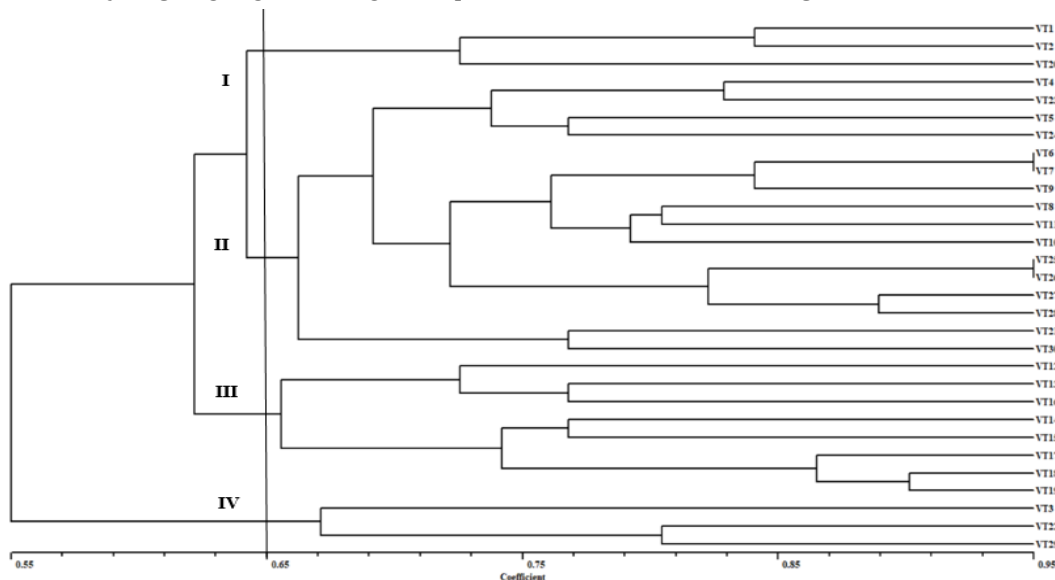
Nhóm I: gồm 3 mẫu (V1, V2, V20), có hệ số tương đồng từ 0,73 đến 0,84.

Nhóm II: gồm 16 mẫu, là nhóm lớn nhất, với hệ số tương đồng từ 0,66 đến 0,95; trong đó, hai cặp mẫu V6 - V7 và V25 - V26 có mức tương đồng cao nhất (0,95).

Nhóm III: gồm 8 mẫu, có hệ số tương đồng trong khoảng 0,65 đến 0,90, đáng chú ý là cặp V18 và V19 có mức cao nhất trong nhóm (0,90).

Nhóm IV: gồm 3 mẫu (V3, V22, V29), khác biệt rõ rệt so với các mẫu còn lại, được xếp thành một nhánh riêng trên sơ đồ di truyền.

Bốn nhóm trên có mức độ sai khác di truyền dao động từ 5% đến 45%, tương ứng với tỷ lệ tương đồng di truyền từ 55% đến 95%. Dựa trên biểu đồ quan hệ di truyền, có thể nhận thấy rằng phần lớn các mẫu được thu thập tại cùng một xã thường được phân vào cùng một nhánh, cho thấy mối quan hệ di truyền gần gũi giữa chúng. Kết quả chi tiết được thể hiện trong Hình 6 và Hình 7.



Hình 7. Biểu đồ thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 30 mẫu được nghiên cứu

4. Kết luận

Nghiên cứu định danh và phân tích tính đa dạng di truyền của các mẫu Vàng tâm tại tỉnh Thái Nguyên được thực hiện bằng cách sử dụng các chỉ thị phân tử DNA đã được xác lập. Loài cây này thuộc chi *Manglietia*, họ Magnoliaceae, với tên khoa học *Manglietia fordiana* đã được đăng ký và công bố trên cơ sở dữ liệu NCBI. Kết quả phân tích cho thấy tất cả các mẫu đều có mức độ đa dạng di truyền cao. Điều này phản ánh khả năng thích nghi và tiềm năng sinh trưởng ổn định của quần thể Vàng tâm tại khu vực nghiên cứu.

Nghiên cứu này không chỉ cung cấp cơ sở khoa học quan trọng, góp phần hỗ trợ công tác bảo tồn nguồn gene quý hiếm của loài, mà còn có thể định hướng cho các chương trình nhân giống, phục hồi và phát triển rừng trồng Vàng tâm có giá trị kinh tế và sinh thái cao. Ngoài ra, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử trong nghiên cứu đa dạng di truyền cũng cho thấy tính hiệu quả và chính xác trong việc nhận diện loài, phục vụ công tác phân loại, theo dõi biến động di truyền và xây dựng chiến lược bảo tồn bền vững lâu dài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. C. Vo, *Dictionary of Vietnamese medicinal plants*. Hanoi: Medical Publishing House, 2012.
- [2] Ministry of Science, Technology and Environment, *Vietnam Red Data Book: Part II – Plants*. Hanoi: Publishing House for Science and Technology, 2007.
- [3] I. D. Godwin, E. A. B. Aitken, and L. W. Smith, “Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics,” *Electrophoresis*, vol. 18, no. 9, pp. 1524–1528, 1997.
- [4] P. D. Hebert, A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. Dewaard, “Biological identifications through DNA barcodes,” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 270, no. 1512, pp. 313–321, 2003.
- [5] T. T. N. Nguyen, “Assessment of geneetic diversity of several Vietnamese medicinal plant species belonging to the geneus Codonopsis using DNA barcoding technique,” Master’s thesis, University of Science, Vietnam National University, (In Vietnamese), 2012.
- [6] W. J. Kress and D. L. Erickson, “DNA barcodes: genees, geneomics, and bioinformatics,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, no. 8, pp. 2761–2762, 2008.
- [7] Y. Kang, Z. Deng, R. Zang, and W. Long, “DNA barcoding analysis and phylogeneetic relationships of tree species in tropical cloud forests,” *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, 2017, Art. no. 12564.
- [8] S. G. Newmaster, A. J. Fazekas, and S. Ragupathy, “DNA barcoding in land plants: evaluation of rbcL in a multigenee tiered approach,” *Botany*, vol. 84, no. 3, pp. 335–341, 2006.
- [9] B. Roman, A. M. Torres, D. Rubiales, J. I. Cubero, and Z. Satovic, “Geneetic relationships among *Orobanch* species as revealed by RAPD analysis,” *Annals of Botany*, vol. 91, no. 5, pp. 637–642, 2003.
- [10] Q. N. Vu, T. V. N. Cao, T. D. Nguyen, and G. H. D. Nguyen, “Geneetic diversity of *Manglietia conifera* Dandy in Ba Vi National Park based on RAPD molecular markers,” in *Proceedings of the 5th National Scientific Conference on Research and Teaching Biology in Vietnam*, 2022, pp. 69–76.