



**PHÂN TÍCH MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA DÒNG THANH NHÃN BẠC LIÊU
VỚI CÁC GIỐNG NHÃN ĐỊA PHƯƠNG DỰA TRÊN CHỈ THỊ ITS
GENETIC RELATIONSHIP ANALYSIS OF THE “THANH NHAN”
LONGAN LINE FROM BAC LIEU AND LOCAL LONGAN VARIETIES
BASED ON ITS MARKERS**

Nguyễn Thị Kiều*

Trường Đại học Bạc Liêu

*ntkieu@blu.edu.vn

Ngày nhận bài:

19/01/2026

Ngày chấp nhận

đăng: 27/5/2026

Keywords:

Dimocarpus longan,
genetic relationship,
genetic diversity,
longan, molecular
markers.

Từ khóa: Cây nhãn,
chỉ thị phân tử,
Dimocarpus longan,
đa dạng di truyền,
quan hệ di truyền.

ABSTRACT

The study is aimed at determining the genetic relationship between “Thanh Nhan” longan of Bac Lieu and other local longan varieties using ITS (Internal Transcribed Spacer) Molecular Markers. The experiment included three longan cultivars: (1) Thanh Nhan Bac Lieu, (2) Giong Bac Lieu, and (3) Xuong Com Vang. All experimental trees were of the same age (10 years) and were grown on three adjacent plots within the same orchard on sandy ridge soil in Bac Lieu Province under identical cultivation conditions. The surveyed longan trees were healthy, exhibited good growth, and were free from pests and diseases. The results showed that the three longan cultivars differed in nucleotide sequences and base composition. The genetic relationship of the Thanh Nhan Bac Lieu line was closer to the Giong Bac Lieu cultivar than to the Xuong Com Vang cultivar. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analysis comparing the ITS sequences of the three cultivars with sequences available in the NCBI (National Center for Biotechnology Information) database indicated that all three cultivars were closely related and shared approximately 98% sequence similarity with Dimocarpus longan.

TÓM TẮT

Thí nghiệm xác định mối quan hệ di truyền giữa Thanh nhãn Bạc Liêu và một số giống nhãn địa phương khác bằng chỉ thị phân tử ITS (Internal Transcribed Spacer). Thí nghiệm được khảo sát gồm 03 giống nhãn: (1) Giống Thanh nhãn Bạc Liêu; (2) Giống nhãn Giồng Bạc Liêu; (3) Giống nhãn Xuồng Com Vàng. Ba giống nhãn thí nghiệm có cùng độ tuổi (10 năm) và được trồng trên 3 khu đất liền kề nhau trong cùng một vườn trên đất Giồng cát Bạc Liêu có cùng điều kiện canh tác. Cây nhãn được khảo sát đang trong tình trạng phát triển tốt, không bị sâu bệnh. Kết quả cho thấy giữa 3 giống nhãn có sự khác biệt nhất định về trình tự các nucleotide và tỷ lệ các base; Mối quan hệ di truyền của dòng Thanh nhãn Bạc Liêu gần với giống nhãn Giồng Bạc Liêu hơn so với nhãn Xuồng Com Vàng; Sử dụng BLAST (Basic Local Alignmet Search Tool) để so sánh trình tự của 3 giống nhãn với trình tự hiện có trong ngân hàng dữ liệu trên NCBI (National Center for Biotechnology Informatio) cho thấy cả 3 giống nhãn có mối quan hệ gần nhau và có sự tương đồng khoảng 98% với Dimocarpus longan.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thanh nhãn Bạc Liêu được phát hiện tại đất Giồng cát phồng Hiệp Thành, tỉnh Cà Mau, dòng nhãn mới này mang nhiều tính trạng vượt trội so với các giống nhãn phổ biến tại địa phương, cho năng suất và chất lượng cao, trái rất to với hình dạng khác lạ. Theo kết quả khảo sát của Nguyễn Thị Kiều và cộng sự (2017) theo QCVN 01-128:2013/BNNPTNT (2013) cho thấy dòng Thanh nhãn Bạc Liêu có những điểm tương đồng với các giống nhãn địa phương như nhãn Giồng Bạc Liêu và Xuồng com vàng, tuy nhiên có thể phân biệt qua một số tính trạng khác biệt về hình thái thực vật bên ngoài của giống như: lá của dòng Thanh nhãn Bạc Liêu có kích thước, màu sắc, dạng lá và cách sắp xếp lá chét trên lá kép khác biệt rõ với nhãn Xuồng Com Vàng nhưng gần tương đồng với nhãn Giồng Bạc Liêu; Trong khi trái của dòng Thanh nhãn Bạc Liêu có hình dạng và kích thước khác biệt rõ với giống nhãn Giồng Bạc Liêu nhưng lại có điểm tương đồng với nhãn Xuồng Com vàng; Về năng suất và chất lượng trái thì dòng Thanh nhãn Bạc Liêu cho năng suất cao (73,7 kg), thịt trái dày, khô ráo ít nước, tỷ lệ thịt trái chiếm (70,8%) khác biệt và vượt trội hơn 2 giống nhãn còn lại. Để có định hướng và chiến lược phát triển giống nhãn mới này, việc xác định mối quan hệ di truyền giữa Thanh nhãn Bạc Liêu và một số giống nhãn địa phương khác bằng chỉ thị phân tử ITS là rất cần thiết.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các giống nhãn thí nghiệm (Thanh nhãn Bạc Liêu, nhãn Giồng Bạc Liêu và nhãn Xuồng Com Vàng) được trồng tại ở ấp Giồng Nhãn, phường Hiệp Thành, tỉnh Cà Mau.

- Cách lấy mẫu trong phân tích di truyền bằng chỉ thị ITS: Các giống Thanh nhãn Bạc Liêu, nhãn Giồng Bạc Liêu và nhãn Xuồng Com Vàng (10 năm tuổi) được thắp trên gốc nhãn Tiêu Da Bò, trồng trên nền đất Giồng cát ở 03 khu liên kề nhau trong cùng một vườn và có cùng điều kiện canh tác, đang trong tình trạng phát triển tốt, không bị sâu bệnh. Chọn khoảng 10 lá non/cây/giống nhãn không bị sâu bệnh để khảo sát.

- Khảo sát mối quan hệ di truyền được thực hiện tại phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Viện nghiên cứu và phát triển Công nghệ sinh học, trường Đại học Cần Thơ.

- Trình tự các nội dung thực hiện: Tiến hành trích/tách DNA từ lá nhãn của các giống thí nghiệm; PCR khuếch đại vùng ITS của DNARibosome; giải trình tự và so sánh trình tự DNA; xây dựng cây phát sinh chủng loại để đánh giá quan hệ di truyền.

+ Ly trích DNA theo quy trình của Rogers and Bendich (1988).

+ Phản ứng PCR được khuếch đại bằng cặp mồi ITS1 và ITS4 với trình tự chuỗi 5'→3' (White et al.,1990):

ITS1 TCCGTAGGTGAACCTGCG
ITS4 TCCTCCGCTTATTGATATG

+ Qui trình thực hiện phản ứng PCR theo Trần Nhân Dũng và cộng sự (2012) được thực hiện trên máy PCR Perkin Elmer 9700 với các thành phần phản ứng PCR (Bảng 1) và chu kỳ gia nhiệt (Bảng 2).

Bảng 1: Thành phần của một phản ứng ITS-PCR

STT	Phản ứng PCR	
	Thành phần	Thể tích (μ l)
1	Bì H ₂ O	36
2	PCR Buffer	5
3	MgCl ₂	4
4	dNTP	2
5	ITS1	0,25
6	ITS4	0,25
7	Taq polymerase	0,5
8	DNA	2
Tổng		50 μ l

Bảng 2: Chu kỳ gia nhiệt của một phản ứng ITS-PCR

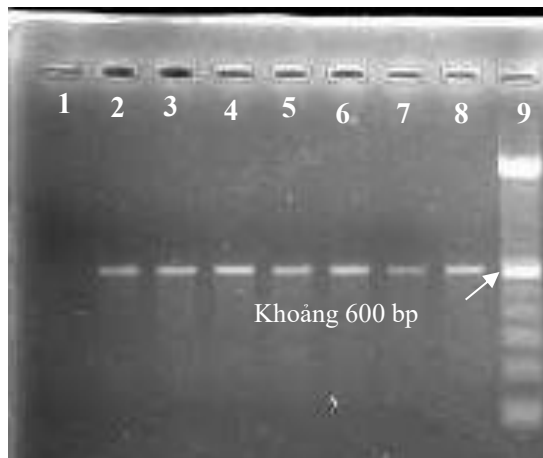
Trình tự chu kỳ gia nhiệt		
Bước	Nhiệt độ và thời gian	Chu kỳ
1	Khởi động đến 103°C và giữ ở 95°C trong 1 phút 30 giây để biến tính DNA	1
2	Gồm 3 giai đoạn: + Biến tính: 95°C trong 50 giây + Gắn mồi: 58°C trong 70 giây + Tổng hợp: 72°C trong 90 giây	30
3	Kết thúc: 72°C trong 3 phút	1
4	Bảo quản 4°C trong ∞	

+ Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% pha trong dung dịch TE 1X, nhuộm với Ethidium Bromide 2 μ l. Chạy điện di trong 30 phút ở hiệu thế 100V. Chụp hình gel dưới ánh sáng đèn cực tím bởi máy đọc và chụp hình gel Bio-Rad UV 2000 và được phân tích bằng phần mềm Quantity One 4.6. Sản phẩm PCR được giải trình tự tại công ty Macrogen, Seoul, Hàn Quốc. Các trình tự được xếp hàng bằng phần mềm BioEdit 7.0, sau đó dữ liệu giải trình tự được đưa vào phần mềm MEGA 6.06 để phân tích gián đồ phả hệ theo phương pháp DNAPars (DNA Parsimony method). Trình tự các nucleotide của 3 giống nhãn thí nghiệm được đưa lên NCBI để kiểm tra độ tương đồng, tính tỷ lệ nucleotide (%) của A,G,T,C, so sánh sự khác biệt trình tự nucleotide và phân tích gián đồ phả hệ.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả PCR của ba giống nhãn

Sản phẩm PCR sau khi điện di trên gel agarose 1,5% với điện trường 100 V trong 30 phút cho kết quả chiều dài các đoạn khuếch đại của 03 giống nhãn trong thí nghiệm đều ở khoảng 600 bp (Hình 1), điều này cũng tương tự như một kết quả ITS khác của Fan et al. (2008) đã ghi nhận trên nhãn với chiều dài từ 618-646 bp.

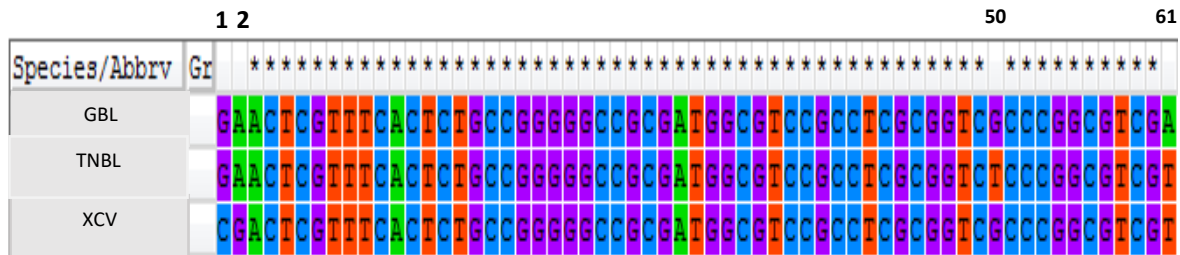


Giếng 1: Đối chứng âm
 Giếng 2: TNBL
 Giếng 3: TNBL
 Giếng 4: TNBL
 Giếng 5: GBL
 Giếng 6: XCV
 Giếng 7: TNBL
 Giếng 8: TNBL
 Giếng 9: Thang chuẩn

Hình 1. Kết quả ITS của các giống nhãn khảo sát trên gel agarose 1,5%.

3.2 Giải trình tự vùng ITS

Kết quả giải trình tự một đoạn so sánh vùng ITS của 3 giống nhãn thí nghiệm được khoảng 600 bp/mỗi giống và có sự khác biệt về trình tự các nucleotide giữa dòng TNBL với 2 giống nhãn còn lại chỉ xảy ra ở 4 vị trí. Trình tự nucleotide của dòng TNBL khác với nhãn GBL xảy ra ở 2 điểm: Vị trí 50 (base T ở TNBL và base G trên nhãn GBL) và vị trí 61 (base T trên TNBL và A trên nhãn GBL). Sự khác biệt về trình tự nucleotide của TNBL và nhãn XCV xảy ra ở nhiều điểm hơn (vị trí 1, 2 và 50). Sự khác biệt đầu tiên ở vị trí 1 (base G trên TNBL và C trên nhãn XCV), kế tiếp ở vị trí 2 (base A trên TNBL và C trên nhãn XCV) và cuối cùng là vị trí 50 (base T trên TNBL và G trên nhãn XCV).



Hình 2. Một đoạn so sánh trình tự nucleotide của vùng ITS trên 3 giống nhãn khảo sát (đoạn từ 1 đến 61 có chứa các vị trí base khác biệt).

Ngoài có sự khác nhau về trình tự nucleotide trên một đoạn so sánh trình tự nucleotide của vùng ITS (Hình 2) thì kết quả phân tích vùng ITS cũng cho thấy tỷ lệ các base ở ba giống nhãn khảo sát có sự khác biệt nhau, TNBL có tỷ lệ Adenine (A = 18,9%) tương đương với nhãn GBL nhưng có tỷ lệ Thymin (T = 17,9%) cao hơn và Guanine (G = 30,3%), Cytosine (C = 32,9%) thấp hơn nhãn GBL. Trong khi so với nhãn XCV thì TNBL có tỷ lệ Thymin (T = 17,9%) và Cytosine (C = 32,9%) tương đương, nhưng tỷ lệ Adenine (A = 18,7%) thấp hơn và Guanine (G = 30,5%) cao hơn.

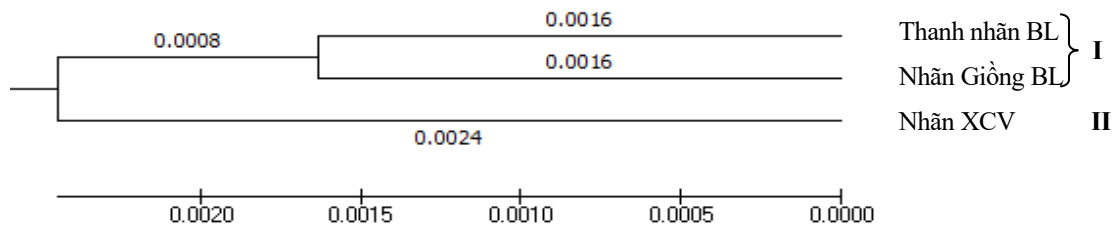
Như vậy, để phân biệt giữa TNBL với nhãn GBL có thể dựa vào tỷ lệ của các base T, G và C. Tuy nhiên, để phân biệt giữa TNBL và XCV chỉ có thể dựa trên tỷ lệ của 2 base A và G.

Bảng 3: Tỷ lệ (%) các base A, T, G, C và so sánh trình tự trên NCBI khi giải trình tự ITS (620 bp) của 3 giống nhãn khảo sát.

Thí nghiệm	Tỷ lệ các base (%)				Trình tự ITS trên NCBI		
	Adenine (A)	Thymin (T)	Guanine (G)	Cytosine (C)	Mã truy cập	Tên giống	Sự tương đồng (%)
Nhãn GBL	18,9	17,3	30,5	33,4	EF488970.1	<i>Dimocarpus longan</i>	98
TNBL	18,9	17,9	30,3	32,9	EF488970.1	<i>Dimocarpus longan</i>	98
XCV	18,7	17,9	30,5	32,9	EF488970.1	<i>Dimocarpus longan</i>	98

Những trình tự ITS của 3 giống nhãn trong thí nghiệm được phát hiện khi sử dụng BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) trên NCBI (National Center for Biotechnology Information). Kết quả so sánh trình tự của 3 giống nhãn với trình tự hiện có trong ngân hàng dữ liệu thế giới cho thấy có sự tương đồng khoảng 98% với *Dimocarpus longan* (Bảng 3).

Các trình tự ITS của 03 giống nhãn thí nghiệm sau khi được xếp hàng bằng phần mềm BioEdit 7.0 và đưa vào phần mềm MEGA 6.06 để phân tích giản đồ phả hệ theo phương pháp DNAPars (DNA Parsimony method). Mỗi quan hệ di truyền giữa các giống nhãn được xác định dựa trên hệ số không tương đồng di truyền (genetic dissimilarity coefficient) tính từ sự sai khác trình tự nucleotide vùng ITS và có giá trị từ 0 - 1. Hệ số không tương đồng càng nhỏ thì quan hệ di truyền càng gần, và ngược lại, hệ số không tương đồng càng lớn thì mức độ khác biệt di truyền càng cao.



Hình 3: Mối quan hệ di truyền giữa 3 giống nhãn

Kết quả ở Hình 3 cho thấy có sự phân chia thành 2 nhóm khi dựa vào mối quan hệ di truyền về loài của 3 giống nhãn thí nghiệm, giữa 2 nhóm có hệ số không tương đồng di truyền là 0,0008. Trong đó, nhóm 1 bao gồm 2 giống nhãn (TNBL và nhãn GBL) có hệ số không tương đồng di truyền là 0,0016 và nhóm 2 chỉ có duy nhất giống nhãn XCV tạo riêng thành một nhánh. Kết quả trên cho thấy tuy quan hệ di truyền của 3 giống nhãn thí nghiệm gần nhau nhưng vẫn có sự khác biệt nhất định.

Tóm lại, sự khác biệt tính trạng về hình thái bên ngoài có thể được giải thích khi tìm hiểu dấu phân tử DNA bên trong nhân của 03 giống nhãn: TNBL, nhãn GBL và nhãn XCV. Kết quả thí nghiệm cho thấy có mối quan hệ khi xét về dấu phân tử DNA bên trong nhân đã tìm thấy sự khác biệt nhất định về trình tự các nucleotide, tỷ lệ các base A, T, G, C giữa 03 giống nhãn được khảo sát trong thí nghiệm. Điều này cũng phù hợp với sự khác biệt một số tính trạng về đặc tính thực vật và nông học được thể hiện ở lá, trái và hoa của 3 giống nhãn thí nghiệm trên theo kết quả khảo sát của Nguyễn Thị Kiều và cộng sự (2017), lá của dòng TNBL có kích thước, màu sắc và hình dạng khác biệt rõ với nhãn XCV nhưng tương đồng với nhãn GBL; Trái của dòng TNBL gần giống với nhãn XCV về hình dạng trái và kích thước nhưng khác biệt rõ với nhãn GBL.

4. KẾT LUẬN

Có thể xác định mối quan hệ di truyền giữa TNBL với GBL và XCV bằng chỉ thị phân tử ITS, TNBL có trình tự các nucleotide trên gen vùng ITS khác với nhãn GBL ở 2 vị trí (base 50 và 61) và XCV ở 3 vị trí (base 1, 2 và 50). Tỷ lệ các base của dòng TNBL khác với nhãn GBL ở T, G, C và nhãn XCV ở A và G.

Mối quan hệ di truyền của dòng TNBL gần với giống nhãn GBL hơn so với nhãn XCV. Cả 3 giống nhãn có sự tương đồng khoảng 98% với *Dimocarpus longan* khi so sánh trình tự ITS với trình tự hiện có trong ngân hàng dữ liệu thế giới NCBI.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Fan, H. Gao, X. Chen, S. Zheng, 2008. Analysis of ITS sequences of rDNA in *Dimocarpus* plants. *Journal of Fruit Science*. 25(2): 262-268.
- QCVN 01-128:2013/BNNPTNT, 2013. *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất, tính ổn định của giống nhãn*. Do bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn ban hành tại Thông tư số 33/2013/TT-BNNPTNT, ngày 21/06/2013.
- Rogers, S.O. and A.J.B. Bendich, 1988. Extraction of DNA from plant tissues. *Plant molecular Biology Manual*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, printed in Belgium. pp. 1-10.
- Trần Nhân Dũng, Nguyễn Thị Pha và Đỗ Tấn Khang, 2012. *Giáo trình công nghệ di truyền*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. 207 trang.
- White, T.J., T. Bums, S. Lee and J. Taylor, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky.
- Nguyễn Thị Kiều, Nguyễn Bảo Vệ, Nguyễn Bá Phú và Trần Vĩnh Sang, 2017. Khảo sát đặc tính thực vật của giống nhãn mới phát hiện ở tỉnh Bạc Liêu. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Kỳ 1+2, Tháng 02/2027.