

Nguyễn Ngọc Tiến, 2017. *Nghiên cứu các giống lúa năng suất*, ngày truy cập 24/4/2022. Địa chỉ: <https://nongnghiep.vn/nghien-cuu-cac-giong-lua-nang-suat-d196425.html>.

International Rice Research Institute (IRRI), 2002. Standard evaluation system for rice (SES). Philippines:

Manila, Philippines.

IRRI, 2015. *Genetically engineered rice with high levels of iron and zinc is developed*. Annual report, accessed on 24/4/2022. Available from: <https://ricetoday.irri.org/genetically-engineered-rice-with-high-levels-of-iron-and-zinc-is-developed/>.

## Study on several quality traits and ecological factors of Khau cam xang variety in Con Cuong district, Nghe An province

Hoang Thi Hue, Vu Van Doan, La Tuan Nghia

### Abstract

The study aimed to evaluate the current production status, value, some quality traits and ecological factors of Khau cam xang variety in Con Cuong district, Nghe An province for building geographical instruction. The results showed that, Khau cam xang grain has a high production value compared to other rice types; the selling price is double compared to ordinary nonsticky rice and 1.5 times as to local sticky rice. Despite being the sticky rice, Khau cam xang has an extended grain quality, elongated grain shape and purple color; the content of valuable nutrients (anthocyanin, omega, protein, fiber, vitamin B1) is higher than that of many other rice varieties. The quality of Khau Cam Xang grain is very sensitive to the ecological conditions of the production area, especially the iron and zinc content in the rice cultivated in Con Cuong is more than 2 times higher than that of the rice cultivated in Hoai Duc district, Hanoi city. According to this research and analysis, it was concluded that ecological factors such as geographical location, climate, temperature, and soil affect the grain quality of Con Cuong Khau cam xang.

**Keywords:** Khau Cam Xang rice variety, geographical indication, rice grain quality

Ngày nhận bài: 18/5/2022

Ngày phản biện: 16/6/2022

Người phản biện: PGS.TS. Đào Thế Anh

Ngày duyệt đăng: 30/5/2022

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ NGUỒN GEN NẤM LINH CHI DỰA TRÊN TRÌNH TỰ ITS

Nguyễn Thị Giang<sup>1</sup>, Lê Huy Hàm<sup>1</sup>, Nguyễn Xuân Cảnh<sup>2</sup>, Kiều Thị Dung<sup>1</sup>, Mai Đức Chung<sup>1</sup>, Khuất Hữu Trung<sup>1</sup>, Phạm Xuân Hội<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 13 mẫu nấm Linh chi được khảo sát đa dạng di truyền sử dụng trình tự ITS (Internal transcribed spacer) của gen ribosom nhân. Hệ sợi của các mẫu nấm thu thập được phân lập trên môi trường PDA. Vùng ITS1 + 5,8S + ITS2 được khuếch đại bằng PCR với cặp mồi ITS4/ITS5. Trình tự ITS của 13 mẫu nấm được phân tích và xây dựng cây phân loại. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ số tương đồng di truyền của 13 mẫu nấm Linh chi thu thập được dao động trong khoảng 69,08% (giữa hai chủng D3 và D10) đến 100% (giữa chủng DT và D20). Dựa vào cây quan hệ phát sinh loài của 13 mẫu nấm Linh chi và các mẫu tham chiếu, đã xác định được các mẫu nấm có sự đa dạng di truyền cao; mẫu D3 thuộc loài *Fomitopsis subtropica*; mẫu D6, D9 thuộc loài *Ganoderma flexipes*; mẫu D20, DT và Dk3 thuộc loài *Ganoderma lingzhi*; mẫu DK và D18 thuộc loài *Ganoderma sichuanense*; các mẫu D5, D16 thuộc loài *Amauroderma rugosum*; mẫu D7, D8, D10 thuộc loài *Ganoderma australe*.

**Từ khóa:** Nấm Linh chi, đa dạng di truyền, giải trình tự, ITS (Internal transcribed spacer)

<sup>1</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp

<sup>2</sup> Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\* Tác giả liên hệ, e-mail: [huonggiang\\_234@yahoo.com](mailto:huonggiang_234@yahoo.com)

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Linh chi được sử dụng nhiều tại các nước châu Á trong hơn hai thiên niên kỷ như một loại thuốc truyền thống để tăng cường sức khỏe và tuổi thọ của con người. Trong nhiều thập kỷ qua, ngành nấm Linh chi đã phát triển vượt bậc và cung cấp ra thị trường hàng nghìn sản phẩm phục vụ cho các mục đích y tế (Hapuarachchi *et al.*, 2018). Do có giá trị kinh tế và dược liệu lớn nên ngày càng nhiều các chủng giống Linh chi được trồng tại nhiều nơi trên thế giới để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ. Tuy nhiên, hiện nay do quá trình canh tác và sử dụng nhiều nên hiện tượng cùng một chủng với nhiều tên gọi khác nhau hay các chủng khác nhau lại có cùng tên gọi. Nhiều chủng giống đã già và thoái hóa vẫn được đưa vào sản xuất gây khó khăn rất lớn không chỉ đối với các nhà sản xuất mà còn là cản trở rất lớn cho công tác chọn tạo giống nấm. Vì vậy, việc đánh giá, phân loại các chủng giống nấm trước khi đưa vào khai thác và sử dụng là việc làm cấp thiết hiện nay.

Các đặc điểm hình thái là một phương pháp truyền thống đã được sử dụng trong phân loại và đánh giá đa dạng di truyền của nhiều loại nấm từ rất sớm. Phương pháp này có ưu điểm là tiện lợi, nhanh chóng, kinh tế và có thể so sánh các đặc điểm giữa các loài hoá thạch với các loài đang sống để tìm kiếm mối quan hệ họ hàng giữa chúng. Tuy nhiên, phương pháp này nhiều khi không chính xác vì có hiện tượng đồng quy tính trạng và không phân biệt được các loài đồng hình (Krishnan *et al.*, 2011), mặt khác bởi hình thái chính là kết quả của biểu hiện gene trong một điều kiện ngoại cảnh nhất định nên việc hoàn toàn dựa vào hình thái đôi khi dẫn đến các kết quả không xác thực, nhất là đối với các taxon thực vật có mức độ thường biến cao. Vì thế, việc sử dụng các marker phân tử để phản ánh đa hình ở mức độ DNA đóng vai trò ngày càng quan trọng trong công nghệ sinh học nông nghiệp và đặc biệt là lĩnh vực nghiên cứu di truyền và đánh giá nhanh sự đa dạng di truyền của các loài nấm ăn (Kumar *et al.*, 2009).

Ở Việt Nam, việc phân loại các chủng giống nấm hiện nay chủ yếu dựa trên các đặc điểm về mặt hình thái; một số nghiên cứu cũng đã sử dụng trình tự ITS (internal transcribed spacer) để tiến hành đánh giá đa dạng di truyền của một số giống nấm, tuy nhiên kết quả còn khá hạn chế (Liểu Như Ý và Trần Nhân Dũng, 2012). Vì vậy, trong nghiên cứu này

chúng tôi tiến hành đánh giá đa dạng di truyền dựa trên trình tự ITS của các mẫu nấm Linh chi được thu thập ngoài tự nhiên và tại một số cơ sở nuôi trồng nấm trên cả nước nhằm mục đích phân loại và khai thác hiệu quả các nguồn gen nấm Linh chi phục vụ cho công tác chọn tạo giống nấm trong tương lai.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu được sử dụng trong các thí nghiệm bao gồm 13 chủng giống nấm Linh chi thu thập ở Hà Nội, Bắc Giang, Quảng Ninh, Quảng Nam, Khu bảo tồn quốc gia Đồng Nai, Vườn quốc gia Bidoup (Bảng 1).

**Bảng 1.** Các chủng giống Linh chi thu thập

STT	Tên giống	Nguồn gốc
1	DT	Quảng Ninh
2	D20	Bắc Giang
3	D3	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
4	D5	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
5	D7	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
6	D8	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
7	Dk	Hà Nội
8	Dk3	Hà Nội
9	D18	Quảng Nam
10	D6	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
11	D9	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
12	D10	Vườn QG Bidoup, Lâm Đồng
13	D16	Khu bảo tồn quốc gia Đồng Nai

Hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu là các hóa chất thông dụng dùng trong sinh học phân tử của các hãng Sigma, Merck,... CTAB, Tris base, Boric acid, NaCl, dNTPs, EDTA, 6X orange loading dye solution, *Taq* Polymerase, cồn, 2-propanol, axit acetic glacial, phenol, chloroform, isoamylalcohol, agarose, các môi ITS.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp tách chiết ADN tổng số: Theo phương pháp CTAB của Doyle và Doyle (1987) có một số cải tiến nhỏ: 0,3 g mẫu sợi nấm Linh chi sau khi cấy trên môi trường PDA được nghiền mịn bằng chày cối sứ vô trùng trong nitor lỏng, cho vào ống eppendorf và bổ sung 800 mL CTAB buffer và 60 mL SDS 10%. Thành phần dung dịch đệm chiết:

Tris-base 100 mM, EDTA 20 mM, NaCl 1,4 M, CTAB 2% và PVP 1%. Ủ mẫu ở 65°C trong bể ổn nhiệt trong 30 phút. Bổ sung thể tích chloroform: isoamylalcohol (24 : 1), lắc nhẹ cho tới khi thành dạng nhũ sữa. Ly tâm 11.000 vòng/phút trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Hút dung dịch phía trên chuyển sang ống mới. Tiếp tục chiết lần 2 bằng chloroform: isoamylalcohol (24 : 1), thu được dịch chiết chứa ADN. Tủa ADN bằng isopropanol đã làm lạnh. Để ở -20°C trong 1 giờ. Ly tâm thu tủa 11.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Rửa tủa bằng ethanol 70%, ly tâm thu tủa. Làm khô và hòa tan ADN, loại ARN bằng RNase, hòa tan ADN trong đệm TE.

- Thành phần và chu trình nhiệt của phản ứng PCR: Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Veriti 96 well Thermal cycler với cặp mỗi ITS4/ITS5: TCCTCCGCTTATTGATATGC/GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG. Tổng thể tích của phản ứng PCR là 15 µL bao gồm: 1,5 µL Đệm PCR (2,5 mM MgCl<sub>2</sub>); 0,3 µL dNTP 10 mM; 0,2 µL Taq ADN polymerase 5U; 2,0 µL mỗi 10 mM; 2,0 µL ADN; 9 µL nước cất hai lần khử ion. Các phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: 94°C (5 phút), 35 chu kì lặp lại [94°C (1 phút); 58°C (45s), 72°C (50s)] và kết thúc ở 72°C (7 phút).

- Điện di sản phẩm PCR: Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, chạy điện di ở hiệu điện thế 130 V trong thời gian 45 phút và được soi dưới đèn tử ngoại, ADN sẽ được phát sáng nhờ liên kết với ethidium bromide.

- Phương pháp thổi gel: Sản phẩm PCR được phân cắt và tinh sạch đoạn bằng khuếch đại theo kit Qiagen.

- Giải trình tự: Sản phẩm PCR ITS sau khi được tinh sạch, được giải trình tự tại công ty Macrogen (Hàn Quốc). Kết quả giải trình tự được so sánh với các trình tự tương đồng trên NCBI. Sau đó, các trình tự được tập hợp lại và phân tích bằng chương trình MEGA 6.06 để tạo cây phát sinh loài.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2018 đến năm 2020 tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm - Viện Di truyền Nông nghiệp.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả phân lập hệ sợi nấm và tách chiết ADN tổng số













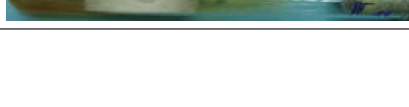
Hệ sợi của các mẫu nấm Linh chi sau khi thu thập sẽ được phân lập bằng cách cấy mô tế bào trên môi trường thạch nghiêng PDA trong ống nghiệm và nuôi trong phòng tối ở nhiệt độ 25°C từ 10 - 15 ngày. Kết quả phân lập cho thấy hệ sợi của các mẫu nấm Linh chi khác nhau hầu hết có hình thái sợi và tốc độ sinh trưởng hệ sợi cũng khác nhau (Bảng 2), cụ thể: Các nguồn gen nấm Linh chi có tốc độ mọc sợi trung bình từ 10,0 mm/ngày đến 15,0 mm/ngày. Nguồn gen D<sub>18</sub> có tốc độ mọc sợi nhanh nhất đạt 13,6 mm/ngày, sợi có màu trắng, mật độ hệ sợi dày. Các nguồn gen nấm D<sub>6</sub>, D<sub>9</sub>, D<sub>11</sub>, D<sub>16</sub> có tốc độ mọc sợi chậm, dao động từ 2,5 mm/ngày đến 7,5 mm/ngày, tuy nhiên mật độ hệ sợi vẫn dày. Nguồn gen D<sub>3</sub> hệ sợi mọc không đều trên bề mặt thạch; D<sub>7</sub>, D<sub>8</sub>, D<sub>10</sub> và có hiện tượng hệ sợi nấm ăn sâu vào giữa ống môi trường thạch nghiêng.



**Hình 1.** Quả thể các mẫu nấm Linh chi thu thập

Ghi chú: A-E. Các mẫu Linh chi thu ở vườn QG Bidoup, Lâm Đồng; F. Mẫu Linh chi thu ở Khu bảo tồn thiên nhiên Đồng Nai.

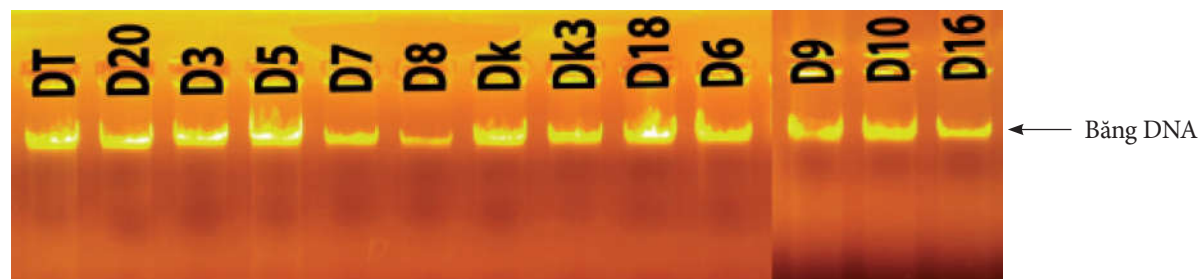
**Bảng 2.** Sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Linh chi trên môi trường PDA sau 7 ngày

TT	Nguồn gen	Tốc độ mọc sợi (mm/ngày)	Đặc điểm hệ sợi	Hình ảnh
1	D20	12,8	Sợi màu trắng, dày và tốc độ mọc nhanh	
2	D18	13,6	Hệ sợi màu trắng, dày. Tốc độ mọc sợi nhanh	
3	D3	7,5	Hệ sợi nấm trắng, mọc sợi không đều trên bề mặt thạch nghiêng	
4	D5	15,0	Hệ sợi màu trắng, mỏng	
5	D6	3,3	Hệ sợi trắng, dày. Tốc độ mọc sợi chậm	
6	D7	12,52	Hệ sợi trắng, dày, có hiện tượng phá thạch trong quá trình mọc sợi	
7	D8	10,71	Hệ sợi trắng, dày, có hiện tượng phá thạch trong quá trình mọc sợi	
8	D9	3,3	Hệ sợi trắng, dày. Tốc độ ăn sợi chậm	
9	D10	10,0	Hệ sợi trắng, dày, có hiện tượng phá thạch trong quá trình mọc sợi	
10	D16	2,5	Hệ sợi trắng, dày. Tốc độ mọc sợi chậm	
11	Dk	12,5	Hệ sợi màu trắng, dày. Tốc độ mọc sợi nhanh	
12	Dk3	13,0	Hệ sợi màu trắng, dày. Tốc độ mọc sợi nhanh	
13	DT (Đ/C)	12,9	Hệ sợi nấm trắng, dày. Tốc độ mọc sợi nhanh	

### 3.2. Tách chiết ADN tổng số và khuếch đại PCR của các chủng nấm Linh chi

Tiến hành tách chiết ADN tổng số của hệ sợi của các mẫu nấm Linh chi sau khi phát triển kín

ống nghiệm. Kết quả điện di trên gel agarose 1,5% cho thấy ADN của 13 chủng nấm Linh chi sau tách chiết đều cho nồng độ và độ tinh sạch cao, các băng gọn sắc nét đảm bảo cho các bước thí nghiệm tiếp theo (Hình 2).

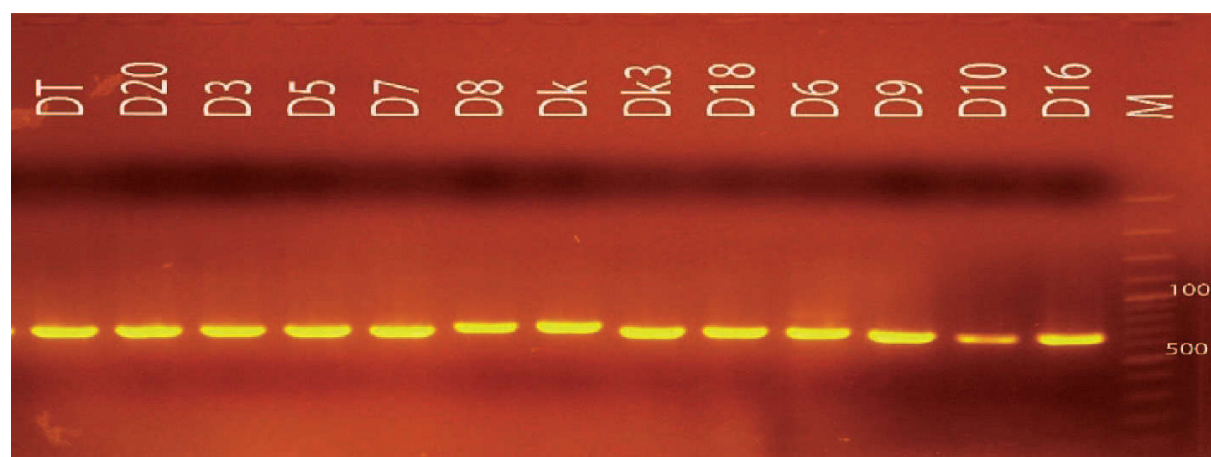


**Hình 2.** Băng ADN tổng số các mẫu nấm Linh chi điện di trên gel Agarose 1,5%

Ghi chú: DT - D16 (giếng 1 - 13): Các mẫu giống Linh chi theo danh sách ở bảng 1.

Thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi ITS4/ITS5, kết quả 13 chủng nấm Linh chi đều

cho băng đơn hình với kích thước dao động từ 600 - 650 bp (Hình 3).



**Hình 3.** Kết quả PCR của 13 chủng Linh chi nghiên cứu với cặp mồi ITS4/ITS5

Ghi chú: DT - D16 (giếng 1 - 13): Các mẫu giống Linh chi theo danh sách ở bảng 1; M: Marker generuler 100 bp plus DNA.

### 3.3. Kết quả giải trình tự vùng ITS-rDNA của các chủng nấm Linh chi

Sản phẩm PCR với cặp mồi ITS4/ITS5 sau khi tinh sạch được phân tích trực tiếp trên máy giải trình tự ABI PRISM 3700 DNA Analyzer (Applied Biotech) của công ty Macrogen (Hàn Quốc) và phần mềm MEGA v6.06. Trình tự của 13 chủng nấm Linh chi được so sánh với trình tự tham chiếu đã được công bố trên NCBI.

Kết quả tổng hợp ở bảng 3 cho thấy, do có sự mất đoạn hay thêm đoạn (InDel) ở một số vị trí

trên đoạn gen nên số lượng nucleotide tổng số của mỗi đoạn trình tự khác nhau giữa các mẫu nghiên cứu. Chiều dài vùng ITS có sự khác biệt giữa các mẫu nấm Linh chi đại diện cho các taxon khảo sát, độ dài thấp nhất là 593 nucleotit (mẫu D16). Năm chủng nấm Linh chi là DT, D20, Dk, Dk3 và D18 có độ dài 607 nucleotit. Chủng D3 có độ dài nucleotit lớn nhất là 643 nucleotit. Các trình tự tham chiếu có kích thước khá tương đồng với các mẫu nghiên cứu (Bảng 3).

**Bảng 3.** Độ dài trình tự của 13 chủng nấm Linh chi nghiên cứu và các mẫu tham chiếu

STT	Tên giống	Tổng số Nucleotide
1	DT	607
2	D20	607
3	D3	643
4	D5	609
5	D7	615
6	D8	616
7	Dk	607
8	Dk3	607
9	D18	607
10	D6	610
11	D9	610
12	D10	614
13	D16	593
14	JN643731.1 <i>Ganoderma australe</i>	599
15	JQ781869.1 <i>Ganoderma lingzhi</i>	607
16	KJ531674.1 <i>Amauroderma rugosum</i>	609
17	JQ781862.1 <i>Ganoderma lingzhi</i>	607
18	KR605787.1 <i>Fomitopsis subtropica</i>	605
19	KY244063.1 <i>Ganoderma sichuanense</i>	607
20	JN383978.1 <i>Ganoderma flexipes</i>	611

### 3.4. Kết quả phân tích đa dạng di truyền giữa 13 chủng nấm Linh chi nghiên cứu

Sự khác biệt về trình tự vùng ITS1-rRNA-ITS2 giữa các mẫu khảo sát được thể hiện thông qua hệ số tương đồng thu được sau khi sử dụng phần mềm CLC v8.0 để đo khoảng cách di truyền, số liệu thu được tổng hợp trong bảng 4. Kết quả thấy mức tương đồng về trình tự nucleotide của 13 chủng nấm Linh chi thu thập dao động trong khoảng 69,08% (giữa hai chủng D3 và D10) đến 100% (giữa chủng DT và D20). Hai chủng DT và D20 cũng tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781862.1 *Ganoderma lingzhi*. Chủng D5 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KJ531674.1 *Amauroderma rugosum*. Chủng Dk tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KY244063.1

*Ganoderma sichuanense*. Chủng Dk3 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781869.1 *Ganoderma lingzhi*.

Dựa vào kết quả phân tích trình tự nucleotid vùng ITS1-rRNA-ITS2 của 13 chủng nấm Linh chi, tiến hành xây dựng cây quan hệ phát sinh bằng phần mềm Mega 6.0 theo phương pháp Maximum likelihood, kết quả cho thấy 13 chủng nấm Linh chi có sự đa dạng về di truyền thể hiện ở hình 4.

Kết quả từ cây phân loại cho thấy 13 chủng nấm Linh chi và 7 chủng tham chiếu là JN643731.1 *Ganoderma australe*, JQ781869.1 *Ganoderma lingzhi* KJ531674.1 *Amauroderma rugosum*, JQ781862.1 *Ganoderma lingzhi*, KR605787.1 *Fomitopsis subtropica*, KY244063.1 *Ganoderma sichuanense*, JN383978.1 *Ganoderma flexipes* được chia thành 5 nhóm:

Nhóm thứ nhất gồm chủng Linh chi D3 và chủng tham chiếu KR605787.1 *Fomitopsis subtropica*. Chủng D3 tương đồng về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu này là 93,78%.

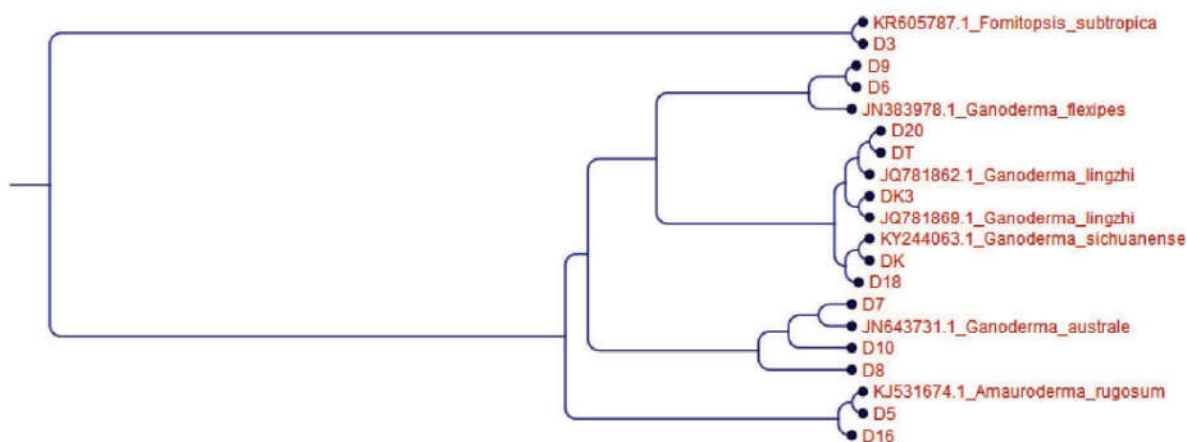
Nhóm thứ hai gồm 2 chủng D6, D9 và chủng tham chiếu JN383978.1 *Ganoderma flexipes*. Hai chủng này có mức tương đồng về trình tự nucleotide với nhau là 99,84% và tương đồng với chủng tham chiếu JN383978.1 là 99,69% (chủng D6 và chủng tham chiếu) và 99,85% (chủng D9 và mẫu tham chiếu).

Nhóm thứ 3 gồm 5 chủng là D20, DT, Dk3, Dk và D18 có mức tương đồng về trình tự nucleotide dao động từ 99,34% (giữa chủng D18 với các chủng DT, D20 và DK3) đến 100% (giữa chủng DT và D20). Năm chủng trong nhóm 3 được chia làm 3 phân nhóm phụ: Phân nhóm phụ thứ nhất gồm 2 chủng D20, DT với chủng tham chiếu JQ781862.1 *Ganoderma lingzhi*. Hai chủng này tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781862.1 *Ganoderma lingzhi*. Phân nhóm phụ thứ hai gồm chủng Dk3 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781869.1 *Ganoderma lingzhi*. Phân nhóm phụ thứ ba gồm chủng Dk, D18 và chủng tham chiếu KY244063.1 *Ganoderma sichuanense*. Chủng Dk tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KY244063.1. Chủng D18 tương đồng 99,67% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KY244063.1.

**Bảng 4.** Mức tương đồng về trình tự nucleotide của 13 chủng nấm Linh chi nghiên cứu

	DT	A	D20	D5	D7	D3	D8	Dk	D6	D16	F	G	D9	D10	Dk3	D18	B	C	D	E		
DT																						
A	90.24																					
D20	100	90.24																				
D5	91.84	88.67	91.84																			
D7	91.38	95.77	91.38	89.64																		
D3	76.45	71.71	76.45	73.25	72.92																	
D8	91.56	95.29	91.56	89.82	96.27	73.83																
DK	99.67	90.24	99.67	91.84	91.38	76.15	91.56															
D6	94.60	90.10	94.60	92.20	91.40	75.19	91.25	94.60														
D16	89.23	90.55	89.23	97.04	87.22	70.82	87.08	89.23	89.59													
F	99.67	90.24	99.67	91.84	91.38	76.15	91.56	99.67	94.6	89.23												
G	91.84	88.67	91.84	100	89.64	73.25	89.82	91.84	92.2	97.04	91.84											
D9	94.44	90.26	94.44	92.36	91.56	75.04	91.41	94.44	99.84	89.76	94.44	92.36										
D10	87.52	90.76	87.52	85.48	91.41	69.08	91.26	87.52	87.2	83.39	87.52	85.48	87.36									
DK3	99.67	90.24	99.67	91.84	91.38	76.15	91.56	99.67	94.6	89.23	100	91.84	94.44	87.52								
D18	99.34	90.24	99.34	91.84	91.38	75.84	91.56	99.67	94.6	89.23	99.34	91.84	94.44	87.52	99.34							
B	100	90.24	100	91.84	91.38	76.45	91.56	99.67	94.6	89.23	99.67	91.84	94.44	87.52	99.67	99.34						
C	70.95	70.39	70.95	67.78	68.53	93.78	68.38	70.64	69.71	69.63	70.64	67.78	69.56	65.31	70.64	70.34	70.95					
D	99.67	90.24	99.67	91.84	91.38	76.15	91.56	100	94.6	89.23	99.67	91.84	94.44	87.52	99.67	99.67	99.67	70.64				
E	94.60	89.94	94.60	92.20	91.23	75.19	91.09	94.60	98.69	89.59	94.60	92.20	98.85	87.06	94.60	94.60	94.60	69.71	94.60			

Ghi chú: Các chủng tham chiếu: A: JN643731.1 *Ganoderma australe*; B: JQ781862.1 *Ganoderma lingzhi*; C: KR605787.1 *Fomitopsis subtropica*; D: KY244063.1 *Ganoderma sichuanense*; E: JN383978.1 *Ganoderma flexipes*; F: JQ781869.1 *Ganoderma lingzhi*; G: KJ531674.1 *Amauroderma rugosum*.



**Hình 4.** Cây phát sinh chủng loại vùng gen ITS của 13 chủng nấm Linh chi và các chủng tham chiếu

Nhóm thứ 4 gồm 2 chủng D5, D16 và chủng tham chiếu KJ531674.1 *Amauroderma rugosum*. Hai chủng này có mức tương đồng về trình tự nucleotide với nhau là 97,04%. Chủng D5 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KJ531674.1. Chủng D16 tương đồng 97,04% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KJ531674.1.

Nhóm thứ 5 gồm 3 chủng D7, D8, D10 và chủng tham chiếu JN643731.1 *Ganoderma australe*. Ba chủng D7, D8, D10 có mức tương đồng về trình tự nucleotide với nhau dao động từ 95,26% (giữa chủng D8 và D10) đến 96,27% (giữa chủng D7 và D8). Ba chủng này tương đồng về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JN643731.1 lần lượt là 95,77% và 95,29%, 90,76%.

#### IV. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả phân tích trình tự nucleotid vùng ITS1-rRNA-ITS2 cho thấy 13 chủng nấm Linh chi có sự đa dạng về di truyền cụ thể mức tương đồng về trình tự nucleotide của 13 chủng nấm Linh chi thu thập dao động từ 69,08% (giữa hai chủng D3 và D10) đến 100% (giữa chủng DT và D20). Mười ba chủng nấm Linh chi thu thập và các mẫu tham chiếu được phân thành 5 nhóm. Hai chủng DT và D20 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781862.1

*Ganoderma lingzhi*. Chủng D5 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KJ531674.1 *Amauroderma rugosum*. Chủng Dk tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu KY244063.1 *Ganoderma sichuanense*. Chủng Dk3 tương đồng 100% về trình tự nucleotide với chủng tham chiếu JQ781869.1 *Ganoderma lingzhi*.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Liều Như Ý và Trần Nhân Dũng**, 2012. Đa dạng di truyền một số loại nấm ăn dựa trên trình tự ITS (Internal transcribed spacer). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 22b: 18-25.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L.**, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.
- Hapuarachchi, K.K., Elkhateeb, W.A., Karunarathna, S.C., Cheng, C.R., Bandara, A. R., Kakumyan, P., & Wen, T.C.**, 2018. Current status of global Ganoderma cultivation, products, industry and market. *Mycosphere*, 9(5): 1025-1052.
- Krishnan, M. Gopi and S. Amerjothy.**, 2011. Morphological diversity and some newly recorded plant galls in Tamil Nadu, India. *Indian Journal of Science and Technology*, 4(9): 1067-1073.
- Kumar P., Gupta V.K., Misra A.K., Modi D. R. and Pandey B. K.**, 2009. Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. *Plant Omics Journal*, 2(4): 141-162.



## Genetic diversity of lingzhi mushroom varieties based on ITS sequences

Nguyen Thi Giang, Le Huy Ham, Nguyen Xuan Canh, Kieu Thi Dung,  
Mai Duc Chung, Khuat Huu Trung, Pham Xuan Hoi

### Abstract

In this study, 13 samples of lingzhi mushrooms were investigated for genetic diversity based on the ITS (Internal Transcribed Spacer) of nuclear ribosomal gene. The mycelia of collected samples were isolated on PDA medium. ITS1 + 5.8S + ITS2 region was amplified by PCR with ITS4 / ITS5 primer pairs. ITS sequences of 13 samples were analyzed and used for building a phylogenetic tree. The result showed that the genetic similarity coefficient of 13 lingzhi mushroom samples ranged from 69.08% (between D3 and D10 strains) to 100% (between DT and D20 strains). The phylogenetic tree of 13 collected samples and references samples showed high diversity: D3 strain belongs to *Fomitopsis subtropica* species; D6 and D9 strains belong to *Ganoderma flexipes* species; D20, DT and Dk3 strains belong to *Ganoderma lingzhi* species; Dk and D18 strains belong to *Ganoderma sichuanense* species; D5 and D16 strains belong to *Amauroderma rugosum* species; D7, D8, D10 belong to *Ganoderma australe* species.

**Keywords:** Lingzhi mushroom, genetic diversity, sequencing, ITS (Internal transcribed spacer)

Ngày nhận bài: 11/10/2020

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Văn Giang

Ngày phản biện: 03/11/2020

Ngày duyệt đăng: 22/12/2020

## ĐÁNH GIÁ TÍNH CHỊU MẶN CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA MÙA TỈNH KIÊN GIANG

Nguyễn Thị Pha<sup>1</sup>, Trần Hoàng Thanh<sup>1</sup>, Nguyễn Khắc Thăng<sup>2</sup>,  
Nguyễn Hữu Minh<sup>2</sup> và Trần Đình Giới<sup>2\*</sup>

### TÓM TẮT

Biến đổi khí hậu làm cho tình trạng xâm nhập mặn ngày một nghiêm trọng đe dọa sản xuất lúa ở đồng bằng sông Cửu Long. Nghiên cứu đánh giá tính chịu mặn của 22 giống lúa mùa thu thập từ tỉnh Kiên Giang so sánh với Pokkali và IR29 để chọn ra các giống lúa triển vọng. Các giống lúa này sau đó được phân tích kiểu gen sử dụng 03 chỉ thị SSR của vùng Saltol QTL (RM140, RM8094 và RM10793) và 01 chỉ thị SSR liên kết với gen tham gia chịu mặn trên nhiễm sắc thể số 8 (RM223). Kết quả đánh giá kiểu hình đã xác định được 06 giống lúa chịu mặn khá (điểm 3 - 5) gồm Nàng Sâu, Lúa Chuối, Nếp 10-2, Nếp 10-3, Tiêu Chệt và OM1352 và 10 giống lúa chịu mặn trung bình (điểm 5 - 7) ở nồng độ mặn 4‰. Phân tích kiểu gen sử dụng các chỉ thị phân tử RM8094, RM223 và RM10793 giúp chọn lọc được giống lúa có khả năng chịu mặn với tỷ lệ chính xác lần lượt là 90%; 81,8% và 76,9%; chỉ thị RM140 xác định được 4 giống lúa có kiểu gen chịu mặn khác với giống Pokkali là Móng Chim Rơi, Tiêu Chệt, Nếp 10-2 và Bằng Đỏ. Các giống lúa này đang được khảo nghiệm tại Kiên Giang để chọn ra những giống lúa triển vọng đưa vào sản xuất.

**Từ khóa:** Lúa mùa, chịu mặn, chỉ thị SSR

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kiên Giang là tỉnh còn nhiều diện tích lúa mùa nhất ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) do được sử dụng trong các mô hình lúa - tôm, lúa - cá ở các huyện vùng U Minh Thượng với khoảng 50 - 60

ngàn ha/năm. Lúa - tôm được xem là mô hình sản xuất thông minh trên đồng đất ven biển tỉnh Kiên Giang trong điều kiện biến đổi khí hậu ngày càng diễn biến phức tạp hiện nay (Sở Khoa học và Công nghệ Kiên Giang, 2019). Tuy nhiên, lúa là một

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

\* Tác giả liên hệ, e-mail: tdgioi@gmail.com