

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA 10 MẪU GIỐNG NẤM SÒ (*Pleurotus* spp.) BẰNG CHỈ THỊ RAPD VÀ ISSR

Đình Trường Sơn^{1,2}, Nguyễn Thị Ngọc Ánh¹, Nguyễn Thu Hằng¹,
Nguyễn Thị Bích Thủy^{1,3}, Nông Thị Huệ¹, Ngô Xuân Nghiên^{1,3*}

¹Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Sinh học Nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³Viện Nghiên cứu và Phát triển Nấm ăn, nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: nxnghienvn@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 15.08.2023

Ngày chấp nhận đăng: 25.12.2023

TÓM TẮT

Nấm sò (*Pleurotus* spp.) được tiêu thụ phổ biến trên thế giới do có mùi vị thơm ngon, giá trị dinh dưỡng cao, một số loài còn có dược tính quý. Bên cạnh thông tin về kiểu hình thì thông tin về vật liệu di truyền của các mẫu giống là đặc biệt quan trọng, góp phần định hướng cho các nhà chọn giống lựa chọn được nguồn vật liệu phù hợp và làm cơ sở cho hình thành các cặp lai hữu tính. Nghiên cứu này đã tiến hành phân tích sự đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò bằng 20 chỉ thị RAPD và 17 chỉ thị ISSR. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin cho các chương trình chọn tạo giống nấm sò. Kết quả đã nhân bản được tổng số 560 locus trong đó có 552 locus đa hình, 2.138 băng vạch sản phẩm PCR. Phân tích kết hợp cả hai chỉ thị RAPD và ISSR cho thấy hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò dao động từ 0,459-0,755. Ở hệ số tương đồng di truyền trung bình là 0,579, 10 mẫu giống nấm sò được chia thành 3 nhóm chính. Như vậy 10 mẫu giống nấm sò trong nghiên cứu này có mức độ đa dạng di truyền cao và có thể được sử dụng cho công tác chọn tạo giống nấm sò mới.

Từ khoá: Nấm sò, *Pleurotus* spp., chỉ thị ISSR, chỉ thị RAPD, đa dạng di truyền.

Genetic Diversity Analysis of 10 Oyster Mushrooms (*Pleurotus* spp.) Accessions by RAPD and ISSR Markers

ABSTRACT

Oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) are widely consumed in the world due to their delicious taste, high nutritional value and medicinal properties. For breeding program to develop new cultivars, besides phenotypic characteristics genetic characterization of the material is important since it helps breeders to choose suitable materials for hybridization. This study analyzed the genetic diversity of 10 oyster mushroom accessions using 20 RAPD markers and 17 ISSR markers to provide information for oyster mushroom breeding programs. The markers amplified a total of 560 loci with 552 polymorphic loci and 2,138 PCR product bands. When combining both RAPD and ISSR markers, the genetic similarity coefficient of 10 oyster accessions ranged from 0.459 to 0.755. At the average genetic similarity coefficient of 0.579, 10 oyster mushroom accessions were divided into 3 main groups. These results indicate that 10 collected oyster mushroom accessions had a high level of genetic diversity and can be used for new oyster mushrooms breeding program.

Keywords: Oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.), ISSR, RAPD, genetic diversity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm sò thuộc chi *Pleurotus* (Fr) P.Kumm bao gồm khoảng 200 loài, sống trên thân gỗ.

Nấm sò được tiêu thụ phổ biến trên thế giới do có mùi vị thơm ngon, giá trị dinh dưỡng cao, đặc biệt một số loài có giá trị dược tính quan trọng như tác dụng chống ung thư, hạ cholesterol

máu, hạ huyết áp, trị đái tháo đường, chống béo phì, bảo vệ gan, chống lão hóa, kháng khuẩn, chống dị ứng và chống oxy hóa... Chính vì vậy, nấm sò được đánh giá là nấm có giá trị dinh dưỡng cao và có tiềm năng sử dụng làm thuốc, thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm dinh dưỡng quan trọng (Khan & Tania, 2012; Nguyễn Thị Bích Thủy & cs., 2013). Một số loài thuộc chi này rất giàu protein với các axit amin thiết yếu, chứa polysacarit và axit béo thiết yếu, chất xơ, chất khoáng và một số vitamin. Các loài nấm sò được nuôi trồng chủ yếu gồm *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus columbinus*, *Pleurotus tuberregium*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajorcaju*, *Pleurotus pulmonarius* (Trịnh Tam Kiệt & cs., 2011; Otieno & cs., 2015; Tôn Nữ Hải Âu, 2017; Raman & cs., 2020).

Ở Việt Nam, nhiều chủng loại nấm sò như nấm sò vàng, nấm sò nâu, sò hồng, sò trắng... đã được nghiên cứu nhưng mới tập trung chủ yếu vào chọn giống cũng như phát triển quy trình nuôi trồng (Vũ Thị Kim Ngân & Trịnh Tam Kiệt, 2008; Nguyễn Hoàng Thanh & cs., 2019; Trần Đông Anh & cs., 2021; Lê Thị Thu Hương & cs., 2022; Nguyễn Thị Huyền Trang & cs., 2022). Đã có một số công trình nghiên cứu đa dạng di truyền trên nấm sò vua (*Pleurotus eryngii*) bằng các chỉ thị phân tử Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (Nguyễn Thị Bích Thủy & cs., 2013). Mặc dù vậy, số lượng công trình nghiên cứu sự đa dạng di truyền của các mẫu giống nấm sò còn ít, không tương xứng với tầm quan trọng bậc nhất về nấm ăn và mức độ phổ biến của giống nấm này.

Để phục vụ công tác chọn tạo giống nấm sò mới, bên cạnh thu thập nguồn mẫu giống thì

công tác đánh giá đa dạng di truyền là quan trọng bởi thông tin về sự khác biệt di truyền sẽ góp phần hỗ trợ cho việc lựa chọn các cặp lai có tiềm năng cho ưu thế lai cao hơn. Cho đến nay, nhiều chỉ thị phân tử khác nhau đã được sử dụng để đánh giá sự đa dạng di truyền của một số loài nấm ăn và nấm dược liệu trong đó có nấm sò. Các chỉ thị được sử dụng rộng rãi trong phân tích đa dạng di truyền nấm ăn và nấm dược liệu bao gồm chỉ thị RAPD, Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), Inter Simple Sequence Repeat (ISSR), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)... (Zervakis & cs., 2001; Capelari & Fungaro, 2003; Ro & cs., 2007; Wang & cs., 2012; Yin & cs., 2012). Trong các chỉ thị trên, chỉ thị RAPD và ISSR là hai chỉ thị đa locus, dễ dàng được thực hiện, có khả năng phát hiện đa hình cao nên rất hiệu quả trong công tác đánh giá đa dạng di truyền, phù hợp cho đánh giá đa dạng di truyền của các dòng vật liệu sẽ sử dụng làm bố mẹ trong phép lai hữu tính (Rao & cs., 2007). Nghiên cứu này đã thu thập và phân tích sự đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò bằng 20 chỉ thị RAPD và 17 chỉ thị ISSR nhằm cung cấp thông tin cho các chương trình chọn tạo giống nấm sò ở nước ta.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

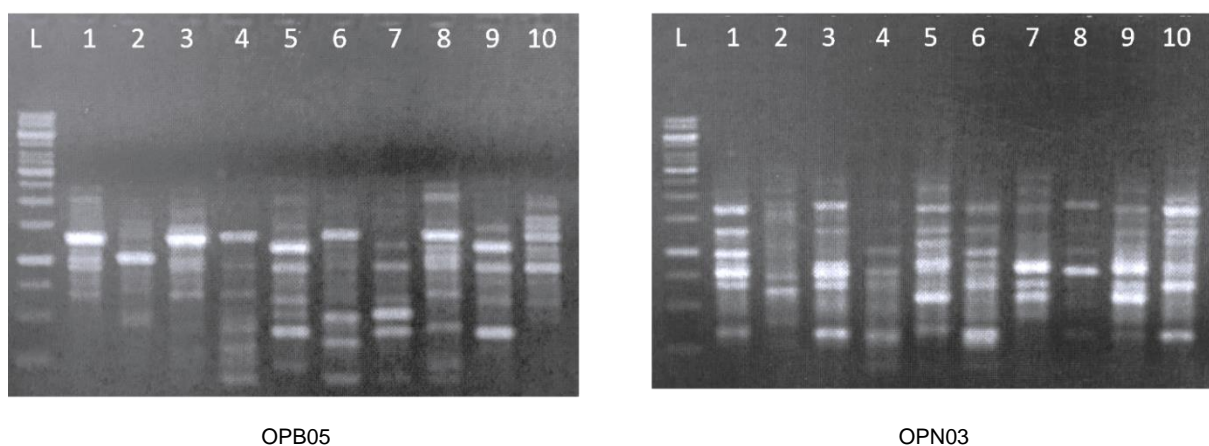
2.1. Vật liệu

Đối tượng: 10 mẫu giống nấm sò: PN1, PN2, PN8, PN15, PN19, PN20, PN28, PN30, PN50, PN1142, được thu thập và lưu giữ tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Nấm ăn, Nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam (Bảng 1).

Bảng 1. Danh sách 10 mẫu giống nấm sò và nguồn gốc thu thập

Tên mẫu nấm	Nguồn gốc	Tên mẫu nấm	Nguồn gốc
PN1	Thái Lan	PN20	Nhật
PN2	Mỹ	PN28	Trung Quốc
PN8	Thái Lan	PN30	Thái Lan
PN15	Hàn Quốc	PN50	Việt Nam
PN19	Thái Lan	PN1142	Việt Nam

Đánh giá đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò (*Pleurotus* spp.) bằng chỉ thị RAPD và ISSR



Hình 1. Kết quả chạy điện di sản phẩm PCR của 10 mẫu giống nấm sò với môi OPB05 và OPN03

Bảng 2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền của các chỉ thị RAPD trên 10 mẫu giống nấm sò

Tên môi RAPD	Trình tự môi (5'-3')	Nhiệt độ bắt môi (°C)	Tổng số locus phát hiện được	Số locus đa hình	Tổng số băng nhân bản được	Trung bình số băng/ mẫu	Chỉ số đa hình PIC của mỗi locus	Chỉ số sai khác giữa các cặp môi (Rp)
APG05	CTGAGACGGA	32	18	17	94	9,4	0,35	9,6
APH18	GAATCGGCCA	32	20	19	103	10,3	0,35	10,2
OPA01	CAGGCCCTTC	34	16	16	55	5,5	0,38	9,0
OPA02	TGCCGAGCTG	34	15	15	64	6,4	0,37	8,0
OPA04	AATCGGGCTG	32	12	12	52	5,2	0,39	7,2
OPA05	AGGGGTCTTG	32	14	14	59	5,9	0,37	8,2
OPA18	AGGTGACCGT	32	12	10	63	6,3	0,33	5,8
OPB04	GGA CTGGAGT	32	15	15	60	6	0,43	10,8
OPB05	TGCGCCCTTC	34	15	15	57	5,7	0,40	9,0
OPB17	AGGGAACGAG	32	14	13	58	5,8	0,36	7,6
OPC01	TTCGAGCCAG	32	14	14	53	5,3	0,40	8,6
OPC03	GGGGGTCTTT	32	14	14	56	5,6	0,34	7,2
OPC04	CCGCATCTAC	32	14	14	61	6,1	0,38	8,2
OPC08	TGGACCGGTG	34	17	17	78	7,8	0,40	10,0
OPC13	AAGCCTCGTC	32	14	13	71	7,1	0,37	7,8
OPD02	GGACCCAACC	34	17	17	71	7,1	0,46	13,0
OPE04	GTGACATGCC	32	13	12	49	4,9	0,34	7,0
OPG11	TGCCCGTCGT	34	18	17	69	6,9	0,35	9,4
OPN03	GGTACTCCCC	34	16	16	55	5,5	0,40	10,6
OPR09	TGAGCACGAG	32	14	14	56	5,6	0,40	8,8
Tổng			302	294	1.284			
Trung bình /môi			15,1	14,7	64,2		0,38	8,8
Trung bình/mẫu giống			30,2	29,4	128,4			

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khoảng 50mg hệ sợi các mẫu giống nấm sò được sử dụng để tách chiết DNA theo quy trình đã công bố (Masoomi-Aladizgeh & cs., 2019). Độ nguyên vẹn và tinh sạch của các mẫu DNA được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên agarose 1,0% và trên máy đo quang phổ Eppendorf BioPhotometer Plus ở bước sóng 260 và 280nm.

Trình tự, nhiệt độ gắn mỗi của các chỉ thị RAPD và ISSR được thể hiện trên bảng 2 và bảng 4. Mỗi ISSR (UBC_ISSR) được thiết kế bởi University of British Columbia, Canada; mỗi RAPD được thiết kế bởi Operon Tech. Inc. Alameda, CA, USA

Phản ứng PCR được thực hiện với bộ kit thương mại MyTaq™ mix 2X (Bioline, UK), nồng độ mỗi là 0,5µm và 10ng DNA khuôn, với chu trình nhiệt: 94°C - 5 phút, (94°C - 30 giây, nhiệt độ gắn mỗi phù hợp cho từng mỗi - 30 giây, 72°C - 2 phút) × 35 chu kỳ, 72°C - 10 phút trên máy T100 Thermal Cycler (Bio-Rad). Ma trận nhị phân được thiết lập bằng cách ghi điểm 1 đối với các băng vạch sáng rõ trên bản gel điện và ghi điểm 0 với vị trí không có băng vạch. Hệ số tương đồng di truyền được xác định theo Sokal & Michener (1958) và được thực hiện trên phần mềm NTSYS 2.1.

Mối quan hệ di truyền của các mẫu giống nấm sò được xác định bằng phương pháp phân cụm UPGMA trong phần mềm NTSYSpc 2.1 để xác định. Hệ số PIC được tính bằng công thức $PIC = 1 - \sum(P_{ij})^2$ (Munankarmi & cs., 2018), chỉ số sai khác giữa các cặp mỗi Rp (resolving power) $R_p = \sum I_b$ (Prevost & Wilkinson, 1999). Phân tích thành phần chính (principal component analysis - PCA) và xác định sự tương quan giữa các ma trận được thực hiện bởi Mantel test, phần mềm XLSTAT.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò sử dụng chỉ thị RAPD

Kết quả nhân bản bằng phản ứng PCR với

20 mỗi RAPD thu đã được tổng số 1.032 sản phẩm PCR, trung bình 60,7 băng/mỗi (dao động từ 49 băng - 103 băng). Chỉ thị APH18 nhân bản được tổng số băng lớn nhất (103 băng) trong khi đó chỉ thị OPE04 là mỗi nhân bản được số băng ít nhất (49 băng) (Bảng 2).

Hệ số PIC được dùng để đánh giá khả năng phát hiện đa hình của các locus nhân bản được bởi các mỗi (Guo & Elston, 1999). Giá trị PIC thấp nhất và cao nhất được tìm thấy ở mỗi OPA18 (0,33) và OPD02 (0,46), giá trị PIC trung bình là 0,38 (Bảng 2). Như vậy, có thể kết luận 20 mỗi RAPD có khả năng phát hiện đa hình của 10 mẫu giống nấm sò nghiên cứu là ở mức rất cao. Kết quả nghiên cứu đa dạng di truyền của 15 mẫu giống nấm sò *Pleurotus pulmonarius* phân tích bởi chỉ thị RAPD cho tỷ lệ locus đa hình đạt 79,5% (Yin & cs., 2014). Như vậy, so với kết quả của Yin & cs. (2014) thì tỷ lệ locus đa hình phát hiện được bởi các chỉ thị RAPD ở nghiên cứu này là cao hơn và đạt 97,3% (294 locus đa hình trong tổng số 302 locus nhân bản được, Bảng 2).

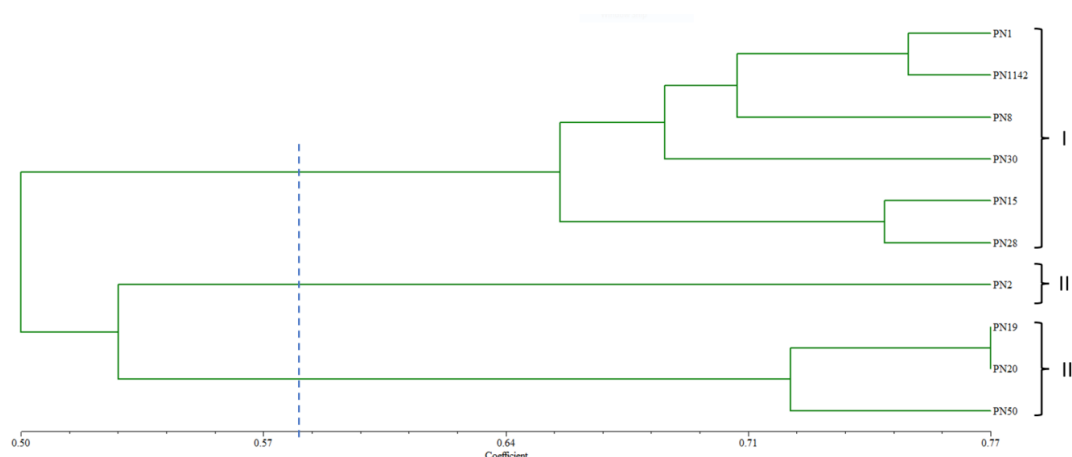
Theo Prevost & Wilkinson (1999), chỉ số Rp của các mỗi tỷ lệ thuận với khả năng phân tích đa dạng di truyền. Chỉ số Rp thấp nhất được quan sát thấy ở mỗi OPA18 (5,8) trong khi đó mỗi OPD02 cho chỉ số Rp cao nhất và đạt 13,0 (Bảng 2).

Mức độ tương đồng di truyền giữa 10 mẫu giống nấm sò được xác định bằng chỉ thị RAPD dao động từ 0,464-0,775 và đạt trung bình là 0,579 (tương ứng với sự tương đồng là 57,9%) (Bảng 3). Kết quả trên cho thấy 10 mẫu giống nấm sò thu thập được là có độ đa dạng di truyền cao rất cao. Kết quả trên là hoàn toàn dễ hiểu bởi các mẫu giống nấm được thu thập ở 6 nước khác nhau nên có sự khác biệt lớn về vật liệu di truyền giữa các mẫu giống. Hệ số tương đồng di truyền của nghiên cứu này là thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Thủy & cs. (2013) cho kết quả hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,64-0,85%.

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền giữa 10 mẫu giống nấm sò được phân tích bởi chỉ thị RAPD được thể hiện trên hình 2.

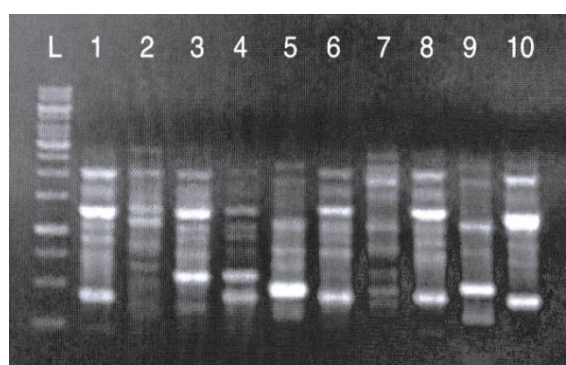
Bảng 3. Hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò được phân tích bởi các môi RAPD (phía dưới đường chéo) và môi ISSR (phía trên đường chéo)

	PN1	PN2	PN8	PN15	PN19	PN28	PN50	PN1142	PN20	PN30
PN1		0,535	0,647	0,628	0,484	0,628	0,504	0,760	0,488	0,674
PN2	0,477		0,570	0,674	0,500	0,566	0,550	0,519	0,581	0,558
PN8	0,709	0,490		0,709	0,543	0,694	0,547	0,663	0,484	0,609
PN15	0,596	0,583	0,682		0,539	0,736	0,566	0,651	0,605	0,589
PN19	0,477	0,483	0,497	0,483		0,469	0,686	0,500	0,733	0,446
PN28	0,705	0,560	0,699	0,745	0,507		0,473	0,690	0,488	0,597
PN50	0,464	0,576	0,477	0,550	0,695	0,520		0,504	0,605	0,512
PN1142	0,752	0,474	0,699	0,632	0,474	0,689	0,467		0,442	0,636
PN20	0,477	0,530	0,523	0,583	0,775	0,546	0,742	0,513		0,457
PN30	0,695	0,490	0,642	0,589	0,470	0,639	0,477	0,712	0,483	



Ghi chú: Tại hệ số tương đồng di truyền là 0,579 (vị trí nét đứt), 10 mẫu giống nấm sò được phân thành 3 nhóm (từ I đến III).

Hình 2. Sơ đồ mối quan hệ di truyền của 10 mẫu giống nấm sò được xác định bởi các môi RAPD



UBC 841



UBC 855

Hình 3. Kết quả chạy điện di sản phẩm PCR của 10 mẫu giống nấm sò với môi UBC 841 và UBC 855

Kết quả trên hình 2 cho thấy: ở hệ số tương đồng di truyền là 0,579 (57,9%), 10 mẫu giống nấm sò được phân thành 3 nhóm chính. Nhóm I có 6 mẫu giống, nhóm II chỉ có 1 mẫu giống và nhóm III có 3 mẫu giống. Dựa trên sơ đồ quan hệ di truyền, mẫu giống PN2 (có nguồn gốc từ Mỹ) là mẫu giống có sự khác biệt di truyền nhiều nhất so với các mẫu giống khác. Hai mẫu giống gần nhất về quan hệ di truyền là PN19 và PN20 (Hình 2).

3.2. Đánh giá đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò bằng chỉ thị ISSR

Nghiên cứu đã sử dụng 17 chỉ thị ISSR và nhân bản được 854 bằng sản phẩm PCR, số sản phẩm/môi dao động từ 25 (UBC 817) tới 67 (UBC 834) sản phẩm và đạt trung bình 50,24

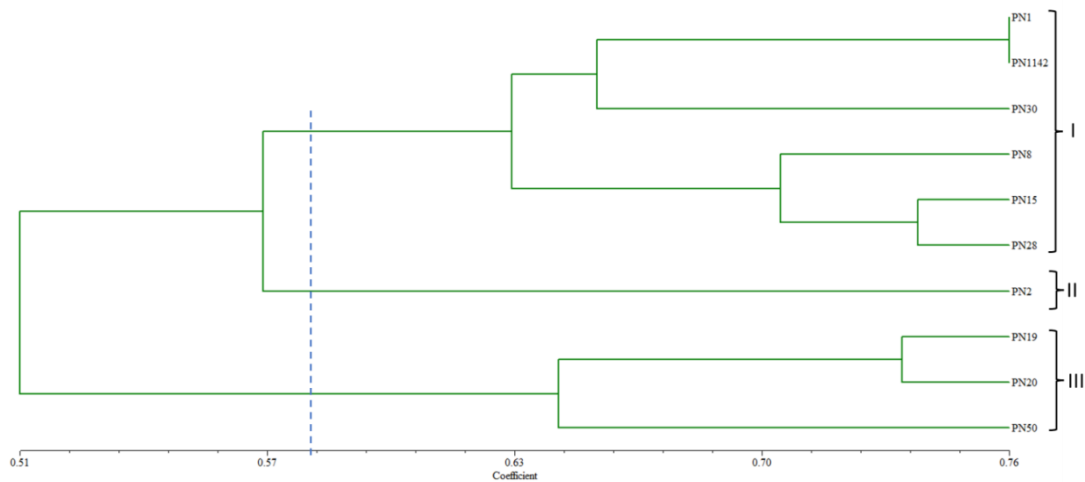
sản phẩm/môi (Hình 3). 17 môi ISSR đã nhân bản được 258 locus, trong đó tỷ lệ locus đa hình là 100%. Môi UBC 817 phát hiện được số locus là thấp nhất (9 locus) trong khi đó môi UBC 873 nhân bản được nhiều locus nhất (21 locus) (Bảng 4).

Wang & cs. (2012) đã sử dụng 24 chỉ thị ISSR để xác định sự đa dạng di truyền của 32 chủng nấm sò *P. eryngii* và nhân bản được 465 locus với tỷ lệ các locus đa hình là 84,3% đa hình. Kết quả phân tích đa dạng di truyền của 15 mẫu giống nấm sò *Pleurotus pulmonarius* bởi chỉ thị ISSR cho tỷ lệ locus đa hình đạt 74,6% (Yin & cs., 2014). Như vậy, kết quả của nghiên cứu này cho tỷ lệ locus đa hình lớn hơn (100%) khi so sánh với kết quả của hai nghiên cứu trên.

Bảng 4. Kết quả phân tích đa dạng di truyền của các chỉ thị ISSR trên 10 mẫu giống nấm sò

Tên môi ISSR	Trình tự môi (5'-3')	Nhiệt độ bắt môi (°C)	Tổng số locus phát hiện được	Tỷ lệ locus đa hình (%)	Tổng số băng nhân bản được	Trung bình số băng/mẫu	Chỉ số đa hình PIC của mỗi locus	Chỉ số sai khác giữa các cặp môi (Rp)
ISSR 3	AGAGAGAGAGAGAGATC	53,9	11	100	42	4,2	0,42	7,6
UBC 808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52,4	18	100	66	6,6	0,43	12,4
UBC 809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	52,4	16	100	50	5	0,39	9,6
UBC 810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50	17	100	45	4,5	0,34	7,8
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52,4	17	100	60	6	0,41	10,8
UBC 812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50	16	100	51	5,1	0,36	8,6
UBC 817	CACACACACACACAA	50	9	100	25	2,5	0,35	4,6
UBC 834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	51,6	20	100	67	6,7	0,39	12,2
UBC 835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	53,9	11	100	51	5,1	0,35	5,8
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	51,6	14	100	51	5,1	0,38	8,2
UBC 841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	53,9	16	100	56	5,6	0,40	9,6
UBC 855	ACACACACACACACACYT	51,6	17	100	62	6,2	0,38	10
UBC 856	ACACACACACACACACYA	51,6	16	100	55	5,5	0,37	9
UBC 858	TGTGTGTGTGTGTGRT	51,6	11	100	29	2,9	0,34	5,4
UBC 860	TGTGTGTGTGTGTGRA	51,6	12	100	40	4	0,41	7,6
UBC 864	ATGATGATGATGATGATG	47	16	100	54	5,4	0,38	9,2
UBC 873	GACAGACAGACAGACA	48,2	21	100	50	5	0,34	9,6
Tổng			258		854			
Trung bình/môi			15,18		50,24		0,38	8,71
Trung bình/mẫu giống			25,8		85,4			

Ghi chú: Các môi thoái hoá (degenerate primer) có sử dụng các nucleotide R có thể là A/G, B có thể là C/G/T, D có thể là A/G/T, H có thể là A/C/T và V có thể là A/C/G.



Ghi chú: Ở hệ số tương đồng di truyền là 0,579, 10 mẫu giống nấm sò được chia thành 3 nhóm chính (từ I đến III)

Hình 4. Quan hệ di truyền của 10 mẫu giống nấm sò được phân tích bằng chỉ thị ISSR

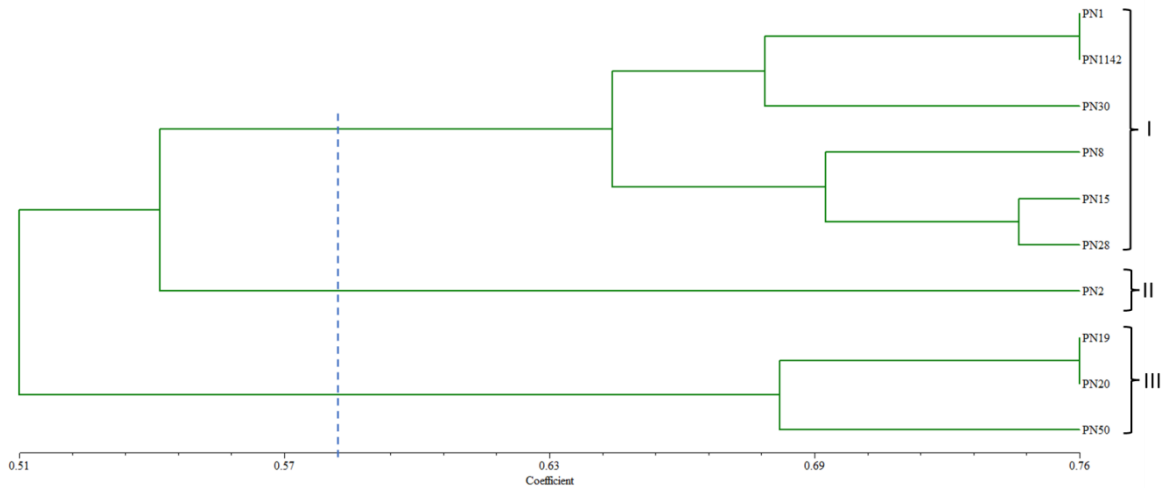
Hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò khi phân tích bởi các môi ISSR dao động từ 0,442-0,760 và đạt giá trị trung bình là 0,579 (Bảng 3). Ở mức độ đa dạng di truyền là 0,579 (vị trí nét đứt), 10 mẫu giống nấm sò được phân thành 3 nhóm. Nhóm I có 6 mẫu giống, nhóm II có duy nhất 1 mẫu giống (PN2), nhóm III có 3 mẫu giống (PN19, PN20 và PN50). Như vậy, kết quả phân nhóm được thiết lập bởi hai chỉ thị RAPD (Hình 2) và ISSR (Hình 4) là tương tự nhau.

3.4. Phân tích đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò kết hợp hai chỉ thị ISSR và RAPD

Việc kết hợp nhiều chỉ thị như RAPD, ISSR, SRAP trong phân tích đa dạng di truyền của các mẫu giống nấm hương (Fu & cs., 2010) hoặc nấm sò *Pleurotus pulmonarius* (Yin & cs., 2014) đã được thực hiện. Thông thường, chỉ thị RAPD và ISSR được kết hợp để tăng số lượng locus phát hiện được trong một phân tích và do vậy kết quả sẽ có tính đại diện hơn là khi phân tích đơn lẻ (Wang & cs., 2012). Trong nghiên cứu này, khi kết hợp hai chỉ thị RAPD và ISSR, tổng số locus phát hiện được là 560 locus (285 với RAPD và 302 với ISSR) (Bảng 2 và Bảng 4). Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò dao động từ 0,459-0,755. Ở hệ số tương đồng di truyền trung bình là 0,579, 10 mẫu giống nấm sò được chia

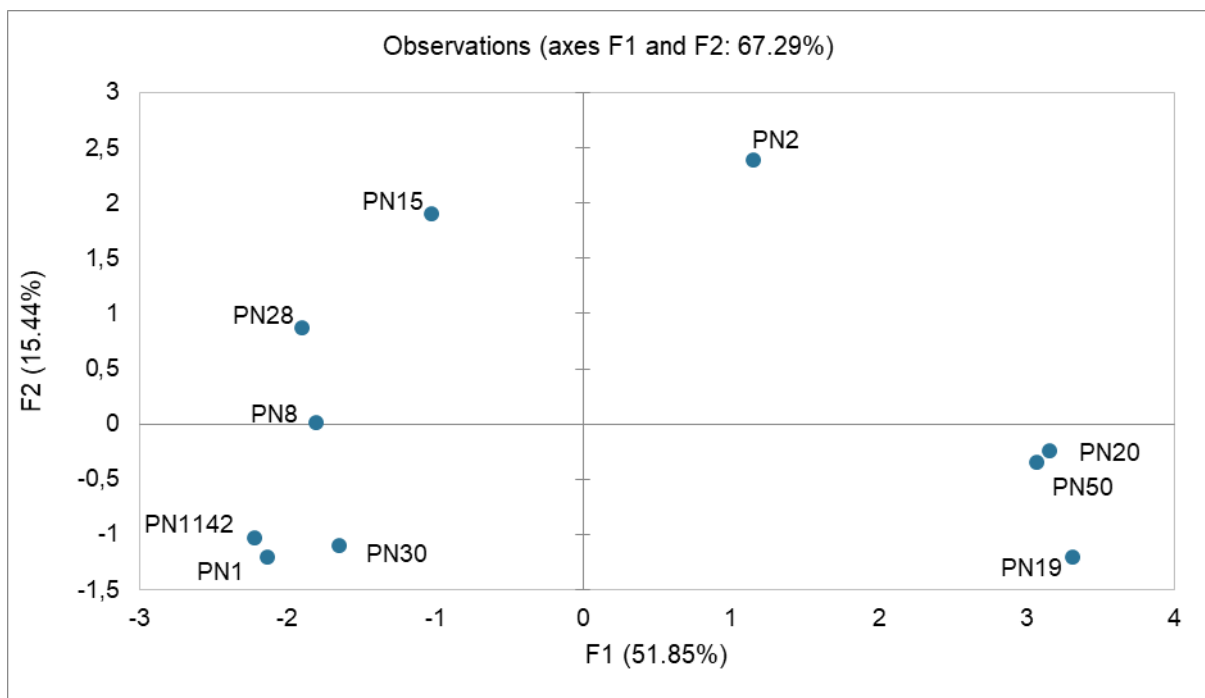
thành 3 nhóm chính (Hình 5) và sự phân nhóm là tương tự như khi phân tích bởi hai chỉ thị RAPD và ISSR riêng rẽ. Kết quả trên chứng tỏ 10 mẫu giống nấm sò thu thập được là có sự khác biệt về lớn về vật liệu di truyền và do vậy sẽ là những vật liệu nguồn gen quý cho chọn tạo giống nấm sò mới. Kết quả của nghiên cứu này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Wang & cs. (2012) khi kết hợp giữa hai chỉ thị RAPD và ISSR đã cho cấu trúc hình cây tương tự như được phân tích bởi chỉ thị RAPD. Các kết quả nghiên cứu của chúng tôi chứng tỏ chỉ thị RAPD và ISSR rất hiệu quả trong phân tích đa dạng di truyền, tương tự như nghiên cứu đa dạng di truyền trên đối tượng nấm sò *P. pulmonarius* (Yin & cs., 2014).

Để kiểm tra mức độ tương quan giữa các ma trận hệ số tương đồng di truyền, chúng tôi đã sử dụng kiểm định Mantel. Kết quả cho thấy hệ số tương quan (r) giữa hai ma trận RAPD và ISSR là 0,878 ($P < 0,0001$). Kết quả này chứng tỏ có sự tương quan rất cao giữa ma trận RAPD và ISSR. Thực tế thì sơ đồ tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò khi phân tích bằng chỉ thị RAPD (Hình 2) và bằng chỉ thị ISSR (Hình 4) là tương đối giống nhau đã gợi ý về được sự tương quan rất cao giữa hai chỉ thị. Ma trận tương đồng di truyền được thiết lập bởi các môi RAPD và ISSR riêng rẽ đều cho kết quả tương quan rất cao với ma trận kết hợp giữa RAPD-ISSR ($r = 0,978$; $P < 0,0001$ và $r = 0,959$; $P < 0,0001$).



Ghi chú: Tại giá trị hệ số tương đồng di truyền trung bình là 0,579 (vị trí nét đứt), 10 mẫu giống nấm sò được phân thành 3 nhóm.

Hình 5. Sơ đồ quan hệ di truyền của 10 mẫu giống nấm sò được phân tích bởi kết hợp giữa chỉ thị RAPD và ISSR



Hình 6. Phân tích thành phần chính (PCA analysis) của 10 mẫu giống nấm sò dựa trên kết hợp giữa hai chỉ thị RAPD và ISSR

Để có góc nhìn trực quan hơn về mối quan hệ di truyền của 10 mẫu giống nấm sò thu thập được, chúng tôi sử dụng hệ số tương đồng di truyền được phân tích bởi tổng số 37 chỉ thị (RAPD + ISSR) để tiến hành phân tích thành phần chính (PCA). Trong đồ thị phân tán PCA,

hai thành phần chính đầu tiên lần lượt chiếm 51,85% và 15,44% (tổng số 67,29%) (Hình 6). Tương tự với kết quả trên hình 5, mẫu giống PN2 có khoảng cách khá xa so với 10 mẫu giống còn lại và các mẫu giống PN20, PN50 và PN19 cũng được xếp vào một nhóm với khoảng cách

khá xa so với các mẫu giống khác (Hình 6). Kết quả này một lần nữa khẳng định 10 mẫu giống nấm sò rất đa dạng về mặt di truyền.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xác định được sự đa dạng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò bằng 37 chỉ thị (20 chỉ thị RAPD và 17 chỉ thị ISSR). Các chỉ thị đã phát hiện được 560 locus trong đó có 552 locus đa hình và nhân bản được tổng số 2138 sản phẩm PCR. Hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu giống nấm sò dao động từ 0,459-0,755 và chia thành 3 nhóm chính ở hệ số tương đồng di truyền trung bình là 0,579. Kết quả trên cho thấy mức độ đa dạng di truyền 10 mẫu giống nấm sò thu thập được là rất cao. Các mẫu giống nấm sò có thể được sử dụng cho nghiên cứu, phát triển nguồn gen cũng như lai tạo giống nấm sò mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Capelari M. & Fungaro M.H. (2003). Determination of biological species and analysis of genetic variability by RAPD of isolates of *Pleurotus subgenus* Coremiopleurotus, Mycol Res 107(Pt 9): 1050-4.
- Fu L.Z., Zhang H.Y., Wu X.Q., Li H.B., Wei H.L., Wu Q.Q. & Wang L.A. (2010). Evaluation of genetic diversity in *Lentinula edodes* strains using RAPD, ISSR and SRAP markers. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 26(4): 709-716.
- Guo X. & Elston R. (1999). Linkage information content of polymorphic genetic markers, Human heredity. 49: 112-8.
- Khan M.A. & Tania M. (2012). Nutritional and medicinal importance of *Pleurotus* mushrooms: An overview. Food Reviews International. 28(3): 313-329.
- Lê Thị Thu Hương, Trần Thị Thu Hà & Lê Thị Hà (2022). Nghiên cứu sử dụng cây lục bình (*Eichhornia crassipes* (Mart) Solms) làm giá thể trồng nấm sò trắng (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) QuéL.) tại Thừa Thiên Huế, Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm Huế. 6(3): 3180-3188.
- Masoomi-Aladizgeh F., Jabbari L., Nekouei R.K. & Aalami A. (2019). A simple and rapid system for DNA and RNA isolation from diverse plants using handmade kit, Protocol Exchange. doi. 10.21203/rs.2.1347/v2.
- Munankarmi N.N., Rana N., Bhattarai T., Shrestha R.L., Joshi B.K., Baral B. & Shrestha S. (2018). Characterization of the genetic diversity of acid lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) cultivars of Eastern Nepal using Inter-Simple Sequence Repeat Markers, Plants. 7(2): 46.
- Nguyễn Hoàng Thanh, Đỗ Tấn Khang, Nguyễn Tường Vi & Trần Nhân Dũng (2019). Nghiên cứu môi trường và giá thể phù hợp để sản xuất nấm Hoàng Kim (*Pleurotus citrinopileatus* Singer). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(2): 95-102.
- Nguyễn Thị Bích Thùy, Khuất Hữu Trung, Ngô Xuân Nghiễn, Cồ Thùy Vân & Trịnh Tam Kiệt (2013). Nghiên cứu đặc điểm sinh học và đa dạng di truyền của một số chủng nấm sò vua (*Pleurotus eryngii*). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam.
- Nguyễn Thị Huyền Trang, Lê Văn Vê, Phan Thị Huyền Trang, Nguyễn Thị Luyện, Ngô Xuân Nghiễn & Nguyễn Thị Bích Thùy (2022). Sinh trưởng của hệ sợi và phát triển quả thể nấm sò vàng (*Pleurotus citrinopileatus*) trên một số môi trường dinh dưỡng khác nhau. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 20(5): 642-651.
- Otieno O.D., Onyango C., Onguso J.M., Matasyoh L.G., Wanjala B.W., Wamalwa M. & Harvey J.J. (2015). Genetic diversity of Kenyan native oyster mushroom (*Pleurotus*). Mycologia. 107(1): 32-8.
- Prevost A. & Wilkinson, M. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars, TAG Theoretical and Applied Genetics. 98: 107-112.
- Raman J., Jang K.Y., Oh Y.L., Oh M., Im J.H., Lakshmanan H. & Sabaratnam V. (2020). Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: An overview. Mycobiology. 49(1): 1-14.
- Rao L.S., Usha Rani P., Deshmukh P.S., Kumar P.A. & Panguluri S.K. (2007). RAPD and ISSR fingerprinting in cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its wild progenitor *Cicer reticulatum* Ladizinsky. Genetic Resources and Crop Evolution. 54(6): 1235-1244.
- Ravash R., Shiran B., Alavi A.A., Bayat F., Rajaei S. & Zervakis G.I. (2010). Genetic variability and molecular phylogeny of *Pleurotus eryngii* species-complex isolates from Iran, and notes on the systematics of Asiatic populations. Mycological Progress. 9(2): 181-194.
- Ro H.S., Kim S.S., Ryu J.S., Jeon C.O., Lee T.S. & Lee H.S. (2007). Comparative studies on the diversity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*: ITS sequence analysis, RAPD fingerprinting, and physiological characteristics. Mycol Res. 111(Pt 6): 710-5.

- Sokal R.R. & Michener C.D. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. University of Kansas science bulletin. 38: 1409-1438.
- Tôn Nữ Hải Âu (2017). Hoạt động sản xuất nấm sò ở tỉnh Quảng Trị: Lợi nhuận và các nhân tố ảnh hưởng. Tạp chí Khoa học Quản lý & Kinh tế. 04: 81-93.
- Trần Đông Anh, Nguyễn Thị Bích Thùy, Ngô Xuân Nghiễn, Nguyễn Thị Luyện, Vũ Thị Như Hoa, Lê Thế Cường, Đỗ Thị Thu Quỳnh & Đình Văn Nam (2021). Đánh giá khả năng phối hợp và đặc điểm sinh học của các tổ hợp lai từ một số nguồn gen nấm sò, Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 19(7): 952-963.
- Trịnh Tam Kiệt, Trần Đông Anh, Phạm Thu Hương, Thân Thị Chiên, Ngô Xuân Nghiễn & Nguyễn Thị Bích Thùy (2011). Nghiên cứu lai tạo một số chủng nấm sò thương phẩm. Tạp chí Di truyền học và ứng dụng - Chuyên san Công nghệ sinh học. 7.
- Vũ Thị Kim Ngân & Trịnh Tam Kiệt (2008). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và công nghệ nuôi trồng nấm sò sinh ít bào tử (*Pleurotus* sp.). Tạp chí Di truyền học và ứng dụng - Chuyên san Công nghệ sinh học. 4: 56-58.
- Wang S., Yin Y., Liu Y. & Xu F. (2012). Evaluation of genetic diversity among Chinese *Pleurotus eryngii* cultivars by combined RAPD/ISSR marker, Curr Microbiol. 65(4): 424-31.
- Yin Y., Liu Y., Li H., Zhao S., Wang S., Liu Y., Wu D. & Xu F. (2014). Genetic diversity of *Pleurotus pulmonarius* revealed by RAPD, ISSR, and SRAP fingerprinting, Curr Microbiol. 68(3): 397-403.
- Yin Y., Liu Y., Wang S., Zhao S. & Xu F. (2012). Examining genetic relationships of Chinese *Pleurotus ostreatus* cultivars by combined RAPD and SRAP markers, Mycoscience. 54(3): 221-225.
- Zervakis G., Venturella G. & Papadopoulou K. (2001). Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters, Microbiology (Reading, England). 147: 3183-94.