

GÓP PHẦN XÁC ĐỊNH TÊN KHOA HỌC CÁC DẠNG BIẾN ĐỔI HÌNH THÁI CHO HAI LOÀI THUỘC CHI TRE (*BAMBUSA* Schreb.) TRÊN CƠ SỞ GIẢI MÃ TRÌNH TỰ GEN PIF

Đinh Thị Phòng¹, Vũ Thị Thu Hiền¹, Nguyễn Thị Thủy Hằng¹, Nguyễn Đăng Tôn², Nông Văn Hải²

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Để góp phần xác định chính xác tên khoa học do biến đổi hình thái theo điều kiện sống cho hai loài tre Bụng phật (*Bambusa vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure) và tre Đùi gà (*Bambusa ventricosa* McClure). Trong nghiên cứu này, cặp mồi đặc hiệu PIF5/PIF3 đã được sử dụng để nhân bản đoạn gen đích cho 16 mẫu tre có các dạng biến đổi hình thái khác nhau (tám mẫu tre *Bambusa vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure 3 mẫu dạng lông phồng như Bụng phật, 3 mẫu dạng lông thẳng và 2 mẫu dạng lông phồng và thẳng; và tám mẫu tre *Bambusa ventricosa* McClure. 2 mẫu dạng lông phồng đều như đùi gà, 3 mẫu dạng lông thẳng toàn bụi và 3 mẫu dạng lông phồng và thẳng). Kết quả là tất cả 16 mẫu tre đều nhân được đoạn DNA có kích thước 450 bp. So sánh trình tự nucleotide giữa 8 dạng mẫu tre loài *Bambusa vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure, hoặc 8 dạng mẫu tre loài *Bambusa ventricosa* McClure đều có hệ số di truyền giống nhau hoàn toàn (100%). Kết quả nhận được trong nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi so sánh trình tự nucleotide ở ba vùng gen lục lạp *trnL-trnF*, *psbA-trnH* và gen *matK* khi phân tích với 16 mẫu tre như trong nghiên cứu này (giữa các mẫu trong cùng loài tre giống nhau 100%). Kết quả nhận được ở đây khẳng định thêm các mẫu tre chi là sự biến đổi hình thái theo điều kiện sống của mỗi loài.

Từ khóa: Biến đổi hình thái, cpDNA, tre, tương đồng nucleotide

MỞ ĐẦU

Hiện nay, việc phân loại và định loại tên loài cho tre vẫn chủ yếu dựa trên phương pháp hình thái. Tuy nhiên phương pháp đòi hỏi mẫu vật phải có đầy đủ các đặc điểm phân loại đặc biệt là cơ quan sinh sản, mà đối với tre các mẫu vật chỉ có cơ quan dinh dưỡng, hầu hết không có đặc điểm về cơ quan sinh sản (hoa, quả) vì chu kỳ ra hoa tới vài chục năm. Hơn nữa trong một số trường hợp, phương pháp phân loại bằng hình thái khó thực hiện hoặc nhầm lẫn do mẫu mang đặc điểm trung gian hoặc đồng hình. Tre ở Việt Nam được nhà phân loại học thực vật người Pháp Balana (1890) công bố đầu tiên với 5 chi 7 loài. Đến thế kỷ 20 đã công bố khá đầy đủ với số lượng lên tới 22 chi và 123 loài (Lê Nguyễn, 1971; Phạm Hoàng Hộ, 1972, 1993, 2000). Năm 2005, Nguyễn Khắc Khởi và Nguyễn Thị Đồ công bố Danh lục các loài tre trúc của Việt Nam gồm 29 chi và 127 loài. Năm 2006, Nguyễn Hoàng Nghĩa tre trúc ở Việt có 25 chi và 216 loài, trong đó chi tre (*Bambusa* Schreb.) có 67 loài, thì có tới 37 loài chưa định loại được tên loài (dạng sp. và aff.). Bên cạnh đó Lê Việt Lâm (2008) cũng đã phát hiện thêm 4 loài

mới, trong đó 2 loài chưa xác định tên. Như vậy có thể thấy, việc phân loại chi tre vẫn còn là vấn đề nan giải. Hơn thế nữa, ngay trong một loài cũng còn có nhiều quan điểm chưa được thống nhất bởi sự biến đổi hình thái do điều kiện sống. Điển hình là hai loài tre Bụng phật (*B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure) và tre Đùi gà (*B. Ventricosa* McClure). Theo quan sát tại thực địa của Nguyễn Khắc Khởi (2011), sự biến đổi hình thái rõ nhất của hai loài tre Bụng phật và tre Đùi gà không chỉ khi trồng ở các địa phương khác nhau mà ngay trong cùng một nơi sống, sự biến đổi hình thái xảy ra ngay trong cùng bụi của loài. Chẳng hạn, trên cùng thân khí sinh lông của tre Bụng phật có dạng phồng như bụng phật, dạng thẳng, dạng phồng và thẳng; tương tự tre Đùi gà cũng có lông phồng như đùi gà, lông thẳng toàn bụi cây, lông phồng và thẳng. Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006), các dạng này chỉ là biến thể của một loài dựa trên một số đặc điểm cơ bản của cơ quan sinh dưỡng (mô, dạng lá, phân cành...) nhưng vẫn thiếu tính xác thực vì không có cơ quan sinh sản. Trong nghiên cứu mới đây nhất của chúng tôi về việc giải mã so sánh trình tự ba vùng gen lục lạp (*trnL-trnF*, *psbA-trnH* và gen

marK) cho 16 dạng mẫu biến đổi hình thái của loài tre Bụng phật và tre Đùi gà đã khẳng định thêm quan điểm của Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006) là đó chỉ là các dạng biến thể của một loài (Số liệu đã gửi đi công bố trong Tạp chí Khoa học và Công nghệ).

PIF - like transposable elements là đoạn ADN có khả năng di chuyển độc lập ngay trong nội bộ một thể nhiễm sắc hoặc từ thể nhiễm sắc này sang thể nhiễm sắc khác, còn gọi là gen nhảy (transposon). Gen nhảy đóng vai trò quan trọng trong sự tiến hóa của sinh vật. Gen nhảy có tính linh động cao tạo nên sự đa hình về kiểu gene ở sinh vật, điều này cũng đồng nghĩa làm gia tăng tần số đột biến. Trình tự amino acid vùng gen *PIF* khá bảo thủ trong cả các loài động vật và thực vật nên

thường được dùng để thiết lập mối quan hệ tiến hóa giữa các loài (Zhang *et al.*, 2004; Casola *et al.*, 2007). Trong công bố mới đây nhất của Zhou và cộng sự (2010) về việc so sánh 139 trình tự gen *PIF* tách từ 44 loài tre cho thấy *PIF* - like transposase gen rất phổ biến, đa dạng và phong phú ở phân họ tre (Bambusoideae), nhưng lại tương đối bảo thủ ở mức độ loài.

Vì vậy, để có thêm minh chứng khoa học làm sáng tỏ tên loài cho các dạng biến đổi hình thái, nghiên cứu này đề cập đến kết quả giải mã trình tự đoạn gen *PIF* cho 16 dạng mẫu thuộc hai loài tre Bụng phật (*B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv *vittata* McClure) và tre Đùi gà (*B. Ventricosa* McClure).

Bảng 1 Nguồn gốc và ký hiệu mẫu của hai loài sử dụng trong nghiên cứu

Tên loài	Tên khoa học	Ký hiệu mẫu	Mã hiệu mẫu*	Địa điểm thu mẫu	Một số đặc điểm hình thái
Tre Bụng phật	<i>B. vulgaris</i> Schrader ex Wendland cv <i>vittata</i> McClure	K3005/5	VNMN B000246	Chợ Đồn, Bắc Kạn	Cá thân khi sinh đều có lông phồng (như Bụng phật) Be mo 10-13 cm x 10-13 cm x 8-9 cm
		K3005/15	VNMN B000256	Tân Sơn, Hòa Bình	
		K3005/16	VNMN B000257	Chi Linh, Hải Dương	
		K3005/9	VNMN B000250	Châu Mộng, Phú Thọ	Cá thân khi sinh các lông đều thẳng Be mo dài hơn 15-20 cm
		K3005/10	VNMN B000251	Chợ Đồn, Bắc Kạn	
		K3005/12	VNMN B000253	Hà Nội	
		K3005/13	VNMN B000254	Ba Vì	Cá thân khi sinh có lông phồng và thẳng.
K3005/14	VNMN B000255	Ba Vì			
Tre Đùi gà	<i>B. ventricosa</i> McClure	K3006/1	VNMN B000258	Thanh Ba, Phú Thọ	Dạng thân khi sinh có lông phồng đều (như đùi gà) Be mo 17-19 cm x 7,8cm x 7,8 cm
		K3006/2	VNMN B000259	Thanh Ba, Phú Thọ	
		K3006/5	VNMN B000262	Thanh Ba, Phú Thọ	Dạng thân có lông phồng và thẳng trên cùng một thân
		K3006/6	VNMN B000263	Châu Mộng, Phú Thọ	
		K3006/7	VNMN B000264	Ba Vì, Hà Nội	
		K3006/11	VNMN B000268	Quán Bạ, Hà Giang	Dạng thân có lông thẳng toàn bụi cây Be mo dài hơn 10-15 cm
		K3006/12	VNMN B000269	Vân Bản, Lào Cai	
K3006/14	VNMN B000271	Đồng Hỷ, Thái Nguyên			

Ghi chú: Mã hiệu mẫu lưu giữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (VNMN)

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Gồm 16 mẫu của hai loài tre cần làm rõ tên do biến đổi hình thái là 8 mẫu tre Bụng phật (3 mẫu dạng lông phồng, 3 mẫu dạng lông thẳng và 2 mẫu dạng lông phồng và thẳng); 8 mẫu tre Đùi gà (2 mẫu dạng thân có lông phồng đều như đùi gà, 3 mẫu dạng thân có lông phồng thẳng và 3 mẫu dạng thân có

lông thẳng toàn bụi). Các mẫu tre do Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cung cấp. Danh sách và một số đặc điểm hình thái các mẫu có ký hiệu và nơi thu thập như trong (Bảng 1).

Trình tự nucleotide của mỗi *PIFS/PIF3* như trong công bố của Zhou và đồng tác giả (2010). Thông tin về trình tự nucleotide, kích thước lý thuyết và nhiệt độ bắt cặp của cặp mỗi *PIFS/PIF3* sử dụng trong nghiên cứu như trong (Bảng 2).

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA: DNA tổng số được tách chiết từ mẫu lá và thân tre theo quy trình của Dolye và Dolye (1987). Tinh sạch DNA tổng số bằng bộ kit Genomic DNA Purification kit (#KO512, Fermentas).

Nhân bản PCR và đọc trình tự: Mỗi phản ứng PCR có thể tích 25µl với các thành phần: 13 µl H₂O deion; 2,5 µl buffer 10X; 1 µl MgCl₂ 25mM; 2,5 µl dNTPs 2,5mM; 1,25 µl mỗi xuôi (10 pmol); 1,25 µl mỗi ngược (10 pmol); 0,5 µl *Taq* polymerase (5U/µl); 3 µl DNA (10-20ng). Phản ứng được thực hiện trên máy PCR model 9700 (GeneAmp PCR System 9700, Mỹ). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: 94°C trong 3 phút; tiếp sau là 35 chu kỳ nối tiếp nhau với các bước: 94°C trong 50 giây, 50°C trong 55 giây, 72°C trong 45 giây; kết thúc phản ứng

nhân gen ở 72°C trong 10 phút, giữ sản phẩm ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, cắt lấy phần đoạn DNA quan tâm trên ban soi UV và tinh sạch bằng bộ Kit Extraction Gel (QIAGEN). Phản ứng xác định trình tự được đọc theo ca 2 chiều trên máy đọc trình tự ABI PRISM[®] 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học.

Xử lý số liệu: Các số liệu thu được trong nghiên cứu được xử lý bằng các chương trình phần mềm chuyên dụng BioEdit (Hall, 1999), Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007), Clustal X (Thompson, 1997),... để so sánh trình tự nucleotide giữa các mẫu của hai loài tre nghiên cứu. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng theo phương pháp NJ (Neighbor Joining) (Saitou, Nei, 1987)

Bảng 2 Thông tin của cặp mỗi dùng trong nghiên cứu

Gen	Ký hiệu mỗi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước lý thuyết (bp)	Tác giả
ITS (<i>PIF</i>)	<i>PIFS1</i> <i>PIF3</i>	GGGGCTTTGGATGGAACACA ATGGCGAGGTTGAACAACCTC	450	Zhou và đồng tác giả (2010)

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Một số đặc điểm hình thái của các mẫu tre thuộc hai loài tre nghiên cứu

Sự biến đổi hình thái 16 mẫu tre của hai loài tre Bụng phật và tre Đùi gà như đã tóm tắt trong bảng 2. Sau đây là một số đặc điểm giống nhau và khác nhau của các mẫu trong loài:

Tre Bụng phật (*B. vulgaris* Schrader ex Wendland cv. *vittata* McClure) có đặc điểm chung như chiều cao thân khí sinh 4-6 m, đường kính thay đổi từ gốc lên trên, phần dưới thân thẳng hoặc cong, phần ngọn uốn cong. Lóng dài 4-10 cm, màu xanh thẫm, sáng bóng. Tuy nhiên thân khí sinh có ba dạng: (1) cả thân khí sinh đều có lóng phồng như bụng phật; (2) cả thân khí sinh đều có lóng thẳng và (3) 1/2 thân khí sinh phía dưới lóng phồng và 1/2 thân khí sinh phía trên lóng thẳng. Tuy nhiên trong mỗi cụm tre có một vài thân hoàn toàn có lóng thẳng từ gốc trở lên.

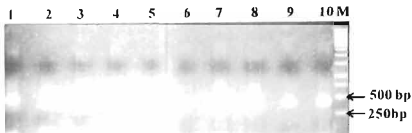
Tre Đùi gà (*B. ventricosa* McClure) có đặc điểm chung là thân khí sinh khi mọc tự nhiên cao 9-11 m, đường kính 4-6, 2 cm, thân hướng thẳng và các lóng

dài 29-33 cm. Đặc điểm khác nhau chính: (1) thân khí sinh có lóng phồng đều như đùi gà, (2) 1/3 thân khí sinh phía dưới phồng và 3/4 thân khí sinh phía trên thẳng và (3) thân khí sinh có lóng thẳng tròn đều trên toàn bộ chiều cao

Kết quả nhân bản PCR vùng gen đích

Cặp mỗi đặc hiệu *PIFS/PIF3* đã được sử dụng để nhân bản đoạn gen đích của 16 mẫu tre. Kết quả phân tích sản phẩm PCR khẳng định đã nhân được các đoạn gen có kích thước lý thuyết như dự đoán là 450 bp (Hình 1).

Trong nghiên cứu này, sau khi nhân bản thành công đoạn gen đích, để đảm bảo cho chất lượng việc giải mã trình tự, sản phẩm PCR được chạy trên gel agarose 1,5%. Bản gel agarose được nhuộm trong ethidium bromide và quan sát dưới tia UV. Tiến hành cắt đoạn gen quan tâm và tinh sạch sản phẩm PCR theo bộ kit Gel Extraction Kit của hãng Fermentas. Kết quả cho thấy các phân đoạn DNA rất rõ nét và có kích thước đúng như dự đoán, đảm bảo cho giải mã trình tự trực tiếp theo 2 chiều (xuôi và ngược).



Hình 1 Sản phẩm PCR đại diện của một số mẫu tre phân tích với cặp mồi *PIF5/PIF3* điện di trên gel agarose 1,5% (giếng 1 K3005/5, giếng 2 K3005/9, giếng 3 K3005/10, giếng 4 K3005/13, giếng 5 K3005/15, giếng 6 K3006/1, giếng 7 K3006/5, giếng 8 K3006/6, giếng 9 K3006/11, giếng 10 K3006/12, M: marker phân tử 1 kb)



Hình 2 Kiểm tra sản phẩm thời gel đại diện cho một số mẫu tre phân tích với cặp mồi *PIF5/PIF3* trên gel agarose 0,9% (giếng 1 K3005/5, giếng 2 K3005/9, giếng 3 K3005/10, giếng 4 K3005/13, giếng 5 K3005/15, giếng 6 K3006/1, giếng 7 K3006/5, giếng 8 K3006/6, giếng 9 K3006/11, giếng 10 K3006/12; M: marker phân tử 1 kb)

Mức độ tương đồng nucleotide giữa các dạng mẫu trong loài tre Bụng phật

Kết quả giải mã trình tự nucleotide cho 8 mẫu tre của loài tre Bụng phật (3 mẫu dạng lông phồng, 3 mẫu dạng lông thẳng và 2 mẫu dạng lông phồng và thẳng) phân tích với cặp mồi *PIF5/PIF3* nhận được kết quả là các dạng mẫu trong của loài tre Bụng phật giống nhau 100% (Bảng 3 và Hình 3A). Như vậy cho phép kết luận sự khác nhau về mặt hình thái giữa các dạng mẫu trong cùng một loài chỉ là do điều kiện trồng trọt và môi trường sống ở từng địa phương.

Mức độ tương đồng nucleotide giữa các dạng mẫu trong loài tre Đùi gà

Trình tự nucleotide cho 8 mẫu tre của loài tre Đùi gà (2 mẫu dạng lông phồng, 3 mẫu dạng lông phồng và thẳng và 3 mẫu dạng lông thẳng toàn bụi) phân tích với cặp mồi *PIF5/PIF3*, kết quả cũng cho thấy tất cả 8 mẫu tre có các dạng biến đổi hình thái đều có sự giống nhau hoàn toàn (100%) (Bảng 4 và Hình 3B). Kết quả nhận được cho phép kết luận sự khác nhau về mặt hình thái giữa các dạng mẫu thu thập được vẫn thuộc loài tre Đùi gà. Sự biến đổi hình thái của mẫu chỉ là do điều kiện trồng trọt và môi trường sống ở từng địa phương.

Đến nay, việc sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử hỗ trợ cho việc nhận dạng loài đã được ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng sinh vật (Jac *et al.*, 2010; Kenine *et al.*, 2003; Kress *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006). Hai vùng gen nhân (ITS) và lục lạp (cpDNA) không chỉ ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu mối quan hệ chung loại (phylogenetic) mà còn là công cụ có hiệu quả cao trong phân loại (taxonomy), nhận dạng (identity) loài ở nhiều đối tượng sinh vật (Đinh Thị Phòng *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2010; Starr *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2007). Ngay ở tre, Yang và đồng tác giả (2010) đã xác định trình tự nucleotide của vùng gen nhân (*GBSSI*) và ba vùng gen lục lạp (*psbA-trnH*, *rpl32-trnL* và *rps16 intron*) để lập cây phát sinh chung loại cho 64 loài thuộc tông phụ tre. Từ kết quả giải mã trình tự bốn vùng gen các tác giả cũng đề nghị chuyển loài *D. rangchengensis* về chi *Bambusa*, ngược lại các tác giả lại không đồng ý quan điểm của Stapleton và Xia (1996) là chuyển loài *D. membranaceus* về chi *Bambusa*. Tương tự Yang và đồng tác giả (2007) cũng đã giải mã trình tự nucleotide gen *GBSSI* và *trnL* cho một số loài cần xem xét của 7 chi *Schizostachyum*, *Cephalostachyum*, *Dinochloa*, *Leptocanna*, *Melocanna*, *Melocalamus* và *Pseudostachyum* và các tác giả đề nghị chuyển loài

C.virgatum và loài *C.pergracile* về chi *Schizostachyum* *Melocanna* và *Pseudostachyum* là những chi độc lập.

Ở Việt Nam cũng đã có khá nhiều công bố về hiệu quả sử dụng kỹ thuật phân tích DNA vào việc nhận dạng, định loại mẫu sinh vật như nhóm tác giả của Lê Trần Bình và đồng tác giả (2003) đã dùng gen ty thể (18S rRNA) để nghiên cứu phá hệ và giám định DNA một số loài lan Hài, cây Bình vôi, gả lồi lam, cá vược và đã phát hiện ra mức độ tiến hóa của chúng. Hay nhóm của Dương Văn Tăng và đồng tác giả (2010) đã sử dụng vùng gen *cytB* và *ND2* để nhận biết các phân loại hổ. Tương tự Đinh Thị Phòng và đồng tác giả (2011) đã sử dụng một số vùng gen ty thể (RhiR/RhiF, R1/E2 và OPH1/OPH2) để nhận dạng mẫu tê giác trắng (*Carathotherium simum*).

vôi (*Elaphas maximus*) và rắn hổ mang chúa (*Ophiophaga hannah*). Tuy nhiên đến nay, đối với các loài tre Việt Nam chỉ có Nguyễn Minh Tâm (2005) sử dụng một số chi thị isozyme để đánh giá đa dạng di truyền cho hai loài *B.hambos* và *B. nutans* của Việt Nam.

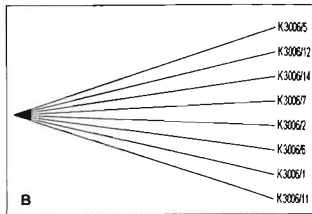
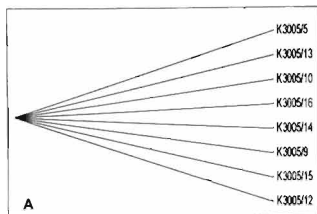
Theo hướng nghiên cứu đề cập ở đây, chúng tôi cũng đã sử dụng ba vùng gen lục lạp (*trnL-trnF*, *psbA-trnH* và *matK*) để giải mã trình tự nucleotide cho 16 mẫu tre như trong nghiên cứu này, kết quả nhận được cho thấy giữa các mẫu trong cùng 1 loài tre giống nhau 100% khi so sánh trình tự nucleotide ở cả ba vùng gen (số liệu đã gửi đi công bố). Kết quả giải mã trình tự gen *PIF* trong nghiên cứu này là thêm minh chứng khẳng định sự biến đổi hình thái do điều kiện sống của các mẫu tre của mỗi loài.

Bảng 3. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mồi PIF5/PIF3 giữa các dạng trong loài tre Bung phật

STT	Tên mẫu	1	2	3	4	5	6	7	8
1	K3005/5	100	100	100	100	100	100	100	100
2	K3005/15	0	100	100	100	100	100	100	100
3	K3005/16	0	0	100	100	100	100	100	100
4	K3005/9	0	0	0	100	100	100	100	100
5	K3005/10	0	0	0	0	100	100	100	100
6	K3005/12	0	0	0	0	0	100	100	100
7	K3005/13	0	0	0	0	0	0	100	100
8	K3005/14	0	0	0	0	0	0	0	100

Bảng 4. Mức độ tương đồng nucleotide phân tích với cặp mồi PIF5/PIF3 giữa các dạng trong loài tre Đui gà

STT	Tên mẫu	1	2	3	4	5	6	7	8
1	K3006/1	100	100	100	100	100	100	100	100
2	K3006/2	0	100	100	100	100	100	100	100
3	K3006/5	0	0	100	100	100	100	100	100
4	K3006/6	0	0	0	100	100	100	100	100
5	K3006/7	0	0	0	0	100	100	100	100
6	K3006/11	0	0	0	0	0	100	100	100
7	K3006/12	0	0	0	0	0	0	100	100
8	K3006/14	0	0	0	0	0	0	0	100



Hình 3. Mối quan hệ di truyền của 8 mẫu tre Bụng phát (A) và 8 mẫu tre Đùi gà (B) phân tích với cặp mồi *PIF5/PIF3* được xây dựng bằng phương pháp Neighbor - Joining

KẾT LUẬN

Đã nhận bản thành công đoạn DNA gen *PIF* cho tất cả 16 mẫu thuộc hai loài tre nghiên cứu có kích thước 450 bp. Mức độ tương đồng nucleotide là 100% (giống nhau hoàn toàn) khi so sánh giữa mẫu tre trong cùng loài tre Bụng phát hoặc tre Đùi gà.

Kết quả nhận được cho phép khẳng định các mẫu tre chỉ là sự biến đổi hình thái theo điều kiện sống của mỗi loài.

Lời cảm ơn Công trình được hoàn thành bởi kinh phí của đề tài "Góp phần xác định các loài thuộc chi tre (*Bambusa* Schreb.) ở Việt Nam bằng phương pháp DNA hỗ trợ phương pháp phân loại hình thái truyền thống" mã số: VAST DL 02/11-12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Balansa B (1890) Catalogue des Graminées de l' Indo-chine Française. Bambusées. *J Bot Appl* (Dess.aux) 4: 27-32

Casola C, Lawing AM, Bertran E, Feschotte C (2007) *PIF*-like transposons are common in *Drosophila* and have been repeatedly domesticated to generate new host genes. *Mol Biol Evol* 24: 1872-1888.

Đinh Thị Phòng, Nguyễn Văn Hùng, Dương Văn Tăng, Trần Thị Việt Thanh, Vũ Thị Thu Hiền (2011) Ứng dụng phương pháp phân tích DNA vào việc định loại mẫu vật quý hiếm tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam. *Proceeding Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ nhất hệ thống Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam*: 195-201.

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue

Phytochem Bull 19: 11-15.

Dương Văn Tăng, Đinh Thị Phòng, Phạm Văn Lực, Lưu Đàm Cư (2010) Nhận biết các phân loài hổ bằng trình tự gen Cytochrome B và ND2 ty thể. *Hội nghị khoa học kỷ niệm 35 năm Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*: 88-93

Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuc Acids Symp Ser* 41: 95-98.

Jaе HS, Park KC, Kim TW, Park YJ, Kang JH, Kim NS (2010) Sequence diversification of 45S rRNA ITS, *trnH-psbA* spacer, and *matK* gene regions in several *Allium* species. *Genet Genom* 32(2): 165-172

Kennec EC, Elaine AO, Samuel KW (2003) Amplifying nuclear and mitochondrial DNA from African elephant ivory: a tool for monitoring the ivory trade. *Cows Biol* 17 (6): 1-4

Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl Acad Sci* 102(23): 8369-8374

Lê Nguyễn (1971) *Nhân biết, gây trồng, bảo vệ và khai thác tre trúc*. Nhà xuất bản Nông thôn: 75.

Lê Trần Bình, Phan Văn Chí, Nông Văn Hải, Trương Nam Hải, Lê Quang Huân (2003) *Áp dụng các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu tài nguyên sinh vật Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội

Le Viet Lam (2008) A Taxonomic Revision of the genus *Bambusa* (Poaceae-Bambusoideae) from North Vietnam. A thesis submitted for the Degree of Doctoral at the graduate school of the Chinese Academy of Sciences.

Lin SY, Geun PW, Woung KO, Kwan (2010) Ribosomal DNA internal transcribed spacer 1 and internal transcribed 2 regions as targets for molecular identification of woody important *Zanthoxylum schinifolium*. *Afr J*

Biotechnol 9 (30). 4661-4673

Nguyen Minh Tam, To Van Vinh (2005) Genetic diversity of two priority bamboo species *B bambos* (L.) and *B Nutans* W in Ha Giang and Phu Tho provinces, Vietnam *Adv Nat Sci* 6(1) 69-82.

Nguyễn Hoàng Nghĩa (2006) *Tre trúc Việt Nam* Nhà xuất bản Nông Nghiệp

Nguyễn Khắc Khôi, Nguyễn Thị Đo (2005) *Bambusoideae Danh lục các loài thực vật Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp 750-773.

Pham Hoàng Hồ (1972) *Bambusoideae Cây cỏ miền Nam Việt Nam*. Bộ giáo dục Trung tâm học liệu Sài Gòn 2 844-869

Pham Hoàng Hồ (1993) *Bambusoideae Cây cỏ Việt Nam* Montreal 3 742-774

Pham Hoàng Hồ (2000) *Bambusoideae Cây cỏ Việt Nam* Nhà xuất bản Trẻ Tp Hồ Chí Minh 3. 600-627.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method. A new method for reconstructing phylogenetic trees *Mol Biol Evol* 4 406-425

Stapleton CMA, Xia NH (1996) A new combination in *Bambusa* (Gramineae: bambusoideae). *Kew Bull* 52. 235-238

Starr JR, Robert FCN, Briannan C (2009) Plant DNA barcodes and species resolution in sedges (Carex, Cyperaceae) *Mol Ecol Res* 9 151-163

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4

Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24. 1596-1599

Thompson JD (1997) The CLUSTAL X windows interface flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools *Nuc Acid Res* 25: 4876-4882

Yang HQ, Sheng P, Zhu LD (2007) Generic delimitations of *Schizostachyum* and its allies (Gramineae: Bambusoideae) inferred from GBSI and *trnL-trnF*-sequence phylogenies *Taxon* 56(1). 45-54

Yang JB, Yang BQ, Li DZ, Wong KM, Yang YM (2010) Phylogeny of *Bambusa* and its allies (Poaceae, Bambusoideae) inferred from nuclear GBSI gene and plastid *psbA-trnH*, *rpl32-trnL*, and *rps16* intron DNA sequences *Taxon* 59(4) 102-110.

Zhang W, Zhang Z, Shen F, Hou R, Yue B (2006) Highly conserved D-loop-like nuclear mitochondrial sequences (Numts) in tiger (*panthera tigris*). *Genetics* 85 107-116

Zhang X, Jiang C, Feschotte C, Wessler SR (2004) *PIF*- and *Pong*-like transposable elements distribution, evolution and relationship with *Tam1*-like miniature inverted-repeat transposable elements. *Genetics* 166: 971-986.

Zhou MB, Lu JJ, Zhong H, Liu XM, Tang DQ (2010) Distribution and diversity of *PIF* - like transposable elements in the Bambusoideae subfamily. *Plant Science* 179: 257-266

A CONTRIBUTION TO DETERMINATION OF SCIENTIFIC NAME OF TWO BAMBOO SPECIES (*BAMBUSA* Schreb.) IN VIETNAM BASED ON *PIF* SEQUENCE

Dinh Thi Phong^{1,*}, Vu Thi Thu Hien¹, Nguyen Thi Thuy Hang¹, Nguyen Dang Ton¹, Nong Van Hai²

¹Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology

²Institute of Genome Research (IGR), Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

The morphological variation of the two species *B vulgaris* Schrader ex Wendland ex *vitata* McClure and *B ventricosa* McClure leads to the confusion in determination of their scientific names. Therefore, in this research, the *PIF* sequence was used in order to contribute as one of solutions for this problem. Specific primer pairs *PIF5/PIF3* was used to clone target genes from 16 bamboo samples having different morphologies by living conditions. Eight samples of species *B vulgaris* Schrader ex Wendland ex *vitata* McClure had internode characters variable from belly out like Baddha belly (3 samples) to straight (3 samples) and both carrying belly out and straight (2 samples). Internodes of eight *B ventricosa* McClure samples included was characterised by chicken thigh-like belly in 2 samples, straight in 3 samples and both carrying belly and straight in 3 samples. PCR amplifications were obtained in all samples with the fragment length of 450 bp. Comparison of nucleotide sequences of *PIF* gene regions showed that the samples of the same species (*B vulgaris* Schrader ex Wendland ex *vitata* McClure or *B ventricosa* McClure) have 100% similarity. The

* Author for correspondence Tel +84-4-39941215, E-mail, dinhthiphong@hotmail.com

results obtained in this study are consistent with the results when comparing the nucleotide sequences of three chloroplast gene regions (*trnL-trnF*, *psbA-trnH* and *matK* gene) analysis with 16 samples in this study (nucleotide sequences between samples of the same species of bamboo were 100%) The results confirmed that different living conditions cause the change in phenotype, not genotype of target bamboo species.

Keywords: *cpDNA*, *B. vulgaris*, *B. ventricosa*, morphological variation, nucleotide similarity