Tạp chí Công nghệ Sinh học **6**(3): 327-334, 2008

PHÂN TÍCH MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA 19 GIỐNG ĐẬU TƯƠNG BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Đinh Thị Phòng[1], Ngô Thị Lam Giang[2]

[1]*Viện Công nghệ sinh học*
[2]*Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam*

TÓM TẮT

Mười chín giống đậu tương [*Glycine max* (L.) Merrill] từ tập đoàn giống đậu tương của Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam đã được nghiên cứu khoảng cách di truyền để xác định vật liệu trong chọn tạo giống mới. Hai mươi lăm mồi RAPD được sử dụng cho việc phân tích đa dạng genome của 19 giống đậu tương, trong đó có 17/25 mồi chỉ ra tính đa hình với giá trị PIC (Polymorphic Information Content - hàm lượng thông tin đa hình) dao động từ 0,11 (mồi RA31) đến 0,60 (mồi RA159). Trong đó, có 3 mồi (OPB10, RA159 và RA32) cho tính đa hình cao, với giá trị PIC ≥ 0,5. Số lượng các phân đoạn DNA được nhân bản với mỗi mồi dao động từ 2 đến 13. Các giống có cùng nguồn gốc chọn tạo lập thành một nhóm như hai giống của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long là OMDN3-21 và OMDN23-5 nhưng có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,07 (1 - 0,93). Điều đáng nói ở đây là các giống có tính chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường, như hai giống HL92 (kháng khá bệnh xoăn lá và thối quả) và giống HL203 (chịu khá với sâu bệnh chính) đều nằm trong nhóm phụ *III* thuộc nhóm chính II, có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,114 (1 - 0,886). Hoặc hai giống M103 (chịu nóng) và giống DT84 (chịu lạnh và úng khá) đều nằm trong nhóm phụ *II* thuộc nhóm chính II, nhưng có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,082 (1- 0,918). Kết quả nhận được cho thấy khả năng thiết lập cặp lai để tạo giống mới là có thể.

Từ khóa: *Cặp lai, chỉ thị RAPD, đa hình DNA, đậu tương, mối quan hệ di truyền*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây đậu tương (*Glycine max* (L.) Merrill) chiếm một vị trí quan trọng trong ngành nông nghiệp nước ta. Đậu tương không chỉ là nguồn thức ăn giàu đạm và chất béo cho người và vật nuôi mà còn là nguồn nguyên liệu quý cho nhiều ngành công nghiệp như: chế biến thực phẩm, dược phẩm, thuốc trừ sâu, mỹ phẩm... Bên cạnh đó, cây đậu tương còn có khả năng cải tạo đất rất tốt nhờ vi khuẩn *Rhizobium japonicum* sống cộng sinh trong nốt sần ở rễ đậu làm tăng khả năng cố định đạm (Ngô Thế Dân *et al.*, 1999). Vì thế, việc tạo giống đậu tương vừa có năng suất, chất lượng khá và lại kháng khá với điều kiện bất lợi luôn được các nhà chọn giống trên toàn cầu quan tâm nghiên cứu.

Cho đến nay, việc tạo giống đậu tương ở Việt Nam chủ yếu vẫn bằng phương pháp truyền thống nên có hạn chế vì thời gian dài mà hiệu quả tạo giống chưa cao. Trong vài năm trở lại đây, việc ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử dựa trên phân tích RFLP, AFLP, RAPD, SSR... để đánh giá mức độ đa dạng di truyền hoặc xác định vật liệu lai giống đã được áp dụng trên nhiều đối tượng cây trồng ở nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới và Việt Nam (Kim *et al.*, 2006; Vũ Thanh Trà, Trần Thị Phương Liên, 2006; Mace *et al.*, 1999; Powell *et al.*, 1996). Trong đó, kỹ thuật RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) hay được sử dụng vì kỹ thuật tương đối đơn giản, dễ thực hiện mà có hiệu quả (Ferreira, Keim, 1997; Nguyễn Thị Lang *et al.*, 2007; William *et al.*, 1990).

Công trình này đề cập đến kết quả "Phân tích mối quan hệ di truyền của 19 giống đậu tương bằng chỉ thị RAPD" nhằm chuẩn bị nguồn vật liệu dùng trong việc thiết lập các cặp lai đạt hiệu quả theo mục đích của người tạo giống.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu thực vật

Nguyên liệu thực vật sử dụng trong nghiên cứu là 19 giống đậu tương có nguồn gốc khác nhau (Bảng 1) do Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam lưu giữ.

Các mồi RAPD

Tên và trình tự các nucleotide của 25 mồi ngẫu nhiên sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.

Phương pháp nghiên cứu

Kỹ thuật tạo cây con, thu và bảo quản lá

Lựa chọn các hạt đậu tương có kích thước đều nhau, không nhăn nheo, nguyên vẹn. Gieo 2 - 3 hạt vào các cốc có lỗ thủng ở đáy đựng cát sạch, giữ ẩm và đặt ngoài điều kiện tự nhiên. Thu lá dùng ngay hoặc cho vào ống eppendorf 2 ml bảo quản ở nhiệt độ – 80°C cho đến khi sử dụng.

Tách chiết DNA tổng số từ lá

Theo phương pháp của Murray và Thompson (1990). Kiểm tra độ sạch và hàm lượng DNA bằng đo quang phổ hấp thụ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,8%.

Bảng 1. Tên và nguồn gốc của 19 giống đậu tương nghiên cứu.

TT	Tên giống	Nguồn gốc và một số đặc tính nông học
1	VDN1	Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam chọn từ tập đoàn giống Thái Lan nhập nội. Chất lượng dầu khá.
2	VDN3	Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam chọn từ tập đoàn giống Úc nhập nội. Cứng cây, kháng bệnh gỉ sắt.
3	M103	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam. Chịu nóng khá.
4	DT84	Viện Di truyền Nông nghiệp. Kháng tốt bệnh đốm nâu vi khuẩn, chịu khá với bệnh gỉ sắt, sương mai, virus khảm, chịu khá với nóng, lạnh, hạn và úng. Chất lượng khá.
5	95389	Viện Nghiên cứu dầu và Cây có dầu Việt Nam chọn từ tập đoàn giống Úc nhập nội. Năng suất và chất lượng khá.
6	HL 203	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Kháng một số sâu bệnh chính.
7	TN12	Trung Quốc. Năng suất khá.
8	G22	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Chịu rét khá.
9	KKU-G2	Thái Lan. Ngắn ngày, thấp cây.
10	KKU-L1	Thái Lan. Ngắn ngày, chất lượng khá.
11	MDT455-3	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất khá.
12	G83	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Năng suất khá.
13	HL92	Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Hưng Lộc. Chịu bệnh xoăn lá và thối quả.
14	KKU-M2	Thái Lan. Ngắn ngày, năng suất khá.
15	G111	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Năng suất đạt khá cao.
16	OMDN3-21	Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Ngắn ngày, năng suất khá.
17	OMDN23-7	Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Năng suất cao trồng tại miền Đông Nam Bộ.
18	OMDN23-5	Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Năng suất khá.
19	Nam Vang	Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam. Năng suất cao trồng tại miền Đông Nam Bộ.

Bảng 2. Trình tự các nucleotide của 25 mồi ngẫu nhiên sử dụng trong nghiên cứu.

STT	Tên mồi	Trình tự mồi	STT	Tên mồi	Trình tự mồi
1	OPB 10	5'CTG CTG GGAC3'	14	OPG 09	5'CTG ACG TCAC3'
2	OPB 18	5'CCA CAG CAGT3'	15	RA 31	5'AAC CGA CGGG3'
3	OPF 10	5'GGA AGC TTGG3'	16	RA 143	5'TCG GCG ATAG3'
4	OPG 13	5'CTC TCC GCCA3'	17	RA 159	5'GTC CAC ACGG3'
5	OPH 08	5'GAA ACA CCCC3'	18	RA 46	5'CCA GAC CCTG3'
6	OPM 2	5'ACA ACG CCTC3'	19	OPA 13	5'CAG CAC CCAC3'
7	OPP 19	5'GGG AAG GACA3'	20	RA 36	5'TAC CAC CCCG3'
8	OPQ 5	5'CCG CGT CTTG3'	21	RA 32	5'GGG GGT CGTT3'
9	OPR 08	5'CCC GTT GCCT3'	22	RA 142	5'CAA TCG CCGT3'
10	UBC 23	5'CCC GCC TTCC3'	23	RA 50	5'GCT GTG CCAG3'
11	OPO 11	5'GAC AGG AGGT3'	24	OPP 391	5'GGG AAGGACA3'
12	UBC 03	5'CCT GGG CTTA3'	25	OPQ 13	5'GGA GAGGACA3'
13	OPL 03	5'CCA GCA GCTT 3'			

Phản ứng RAPD

Thể tích của mỗi phản ứng là 25 µl, trong đó có 1X đệm PCR, 2,5 mM $MgCl_2$, 150 µM dNTP (ATP, TTP, CTP và GTP), 200 nM đoạn mồi, 0,04 đơn vị Taq polymerase và 5 - 10 ng DNA khuôn. Chu trình nhiệt: bước 1: 94°C - 1 phút, bước 2: 92°C - 1 phút, bước 3: 35°C - 1 phút, bước 4: 72°C - 1 phút, bước 5: 72°C - 10 phút và bước 6: lưu giữ ở 4°C. Từ bước 2 đến bước 4 lặp lại 45 chu kỳ. Điện di phân tích sản phẩm RAPD trên gel agarose 2 %, nhuộm bản gel bằng ethidium bromide để chụp ảnh.

Phân tích số liệu

Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn DNA khi điện di sản phẩm RAPD với các đoạn mồi ngẫu nhiên của 19 giống đậu tương làm cơ sở cho việc phân tích số liệu. Phân tích sản phẩm RAPD theo quy ước: số 1- xuất hiện phân đoạn DNA; số 0 - không xuất hiện phân đoạn DNA. Xác định hệ số di truyền giống nhau, giá trị PIC (để lập ra biểu đồ so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 19 giống đậu tương ở mức độ phân tử như trong công trình của Đinh Thị Phòng và đồng tác giả (2004). Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSYSpc version 2.0 (Applied Biostatistics Inc., USA., 1998).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đa hình DNA tập đoàn các giống đậu tương bằng chỉ thị RAPD

Hai mươi lăm mồi ngẫu nhiên đã được sử dụng để phân tích đa hình DNA tập đoàn 19 giống đậu tương. Kết quả phân tích sản phẩm PCR-RAPD trên gel agarose 2% cho thấy, có 17/25 mồi RAPD chỉ ra tính đa hình (Bảng 3) với giá trị PIC dao động từ 0,11 (mồi RA31) đến 0,60 (mồi RA159). Trong đó, 3 mồi (OPB10, RA159 và RA32) cho tính đa hình cao, với giá trị PIC ≥ 0,5 (chiếm 17,6%). Số lượng các phân đoạn DNA được nhân bản với mỗi mồi dao động từ 2 đến 13. Tổng số phân đoạn DNA thu được là 154 trong đó: có 68 phân đoạn đa hình (chiếm 44,2%) và 86 phân đoạn đơn hình (chiếm 55,8%) (Bảng 3).

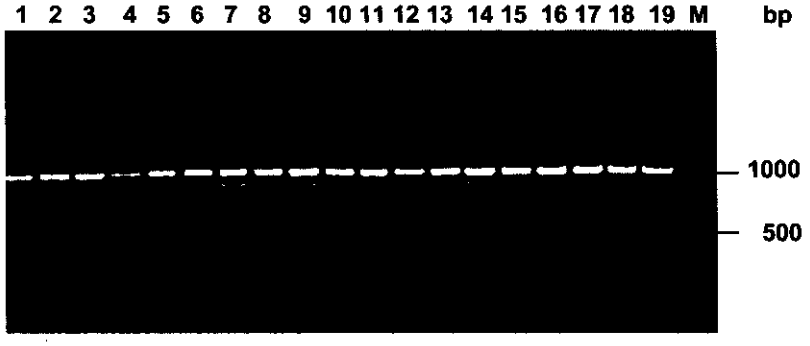
Kết quả điện di sản phẩm PCR - RAPD của 19 giống đậu tương với mồi OPL03 được trình bày ở hình 1. Có từ 2 đến 3 phân đoạn DNA được nhân bản khi phân tích sản phẩm PCR của 19 giống đậu tương với mồi OPL03. Mặc dù chỉ có 4 phân đoạn DNA được nhân lên nhưng có tới 3 phân đoạn đa hình (chiếm 75%). Các phân đoạn DNA được nhân bản ước tính có chiều dài khoảng từ 400 - 1000 bp. Giống có số phân đoạn DNA nhân được ít nhất (2 phân đoạn) là giống KKU - M2 (cột 14). Các giống

còn lại có từ 3 đến 4 phân đoạn DNA được nhân bản.

Tuy số phân đoạn DNA được nhân lên không cao (4 phân đoạn) nhưng tính đa hình cũng được thể hiện khá rõ trên hình 1. Chẳng hạn, ở vị trí khoảng 900 bp, có 18 giống đều nhân được phân đoạn DNA, chỉ có giống G83 (giếng 12) là không xuất hiện phân đoạn DNA ở kích thước 900 bp.

Bảng 3. Số phân đoạn DNA nhân bản được và giá trị PIC khi phân tích 25 mồi RAPD với 19 giống đậu tương.

Mồi	PIC	Số phân đoạn đa hình	Số phân đoạn đơn hình	Tổng số phân đoạn DNA	% phân đoạn đa hình
OPB10	0,53	7	3	10	70
OPB18	0,21	2	3	5	40
OPF10	0,33	1	1	2	50
OPG13	0	0	2	2	0
OPH08	0,27	6	0	6	100
OPM 2	0,21	4	4	8	50
OPP 19	0,33	3	3	6	50
OPQ 5	0	0	8	8	0
OPR 08	0,32	3	5	8	38
UBC 23	0,14	3	7	10	30
OPO 11	0,42	2	2	4	50
UBC 03	0,46	6	2	8	75
OPL 03	**0,22**	**3**	**1**	**4**	75
OPG 09	0,27	2	2	4	50
OPP391	0	0	2	2	0
OPQ13	0,24	2	3	5	40
RA31	0,11	3	6	9	33
RA143	0	0	6	6	0
RA159	0,60	7	0	7	100
RA46	0	0	5	5	0
OPA13	0	0	2	2	0
RA36	0,32	5	3	8	63
RA32	0,58	9	4	13	69
RA142	0	0	6	6	0
RA50	0	0	6	6	0
Tổng		68	86	154	44



Hình 1. Sản phẩm PCR - RAPD của 19 giống đậu tương với mồi OPL03 trên gel agarose 2%. 1 - 19: Thứ tự sắp xếp và tên của 19 giống đậu tương ở bảng 1; M: thang phân tử chuẩn 1 kb; Mũi tên chỉ phân đoạn DNA biến mất.

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền Jaccard của 19 giống đậu tương tính theo phương pháp UPGMA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	1,00																		
2	0,91	1,00																	
3	0,85	0,91	1,00																
4	0,87	0,93	0,93	1,00															
5	0,86	0,90	0,89	0,90	1,00														
6	0,84	0,91	0,91	0,92	0,91	1,00													
7	0,84	0,86	0,89	0,90	0,90	0,93	1,00												
8	0,83	0,86	0,89	0,88	0,90	0,93	0,95	1,00											
9	0,83	0,86	0,89	0,88	0,88	0,92	0,92	0,91	1,00										
10	0,83	0,88	0,90	0,89	0,88	0,94	0,92	0,92	0,95	1,00									
11	0,88	0,89	0,89	0,88	0,88	0,92	0,91	0,90	0,92	0,93	1,00								
12	0,84	0,90	0,86	0,87	0,90	0,93	0,88	0,88	0,90	0,92	0,91	1,00							
13	0,85	0,87	0,85	0,89	0,86	0,90	0,89	0,88	0,90	0,88	0,89	0,90	1,00						
14	0,84	0,81	0,82	0,83	0,78	0,80	0,82	0,79	0,82	0,78	0,79	0,75	0,79	1,00					
15	0,85	0,86	0,86	0,86	0,87	0,86	0,86	0,88	0,88	0,86	0,89	0,86	0,90	0,80	1,00				
16	0,82	0,89	0,84	0,85	0,85	0,88	0,84	0,85	0,85	0,87	0,88	0,91	0,86	0,74	0,91	1,00			
17	0,82	0,81	0,76	0,78	0,77	0,77	0,77	0,77	0,78	0,81	0,79	0,78	0,79	0,75	0,80	0,86	1,00		
18	0,80	0,84	0,85	0,86	0,83	0,86	0,85	0,86	0,85	0,87	0,87	0,86	0,85	0,75	0,90	0,93	0,85	1,00	
19	0,78	0,82	0,79	0,80	0,76	0,78	0,76	0,77	0,77	0,77	0,76	0,78	0,80	0,74	0,80	0,85	0,81	0,84	1,00

Ghi chú: 1, 2, 3... là thứ tự tên các giống như trong bảng 1.

Mối quan hệ di truyền của 19 giống đậu tương nghiên cứu

Phân nhóm di truyền là phương pháp phổ biến để đánh giá mức độ đa dạng của đối tượng nghiên cứu. Phương pháp được thực hiện dựa trên những lý thuyết thống kê cả toán học và sinh học. Phân nhóm di truyền được tiến hành phân tích theo hai cách: tính trạng kiểu hình và tính trạng kiểu gen. Phương pháp đánh giá đa dạng kiểu gen mang lại hiệu quả cao hơn vì không lệ thuộc vào điều kiện của môi trường, vì thế sẽ giúp các nhà chọn giống có định hướng tương

đối chính xác khi lựa chọn vật liệu lai nhằm tạo ra con lai có tính trạng mong muốn.

Mối tương quan di truyền giữa 19 giống đậu tương thể hiện qua hệ số tương đồng di truyền (Bảng 4), biểu đồ hình cây (Hình 2) và biểu đồ đa chiều (Hình 3).

Số liệu về hệ số tương đồng giữa các giống thu được ở bảng 4 cho thấy, hệ số tương đồng di truyền của 19 giống đậu tương thấp nhất là 0,74 khi so sánh giữa giống KKU-M2 (14) với giống OMDN 3-21 (16) và giữa giống KKU-M2 (14) với giống Nam Vang (19). Hệ số tương đồng di truyền cao nhất là 0,95 khi so sánh giữa giống TN12 (7) với giống G22 (8) và giữa giống KKU-G2 (9) với giống KKU-L1 (10). Kết quả này cho thấy khả năng về lựa chọn vật liệu lai giữa các giống là có thể.

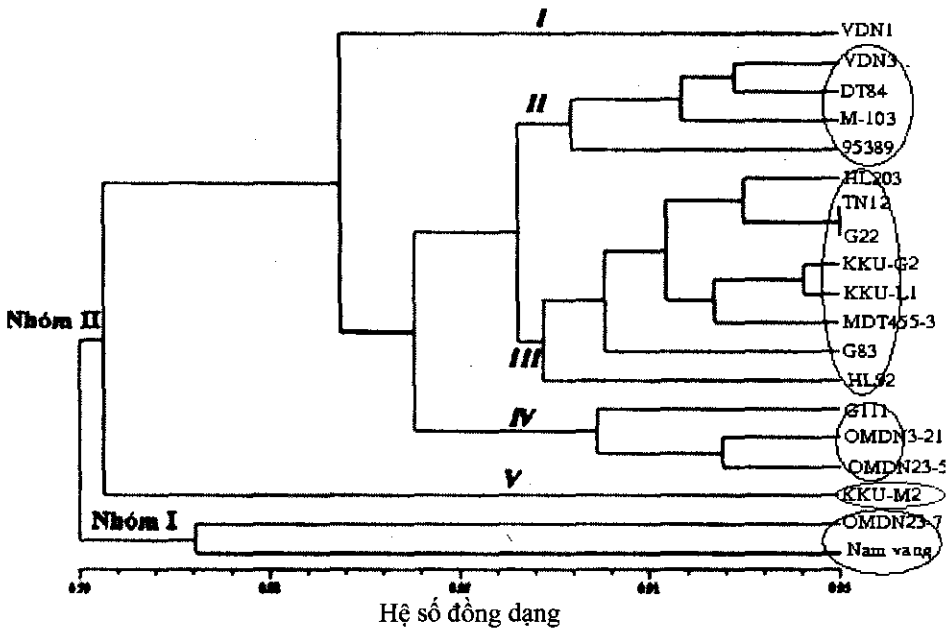
Xét một cách tổng quát ở mức độ phân tử về sự đa dạng di truyền thể hiện trên sơ đồ hình cây (Hình 2) và biểu đồ đa chiều (Hình 3) của 19 giống đậu tương đã phân làm 2 nhóm rõ ràng và không có giống nào giống nhau 100%. Hệ số tương quan di truyền biến động từ 0,79 đến 0,95 được phân làm 2 nhóm chính:

- Nhóm I gồm 2 giống: OMDN23-7 và Nam Vang có mức độ tương đồng di truyền nằm trong khoảng 0,822.

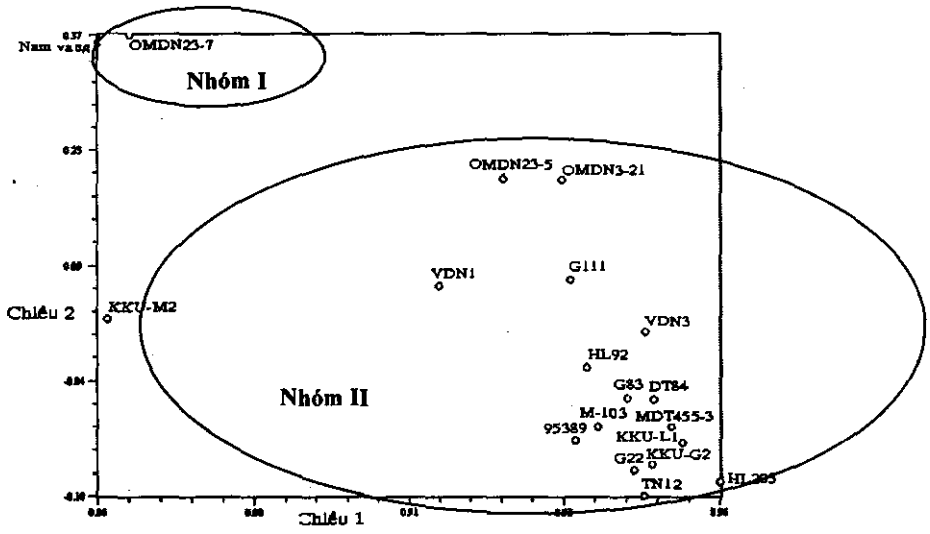
- Nhóm II gồm 17 giống đậu tương (VDN1, VDN3, M-103, DT84, 95389, HL203, TN12, G22, KKU-G2, KKU-L1, MDT455-3, G83, HL92, G111, OMDN3-21, OMDN23-5 và KKU-M2) có mức độ tương đồng di truyền dao động từ 0,792 đến 0,95 và được phân làm 5 nhóm phụ. Trong đó, có hai giống TN12 (Trung Quốc) và G22 (Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam) có mức độ tương đồng di truyền cao nhất (khoảng 0,95).

Các giống có cùng nguồn gốc chọn tạo cũng lập thành một nhóm như hai giống của Thái Lan KKU-G2 và KKU-L1 nhưng vẫn có sự sai khác di truyền khoảng 0,06 (1 - 0,94), hay hai giống của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long là OMDN3-21 và OMDN23-5 và có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,07 (1 - 0,93).

Trong nghiên cứu này còn chỉ ra các giống có tính chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường cũng lập thành những nhóm phụ, như giống HL92 (kháng khá bệnh xoăn lá và thối quả) và giống HL203 (chịu khá với một số sâu bệnh chính) đều nằm trong nhóm phụ *III*, có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,114 (1 - 0,886), hoặc giống M103 (chịu nóng) và giống DT84 (chịu lạnh và úng khá) cùng thuộc nhóm phụ *II*, có hệ số sai khác di truyền khoảng 0,082 (1 - 0,918).



Hình 2. Sơ đồ hình cây 19 giống đậu tương theo hệ số di truyền giống nhau của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA.



Hình 3. Biểu đồ đa chiều của 19 giống đậu tương theo hệ số di truyền giống nhau của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA.

Từ những kết quả phân tích trên đây, có thể khuyến cáo sử dụng các giống M103 (chịu nóng), giống HL203 (chịu sâu bệnh) hoặc giống HL92 (kháng bệnh xoăn lá, thối quả và giống Nam Vang, G22, 95389 vào các tổ hợp lai nhằm tạo giống đậu tương có năng suất và chống chịu khá với một số điều kiện bất lợi.

KẾT LUẬN

Hai mươi lăm mồi RAPD được sử dụng cho việc phân tích đa dạng genome của 19 giống đậu tương, trong đó có 17/25 mồi RAPD chỉ ra tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0,11 (mồi RA31) đến 0,60 (mồi RA159). Trong đó, có 3 mồi (OPB10, RA159 và RA32) cho tính đa hình cao, với giá trị PIC ≥ 0,5.

Kết quả phân tích trên sơ đồ hình cây và đa chiều cho thấy các giống chủ yếu tập trung vào 2 nhóm chính, nhóm I có hai giống và nhóm II gồm 17 giống. Hệ số di truyền sai khác giữa 19 giống đậu tương dao động từ 0,79 đến 0,95. Các giống có cùng nguồn gốc (hai giống OMDN3-21 và OMDN23-5 của Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long) hoặc cùng mức độ kháng bệnh (hai giống HL92 và HL203) đều lập thành một nhóm nhỏ, nhưng vẫn có sự sai khác di truyền từ 0,07 đến 0,114. Kết quả nhận được sẽ góp phần vào thiết lập các cặp lai để tạo giống mới từ một số giống đậu tương nghiên cứu.

Lời cảm ơn: *Công trình được hoàn thành trong khuôn khổ của đề tài cấp Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn "Nghiên cứu ứng dụng các kỹ thuật tiên tiến trong phát triển các cây có dầu ngắn ngày ở phía Nam. Mã số: KC.06.21.NN. Thí nghiệm được tiến hành tại Phòng Công nghệ Tế bào thực vật và Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đinh Thị Phòng, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, Nguyễn Thị Hải Hà, Lê Duy Thành, Nguyễn Văn Viết (2004) Nghiên cứu đa dạng tập đoàn giống lúa có tính kháng khác nhau với bệnh bạc lá lúa vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* bằng kỹ thuật RAPD. *Báo cáo khoa học Hội nghị Toàn quốc về Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống định hướng nông lâm nghiệp miền núi. Thái Nguyên 23/9/2004*: 571-574.

Ferreira AR, Keim P (1997) Genetic Mapping of Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Mol Biol Rep* 15(4): 335- 354.

Kim MK, Park MJ, Jeong WH, Nam KC, Chung J (2006) SSR marker tightly linked to the Ti locus in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Euphytica* 152(3): 361-366.

Mace ES, Lester RN, Gebhardt CG (1999) AFLP

analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*). *Theor Appl Genet* 99: 626-633.

Murray MG, Thompson WF (1990) Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucl Acids Res* 8: 4321-4325.

Ngô Thế Dân, Trần Đình Long, Trần Văn Lài, Đỗ Thị Dung, Phạm Thị Đào (1999) *Cây đậu tương*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

Nguyễn Thị Lang, Nguyễn Đức Thuận, Bùi Chí Bửu (2007) Nghiên cứu sự đa dạng di truyền của một số giống đậu nành bằng chỉ thị phân tử RAPD và SSR. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 5(2): 233-245.

Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vog Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RF RAPD, AFLP and SSR markers for germpl analysis. *Mol Breed* 2(3): 225-238.

Vũ Thanh Trà, Trần Thị Phương Liên (2006) Ngh cứu sự đa dạng di truyền của một số giống đậu tư có phản ứng khác nhau với bệnh gỉ sắt bằng chỉ SSR. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông t* 43: 30-32.

Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski Tingey SV (1990) DNA polymorphisms amplified arbitrary primers are useful as genetic markers. N *Acids Res* 18: 6531-6535.

EVALUATION OF GENETIC RELATIONSHIP OF 19 SOYBEAN VARIETIES BY RAP

Dinh Thi Phong[1,*], Ngo Thi Lam Giang[2]

[1]*Institute of Biotechnology*
[2]*Research Institute of Oil and Oil plants*

SUMMARY

Genetic relationship of nineteen soybean accessions provided by Research Institute of Oil and Oil Plants were analyzed for development of cross materials using 25 RAPD primers. Overall, 17/25 markers used in this study revealed Polymorphic Information Content (PIC) values from 0,11 (RA40) to 0.60 (RA159). Three primers (OPB10, RA159, and RA32) showed a high level of polymorphism, with PIC values ≥ 0.5. The number of DNA fragments amplified ranged from 2 to 13 per primer. Soybean accessions from the same selected source were clustered in one group, for instance, two accessions OMDN3-21 and OMDN23-5 from Cuu Long Delta Rice Research Institute were genetically differed at about 7% (1 - 0.93). Especially, soybean accessions having an ability to resist biotic factor, such as HL92 (resistant to leaf curl and addledfruit) and HL203 (resistant to mainly insect) were located in the minor clustering group *III* that belonged to major group II. They were differed from each other at the about 0.114 (1 - 0.883). Two accessions M103 (resistant to heat) and DT84 (resistant to cold and immerge) were located in the minor clustering group *II* belonged to major group II have the genetic dissimilarity at about 8% (1 - 0.918). The obtained results showed the possibility for development of cross materials from investigated soybean accessions.

Keywords: *Cross material, DNA polymorphism, genetic relationship, RAPD markers, soybean*

* *Author for correspondence:* Tel: *84-4-39941214;* Fax: *84-4-37568328;* E-mail: *dinhthiphong@hotmail.co*