

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT DNA VÀO VIỆC ĐÁNH GIÁ MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN CÂY GỖ TRẮC ĐỎ (*DALBERGIA COCHINCHINENSIS*) Ở VIỆT NAM ĐANG CÓ NGUY CƠ TUYỆT CHỦNG

Vũ Thị Thu Hiền, Đinh Thị Phòng

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

Đến Tòa soạn ngày: 8/2/2010

1. MỞ ĐẦU

Dalbergia là một chi lớn bao gồm nhiều loài gỗ quý, đây là chi điển hình của rừng nhiệt đới với khoảng 300 loài. Ở Việt Nam có khoảng 27 loài, phân bố rộng khắp ở các vùng rừng kín từ Bắc vào Nam [2, 5, 14]. Trong đó *D. cochinchinensis* (hay còn gọi là cây Trắc đỏ) là cây gỗ lâu năm thường mọc rải rác hay tập trung ở rừng nhiệt đới, cho giá trị kinh tế cao. Bộ phận sử dụng chính là gỗ, thường dùng trong chạm khắc nghệ thuật. Những vật dụng được đóng từ gỗ Trắc nổi tiếng trên thế giới là bền, đẹp và có giá trị xuất khẩu cao. Có rất nhiều nguyên nhân khiến diện tích cây Trắc ngày càng suy giảm, nhất là những năm gần đây rộ lên việc khai thác trộm gỗ làm cho kiệt quệ nguồn gen dẫn đến tuyệt chủng. Theo Hiệp hội bảo tồn thiên nhiên quốc tế (IUCN), *D. cochinchinensis* thuộc cấp độ nguy cấp VU A1 cd [6]. Còn theo danh lục đỏ Việt Nam thì mức độ đe dọa của loài ở bậc EN A1 a,c,d, bậc nguy cấp.

Cũng giống như hầu hết các loài cây lấy gỗ khác, việc đánh giá đa dạng di truyền quần thể mới chỉ tập chung vào một số đặc điểm hình thái. Độ chính xác phụ thuộc vào cơ quan sinh sản, nên đôi khi bị hạn chế. Công nghệ sinh học hiện đại hoàn toàn khắc phục được nhược điểm này mà lại chính xác không bị lệ thuộc vào bất cứ điều kiện nào. Vì thế cho đến nay, đã có khá nhiều công bố sử dụng các chỉ thị phân tử như RFLP, AFLP, RAPD, ISSR,... để đánh giá mức độ di truyền trên nhiều đối tượng cây trồng ở nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới và Việt Nam. Các kết quả thu được rất có giá trị trong tạo giống cũng như bảo tồn và tái tạo nguồn gen [1, 3, 7, 8, 10, 11]. Trong số các chỉ thị phân tử, hai chỉ thị RAPD và chỉ thị ISSR được xem là có hiệu quả sử dụng cao vì tương đối đơn giản, dễ thực hiện [13, 15].

Nghiên cứu này đề cập đến kết quả “**Đánh giá mối quan hệ di truyền tập đoàn cây gỗ Trắc đỏ (*D. cochinchinensis*) đang có nguy cơ tuyệt chủng bằng chỉ thị ISSR và chỉ thị RAPD**” giúp cho công tác bảo tồn và tái tạo nguồn gen quý của Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Bao gồm 35 mẫu lá và mẫu gỗ *D. cochinchinensis* do Phòng Sinh học - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cung cấp có kí hiệu và nơi thu thập như bảng 1.

Bảng 1. Nguồn gốc và kí hiệu của 35 mẫu *D. cochinchinensis* dùng trong nghiên cứu

TT	Mẫu	Nguồn gốc	TT	Mẫu	Nguồn gốc
1	Dc1	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	19	Dc19	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
2	Dc2	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	20	Dc20	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
3	Dc3	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	21	Dc21	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
4	Dc4	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	22	Dc22	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
5	Dc5	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	23	Dc23	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
6	Dc6	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	24	Dc24	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
7	Dc7	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	25	Dc25	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
8	Dc8	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	26	Dc26	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
9	Dc9	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	27	Dc28	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
10	Dc10	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	28	Dc28	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
11	Dc11	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	29	Dc29	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
12	Dc12	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	30	Dc30	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
13	Dc13	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	31	Dc31	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
14	Dc14	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	32	Dc32	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
15	Dc15	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	33	Dc33	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)
16	Dc16	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	34	Dc34	KBang (Gia Lai)
17	Dc17	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)	35	Dc35	KBang (Gia Lai)
18	Dc18	VQG Yok Đôn (Đắc Lắc)			

Bảng 2. Trình tự nucleotide của các môi sử dụng trong nghiên cứu, giá trị PIC và tỉ lệ phân đoạn đa hình của 35 mẫu *D. cochinchinensis*

TT	Tên môi	Trình tự	Kích thước (bp)	PIC	PD đa hình	PD đồng hình	Tổng PD	% PD đa hình
Môi RAPD								
1	OPC19	GTTGCCAGCC	400 - 750	0,029	2	1	3	66,67
2	OPP08	ACATCGCCCA	400 - 1200	0,270	3	1	4	75,00
3	OPP19	GGGAAGGACA	250 - 1400	0,219	7	1	8	87,50
4	OPN05	GATGACCGCC	300 - 800	0	0	6	6	0,00
5	OPC05	GGACAACGAG	400 - 1600	0,399	4	0	4	100,00

6	OPR15	AAGCGACCTG	600	0	0	1	1	0,00
7	OPN16	CTCTCCGCCA	900 - 1200	0,005	1	2	3	33,33
8	OPG13	GGGGTGACGA	400 - 700	0	0	1	1	0,00
9	OPD13	AACGGTGACC	400 - 1000	0,057	3	1	4	75,00
10	OPE20	ACCCGGTCAC	600 - 1100	0,132	1	1	2	50,00
11	OPD20	AGACGTCCAC	300 - 800	0,170	2	1	3	66,67
12	OPH03	GTCGCCGTCA	450 - 1400	0,222	2	1	3	66,67
13	OPD03	CACGGCTGCG	700 - 1400	0	0	3	3	0,00
14	UBC348	TTCCGAACCC	450	0	0	1	1	0,00
15	OPA15	TGCGGCTGAG	400-800	0,392	2	1	3	66,67
16	OPE14	TGCGCCCTTC	600	0	0	1	1	0,00
17	OPW13	GTGAGGCGTC	400 - 1000	0,312	4	2	6	66,67
18	OPB05	GGAAGTCGCC	850	0	0	1	1	0,00
19	OPP15	GGAAGCCAAC	550 - 700	0,233	1	1	2	50,00
20	RA142	GGAAGCCAAC	600	0	0	1	1	0,00
21	OPV06	CCTTGACGCA	750 - 950	0	0	2	2	0,00
22	OPB10	ACGCCCAGGT	300	0	0	1	1	0,00
23	OPR08	CTGCTGGGAC	450	0	0	1	1	0,00
24	UBC25	CCCGTTGCCT	300	0	0	1	1	0,00
25	OPH09	CCCGTTGCCT	400	0	0	1	1	0,00
26	OPN11	TGTAGCTGGG	400 - 1400	0	0	2	2	0,00
27	OPQ05	GAAACACCCC	350	0	0	1	1	0,00
28	OPO04	GTAGACCCGT	650	0	0	1	1	0,00
		Tổng RAPD			32	38	70	45,71
Môi ISSR								
1	IS1	(CAG)5	450 - 1100	0	3	1	4	75,00
2	IS2	(CAA)5	600 - 1300	0,063	3	1	4	75,00
3	IS3	(GACA)4	400 - 1300	0,180	6	0	6	100,00
4	IS5	(CCG)6	500 - 1500	0,092	3	1	4	75,00
5	IS6	(CTC)6	450 - 1500	0	4	2	6	66,67
6	IS7	(GGC)6	400 - 1200	0	4	1	5	80,00
7	IS8	(GAA)6	400	0,205	0	1	1	0,00

8	IS10	(CTC)8	600 - 1200	0,108	1	2	3	33,33
9	IS11	(CCA)5	480 - 2000	0,049	3	1	4	75,00
10	IS12	(CCCT)4	800	0	0	1	1	0,00
11	IS13	(GT)8C	700	0	0	1	1	0,00
12	IS14	(CTCT)4GTC	400 - 1800	0,151	4	1	5	80,00
13	IS15	(CA)8A	400 - 1000	0,263	6	0	6	100,00
14	IS18	(CT)8T	500	0,361	0	1	1	0,00
15	P46	(CT)8A	300 - 800	0	3	1	4	75,00
16	P51	(AG)8T	350 - 800	0,144	3	1	4	75,00
17	P55	(GA)8A	450 - 1000	0,299	1	3	4	25,00
18	P56	(AC)8T	750 - 1200	0,211	3	1	4	75,00
19	P61	(AC)8G	400 - 1500	0,289	5	2	7	71,43
20	P62	(GA)8CT	300 - 600	0,115	3	1	4	75,00
21	P63	(AC)8TG	300 - 900	0,423	5	0	5	100,00
22	P67	CTC(AG)7	600 - 1200	0	4	1	5	80,00
23	P69	CTC(GA)7	450 - 1300	0,290	3	2	5	60,00
		Tổng ISSR			67	26	93	72,04
		Tổng RAPD+ISSR			99	64	163	60,74

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số từ 35 mẫu lá và mẫu gỗ *D. cochinchinensis*: theo phương pháp CTAB [4]. Kiểm tra độ sạch và xác định hàm lượng DNA bằng đo quang phổ hấp thụ kết hợp với điện di trên gel agarose 0,8%.

Phản ứng PCR: Một phản ứng PCR có thể tích 25 μ l. Gồm buffer PCR 1X; 2,5 mM $MgCl_2$; 2 mM dNTPs; 200 nM đoạn mồi; 0,5 đơn vị *Taq* polymerase và 10 -20 ng DNA khuôn. Phản ứng PCR-ISSR thực hiện trong máy PCR – Thermal Cyclor theo chu trình nhiệt: 94°C trong 4 phút; 35 chu kỳ (94°C trong 1 phút; 40 - 50°C trong 1 phút; 72°C trong 1 phút); 72°C trong 10 phút; giữ sản phẩm ở 4°C. Chu trình nhiệt phản ứng PCR-RAPD: 94°C trong 1 phút; 45 chu kỳ (92°C trong 1 phút; 35°C trong 1 phút; 72°C trong 1 phút); 72°C trong 10 phút; giữ sản phẩm ở 4°C. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5%, nhuộm Ethidium bromide và chụp ảnh trên máy soi gel.

Phân tích số liệu: theo quy ước: 1 = phân đoạn DNA xuất hiện và 0 = phân đoạn DNA không xuất hiện, khi điện di sản phẩm RAPD, ISSR với các mồi ngẫu nhiên. Xác định hệ số di truyền giống nhau, giá trị PIC, lập biểu đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 35 mẫu *D. cochinchinensis* theo phương pháp Nei và Li [9]. Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSyspc version 2.0 [12].

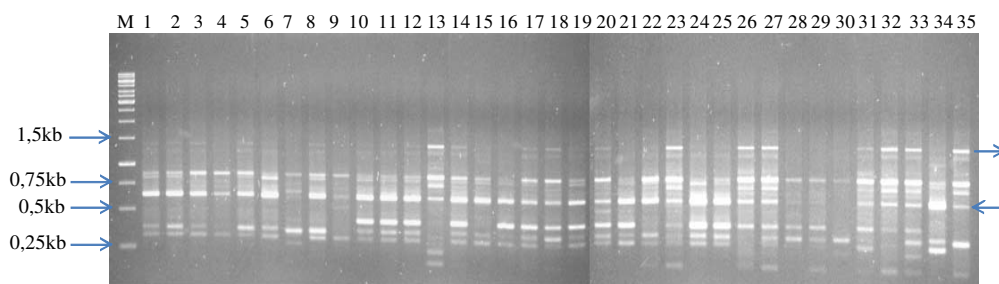
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa dạng di truyền ADN của 35 mẫu *D. cochinchinensis* bằng chỉ thị RAPD và ISSR

DNA của 35 mẫu cây gỗ Trắc được phân tích với 51 chỉ thị trong đó 28 chỉ thị RAPD và 23 chỉ thị ISSR thì có 31/51 chỉ thị chỉ ra tính đa hình (12/28 chỉ thị RAPD và 19/23 chỉ thị ISSR) và với giá trị PIC dao động từ 0 (như OPN05, RA142, IS6,...) đến 0,423 (P63). Số lượng các phân đoạn DNA nhân bản với mỗi mẫu xê dịch từ 1 đến 8 phân đoạn. Kích thước các phân đoạn DNA được nhân bản trong khoảng từ 250 bp đến 2000 bp.

Tổng số nhân bản được 4439 phân đoạn. Số phân đoạn DNA nhân bản được nhiều nhất là 210 phân đoạn (OPN05) và ít nhất là 35 phân đoạn (IS8, RA142,...). Tính đa hình thể hiện ở sự xuất hiện hay không xuất hiện phân đoạn DNA khi so sánh giữa các mẫu với nhau. Tổng số phân đoạn DNA khi phân tích với 51 chỉ thị là 163 phân đoạn. Trong đó có 99 phân đoạn là đa hình (chiếm 60,74%) và 64 phân đoạn đơn hình (chiếm 39,26%) (bảng 2).

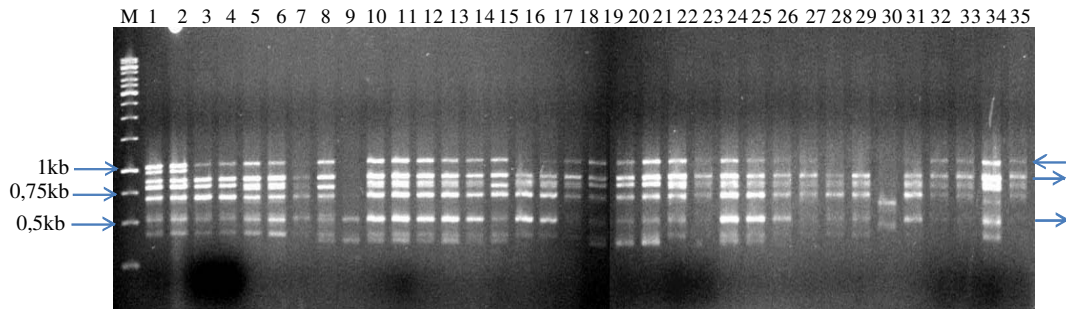
Kết quả điện di sản phẩm PCR-RAPD của 35 mẫu *D. cochinchinensis* với mỗi OPP19 (hình 1) làm đại diện cho phân tích với các mẫu ngẫu nhiên. Trong số 08 phân đoạn DNA được nhân bản thì có 07 phân đoạn đa hình (chiếm 87,50%). Các phân đoạn có kích thước khoảng từ 0,25 kb đến 1,4 kb. Tính đa hình DNA của các mẫu được thể hiện tương đối rõ. Ví dụ ở vị trí khoảng 0,6 kb (mũi tên: ←), gồm 32 mẫu (Dc1, Dc2, Dc3, Dc4, Dc5, Dc6, Dc7, Dc8, Dc9, Dc10, Dc11, Dc12, Dc13, Dc14, Dc15, Dc16, Dc17, Dc18, Dc19, Dc20, Dc21, Dc22, Dc23, Dc24, Dc25, Dc26, Dc27, Dc31, Dc32, Dc33, Dc34 và Dc35, giếng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 32, 33, 34 và 35, tương ứng) đã xuất hiện phân đoạn ADN mới, 03 mẫu còn lại (Dc28, Dc29 và Dc30) không xuất hiện phân đoạn DNA. Nhưng cũng tại vị trí 1,4 kb (mũi tên: →), thì các mẫu (Dc4, Dc7, Dc9, Dc15, Dc16, Dc19, Dc21, Dc22, Dc24, Dc25, Dc28, Dc29 và Dc30, giếng 4, 7, 9, 15, 16, 19, 21, 22, 24, 25, 28, 29 và 30, tương ứng) đã không xuất hiện phân đoạn DNA. Kết quả phân tích trên cho thấy giữa 35 mẫu *D. cochinchinensis* dùng trong nghiên cứu đã có sự sai khác rõ ràng trong DNA genome.



Hình 1. Sản phẩm PCR-RAPD của 35 mẫu cây *D. cochinchinensis* với mỗi OPP19 (giếng 1-35: thứ tự sắp xếp của các mẫu *D. cochinchinensis* như trong bảng 1; M: marker phân tử 1kb)

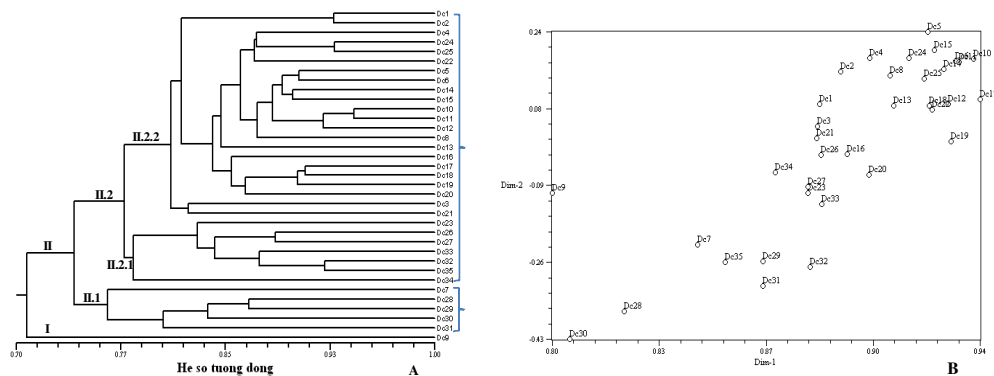
Tương tự, kết quả điện di sản phẩm RCR-ISSR đối với mỗi IS15 (hình 2) làm đại diện thì có 06 phân đoạn DNA được nhân bản, tỉ lệ đa hình cao chiếm 100%. Tính đa hình được thể hiện tương đối rõ khi so sánh giữa các mẫu nghiên cứu với nhau. Chẳng hạn, tại vị trí 0,5 kb (mũi tên: →), 03 mẫu Dc23, Dc27 và Dc35 (giếng 23, 27 và 35, tương ứng) đã không xuất hiện phân đoạn ADN, tất cả các mẫu còn lại đã xuất hiện phân đoạn ADN. Cũng tại vị trí 0,8 kb (mũi tên:

→), 02 mẫu Dc9 và Dc30 (giếng 9 và 30, tương ứng) đã không xuất hiện phân đoạn DNA. Hay tại vị trí 1 kb (mũi tên: ←), 29 mẫu (Dc1, Dc2, Dc3, Dc4, Dc5, Dc6, Dc8, Dc10, Dc11, Dc12, Dc13, Dc14, Dc15, Dc17, Dc18, Dc19, Dc20, Dc21, Dc22, Dc23, Dc24, Dc25, Dc26, Dc27, Dc31, Dc32, Dc33, Dc34 và Dc35, giếng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 32, 33, 34 và 35, tương ứng) đã xuất hiện phân đoạn DNA mới.



Hình 2. Sản phẩm PCR-ISSR của 35 mẫu *D. cochinchinensis* với mồi IS15 (giếng 1-35: thứ tự sắp xếp của các mẫu *D. cochinchinensis* như trong bảng 1; M: marker phân tử 1kb)

3.2. Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu *D. cochinchinensis* với 28 chỉ thị RAPD và 23 chỉ thị ISSR



Hình 3. Biểu đồ hình cây (A) và biểu đồ đa chiều (B) của 35 mẫu *D. cochinchinensis* theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA

Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu *D. cochinchinensis* trong nghiên cứu thể hiện trên sơ đồ hình cây (hình 3A) đã phân ra làm 02 nhánh rõ ràng, và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng 5,1% (1 - 0,949) đến 29,3% (1 - 0,707). Nhánh chính I duy nhất là mẫu Dc9 có hệ số sai khác di truyền khoảng 29,3% (1 - 0,707). Nhánh chính II bao gồm 34 mẫu còn lại và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 5,1% (1 - 0,949) đến 26,0% (1 - 0,740) và được chia làm 2 nhánh nhỏ riêng biệt (nhánh II.1 và II.2). Nhánh nhỏ II.1 bao gồm 5 mẫu Dc7, Dc28, Dc29, Dc30 và Dc31 có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 13,1% (1 - 0,869) đến 23,8% (1 - 0,762). Nhánh nhỏ II.2 bao gồm 29 mẫu còn lại và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 5,1% (1-0,949) đến 22,6% (1 - 0,774) và được chia làm 2 nhánh phụ

nhỏ riêng biệt (II.2.1 và II.2.2). Nhánh phụ nhỏ II.2.1 bao gồm 7 mẫu Dc23, Dc26, Dc27, Dc32, Dc33, Dc34 và Dc35 trong đó có 2 mẫu thu thập tại Kbang (Gia Lai) và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 7,4% (1 - 0,926) đến 21,9% (1 - 0,781). Nhánh phụ nhỏ II.2.2 bao gồm 22 mẫu còn lại và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 5,1% (1-0,949) đến 19% (1 - 0,81).

Kết quả phân nhóm theo biểu đồ ba chiều cũng phản ánh kết quả tương tự như biểu đồ hình cây. Các mẫu có khoảng cách di truyền càng gần nhau thì trên biểu đồ ba chiều chúng sẽ nằm co cụm lại với nhau.

4. KẾT LUẬN

Trong số 51 chỉ thị phân tử (28 chỉ thị RAPD và 23 chỉ thị ISSR) phân tích cho 35 mẫu *D. cochinchinensis* thì có 31/51 chỉ thị (12/28 RAPD và 19/23 ISSR) cho tính đa hình. Tổng số có 163 phân đoạn DNA được nhân bản thì có 99 phân đoạn đa hình (chiếm 60,74%), số lượng các phân đoạn nhân bản dao động từ 1 đến 8 với kích thước nhân bản trong khoảng 250 bp đến 2000 bp.

Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu *D. cochinchinensis* được thể hiện trên sơ đồ hình cây và đã phân ra làm 02 nhánh và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng 5,1% (1 - 0,949) đến 29,3% (1 - 0,707). Nhánh chính I duy nhất là mẫu Dc9 với hệ số sai khác di truyền với các mẫu còn lại khoảng 29,3% (1 - 0,707). Nhánh chính II bao gồm 34 mẫu còn lại và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 5,1% (1 - 0,949) đến 26,0% (1 - 0,740).

Lời cảm ơn. Công trình được hoàn thành bởi kinh phí của đề tài cấp bộ “Nghiên cứu mối quan hệ di truyền một số loài gỗ quý thuộc chi trắc Dalbergia bị đe dọa tuyệt chủng bằng chỉ thị phân tử RAPD và ISSR” thuộc Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ quốc gia (NAFOSTED).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chung S. M., Jack E. S. - The development and evaluation of consensus chloroplast primer pairs that possess highly variable sequence regions in a diverse array of plant taxa, *Theor. Appl. Genet.* **107** (2003) 757-767.
2. Đặng Ngọc Thanh (chủ biên phần động vật), Nguyễn Tiến Bản (chủ biên phần thực vật) - Danh lục đỏ Việt Nam –Vietnam Red List, Nxb KHTN và CN, Hà Nội, 2007, tr. 412.
3. Đinh Thị Phòng, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, Nguyễn Thị Hải Hà, Lê Duy Thành, Nguyễn Văn Viết - 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 HNSHTQ, Thái Nguyên 23/9/2004, 2004, tr. 571-574.
4. Doyle J. J. and Doyle - Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Phytochem Bull* **19** (1987) 11-15.
5. Dương Đức Tiến, Võ Văn Chi - Phân loại học thực vật – Thực vật bậc cao, Nxb Đại học và Trung học chuyên nghiệp, 1978, tr. 333-342.
6. IUCN (International Union for Conservation of Nature and Nature Resources) - IUCN Red List of Threatened Species, 2006. <http://www.redlist.org>.
7. Kim M. K., Park M. J., Jeong W. H., Nam K. C., Chung J. - SSR marker tightly linked to the Tt locus in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.], *Euphytica* **152** (3) (2006) 361-366.

8. Mace E. S., Lester R. N., Gebhardt C. G. - AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*), Theor. Appl. Genet. **99** (1999) 626-633.
9. Nei M., Li W. H. - Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction and nucleases, Proc. Natl. Sci. **76** (1979) 5269-5273.
10. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. - The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis, Molecular Breeding **2** (3) (1996) 225-238.
11. Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Việt Thanh, Lê Anh Tuấn, Phí Hồng Hải, Đinh Thị Phòng - Phân tích mối quan hệ di truyền tập đoàn giống cây bách xanh (*Calocedrus macrolepis*) bằng chỉ thị RAPD và ADN lục lạp. HNCNSHTQ về ST và TNSV lần thứ 3, 2009, pp. 122-128.
12. Weir B. S. - Genetic data analysis - Methods for discrete genetic data. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 1990.
13. Williams J. G. K., Kubelik A. E., Levak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. - DNA polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers, Nucleic Acids. Res. **18** (1990) 6531-6535.
14. WWF (World Wide Fund For Nature) - Report on proposed biodiversity action plan for western highland, 2000.
15. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. - Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification, Genomics **20** (1994) 176-183.

SUMMARY

AMPLIFICATION OF DNA TECHNIQUE IN DIVERSITY ANALYSIS OF ENDANGERED RARE RED WOOD (*DALBERGIA COCHINCHINENSIS*) GERMPLASM IN VIETNAM

Dalbergia cochinchinensis is a rare wood tree species at risk and threatened with extinction due to economic and trade value high. RAPD and ISSR techniques were used to study the genetic relationship of 35 DNA samples collected from JokDon National Park (Dak Lak province) and Kbang (Gia Lai province). A total of 51 primers were used (23 ISSR and 28 RAPD), there were 31/51 primers revealed polymorphic with PIC value varying from 0 (IS8, OPD03,...) to 0.423 (P63). Among 163 fragments were amplified, of which 99 were polymorphic (accounting for 60.74%). Genetic similarity coefficients between 35 *D. cochinchinensis* samples ranged from 0.655 (Dc5 and Dc30) to 0.942 (Dc10 and Dc11). The pattern of grouping in the dendrogram divided 35 *D. cochinchinensis* samples into 2 main groups and have the genetic variation coefficients about 5.1% (1 - 0.949) to 29.3% (1 - 0.707). The first group include the only Dc9 sample have the genetic variation coefficient about 29.3% (1 - 0.707). The second group included 34 samples remaining with the genetic variation coefficient about 5.1% (1 - 0.949) to 26.0% (1 - 0.740).

Liên hệ với tác giả:

Đinh Thị Phòng

Email: coi.hien@gmail.com