

**SO SÁNH HIỆU QUẢ CỦA HAI CHỈ THỊ ISSR VÀ RAPD TRONG  
NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI CỌ KHỆT (*DALBERGIA ASSAMICA*)**

**VŨ THỊ THU HIỀN, ĐINH THỊ PHÒNG, TRẦN THỊ VIỆT THANH**

*Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam*

Cọ khẹt có tên khoa học *Dalbergia assamica*, là loài cây gỗ quý có giá trị kinh tế cao ở Việt Nam. Cọ khẹt được tìm thấy ở Campuchia, Mianma, Lào, Thái Lan, Trung Quốc, Ấn Độ và Việt Nam. Ở Việt Nam loài này mọc ở khắp các tỉnh miền Bắc, miền Trung và Tây Nguyên. Do có giá trị sử dụng cao nên chúng đang bị săn lùng khai thác quá mức.

Trong những năm gần đây, kỹ thuật sinh học phân tử đang được áp dụng rộng rãi, có hiệu quả trong nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể. Các chỉ thị AFLP, ISSR, RAPD, cpSSR... được sử dụng đánh giá đa dạng di truyền, trong đó 2 chỉ thị thị ISSR và RAPD hay được lựa chọn vì tương đối đơn giản, dễ thực hiện mà lại hiệu quả. Đến nay ngày càng có nhiều công trình công bố về nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể ở mức độ phân tử, đây là nguồn tư liệu cần thiết, hữu ích giúp cho công tác bảo tồn tài nguyên sinh vật trên toàn cầu. Nghiên cứu này đề cập đến việc so sánh hiệu quả của hai chỉ thị ISSR và RAPD trong nghiên cứu đa dạng di truyền nhằm bảo tồn loài *D. assamica* ở Việt Nam.

**I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

Mẫu lá được thu từ 35 cây Cọ khẹt (*D. assamica*) do Phòng Sinh học - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cung cấp có ký hiệu và nơi thu thập như Bảng 1.

*Bảng 1*

**Nguồn gốc và ký hiệu của 35 mẫu cây gỗ Cọ khẹt dùng trong nghiên cứu**

TT	Mẫu	Nguồn gốc	TT	Mẫu	Nguồn gốc
1.	Da1	VQG Cúc Phương	19.	Da19	VQG Cúc Phương
2.	Da2	Hà Nội	20.	Da20	VQG Cúc Phương
3.	Da3	Hà Nội	21.	Da21	VQG Cúc Phương
4.	Da4	Hà Nội	22.	Da22	VQG Cúc Phương
5.	Da5	Hà Nội	23.	Da23	VQG Cúc Phương
6.	Da6	VQG Cúc Phương	24.	Da24	VQG Cúc Phương
7.	Da7	VQG Cúc Phương	25.	Da25	VQG Cúc Phương
8.	Da8	VQG Cúc Phương	26.	Da26	VQG Cúc Phương
9.	Da9	VQG Cúc Phương	27.	Da28	VQG Cúc Phương
10.	Da10	VQG Cúc Phương	28.	Da28	VQG Cúc Phương
11.	Da11	VQG Cúc Phương	29.	Da29	VQG Cúc Phương
12.	Da12	VQG Cúc Phương	30.	Da30	VQG Cúc Phương
13.	Da13	VQG Cúc Phương	31.	Da31	VQG Cúc Phương
14.	Da14	VQG Cúc Phương	32.	Da32	VQG Cúc Phương
15.	Da15	VQG Cúc Phương	33.	Da33	VQG Cúc Phương
16.	Da16	VQG Cúc Phương	34.	Da34	VQG Cúc Phương
17.	Da17	VQG Cúc Phương	35.	Da35	VQG Cúc Phương
18.	Da18	VQG Cúc Phương			

Các mẫu sử dụng trong nghiên cứu là 25 mẫu cho chỉ thị ISSR và 25 mẫu cho chỉ thị RAPD.

Bảng 2

**Trình tự các nucleotide của 50 chỉ thị ISSR và RAPD được sử dụng trong nghiên cứu**

TT	Tên môi	Trình tự Nucleotide	TT	Tên môi	Trình tự Nucleotide
<b>Chỉ thị ISSR</b>			<b>Chỉ thị RAPD</b>		
1.	IS1	(CAG)5	1.	OPC19	GTTGCCAGCC
2.	IS2	(CAA)5	2.	OPP08	ACATCGCCCA
3.	IS3	(GACA)4	3.	OPP19	GGGAAGGACA
4.	IS5	(CCG)6	4.	OPN05	GATGACCGCC
5.	IS6	(CTC)6	5.	OPC05	GGACAACGAG
6.	IS7	(GGC)6	6.	OPR15	AAGCGACCTG
7.	IS9	(TG)8GA	7.	OPN16	CTCTCCGCCA
8.	IS10	(CTC)8	8.	OPG13	GGGGTGACGA
9.	IS11	(CCA)5	9.	OPD13	AACGGTGACC
10.	IS12	(CCCT)4	10.	OPE20	ACCCGGTCAC
11.	IS13	(GT)8C	11.	OPD20	AGACGTCCAC
12.	IS14	(CTCT)4GTC	12.	OPA02	TGCCGAGCTG
13.	IS15	(CA)8A	13.	OPH03	GTCGCCGTCA
14.	IS17	(CT)8T	14.	OPD03	CACGGCTGCG
15.	P46	(AG)8T	15.	UBC348	TTCCGAACCC
16.	P49	(GA)8T	16.	OPA15	TGCGGCTGAG
17.	P51	(GA)8A	17.	OPE14	TGCGCCCTTC
18.	P52	(CT)8G	18.	OPW13	GTGAGGCGTC
19.	P55	(AC)8T	19.	OPB05	GGAAGTCGCC
20.	P56	(AC)8G	20.	OPH04	GGAAGTCGCC
21.	P61	(AC)8TG	21.	OPP15	GGAAGCCAAC
22.	P63	CTC(GA)7	22.	OPB12	CCTTGACGCA
23.	P64	ACA(GT)7	23.	OPV06	CCTTGACGCA
24.	P67	(ATG)6	24.	OPR08	CTGCTGGGAC
25.	P69	(GGGTG)3	25.	OPN11	TGTAGCTGGG

Tách DNA tổng số từ mẫu lá theo phương pháp CTAB [3]. Trình tự các nucleotide của 50 chỉ thị ISSR và RAPD đã sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 2. Kỹ thuật PCR - ISSR thực hiện theo chu trình nhiệt: 94°C trong 4 phút; 35 chu kỳ: 94°C trong 1 phút, 40 - 45°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút; 72°C trong 10 phút; giữ hỗn hợp PCR 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 hỗn hợp PCR ở 4°C. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5%, nhuộm Ethidium bromide và chụp ảnh trên máy soi gel.

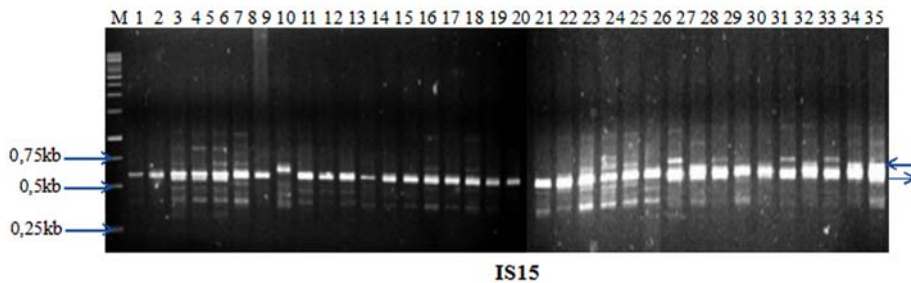
Phân tích số liệu: theo quy ước cho điểm 1 khi có phân đoạn DNA xuất hiện và 0 khi không có phân đoạn DNA tương đồng xuất hiện trong bản điện di sản phẩm ISSR, RAPD với các môi. Xác định hệ số di truyền giống nhau, giá trị PIC, lập biểu đồ hình cây để so sánh hệ số tương đồng di truyền giữa 35 mẫu cọ khẹt theo phương pháp Nei và Li [11]. Số liệu được xử lý bằng chương trình NTSYSpc version 2.0.

## II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Đa dạng di truyền DNA của 35 mẫu *Dabergia assamica* với chỉ thị ISSR

Nhân bản các đoạn DNA bằng kỹ thuật PCR-ISSR sử dụng 25 môi với 35 mẫu *D. assamica* cho kết quả: Trong tổng số 25 môi ISSR thì có 22/25 môi tạo ra sự đa hình DNA với giá trị PIC

dao động từ 0 (IS5, IS13 và P63) đến 0,423 (IS9). Tổng số phân đoạn DNA khi phân tích với 25 chỉ thị ISSR là 102, trong đó có 65 phân đoạn là đa hình (chiếm 63,73%) và 37 phân đoạn đồng hình (chiếm 36,27%) (Bảng 3). Số lượng các phân đoạn DNA nhân bản với các môi biến động từ 1 (IS13) đến 8 (IS3, P49 và P64) phân đoạn và đa dạng về kích thước từ khoảng 200 bp đến 2000 bp. Hình 1 trình bày đại diện kết quả điện di sản phẩm PCR - ISSR của 35 mẫu *D. assamica* với môi chỉ thị IS15. Trong số 06 phân đoạn DNA được nhân bản thì có 06 phân đoạn đa hình (chiếm 100%). Các phân đoạn có kích thước khoảng từ 0,3 kb đến 1,1 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: →), chỉ có duy nhất mẫu Da8 (giếng 8) không xuất hiện phân đoạn DNA, 34 mẫu còn lại đều xuất hiện phân đoạn DNA. Hay tại vị trí 0,65 kb (mũi tên: ←), có 14 mẫu (Da3, Da5, Da6, Da8, D15, Da17, Da18, Da22, Da23, Da24, Da26, Da28, Da31 và Da33, giếng 3, 5, 6, 8, 15, 17, 18, 22, 23, 24, 26, 28, 31 và 33, tương ứng) đã xuất hiện phân đoạn DNA mới, cho thấy giữa 35 mẫu *D. assamica* dùng trong nghiên cứu đã có sự sai khác trong DNA genome.



**Hình 1: Sản phẩm PCR-ISSR của 35 mẫu *D. assamica* với môi chỉ thị IS15**

(M: Marker phân tử 1kb; giếng 1-35: Thứ tự sắp xếp của các mẫu như trong Bảng 1).

Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu nghiên cứu với 25 chỉ thị ISSR được thể hiện trên sơ đồ hình cây (hình 3A) tạo thành 02 nhánh chính (nhánh chính I và II) có hệ số sai khác di truyền khoảng 3% (1 - 0,97) đến 27,4% (1 - 0,726). Trong mỗi nhánh chính có nhiều nhánh phụ: Nhánh chính I bao gồm tất cả 34 mẫu *Dalbergia assamica* có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 3% (1 - 0,97) đến 23,8% (1 - 0,762) và được chia làm 2 nhánh phụ (I.1 và I.2). Nhánh phụ I.1 bao gồm 13 mẫu *Dalbergia assamica* thu thập tại VQG Cúc Phương có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 10,9% (1 - 0,891) đến 22,5% (1 - 0,775).

Nhánh phụ I.2 gồm 21 mẫu *Dalbergia assamica* trong đó có 3 mẫu Da3, Da4 và Da5 thu thập ở Hà Nội, 18 mẫu còn lại thu thập tại VQG Cúc Phương có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 3% (1 - 0,97) đến 19,4% (1 - 0,806) và được chia làm 2 nhánh phụ nhỏ. Nhánh phụ nhỏ I.2.1 bao gồm 8 mẫu *Dalbergia assamica* thu thập tại VQG Cúc Phương. Nhánh phụ nhỏ I.2.2 bao gồm 13 mẫu *Dalbergia assamica*, đặc biệt 3 mẫu (Da3, Da4 và Da5) thu thập tại Hà Nội nằm ở 1 cụm và có hệ số sai khác di truyền so với các mẫu còn lại khoảng 18,2% (1 - 0,818). Nhánh chính II chỉ có 1 mẫu Da1 và có hệ số sai khác di truyền với 34 mẫu còn lại khoảng 27,4% (1 - 0,726).

## 2. Đa dạng DNA của 35 mẫu *D. assamica* với chỉ thị RAPD

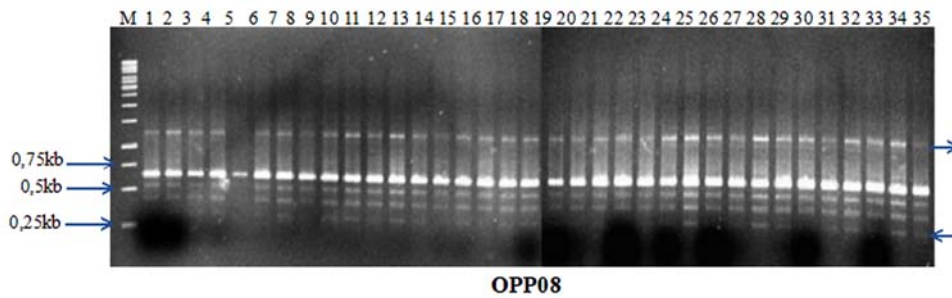
PCR-RAPD với 25 môi cho 35 mẫu *D. assamica* cho kết quả có 17/25 môi chỉ ra tính đa hình với giá trị PIC dao động từ 0 (OPA02, OPE14,...) đến 0,554 (OPA15), cho thấy tính đa hình giữa các mẫu là cao (có 2 môi OPA15 và OPH04 cho giá trị PIC  $\geq 0,5$ ). Tổng số phân đoạn DNA khi phân tích với 25 chỉ thị RAPD là 71 trong đó có 40 phân đoạn là đa hình (chiếm 56,34%) và 31 phân đoạn đồng hình (chiếm 43,66%) (Bảng 3). Số lượng các phân đoạn DNA biến động từ 1 (OPR15, OPA02, OPE14, OPB05, OPP15, OPV06, OPR08 và OPN11) đến 6 (OPP19) và đa dạng về kích thước từ 250 đến 1600 bp.

Bảng 3

**Giá trị PIC và tỷ lệ phân đoạn đa hình của 35 mẫu *Dalbergia assamica* khi phân tích với 50 chỉ thị phân tử**

TT	Chỉ thị ISSR	Kích thước lý thuyết (bp)	PIC	PĐ đa hình	PĐ đồng hình	TPĐ	% PĐ đa hình	TT	Chỉ thị RAPD	Kích thước lý thuyết (bp)	PIC	PĐ đa hình	PĐ đồng hình	TPĐ	% PĐ đa hình
1.	IS1	450-1100	0.348	4	1	5	80.00	1.	OPC19	400-750	0.030	2	1	3	66.67
2.	IS2	500-1300	0.052	1	2	3	33.33	2.	OPP08	300-1300	0.069	4	1	5	80.00
3.	IS3	300-1300	0.192	4	4	8	50.00	3.	OPP19	250-800	0.262	5	1	6	83.33
4.	IS5	500-800	0	0	3	3	0.00	4.	OPN05	450-1200	0.004	1	3	4	25.00
5.	IS6	600-1100	0.010	1	2	3	33.33	5.	OPC05	400-1600	0.233	2	2	4	50.00
6.	IS7	400-1100	0.003	1	4	5	20.00	6.	OPR15	600	0	0	1	1	0.00
7.	IS9	800-950	0.423	2	0	2	100	7.	OPN16	250-1200	0.086	2	1	3	66.67
8.	IS10	450-1200	0.012	1	4	5	20.00	8.	OPG13	250-650	0.359	3	1	4	75.00
9.	IS11	400-900	0.154	2	2	4	50.00	9.	OPD13	600-800	0.207	1	1	2	50.00
10.	IS12	600-800	0.380	1	1	2	50.00	10.	OPE20	600-1100	0.205	2	1	3	66.67
11.	IS13	700	0	0	1	1	0.00	11.	OPD20	400-900	0.162	2	2	4	50.00
12.	IS14	300-1000	0.180	7	0	7	100	12.	OPA02	800	0	0	1	1	0.00
13.	IS15	300-1100	0.329	6	0	6	100	13.	OPH03	450-1400	0.184	2	1	3	66.67
14.	IS17	400-600	0.104	1	1	2	50.00	14.	OPD03	500-1400	0.177	2	2	4	50.00
15.	P46	350-1200	0.042	4	1	5	80.00	15.	UBC348	450-600	0.233	1	1	2	50.00
16.	P49	200-1100	0.232	6	2	8	75.00	16.	OPA15	300-800	0.554	2	1	3	66.67
17.	P51	300-700	0.053	1	1	2	50.00	17.	OPE14	600	0	0	1	1	0.00
18.	P52	400-1400	0.391	4	0	4	100	18.	OPW13	400-1000	0.237	5	0	5	100
19.	P55	400-550	0.050	2	1	3	66.67	19.	OPB05	850	0	0	1	1	0.00
20.	P56	450-750	0.225	2	1	3	66.67	20.	OPH04	500-1500	0.536	3	1	4	75.00
21.	P61	400-800	0.018	3	1	4	75.00	21.	OPP15	700	0	0	1	1	0.00
22.	P63	400-700	0	0	3	3	0.00	22.	OPB12	300-600	0.152	1	1	2	50.00
23.	P64	300-950	0.246	8	0	8	100	23.	OPV06	750-950	0	0	2	2	0.00
24.	P67	600-1100	0.212	3	1	4	75.00	24.	OPR08	450	0	0	1	1	0.00
25.	P69	1200-1300	0.015	1	1	2	50.00	25.	OPN11	400-1400	0	0	2	2	0.00
	TB		<b>0.1468</b>						TB		<b>0.1476</b>				
<b>Tổng ISSR</b>		<b>65</b>		<b>37</b>	<b>102</b>	<b>63.73</b>		<b>Tổng RAPD</b>		<b>40</b>		<b>31</b>	<b>71</b>	<b>56.34</b>	
<b>Tổng ISSR+RAPD</b>				<b>105</b>		<b>68</b>		<b>173</b>		<b>60.69</b>					

Kết quả điện di sản phẩm RCR - RAPD đối với môi OPP08 làm đại diện (Hình 2) cho thấy có 05 phân đoạn DNA với 04 phân đoạn đa hình, tỷ lệ khoảng 80%. Tính đa hình được thể hiện tương đối rõ khi so sánh giữa các mẫu nghiên cứu với nhau. Chẳng hạn, tại vị trí 0,3 kb (mũi tên: ←), có 14 mẫu Da7, D9, D10, Da12, Da13, Da15, Da17, Da18, Da25, Da26, Da27, Da28, Da31 và Da34 (giếng 7, 9, 10, 12, 13, 15, 17, 18, 25, 26, 27, 28, 31 và 34, tương ứng) đã xuất hiện phân đoạn DNA, 21 mẫu còn lại đã không xuất hiện phân đoạn DNA. Cũng tại vị trí 1,3 kb (mũi tên: →), chỉ có duy nhất mẫu Da5 (giếng 5) không xuất hiện phân đoạn DNA.



**Hình 2: Sản phẩm PCR - RAPD với 35 mẫu *D. assamica* với chỉ thị môi OPP08**

(M: Marker phân tử 1kb; giếng 1-35 thứ tự sắp xếp các mẫu *D. assamica* như Bảng 1).

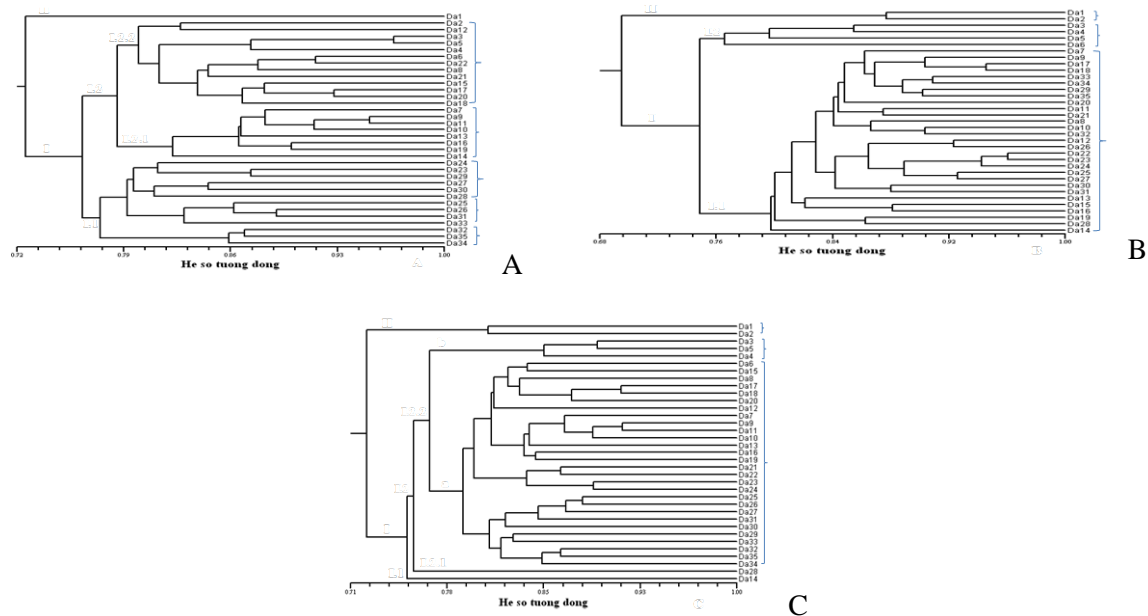
Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu nghiên cứu được thể hiện trên sơ đồ hình cây (hình 3B) chia ra làm 02 nhánh chính (nhánh chính I và nhánh chính II), có hệ số sai khác di truyền dao động từ 4% (1 - 0,96) đến 31% (1 - 0,69). Nhánh chính I bao gồm 33 mẫu *D. assamica* có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 4% (1 - 0,96) đến 25,1% (1 - 0,749) và được chia làm 2 nhánh phụ nhỏ. Nhánh phụ I.1 bao gồm toàn bộ 25 mẫu *D. assamica* thu thập tại VQG Cúc Phương và có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 4% (1 - 0,96) đến 20,1% (1 - 0,799). Nhánh phụ I.2 gồm tất cả 4 mẫu Da3, Da4, Da5 và Da6. Mẫu Da6 thu thập tại VQG Cúc Phương có hệ số sai khác di truyền với 3 mẫu Da3, Da4 và Da5 thu thập tại Hà Nội khoảng 23,3% (1 - 0,767). Ba mẫu Da3, Da4 và Da5 có hệ số sai khác di truyền dao động từ 14,1% (1 - 0,859) đến 20,1% (1 - 0,799). Nhánh chính II gồm 2 mẫu là Da1 và Da2 có hệ số sai khác di truyền khoảng 11,8% (1 - 0,882).

### 3. Mối quan hệ di truyền của 35 mẫu *D. assamica* với chỉ thị ISSR + RAPD

Tổng hợp các dữ liệu của 25 môi RAPD và 25 môi ISSR để phân tích đánh giá đa dạng di truyền với 35 mẫu *D. assamica*, chúng tôi nhận thấy giá trị tương quan kiểu hình ( $r > 0,7$ ) là rất chặt khi tính theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA, nên được sử dụng trong nghiên cứu này. Sơ đồ hình cây (hình 3C) phân ra 2 nhánh chính có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 9% (1 - 0,91) đến 28% (1 - 0,72). Nhánh chính I bao gồm 33 mẫu *D. assamica* có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 9% (1 - 0,91) đến 24,8% (1 - 0,752) và được chia làm 2 nhánh phụ (I.1 và I.2). Nhánh phụ I.1 có duy nhất mẫu Da14. Nhánh phụ I.2 bao gồm 32 mẫu và được chia làm 2 nhánh phụ nhỏ (I.2.1 và I.2.2). Nhánh phụ nhỏ I.2.1 gồm duy nhất mẫu Da28. Nhánh phụ nhỏ I.2.2 gồm 31 mẫu, điều đặc biệt 3 mẫu Da3, Da4 và Da5 thu thập tại Hà Nội nằm chung một cụm có hệ số sai khác di truyền so với 28 mẫu còn lại khoảng 23,2% (1 - 0,768). Nhánh chính II gồm 2 mẫu Da1 và Da2 có hệ số sai khác di truyền với 33 mẫu còn lại khoảng 28% (1 - 0,72).

Hai chỉ thị phân tử RAPD và ISSR thường được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu đánh giá mối quan hệ di truyền trong nhiều đối tượng cây trồng (Arif *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2006; Esselman *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 1998). Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy sử dụng chỉ thị ISSR cho tính đa hình hiệu quả hơn so với chỉ thị RAPD. Cụ thể, tỷ lệ phần trăm các phân đoạn đa hình khi

phân tích với chỉ thị ISSR là 63,73% và với chỉ thị RAPD là 56,34%. Tổng số phân đoạn DNA khi phân tích với chỉ thị ISSR là 102, cao hơn so với chỉ thị RAPD là 71 phân đoạn. Sử dụng 50 chỉ thị ISSR và RAPD (25 ISSR và 25 RAPD) cho thấy có 18/25 mỗi biểu hiện được tính đa hình > 50% (chỉ thị ISSR), trong đó 5/18 mỗi cho tính đa hình 100%. Trong khi sử dụng chỉ thị RAPD có 16/25 mỗi cho tính đa hình > 50% và không có mỗi nào cho tính đa hình 100%.



**Hình 3: Biểu đồ hình cây 35 mẫu *D. assamica* sử dụng ISSR (A), RAPD (B) và ISSR + RAPD (C) tính theo hệ số di truyền của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA**

Các nghiên cứu tương tự cũng cho thấy việc sử dụng chỉ thị ISSR có hiệu quả hơn chỉ thị RAPD. Theo Hou, Y.C *et al.*, 2005 [7], trong nghiên cứu về lúa mạch tại Trung Quốc, tỷ lệ phần trăm các phân đoạn đa hình của chỉ thị ISSR (98,13%) cao hơn RAPD (77,06%) và hàm lượng thông tin đa hình trong phân tích ISSR cũng cao hơn so với RAPD. Theo Mohd Arif *et al.*, 2009 [10], so sánh 2 chỉ thị ISSR và RAPD trong nghiên cứu đa dạng di truyền loài *D. sissoo* chỉ ra tính đa hình >50% và việc ứng dụng chỉ thị RAPD trong việc phân tích đa dạng di truyền có hiệu quả hơn so với việc sử dụng chỉ thị ISSR.

### III. KẾT LUẬN

Hai chỉ thị ISSR và RAPD được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền loài *Dalberdia assamica* cho kết quả tin cậy. Chỉ thị ISSR cho kết quả 22/25 chỉ thị đa hình, trong số 102 phân đoạn được nhân bản, có 65 phân đoạn đa hình chiếm 63,73%. Sử dụng 25 chỉ thị RAPD để so sánh, chỉ có 17/25 chỉ thị cho tính đa hình, trong số 71 phân đoạn được nhân bản có 40 phân đoạn đa hình chiếm 56,34%.

Quan hệ di truyền của 35 mẫu *D.assamica* khi phân tích với 50 chỉ thị ISSR và RAPD hình thành 2 nhóm chính có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 9% (1 - 0,91) đến 28% (1 - 0,72), trong đó nhóm chính I gồm 33 mẫu *D.assamica* có hệ số sai khác di truyền dao động trong khoảng từ 9% (1 - 0,91) đến 24,8% (1 - 0,752) và có 2 nhóm phụ. Nhánh chính II gồm 2 mẫu Da1 và Da2 có hệ số sai khác di truyền nhỏ. Hiệu quả sử dụng chỉ thị ISSR để đánh giá tính đa dạng di truyền loài *D.assamica* cao hơn RAPD (22/17). Các mẫu trong cùng một vùng phân bố có sự tương đồng di truyền cao hơn so với các vùng phân bố khác.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Nguyễn Tiến Bản (chủ biên)**, 2003: Danh lục các loài thực vật Việt Nam, NXB. Nông nghiệp, Hà Nội, tập 2.
2. **Bộ KH&CN, Viện KHCNVN**, 2007: Sách Đ Việt Nam - Phần Thực vật, NXB. KHTN&CN, Hà Nội.
3. **Lê Trần Bình và cs.**, 2003: Áp dụng các kỹ thuật phân tử trong nghiên cứu tài nguyên sinh vật Việt Nam, NXB. KH&KT, Hà Nội.
4. **Doyle J. J. and Doyle**, 1987: *Phytochem Bull.*, 19: 11-15.
5. **Rout G. R., D. Bhattacharya, R. M. Nanda, S. Nayk and P. Das**, 2003: *Biodiversity and Conservation*, 12: 197-206.
6. **Hou Y. C., Z. H. Yan, Y. M. Wei and Y. L. Zheng**, 2005: *Barley Genetics Newsletter*, 35: 9-22.
7. **Kim M. K., M. J. Park, W. H. Jeong, K. C. Nam, J. Chung**, 2006: *Euphytica*, 152(3): 361-366.
8. **Mace E. S., R. N. Lester, C. G. Gebhardt**, 1999: *Theor. Appl. Genet.*, 99: 626 - 633.
9. **Mohd Arif, N. W. Zaidi, Y. P. Singh, Q. M. Rizwanul Haq, U. S. Singh**, 2009: *Plant Molecular Biology*, 27: 488-495.
10. **Nei M. & W. H. Li**, 1979: *Proc. Natl. Sci.*, 76: 5269-5273.
11. **Powell W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, A. Rafalski**, 1996: *Molecular Breeding*, 2(3): 225 - 238.
12. **Williams J. G. K., A. E. Kubelik, K. J. Levak, J. A. Rafalski, S. V. Tingey**, 1990: *Nucleic Acids Res*, 18: 6531-6535.

*Lời cảm ơn:* Công trình được hoàn thành bởi kinh phí của đề tài “Nghiên cứu mối quan hệ di truyền một số loài gỗ quý thuộc chi *Trác 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 Việt Nam-NAFOSTED.

**AN EFFECTIVE COMPARISON OF ISSR AND RAPD MARKERS IN THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY AMONG *DALBERGIA ASSAMICA* GENOTYPES**

**VU THI THU HIEN, DINH THI PHONG, TRAN THI VIET THANH**

**SUMMARY**

*Dalbergia assamica* (Co Khet) is an endemic species of Vietnam. Two PCR techniques based molecular methods, intersimple sequence repeat (ISSR) and random amplified polymorphism DNA (RAPD) were used to study for comparative analysis of genetic diversity in population with 35 individuals Co Khet collected in Hanoi and Cuc Phuong National Park. A total of 50 polymorphic primers (25 ISSR and 25 RAPD) were used, there were 39/50 primers revealing polymorphic. Analysis with ISSR primers, there were 22/25 primers revealing polymorphic with PIC value (*Polymorphic Information Content*) varying from 0 (IS5, IS13 and P63) to 0.423 (IS9). Among 102 fragments were amplified, of which 65 were polymorphic (accounting for 66.73%). In the 25 RAPD primers, there were 17/25 primers revealing polymorphic with PIC value varying from 0 (OPR15, OPE14,...) to 0.554 (OPA15). Amplification of genomic DNA, yielded 71 fragments, of which 40 were polymorphic (accounting for 56.34%). Degree of genetic similarity based on Jaccard's coefficient when analyzed with ISSR primers, ISSR and RAPD between the respective ranges from 0.671 (Da1 and Da21) to 0.967 (Da3 and Da5) from 0.613 (Da5 and Da28 ) to 0.961 (Da22 and Da23) and from 0.660 (Da1 and Da5) to 0.914 (Da9 and Da11).