

ĐA DẠNG DI TRUYỀN LOÀI ÉCH ANG TAM ĐẢO (*Quasipaa boulengeri*) TẠI THÁI NGUYÊN BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Nguyễn Thị Hải Hà¹, Bùi Văn Thắng², Trần Thảo Vân³, Trần Việt Vinh⁴

^{1,2}Trường Đại học Lâm nghiệp

^{3,4}Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

Ếch ang tam đảo có tên khoa học là *Quasipaa boulengeri*, thuộc họ Dicroglossidae. Ếch ang được tìm thấy ở Nam và Tây Nam Trung Quốc và miền Bắc Việt Nam. Môi trường sống ngày càng bị thu hẹp và các hoạt động khai thác, săn bắt quá mức đã và đang làm giảm số lượng cá thể Ếch ang trong tự nhiên. Nghiên cứu này đánh giá mức độ đa dạng di truyền loài Ếch ang tam đảo thu được tại Thái Nguyên dựa trên chỉ thị RAPD. Kết quả cho thấy 10 mẫu RAPD sử dụng cho tỉ lệ % số phân đoạn đa hình 88,61%. Hệ số tương đồng di truyền của các mẫu nghiên cứu từ 48,7% đến 82,1%, hệ số tương đồng di truyền trung bình 68,7%. Các mẫu nghiên cứu chia thành hai nhóm dựa vào hệ số tương đồng di truyền, trong đó các mẫu thu được tại xã Văn Yên và Phú Xuyên có hệ số tương đồng 65,4% thuộc một nhóm, khác với các mẫu còn lại có hệ số tương đồng 62%. Nghiên cứu tạo cơ sở khoa học phục vụ cho việc bảo tồn và phát triển nguồn gen Ếch ang tam đảo tại tỉnh Thái Nguyên.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, Ếch ang tam đảo, RAPD, Thái Nguyên.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ếch ang tam đảo (*Quasipaa boulengeri*) thuộc họ Dicroglossidae. Loài có khu vực phân bố ở miền Bắc Việt Nam và phía Nam và Tây Nam Trung Quốc. Ở Việt Nam, Ếch ang thường xuất hiện dọc theo sông suối trong rừng tự nhiên. Ếch ang bị săn bắt để sử dụng vào nhiều mục đích khác nhau: làm thực phẩm, trong y học... Do rừng bị khai thác quá mức hoặc biến đổi thành đất nông nghiệp, khu vực phân bố bị phân cắt dẫn đến môi trường sống ngày càng bị thu hẹp và các hoạt động khai thác, săn bắt quá mức làm số lượng cá thể Ếch ang ngày càng suy giảm. Việc buôn bán ếch cho nhu cầu tiêu thụ của con người đang đẩy loài vật này đến nguy cơ tuyệt chủng. Đến nay, số cá thể Ếch ang còn lại trong tự nhiên không nhiều nên Ếch ang đã được ghi vào Danh lục Đỏ Thế giới IUCN (2008), mức đe dọa EN A2acd - nguy cấp, suy giảm số lượng ít nhất 20% theo ước tính do sự suy giảm nơi cư trú, khu phân bố và do khai thác quá mức.

Nhiều nghiên cứu cho thấy, các quần thể Ếch ang sống trong vùng địa lý bị cô lập dễ bị

suy giảm về số lượng và tuyệt chủng (Gong et al., 2009, Yun et al., 2013). Các mối đe dọa chủ yếu đối với loài này là hoạt động khai thác quá mức của con người, dẫn đến tiêu hủy và suy thoái môi trường sống, chủ yếu là do việc khai thác gỗ và ô nhiễm nguồn nước. Việc suy giảm số lượng cá thể của quần thể thường dẫn đến sự suy giảm về mức độ đa dạng di truyền. Điều này có thể dẫn đến giảm khả năng thích ứng của các cá thể trong quần thể trước những thay đổi của môi trường sống, ảnh hưởng đến khả năng phát triển bền vững của loài trong tương lai. Để nghiên cứu đa dạng di truyền, trên thế giới hiện nay có nhiều phương pháp khác nhau: phương pháp sử dụng các chỉ thị hình thái, chỉ thị phân tử. Tùy vào đối tượng, điều kiện và mục đích nghiên cứu mà lựa chọn phương pháp phù hợp nhất. Trong đó, có chỉ thị RAPD sử dụng đơn giản nhưng cho kết quả nhanh và đặc biệt là không cần phải biết trước trình tự bộ gen của đối tượng (Daniela et al., 2007).

Ở Việt Nam, hầu hết các nghiên cứu nhằm phục vụ việc bảo tồn nguồn tài nguyên ếch vẫn còn nhiều hạn chế, chủ yếu các nghiên cứu thường về mô tả đặc điểm hình thái, sinh thái,

sinh học và các nghiên cứu về điều tra khu vực sống của các loài. Bên cạnh đó đa số các nghiên cứu xoay quanh việc bảo tồn đa dạng di truyền loài ếch đều thuộc loài ếch gai. Vì vậy, nghiên cứu tiến hành đánh giá mức độ đa dạng di truyền loài Ếch ang tam đảo tại Thái Nguyên sử dụng chỉ thị RAPD làm cơ sở khoa học bảo tồn, nhân giống và phát triển loài động vật có giá trị này.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất

Vật liệu nghiên cứu gồm 15 mẫu gan Ếch ang tam đảo được thu thập ngẫu nhiên tại những địa điểm khác nhau tại huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên (bảng 1). Mẫu được đựng trong ống nghiệm phân tích, bảo quản trong cồn 96. Mẫu thu về được bảo quản ở tủ -20°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. Danh sách các mẫu Ếch ang nghiên cứu

| Ký hiệu mẫu | Địa điểm thu mẫu | Ký hiệu mẫu | Địa điểm thu mẫu |
|-------------|------------------|-------------|------------------|
| E1 | Quân Chu | E9 | Hoàng Nông |
| E2 | Quân Chu | E10 | Hoàng Nông |
| E3 | Ký Phú | E11 | La Bằng |
| E4 | Ký Phú | E12 | La Bằng |
| E5 | Văn Yên | E13 | Yên Lãng |
| E6 | Mỹ Yên | E14 | Yên Lãng |
| E7 | Cát Nê | E15 | Phú Xuyên |
| E8 | Cát Nê | | |

Các cặp môi được sử dụng trong nghiên cứu thiết kế dựa trên các tài liệu đã được công bố

(Abdul và cộng sự, 2009).

Bảng 2. Trình tự các cặp môi RAPD sử dụng trong nghiên cứu

| Tên môi | Trình tự 5'-3' | Nhiệt độ bắt môi | Tên môi | Trình tự 5'-3' | Nhiệt độ bắt môi |
|---------|----------------|------------------|---------|----------------|------------------|
| OPA-07 | GGA ACG GGTG | 31°C | OPAH-01 | TTC GCA ACCA | 38°C |
| OPA-09 | GGG TAA CGCC | 38°C | Rm-1 | CTG GGC ACGA | 38°C |
| OPA-11 | CAA TCG CCGT | 38°C | Rm-2 | TTC CGC CACC | 38°C |
| OPA-20 | GTT GCG ATCC | 31°C | Rm-4 | CCG CTA CCGA | 38°C |
| OPAC-14 | GTC GGT TGTC | 31°C | Rm-5 | CCT TTC CCTC | 31°C |

Hóa chất sử dụng để tách chiết ADN tổng số từ mẫu gan Ếch ang tam đảo: Kit tách chiết ADN tổng số (DNA isolation Kit) của hãng Norgen, Canada; phản ứng PCR nhân bản các đoạn mã vạch AND sử dụng Master mix của hãng iNtRon Biotechnology, Hàn Quốc; điện di trên gel Agarose, DNA marker, Redsafe của hãng Norgen.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết ADN tổng số từ các mẫu gan Ếch ang tam đảo theo hướng dẫn của bộ Kit. Xác định nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch ADN tổng số bằng phương pháp quang phổ kế trên máy Nanodrop2000. Nhân bản đoạn gen bằng kỹ thuật PCR trên máy PCR 9700 Thermal Cycler Applied Biosystems (Mỹ), mỗi phản ứng PCR được thực hiện trong tổng phản ứng 25 µl, bao gồm:

H₂O deion (9,5 µl), 2x PCR Master mix Solution (12,5 µl), 10 pmol/µl mỗi (1,0 µl), ADN tổng số (2 µl tương ứng 50 ng). Chu trình nhiệt PCR: biến tính 94°C 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ [95°C - 30 giây, 31 và 38°C - 50 giây, 72°C - 50 giây], 72°C trong 10 phút và giữ mẫu ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1,2%, nhuộm gel bằng redsafe, soi dưới đèn UV và chụp ảnh bằng hệ thống Dolphin - Doc Image system của hãng Wealtec (Mỹ). Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần.

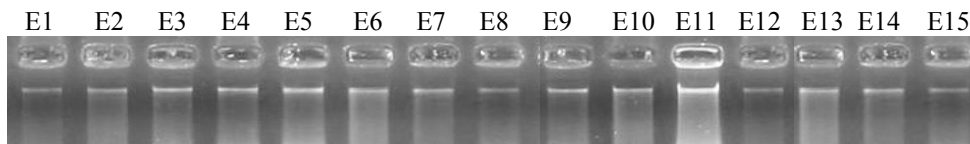
Dựa vào hình ảnh điện di sản phẩm RAPD, sự xuất hiện các băng điện di được ước lượng kích thước và thống kê các băng điện di với từng mẫu nghiên cứu. Dữ liệu trình tự được tính toán bằng Excel 2013 và xử lý bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 để xác định mức độ tương đồng di truyền trong các mẫu nghiên cứu dưới dạng ma trận băng và sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền giữa các mẫu Éch ang tam

đảo tại Thái Nguyên. Hàm lượng thông tin tính đa hình (Polymorphism information content – PIC) của mỗi môi sử dụng được tính theo công thức $PIC = 1 - \sum p_i^2$, trong đó P_i là tần số của allele thứ i của kiểu gen được kiểm tra. Phạm vi giá trị PIC từ 0 (không đa hình) tới 1 (đa hình hoàn toàn).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tách chiết ADN tổng số 15 mẫu Éch ang tam đảo

ADN tổng số của 15 mẫu Éch ang tam đảo đã được tách chiết thành công với chất lượng ADN cao. Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 1% cho thấy các băng ADN tổng số thu được sắc nét, ADN không bị gãy (hình 1). Kết quả đo OD cho chỉ số OD₂₆₀/OD₂₈₀ của các mẫu luôn nằm trong khoảng 1,8 đến 2,0. Chứng tỏ ADN có độ tinh sạch và nguyên vẹn cao đạt tiêu chuẩn để sử dụng cho các kỹ thuật tiếp theo.



Hình 1. Ảnh điện di ADN tổng số tách từ 15 mẫu Éch ang tam đảo trên gel agarose 1%

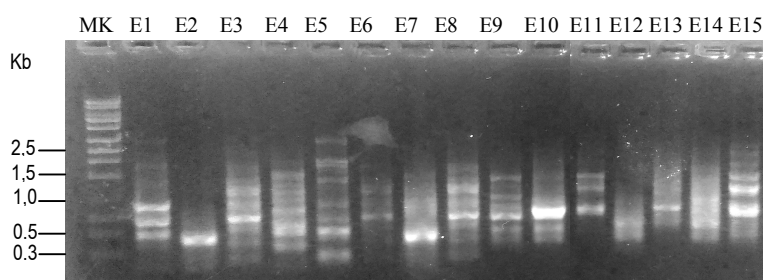
3.2. Kết quả phân tích ADN bằng kỹ thuật RAPD

Kết quả điện di sản phẩm PCR sử dụng 10 môi RAPD cho thấy cả 10 đoạn môi ngẫu nhiên sử dụng đều xuất hiện phân đoạn ADN khi soi bản gel dưới đèn UV (sản phẩm PCR của 15 mẫu Éch ang trên cơ sở môi OPA-07 được trình bày ở hình 2). Trong đó, cả 10 môi nghiên cứu đều xuất hiện các băng đa hình. Tổng số phân đoạn ADN thu được 79, tổng số phân đoạn đa hình 70 chiếm 88,61%. Kích thước các băng nằm trong khoảng từ 0,3 – 2,5 Kb. Trong 10 môi RAPD có 2 môi cho tỷ

lệ phân đoạn đa hình 100% (OPA-07 và OPAC-14); 5 môi cho tỷ lệ đa hình trên 50% (OPA-09, OPA-20, Rm-01, Rm-02 và Rm-04), một môi cho tỷ lệ đa hình dưới 50% (OPAH-01). Có thể thấy, các môi sử dụng có khả năng phản ánh mức độ đa dạng di truyền của các mẫu nghiên cứu. Kết quả này cũng phù hợp khi phân tích hàm lượng thông tin đa hình thể hiện ở giá trị PIC. Giá trị PIC cao nhất đạt 0,756 đối với môi OPA-20, thấp nhất đạt 0,426 ở môi OPAH-01. Trong đó 9/10 môi có giá trị PIC > 0,5. Kết quả này một lần nữa khẳng định tính đa hình của các môi sử dụng trong nghiên cứu.

Bảng 3. Số băng ADN được nhân bản, số băng đa hình, tỉ lệ % đa hình và hệ số PIC của 10 môi RAPD nghiên cứu

| Môi | PIC | Tổng số phân đoạn | Số phân đoạn đa hình | Số phân đoạn đơn hình | Tỉ lệ % số phân đoạn đa hình |
|------------|-------|-------------------|----------------------|-----------------------|------------------------------|
| OPA-07 | 0,689 | 6 | 6 | 0 | 100,00 |
| OPA-20 | 0,756 | 7 | 6 | 1 | 85,71 |
| OPA-09 | 0,722 | 9 | 7 | 2 | 77,78 |
| OPA-11 | 0,754 | 12 | 12 | 0 | 100,00 |
| OPAH-01 | 0,426 | 6 | 4 | 2 | 66,67 |
| OPAC-14 | 0,578 | 9 | 9 | 0 | 100,00 |
| RM-01 | 0,694 | 9 | 7 | 2 | 77,78 |
| RM-02 | 0,720 | 9 | 8 | 1 | 88,89 |
| RM-04 | 0,688 | 7 | 6 | 1 | 85,71 |
| RM-05 | 0,630 | 5 | 5 | 0 | 100,00 |
| Tổng | | 79 | 70 | 9 | |
| Trung bình | 0,666 | | | | 88,61 |



Hình 2. Sản phẩm PCR môi OPA-07 của 15 mẫuẾch ang tam đảo trên gel agarose 1,2%

MK - Marker: thang ADN chuẩn 1KB

3.3. Phân tích mối quan hệ di truyền giữa 15 mẫuẾch ang tam đảo tại Thái Nguyên

Từ kết quả điện di được mã hóa thành mã nhị phân 0 (phân đoạn ADN không xuất hiện) và 1 (phân đoạn ADN xuất hiện) để phân tích mối tương quan di truyền giữa các mẫu nghiên cứu bằng phần mềm NTSYSpc 2.1. Ma trận hệ số tương đồng và cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa theo hệ số tương đồng di truyền Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA. Kết quả xác định hệ số tương đồng di truyền được thể hiện ở bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền phản ánh quan hệ di truyền của các mẫuẾch ang tam đảo. Kết quả cho thấy, hệ số tương đồng giữa các mẫuẾch ang tam đảo nghiên cứu nằm trong khoảng từ 0,487 (cặp mẫu E13 và E15) đến 0,821 (cặp mẫu E11 và E12) tương ứng với từ 48,7% đến 82,1%. Hệ số tương đồng di truyền trung bình giữa các cá

thể nghiên cứu 0,687 (tương ứng với 68,7%). Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng, các mẫuẾch ang tam đảo tại Thái Nguyên có sự đa dạng di truyền ở mức trung bình so với một số nghiên cứu của các tác giả khác sử dụng cùng loại chỉ thị phân tử. Theo Daniela et al., (2007) nghiên cứu đa dạng di truyền loài *Eupemphix nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) ở miền Trung Brazil, kết quả phân tích cho thấy sự khác biệt đáng kể về di truyền và có ý nghĩa ($p < 0,001$) giữa các quần thể *E. nattereri*, mức độ đa dạng di truyền trong quần thể đạt 69,5%. Với 8 môi RAPD đã khuếch đại tổng cộng 82 phân đoạn ADN trong 156 cá thể từ 11 quần thể nghiên cứu, với 81 (98,8%) trong 82 phân đoạn AND (locus) đa hình và chỉ có một locus là đơn hình. Các băng thu được dao động từ khoảng 0,1 đến 2,0 Kb. Anand et al., (2012) đã nghiên cứu 6 quần thể loài *Hylarana*

malabarica phân bố dọc theo Tây Bắc Ghats của Ấn Độ bằng phương pháp phân tích hình thái và di truyền. Phân tích dữ liệu hình thái học được hỗ trợ bởi các dữ liệu di truyền thu

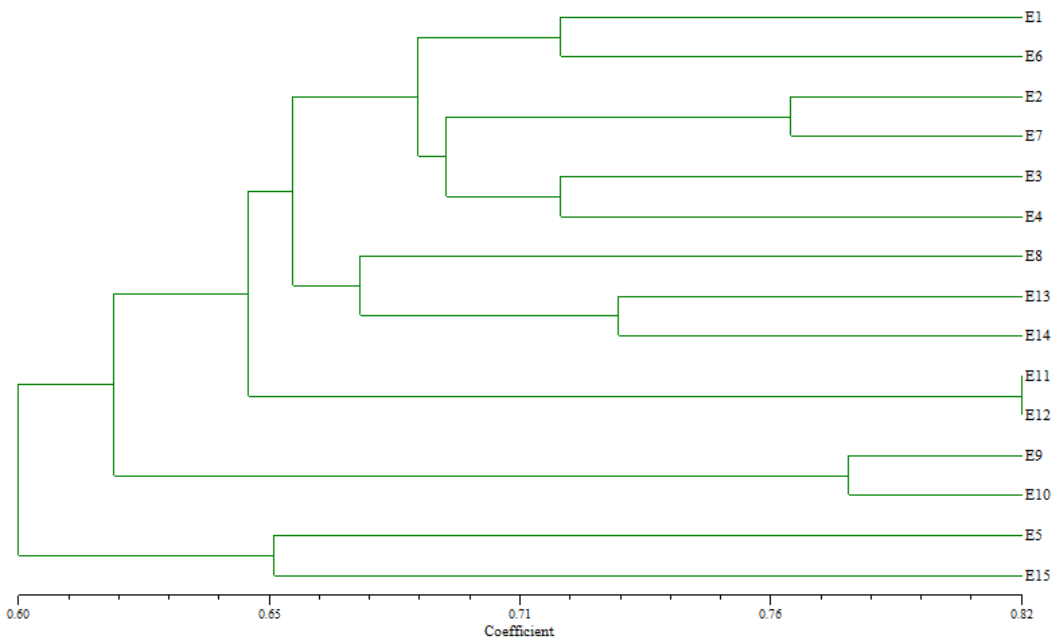
được bằng phương pháp RAPD sử dụng 10 mồi (trong đó có mồi Rm-01, Rm-02, Rm-03, Rm-04, Rm-05) cho thấy mức độ đa dạng đạt 86,19%.

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền khi so sánh theo từng cặp của 15 mẫu Ếch ang tam đảo tại Thái Nguyên

| | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 | E7 | E8 | E9 | E10 | E11 | E12 | E13 | E14 | E15 |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| E1 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | | |
| E2 | 0.667 | 1.000 | | | | | | | | | | | | | |
| E3 | 0.679 | 0.679 | 1.000 | | | | | | | | | | | | |
| E4 | 0.679 | 0.679 | 0.718 | 1.000 | | | | | | | | | | | |
| E5 | 0.667 | 0.538 | 0.551 | 0.551 | 1.000 | | | | | | | | | | |
| E6 | 0.718 | 0.641 | 0.679 | 0.679 | 0.692 | 1.000 | | | | | | | | | |
| E7 | 0.718 | 0.769 | 0.679 | 0.731 | 0.564 | 0.744 | 1.000 | | | | | | | | |
| E8 | 0.564 | 0.564 | 0.654 | 0.705 | 0.641 | 0.718 | 0.769 | 1.000 | | | | | | | |
| E9 | 0.603 | 0.628 | 0.538 | 0.590 | 0.628 | 0.654 | 0.551 | 0.628 | 1.000 | | | | | | |
| E10 | 0.692 | 0.615 | 0.577 | 0.654 | 0.590 | 0.641 | 0.590 | 0.615 | 0.782 | 1.000 | | | | | |
| E11 | 0.628 | 0.628 | 0.641 | 0.590 | 0.551 | 0.654 | 0.705 | 0.654 | 0.590 | 0.603 | 1.000 | | | | |
| E12 | 0.705 | 0.705 | 0.590 | 0.667 | 0.577 | 0.628 | 0.679 | 0.628 | 0.615 | 0.628 | 0.821 | 1.000 | | | |
| E13 | 0.654 | 0.679 | 0.615 | 0.590 | 0.577 | 0.705 | 0.654 | 0.654 | 0.641 | 0.731 | 0.615 | 0.718 | 1.000 | | |
| E14 | 0.641 | 0.692 | 0.603 | 0.628 | 0.538 | 0.692 | 0.718 | 0.692 | 0.603 | 0.615 | 0.577 | 0.654 | 0.731 | 1.000 | |
| E15 | 0.654 | 0.577 | 0.667 | 0.641 | 0.654 | 0.628 | 0.628 | 0.603 | 0.615 | 0.551 | 0.615 | 0.615 | 0.487 | 0.577 | 1.000 |

Dựa vào giá trị hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu khi so sánh với nhau, phần mềm NTSYS tự động sắp xếp các mẫu có hệ số tương đồng cao vào một nhóm và kết quả thu được một sơ đồ hình cây tính theo hệ số Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA đã chỉ ra

mức độ sai khác di truyền giữa 15 mẫu Ếch ang tam đảo (hình 3). Mức độ khác nhau được biểu hiện bằng hệ số sai khác giữa các mẫu. Các mẫu có hệ số di truyền giống nhau tương tự sẽ được xếp thành một nhóm, giữa các nhóm lại có sự liên hệ với nhau.



Hình 3. Sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 15 cá thể Ếch ang tam đảo tại Thái Nguyên

Qua sơ đồ hình 3 cho thấy 15 mẫu Ếch ang tam đảo được chia thành 2 nhóm chính với mức độ tương đồng di truyền là 0,60 (60%).

Nhóm 1 gồm có 13 mẫu chia thành 5 phân nhóm với mức tương đồng di truyền tương đối 0,62 (62%). Trong đó, nhóm 1 lại phân thành hai nhóm phụ: Nhóm phụ 1: có mức độ tương đồng khoảng 0,64 gồm 11 mẫu: E1, E2, E3, E4, E6, E7, E8, E11, E12; trong đó E11 và E12 có mức độ tương đồng cao nhất 0,82 (82%). Nhóm phụ 2: gồm 2 mẫu E9 VÀ E10 có mức độ tương đồng di truyền cao 0,782.

Nhóm 2 chỉ có 2 mẫu E5 và E15 có mức độ tương đồng di truyền 0,65 (65%).

Như vậy, có thể thấy, các cá thể Ếch ang tam đảo nghiên cứu có mối quan hệ tương đồng về mặt di truyền ở mức độ trung bình, hay nói cách khác mức độ đa dạng di truyền không cao. Nguyên nhân có thể do khoảng cách về mặt địa lý không lớn do đó có khả năng đã xảy ra sự trao đổi di truyền chéo giữa các cá thể trong các xã của huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên. Hoặc có thể do tác động của con người dẫn đến sự trao đổi di truyền giữa các cá thể trong khu vực nghiên cứu.

IV. KẾT LUẬN

Sử dụng 10 môi RAPD phân tích 15 mẫu Ếch ang tam đảo thu được 79 phân đoạn ADN nhân bản ngẫu nhiên; trong đó 70 phân đoạn đa hình, chiếm 88,61%; phân tích NTSYSpc cho thấy các mẫu Ếch ang tam đảo nghiên cứu có hệ số tương đồng di truyền của các mẫu nghiên cứu từ 48,7% đến 82,1%, hệ số tương đồng di truyền trung bình 68,7%.

Cây phát sinh thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 15 mẫu Ếch ang tam đảo tại Thái Nguyên chia thành hai nhóm lớn: Nhóm 1 gồm có 13 mẫu chia thành 5 phân nhóm với mức tương đồng di truyền tương đối 0,62 (62%). Trong đó, nhóm 1 lại phân thành hai nhóm phụ: nhóm phụ 1: có mức độ tương đồng

khoảng 0,64 gồm 11 mẫu: E1, E2, E3, E4, E6, E7, E8, E11, E12; trong đó E11 và E12 có mức độ tương đồng cao nhất 0,82 (82%); nhóm phụ 2: gồm 2 mẫu E9 VÀ E10 có mức độ tương đồng di truyền 0,782. Nhóm 2 chỉ có 2 mẫu E5 và E15 có mức độ tương đồng di truyền 0,65 (65%).

Mức độ đa dạng di truyền của các mẫu Ếch ang tam đảo nghiên cứu là không cao, vì vậy, cần có các biện pháp để bảo tồn và phát triển loài ếch này tại Thái Nguyên.

Lời cảm ơn

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ “Bảo tồn nguồn gen Ếch ang tam đảo (Quasipaa boulengeri) trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên” của Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ tỉnh Thái Nguyên - Sở KH&CN tỉnh Thái Nguyên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdul Muneer P. M., Gopalakrishnan A., (2009). Genetic variation and population structure of endemic yellow catfish, *Horabagrus brachysoma* among three populations of Western Ghat region using RAPD and microsatellite markers. *Molecular Biology Reports*, 36(7): 1779 – 1791.
2. Daniela de Melo e Silva, Aparecido Divino da Cruz, Rogério Pereira Bastos, Raquel Loren Reis, Mariana Pires de Campos Telles and José Alexandre Felizola Diniz-Filho, (2007). Population structure of *Eupemphix nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) from Central Brazil, *Genetics and Molecular Biology*, 30 (4): 1161 - 1168.
3. Gong DJ, Wu HC, Hou F, Qi CH, (2009). Investigation and analysis on population of *Paa boulengeri* in Kang county, Gansu province. *Resour Environ Yangtze Basin* 18:1162–1165.
4. Michael Wai Neng Lau, Yuan Zhigang, Zhao Ermi, Bosco Chan, (2008). *The IUCN Red List of Threatened Species*.
5. Yun Xia, Lujun Hu, Xiang Shan, Yuchi Zheng, Xiaomao Zeng, (2013). Isolation and characterization of eleven polymorphic tetranucleotide microsatellite loci for *Quasipaa boulengeri* (Anura: Dicroglossidae), *Conservation Genet Resour*, 5: 5–7.

**GENETIC DIVERSITY OF *QUASIPAA BOULENGERI*
FROM THAI NGUYEN PROVINCE BY RAPD MARKERS**

Nguyen Thi Hai Ha¹, Bui Van Thang², Tran Thao Van³, Tran Viet Vinh⁴

^{1,2} *Vietnam National University of Forestry*

^{3,4} *Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry*

SUMMARY

Quasipaa boulengeri is a species of the genus *Quasipaa*. *Q. boulengeri* is endemic species of South and Southwest China and North Vietnam. Its habitat has been shrinking. Over-exploitation and hunting have reduced the number of this species in the wild. This study evaluated genetic diversity of *Q. boulengeri* collected in Thai Nguyen province based on ten primers of RAPD marker. The results showed that the percentage of polymorphic DNA fragment was 88.61%, the genetic similarity value was from 48.7% to 82.1%, the average genetic similarity value was 68.7%. The samples were divided into two groups based on the value of genetic similarity, in which the samples collected in Van Yen and Phu Luong had a similarity value of 65% in one group, whereas the others with the same value 62%. The research created a scientific basis and an important scientific proof to conservation and development of *Q. boulengeri* genetic resources in Thai Nguyen province.

Keywords: Genetic diversity, *Quasipaa boulengeri*, RAPD, Thai Nguyen province.

Ngày nhận bài : 17/8/2017

Ngày phản biện : 15/9/2017

Ngày quyết định đăng : 02/10/2017