

PHÂN TÍCH QUAN HỆ DI TRUYỀN QUẦN THỂ LONG NÃO (*Cinnamomum Camphora* L. Presl) BẰNG KỸ THUẬT PCR-RAPD

Hà Văn Huân

TS. Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nghiên cứu này sử dụng kỹ thuật PCR-RAPD để phân tích đa dạng và quan hệ di truyền của quần thể Long nảo được trồng tại rừng Thực nghiệm của trường Đại học Lâm nghiệp. Sử dụng 10 đoạn mồi ngẫu nhiên để phân tích 20 mẫu Long nảo đã thu được tổng số 631 băng ADN, trong đó có 351 băng đa hình, trung bình tỷ lệ băng ADN đa hình chiếm 55,63%. Trong đó mồi PL08 cho tỷ lệ băng ADN đa hình cao nhất đạt 78,26%, chỉ có mồi PL06 cho kết quả đơn hình. Hệ số tương đồng di truyền từng cặp mẫu nằm trong khoảng từ 0,69 -1,00 (tương ứng với từ 69% -100%), sự sai khác di truyền giữa các mẫu nằm trong khoảng từ 0-31%. Đã xây dựng được sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 20 cá thể Long nảo, được chia thành 3 nhóm chính: Nhóm I chỉ có duy nhất mẫu LN8; Nhóm II, gồm: LN3, LN12, LN6 và LN14; Nhóm III, gồm: LN1, LN4, LN13, LN2, LN10, LN7, LN9, LN19, LN5, LN17, LN20, LN18, LN11, LN15 và LN16. Trong đó, Nhóm II và Nhóm III lại chia thành các phân nhóm nhỏ. Kết quả phân tích cho thấy các cá thể Long nảo trồng ở khu rừng thực nghiệm của trường Đại học Lâm nghiệp có mức độ đa dạng di truyền khá cao.

Từ khóa: *Chỉ thị phân tử, đa dạng di truyền, Long nảo, mồi ngẫu nhiên, RAPD.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Long nảo (*Cinnamomum Camphora* L. Presl) là loài cây gỗ lớn, có thể cao tới 40 m, đường kính có thể đạt tới 200 cm. Trên thế giới, Long nảo phân bố ở khu vực Đông Á, trong đó có nhiều ở Đài Loan, phía Nam Nhật Bản, Đông Nam Trung Quốc và khu vực Đông Dương (<http://vi.wikipedia.org/>). Ở Việt Nam, Long nảo được trồng ở Hà Giang từ thời Pháp thuộc và sau đó được trồng ở các tỉnh miền núi phía Bắc. Hiện nay, một số nơi trồng ven đường để lấy bóng mát, như: Hà Nội, Thừa Thiên Huế, Gia Lai,... Long nảo là cây có giá trị rất cao, tất cả các bộ phận của cây như lá, thân, cành, rễ,... đều được sử dụng để chưng cất tinh dầu dùng trong công nghiệp và y dược. Long nảo có thể được trồng rừng để lấy gỗ hoặc trồng làm cây bóng mát, do cây có tán rộng, lá xanh quanh năm, có khả năng hấp thụ một số ion kim loại nặng (như chì) làm sạch môi trường. Vì vậy, Long nảo được trồng ven đường phố, khu đô thị ở nhiều thành phố lớn.

Đến nay, chưa có nghiên cứu nào về phân tích đa dạng, quan hệ di truyền loài Long nảo được báo cáo. Gần đây, nhờ sự phát triển của

các kỹ thuật sinh học phân tử, như: RAPD, AFLP, RFLP, SSR, SNP,... cho phép đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các cá thể, quần thể và các xuất xứ sinh vật một cách nhanh chóng (Atienzar và cộng sự, 2000; Costa và cộng sự, 2006; Kawar và cộng sự, 2009). Trong đó, chỉ thị RAPD là một trong những chỉ thị đã được sử dụng khá phổ biến để đánh giá đa dạng di truyền ở nhiều loài cây rừng, như: Lim xanh (Nguyễn Hoàng Nghĩa và cộng sự, 2005), cây họ Dầu (Nguyễn Đức Thành và cộng sự, 2005), Sao lá hình tim (*Hopea cordata* Vital) (Nguyễn Hoàng Nghĩa và cộng sự, 2006), họ Song mây (Sarmah và cộng sự, 2007; Vũ Thị Huệ và cộng sự, 2009), Sao mạng Cà Ná (*Hopea reticulate* Tardicu) (Nguyễn Đức Thành và cộng sự, 2009), Tràm bản địa (*Melaleuca cajuputi*) (Nguyễn Việt Cường và cộng sự, 2010) và Dầu rái (*Dipterocarpus alatus* Roxb) (Nguyễn Thị Hải Hồng và cộng sự, 2012). Trong nghiên cứu này, tác giả đã tiến hành phân tích, đánh giá mối quan hệ di truyền quần thể Long nảo được trồng tại rừng thực nghiệm của trường Đại học Lâm nghiệp bằng kỹ thuật PCR-RAPD. Kết quả nghiên cứu

sẽ là cơ sở khoa học quan trọng để đề xuất các biện pháp bảo tồn nguồn gen, cải thiện giống phù hợp và hiệu quả nhất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu: 20 mẫu lá được lấy từ 20 cây Long não được trồng ở khu rừng thực nghiệm (núi Luót) của trường Đại học Lâm nghiệp, các mẫu được ký hiệu LN1-LN20 và 10 mẫu ngẫu nhiên.

Bảng 1. Danh mục mỗi ngẫu nhiên được sử dụng trong nghiên cứu

| TT | Kí hiệu mỗi | Trình tự nucleotide của mỗi |
|----|-------------|-----------------------------|
| 1 | PL01 | 5'-GGACTGGAGT-3' |
| 2 | PL02 | 5'-TGGGGGACTC-3' |
| 3 | PL03 | 5'-TTCCCCCGCT-3' |
| 4 | PL04 | 5'-GGACCCTTAC-3' |
| 5 | PL05 | 5'-TGGACCGGTG-3' |
| 6 | PL06 | 5'-AAGCCTCGTC-3' |
| 7 | PL07 | 5'-ACTTCGCCAC-3' |
| 8 | PL08 | 5'-GGCGGACTGT-3' |
| 9 | PL09 | 5'-GGGAAGGACA-3' |
| 10 | PL10 | 5'-GCTGTGCAGC-3' |

Hóa chất: Các dung dịch tách chiết ADN tổng số từ thực vật: Đệm chiết EBA (2% (w/v) CTAB, 100mM Tris (pH 8.0), 20mM EDTA, 1,4M NaCl, 4% (w/v) PVP, 0,1% (w/v) Ascorbic acid, 10mM β – Mercaptoethanol); đệm chiết EBB (100mM Tris-HCl (pH 8.0), 50mM EDTA, 100mM NaCl, 10mM β Mercaptoethanol); đệm TE; các hóa chất khác như: SDS, Potassium acetate, Sodium acetate, Ethanol, Isopropanol do các hãng hóa chất Serva, Himedia, Merck cung cấp. Các hóa chất cho PCR-RAPD: 10X PCR buffer minus Mg^{+2} , $MgCl_2$ (10 mM), dNTP mix (2,5 mM), mỗi ngẫu nhiên, Taq DNA polymerase (5 units/ μ l); hóa chất cho điện di ADN: Agarose, RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution, DNA marker do các hãng Norgen, iNtRON Biotechnology cung cấp.

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết ADN tổng số từ các mẫu lá cây Long não được tiến hành theo phương pháp

của Keb-Llanes và cộng sự (2002). Nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch ADN tổng số được xác định bằng phương pháp quang phổ kế. Phản ứng PCR-RAPD sử dụng 10 mỗi ngẫu nhiên và được thực hiện trên máy PCR 9700 của hãng Applied Biosystems (Mỹ), mỗi phản ứng PCR-RAPD được thực hiện trong tổng thể tích 25 μ l, bao gồm: H₂O deion (13,5 μ l), 10X PCR buffer minus Mg^{2+} (2,5 μ l), 25 mM $MgCl_2$ (2,5 μ l), 2,5 mM dNTP mix (2,0 μ l), 10 μ M Mỗi ngẫu nhiên (2,0 μ l), 5 U/ μ l Taq DNA polymerase (0,5 μ l) và 50ng/ μ l DNA khuôn (2 μ l). Kết quả PCR-RAPD được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5 %, quan sát kết quả dưới đèn cực tím và chụp ảnh.

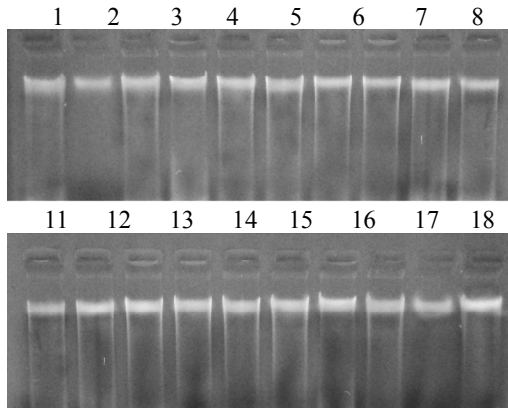
Phân tích số liệu: Sử dụng phần mềm NTSYSpc version 2.0 để phân tích quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RAPD với các mỗi ngẫu nhiên được sử dụng để xác định các phân đoạn ADN đa hình và đơn hình dựa vào sự xuất hiện hay không xuất hiện của băng ADN giữa các mẫu nghiên cứu. Các băng này được mã hoá theo hệ nhị phân 0 và 1 theo nguyên tắc: Số 1 - xuất hiện phân đoạn ADN và số 0- không xuất hiện phân đoạn ADN. Số liệu này sẽ được sử dụng để xây dựng ma trận tương đồng. Các ma trận này biểu hiện cho mối quan hệ xa gần về mặt di truyền giữa các mẫu phân tích. Phần mềm NTSYSpc cho phép chuyển hóa các số liệu về tương quan di truyền giữa các mẫu ở dạng ma trận thành dạng biểu đồ hình cây (còn gọi là cây tiến hóa), các mẫu có hệ số tương đồng tương đương nhau sẽ được xếp vào một nhóm. Dựa vào biểu đồ hình cây này có thể đánh giá được mức độ đa dạng và tương quan di truyền giữa các mẫu nghiên cứu.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tách chiết ADN tổng số từ mẫu lá Long não

Tách chiết ADN tổng số từ 20 mẫu lá cây Long não theo phương pháp của Keb-Llanes và cộng sự (2002). Kết quả tách chiết ADN

tổng số được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,0%, kết quả điện di được thể hiện trên ảnh điện di như ở hình 1.



Hình 1. ADN tổng số tách chiết từ 20 mẫu Long não
Giếng 1-20 tương ứng với các mẫu Long não 1 đến 20 (LN1-LN20)

Kết quả điện di trên hình 1 cho thấy, băng DNA tổng số thu được đều gọn, tập trung, không xuất hiện vệt sáng dưới kéo dài. Điều đó cho thấy các mẫu ADN tách chiết được có độ

nguyên vẹn cao, không lẫn protein, các loại ARN và các tạp chất khác. Điều này chứng tỏ phương pháp tách chiết ADN tổng số được sử dụng là phù hợp với đối tượng cây Long não. ADN tổng số thu được đảm bảo các tiêu chuẩn kỹ thuật để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo. Ngoài ra, nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch ADN cũng có ảnh hưởng đến kết quả nhân bản ADN ngẫu nhiên bằng kỹ thuật RAPD. Kết quả xác định nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch ADN tách chiết từ các mẫu Long não cho thấy, tỷ số OD_{260nm}/OD_{280nm} của tất cả các mẫu ADN Long não đều nằm trong khoảng 1,7 – 2,0. Kết quả này cho thấy các mẫu ADN đảm bảo độ tinh sạch cần thiết để thực hiện các phản ứng PCR-RAPD. Các mẫu ADN tổng số sau khi xác định nồng độ được pha loãng đến nồng độ như nhau (50 ng/ μ l), để thực hiện phản ứng PCR-RAPD.

Bảng 2. Nồng độ dung dịch ADN tổng số tách chiết từ các mẫu nghiên cứu

| Kí hiệu mẫu | OD _{260nm} | OD _{280nm} | Tỷ lệ OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀ | Nồng độ ADN (μ g/ml) |
|-------------|---------------------|---------------------|---|------------------------------|
| LN1 | 0,29 | 0,15 | 1,93 | 725 |
| LN2 | 0,33 | 0,16 | 2,06 | 825 |
| LN3 | 0,35 | 0,18 | 1,94 | 875 |
| LN4 | 0,46 | 0,23 | 2,00 | 1.150 |
| LN5 | 0,37 | 0,19 | 1,95 | 925 |
| LN6 | 0,25 | 0,12 | 2,08 | 625 |
| LN7 | 0,43 | 0,22 | 1,95 | 1.075 |
| LN8 | 0,32 | 0,17 | 1,88 | 800 |
| LN9 | 0,44 | 0,25 | 1,76 | 1.100 |
| LN10 | 0,45 | 0,23 | 1,96 | 1125 |
| LN11 | 0,27 | 0,15 | 1,80 | 675 |
| LN12 | 0,39 | 0,19 | 2,05 | 975 |
| LN13 | 0,36 | 0,19 | 1,89 | 900 |
| LN14 | 0,48 | 0,25 | 1,92 | 1.200 |
| LN15 | 0,31 | 0,17 | 1,82 | 775 |
| LN16 | 0,37 | 0,19 | 1,95 | 925 |
| LN17 | 0,41 | 0,22 | 1,86 | 1.025 |
| LN18 | 0,43 | 0,25 | 1,72 | 1.075 |
| LN19 | 0,32 | 0,15 | 2,13 | 800 |
| LN20 | 0,36 | 0,19 | 1,89 | 900 |

Kết quả phân tích PCR-RAPD

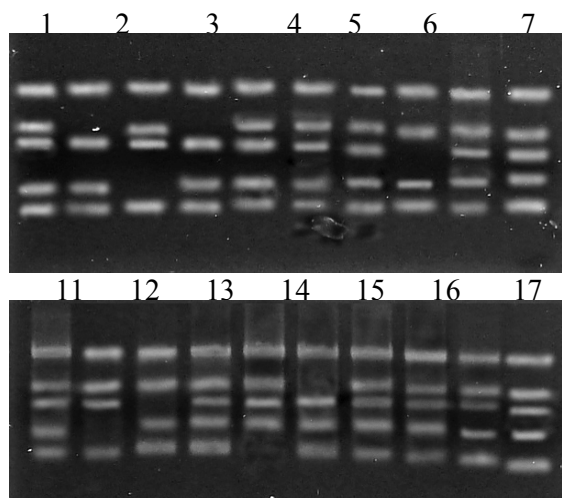
Sử dụng 10 đoạn môi ngẫu nhiên để chạy phản ứng PCR-RAPD trên 20 mẫu ADN khuôn được tách chiết từ 20 mẫu lá Long não để phân tích đa dạng di truyền và quan hệ di truyền của quần thể Long não. Kết quả điện di sản phẩm PCR-RAPD cho thấy, cả 10 đoạn môi ngẫu nhiên được sử dụng đều xuất hiện phân đoạn ADN được nhân bản. Trong 10 môi nghiên cứu thì có 9/10 môi (môi PL01, PL02,

PL03, PL04, PL05, PL07, PL08, PL09, PL10) có băng ADN đa hình giữa 20 mẫu phân tích, trong đó môi PL08 cho tỷ lệ băng ADN đa hình cao nhất đạt 78,26% (hình 2), duy nhất chỉ có môi PL06 cho kết quả đơn hình băng ADN. Như vậy, tỷ lệ băng đa hình của các môi dao động từ 0% (PL06) đến 78,26% (PL08). Kết quả thống kê các băng ADN được nhân bản và băng ADN đa hình được tổng hợp ở bảng 3.

Bảng 3. Tổng hợp số loại phân đoạn, băng ADN được nhân bản và số phân đoạn, băng ADN đa hình

| Tên môi | Số loại phân đoạn ADN được nhân bản | Loại phân đoạn ADN đa hình | | Số băng ADN được nhân bản | Băng ADN đa hình | |
|-------------|-------------------------------------|----------------------------|--------------|---------------------------|------------------|--------------|
| | | Số lượng | Tỷ lệ (%) | | Số lượng | Tỷ lệ (%) |
| PL01 | 3 | 2 | 66,67 | 55 | 35 | 63,64 |
| PL02 | 3 | 2 | 66,67 | 52 | 32 | 61,54 |
| PL03 | 4 | 3 | 75,00 | 58 | 38 | 65,52 |
| PL04 | 3 | 2 | 66,67 | 47 | 27 | 57,45 |
| PL05 | 2 | 1 | 50,00 | 38 | 18 | 47,37 |
| PL06 | 2 | 0 | 0,00 | 40 | 0 | 0,00 |
| PL07 | 5 | 3 | 60,00 | 88 | 48 | 54,55 |
| PL08 | 5 | 4 | 80,00 | 92 | 72 | 78,26 |
| PL09 | 5 | 3 | 60,00 | 86 | 46 | 53,49 |
| PL10 | 4 | 2 | 50,00 | 75 | 35 | 46,67 |
| Tổng | 36 | 22 | 61,11 | 631 | 351 | 55,63 |

Kết quả nhân bản các đoạn ADN bằng PCR sử dụng 10 môi ngẫu nhiên trên 20 mẫu Long não, thu được tổng số 631 băng ADN, trong đó có 351 băng đa hình (bảng 3), trung bình tỷ lệ băng ADN đa hình chiếm 55,63%, trong đó môi PL08 cho tỷ lệ băng ADN đa hình cao nhất đạt 78,26%, chỉ có môi PL06 cho kết quả đơn hình. Các băng ADN có kích thước dao động từ 0,25 – 1,8 Kb. Kết quả phân tích cho thấy mức độ đa hình ADN giữa 20 cá thể Long não ở mức khá cao.



Hình 2. Sản phẩm PCR-RAPD của 20 mẫu Long não với môi PL08
Giếng 1-20 tương ứng với các mẫu LN1-LN20

Kết quả phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu Long nã

Mức độ đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền giữa các cá thể trong quần thể Long nã ở mức độ phân tử được thiết lập dựa trên cơ sở sự giống hay khác nhau về số phân đoạn và kích thước của các phân đoạn ADN được nhân bản ngẫu nhiên, được thể hiện bằng số băng ADN và vị trí của các băng trên bản điện di. Số liệu sau khi được mã hóa thành ký tự 1 và 0, được xử lý bằng phần mềm NTSYSpC-version

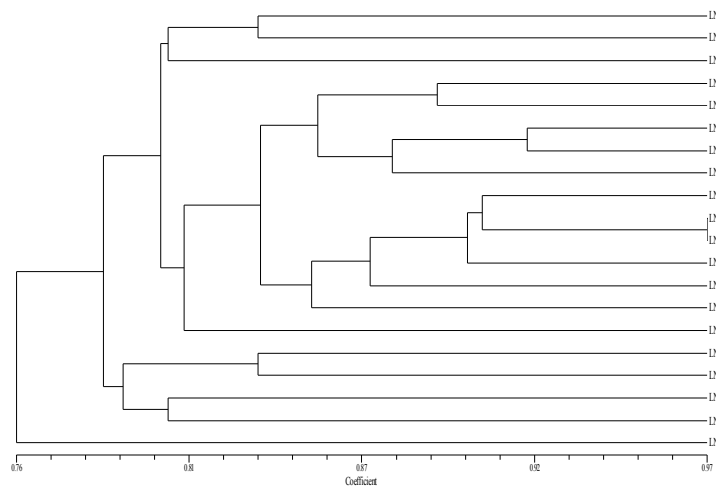
2.0. Kết quả thu được trình bày ở bảng 4 cho thấy, hệ số tương đồng di truyền từng cặp mẫu nằm trong khoảng từ 0,69 -1,00 (tương ứng với từ 69% -100%), nghĩa là sự sai khác di truyền giữa các mẫu nằm trong khoảng từ 0-31%. Điều này, cho thấy các cá thể trong quần thể Long nã được trồng tại rừng thực nghiệm, trường Đại học Lâm nghiệp có sự khác nhau về mặt di truyền, hay nói cách khác là có sự đa dạng di truyền giữa các cá thể trong quần thể.

Bảng 4. Hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu Long nã nghiên cứu

| | LN1 | LN2 | LN3 | LN4 | LN5 | LN6 | LN7 | LN8 | LN9 | LN10 | LN11 | LN12 | LN13 | LN14 | LN15 | LN16 | LN17 | LN18 | LN19 | LN20 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| LN1 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LN2 | 0.72 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LN3 | 0.69 | 0.75 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LN4 | 0.83 | 0.83 | 0.69 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LN5 | 0.83 | 0.77 | 0.80 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| LN6 | 0.77 | 0.77 | 0.75 | 0.72 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | |
| LN7 | 0.75 | 0.86 | 0.83 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | |
| LN8 | 0.77 | 0.72 | 0.69 | 0.77 | 0.83 | 0.72 | 0.69 | 1.00 | | | | | | | | | | | | |
| LN9 | 0.77 | 0.88 | 0.86 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.91 | 0.72 | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| LN10 | 0.83 | 0.88 | 0.80 | 0.77 | 0.83 | 0.88 | 0.86 | 0.77 | 0.88 | 1.00 | | | | | | | | | | |
| LN11 | 0.80 | 0.80 | 0.66 | 0.80 | 0.86 | 0.75 | 0.77 | 0.75 | 0.80 | 0.75 | 1.00 | | | | | | | | | |
| LN12 | 0.75 | 0.80 | 0.83 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.83 | 0.75 | 0.86 | 0.80 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | | |
| LN13 | 0.80 | 0.80 | 0.77 | 0.80 | 0.80 | 0.75 | 0.77 | 0.75 | 0.86 | 0.80 | 0.77 | 0.77 | 1.00 | | | | | | | |
| LN14 | 0.69 | 0.80 | 0.77 | 0.75 | 0.80 | 0.80 | 0.83 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.72 | 0.83 | 0.72 | 1.00 | | | | | | |
| LN15 | 0.80 | 0.80 | 0.77 | 0.80 | 0.86 | 0.80 | 0.83 | 0.80 | 0.86 | 0.86 | 0.77 | 0.77 | 0.77 | 0.72 | 1.00 | | | | | |
| LN16 | 0.72 | 0.88 | 0.69 | 0.83 | 0.72 | 0.77 | 0.86 | 0.66 | 0.83 | 0.77 | 0.86 | 0.75 | 0.75 | 0.69 | 0.75 | 1.00 | | | | |
| LN17 | 0.83 | 0.88 | 0.75 | 0.83 | 0.88 | 0.77 | 0.86 | 0.83 | 0.88 | 0.88 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.86 | 0.77 | 1.00 | | | |
| LN18 | 0.77 | 0.88 | 0.80 | 0.77 | 0.88 | 0.77 | 0.86 | 0.77 | 0.88 | 0.83 | 0.86 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.86 | 0.83 | 0.88 | 1.00 | | |
| LN19 | 0.80 | 0.80 | 0.77 | 0.86 | 0.75 | 0.80 | 0.88 | 0.75 | 0.86 | 0.80 | 0.77 | 0.83 | 0.77 | 0.83 | 0.77 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 1.00 | |
| LN20 | 0.86 | 0.86 | 0.77 | 0.86 | 0.91 | 0.80 | 0.88 | 0.80 | 0.91 | 0.86 | 0.88 | 0.88 | 0.83 | 0.83 | 0.88 | 0.80 | 0.97 | 0.91 | 0.83 | 1.00 |

Đề thuận lợi cho việc phân tích, đánh giá quan hệ di truyền giữa các cá thể Long nã, sử dụng phần mềm NTSYSpC chuyển hóa các số liệu về tương quan di truyền giữa các mẫu ở Bảng 4 thành dạng biểu đồ hình cây, các mẫu

có hệ số tương đồng tương đương nhau sẽ được xếp vào một nhóm. Dựa vào biểu đồ hình cây này chúng ta có thể đánh giá được mức độ đa dạng và tương quan di truyền giữa các mẫu nghiên cứu (hình 3).



Hình 3. Hình cây mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu

Biểu đồ hình cây như hình 3 thể hiện mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu, đã chia 20 mẫu Long não thành 3 nhóm chính: Nhóm I chỉ có duy nhất mẫu LN8; Nhóm II, gồm: LN3, LN12, LN6 và LN14; Nhóm III, gồm: LN1, LN4, LN13, LN2, LN10, LN7, LN9, LN19, LN5, LN17, LN20, LN18, LN11, LN15 và LN16. Trong đó, Nhóm II và Nhóm III lại chia thành các phân nhóm nhỏ như Hình 3

KẾT LUẬN

Sử dụng 10 đoạn mồi ngẫu nhiên để phân tích đa dạng và quan hệ di truyền của 20 cá thể Long não bằng kỹ thuật PCR-RAPD, kết quả thu được tổng số 631 băng ADN, trong đó có 351 băng đa hình, trung bình tỷ lệ băng ADN đa hình chiếm 55,63%, trong đó mỗi PL08 cho tỷ lệ băng ADN đa hình cao nhất đạt 78,26%, chỉ có mỗi PL06 cho kết quả đơn hình. Hệ số tương đồng di truyền từng cặp mẫu nằm trong khoảng từ 0,69 -1,00, sự sai khác di truyền giữa các mẫu nằm trong khoảng từ 0-31%. Đã xây dựng được sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 20 cá thể Long não. Kết quả này cho thấy các cá thể Long não trồng ở khu rừng thực nghiệm của trường Đại học Lâm nghiệp có mức độ đa dạng di truyền khá cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Việt Cường, Đỗ Thị Minh Hiền, Trần Quốc Trọng, (2010). Nghiên cứu quan hệ di truyền của 12 xuất xứ Tràm bản địa (*Melaleuca cajuputi*) bằng chỉ thị RAPD và ADN lục lạp. *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học Công nghệ Lâm nghiệp với phát triển rừng bền vững và biến đổi khí hậu*, 23-30.
2. Nguyễn Thị Hải Hồng, Trần Nhật Nam, Nguyễn Thị Lệ Hà, (2012). Nghiên cứu đa dạng di truyền cây Dầu Rái (*Dipterocarpus alatus* Roxb.) bằng kỹ thuật RAPD. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 9: 86-89.
3. Vũ Thị Huệ, Bùi Văn Thắng, Nguyễn Việt Tùng, Đỗ Quang Trung, Hà Văn Huân, Nguyễn Thị Hồng Gấm

và Hồ Văn Giảng, (2009). Đánh giá tính đa dạng di truyền các dòng Song mật (*Calamus platyacanthus*) được tuyển chọn làm cơ sở nhân giống. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 11: 38-42.

4. Nguyễn Hoàng Nghĩa, Trần Quốc Trọng, Nguyễn Đức Thành, (2005). Kết quả bước đầu đánh giá đa dạng di truyền của ba xuất xứ Lim xanh bằng chỉ thị phân tử RAPD và ADN lục lạp. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 11: 80-81.

5. Nguyễn Hoàng Nghĩa, Nguyễn Thúy Hạnh, Nguyễn Đức Thành, (2006). Kết quả phân tích đa dạng di truyền loài Sao lá hình tim (*Hopea cordate* viald) thuộc họ Dầu bằng chỉ thị phân tử. *Tạp chí Nông nghiệp & PTNT*, 10: 75-77.

6. Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Thúy Hạnh, Nguyễn Hoàng Nghĩa, (2005). Nghiên cứu quan hệ di truyền của một số loài thuộc họ Dầu (*Dipterocarpaceae*) ở Việt Nam dựa trên đa hình ADN genome và lục lạp. *Kỷ yếu Hội nghị toàn quốc "Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống"*: 1379-1382.

7. Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Văn Phụng và Nguyễn Hoàng Nghĩa, (2009). Đa dạng di truyền của loài Sao mạng (*Hopea reticulate* Tardicu) dựa trên phân tích một số chuỗi DNA lục lạp và chỉ thị RAPD. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 7(2): 203-210.

8. Atienzar F, Evenden A, Jha A, Savva D, Depledge M, (2000). Optimized RAPD analysis generates high quality genomic DNA profiles at high annealing temperatures. *Bio-techniques*, 28(1): 23-34.

9. Costa FR, Pereira TN, Vitória AP, (2006). Genetic diversity among *Capsicum* accessions using RAPD markers. *Crop Breed Appl Biotechnol*, 6:18-23.

10. Kwar PG, Devarumath RM, Nerkar Y, (2009). Use of RAPD markers for assessment of genetic diversity in Sugarcane cultivars. *India J Biotechnol*, 8 : 67-71.

11. Keb-Llanes *et al*, (2002). A rapid and simple method for small-scale DNA extraction in *Agavaceae* and other tropical plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20(3): 299a-299e.

12. Sarmah P, Barua PK, Sarma RN, Sen P, Deka PC, (2007). Genetic diversity among rattan genotypes from India based on RAPD-marker analysis. *Genet Resour Crop Evol*, 54: 593-600.

**ANALYSIS OF GENETIC RELATIONSHIP OF THE
Cinnamomum Camphora L. Presl POPULATION BY PCR - RAPD**

Ha Van Huan

SUMMARY

Cinnamomum Camphora L. Presl is large tree species that has high value. In order to get scientific basis for the genetic conservation, development and variety improvement, analysis of genetic relationship of the *Cinnamomum Camphora* is urgently needed. In this study, PCR-RAPD technique was used to analyse the genetic relationship of 20 *Camphora* L. Presl samples collected from experimental forest of Vietnam Forestry University. 10 random primers used for the analysis generated 631 bands of which 351 bands were polymorphic, accounting for 55.63%. The PL08 primer for the highest *polymorphic DNA band* reached 78.26%. Coefficient of similarity ranged from 0.69 to 1.00. The level of genetic diversity between individuals in population ranged from 0-31%. The samples can be divided into three large groups: Group I: has only LN8; Group II: including the LN3, LN12, LN6 and LN14; Group III: including the LN1, LN4, LN13, LN2, LN10, LN7, LN9, LN19, LN5, LN17, LN20, LN18, LN11, LN15 and LN16. Results of the analysis showed that the *Cinnamomum camphora* population grow in experimental forest of Vietnam Forestry University has high genetic diversity.

Keywords: *Cinnamomum Camphora*, genetic diversity, molecular marker, random primer, RAPD.

Người phản biện : PGS.TS. Nguyễn Trung Thành
Ngày nhận bài : 20/4/2015
Ngày phản biện : 15/5/2015
Ngày quyết định đăng : 09/6/2015