

## ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC MẪU NA (*Annona squamosa*) TẠI TỈNH THÁI NGUYÊN BẰNG KỸ THUẬT RAPD

Nguyễn Thị Huyền<sup>1</sup>, Bùi Văn Thắng<sup>1</sup>, Vũ Thị Nguyên<sup>2</sup>, Phùng Thị Kim Cúc<sup>2</sup>, Hà Bích Hồng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Công ty TNHH Xây dựng & Phát triển Nông nghiệp Xanh Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Cây Na là một cây trồng nông nghiệp có giá trị kinh tế tại tỉnh Thái Nguyên, đặc biệt là Na trồng tại huyện Võ Nhai. Việc sử dụng chỉ thị phân tử để đánh giá mức độ đa dạng di truyền giữa các mẫu Na tại tỉnh Thái Nguyên sẽ góp phần phục vụ công tác đánh giá, bảo tồn và làm cơ sở cho chọn tạo giống Na nhằm phát triển kinh tế tại địa phương. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền của 36 cây Na thu tại 5 huyện tỉnh Thái Nguyên trên cơ sở 12 chỉ thị phân tử RAPD... Kết quả phân tích đã chỉ ra với việc sử dụng 12 môi RAPD đã nhân bản được tổng số 1471 băng ADN. Trong đó, có 1363 băng ADN là đa hình chiếm 92,66%. Số phân đoạn ADN trung bình nhân bản được ở một mẫu dao động lớn từ 0,8 đến 8,1. Hệ số tương đồng di truyền của 36 mẫu Na dao động từ 0,54 - 0,94 và cây phát sinh chủng loại được phân thành 2 nhóm chính. Trong đó, nhóm 1 gồm 33 mẫu chia thành 2 phân nhóm 1a gồm 4 mẫu và 1b gồm 29 mẫu; nhóm 2 gồm 3 mẫu. Các mẫu Na tại huyện Võ Nhai có mức độ tương đồng di truyền cao nhưng cũng tương đối khác biệt so với các mẫu Na tại các huyện khác của tỉnh Thái Nguyên.

**Từ khóa:** đa dạng di truyền, kỹ thuật RAPD, Na, Thái Nguyên.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam nằm trong vành đai nhiệt đới gió mùa ẩm đã tạo nên sự đa dạng về sinh thái, khí hậu có nhiều nét độc đáo và đa dạng, tài nguyên đất, nước phong phú. Điều kiện tự nhiên rất thuận lợi cho việc phát triển cây ăn quả, trong đó có cây Na. Ở một số tỉnh như: Thái Nguyên, Lạng Sơn... cây Na được xếp vào là loại cây ăn quả chủ lực, thúc đẩy sự phát triển kinh tế, góp phần xóa đói giảm nghèo. Cây Na sớm cho quả, sản lượng cao, dễ dàng tiêu thụ nên đã chiếm vị trí quan trọng trong sản xuất nông nghiệp và trong phát triển kinh tế ở nhiều địa phương như Thái Nguyên. Tuy nhiên, hiện nay nguồn gen Na tại Thái Nguyên phân bố rộng tại nhiều huyện nên khá phức tạp và không đồng nhất. Do đó, việc nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen Na tại Thái Nguyên có ý nghĩa trong việc bảo tồn tính đa dạng sinh học và sử dụng có hiệu quả các nguồn gen quý phục vụ cho công tác chọn, tạo và nhân giống tại địa phương để phát triển kinh tế.

Trên thế giới, các chỉ thị phân tử đã được sử dụng khá phổ biến để nghiên cứu đa dạng di truyền các loài thuộc chi *Annona*. Ronning và cộng sự (1995) nghiên cứu đa dạng một số loài ăn được trong chi *Annona* bản địa ở Mỹ sử dụng kỹ thuật RAPD (Random Amplified

Polymorphic DNA- DNA đa hình được nhân bản ngẫu nhiên). Brown và cộng sự (2003) sử dụng chỉ thị RAPD để nghiên cứu mối quan hệ di truyền giữa chín loài *Annona muricata* L., trong đó có 7 mẫu được thu thập ở Venezuela và 2 mẫu thu ở Brazil. Ahmad và cộng sự (2010) nghiên cứu đánh giá mối quan hệ di truyền giữa bốn loài *Annona* được thu thập từ nhiều nơi khác nhau ở miền Nam đảo Andaman với tổng cộng 30 môi ISSR và 20 môi RAPD. Suratman và cộng sự (2015) nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền cây Mãng cầu xiêm (*A. muricata* L.) thu thập từ các quần thể khác nhau tại Java, Indonesia bằng cách sử dụng chỉ thị RAPD trên tổng cộng 70 cá thể thu được từ 7 quần thể tại các khu vực khác nhau. Brisibe và cộng sự (2016) nghiên cứu đa dạng di truyền của loài *A. muricata* Linn. Hasan và cộng sự (2017) phân tích đa dạng di truyền của loài *A. muricata* L. ở khu vực Tây Java của Indonesia bằng chỉ thị RAPD.

Ở nước ta, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử để nghiên cứu các loài cây ăn quả được thực hiện khá nhiều (Nguyễn Bá Phú và cộng sự, 2011; Trần Nhân Dũng và Trần Thị Lê Quyên, 2012; Vũ Văn Hiếu và cộng sự, 2015). Các nghiên cứu này chủ yếu sử dụng chỉ thị RAPD và SSR để đánh giá mức độ đa dạng di truyền

của một số loài cây ăn quả như cam, quýt. Trên đối tượng cây Na, các nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền tại Việt Nam còn khá hạn chế. Do đó, kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp cơ sở khoa học cho công tác chọn tạo giống cũng như quản lý nguồn gen, tạo tiền đề để phát triển giống Na cho hiệu quả kinh tế cao tại Thái Nguyên.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thu thập 36 mẫu lá Na trưởng thành (cây sai quả, quả to, ngọt) ở 5 huyện Đồng Hỷ, Phú Bình, Phú Lương, Võ Nhai và Đại Từ tỉnh Thái Nguyên (Bảng 1). Các mẫu được đánh số, bảo quản trong túi nhựa dẻo có chứa silicagel ngay tại thực địa và chuyển đến phòng thí nghiệm giữ ở nhiệt độ phòng đến khi phân tích ADN.

**Bảng 1. Kí hiệu các mẫu Na sử dụng cho nghiên cứu**

TT	Kí hiệu	Địa điểm thu mẫu
1	N1.1	Xã Quang Sơn - Huyện Đồng Hỷ
2	N1.2	Xã Quang Sơn - Huyện Đồng Hỷ
3	N2.1	Xã Sông Cầu - Huyện Đồng Hỷ
4	N2.2	Xã Sông Cầu - Huyện Đồng Hỷ
5	N3.1	Xã Hóa Thượng - Huyện Đồng Hỷ
6	N3.2	Xã Hóa Thượng - Huyện Đồng Hỷ
7	N4.1	Xã Nhã Lộng - Huyện Phú Bình
8	N4.2	Xã Nhã Lộng - Huyện Phú Bình
9	N5.1	Xã Thượng Đình - Huyện Phú Bình
10	N5.2	Xã Thượng Đình-Huyện Phú Bình
11	N6.1	Xã Tân Hòa - Huyện Phú Bình
12	N6.2	Xã Tân Hòa - Huyện Phú Bình
13	N7.1	Xã Yên Đổ - Huyện Phú Lương
14	N7.2	Xã Yên Đổ - Huyện Phú Lương
15	N8.1	Xã Yên Ninh - Huyện Phú Lương
16	N8.2	Xã Yên Ninh - Huyện Phú Lương
17	N9.1	Xã Yên Trạch - Huyện Phú Lương
18	N9.2	Xã Yên Trạch - Huyện Phú Lương
19	N10.1	Xã Lâu Thượng - Huyện Võ Nhai
20	N10.2	Xã Lâu Thượng - Huyện Võ Nhai
21	N11.1	Xã La Hiên - Huyện Võ Nhai
22	N11.2	Xã La Hiên - Huyện Võ Nhai
23	N12.1	Xã Phú Thượng - Huyện Võ Nhai
24	N12.2	Xã Phú Thượng - Huyện Võ Nhai
25	N13.1	Xã Tràng Xá - Huyện Võ Nhai
26	N13.2	Xã Tràng Xá - Huyện Võ Nhai
27	N14.1	Xã Bình Long - Huyện Võ Nhai
28	N14.2	Xã Bình Long - Huyện Võ Nhai
29	N15.1	Xã Dân Tiến - Huyện Võ Nhai
30	N15.2	Xã Dân Tiến - Huyện Võ Nhai
31	N16.1	Xã Tiên Hội - Huyện Đại Từ
32	N16.2	Xã Tiên Hội - Huyện Đại Từ
33	N17.1	Xã Hoàng Nông - Huyện Đại Từ
34	N17.2	Xã Hoàng Nông - Huyện Đại Từ
35	N18.1	Xã An Khánh - Huyện Đại Từ
36	N18.2	Xã An Khánh - Huyện Đại Từ

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Tách chiết ADN tổng số

ADN tổng số được tách chiết theo phương pháp CTAB (Cetyl trimethyl ammonium

bromide) của Saghai Maroof và cộng sự (1984) với một sự thay đổi nhỏ theo điều kiện phòng thí nghiệm. Khoảng 100 mg mô lá được nghiền bằng cối chày sứ trong 600 µl đệm CTAB (4% CTAB thay vì 2%, 20 mM EDTA PH 8.0, 1,4M NaCl, 1% beta-mercaptoethanol, 100 mM Tris-HCl pH 8.0). Mẫu được chuyển vào ống eppendorf 1,5 ml và ủ ở 65°C trong bể ổn nhiệt 30 phút, sau đó để nguội ở nhiệt độ phòng và được chiết xuất cùng với một thể tích chloroform:isoamylalcohol (tỷ lệ thể tích là 24:1). Các mẫu được ly tâm ở 10.000 vòng/phút, trong 15 phút. Pha trên của dung dịch được chuyển sang ống eppendorf 1,5 ml mới. ADN được kết tủa bằng cách thêm 500 µl

isopropanol lạnh trong 60 phút ở -20°C và ly tâm ở 10.000 vòng/phút, trong 15 phút. AND kết tủa sau đó được rửa sạch bằng cồn 70%. Làm khô và hòa tan ADN trong 100 µl đệm TE.

### 2.2.2. Phản ứng PCR-RAPD

Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR 9700 (GeneAmp PCR System 9700, Mỹ) với thành phần và chu kỳ nhiệt như trình bày ở bảng 2 và bảng 3. Tên mồi, trình tự nucleotide các mồi RAPD và nhiệt độ gắn mồi của các mồi sử dụng trong nghiên cứu được thể hiện ở bảng 4.

Sản phẩm PCR-RAPD được điện di trên gel agarose 1,5%. Sau khi điện di, gel agarose được nhuộm Ethilium bromide rồi chụp ảnh.

**Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR với các mồi RAPD**

Thành phần	Thể tích (µl)
Nước deion khử trùng	7,5
Mồi (10 pmol)	1,5
PCR Master mix 2x	10,0
ADN tổng số	1,0
<b>Tổng thể tích</b>	<b>20</b>

**Bảng 3. Chu kỳ phản ứng PCR**

Bước	Phản ứng	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Chu kỳ
1	Biến tính ADN sợi kép thành sợi đơn	94	5 phút	
2	Biến tính ADN sợi kép thành sợi đơn	94	45 giây	
3	Gắn mồi	35 - 40	45 giây	35 chu kỳ
4	Tổng hợp (kéo dài)	72	1 phút	
5	Hoàn tất kéo dài chuỗi	72	7 phút	
6	Kết thúc phản ứng	4	∞	

**Bảng 4. Trình tự các mồi RAPD sử dụng trong nghiên cứu**

TT	Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Nhiệt độ gắn mồi
1	CP08	AGGGAACGAG	38°C
2	CP13	TGGACCGGTG	38°C
3	CP03	AGGTGACCGT	38°C
4	CP06	TGCGCCCTTC	38°C
5	CP09	CCACAGCAGT	38°C
6	CP10	GTGAGGCGTC	38°C
7	CP11	CCGCATCTAC	38°C
8	OPE20	AACGGTGACC	35°C
9	RA142	CCTTGACGCA	36°C
10	OPB18	CCACAGCAGT	35°C
11	OPD11	AGCGCCATTG	37°C
12	RA159	G TTCACACGG	40°C

### 2.2.3. Phân tích số liệu

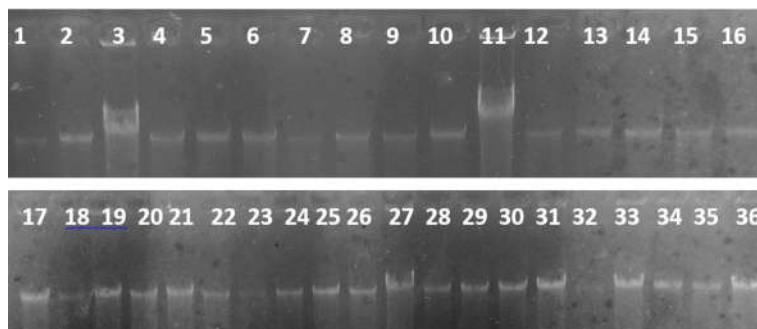
Để đánh giá đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu, sản phẩm PCR - RAPD được xác định như sau: 1 = phân đoạn DNA xuất hiện và 0 = phân đoạn DNA không xuất hiện khi điện di sản phẩm PCR - RAPD của 36 mẫu Na với 12 môi RAPD. Xác định hệ số tương đồng di truyền theo Nei và Li (1979) và lập biểu đồ hình cây để phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nghiên cứu tính theo hệ số di truyền của Jaccard Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA bằng phần mềm NTSYS 2.1 (Exeter Software, Mỹ).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tách chiết ADN tổng số

Nagori và cộng sự (2014) nghiên cứu tách

chiết ADN tổng số của loài Na (*Annona reticulate*) cho thấy đây là công việc rất khó khăn vì sự hiện diện của các polysaccharides, tannin, polyphenol và các chất chuyển hóa thứ cấp khác làm cản trở quá trình tách chiết. Trong nghiên cứu này, dựa trên phương pháp CTAB, ADN tổng số đã được chúng tôi chiết xuất thành công từ tất cả các mẫu lá Na trong nghiên cứu (Hình 1). Băng ADN thu được tương đối sắc nét, tập trung phía trên đầu giếng và cũng không xuất hiện vệt sáng trong giếng của bản gel agarose 1%. Các băng ADN có độ sáng đều nhau cho thấy hàm lượng của các mẫu khá đồng đều. Kết quả điện di cũng cho thấy ADN tổng số bị đứt gãy ít, có độ tinh sạch khá cao đủ tiêu chuẩn để sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR – RAPD.



Hình 1. Hình ảnh điện di ADN tổng số của 36 mẫu Na trên gel agarose 1% (giếng 1-36 thứ tự sắp xếp của 36 mẫu Na)

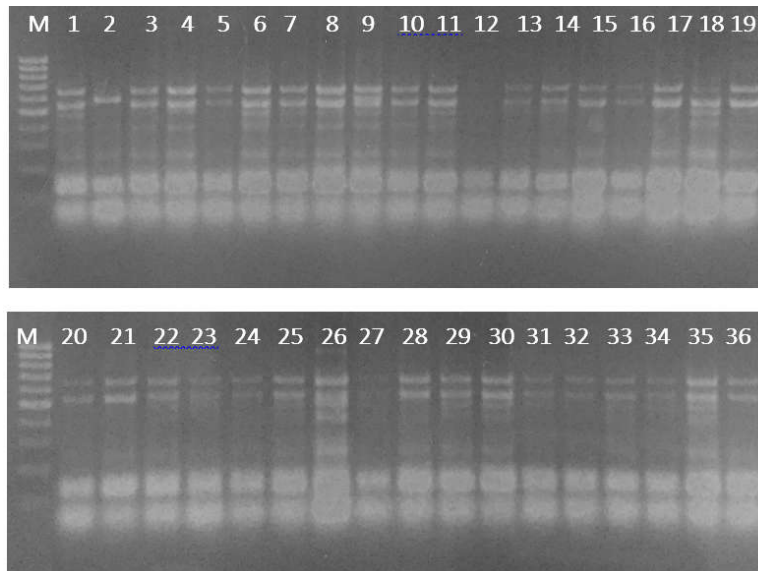
### 3.2. Đa hình các phân đoạn ADN nhân bản được từ 12 môi RAPD

Phân tích mối quan hệ di truyền của 36 mẫu Na thu thập tại Thái Nguyên bằng 12 chỉ thị RAPD cho thấy tất cả các môi ngẫu nhiên sử dụng trong nghiên cứu đều cho kết quả khuếch đại các băng ADN ở tất cả các mẫu với tổng số 1471 băng ADN được nhân bản. Trong đó, 1363 băng ADN là đa hình (chiếm tỉ lệ 92,66%) với số phân đoạn ADN đa hình (các phân đoạn với kích thước khác nhau khi so với thang chuẩn ADN 100 bp) là 116 phân đoạn. Số phân đoạn ADN trung bình trên mỗi mẫu dao động lớn từ 0,8 (ở môi OPD11) đến 8,1 (ở môi CP08). Từ tỉ lệ đa hình cao (75 - 100%) cũng như số phân đoạn ADN trung bình/ mẫu khác biệt lớn có thể cho thấy mức độ đa dạng di truyền giữa các mẫu Na nghiên cứu và hiệu quả sử dụng các môi RAPD cho kết quả tốt.

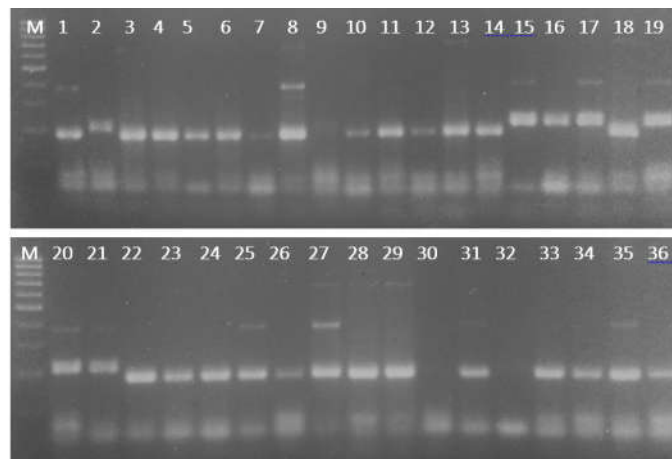
Ahmad Israr và cộng sự (2010) đã sử dụng 20 môi RAPD để đánh giá mối quan hệ di truyền giữa bốn loài Na thu thập từ nhiều vùng địa lý khác nhau ở miền Nam đảo Andaman nằm (giữa Ấn Độ và Myanmar), kết quả chỉ ra rằng tỷ lệ số phân đoạn đa hình chiếm 52%. Tỷ lệ này thấp hơn so với các mẫu Na sử dụng trong nghiên cứu của chúng tôi. Tương tự, Suratman và cộng sự (2015) cũng đánh giá đa dạng di truyền 70 cá thể Mãng cầu xiêm (*A. muricata* L.) từ 7 quần thể ở Java, Indonesia sử dụng 6 chỉ thị phân tử RAPD. Kết quả tạo ra 151 băng DNA đa hình với tỷ lệ phần trăm đa hình cho mỗi môi dao động từ 95% đến 100%. Tỷ lệ này cũng tương đương so với mẫu giống Na sử dụng trong nghiên cứu này. Từ đây có thể thấy, mặc dù cùng trong chi *Annona* nhưng các loài khác nhau hay các xuất xứ khác nhau thì mức độ đa dạng truyền giữa các cá thể trong quần thể là rất khác biệt.

**Bảng 5. Kết quả phân tích đa hình môi RAPD trong nghiên cứu**

TT	Tên môi	Số phân đoạn DNA khuếch đại	Số phân đoạn đa hình	Tỉ lệ đa hình (%)	Tổng số băng DNA đa hình/môi	Số phân đoạn DNA TB/mẫu
1	CP08	16	16	100	290	8,1
2	CP13	6	6	100	82	2,3
3	CP03	8	6	75	81	4,3
4	CP09	10	9	90	63	2,8
5	CP10	7	7	100	106	2,9
6	OPE20	13	13	100	217	6,0
7	RA142	6	6	100	83	2,3
8	OPD11	12	12	100	29	0,8
9	RA159	6	6	100	41	1,1
10	OPB18	11	11	100	146	4,1
11	CP11	13	13	100	143	4,0
12	CP06	11	11	100	82	2,3
<b>Tổng số</b>		<b>119</b>	<b>116</b>	<b>97,1</b>	<b>1363</b>	



**Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR – RAPD với môi CP03**  
(giếng 1-36 thứ tự sắp xếp của 36 mẫu Na; M-Marker 100 bp)



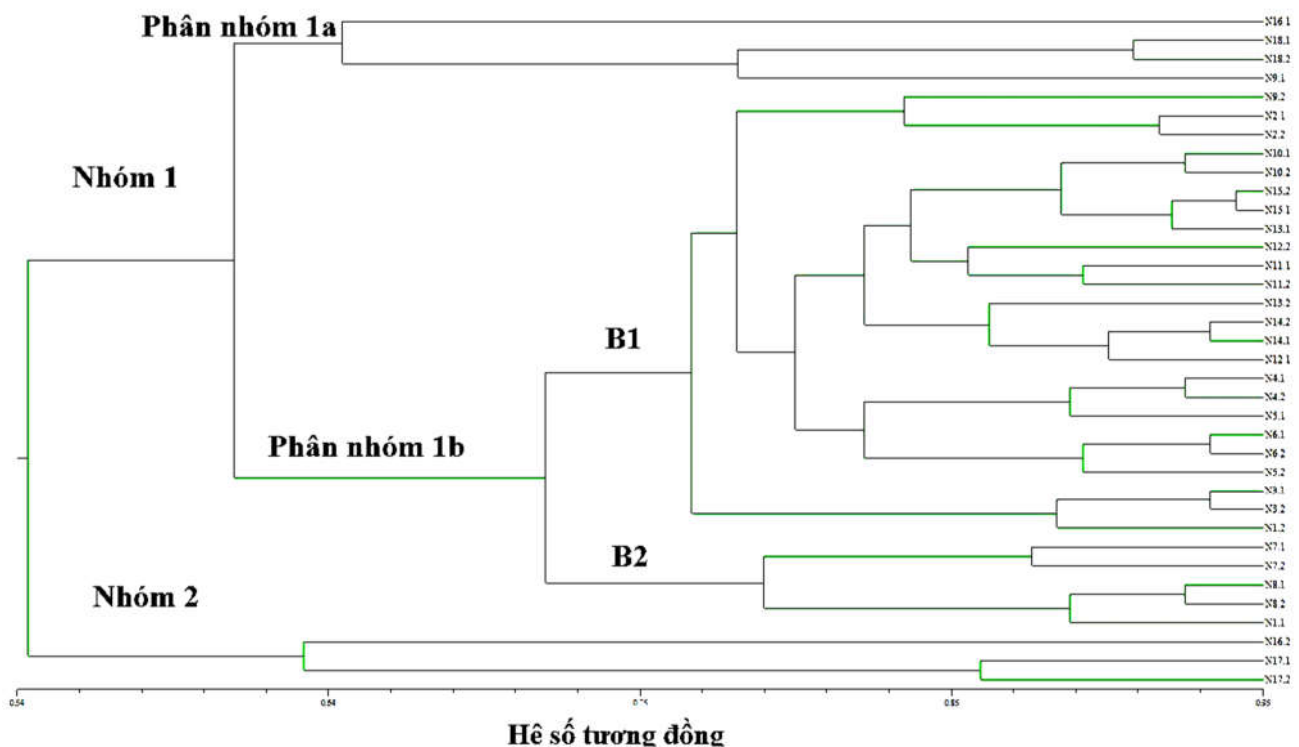
**Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR – RAPD với môi CP09**  
(giếng 1-36 thứ tự sắp xếp của 36 mẫu Na; M-Marker 100 bp)

**3.3. Mối quan hệ di truyền của 36 mẫu Na với chỉ thị phân tử RAPD**

Các số liệu phân tích PCR-RAPD được xử lý và phân tích trong chương trình NTSYSpc version 2.1 nhằm tìm ra khoảng cách di truyền giữa các mẫu nghiên cứu thông qua hệ số tương đồng di truyền và biểu đồ hình cây.

Kết quả so sánh hệ số tương đồng di truyền theo cặp cho thấy, hệ số tương đồng giữa các cặp mẫu Na nghiên cứu nằm trong khoảng từ 0,21 (mẫu N9.1 thu tại xã Yên Trạch, huyện Phú Lương và N16.2 thu tại xã Tiên Hội, huyện Đại Từ) đến 0,94 (các cặp mẫu N15.2 và N15.1, N15.2 và N13.1, các cặp mẫu này đều được thu tại huyện Võ Nhai). Hệ số tương đồng di truyền phản ánh quan hệ di truyền của các mẫu Na. Hệ số tương đồng giữa 2 mẫu càng lớn thì khoảng cách di truyền càng nhỏ và ngược lại 2 mẫu có hệ số tương đồng càng thấp thì mối quan hệ di truyền giữa chúng càng xa

nhau. Mẫu N9.1 (thu tại xã Yên Trạch, huyện Phú Lương) có khoảng cách di truyền xa với các mẫu khác từ 0,24 (1 - 0,76) đến 0,79 (1 - 0,21), có khoảng cách di truyền xa nhất với mẫu N16.2 thu tại xã Tiên Hội, huyện Đại Từ, đây là 2 mẫu thu được từ các huyện khác nhau là Phú Lương và Đại Từ nên có thể thấy các mẫu có vị trí xuất xứ khác nhau có sự khác biệt khá lớn. Trong 36 mẫu nghiên cứu, có 1 số cặp mẫu có hệ số tương đồng di truyền cao trên 90% như các cặp: mẫu N15.1 và N15.2, N15.2 và N13.1 (hệ số tương đồng di truyền là 0,94), N3.2 và N3.1 (hệ số tương đồng di truyền là 0,93), N14.1 và N14.2, N15.2 và N10.2 (hệ số tương đồng di truyền là 0,93). Có thể nhận thấy đặc điểm chung của các cặp mẫu có hệ số tương đồng di truyền cao trên 90% là các cặp mẫu này đa số có cùng địa điểm lấy mẫu theo cấp xã hoặc cấp huyện, hoặc theo vùng phân bố địa lý là các địa phương ở gần nhau.



**Hình 4. Sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền của 36 mẫu Na**

Sơ đồ hình cây tính theo hệ số Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA đã chỉ ra mức độ sai khác di truyền giữa 36 mẫu Na. Các mẫu có hệ số di truyền giống nhau hoặc tương tự nhau sẽ được xếp thành một nhóm, giữa các nhóm lại có sự liên hệ với nhau.

Qua hình 4 cho thấy 36 mẫu Na được chia thành 2 nhóm chính (kí hiệu Nhóm 1 và Nhóm 2) với mức độ tương đồng di truyền là 0,54 (54%).

Nhóm 1 gồm có 33 mẫu chia thành 2 phân nhóm chính (phân nhóm 1a và 1b) với mức

tương đồng di truyền tương đối 0,62 (62%):

Phân nhóm 1a gồm 4 mẫu: N16.1, N9.1, N18.1, và N18.2;

Phân nhóm 1b gồm 29 mẫu chia làm 2 nhánh B1 và B2. Trong đó, nhánh B2 gồm 5 mẫu: N7.1, N7.2, N8.1, N8.2 và N1.1 với hệ số tương đồng di truyền với các mẫu khác trong phân nhóm là 0,75. Các mẫu trong nhánh này được thu tại huyện Phú Lương và huyện Đông Hồ là hai địa phương có vị trí địa lý sát nhau trên bản đồ hành chính tỉnh Thái Nguyên. Nhánh còn lại B1 có 24 mẫu, bao gồm 12 mẫu thu tại huyện Võ Nhai, 6 mẫu thu tại huyện Phú Bình, 5 mẫu tại huyện Đông Hồ và 1 mẫu tại huyện Phú Lương. Kết quả thu được từ nhánh B1 có thể cho thấy các mẫu thu được tại huyện Võ Nhai có quan hệ di truyền khá là gần gũi nhau nhưng có sự khác biệt khá lớn với các mẫu Na thu từ các địa phương khác.

Nhóm 2 gồm 3 mẫu N16.2, N17.1 và N17.2, mức độ tương đồng di truyền 0,54 (54%) với nhóm 1. Cả 3 mẫu này đều được thu tại huyện Đại Từ. Qua kết quả thu được có thể sơ bộ thấy các mẫu Na phân bố tại huyện Đại Từ có sự khác biệt di truyền lớn so với các mẫu Na thu từ các địa phương khác.

Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu dao động từ 0,54 đến 0,94 hay nói cách khác khoảng cách di truyền giữa 36 mẫu nghiên cứu dao động từ 0,06 (6%) đến 0,46 (46%). Như vậy, các mẫu Na phân tích có khoảng cách di truyền khá cao.

Kỹ thuật RAPD cũng đã được nhiều tác giả trên thế giới sử dụng để phân tích đa dạng di truyền của các loài trong chi *Annona* (Brown và cộng sự, 2003; Ahmad và cộng sự, 2010; Hasan và cộng sự, 2017). Một số nghiên cứu trước đây như: Brown và cộng sự (2003) đã sử dụng chỉ thị phân tử RAPD xác định mối quan hệ di truyền giữa 9 giống thuộc loài *A. muricata* L., trong đó có 7 giống được thu thập ở Venezuela và 2 ở Brazil. Mức độ tương đồng di truyền trung bình là 0,5333, (0,2627 - 1,000). Ahmad và cộng sự (2010) đánh giá mối quan hệ giữa bốn loài thuộc chi *Annona* được thu thập từ nhiều nơi khác nhau ở miền Nam

đảo Andaman với 20 mẫu RAPD, kết quả phân tích cho thấy mức độ tương đồng di truyền dao động từ 0,31 đến 0,83. Gần đây, Hasan và cộng sự (2017) phân tích đa dạng di truyền của 9 cá thể loài *A. muricata* L. ở khu vực Tây Java của Indonesia bằng 5 chỉ thị phân tử RAPD. Kết quả hệ số tương đồng di truyền của loài dao động từ 0,451 đến 0,902 cho thấy mối quan hệ giữa các mẫu nghiên cứu là rất chặt chẽ. So với kết quả của 3 nghiên cứu trên cho thấy mức độ tương đồng di truyền giữa các mẫu Na nghiên cứu có khoảng cách di truyền khá xa. Khoảng cách di truyền xa có ý nghĩa quan trọng trong công tác bảo tồn, nghiên cứu chọn tạo giống, đặc biệt là lai tạo giống mới.

#### 4. KẾT LUẬN

- 12 mẫu RAPD sử dụng, tất cả các mẫu đều cho tỉ lệ đa hình các phân đoạn ADN cao, dao động từ 75 - 100%.

- Mức độ tương đồng di truyền của 36 mẫu Na với 12 mẫu RAPD dao động từ 0,54 đến 0,94, tương ứng với mức độ sai khác di truyền từ 6% đến 46%.

- Biểu đồ hình cây của 36 mẫu Na đã phân ra làm 02 nhánh chính rõ ràng (nhánh chính I và nhánh chính II). Trong đó, nhóm 1 gồm 33 mẫu, nhóm 2 gồm 3 mẫu là N16.2, N17.1 và N17.2 với mức độ tương đồng di truyền với nhóm 1 là 0,54 (54%).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmad Israr, Bhagat S., Sharma T.V.R.S., Krishna Kumar, Simachalam P. and Srivastava R.C. , 2010, ISSR and RAPD marker based DNA fingerprinting and diversity assessment of *Annona* spp. in South Andamans, *Indian Hort J.* 67(2), 147-151.
2. Brisibe Ebiamadon Andi, Nneka Constance Ogbonna, Peter Nkachukwu Chukwurah, 2016, Characterization and selection of exploitable genetic diversity in soursop (*Annona muricata* Linn.) accessions based on phenotypic attributes and RAPD markers, *Agroforestry Systems*, 91(4), 781-793.
3. Brown Jennifer, Hernán Laurentín, Martha Dávila, 2003, Genetic relationships between nine *Annona muricata* L. accessions using RAPD markers, *Fruits* vol. 58, 255 - 259.
4. Hasan A. E. Z., Bermawie N., Julistiono H., Riyanti E. I., Hasim, Artika I. M. and Khana P. , 2017, Genetic Diversity Analysis of Soursop (*Annona muricata* L.) in West Java Region of Indonesia Using RAPD Markers, *Annual Research & Review in Biology*, 14(6), 1 - 7.

5. Nagori R., Sharma P., Habibi N., Purohit D., 2014, An Efficient Genomic DNA Extraction Protocol for Molecular Analysis in *Annona reticulata*, *National Academy Science Letters* 37, 137–140.

6. Nguyễn Bá Phú, Nguyễn Bảo Vệ, Bùi Thị Cẩm Hương, Trần Nhân Dũng, 2011, Nhận diện và xác định mối quan hệ di truyền của hai cá thể quýt đường không hạt được phát hiện ở Đồng bằng sông Cửu Long bằng dấu phân tử DNA, *Tạp chí Khoa học*, 20a, 108 - 118.

7. Ronning C.M. and Schnell R.J., 1995, Using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers to Identify *Annona* Cultivars, *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* 120(5),726 - 729.

8. Suratman, Ari Pitoyo, Sri Mulyani, Suranto, 2015, Assessment of genetic diversity among soursop (*Annona muricata*) populations from Java, Indonesia using RAPD markers, *Biodiversitas*, 16, 247 - 253.

9. Trần Nhân Dũng và Trần Thị Lê Quyên, 2012, Nghiên cứu đa dạng di truyền của các giống, dòng măng cụt dựa trên dấu phân tử ISSR ở tỉnh Bình Dương, *Tạp chí Khoa học*, 23a, 253 – 261.

10. Vũ Văn Hiếu, Nông Thị Huệ, Nguyễn Thị Oanh, Ninh Thị Thảo, Vũ Quang Sáng, Nguyễn Thị Phương Thảo, 2015, Phân tích đa dạng di truyền các mẫu giống mẫu cam sành tại Hà Giang bằng chỉ thị RAPD và ISSR, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(6), 867 – 875.

## **GENETIC DIVERSITY OF SUGAR APPLE (*Annona squamosa*) GENOTYPES IN THAI NGUYEN PROVINCE BY RAPD MARKERS**

**Nguyen Thi Huyen<sup>1</sup>, Bui Van Thang<sup>1</sup>, Vu Thi Nguyen<sup>2</sup>, Phung Thi Kim Cuc<sup>2</sup>, Ha Bich Hong<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Vietnam National University of Forestry*

<sup>2</sup>*Thai Nguyen Green Agriculture Development and Construction Limited Liability Company*

### **SUMMARY**

Sugar apples (*Annona squamosa*) in Thai Nguyen province are one of the most valuable agricultural crops. Assessing the genetic diversity of sugar apples may contribute to the evaluation and conservation as well as provide genetic information, which could be used for sugar apple breeding programs serving for local economic development. 12 RAPD markers were used to analyze genetic diversity and genetic relationship of 36 trees of Sugar apples from five districts, Thai Nguyen province. The results showed that 12 RAPD primers generated polymorphic patterns of PCR products. A total of 1471 DNA bands were amplified from 36 sugar apple samples. In which, there were 1363 polymorphic DNA bands (accounting for 92.66%). The average number of DNA fragments per genotype ranged from 0.8 to 8.1. The results also indicated that the similarity coefficient of 36 samples ranging from 0.54 to 0.94 and Cluster analysis using unweight pair group method with arithmetic average (UPGMA) revealed two groups from 36 the collected individuals in Thai Nguyen province. In which, group 1 consists of 33 genotypes and group 2 includes 3 genotypes. Sugar apples in Vo Nhai district have a high level of genetic similarity but also relatively different from sugar apple samples in other districts of Thai Nguyen province.

**Keywords:** *Annona squamosa*, genetic diversity, RAPD, Thai Nguyen province.

**Ngày nhận bài** : 07/9/2020

**Ngày phản biện** : 17/10/2020

**Ngày quyết định đăng** : 03/11/2020