

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN TRONG TẬP ĐOÀN KHOAI MÔN-SỌ MIỀN BẮC BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Nguyễn Xuân Việt¹, *, Vũ Thị Bích Huyền¹, Lê Thị Tươi¹, Phạm Thị Việt Anh¹

TÓM TẮT

Đa dạng di truyền trong các tập đoàn gen cây trồng là rất quan trọng với khoa học bảo tồn nguồn gen. Trong nghiên cứu này, 253 mẫu nguồn gen khoai môn sọ miền Bắc đang được bảo tồn chuyển chỗ tại Trung tâm Tài nguyên thực vật đã được đánh giá sự đa dạng ở mức phân tử bằng 10 chỉ thị RAPD. Tính đa dạng di truyền cao trong tập đoàn gen đã được phát hiện với 100% locus RAPD đa hình, trung bình có 5,8 alen/locus. Giá trị PIC trung bình đạt 6,8, hệ số đa dạng gen Nei và hệ số đa dạng Shannon trung bình lần lượt là 0,2963 và 0,4469. Hệ số tương đồng di truyền trong tập đoàn nằm trong khoảng 0,38 đến 0,95. Tất cả 253 nguồn gen được phân thành 5 nhóm ở mức tương đồng 0,64. Một số nguồn gen có mức độ tương đồng rất cao (0,95) phản ánh mối quan hệ di truyền rất gần gũi. Trong khi một số khác có sự khác biệt di truyền lớn (hệ số tương đồng rất thấp (0,38) so với các nguồn gen còn lại. Kết quả phân nhóm nguồn gen trong nghiên cứu sẽ là những thông tin có ý nghĩa cho chương trình chọn tạo giống. Phát hiện hai nguồn gen mang alen đặc trưng có thể nhận dạng bằng chỉ thị OPN-11 và OPO-19 cho thấy tiếp cận RAPD có tiềm năng đáng kể trong việc nhận dạng, phân tích quan hệ và phân biệt các giống khoai môn-sọ khác nhau.

Từ khoá: Tập đoàn khoai môn sọ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott), đa dạng di truyền, đa hình RAPD.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, khoai môn-sọ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) là loại cây có củ quan trọng thứ 4 sau khoai tây, khoai lang và sắn. Khoai môn-sọ không chỉ là loài cây được trồng sớm nhất, mà còn được trồng rộng rãi ở hầu hết các vùng sinh thái nông nghiệp khác nhau, với số lượng các giống rất phong phú, trong đó nhiều nguồn gen quý được xem như “đặc sản” của địa phương. Sự đa dạng của tập đoàn thể hiện trước hết ở số lượng khá lớn các nguồn gen được thu thập và đang bảo tồn. Theo Trung tâm Tài nguyên thực vật, hiện đang có 525 nguồn gen khoai môn-sọ được bảo tồn tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia [1]. Ngoài ra còn những nguồn gen khác được các viện nghiên cứu và trường đại học thu thập và lưu giữ dưới dạng tập đoàn công tác. Tuy nhiên, việc đánh giá các nguồn gen mới chỉ với các đặc

điểm hình thái và nông học, chưa có cơ sở dữ liệu phân tử đặc trưng nguồn gen.

Đánh giá sự đa dạng di truyền của các tập đoàn gen đang bảo tồn là rất quan trọng nhằm nâng cao hiệu quả bảo tồn và định hướng cho khai thác phát triển nguồn gen. Trên thế giới, đã có nhiều công bố về đánh giá đa dạng di truyền trong loài *C. esculenta* (L.) Schott, sử dụng các chỉ thị phân tử [2 - 9], tuy vậy, có rất ít công trình tương tự được công bố ở Việt Nam đối với các nguồn gen khoai môn-sọ [10], [11].

Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá đa dạng di truyền trong tập đoàn 253 nguồn gen khoai môn-sọ miền Bắc được bảo tồn tại Trung tâm Tài nguyên thực vật bằng chỉ thị phân tử RAPD, từng bước cung cấp tư liệu phân tử đặc trưng các nguồn gen, phục vụ xây dựng cơ sở dữ liệu, phát hiện mối quan hệ di truyền trong các nhóm nguồn gen và các chỉ thị RAPD đặc trưng

¹ Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

*Email: vietnx@hnue.edu.vn

có thể sử dụng để nhận dạng một số nguồn gen khoai môn-sọ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 253 mẫu nguồn gen khoai môn-sọ đã được phân tích đa hình ADN sử dụng 10 chỉ thị RAPD. Các nguồn gen nghiên cứu thuộc tập đoàn

quy gen khoai môn-sọ miền Bắc được bảo tồn tại Trung tâm Tài nguyên thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.

Phân tích đa hình PCR-RAPD trong các nguồn gen môn-sọ sử dụng 10 mẫu ngẫu nhiên. Thông tin về nguồn gốc, trình tự và nhiệt độ gắn

mỗi được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Danh sách các mồi RADP, trình tự nucleotide và nhiệt độ gắn mồi

STT	Tên mồi	Trình tự mồi 5'-3'	Nhiệt độ gắn mồi (°C)	Nguồn tài liệu
1	OPA-02	TGCCGAGCTG	38,5	[5]
2	OPA-07	GAAACGGGTG	33	[5]
3	OPA-11	CAATCGCCGT	35	[5]
4	OPD-02	GGACCCAACC	35	[5]
5	OPD-08	GTGTGCCCCA	39	[5]
6	OPN-11	TCGCCGCAAA	38	[5]
7	OPO-19	GGTGCACGTT	35	[3]
8	OPA-12	TCGGCGATAG	33	[5]
9	OPA-13	CAGCACCCAC	34	[5]
10	OPA-09	GGGTAACGCC	34	[5]

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết và kiểm tra chất lượng, nồng độ ADN tổng số

ADN tổng số được tách từ 500 mg mô lá non của mỗi mẫu nguồn gen. Mẫu lá khoai môn-sọ được sấy khô trong silica gel, tách ADN theo phương pháp CTAB của Sharma và cs (2008) [12] có cải tiến bằng cách bổ sung sodium acetate 3M trong quá trình chiết chloroform: isoamylalcohol để giúp loại bỏ các polysaccharide và protein. Chất lượng và nồng độ ADN tổng số được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% trong môi trường đệm TBE 0,5X cùng với thang λ -ADN chuẩn. Độ tinh sạch của ADN tổng số được đo trên hệ thống NanoDrop bằng phương pháp đo mật độ quang phổ hấp phụ ở bước sóng 260 nm và 280 nm.

2.2.2. Phương pháp thực hiện phản ứng PCR

Thực hiện phản ứng PCR trong 20 μ l hỗn hợp dung dịch gồm 2 μ l PCR buffer 10x; 1,6 μ l dNTP 2,5 mM; 1,4 μ l primer 17,5 ng/ μ l; 0,1 μ l green Taq (5U/ μ l); 5 μ l DNA (5 ng/ μ l) tiến hành trên máy

96-Well Veriti Thermal Cycler. Điều kiện phản ứng: 95°C trong 5 phút; 45 chu kỳ (biến tính ở 94°C trong 1 phút, nhiệt độ gắn mồi đặc hiệu trong 1 phút và kéo dài ở 72°C trong 1 phút). Quá trình này được kết thúc bằng một chu kỳ để hoàn thành kéo dài ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được bảo quản ở 4°C trong thời gian chờ thực hiện điện di trên gel polyacrylamide 8%. Các bản gel được soi UV Transilluminator và chụp ảnh để phân tích có hay không của băng ADN (các alen) theo thang ADN chuẩn.

2.2.3. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Sản phẩm ADN trên gel điện di được đánh giá và sau đó mã hóa bằng số 1: mẫu có băng và số 0 cho mẫu không xuất hiện băng ADN. Các số liệu (0,1) được phân tích sử dụng phần mềm NTSYSp.c 2.1 của F. J. Rohlf (2000) để tính ma trận tương đồng giữa các cặp mẫu và vẽ sơ đồ hình cây về phân nhóm di truyền trong các nguồn gen [13].

Việc tính toán ma trận tương đồng dựa trên công thức: $J_{ij} = a / (n - d)$.

Trong đó: a là số băng ADN có ở hai mẫu nguồn gen i và j; d là số băng ADN không có ở cả i và j; n là tổng số băng thu được; J_{ij} là hệ số tương đồng Jaccard giữa hai mẫu nguồn gen i và j.

Hàm lượng thông tin đa hình (PIC - Polymorphic Information Content) được tính toán để đánh giá hiệu quả sử dụng mỗi cho mỗi locus (i) theo công thức của Mohammadi:

$PIC(i) = 1 - \sum h_k^2$ (trong đó: h_k là tần số xuất hiện của alen thứ k).

Xác định alen đặc trưng (các alen đặc trưng ở các mẫu với các mẫu nguồn gen) được tiến hành theo phương pháp của Zahida và cs (2010) [14].

Xác định các chỉ số đa dạng di truyền như số alen quan sát được (N_a), số alen có ý nghĩa (N_e), hệ số đa dạng di truyền (h), hệ số đa dạng Shannon (I) được tính toán dựa trên phần mềm Popgene 1.32.

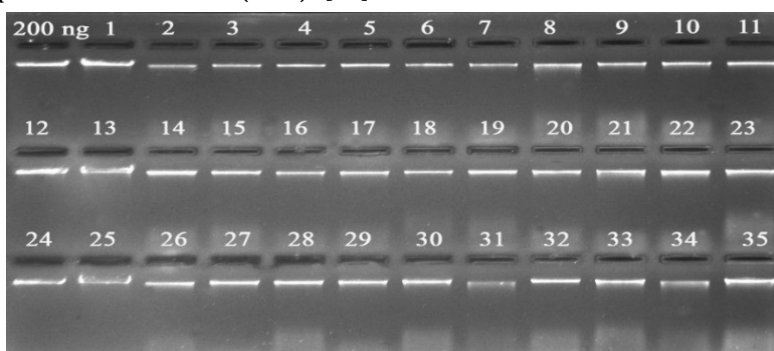
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng Sinh học phân tử, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội từ năm 2020 đến năm 2022.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích đa hình RAPD trong tập đoàn gen khoai môn-sọ miền Bắc

3.1.1. Chất lượng và nồng độ ADN tổng số



Hình 1. Băng ADN tổng số của một số mẫu nguồn gen khoai môn-sọ trên gel điện di

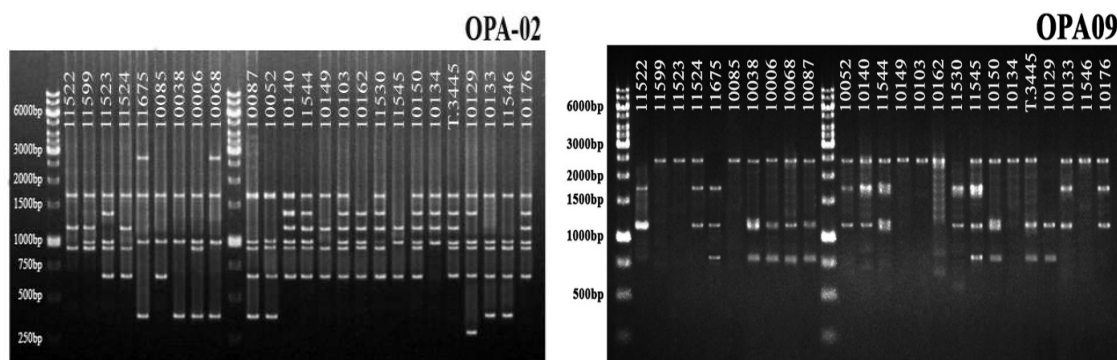
Chất lượng ADN là yêu cầu quan trọng đầu tiên trong nghiên cứu về đa dạng di truyền bằng sử dụng chỉ thị phân tử. Bảng quy trình đã được tối ưu hóa cho mẫu lá khoai môn-sọ, ADN tổng số của 253 mẫu nguồn gen nghiên cứu đã được tách chiết thành công (Hình 1).

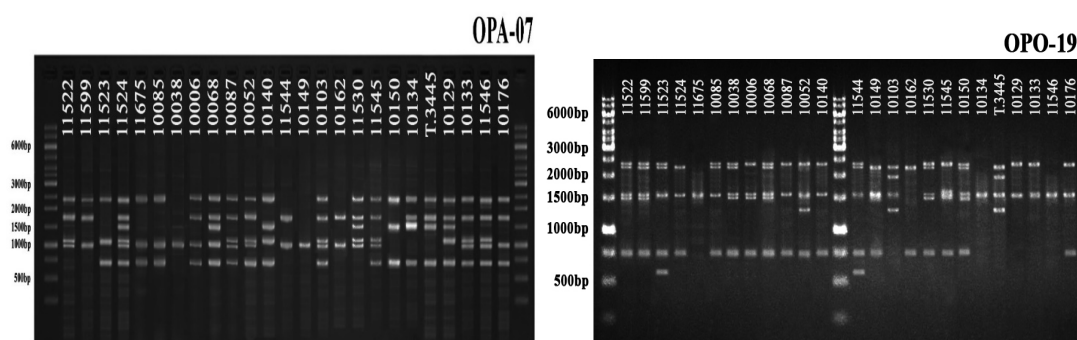
Kết quả cho thấy băng ADN tổng số thu được rõ, gọn, độ tinh sạch nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,0 và có nồng độ tương đối cao, chứng tỏ ADN

nguyên vẹn, chất lượng tốt, đủ tiêu chuẩn thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

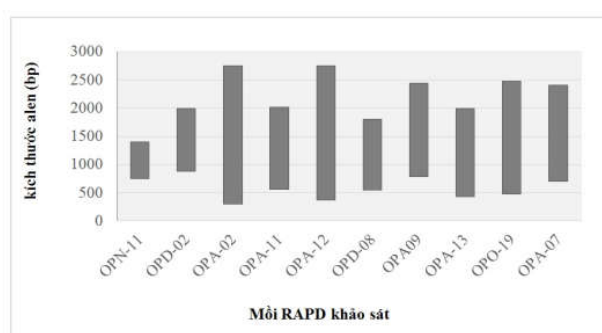
3.1.2. Đa hình RAPD trong tập đoàn gen khoai môn-sọ miền Bắc

Sau khi tối ưu hóa về nhiệt độ bắt cặp và nồng độ muối, phản ứng PCR-RAPD được thực hiện lần lượt với 10 mẫu đã nhân thành công các phân đoạn (băng) ADN. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 2.





Hình 2. Đa hình RAPD của một số mẫu nguồn gen khoai môn-sọ phát hiện bằng chỉ thị OPA-02, OPA-09, OPA-07 và OPO-19



Hình 3. Biến động kích thước băng ADN (alen) được nhân thành công với các môi RAPD

Thống kê kết quả phân tích đa hình bằng kỹ thuật PCR-RAPD sử dụng 10 môi ngẫu nhiên cho thấy, với 2.530 phản ứng PCR đã nhân lên được tổng cộng 3.811 băng ADN, thuộc 58 loại băng có kích thước khác nhau (alen), trung bình đạt 383,3 băng/môi (Bảng 2). Kích thước các băng ADN đã khuếch đại nằm trong khoảng từ 300 bp đến 2.750 bp. Kích thước phổ biến của các băng thu được trong tập đoàn gen nghiên cứu ở trong khoảng từ 800 – 2.000 bp (Hình 3).

Số băng ADN nhân được từ tập đoàn gen nghiên cứu đạt cao nhất (704 băng) ở môi OPA-02, số băng ADN nhân lên ít nhất (168 băng) ở môi OPN-13. Số alen phát hiện đối với mỗi môi dao động trong khoảng 2 alen (OPA-13) đến 10 alen (OPO-19), trung bình đạt 5,8 alen/locus. Biến dị

alen cao nhất quan sát thấy ở các môi OPO-19, OPA-02, OPA-12, OPD-08, OPA-7 và OPA-11 với số alen nhân được lần lượt là 10, 9, 7, 7, 6 và 5 alen. Các môi OPN-11, OPD-2 và OPA-9 nhân được 4 alen, chỉ có môi OPA-13 nhân được số alen ít nhất là 2 alen (Bảng 2).

Tất cả 10 môi (OPA-02, OPA-07, OPA-08, OPA-09, OPA-11, OPA-12, OPA-13, OPO-19, OPN-11, OPD-02 và OPD-08) được sử dụng trong nghiên cứu đã tạo ra 100% đa hình với tổng số 58 alen RAPD khác nhau trong các nguồn gen khoai môn-sọ miền Bắc, cho thấy chỉ thị RAPD được xem là công cụ có hiệu quả để đánh giá đa dạng di truyền trong các nguồn gen khoai môn-sọ cũng như khả năng phân biệt giữa các nguồn gen.

Bảng 2. Số băng ADN nhân được và thông tin đa hình các môi RAPD trong các mẫu nguồn gen khoai môn-sọ miền Bắc

TT	Chỉ thị RAPD	Biến động kích thước băng ADN (Kbp)	Tổng số alen	Tần số alen phổ biến (%)	Số loại alen /môi	Số alen đa hình	Tỉ lệ alen đa hình (%)
1	OPN-11	0,75 - 1,40	288	77,43	4	4	100

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

2	OPD-02	0,88 - 1,99	198	64,14	4	4	100
3	OPA-02	0,30 - 2,75	704	20,88	9	9	100
4	OPA-11	0,56 - 2,01	310	36,13	5	5	100
5	OPA-12	0,37 - 2,75	302	32,78	7	7	100
6	OPD-08	0,55 - 1,80	512	26,76	7	7	100
7	OPA-09	0,78 - 2,44	327	40,98	4	4	100
8	OPA-13	0,43 - 1,99	168	73,81	2	2	100
9	OPO-19	0,48 - 2,48	527	20,49	10	10	100
10	OPA-07	0,70 - 2,40	497	23,74	6	6	100
Tổng cộng			3811		58	58	

Phân tích di truyền quần thể sử dụng số liệu đa hình RAPD trong các nguồn gen của tập đoàn bằng phần mềm POPGENE thu được kết quả trình bày ở bảng 3.

Đa dạng di truyền trong tập đoàn gen thể hiện ở tỉ lệ phần trăm locus đa hình cao, số alen trung bình trong mỗi locus, số lượng alen hữu hiệu (N_e), hàm lượng thông tin đa hình (PIC). Giá trị PIC là tham số ước lượng sức mạnh phân biệt của một môi trường, bằng cách tính đến không chỉ số lượng các alen được biểu hiện mà còn cả tần số tương đối của các alen đó. Mức độ cao của biến dị di truyền trong

tập đoàn nghiên cứu thể hiện ở tỉ lệ 100% locus đa hình; giá trị PIC trung bình của các môi trường là 0,68, giá trị trung bình của đa dạng gen là 0,2962 và của hệ số đa dạng Shannon's là 0,4469 (Bảng 3).

Giá trị PIC cao nhất (0,83), đa dạng gen cao nhất (0,423) và hệ số đa dạng Shannon's cao nhất (0,610) phát hiện ở locus OPA-7, trong khi ở locus OPN-11 có giá trị của chỉ số đa dạng gen thấp nhất (0,175) và hệ số đa dạng Shannon's cũng thấp nhất (0,285). Số liệu phân tích trên cho thấy các alen mới được hình thành trong quần thể khoai môn-sọ là do đột biến tự nhiên và có thể có cả chọn lọc.

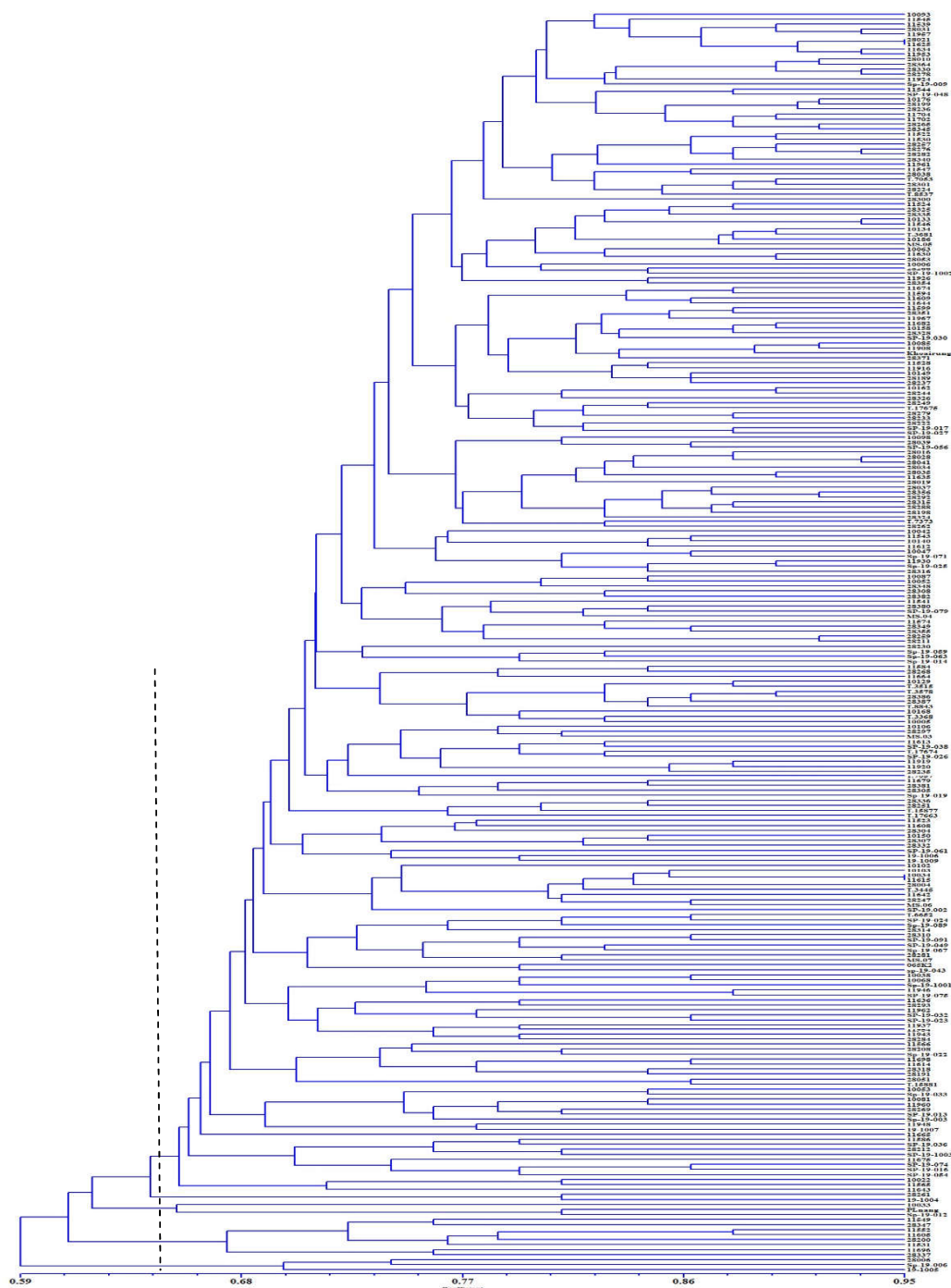
Bảng 3. Thống kê số alen, số alen hữu hiệu, đa dạng gen và hệ số đa dạng Shannon's trong tập đoàn gen khoai môn-sọ miền Bắc dựa trên số liệu đa hình RAPD

TT	Chỉ thị RAPD	Tần số alen phổ biến (%)	N_a	N_e	$h \pm SD$	$I \pm SD$	PIC
1	OPN-11	77,43	4	$1,276 \pm 0,37$	$0,175 \pm 0,193$	$0,285 \pm 0,262$	0,38
2	OPD-02	64,14	4	$1,336 \pm 0,38$	$0,214 \pm 0,031$	$0,352 \pm 0,046$	0,54
3	OPA-02	20,88	9	$1,554 \pm 0,416$	$0,307 \pm 0,209$	$0,452 \pm 0,277$	0,83
4	OPA-11	36,13	5	$1,535 \pm 0,415$	$0,312 \pm 0,172$	$0,477 \pm 0,20$	0,73
5	OPA-12	32,78	7	$1,403 \pm 0,38$	$0,244 \pm 0,189$	$0,379 \pm 0,252$	0,76
6	OPD-08	26,76	7	$1,513 \pm 0,305$	$0,313 \pm 0,155$	$0,477 \pm 0,198$	0,79
7	OPA-09	40,98	4	$1,608 \pm 0,182$	$0,372 \pm 0,07$	$0,558 \pm 0,076$	0,70
8	OPA-13	73,81	2	$1,664 \pm 0,407$	$0,381 \pm 0,151$	$0,563 \pm 0,166$	0,38
9	OPO-19	20,49	10	$1,473 \pm 0,442$	$0,262 \pm 0,22$	$0,390 \pm 0,294$	0,83
10	OPA-07	23,74	6	$1,774 \pm 0,282$	$0,423 \pm 0,102$	$0,610 \pm 0,111$	0,81
Trung bình		41,71	5,8		0,2963	0,4469	0,68

Ghi chú: N_a : số alen đa hình/locus; N_e : Số alen hữu hiệu/locus; h : đa dạng gen; I : hệ số đa dạng Shannon's; SD : sai lệch chuẩn; PIC : hệ số thông tin đa hình

3.2. Phân tích mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nguồn gen khoai môn-sọ trong tập đoàn dựa vào chỉ thị RAPD

Mối quan hệ di truyền giữa các mẫu nguồn gen khoai môn-sọ nghiên cứu đã được ước lượng và phân tích UPGMA sử dụng số liệu đa hình RAPD (Hình 4).



Hình 4. Sơ đồ phân nhóm UPGMA và mối quan hệ di truyền trong các mẫu nguồn gen khoai môn-sọ dựa trên số liệu đa hình RAPD

Hệ số tương đồng di truyền trong 253 mẫu nguồn gen nghiên cứu dao động từ 0,38 đến 0,95. Phân tích nhóm được thực hiện sử dụng phương pháp UPGMA trình bày ở hình 4 cho thấy, ở mức tương đồng 64%, các nguồn gen nghiên cứu được phân trong 5 nhóm: nhóm I gồm 239 mẫu nguồn gen, hệ số tương đồng di truyền trong nhóm dao động từ 0,65 đến 0,95; nhóm II gồm 2 mẫu nguồn gen mang số đăng kí/kí hiệu 28261 và SP.19-1004 có hệ số tương đồng di truyền 0,81; nhóm III gồm 3 mẫu nguồn gen (10033, phước lượng nang và SP.19-012), có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng 0,67 đến 0,81; nhóm IV gồm 6 mẫu nguồn gen: 11549, 28347, 11552, 11605, 28200 và 11531, hệ số tương đồng di truyền trong khoảng từ 0,675 đến 0,88; nhóm V gồm 3 mẫu nguồn gen còn lại

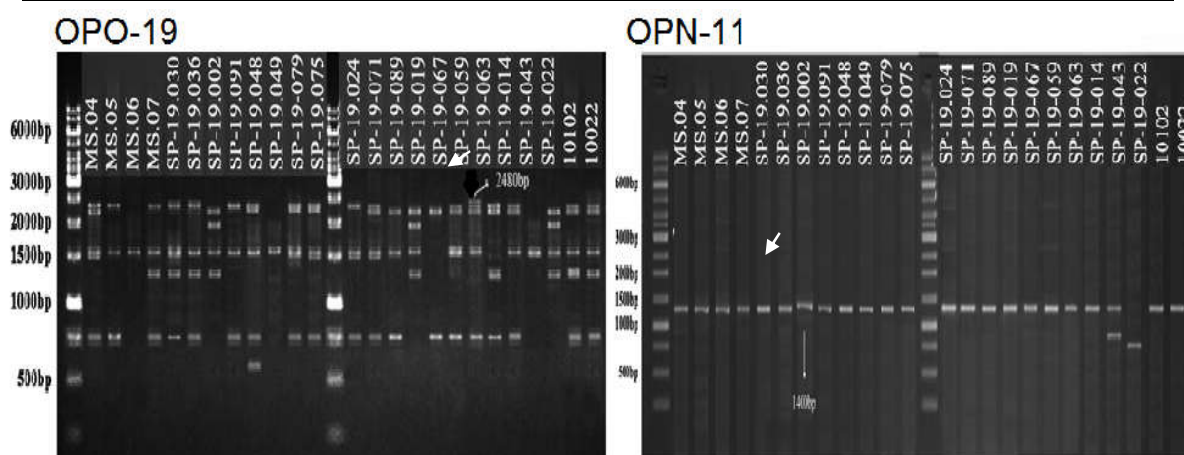
(28006, Sp.19-006 và Sp.19-1005) có hệ số tương đồng di truyền trong khoảng 0,66 đến 0,76.

Hệ số tương đồng di truyền cao nhất (0,95) phát hiện trong cặp nguồn gen: SDK11625 – 28021 và 10034 - 11615, phán đoán mối quan hệ di truyền rất gần gũi giữa các nguồn gen này. Ngược lại, ở cặp nguồn gen: 28304 thu ở Lào Cai và SP.19.1005 thu ở Bắc Giang có hệ số tương đồng thấp nhất (0,38), phản ánh sự sai khác di truyền xa nhất so với các nguồn gen còn lại. Hệ số tương đồng thấp giữa các giống chỉ ra mối quan hệ xa hơn, vì thế chúng sẽ có hiệu quả dị hợp tử cao khi đem lai. Kết quả nhận được cho thấy tiếp cận RAPD có tiềm năng đáng kể trong việc nhận dạng và phân biệt các giống khoai môn-sọ khác nhau.

3.3. Chỉ thị phân tử đặc trưng nhận dạng nguồn gen

Bảng 4. Danh sách các locus RADP có alen đặc trưng và nguồn gen mang alen đặc trưng

TT	Locus	Số alen/ locus	Khoảng biến động kích thước alen(bp)	Alen đặc trung	Kích thước alen đặc trưng (bp)	Kí hiệu nguồn gen có alen đặc trung
1	OPN-11	4	750- 1.400	1	1.400	SP-19-002
2	OPO-19	10	480 – 2.480	1	2.480	SP-19-063



Hình 5. Hình ảnh alen đặc trưng quan sát thấy ở mẫu nguồn gen Sp-19-063 tại locus OPO-19 (trái) và ở SP-19.002 tại locus OPN-11 trên gel agarose 1% (phải)

Trong số 58 alen đa hình được nhân lên bằng 10 chỉ thị RAPD trong tập đoàn 253 nguồn gen khoai môn-sọ miền Bắc, phát hiện chỉ thị OPO-19 và OPN-11 đã nhận được các alen đặc trưng (Bảng 4, hình 5).

Các nguồn gen có thể được nhận dạng thông qua các alen đặc trưng. Bằng chỉ thị OPN-11 với băng ADN có kích thước 1400 bp có thể nhận dạng nguồn gen mang kí hiệu SP-19.002 và bằng chỉ thị OPO-19 với băng ADN kích thước 2480 bp

(Hình 4) có thể nhận dạng được nguồn gen mang kí hiệu SP-19.063.

4. KẾT LUẬN

Phân tích 253 mẫu nguồn gen trong tập đoàn khoai môn-sọ miền Bắc đang được bảo tồn chuyển chỗ bằng 10 chỉ thị phân tử RAPD đã phát hiện sự đa dạng di truyền cao trong tập đoàn gen với 100% locus RAPD đa hình, trung bình có 5,8 alen/locus, giá trị PIC trung bình đạt 6,8, hệ số đa dạng gen Nei và hệ số đa dạng Shannon's trung bình lần lượt là 0,2963 và 0,4469.

Hệ số tương đồng di truyền trong các nguồn gen của tập đoàn nằm trong khoảng 0,38 đến 0,95. Tập đoàn khoai môn-sọ miền Bắc được phân thành 5 nhóm nguồn gen ở mức tương đồng 0,64. Đa số các nguồn gen (239 nguồn gen) được ghép trong một nhóm lớn nhất với hệ số tương đồng trong khoảng 0,65 - 0,95. Phát hiện 4 nguồn gen có hệ số tương đồng rất cao (0,95) phản ánh mối quan hệ di truyền rất gần gũi nhau. Nguồn gen mang kí hiệu SP-19.1005 có sai khác di truyền lớn nhất (hệ số tương đồng 0,38) so với các nguồn gen khác trong tập đoàn.

Sử dụng chỉ thị OPN-11 có thể nhận dạng chính xác nguồn gen mang kí hiệu SP-19.002 và chỉ thị OPO-19 có thể nhận dạng được nguồn gen mang kí hiệu SP-19.063.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trung tâm Tài nguyên thực vật (2022). Hiện trạng công tác lưu giữ nguồn gen trong các ngân hàng gen hạt, ngân hàng gen đồng ruộng. Báo cáo nghiệm thu nhiệm vụ bảo tồn nguồn gen thực vật nông nghiệp năm 2022.

2. Ochiai T., Nguyen V. X., Tahara M. and Yoshino H. (2001). Geographical differentiation of Asian taro, *Colocasia esculenta* (L.) Schott, detected by RAPD and isozyme analyses. *Euphytica* 122: 219 – 234 (2001).

3. Shen, D., Zhu, D. W., Li, X. X. and Song, J. P. (2003). Analysis of genetic diversity in taro in China. In: *Proceedings of Third Taro Symposium*. Guarino, L., Taylor, M. and Osborn, T. (Eds.). Secretariat of the Pacific Community, Nadi, Fiji Islands. pp. 89 - 94.

4. Lakhanpaul, S., Velayudhan, K. C. and Bhat, K. V. (2003). Analysis of genetic diversity in Indian taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) using RAPD. *Genet. Res. Crop Evol.*, 50: (6) 603-609.

5. Nusaifa Beevi, P., Sreekumari, M. T. and Kumar, V. (2011). Study of genetic diversity in South Indian taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott.) using random amplified polymorphic DNA markers. *J. Root Crops*, 37(2): 162 – 167.

6. Das, A. B., Das, A., Pradhan, C., & Naskar, S. K. (2015). Genotypic variations of ten Indian cultivars of *Colocasia esculenta* var. *antiquorum* (L.) Schott, evident by chromosomal and RAPD markers. *Caryologia*, 68(1), 44-54.

7. Chair, H., Traore, R. E., Duval, M. F., Rivallan, R., Mukherjee, A., Aboagye, L. M., ... Lebot, V. (2016). Genetic Diversification and Dispersal of Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Plos one*, 11(6), e0157712.

8. Rasco, J. L. S., Mendoza, M. R. R., & Abustan, M. A. M. (2016). Molecular Characterization of Taro [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] Using Microsatellite Markers. *Philippine Journal of Crop Science* (PJCS), 41(3), 65-73.

9. Miyasaka, S. C., Bellinger, M. R., Kantar, M. B., Helmkamp, M., Wolfgruber, T., Paudel, R., & Shintaku, M. (2019). Genetic diversity in taro (*Colocasia esculenta*). In *Genetic diversity in horticultural plants* (191-215). Springer, Cham.

10. Đặng Thị Thanh Mai và Nguyễn Xuân Viêt (2012). Phân tích đa dạng di truyền trong loài khoai môn-sọ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) và ở một số loài gần bằng kỹ thuật RAPD. *Hội nghị toàn quốc về NCKH và giảng dạy sinh học*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, tr 611-619.

11. Nguyễn Văn Giang, Vũ Ngọc Lan, Tống Văn Hải (2013). Nghiên cứu đa dạng di truyền cây khoai môn-sọ bằng chỉ thị phân tử DNA. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 11, số 1: 1-6.

12. Sharma, K., A. K. Mishra and R. S. Misra (2008). A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. *Afr. J. Biotechnol.*, 7(8): 1018-1022.

13. Rohlf, F. J. (2000). NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System

Version 2.1. Exeter Publishing Setauket, New York. Determination of genetic variability of Asian rice (*Oryza sativa* L.) varieties using microsatellite

14. Zahida H. Pervaiz¹ *, Malik A. Rabbani² , markers. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8
Stephen R. Pearce³ and Salman A. Malik¹ (2009), (21), pp. 5641-5651.

ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY IN COLLECTION OF NORTH TARO ACCESSIONS USING RAPD MARKERS

Nguyen Xuan Viet¹, Vu Thi Bich Huyen¹, Le Thi Tuoi¹, Pham Thi Viet Anh¹

¹Hanoi University of Education

Email: vietnx@hnue.edu.vn

Summary

In this study, 253 accessions from the Northern taro germplasm collection maintained at the Plant Resources Centre of Vietnam were evaluate genetic diversity by using ten RAPD markers. High genetic diversity in the collection was detected with 100% RAPD polymorphic loci, with an average of 5.8 alleles/locus, the mean PIC value of 6.8, the Nei's genetic diversity coefficient and the Shannon's diversity coefficient were 0.2963 and 0.4469, respectively. The genetic similarity coefficient within the ranges from 0.38 to 0.95. The 253 accessions clustered as five groups at the similarity level of 0.64. Some accession have a very high level of similarity (0.95) reflecting very close genetic relationships, while some another ones have large genetic differences (very low similarity coefficient, 0.38). These results will be meaningful information for the taro breeding project. Detecting two accessions carrying characteristic alleles also show that the RAPD approach has considerable potential for detecting genetic diversity, relationship and molecular identification of taro genetic resources.

Keywords: *Taro (Colocasia esculenta (L.) Schott) collection, genetic diversity, RAPD polymorphism.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Ngọc Huệ

Ngày nhận bài: 30/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 17/01/2023

Ngày duyệt đăng: 27/01/2023