

## SO SÁNH HIỆU QUẢ CỦA CHỈ THỊ ISSR VÀ SSR TRONG ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN QUẦN THỂ HOÀNG ĐÀN GIẢ (*DACRYDIUM ELATUM*) TỰ NHIÊN Ở TÂY NGUYÊN, VIỆT NAM

Trần Thị Liễu<sup>1,✉</sup>, Vũ Thị Thu Hiền<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Liễu<sup>2</sup>, Đinh Thị Phòng<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Thủ đô Hà Nội

<sup>3</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: tranthilieue@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.6.2016

Ngày nhận đăng: 20.5.2017

### TÓM TẮT

Hai kỹ thuật ISSR (27 chỉ thị) và SSR (20 chỉ thị) đã được sử dụng để so sánh hiệu quả và đánh giá đa dạng di truyền của 70 cá thể Hoàng đàn giả (*Dacrydium elatum*) thu được ở Lâm Đồng, Kon Tum, Đắk Lắk và Gia Lai. Kết quả phân tích đã chỉ ra 38/47 chỉ thị có tính đa hình giữa các mẫu nghiên cứu (23/27 chỉ thị ISSR và 15/20 chỉ thị SSR) và nhân bản được 180 phân đoạn DNA, trong đó có 85/127 phân đoạn đa hình (chiếm 66,93%) khi phân tích với chỉ thị ISSR và 46/53 phân đoạn đa hình (chiếm 86,79%) đối với chỉ thị SSR. Nhìn chung các thông số đa dạng di truyền trung bình của quần thể Hoàng đàn giả phân tích với chỉ thị SSR ( $H_j = 0,213$ ;  $N_e = 1,566$ ;  $I = 0,444$ ;  $H_e = 0,301$ ;  $h = 0,228$  và  $PPB = 72,50\%$ ) cho kết quả cao hơn so với phân tích chỉ thị ISSR ( $H_j = 0,155$ ;  $N_e = 1,142$ ;  $I = 0,125$ ;  $H_e = 0,083$ ;  $h = 0,074$  và  $PPB = 25,07\%$ ). Hệ số tương quan ( $r$ ) giữa khoảng cách di truyền đánh giá bởi chỉ thị ISSR và tổ hợp ISSR + SSR có giá trị cao hơn ( $r = 0,92$ ) so với chỉ thị SSR và tổ hợp ISSR + SSR ( $r = 0,65$ ). Không có sự sai khác quá lớn về mức độ thay đổi phân tử giữa các quần thể và giữa các cá thể khi phân tích riêng rẽ hoặc tổ hợp cả 2 chỉ thị ISSR và SSR. Biểu đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR có sự tương đồng nhau, đều chia thành 2 nhánh chính có hệ số tương đồng di truyền tương ứng trong khoảng từ 74 đến 99%, 78,4 đến 100% và 76 đến 96,6%. Các kết quả thu được cho thấy loài Hoàng đàn giả cần được quan tâm bảo tồn ở mức độ quần thể.

**Từ khóa:** *Dacrydium elatum*, đa dạng di truyền quần thể, ISSR, SSR, Tây Nguyên

### MỞ ĐẦU

Hoàng đàn giả (*Dacrydium elatum*) là một trong số 15 loài lá kim được phát hiện ở Tây Nguyên, Việt Nam. Mặc dù loài có phân bố rộng với số lượng cá thể nhiều, nhưng lại có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng vì bị khai thác ráo riết để lấy gỗ xuất khẩu và sử dụng. Theo Phan Kế Lộc và đồng tác giả (2013), Hoàng đàn giả ở Việt Nam được xếp ở thứ hạng sắp nguy cấp VU A4acd, B2b (ii, iii, v), C1. Vì vậy, việc nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên làm cơ sở bảo tồn loài là hết sức cần thiết. Hầu hết các nghiên cứu trước đây chỉ tập trung vào việc phân loại dựa trên đặc điểm hình thái và nơi phân bố mà chưa có nghiên cứu đa dạng di truyền cho loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên.

Trong số các chỉ thị phân tử, chỉ thị ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) và SSR (Simple

Sequence Repeat) được xem là có hiệu quả và ứng dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền trên nhiều đối tượng cây trồng, trong đó có một số loài lá kim trên thế giới và Việt Nam (Isshiki *et al.*, 2008; Arif *et al.*, 2009; Đinh Thị Phòng *et al.*, 2014, 2015; Trần Thị Liễu *et al.*, 2015), bởi tính đa hình cao, dễ tiến hành và ít tốn kém, có thể lặp lại ở các thí nghiệm và chỉ cần một lượng nhỏ DNA. Tuy nhiên, tùy đối tượng và mục đích nghiên cứu khác nhau, các chỉ thị được đánh giá hiệu quả khác nhau. Hiện không có chỉ thị DNA nào có thể đáp ứng đầy đủ tất cả các yêu cầu của nhà nghiên cứu, vì vậy việc xem xét một cách cẩn thận trong lựa chọn chỉ thị phù hợp cho mục đích nghiên cứu là hết sức cần thiết.

Xuất phát từ những cơ sở khoa học trên, công trình này đề cập đến kết quả “So sánh hiệu quả của chỉ thị ISSR và SSR trong đánh giá đa dạng di truyền quần thể Hoàng đàn giả tự nhiên ở Tây Nguyên, Việt

Nam” làm cơ sở cho việc lựa chọn chỉ thị phân tử trong nghiên cứu đa dạng di truyền và đề xuất giải pháp bảo tồn, sử dụng và phát triển bền vững loài lá kim ở Tây Nguyên nói riêng và Việt Nam nói chung.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Bảy mươi mẫu lá hoặc vỏ thân (mỗi mẫu là một cá thể) của loài Hoàng đàn giả thu ở bốn tỉnh Kon Tum, Lâm Đồng, Đắk Lắk và Gia Lai được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền. Các mẫu được bảo quản trong túi nhựa dẻo có chứa silicagel và giữ ở nhiệt độ phòng đến khi sử dụng. Thông tin về các mẫu nghiên cứu được trình bày trong Hình 1 và Bảng 1.



**Hình 1.** Vị trí thu mẫu các quần thể Hoàng đàn giả trong nghiên cứu.

**Bảng 1.** Nguồn gốc và kí hiệu của 70 mẫu Hoàng đàn giả sử dụng trong nghiên cứu.

	Địa điểm thu mẫu	Số mẫu	Kí hiệu mẫu	Vĩ độ (°N)	Kinh độ (°E)	Độ cao so mặt nước biển (m)
<b>Xã Hiếu</b>	Xã Hiếu, Kon Plông, Kon Tum	18	De1 – De18	14° 40' 06.8"	108° 24' 30.3"	1194
<b>Đa Chais</b>	Đa Chais, Lạc Dương, Lâm Đồng	17	De19 – De35	12° 11' 02.7"	108° 41' 24.3"	1482
<b>Hòa Sơn</b>	Hòa Sơn, Krông Bông, Đắk Lắk	15	De36 – De50	12° 25' 05.2"	108° 22' 17.1"	1116
<b>Sơn Lang</b>	Sơn Lang, K' Bang, Gia Lai	8	De51 – De58	14° 25' 44.6"	108° 33' 07.3"	913
<b>A Yun</b>	A Yun, Mang Yang, Gia Lai	7	De59 – De65	14° 12' 40.7"	108° 16' 48.9"	895
<b>Kon Chư Răng</b>	K' Bang, Gia Lai	5	De66 – De70	14° 30' 52.4"	108° 33' 21.2"	1057

Trình tự 27 chỉ thị ISSR và 20 chỉ thị SSR (Bảng 2). Các mẫu được tổng hợp bởi Công ty trong nghiên cứu được khai thác từ các tài liệu IDT (Intergarated DNA Technology), Hoa Kỳ.

**Bảng 2.** Trình tự nucleotide và kích thước sản phẩm PCR dự kiến của chỉ thị ISSR và SSR trong nghiên cứu.

STT	Chỉ thị	Trình tự nucleotide	Kích thước sản phẩm PCR (bp)	Tài liệu tham khảo
<b>Chỉ thị ISSR</b>				
1	HB12	(CAC) <sub>3</sub> GC	550 – 1550	Parasharami <i>et al.</i> , 2012
2	HB15	(GTG) <sub>3</sub> GC	300 – 1800	Parasharami <i>et al.</i> , 2012
3	ISSR1	(CAG) <sub>5</sub>	450 – 1100	Bornet <i>et al.</i> , 2001
4	ISSR2	(CAA) <sub>5</sub>	450 – 1350	Bornet <i>et al.</i> , 2001
5	ISSR3	(GACA) <sub>4</sub>	500 – 1150	Bornet <i>et al.</i> , 2001
6	ISSR5	(CCG) <sub>6</sub>	500 – 1000	Carrasco <i>et al.</i> , 2013
7	ISSR7	(GGC) <sub>6</sub>	900 – 1200	Baloch <i>et al.</i> , 2010
8	ISSR9	(TG) <sub>6</sub> GA	500 – 1000	Baloch <i>et al.</i> , 2010
9	ISSR11	(CCA) <sub>5</sub>	700 – 2000	Mahdizadeh <i>et al.</i> , 2012
10	ISSR13	(GT) <sub>6</sub> C	350 – 1450	Baloch <i>et al.</i> , 2010
11	ISSR15	(CA) <sub>6</sub> A	450 – 630	Carrasco <i>et al.</i> , 2013
12	ISSR46	(AG) <sub>6</sub> T	400 – 1500	Arif <i>et al.</i> , 2009
13	ISSR56	(AC) <sub>6</sub> G	300 – 1000	Arif <i>et al.</i> , 2009
14	ISSR59	(GA) <sub>6</sub> CT	600 – 750	Arif <i>et al.</i> , 2009
15	ISSR63	CTC(GA) <sub>7</sub>	300 – 800	Arif <i>et al.</i> , 2009
16	ISSR67	(ATG) <sub>6</sub>	400 – 1000	Arif <i>et al.</i> , 2009
17	U17899	(GT) <sub>6</sub> CA	300 – 300	Arif <i>et al.</i> , 2009
18	U17901	(CA) <sub>6</sub> AG	300 – 900	Arif <i>et al.</i> , 2009
19	UBC808	(AG) <sub>6</sub> C	300 – 1350	Isshiki <i>et al.</i> , 2008
20	UBC811	(GA) <sub>6</sub> C	400 – 750	Isshiki <i>et al.</i> , 2008
21	UBC828	(TG) <sub>6</sub> A	450 – 600	Carrasco <i>et al.</i> , 2013
22	UBC836	(AG) <sub>6</sub> CA	550 - 1400	Isshiki <i>et al.</i> , 2008
23	UBC841	(GA) <sub>6</sub> CC	400 – 850	Baloch <i>et al.</i> , 2010
24	UBC848	(CA) <sub>6</sub> GG	450 – 1000	Baloch <i>et al.</i> , 2010
25	UBC849	(GT) <sub>6</sub> CA	350 – 1150	Muthusamy <i>et al.</i> , 2008
26	UBC851	(GT) <sub>6</sub> CG	350 – 1450	Baloch <i>et al.</i> , 2010
27	UBC859	(TG) <sub>6</sub> GC	550 – 1000	Baloch <i>et al.</i> , 2010
<b>Chỉ thị SSR</b>				
1	PeC19BGT	5' GAGACCAGACAAAGATGAAGA 3' 3' GAGTAAGAGCAAGACACCAAAA 5'	190 – 210	Mellick <i>et al.</i> , 2009
2	PeB31BGT	5' GGCATTGGCTCAACAGA 3' 3' TCGTGGAGAGGTACTTCATT 5'	160 – 200	Mellick <i>et al.</i> 2009
3	Pnh277	5' ATGCATGTTGCCTAGTTCC 3' 3' ACAAGGATTTACCTTGGTTCCACC 5'	390 – 440	Chiang <i>et al.</i> , 2011
4	Pnh038	5' ACTCATTCCGGATGGTGG 3' 3' TGGGGCTTGGACTTCAAGA 5'	150 – 150	Chiang <i>et al.</i> , 2011
5	Pt87268	5GCCAGGGAAAATCGTAGG 3' 3' AGAAGATTAGACATCCAACCC 5'	140 – 160	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
6	PtTX2037	5' CGTTTGGGAGCACTACTT 3' 3'AAGTCACTTAATGCAATATGTA 5'	120 – 500	Elsik <i>et al.</i> , 2000

7	Pt15169	5' CTTGGATGGAATAGCAGCC 3' 3' GGAAGGGCATTAAAGGTCATTA 5'	390 – 410	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
8	Pt26081	5' CCCGTATCCAGATATACTTCCA 3' 3' TGGTTTGATTTCATTTCGTTTCAT 5'	150 – 250	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
9	Pt30204	5' TCATAGCGGAAGATCCTCTTT 3' 3' CGGATTGATCCTAACCATAACC 5'	300 – 400	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
10	PtTX3030	5' AATGAAAGGCAAGTGTCTG 3' 3' GAGATGCAAGATAAAGGAAGTT 5'	198 – 230	Elsik <i>et al.</i> , 2000
11	Pt79951	5' CTTTTGTTTTTCAACAATTGCA 3' 3' ACATCTATCTCCCATATCGGC 5'	155 – 155	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
12	CO14	5' ATCCTGAGTCCCTGTATGTT 3' 3' CTACTATCTGAGCAGCCAC 5'	220 – 250	Miao <i>et al.</i> , 2012
13	CO15	5' TCCAAGGATGCACATTCAAT 3' 3' AAACAAAACCTCACTCAATGAA 5'	200 – 245	Miao <i>et al.</i> , 2012
14	CO7	5' GAGGAGTTCAAGGTGGTCT 3' 3' CCCACTTCTCCAGCAATAC 5'	120 – 135	Miao <i>et al.</i> , 2012
15	Pinus02	5' GTCCCTGGCTTGCAGACTAT 3' 3' ACACACACACACAGAGAGAG 5'	290 – 310	Hung <i>et al.</i> , 2012
16	Pinus07	5' AAATCGGGTCAACATCAAGC 3' 3' TCTCTCTCTCACACACACAC 5'	300 – 330	Hung <i>et al.</i> , 2012
17	PtTX3026	5' AATACTTGGGAGGGATAC 3' 3' AATAGCCAGTTTTGTTTG 5'	400 – 500	Elsik <i>et al.</i> , 2000
18	Pt71936	5' TTCATTGGAATACACTAGCCC 3' 3' AAAACCGTACATGAGATTCCC 5'	340 – 440	Vendramin <i>et al.</i> , 1996
19	PRE10	5' CTGGTCTGGCCTAAGAATATGAAG 3' 3' CATTGGGACGTAAACAACAATACCA 5'	140 – 140	Boy <i>et al.</i> , 2005
20	PRE24	5' GTTTTTTAAATTGGGAAGGCG 3' 3' CGTGGGGGAGATAGTGATAGAGT 5'	290 – 420	Boy <i>et al.</i> , 2005

## Phương pháp nghiên cứu

### Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết và làm sạch theo phương pháp của Porebski và đồng tác giả (1997). Độ sạch của DNA tổng số được kiểm tra trên gel agarose 0,9% và nồng độ được đo trên máy UVS 2700, Labomed, Hoa Kỳ.

### Phản ứng PCR\_ISSR và PCR\_SSR

PCR được thực hiện trên máy PCR System 9700 (Hoa Kỳ) với tổng thể tích 25  $\mu$ l. Thành phần của phản ứng, chu trình nhiệt được thực hiện theo công bố của Đinh Thị Phòng và đồng tác giả (2014), Trần Thị Liễu và đồng tác giả (2015).

### Phân tích số liệu

Các thông số di truyền như trung bình số allele quan sát ( $N_a$ ) và số allele hiệu quả ( $N_e$ ) trên một locus, hệ số gen dị hợp tử mong đợi ( $H_e$ ), phần trăm phân đoạn đa hình (PPB), chỉ số đa dạng di truyền

theo Shannon ( $I$ ), chỉ số đa dạng di truyền theo Nei ( $h$ ) của mỗi quần thể, hàm lượng thông tin đa hình (PIC) của mỗi chi thị, giá trị đa dạng gen trên một locus ( $H_j$ ), phân tích mức biến đổi phân tử (AMOVA) và lập biểu đồ hình cây của các mẫu nghiên cứu được mô tả trong Trần Thị Liễu và đồng tác giả (2015). Phân tích tương quan ( $r$ ) về khoảng cách di truyền đánh giá bởi các chi thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR cũng được thực hiện theo phương pháp của Mantel sử dụng phần mềm GENALEX (Peakall, Smouse, 2006).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Đa dạng di truyền

Bốn mươi bảy chi thị phân tử (27 chi thị ISSR và 20 chi thị SSR) đã được sử dụng để đánh giá tính đa dạng di truyền cho 70 mẫu Hoàng đàn giả thuộc 6 quần thể ở Tây Nguyên (Xã Hiếu, tỉnh Kon Tum; Đa Chais, tỉnh Lâm Đồng; Hòa Sơn, tỉnh Đắk Lắk

và Sơn Lang, A Yun, Kon Chur Răng, tỉnh Gia Lai). Tổng số có 38/47 chỉ thị chỉ ra tính đa hình giữa các mẫu nghiên cứu (23/27 chỉ thị ISSR và 15/20 chỉ thị SSR) và nhân bản được 180 phân đoạn DNA với kích thước dao động từ 300 đến 2000 bp đối với chỉ thị ISSR và từ 120 đến 500 bp đối với chỉ thị SSR (Bảng 2). Trong đó có 85/127 phân đoạn đa hình (chiếm 66,93%) khi phân tích với chỉ thị ISSR

và 46/53 phân đoạn đa hình (chiếm 86,79%) đối với chỉ thị SSR. Trung bình phần trăm phân đoạn đa hình (PPB%), hàm lượng thông tin đa hình (PIC) và giá trị đa dạng gen trên một locus ( $H_j$ ) là 66,93%; 0,234 và 0,155 (đối với chỉ thị ISSR), 86,79%; 0,143 và 0,213 (đối với chỉ thị SSR) và 72,78%; 0,195 và 0,180 (khi tổ hợp ISSR + SSR), tương ứng (Bảng 3).

**Bảng 3.** Số phân đoạn đa hình, giá trị PIC và  $H_j$  của quần thể Hoàng đàn già phân tích với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR+SSR.

	Số chỉ thị	Tổng số phân đoạn	Số phân đoạn đa hình	Trung bình phân đoạn trên chỉ thị	Trung bình % phân đoạn đa hình	Trung bình giá trị PIC	Trung bình giá trị $H_j$
ISSR	27	127	85	4,703	66,93	0,234	0,155
SSR	20	53	46	2,650	86,79	0,143	0,213
ISSR+SSR	47	180	131	3,830	72,78	0,195	0,180

**Bảng 4.** Thông số di truyền của 6 quần thể Hoàng đàn già với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR.

Thông số di truyền	Chỉ thị	Xã Hiếu	Đa Chais	Hòa Sơn	Sơn Lang	A Yun	Kon Chur Răng	Trung bình
Na	ISSR	1,394	1,150	1,142	0,882	0,772	0,669	1,001
	SSR	1,900	1,800	1,800	1,700	1,750	1,800	1,792
	ISSR+SSR	1,399	1,152	1,146	0,938	0,882	0,820	1,056
Ne	ISSR	1,227	1,206	1,212	1,109	1,065	1,035	1,142
	SSR	1,565	1,570	1,574	1,542	1,518	1,627	1,566
	ISSR+SSR	1,251	1,214	1,226	1,125	1,114	1,099	1,172
I	ISSR	0,212	0,181	0,178	0,092	0,057	0,028	0,125
	SSR	0,467	0,433	0,443	0,430	0,417	0,473	0,444
	ISSR+SSR	0,223	0,182	0,186	0,105	0,096	0,081	0,145
He	ISSR	0,138	0,120	0,121	0,062	0,038	0,019	0,083
	SSR	0,314	0,288	0,306	0,298	0,282	0,321	0,301
	ISSR+SSR	0,148	0,122	0,127	0,071	0,065	0,056	0,098
h	ISSR	0,129	0,099	0,095	0,061	0,042	0,019	0,074
	SSR	0,229	0,207	0,230	0,238	0,217	0,244	0,228
	ISSR+SSR	0,137	0,107	0,106	0,073	0,065	0,057	0,091
PPB (%)	ISSR	46,46	37,80	33,07	17,32	11,02	4,72	25,07
	SSR	85,00	65,00	75,00	70,00	70,00	70,00	72,50
	ISSR+SSR	45,51	35,96	33,71	19,10	17,42	13,48	27,53

Ghi chú: Na: số allele quan sát trung bình trên locus; Ne: số allele hiệu quả trên locus; I: chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon; He: hệ số gen di hợp tử mong đợi; h: chỉ số đa dạng di truyền theo Nei; PPB: phần trăm phân đoạn đa hình.

Tính đa dạng di truyền của loài Hoàng đàn già ở Tây Nguyên khi phân tích với chỉ thị ISSR thể hiện cao nhất ở quần thể Xã Hiếu ( $He = 1,138$ ;  $h = 0,129$ ;  $I = 0,212$  và  $PPB = 46,46\%$ ), thứ hai là quần thể Đa Chais ( $He = 0,120$ ;  $h = 0,099$ ;  $I = 0,181$  và  $PPB =$

$37,80\%$ ), thứ ba là quần thể Hòa Sơn ( $He = 0,121$ ;  $h = 0,095$ ;  $I = 0,178$  và  $PPB = 33,07\%$ ), thứ tư là quần thể Sơn Lang ( $He = 0,062$ ;  $h = 0,061$ ;  $I = 0,092$  và  $PPB = 17,32\%$ ), thứ năm là quần thể A Yun ( $He = 0,038$ ;  $h = 0,042$ ;  $I = 0,057$  và  $PPB = 11,02\%$ ) và

cuối cùng là quần thể Kon Chur Răng ( $He = 0,019$ ;  $h = 0,019$ ;  $I = 0,028$  và  $PPB = 4,72\%$ ) (Bảng 4).

Tuy nhiên khi phân tích với chỉ thị SSR lại chỉ ra quần thể Hoàng đàn giả ở Kon Chur Răng có tính đa dạng di truyền cao nhất ( $He = 0,321$ ;  $h = 0,244$ ;  $I = 0,473$  và  $PPB = 70\%$ ), thứ hai là quần thể Xã Hiếu ( $He = 0,314$ ;  $h = 0,229$ ;  $I = 0,467$  và  $PPB = 85\%$ ), thứ ba là quần thể Hòa Sơn ( $He = 0,306$ ;  $h = 0,230$ ;  $I = 0,443$  và  $PPB = 75\%$ ), thứ tư là quần thể Sơn Lang ( $He = 0,298$ ;  $h = 0,238$ ;  $I = 0,430$  và  $PPB = 70\%$ ), thứ năm là quần thể A Yun ( $He = 0,282$ ;  $h = 0,217$ ;  $I = 0,417$  và  $PPB = 70\%$ ), và thấp nhất là quần thể Đa Chais ( $He = 0,288$ ;  $h = 0,207$ ;  $I = 0,433$  và  $PPB = 65\%$ ) (Bảng 4).

Khi phân tích tổ hợp ISSR và SSR cho kết quả ít nhiều giống với phân tích chỉ thị ISSR hơn, tính đa

dạng di truyền quần thể Hoàng đàn giả thể hiện cao nhất ở quần thể Xã Hiếu ( $He = 0,148$ ;  $h = 0,137$ ;  $I = 0,223$  và  $PPB = 45,51\%$ ), thứ hai là quần thể Đa Chais ( $He = 0,122$ ;  $h = 0,107$ ;  $I = 0,182$  và  $PPB = 35,96\%$ ), thứ ba là quần thể Hòa Sơn ( $He = 0,127$ ;  $h = 0,106$ ;  $I = 0,186$  và  $PPB = 33,71\%$ ), thứ tư là quần thể Sơn Lang ( $He = 0,071$ ;  $h = 0,073$ ;  $I = 0,105$  và  $PPB = 19,10\%$ ), thứ năm là quần thể A Yun ( $He = 0,065$ ;  $h = 0,065$ ;  $I = 0,096$  và  $PPB = 17,42\%$ ), và cuối cùng là quần thể Kon Chur Răng ( $He = 0,056$ ;  $h = 0,057$ ;  $I = 0,081$  và  $PPB = 13,48\%$ ) (Bảng 4). Kết quả phân tích hệ số tương quan ( $r$ ) về khoảng cách di truyền đã chỉ ra giá trị  $r$  cao nhất ( $r = 0,92$ ) khi phân tích với chỉ thị ISSR và tổ hợp ISSR + SSR, tiếp theo là chỉ thị SSR và tổ hợp ISSR + SSR ( $r = 0,65$ ) và cuối cùng là chỉ thị ISSR và SSR ( $r = 0,45$ ) (Bảng 5).

**Bảng 5.** Hệ số tương quan ( $r$ ) về khoảng cách di truyền theo các chỉ thị phân tử khác nhau.

	ISSR	SSR
ISSR		
SSR	0,45	
ISSR + SSR	0,92	0,65

#### Cấu trúc di truyền

Phân tích mức độ thay đổi phân tử giữa các quần

thể và giữa các cá thể trong quần thể Hoàng đàn giả cho thấy, tổng mức độ thay đổi phân tử (AMOVA) giữa các quần thể là 46,24%; 41,33%; 47% và giữa các cá thể trong quần thể là 53,76%; 58,67%; 53% khi phân tích với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR+ SSR, tương ứng (Bảng 6). Tuy nhiên, kết quả trong bảng 6 cũng chỉ ra, mức độ thay đổi phân tử giữa các quần thể và giữa các cá thể đều không có sự sai khác quá lớn khi phân tích riêng rẽ hoặc tổ hợp cả 2 chỉ thị ISSR và SSR.

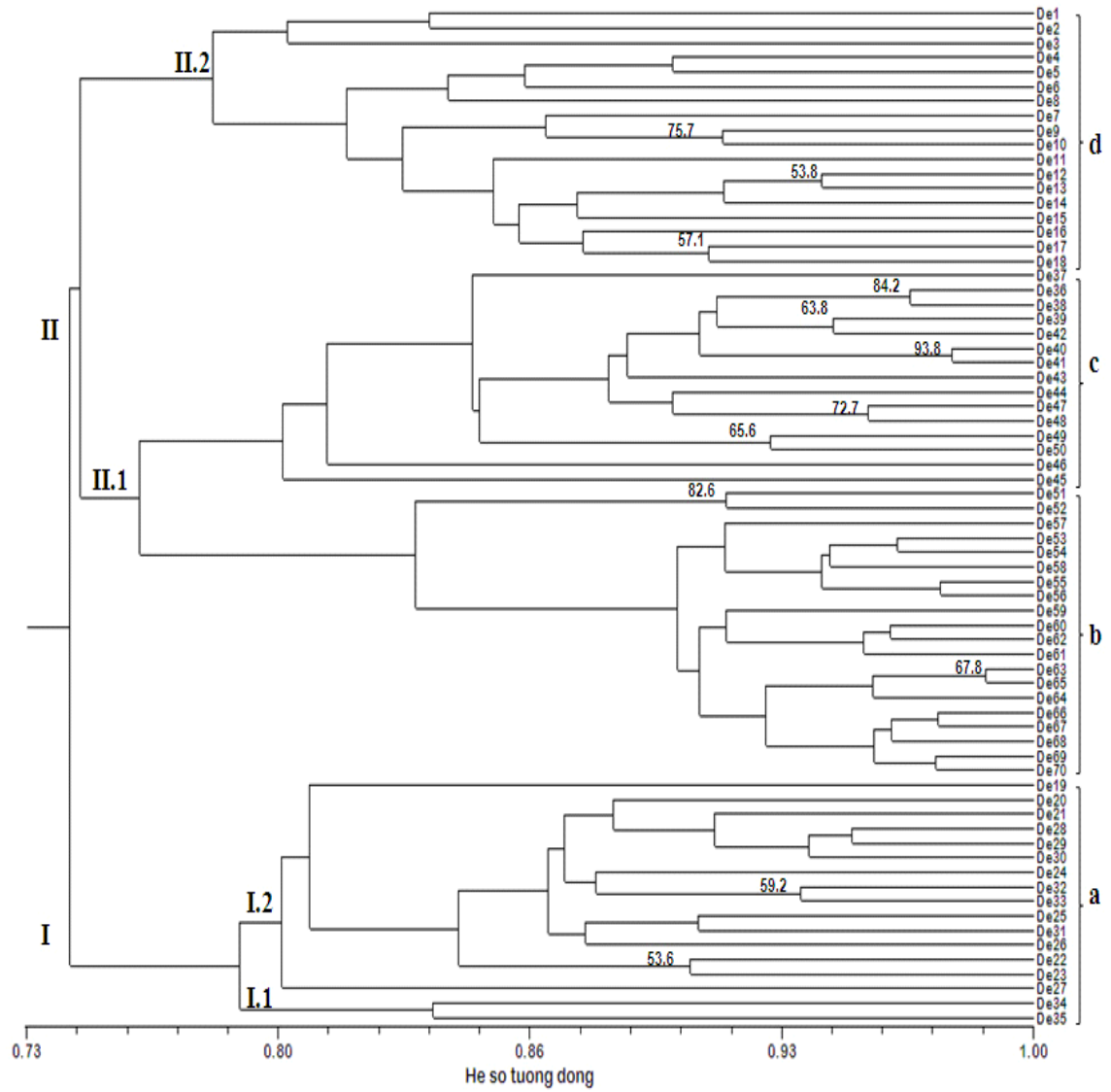
**Bảng 6.** Mức độ thay đổi phân tử giữa và trong 6 quần thể Hoàng đàn giả với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR.

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng bình phương	Mức độ đa dạng	Tổng sự thay đổi (%)	Giá trị p
Giữa các quần thể	ISSR	332,778	5,379	46,24	<0,001
	SSR	87,287	1,382	41,33	
	ISSR+SSR	555,782	9,022	47,00	
Giữa các cá thể trong quần thể	ISSR	400,264	6,254	53,76	
	SSR	125,570	1,962	58,67	
	ISSR+SSR	640,232	10,004	53,00	

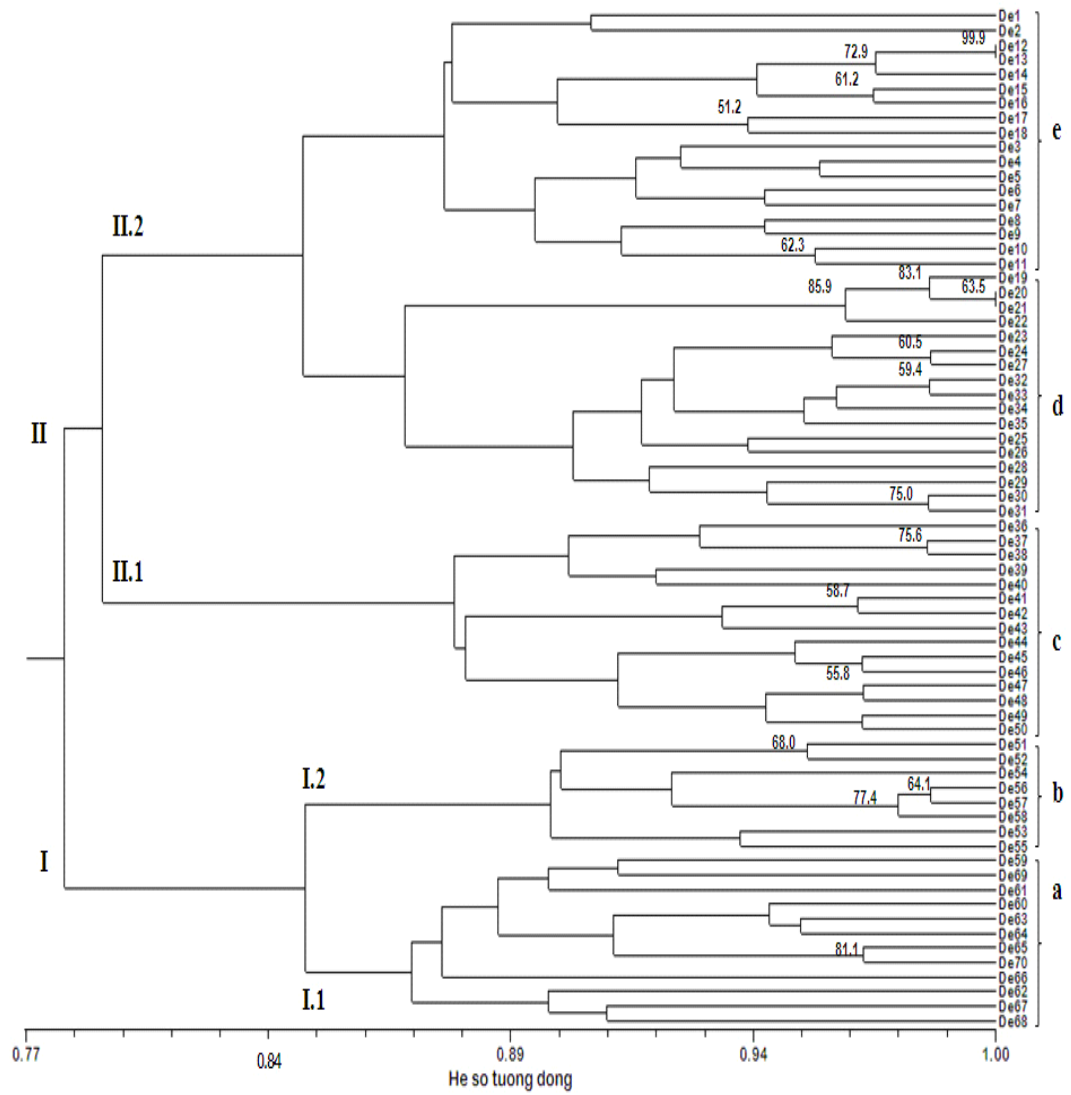
#### Mối quan hệ di truyền và phân nhóm

Biểu đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả (Hình 2, 3 và 4) đều chia thành 2 nhánh chính I và II riêng biệt có hệ số tương đồng di truyền dao động từ 74 đến 99%, từ 78,4 đến 100% và từ 76 đến 96,6% khi phân tích với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR, tương ứng. Trong đó các mẫu thu ở cùng địa điểm đều tập trung thành những nhánh phụ riêng biệt. Chẳng hạn trong biểu đồ hình 2, khi phân tích với chỉ thị ISSR, 17 mẫu thu

ở Đa Chais (De19 – De35) tập trung thành nhánh chính I (kí hiệu a). Khi phân tích với chỉ thị SSR (Hình 3) và tổ hợp ISSR + SSR (Hình 4), 17 mẫu này cũng tập trung thành một nhánh phụ riêng biệt (kí hiệu d và c, tương ứng). Hay như 18 mẫu (De1 - De18) có nguồn gốc ở Xã Hiếu tập trung thành một nhánh phụ II.2 khi phân tích với chỉ thị ISSR (Hình 2) và tổ hợp ISSR + SSR (Hình 4), và khi phân tích với chỉ thị SSR, 18 mẫu này cũng tập trung thành nhóm phụ riêng biệt (kí hiệu e trong Hình 3).

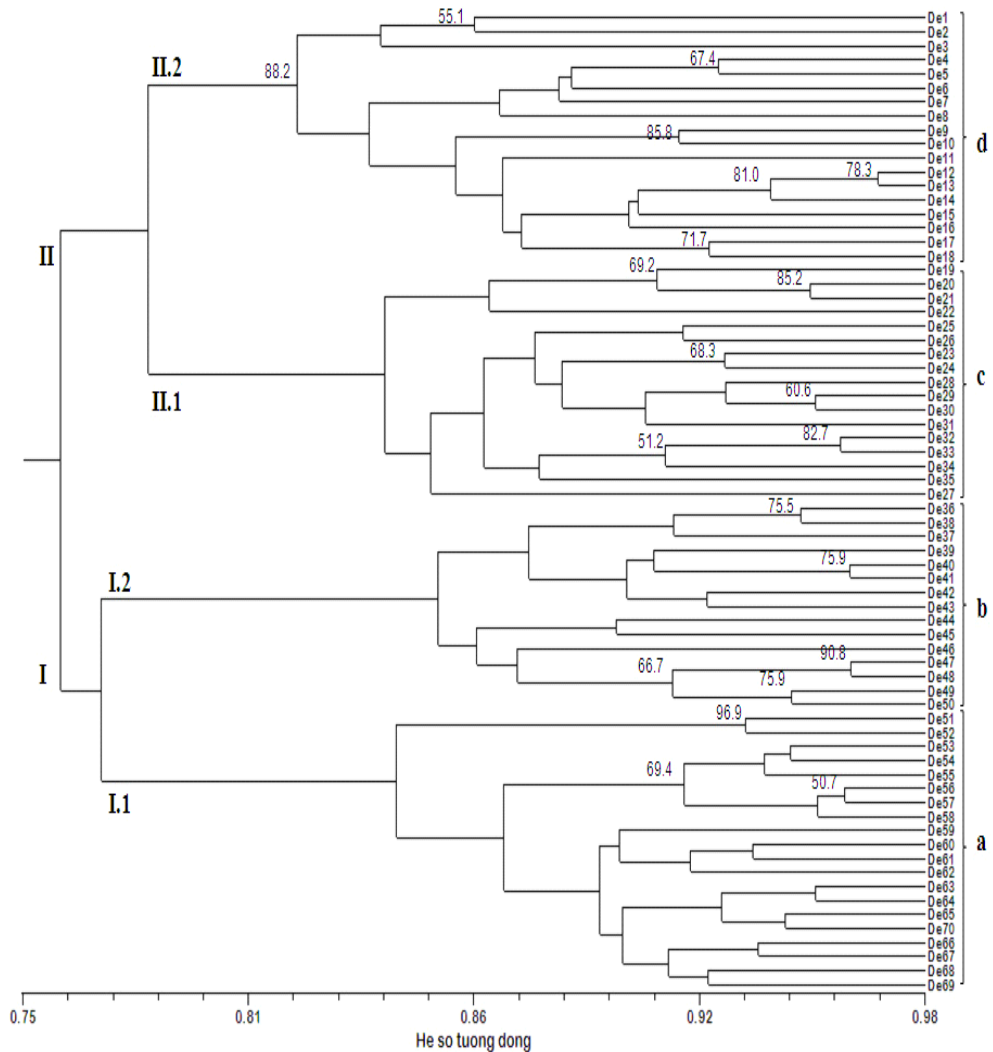


**Hình 2.** Biểu đồ hình cây theo phương pháp của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả phân tích với chỉ thị ISSR (Ghi chú: a: mẫu ở Đa Chais (Lâm Đồng); b: mẫu ở Sơn Lang, A Yun và Kon Chư Răng (Gia Lai); c: mẫu ở Hòa Sơn (Đắk Lắk); d: mẫu ở Xã Hiếu (Kon Tum).



**Hình 3.** Biểu đồ hình cây theo phương pháp của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả phân tích với chỉ thị SSR (Ghi chú: a: mẫu ở A Yun và Kon Chư Răng (Gia Lai); b: mẫu ở Sơn Lang (Gia Lai); c: mẫu ở Hòa Sơn (Đắk Lắk); d: mẫu ở Đa Chais (Lâm Đồng); e: mẫu ở Xã Hiếu (Kon Tum).





**Hình 4.** Biểu đồ hình cây theo phương pháp của Jaccard và kiểu phân nhóm UPGMA thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả phân tích với tổ hợp chỉ thị ISSR + SSR (Ghi chú: a: mẫu ở Sơn Lang, A Yun và Kon Chư Răng (Gia Lai); b: mẫu ở Hòa Sơn (Đắk Lắk); c: mẫu ở Đa Chais (Lâm Đồng); d: mẫu ở Xã Hiếu (Kon Tum)).

## THẢO LUẬN

Chỉ thị ISSR và SSR đã được sử dụng thành công trong nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể trên nhiều loài như dứa (Manimekalai *et al.*, 2006), lúa mạch (Myskóv *et al.*, 2010), đậu (Tantasawat *et al.*, 2010) và cỏ linh lăng (Mandoulakani *et al.*, 2015). Qua kết quả thu nhận cho thấy, trong nghiên cứu đa dạng di truyền ở loài đậu thì chỉ thị ISSR được đánh giá là có hiệu quả hơn chỉ thị SSR (Tantasawat *et al.*, 2010), nhưng khi nghiên cứu trên loài dứa và cỏ linh lăng thì chỉ thị SSR lại có hiệu quả hơn (Manimekalai *et al.*, 2006; Mandoulakani *et al.*, 2015).

Kết quả phân tích đa dạng di truyền quần thể Hoàng đàn giả với chỉ thị ISSR và SSR đã cho thấy tính đa hình DNA khi phân tích với chỉ thị SSR có giá trị cao hơn so với chỉ thị ISSR. Mặc dù chỉ thị SSR có trung bình phân đoạn DNA nhân bản và giá trị PIC (2,650 và 0,143, tương ứng) thấp hơn so với chỉ thị ISSR (4,703 và 0,234, tương ứng) nhưng phần trăm phân đoạn đa hình (PPB) và giá trị đa dạng gen trên một locus (*H<sub>j</sub>*) khi phân tích với chỉ thị SSR (86,79% và 0,213, tương ứng) lại cao hơn so với chỉ thị ISSR (66,93% và 0,155, tương ứng). Sở dĩ có sự khác biệt này là do chỉ thị SSR khuếch đại vùng DNA lặp lại

trong hệ gen và những vùng này có độ biến đổi cao bởi cơ chế trượt, do đó có tính khuếch đại đặc hiệu hơn chỉ thị ISSR (Schloss *et al.*, 2002).

Về khía cạnh đa dạng di truyền, các thông số di truyền trung bình của 6 quần thể Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị SSR đều cho kết quả cao hơn so với phân tích chỉ thị ISSR. Số allele quan sát trung bình ( $N_a$ ) và allele hiệu quả trên một locus ( $N_e$ ), chỉ số đa dạng di truyền theo Shannon ( $I$ ), hệ số gen di hợp tử mong đợi ( $H_e$ ) và chỉ số đa dạng di truyền theo Nei ( $h$ ) của quần thể Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị SSR (1,792; 1,566; 0,444; 0,301 và 0,228, tương ứng) cao hơn so với phân tích chỉ thị ISSR (1,001; 1,142; 0,125; 0,083 và 0,074, tương ứng). Kết quả so sánh này cũng tương tự trong các nghiên cứu trên loài dứa (Manimekalai *et al.*, 2006), cỏ biển (Serra *et al.*, 2007) và cỏ linh lăng (Mandoulakani *et al.*, 2015). Tuy nhiên một vài nghiên cứu khác lại chỉ ra chỉ thị ISSR có tính hiệu quả hơn so với chỉ thị SSR trong đánh giá đa dạng di truyền loài đậu (Tantasawat *et al.*, 2010) và lúa mạch (Mysków *et al.*, 2010).

Tính đa dạng di truyền quần thể Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị ISSR được thể hiện cao nhất ở quần thể Xã Hiếu, tiếp theo là Đa Chais, Hòa Sơn, Sơn Lang, A Yun và thấp nhất là Kon Chư Răng. Nhưng khi phân tích với chỉ thị SSR kết quả ngược lại, quần thể Hoàng đàn giả ở Kon Chư Răng có tính đa dạng di truyền cao nhất, thứ hai là quần thể Xã Hiếu, thứ ba là Hòa Sơn, thứ tư là Sơn Lang, thứ năm là A Yun và thấp nhất là Đa Chais. Sự trái ngược của hai kết quả phân tích này có thể là do sự khác biệt về tính chất của hai chỉ thị. SSR là chỉ thị đồng trội có thể đặc biệt nhạy cảm với các tác động giao phối cận huyết trong quần thể nên rất thích hợp để phân tích trong các quần thể nhỏ và cô lập, trong khi các chỉ thị trội như ISSR, RAPD, AFLP ít thích hợp hơn (Russell *et al.*, 1997). Mặt khác cũng có thể là do số lượng thấp hơn đáng kể của các cá thể trong quần thể Kon Chư Răng, A Yun và Sơn Lang trong nghiên cứu này.

Phân tích hệ số tương quan ( $r$ ) về khoảng cách di truyền đánh giá bởi các chỉ thị phân tử khác nhau cũng đã được đề cập trong nghiên cứu đa dạng di truyền ở cây lúa mạch (Russell *et al.*, 1997), lúa miến (Yang *et al.*, 1996), ngô (Garcia *et al.*, 2004) và hạt dẻ (Abdelhamid *et al.*, 2014). Garcia và đồng tác giả (2004) đã chỉ ra sự sai khác không nhiều giữa chỉ thị SSR với chỉ thị AFLP ( $r = 0,75$ ) và chỉ thị RFLP ( $r = 0,71$ ) trong nghiên cứu đa dạng di truyền một số giống ngô nhiệt đới. Tuy nhiên Abdelhamid và đồng

tác giả (2014) lại chỉ ra sự tương quan thấp giữa chỉ thị SSR với một số chỉ thị phân tử khác như RAPD ( $r = 0,47$ ), AFLP ( $r = 0,38$ ), ISSR ( $r = 0,44$ ) khi nghiên cứu đa dạng di truyền một số loài thuộc chi Dẻ (*Castanea*). Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận sự tương quan thấp giữa chỉ thị SSR với chỉ thị ISSR ( $r = 0,45$ ) và cả khi tổ hợp ISSR + SSR ( $r = 0,65$ ). Sự tương quan thấp có thể là do sự khác biệt đáng kể về số phân đoạn DNA đa hình (85 phân đoạn với chỉ thị ISSR và 46 phân đoạn với chỉ thị SSR) và tổng phân đoạn DNA nhân bản được bởi hai loại chỉ thị (127 và 53 phân đoạn, tương ứng) (Bảng 3). Có lẽ vì nguyên nhân này mà dẫn đến hệ số tương quan về khoảng cách di truyền của loài Hoàng đàn giả phân tích bằng chỉ thị ISSR và khi tổ hợp cả chỉ thị ISSR + SSR đã có giá trị lớn nhất ( $r = 0,92$ ). Mặc dù chỉ thị SSR có sự tương quan thấp với chỉ thị ISSR và tổ hợp hai chỉ thị ISSR + SSR về khoảng cách di truyền nhưng các thông số di truyền của quần thể Hoàng đàn giả phân tích với chỉ thị SSR lại có giá trị cao hơn so với chỉ thị ISSR. Vì thế chỉ thị SSR vẫn được đánh giá có hiệu quả hơn so với chỉ thị ISSR trong nghiên cứu đa dạng di truyền loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên.

Biểu đồ hình cây thể hiện mối quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị ISSR, SSR hay tổ hợp ISSR + SSR đều chia thành 2 nhánh chính I và II, trong đó các mẫu thu ở cùng địa điểm tập trung thành nhánh phụ riêng biệt, mặc dù sự phân nhóm giữa các mẫu trong từng nhánh phụ không giống nhau. Tuy nhiên chỉ khi phân tích với chỉ thị SSR mới chỉ ra được những mẫu có sự tương đồng di truyền 100% (mẫu De12 và De13, mẫu De20 và De21). Có thể giải thích cho sự khác biệt này là hai kỹ thuật hướng vào vùng DNA mục tiêu khác nhau của bộ gen. Hệ thống chỉ thị khác nhau sẽ khuếch đại những vùng DNA khác nhau, tính đa hình chỉ biểu hiện ở vùng DNA được khuếch đại và điều này dẫn đến sự khác nhau trong kết quả thu được. Hơn nữa chỉ thị SSR là chỉ thị đồng trội, có tính đặc hiệu cao nên có khả năng phân biệt được những cá thể có mối quan hệ gần.

Đến nay hầu như chưa có công trình nào đánh giá đa dạng di truyền loài Hoàng đàn giả sử dụng chỉ thị SSR. Tuy nhiên khi so sánh kết quả phân tích với chỉ thị ISSR cho thấy loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên, Việt Nam có tính đa dạng di truyền thấp hơn ( $I = 0,125$ ;  $h = 0,074$  và  $PPB = 66,93\%$ ) so với loài *Dacrycarpus imbricatus* (0,278; 0,195 và 96%, tương ứng) (Su *et al.*, 2010a) và loài *Dacrydium pectinatum* (0,322; 0,206 và 95,7%, tương ứng) ở Hải Nam, Trung Quốc (Su *et al.*, 2010b). Mức biến đổi phân tử

trung đối thấp giữa các quần thể và cao giữa các cá thể trong cùng quần thể đã tìm thấy trong quần thể Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên khi phân tích với cả chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR. So sánh với kết quả trong nghiên cứu của Su và đồng tác giả (2010) cho thấy mức biến đổi phân tử giữa các cá thể trong cùng quần thể loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên thấp hơn loài *D. pectinatum* ở Hải Nam, Trung Quốc (53,67% so với 84,46%) (Su *et al.*, 2010b).

## KẾT LUẬN

Chỉ thị ISSR và SSR đều hiệu quả trong đánh giá đa dạng di truyền quần thể Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên, trong đó chỉ thị SSR có tính hiệu quả hơn. Các thông số di truyền trung bình của quần thể Hoàng đàn giả phân tích với chỉ thị SSR đều cho kết quả cao hơn so với phân tích chỉ thị ISSR. Việc tổ hợp chỉ thị ISSR + SSR cho kết quả tương tự như phân tích với chỉ thị ISSR. Mức độ thay đổi phân tử giữa các quần thể và giữa các cá thể trong quần thể Hoàng đàn giả không có sự sai khác nhiều khi phân tích riêng rẽ hay tổ hợp hai chỉ thị. Mỗi quan hệ di truyền của 70 mẫu Hoàng đàn giả khi phân tích với chỉ thị ISSR, SSR và tổ hợp ISSR + SSR đều hình thành 2 nhánh chính có hệ số tương đồng di truyền tương đối cao, dao động tương ứng từ 74 đến 99%; 78,4 đến 100% và 76 đến 96,6%. Kết quả phân tích đa dạng di truyền cho thấy cần sớm có chiến lược bảo tồn loài Hoàng đàn giả ở Tây Nguyên.

**Lời cảm ơn:** Công trình được hoàn thành nhờ kinh phí của đề tài mã số TN3/T15 thuộc Chương trình Tây Nguyên 3. Chủ nhiệm đề tài xin chân thành cảm ơn các thành viên tham gia thực hiện đề tài và các cơ quan địa phương ở Tây Nguyên.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdelhamid S, Le CL, Conedera M, Kupfer P (2014) The assessment of genetic diversity of *Castanea* species by RAPD, AFLP, ISSR, and SSR markers. *Turk J Bot* 38: 835-850.

Arif M, Zaidi NM, Singh YP, Haq QMR, Singh US (2009) A comparative analysis of ISSR and RAPD markers for study of genetic diversity in Shisham (*Dalbergia sissoo*). *Plant Mol Biol Rep* 27: 488-495.

Baloch FS, Kurt C, Arioglu H, Özkan H (2010) Assaying of diversity among soybean (*Glycin max* (L.) Merr.) and peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes at DNA level. *Turk J Agric For* 34: 285-301.

Bornet B, Branchard M (2001) Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Rep* 19(3): 209-215.

Boys J, Cherry M, Dayanandan S (2005) Microsatellite analysis reveals genetically distinct populations on red pine (*Pinus resinosa*, pinaceae). *Amer J Bot* 92(5): 833-841.

Carrasco B, Retamales JB, Quiroz K, Garriga M, Caligari PDS, Gonzales RG (2013) Inter simple sequence repeat markers associated with flowering time duration in the Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*). *J Agr Sci Tech* 15:1195-1207.

Chiang YC, Shih HC, Chang LW, Li WR, Lin HY, Ju LP (2011) Isolation of 16 polymorphic microsatellite markers from an endangered and endemic species, *Podocarpus nakaii* (Podocarpaceae). *Amer J Bot* 98(11): e306-e309.

Đình Thị Phòng, Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Liễu, Nguyễn Tiến Hiệp (2014) Đánh giá tính đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài Thông lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị SSR. *Tạp chí Sinh học* 36(2): 210-219.

Đình Thị Phòng, Nguyễn Thị Liễu, Vũ Thị Thu Hiền, Trần Thị Liễu, Trần Thị Việt Thanh, Nguyễn Quốc Bình, Vũ Đình Duy, Nguyễn Tiến Hiệp, Phạm Hữu Nhân (2015) Đánh giá đa dạng di truyền quần thể tự nhiên loài Kim giao núi đất (*Nageia wallichiana* (C. Persl) Kuntze) ở Tây Nguyên bằng chỉ thị ISSR. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 13(1): 131-141.

Elsik CG, Minihan VT, Hall SE, Scarpa AM, Williams CG (2000) Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. *Genome* 43: 550-555.

Garcia AAF, Benchimol LL, Barbosa AMM, Geraldi IO, Souza CL, de Souza AP (2004) Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genet Mol Biol* 27(4): 579-588.

Hung KH, Lin CY, Huang CC, Hwang CC, Hsu TW, Ku YL, Wang WK, Hung CY, Chiang TY (2012) Isolation and characterization of microsatellite loci from *Pinus massoniana* (Pinaceae). *Botanical Studies* 53: 191-196.

Isshiki S, Iwata N, Khan MMR (2008) ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. *Scientia Horti* 117: 186-190.

Mahdizadeh V, Safaie N, Goltapeh EM (2012) Genetic diversity of sesame isolates of *Macrophomina phaseolina* using RAPD and ISSR markers. *Trakia J Sci* 10(2): 65-74.

Mandoulakani BA, Sadigh P, Azizi H, Piri Y, Nasri SH, Arzhangh S (2015) Comparative assessment of IRAP, REMAP, ISSR, and SSR markers for evaluation of genetic diversity of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J Agr Sci Tech* 17: 999-1010.

- Manimekalai R, Nagarajan P, Kumaran PM (2006) Comparison of effectiveness of RAPD, ISSR and SSR markers for analysis of Coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm accessions. *Trop Agr Res* 18: 217-226.
- Mellick R, Porter C, Rossetto M (2009) Isolation and characterisation of polymorphic microsatellite loci from *Podocarpus elatus* (Podocarpaceae). *Mol Ecol Res* 9(6): 1460-1466.
- Miao Y, Lang X, Li S, Su J, Wang Y (2012) Characterization of 15 polymorphic microsatellite loci for *Cephalotaxus oliveri* (Cephalotaxaceae), a conifer of medicinal importance. *Int J Mol Sci* 13: 11165-11172.
- Muthusamy S, Kanagarajan S, Ponnusamy S (2008) Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of rice bean (*Vigna umbellata*) landraces. *Electronic Journal of Biotechnology* 11(3) DOI: 10.2225/vol11-issue3-fulltext-8.
- Myśków B, Milczarski P, Masojc P (2010) Comparison of RAPD, ISSR and SSR markers in assessing genetic diversity among rye (*Secale cereale* L.) inbred lines. *Plant breeding and seed science* 62: 107-115.
- Parasharami VA, Thengane SR (2012) Inter population genetic diversity analysis using ISSR markers in *Pinus roxburghii* (Sarg.) from Indian provenances. *Int J Biodivers Conserv* 4(5): 219-227.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GenAIEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6: 288-295
- Phan Kế Lộc, Phạm Văn Thế, Nguyễn Sinh Khang, Nguyễn Thị Thanh Hương, Averyanov LV (2013) Trích yếu được cập nhật hóa Thông mộc tự nhiên ở Việt Nam. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 5: 135-143.
- Porebski S, Bailey LG, Baum BR (1997) Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plan Mol Biol Rep* 15(1): 8-15.
- Russell JR, Fuller JD, Macaulay M, Hatz BG, Jahoor A, Powell W, Waugh R (1997) Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor Appl Genet* 95: 714-722.
- Schloss SJ, Mitchell SE, White GM, Kukatla R, Bowers E, Paterson AH, Kresovich S (2002) Characterization of RFLP probe sequences for gene discovery and SSR development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Theor Appl Genet* 105: 912-920.
- Serra IA, Procaccini G, Intrieri MC, Migliaccio M, Mazzuca S, Innocenti AM (2007) Comparison of ISSR and SSR markers for analysis of genetic diversity in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine ecology progress series* (338): 71-79.
- Su YJ, Wang T, Deng F (2010a) Contrasting genetic variation and differentiation on Hainan Island and the Chinese mainland populations of *Dacrydium imbricatum* (Podocarpaceae). *Biochem Syst Ecol* 38(4): 576-584.
- Su YJ, Wang T, Deng F (2010b) Population genetic variation, differentiation and bottlenecks of *Dacrydium pectinatum* (Podocarpaceae) in Hainan Island, China: implications for its conservation. *Aust J Bot* 58(4): 318-326.
- Tantasawat P, Trongchuen J, Prajongjai T, Seehalak W, Jittayasothorn Y (2010) Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) using morphological characters, SSR and ISSR analysis. *Sci Hortic* 124: 204-216.
- Trần Thị Liễu, Vũ Thị Thu Hiền, Nguyễn Tiến Hiệp, Đinh Thị Phòng (2015) Tính đa dạng nguồn gen di truyền và cấu trúc quần thể loài Thông lá dẹt (*Pinus krempfii* Lecomte) – loài đặc hữu hẹp ở Tây Nguyên, Việt Nam bằng chỉ thị ISSR. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 53(2): 169-179.
- Vendramin GG, Lelli L, Rossi P, Morgante M (1996) A set of primers for the amplification of 20 chloroplast microsatellites in Pinaceae. *Mol Ecol* 5: 595-598.
- Yang W, de Oliveira AC, Godwin I, Schertz K, Bennetzen JL (1996) Comparison of DNA marker technologies in characterizing plant genome diversity: Variability in Chinese sorghums. *Crop Sci* 36:1669-1676.

## COMPARING THE EFFECTIVENESS BETWEEN ISSR AND SSR MARKERS IN ASSESSING GENETIC DIVERSITY OF NATURAL POPULATIONS OF *Dacrydium elatum* IN TAY NGUYEN, VIETNAM

Tran Thi Lieu<sup>1</sup>, Vu Thi Thu Hien<sup>1</sup>, Nguyen Thi Lieu<sup>2</sup>, Dinh Thi Phong<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Hanoi Metropolitan University

<sup>3</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

### SUMMARY

The two techniques, ISSR (27 markers) and SSR (20 markers), were used to compare the effectiveness and

to assess genetic diversity of 70 *Dacrydium elatum* samples collected in Lam Dong, Kon Tum, Dak Lak, and Gia Lai. The results showed 38/47 polymorphic markers (23/27 ISSR and 15/20 SSR markers) and 180 amplified DNA fragments, in which 85/127 (66.93%) and 46/53 (86.79%) were polymorphic for ISSR and SSR markers, respectively. Generally, the average values among the genetic diversity parameters of the populations for SSR ( $H_j = 0.213$ ;  $N_e = 1.566$ ,  $I = 0.444$ ;  $H_e = 0.301$ ;  $h = 0.228$ ; and  $PPB = 72.50\%$ ) were higher than those for ISSR ( $H_j = 0.155$ ;  $N_e = 1.142$ ,  $I = 0.125$ ;  $H_e = 0.083$ ;  $h = 0.074$  and  $PPB = 25.07\%$ ). The correlation coefficient between genetic distance measured with ISSR and combining ISSR + SSR was higher ( $r = 0.92$ ) than that measured with SSR and combining ISSR + SSR ( $r = 0.65$ ). There was not much difference in the total level of molecular variance (AMOVA) among populations and among individuals when analyzing ISSR and SSR data separately or combining both data. The three dendrograms constructed based on similarity matrix generated by ISSR, SSR and ISSR + SSR data were similar and they all divided the 70 *D. elatum* samples into two main groups with genetic similarity coefficients ranged from 74 to 99%, 78.4 to 100% and 76 to 96.6%, respectively. The obtained results indicated *D. elatum* species should be protected at the population level.

**Keywords:** *Dacrydium elatum*, population genetic diversity, ISSR, SSR, Tay Nguyen