

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CHO MỘT SỐ GIỐNG CÚC (*CHRYSANTHEMUM* SPP.) Ở MIỀN NAM

Hồ Viêt Thê\*, Bùi Nguyễn Quỳnh Trâm, Nguyễn Thị Yên Nhi

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

\*Email: thehv@cntp.edu.vn

Ngày nhận bài: 20/6/2017; Ngày chấp nhận đăng: 05/12/2017

### TÓM TẮT

Chỉ thị phân tử ngày càng đóng vai trò quan trọng trong phân loại và nhận diện giống cây trồng. Nghiên cứu này sử dụng 10 chỉ thị RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) để đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 12 mẫu thuộc chi cúc ở khu vực miền Nam. Kết quả phân tích cây phát sinh loài cho thấy hệ số tương đồng di truyền của các mẫu dao động trong khoảng 0,59 - 0,86. Tất cả các primer được sử dụng đều cho tỷ lệ đa hình cao với trung bình 25,6 band đa hình trên mỗi primer, trong đó tổng cộng có 27 band đa hình đặc trưng có thể sử dụng để phân biệt các giống cúc ở mức độ phân tử. Kết quả nghiên cứu này sẽ là cơ sở khoa học phục vụ cho công tác chọn tạo giống và bảo tồn nguồn gen của các loài hoa này.

*Từ khóa:* Chỉ thị RAPD, đa dạng di truyền, cúc, *Chrysanthemum* spp.

### 1. MỞ ĐẦU

Cúc (*Chrysanthemum* spp.) là một chi thực vật lớn trong họ Asteraceae, đây là loại cây trồng làm cảnh lâu đời và quan trọng nhất trên thế giới, có nguồn gốc từ Trung Quốc và Nhật Bản [1]. Hoa cúc không chỉ có giá trị về trang trí, làm đẹp cho cuộc sống, có giá trị trong y dược mà còn đem lại hiệu quả kinh tế cho người sản xuất [2]. Trước đây, các giống cúc được xác định dựa trên các đặc tính nông sinh học và cảm quan dẫn đến việc xác định nguồn gốc và đặc điểm của từng giống bị sai lệch, từ đó làm giảm giá trị kinh tế của các giống. Gần đây, kỹ thuật RAPD được sử dụng phổ biến để đánh giá mức độ đa dạng di truyền và phân biệt các giống cây trồng ở mức độ phân tử [3, 4]. Đây là kỹ thuật phù hợp với những đối tượng cây trồng chưa được nghiên cứu kỹ ở mức độ phân tử thông qua việc sử dụng các primer ngẫu nhiên có trình tự ngắn. Kỹ thuật này cũng đã được áp dụng vào nghiên cứu cây cúc ở một số nơi trên thế giới: năm 2010, Barakat *et al* đã thành công trong việc áp dụng đột biến trong *in vitro* và xác định các biến thể mới với chỉ thị RAPD nhằm cải thiện giống cúc mâm xôi [5]. Ở Việt Nam, năm 2012, Da Gout A Đam đã xác định chỉ thị phân tử cho các giống cúc đột biến do chiếu xạ và đánh giá tính ổn định di truyền của chúng qua thể hệ *in vitro* bằng kỹ thuật RAPD [6]. Tuy nhiên, đa dạng di truyền và phát triển các chỉ thị phân tử để phân biệt các giống cúc vẫn chưa được đầu tư nghiên cứu. Trong bài báo này, chỉ thị RAPD được sử dụng để đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 12 giống cúc hiện đang được trồng phổ biến ở miền Nam, từ đó tìm ra các chỉ thị phân tử chuyên biệt để nhận diện từng giống cúc ở mức độ phân tử. Kết quả phân tích di truyền sẽ là cơ sở khoa học phục vụ công tác chọn tạo các giống cúc mới cung cấp cho thị trường và công tác quản lý nguồn gen.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Trong nghiên cứu này, vật liệu được sử dụng bao gồm 12 mẫu lá cúc được thu thập từ 5 tỉnh khác nhau (Bảng 1) và 10 primer ngẫu nhiên để khảo sát tính đa hình (Bảng 2). Tiêu chuẩn thu thập mẫu là các giống cúc được ưa chuộng trên thị trường và có giá trị kinh tế cao. Mẫu được thu thập ở các cửa hàng bán cây cảnh, mỗi loại cúc được thu thập 3 chậu để đảm bảo đủ số lượng lá dùng trong quá trình nghiên cứu.

Bảng 1. Các mẫu cúc được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Ký hiệu mẫu	Tên thường gọi	Nguồn thu thập mẫu
1	C1	Cúc mâm xôi	Mỹ Tho - Tiền Giang
2	C2	Cúc đồng tiền đỏ	Mỹ Tho - Tiền Giang
3	C3	Cúc đồng tiền cam	Mỹ Tho - Tiền Giang
4	C4	Cúc lá nhám	Mỹ Tho - Tiền Giang
5	C5	Cúc Tiger	Mỹ Tho - Tiền Giang
6	C6	Cúc lá nhám	Sa Đéc - Đồng Tháp
7	C7	Cúc sao băng	Sa Đéc - Đồng Tháp
8	C8	Cúc huân chương	Sa Đéc - Đồng Tháp
9	C9	Cúc dã quỳ	Đắc Nông
10	C10	Cúc vạn thọ thường	Hồ Chí Minh
11	C11	Cúc vạn thọ Pháp	Hồ Chí Minh
12	C12	Cúc bách nhật	Cà Mau

Bảng 2. Trình tự các primer sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên primer	Trình tự Nucleotide	Tài liệu tham khảo
1	OPA 05	5' AGG GGT CTT G 3'	Barakat <i>et al</i> [5]
2	OPB 04	5' GGA CTG GAG T 3'	Lema-Ruminska <i>et al</i> [7]
3	OPB 07	5' GGT GAC GCA G 3'	Barakat <i>et al</i> [5]
4	OPB 18	5' GGG AAT TCG G 3'	Barakat <i>et al</i> [5]
5	OPF 06	5' GGG AAT TCG G 3'	Lema-Ruminska <i>et al</i> [7]
6	OPN 18	5' GGT GAG GTC A 3'	Mukherjee <i>et al</i> [8]
7	OPM 06	5' CTG GGC AAC T 3'	Manickam và Prakash [9]
8	OPM 18	5' CAC CAT CCG T 3'	Lema-Ruminska <i>et al</i> [7]
9	RAPD 01	5' TCC TAC GCA C 3'	Lema-Ruminska <i>et al</i> [7]
10	RAPD 09	5' GAC CGC TTG T 3'	Lema-Ruminska <i>et al</i> [7]

## 2.2. Phương pháp

### 2.2.1. Tách chiết DNA

DNA tổng số được tách chiết từ 12 mẫu lá cúc theo phương pháp của Kurt *et al* năm 2005 có điều chỉnh [10]. Trong nghiên cứu này, mẫu được ủ trong đệm CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) có bổ sung dung dịch SDS 10%, đồng thời dung dịch tách chiết được thay thế bởi phenol:chloroform:isoamyl alcohol nhằm giúp cho sự phân tách protein và polysaccharides hiệu quả hơn. Hàm lượng và chất lượng DNA được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,0% và máy đo quang phổ Nanodrop. Sau đó, DNA được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C cho đến khi sử dụng.

### 2.2.2. Phân tích bằng chỉ thị RAPD

Phản ứng RAPD được tiến hành trên máy PCR SureCycler 8800 Thermal Cycler (Agilent, Mỹ) với tổng thể tích là 12 µL/phản ứng. Thành phần và chu kỳ nhiệt của phản ứng được trình bày ở Bảng 3 và 4. Sản phẩm RAPD được phân tách bằng điện di trên gel agarose 1,0% ở điện thế 100 V, 3 A trong 60 phút. Sản phẩm RAPD được thể hiện thông qua máy chụp gel Quantum - ST4 3000 (Montreal - Biotech, Canada), kích thước của sản phẩm khuếch đại được xác định dựa trên kích thước của thang DNA chuẩn 1 kb (Bioline, Anh).

Bảng 3. Thành phần phản ứng RAPD

Thành phần	Thể tích	Nồng độ
Primer	1 µL	20 µM
DNA	1 µL	25 ng/µL
MyTaq™ HS Red Mix, 2x	6 µL	-
Nước cất đã loại ion	4 µL	-
Tổng	12 µL	-

Bảng 4. Chu kỳ nhiệt của phản ứng RAPD

Bước	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Chu kỳ
Biến tính	94	4	-
Tách mạch DNA khuôn	94	1	45
Gắn primer	36	1	45
Kéo dài	72	2	45
Kết thúc phản ứng	72	4	-
Bảo quản	4	-	-

### 2.2.3. Phân tích thống kê kết quả

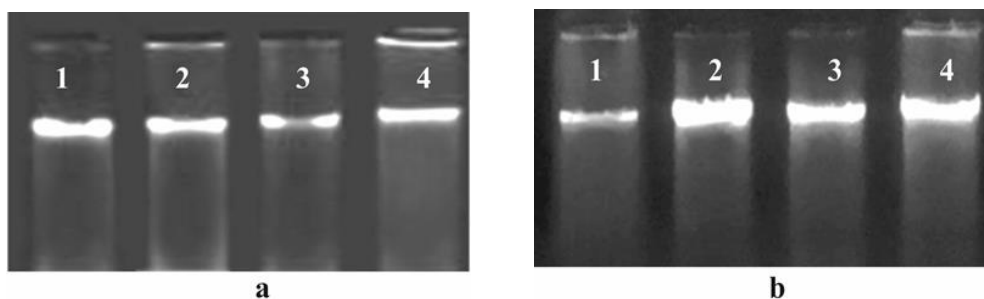
Mức độ đa dạng di truyền được thực hiện dựa trên kết quả điện di sản phẩm RAPD bằng phần mềm NTSYSpc 2.1 với giá trị bootstrap 1000 lần để tăng độ tin cậy và theo

phương pháp phân nhóm UPGMA trong chương trình SAHN để xây dựng nên ma trận tương đồng và vẽ cây phân nhóm giữa các mẫu [11].

### 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Kết quả phân tích độ đa hình

Chất lượng DNA cao là yêu cầu quan trọng đầu tiên trong nghiên cứu về đa dạng di truyền bằng sử dụng chỉ thị phân tử. Trong nghiên cứu này, quy trình ly trích DNA từ mẫu lá cúc đã được tối ưu. Kết quả điện di trên Hình 1 cho thấy sự xuất hiện các vạch sáng, rõ nét, khá đồng đều chứng tỏ chất lượng DNA tốt, không bị đứt gãy, đủ tiêu chuẩn để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo. Ngoài ra, giá trị OD (Optical density) của các mẫu nghiên cứu đều nằm trong giới hạn cho phép. Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp các mẫu nghiên cứu có thể được thu thập ở các địa điểm xa và hiếm cũng như thời gian thực hiện nghiên cứu là khá dài dẫn đến không thuận tiện cho việc bảo quản mẫu tươi [12, 13]. Vì vậy, các mẫu lá cúc được sấy khô trong silica gel, sau đó áp dụng quy trình trên vào việc tách chiết DNA. Kết quả ly trích cho các vạch sáng và rõ thể hiện như Hình 1b. Có thể nhận thấy, quy trình tách chiết DNA của Kurt được cải tiến trong nghiên cứu này đều có khả năng áp dụng được cho cả mẫu tươi và khô. Kết quả này tạo điều kiện thuận lợi cho việc mở rộng phạm vi nghiên ở những khu vực lấy mẫu xa phòng thí nghiệm hoặc cần phải giữ mẫu trong thời gian dài.

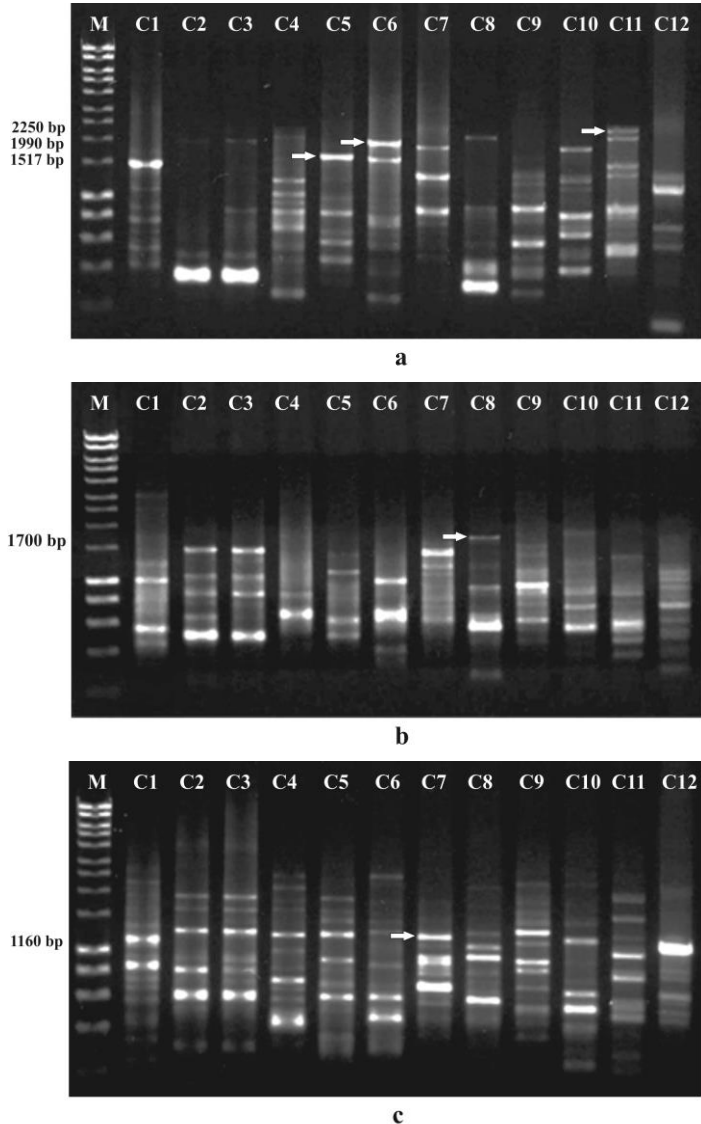


Hình 1. DNA tổng số tách chiết từ một số mẫu cúc  
a. Mẫu cúc tươi; b. Mẫu cúc được làm khô bằng silica gel (1: cúc mâm xôi, 2: cúc đồng tiền cam, 3: cúc lá nhám - Sa Đéc, 4: cúc bách nhật).

Sau khi tối ưu hóa phản ứng RAPD với các thông số về nhiệt độ bắt cặp, nồng độ primer và nồng độ DNA, phản ứng RAPD được thực hiện lần lượt với 10 primer có thành phần và chu kỳ nhiệt đã được tối ưu trong Bảng 3, 4 và thu được kết quả như ở Hình 2.

Kết quả phản ứng RAPD của 12 mẫu cúc cho thấy tất cả các primer đều có khả năng cho độ đa hình cao. Kết quả điện di sản phẩm RAPD hình thành tổng cộng 256 band, số band đa hình trên mỗi primer dao động từ 20 (OPM06) đến 35 (OPB04) với trung bình 25,6 band đa hình tính trên mỗi primer (Bảng 5). Kích thước của các band DNA nằm trong khoảng 200 - 4500 bp. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Namita *et al* trên cây cúc vạn thọ (*Tagetes sp.*), trong nghiên cứu của nhóm tác giả này đã thu được kích thước band từ 250 đến 3300 bp [14]. Một số nghiên cứu khác cũng đã sử dụng các chỉ thị RAPD để đánh giá đa dạng di truyền của các giống cúc. Năm 2005, Lema-Ruminka đã dùng 8 primer để đánh giá di truyền của 5 giống cúc (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) đột biến của nhóm Nero và Wonder [7]. Kết quả điện di sản phẩm RAPD của 8 primer cho tất cả 67 band, trong đó số band đa hình của các primer OPB04, OPB18, OPF06, RAPD01, RAPD09 lần lượt là 11, 7, 16, 5, 10. Tương tự, năm 2010 Barakat cũng đã đánh giá sự đa dạng di truyền của 13

mẫu đột biến từ giống *Chrysanthemum morifolium* với 5 primer đã cho tất cả 25 band đa hình, trong đó primer OPB04 cho 5 band, OPB18 cho 6 band và OPA05 cho 5 band [5]. Như vậy, với cùng các primer được sử dụng (Bảng 5) nhưng nghiên cứu này tạo ra số lượng band khuếch đại nhiều hơn so với các nghiên cứu trên. Điều này chứng tỏ sự đa dạng cao về mặt di truyền của các giống cúc được sử dụng trong nghiên cứu.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm RAPD của 12 mẫu cúc với các primer a. primer OPB18, b. primer OPN18, c. primer RAPD09

(M: thang chuẩn 1 kb, C1: cúc mâm xôi, C2: cúc đồng tiền đỏ, C3: cúc đồng tiền cam, C4: cúc lá nhám - Tiền Giang, C5: cúc Tiger; C6: cúc lá nhám - Sa Đéc, C7: cúc sao băng, C8: cúc huân chương, C9: cúc dã quỳ, C10: cúc vạn thọ thường, C11: cúc vạn thọ Pháp, C12: cúc bách nhật. Các mũi tên chỉ vị trí các band đặc trưng của các giống cúc)

Bên cạnh đó, nhiều mẫu cúc có xuất hiện các band đa hình đặc trưng có thể sử dụng để phân biệt giữa các giống cúc cũng như có thể tách riêng band này để tiến hành giải trình tự phục vụ cho nghiên cứu đặc thù ở từng mẫu cúc. Kết quả phân tích RAPD của 10 primer khác nhau với 12 mẫu cúc đã thu được tổng cộng 27 band đa hình đặc trưng (Bảng 6). Điện

hình với primer OPB18, xuất hiện band đặc trưng ở một số mẫu như C11 (cúc vạn thọ Pháp), C6 (cúc lá nhám - Sa Đéc), C5 (cúc Tiger) với độ dài lần lượt khoảng 2250 bp, 1990 bp và 1517 bp (Hình 2a). Primer OPN18 cũng xuất hiện band đa hình đặc trưng ở mẫu C8 (cúc huân chương) với độ dài khoảng 1700 bp (Hình 2b), hay với primer RAPD09 cũng đã cho band đa hình đặc trưng ở mẫu C7 (cúc sao băng) có độ dài khoảng 1160 bp (Hình 2c). Có thể thấy, không một primer RAPD nào có thể phân biệt được tất cả các giống mặc dù đều tạo ra các band đa hình. Tuy nhiên, các giống này đã được phân biệt bằng các band đa hình tạo ra bởi các primer khác nhau [15].

*Bảng 5.* Sự phân đoạn đa hình của 10 primer trong phân tích các mẫu cúc nghiên cứu

STT	Tên primer	Số band đa hình
1	OPA 05	26
2	OPB 04	35
3	OPB 07	25
4	OPB 18	27
5	OPF 06	26
6	OPN 18	22
7	OPM 06	20
8	OPM 18	31
9	RAPD 01	21
10	RAPD 09	23
Tổng		256

*Bảng 6.* Kết quả band đa hình đặc trưng của 10 primer

Mẫu cúc (Ký hiệu)	Primer	Kích thước band DNA đặc trưng (bp)
Cúc mâm xôi (C1)	OPB 04	850
Cúc lá nhám - Tiền Giang (C4)	OPB 18	1000
	OPM 18	790
Cúc Tiger (C5)	OPB 18	1517
	OPF 06	1800
	OPM 18	1200
Cúc lá nhám - Sa Đéc (C6)	OPB 18	1500, 1990
	RAPD 01	2000
Cúc sao băng (C7)	RAPD 09	1160
Cúc huân chương (C8)	OPA 05	1000
	OPB 04	910, 3750
	OPN 18	1700
	OPM 18	300, 2500

Mẫu cúc (Ký hiệu)	Primer	Kích thước band DNA đặc trưng (bp)
Cúc dã quỳ (C9)	OPA 05	1375
	OPB 04	2000
Cúc vạn thọ thường (C10)	OPB 04	3100
	OPB 18	600
	OPF 06	900
	OPM 06	490
Cúc vạn thọ Pháp (C11)	OPB 18	2250
	OPF 06	1550, 2240
	OPM 06	2300
Cúc bách nhật (C12)	RAPD 01	1010

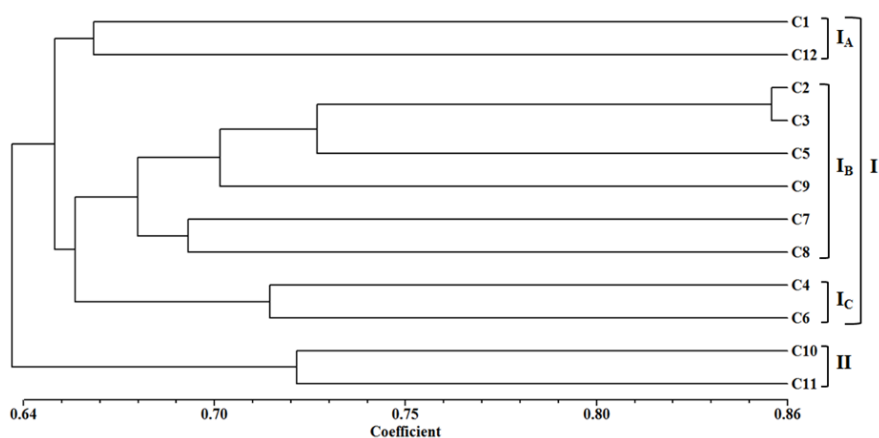
### 3.2. Phân tích kết quả mối quan hệ di truyền

Kết quả điện di sản phẩm RAPD được mã hoá và phân tích với phần mềm NTSYSpc 2.1, hệ số tương đồng được thể hiện ở Bảng 7.

Bảng 7. Ma trận tương đồng giữa 12 mẫu cúc nghiên cứu

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11
C2	0,66										
C3	0,66	0,86									
C4	0,66	0,70	0,65								
C5	0,68	0,73	0,72	0,64							
C6	0,63	0,68	0,66	0,71	0,65						
C7	0,63	0,69	0,68	0,63	0,66	0,69					
C8	0,59	0,68	0,70	0,63	0,66	0,65	0,69				
C9	0,65	0,70	0,68	0,63	0,71	0,63	0,67	0,63			
C10	0,61	0,67	0,67	0,59	0,61	0,64	0,68	0,61	0,63		
C11	0,64	0,61	0,66	0,61	0,64	0,62	0,67	0,65	0,64	0,72	
C12	0,66	0,68	0,66	0,63	0,70	0,63	0,66	0,61	0,64	0,64	0,64

Kết quả này cho thấy độ tương đồng giữa các mẫu C1 - C8, C4 - C10 là thấp nhất 0,59. Tương tự, kết quả của cây phân loại (Hình 3) cho thấy các cặp mẫu này đều nằm ở các nhóm có quan hệ xa nhau về nguồn gốc (thuộc hai chi khác nhau trong họ *Asteraceae*) và có vị trí địa lý khác nhau (Tiền Giang - Đồng Tháp; Tiền Giang - Hồ Chí Minh). Cũng theo cây phân nhóm di truyền (Hình 3), hai mẫu C2 (cúc đồng tiền đỏ), C3 (cúc đồng tiền cam) có hệ số tương đồng cao nhất là 0,86, có thể thấy 2 mẫu này có quan hệ di truyền khá gần nhau. Mẫu C1 và C12 có quan hệ xa nhất vì nằm ở nhánh phân nhóm gần gốc của cây phân nhóm này. Dựa trên ma trận tương đồng ở Bảng 7, cây phân nhóm di truyền giữa các mẫu cúc trong nghiên cứu được xây dựng và thể hiện như trên Hình 3.



Hình 3. Cây phân nhóm di truyền của các mẫu cúc nghiên cứu

Các mẫu cúc trong nghiên cứu có thể được chia thành 2 nhóm lớn với hệ số tương đồng di truyền là 0,64. Nhóm I gồm 10 mẫu cúc (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C12) được chia thành 3 nhóm phụ. Nhóm I<sub>A</sub> gồm 2 mẫu C1, C12 có hệ số tương đồng di truyền là 0,66. Nhóm I<sub>B</sub> gồm 6 mẫu cúc C2, C3, C5, C9, C7, C8 lần lượt là cúc đồng tiền đỏ, cúc đồng tiền cam, cúc Tiger, cúc dã quỳ, cúc sao băng, cúc huân chương có hệ số tương đồng di truyền dao động trong khoảng từ 0,68 đến 0,86. Mặc dù chúng có tên gọi khác nhau nhưng qua phân tích di truyền lại có quan hệ họ hàng gần nhau. Nguyên nhân có thể do sự nhầm lẫn hoặc sai lệch về nguồn gốc của các giống cúc, hoặc có thể có sự lai tạp giữa các giống cúc với nhau. Nhóm I<sub>C</sub> gồm 2 mẫu C4, C6 có hệ số tương đồng khoảng 0,71. Nhóm II gồm 2 mẫu C10, C11 có hệ số tương đồng di truyền khoảng 0,72. Có thể nhận thấy, kỹ thuật RAPD đã giúp tăng độ chính xác cho kết quả đánh giá đa dạng di truyền giữa các mẫu cúc. Nhiều tác giả đã áp dụng kỹ thuật này vào phân tích đa dạng di truyền của các mẫu cúc. Năm 2002, Martin đã dùng 10 primer RAPD để đánh giá đặc điểm di truyền của 15 giống cúc thương mại cho hệ số tương đồng di truyền trong khoảng 0,5 - 1,0 [16]. Cũng trong nghiên cứu của Kumar năm 2014, loài cúc *Chrysanthemum grandiflorum* đã được đánh giá độ đa dạng di truyền bằng 22 primer với hệ số tương đồng di truyền trong khoảng 0,31 - 0,93 [15]. Theo kết quả cây phân nhóm di truyền (Hình 3), hệ số tương đồng di truyền của 12 mẫu cúc thu thập đạt 0,64 - 0,86, thấp hơn so với các nghiên cứu kể trên, tuy nhiên khoảng cách không quá lớn. Điều này có thể lý giải là do các giống cúc này đã được thu thập ở nhiều địa phương khác nhau dẫn đến hệ số tương đồng có sự khác biệt, còn trong các nghiên cứu kể trên, tác giả đã sử dụng các giống cúc đột biến, là các giống có khoảng cách di truyền khá gần với nhau.

#### 4. KẾT LUẬN

Việc áp dụng chỉ thị phân tử RAPD vào nghiên cứu mức độ đa dạng di truyền của giống cúc và xác định chỉ thị phân tử đặc trưng cho từng giống không chỉ rút ngắn thời gian canh tác mẫu mà còn mang lại hiệu quả sàng lọc và độ tin cậy cao cho công việc chọn tạo giống. Thông qua phân tích đa dạng di truyền của 12 mẫu cúc từ các địa phương khác nhau, nghiên cứu này xác định được mức hệ số tương quan di truyền biến động trong khoảng 0,59 đến 0,86. Đây là thông tin giúp các nhà chọn giống có thể lựa chọn những giống có quan hệ gần để tiến hành lai tạo giống mới, đồng thời có được cơ sở khoa học quan trọng phục vụ công tác chọn tạo các giống cúc mới cung cấp cho thị trường cũng như phục vụ công tác quản lý, phân loại và bảo tồn nguồn gen. Bên cạnh đó, việc tìm ra 27 band đa hình đặc trưng ở các mẫu nghiên cứu có thể phát triển thành chỉ thị SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) nhằm giúp việc xác định các giống cúc bằng chỉ thị phân tử trở nên chính xác và hiệu quả hơn.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Văn Đông và Đinh Thế Lộc - Quyển 1: Cây Hoa cúc, Công nghệ mới trồng hoa cho thu nhập cao, Nhà xuất bản Lao Động - Xã hội, 2003, tr. 5.
2. Lê Kim Biên - Quyển 7: Họ cúc - *Asteraceae*, Thực vật chí Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2007, tr. 19.
3. Welsh J., McClelland M. - Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, *Nucleic Acids Research* **18** (1990) 7213-7218.
4. Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. - DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research* **18** (1990) 6531-6535.
5. Barakat M. N., Fattah R. S. A., Badr M. and El-Torky M. G. - *In vitro* mutagenesis and identification of new variants via RAPD markers for improving *Chrysanthemum morifolium*, *African Journal of Agricultural Research* **5** (2010) 748-757.
6. Da Gout A Dam - Xác định chỉ thị phân tử cho các dòng hoa cúc đột biến do chiếu xạ và đánh giá tính ổn định di truyền của chúng qua thể hệ *in vitro* bằng kỹ thuật RAPD (Luận văn Thạc sỹ Sinh học, Di truyền học), Đại học Khoa học Tự nhiên TP. Hồ Chí Minh, 2012.
7. Lema-Ruminska J., Zalewska M., Sadoch Z. and Jerzy M. - Identification of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) mutants of nero and wonder groups using RAPD markers, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* **8** (2) (2005) 3.
8. Mukherjee A. K., Dey A., Acharya L., Palai S. K., Panda P. C. - Studies on genetic diversity in elite varieties of *Chrysanthemum* using RAPD and ISSR markers, *Indian Journal of Biotechnology* **12** (2013) 161-169.
9. Manickam S., Prakash A. H. - Interspecific hybridization between *Gossypium hirsutum* and *G. armourianum*: morphological and molecular characterization of hybrids, *Indian Society for Cotton Improvement* **6** (1) (2014) 7-12.
10. Kurt W., Hilde N., Kirsten W., Gunter K. - DNA fingerprinting in plants: Principles, methods, and applications, 2<sup>nd</sup> edn, CRC Press, 2005, 100-102.
11. Heikrujam M., Kumar J. and Agrawal V. - Genetic diversity analysis among male and female Jojoba genotypes employing gene targeted molecular markers, start codon targeted (SCoT) polymorphism and CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers, *Metagene* **5** (2015) 90-97.
12. Choudhary K., Mathur N., Choudhary O. P., Pillai U. - Protocol for isolation of genomic DNA from dry and fresh leaves of vigna species suitable for RAPD and restriction digestion, *Advances in Biological Research* **2** (5 - 6) (2008) 83-89.
13. Khanuja S. P. S., Shasany A. K., Darokar M. P., Kumar S. - Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils, *Plant Molecular Biology Reporter* **17** (1999) 1-7.
14. Namita Panwar S., Sonah H., Singh K. P., Sharma T. R. - Genetic diversity analysis of marigold (*Tagetes* sp.) genotypes using RAPD and ISSR markers, *Indian Journal of Agricultural Sciences* **83** (5) (2013) 484-490.
15. Kumar G., Pal K. S., Prasad K. V., Rana M. K., Namita and Panwar S. - Genetic diversity analysis of chrysanthemum (*Chrysanthemum grandiflorum*) cultivars using RAPD markers, *Indian Journal of Agricultural Sciences* **84** (11) (2014) 1323-1328.

16. Martin C., Uberhuaga E., Perez C. - Application of RAPD markers in the characterization of *Chrysanthemum* varieties and the assessment of somaclonal variation, *Euphytica* **127** (2002) 247-253.

### ABSTRACT

#### EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY FOR *Chrysanthemum* spp. IN SOUTHERN VIETNAM

Ho Viet The\*, Bui Nguyen Quynh Tram, Nguyen Thi Yen Nhi  
*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

\*Email: *thehv@cntp.edu.vn*

Molecular markers play increasingly important roles in classification and identification of plant varieties. In this study, ten RAPD markers were used to investigate genetic diversity of 12 collected samples belonging to *Chrysanthemum* spp. The obtained results showed that the coefficient of genetic similarity of *Chrysanthemum* spp. samples ranged from 0.64 to 0.86. All of the used primers generated high polymorphism with an average of 25.6 bands per primer, of which a total of 27 specific polymorphic bands can be used to distinguish different *Chrysanthemum* species at molecular level. The result of this study can be used as a scientific basis for breeding *Chrysanthemum* spp. varieties as well as genetic conservation.

*Keywords:* *Chrysanthemum* spp., genetic diversity, RAPD markers.