

ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN SÂM CAU (*Curculigo orchioides* Gaertn) BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ ISSR

Nguyễn Văn Khiêm^{1*}, Dương Thị Ngọc Anh¹, Nguyễn Xuân Cảnh²

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, đa dạng di truyền trong số 21 nguồn gen sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) thu thập từ 15 tỉnh, thành trong nước đã được đánh giá bằng chỉ thị phân tử ISSR. Tổng cộng 92 băng DNA được tạo ra bằng khuếch đại 10 mỗi, kích thước dao động từ 150 bp - 1300 bp, trung bình tạo ra 9,2 băng/mỗi. Số băng đa hình chiếm 80,4%. Hệ số tương đồng di truyền trong số 21 nguồn gen dao động từ 0,34-0,78. Chỉ số PIC trung bình là 0,41. Chỉ số sai khác giữa các mẫu là 9,96. Quan hệ di truyền trong số 21 nguồn gen được chia làm 2 nhóm lớn: Nhóm thứ nhất gồm các mẫu SC1, SC6, SC5, CS2, SC8, SC9, SC10, SC3, SC7, SC4, SC11, SC12; nhóm thứ 2 gồm các mẫu SC13, SC16, SC14, SC15, SC20, SC21, SC17, SC18, SC19.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, sâm cau (*Curculigo orchioides*), hệ số tương đồng di truyền, ISSR.

1. MỞ ĐẦU

Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) thuộc họ Hypoxidaceae là cây thân thảo, sống lâu năm. Theo một số tài liệu, sâm cau phân bố ở châu Mỹ (Hoa Kỳ), châu Á (Ấn Độ, Sri Lanka, Trung Quốc, Nhật Bản, Việt Nam, Lào, Thái Lan, Malaysia,...) và châu Đại Dương (Úc) (Chauhan et al., 2010; Asif, 2012). Ở Việt Nam, sâm cau mọc trên các vùng đồi, núi, nơi ẩm mát, trong phạm vi cả nước. Cây sinh trưởng và phát triển tốt trong mùa mưa ẩm, phần thân rễ chính dạng củ, cắm sâu xuống đất, ra hoa quả hàng năm, khi quả già tự mở để hạt phát tán ra xung quanh (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2004).

Các nghiên cứu đã xác định được thành phần hóa học của dược liệu thân rễ sâm cau gồm các chất phenolic glycosid, các saponin thuộc nhóm cycloartan (Chauhan et al., 2010); flavon, alkaloid. Ngoài ra, thân rễ sâm cau còn có các nhóm hợp chất như glycosid, steroid, saponin, triterpenoid và nhiều nhóm hợp chất khác trong cây (Agrahari et al., 2010; Ajit, 2012). Theo y học cổ truyền Việt Nam, thân rễ sâm cau có rất nhiều tác dụng trong đó tác dụng chính là làm thuốc bổ có tác dụng tăng lực và tăng cường chức năng sinh lý nam (Đỗ Huy Bích và cộng sự, 2004).

Năm 1999, Hiệp hội Bảo tồn thiên nhiên Quốc tế đã xếp sâm cau vào Danh mục các loài cây thuốc gần nguy cấp (Mehta & Nama, 2014). Ở nhiều nước như

Trung Quốc, Ấn Độ, Nepal, v.v... sâm cau được đưa vào Sách Đỏ với tình trạng nguy cấp (Brintha et al., 2017). Ở Việt Nam, từ năm 1996 đến nay loài sâm cau được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam và Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam, thuộc những loài cây thuốc bị đe dọa, cần ưu tiên bảo tồn và phát triển (Nguyễn Tập và cộng sự, 2001).

Cơ sở dữ liệu về nguồn gen sâm cau có vai trò quan trọng để bảo tồn nguồn gen, chọn tạo giống, khai thác và phát triển nguồn gen. Chỉ thị phân tử ISSR đã được sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền của nhiều loài cây thuốc như bạch chỉ (*Angelica dahurica*) (Guo et al., 2009), đương quy Trung Quốc (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels) (Meia et al., 2015), các loài trong chi Đan sâm (*Salvia* sp) (Yousefiazarkhanian et al., 2016). Tuy nhiên, cho đến nay chỉ có nghiên cứu của Li et al., (2012) về đa dạng di truyền của 25 nguồn gen sâm cau (*Curculigo orchioides*) từ các vùng sinh thái khác nhau: Vân Nam, Quý Châu, Tứ Xuyên, Quảng Tây, Trùng Khánh và Hải Nam bằng chỉ thị ISSR. Sâm cau sử dụng hiện nay chủ yếu thu hái tự nhiên. Nguồn giống sử dụng hiện nay là nguồn giống hỗn tạp thu thập tại địa phương, chưa được chọn lọc, do đó năng suất và chất lượng còn thấp, chưa ổn định. Với hiểu biết của chúng tôi, hiện nay ở Việt Nam chưa có công bố nào về nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau và các loài khác trong chi *Curculigo* bằng chỉ thị hình thái và phân tử DNA. Như vậy, cơ sở dữ liệu nguồn gen sâm cau còn ít, thiếu cơ sở khoa học để nhận dạng loài, phục vụ bảo tồn, chọn tạo giống. Trong bài báo này, thông báo kết quả đánh giá đa

¹ Viện Dược liệu

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: ngvankhiem@yahoo.com

dạng di truyền nguồn gen sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) bằng chỉ thị phân tử ISSR.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

21 nguồn gen sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) thu thập từ 15 tỉnh/thành ở nước ta (Bảng 3). Lá non thu thập từ 5-10 cây đối với mỗi nguồn gen, rửa sạch, thấm khô bằng giấy thấm, được sử dụng để tách chiết DNA tổng số.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tách chiết DNA tổng số

Mẫu lá non được nghiền trong cối chày xú có ni tơ lỏng đến bột mịn. Sau đó chuyển 100 mg vào ống eppendorf để tách chiết DNA tổng số theo phương pháp của Doyle & Doyle (1987) có cải tiến. DNA tổng số sau khi thu được, xử lý bằng nhúng vào dung dịch Ammonium Acetat (3M) trong thời gian 30 giây, rửa bằng cồn 70° và hòa tan trong nước cất vô trùng. DNA tổng số được loại bỏ RNA bằng cách ủ với RNase I ở 37°C trong 3 giờ. Độ tinh sạch của DNA được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8%. Nồng độ DNA tổng số được đo bằng máy quang phổ, pha loãng, bảo quản ở -20°C đến khi tiến hành PCR.

2.2.2. Phản ứng ISSR-PCR

Mỗi ISSR được cung cấp bởi Hãng Marcrogen (Hàn Quốc) (Bảng 1). Trình tự mỗi ISSR và chu trình phản ứng PCR được sử dụng trong nghiên cứu theo Li et al. (2012). Phản ứng PCR được thực hiện trong thể tích 15 µl. Mỗi phản ứng gồm 30 ng DNA, mỗi (1 µM), Master Mix (2X) chứa 100 mM mỗi loại dNTP, đệm PCR và 1 U enzym *Taq* polymerase. Phản ứng được tiến hành trên máy PCR với chu trình nhiệt: 94°C - 5 phút; 94°C - 30 giây; 54-60°C phụ thuộc vào mỗi (Bảng 1) - 45 giây; 72°C - 2 phút; lặp lại 39 lần từ bước 2 đến bước 4; 72°C - 10 phút. Sản phẩm PCR được điện di trong gel agarose 1,5% ở hiệu điện thế 70 V, trong 60 phút sử dụng dung dịch đệm TAE, chứa Ethidium Bromid. Sản phẩm PCR được chụp

ảnh và phân tích bằng Gel DocIt2 của Hãng UVP (Hoa Kỳ).

Bảng 1. Tên mỗi ISSR, trình tự mỗi và nhiệt độ gắn mỗi trong phản ứng PCR

TT	Tên mỗi	Trình tự mỗi	Nhiệt độ gắn mỗi (°C)
1	UBC807	(AG)8T	55
2	UBC809	(AG)8G	60
3	UBC811	(GA)8C	57
4	UBC818	(CA)8G	58
5	UBC835	(AG)8YC	57
6	UBC842	(GA)8YG	60
7	UBC845	(CT)8RG	54
8	UBC848	(CA)8RG	60
9	UBC857	(AC)8YG	59
10	UBC880	(GGAGA)3	58

Ghi chú: Y: là base C hoặc T; R là base A hoặc G

2.2.3. Ghi nhận dữ liệu và phân tích thống kê

Các băng DNA có mặt ghi nhận (1), vắng mặt ghi nhận (0) đối với mỗi mỗi trên cơ sở kích thước băng. Ma trận 1/0 được sử dụng để ước tính mức độ khác nhau về di truyền hoặc tương đồng về di truyền giữa các mẫu. Hàm lượng thông tin đa hình được tính theo phương pháp của Weir (1996). Xác định hệ số tương đồng di truyền Jaccard, xây dựng sơ đồ hình cây quan hệ di truyền của 21 nguồn gen sâm cau theo phương pháp UPGMA trong NTSys-pc (Rohlf, 2000).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số tách chiết từ các mẫu được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8% (Hình 1). Nồng độ DNA tổng số được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hấp phụ. Nồng độ DNA tổng số ở các mẫu dao động từ 414-942 ng/µl (Bảng 2). Hình ảnh điện di DNA tổng số trên hình 1 và chỉ số A260/A280 ở các mẫu DNA dao động từ 1,83-2,01 trong bảng 2 cho thấy các mẫu DNA tổng số đã được loại bỏ hoàn toàn RNA, có thể được sử dụng cho phản ứng PCR.



Hình 1. Ảnh điện di DNA tổng số

Giếng 1-21 tương ứng các mẫu SC1-SC21

Bảng 2. Nồng độ DNA tổng số của các mẫu sâm cau

TT	Tên mẫu	Nơi thu mẫu	Chỉ số A260/280	Nồng độ DNA (ng/μl)
1	SC1	Nam Từ Liêm, Hà Nội	1,97	719
2	SC2	Sa Thầy, Kon Tum	1,96	540
3	SC3	TP. Cao Bằng, tỉnh Cao Bằng	1,93	860
4	SC4	Ea Súp, Gia Lai	1,86	693
5	SC5	Chi Lăng, Lạng Sơn	1,86	799
6	SC6	Lạng Giang, Bắc Giang	1,99	414
7	SC7	Vân Hồ, Sơn La	1,83	478
8	SC8	TP. Hòa Bình, tỉnh Hòa Bình	1,88	596
9	SC9	Tuần Giáo, Điện Biên	1,90	523
10	SC10	An Phú, An Giang	1,81	711
11	SC11	Tam Đảo, Vĩnh Phúc	2,01	942
12	SC12	TP. Sơn La, tỉnh Sơn La	1,86	511
13	SC13	Sin Hồ, Lai Châu	1,97	530
14	SC14	Yên Minh, Hà Giang	1,87	719
15	SC15	Bắc Hà, Lào Cai	1,88	540
16	SC16	Mường Nhé, Điện Biên	1,82	760
17	SC17	Thuận Châu, Sơn La	1,87	793
18	SC18	Bắc Sơn, Lạng Sơn	1,96	799
19	SC19	Bắc Sơn, Lạng Sơn	1,89	454
20	SC20	Vị Xuyên, Hà Giang	1,83	587
21	SC21	Vị Xuyên, Hà Giang	1,86	696

3.2. Đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau bằng chỉ thị ISSR

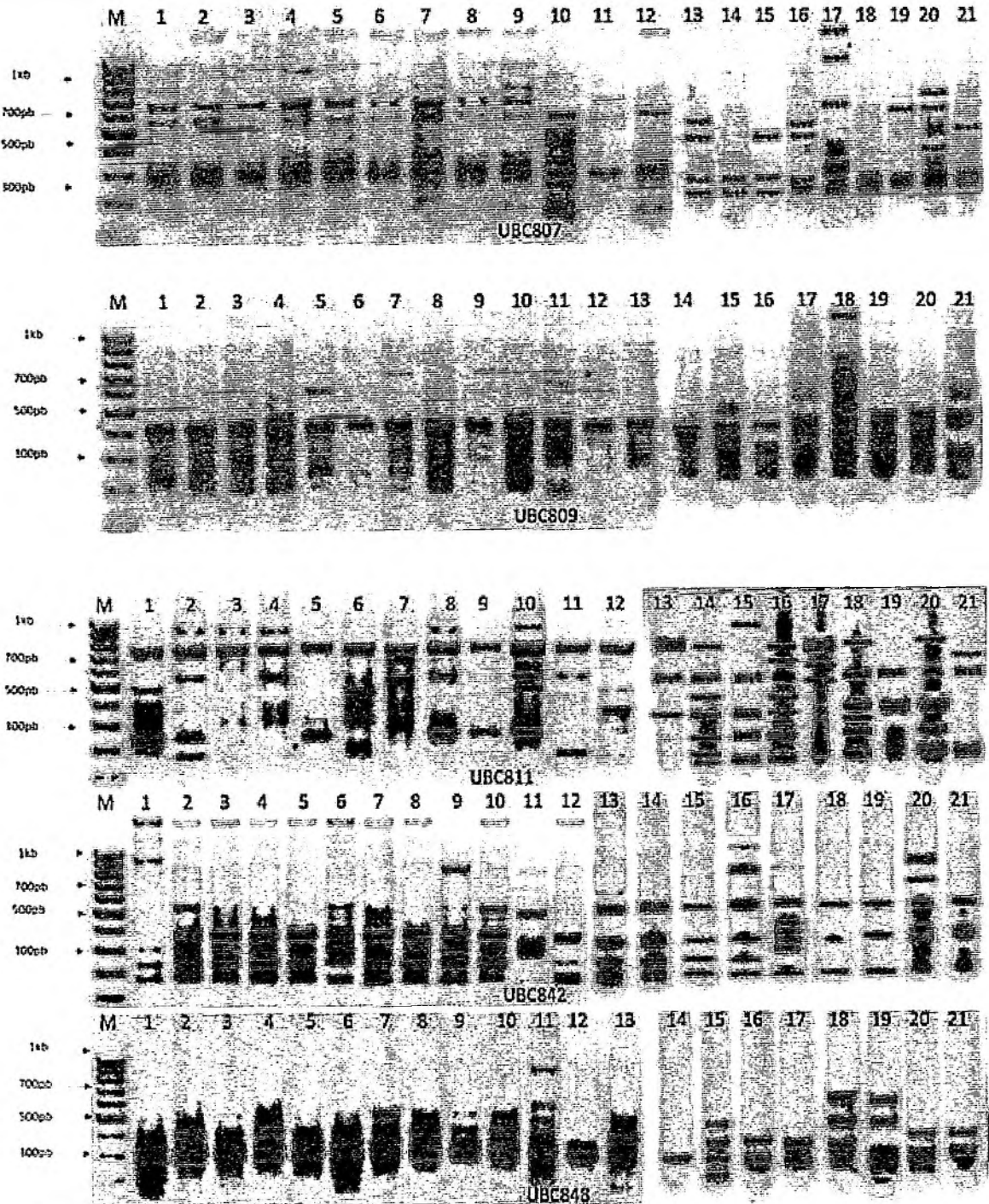
Ảnh điện di sản phẩm ISSR – PCR của một số môi được thể hiện trong hình 2. Tổng cộng 92 băng được tạo ra từ 10 mỗi khuếch đại 21 mẫu nghiên cứu. Trong đó, băng lớn nhất có kích thước 1.300 bp, băng nhỏ nhất là 150 bp. Tỷ lệ băng đa hình đạt 64,0 - 90,9%, trung bình là 80,4%/môi. Trung bình tạo ra 9,2 băng/môi. Chỉ số PIC dao động 0,26 đến 0,83 trung bình là 0,41. Chỉ số sai khác giữa các cặp môi là 9,96. Mức độ đa hình của các băng DNA thu được phản ánh sự khác nhau trong cấu trúc DNA của hệ gen sâm cau. Chỉ số sai khác giữa các cặp môi (Rp) trung bình của 10 môi là 9,96 (Bảng 3). Theo Prevost và Wilkinson (1999), chỉ số Rp chỉ ra được sự tương quan giữa các kiểu gen với chỉ thị phân tử DNA, chỉ số Rp càng cao càng chứng tỏ chỉ thị phân tử đó hữu hiệu trong việc phân nhóm kiểu gen và ngược lại. Chỉ số Rp cao nhất là 14,67 của môi UBC811, chỉ số Rp thấp nhất là 5,14 của môi UBC818. Từ kết quả này cho thấy, sử dụng môi UBC857 cho hiệu quả nhất trong số các môi để phân loại kiểu gen giữa các mẫu giống bằng chỉ thị ISSR.

Số liệu thu được sau khi thực hiện phản ứng PCR được thống kê và phân tích qua phần mềm NTSYS2.1 thiết lập bảng hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu (Bảng 4). Trên cơ sở hệ số tương đồng di truyền, mối quan hệ giữa chúng đã được thiết lập, thể hiện qua sơ đồ cây quan hệ di truyền (Hình 3). Hệ số tương đồng di truyền trung bình trong số 21 nguồn gen dao động từ 0,34 đến 0,78 trung bình là 0,59. Quan hệ di truyền trong số 21 nguồn gen được thể hiện qua cây quan hệ di truyền, được chia làm 2 nhóm lớn: Nhóm thứ nhất gồm các mẫu SC1, SC6, SC5, SC2, SC8, SC9, SC10, SC3, SC7, SC4, SC11, SC12; nhóm thứ 2 gồm các mẫu SC13, SC16, SC14, SC15, SC20, SC21, SC17, SC18, SC19.

Trong nghiên cứu này, chỉ thị ISSR được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau. Kết quả nghiên cứu chứng tỏ ISSR là chỉ thị DNA tốt để nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau. Đây là một trong số công bố đầu tiên ở nước ta về đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau bằng chỉ thị phân tử ISSR. Kết quả nghiên cứu cho thấy đa dạng di truyền nguồn gen sâm cau ở Việt Nam tương đồng với nghiên cứu của Li *et al.* (2012) về đa dạng di truyền trong số 25 nguồn gen sâm cau

từ các tỉnh/thành khác nhau của Trung Quốc, gồm: Vân Nam, Quý Châu, Tứ Xuyên, Quảng Tây, Trùng Khánh và Hải Nam bằng chỉ thị ISSR. Kết quả đã tạo ra 176 băng từ 14 môi, trong đó có 151 băng đa hình. Tỷ lệ trung bình băng đa hình là 85,8%. Hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,597 đến 0,828. Nghĩa là khoảng cách di truyền thay đổi từ 0,172 đến

0,403. Sự tương quan giữa nguồn gen và nguồn gốc địa lý của nó trong nghiên cứu này không rõ ràng, tương ứng kết quả công bố của Li et al (2012) cũng không phát hiện tương quan di truyền trong số 25 nguồn gen sâm cau thu thập từ các tỉnh/thành khác nhau ở Trung Quốc.



Hình 2. Ảnh điện di sản phẩm ISSR – PCR của các môi UBC807, UBC809, UBC811, UBC842, UBC848. M: thang chuẩn DNA (100 bp)

Giếng 1-21: tương ứng mẫu SC1-SC21

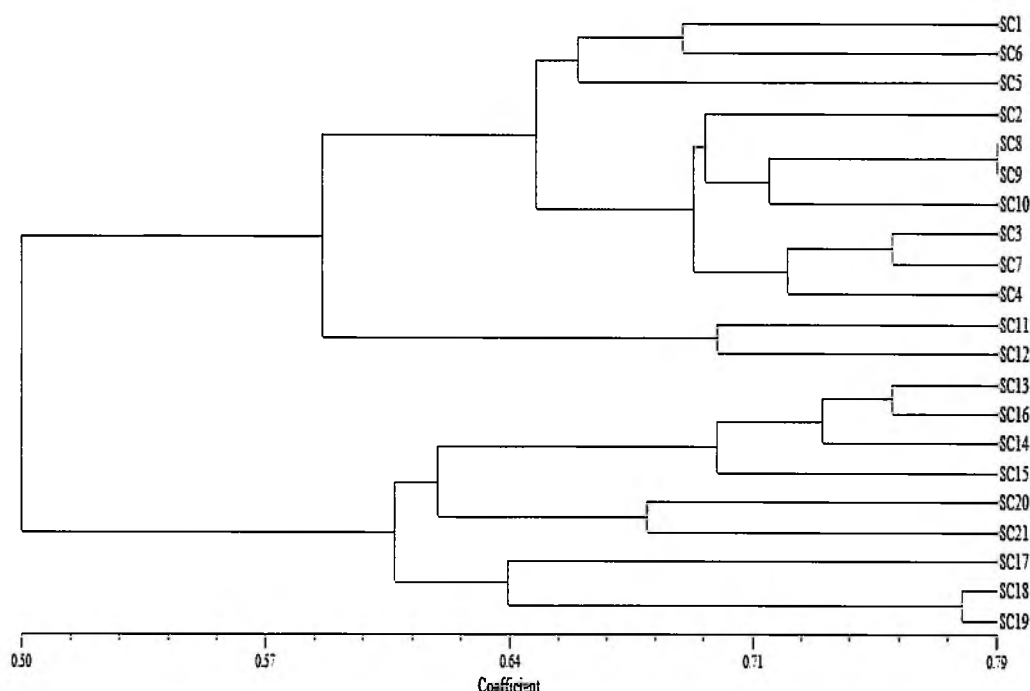
KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Bảng 3. Kết quả khuếch đại PCR 21 nguồn gen (SC1 đến SC21) bằng 10 mỗi ISSR

TT	Tên mỗi	Kích thước băng tạo ra (bp)	Số băng thu được	Tỷ lệ băng đa hình (%)	Số băng/mẫu	Chỉ số sai khác giữa các cặp mỗi (Rp)	Chỉ số PIC
	UBC807	200 - 1300	11	90,9	5,10	10,19	0,33
2	UBC809	200 - 1000	7	64,0	5,19	10,19	0,34
3	UBC811	180 - 1100	8	75,0	7,33	14,67	0,83
4	UBC818	200 - 600	9	77,8	5,00	5,14	0,26
5	UBC848	180 - 900	8	75,0	6,43	11,90	0,38
6	UBC857	150 - 550	9	88,9	7,19	14,29	0,44
7	UBC880	150 - 1100	10	80,0	4,05	7,62	0,32
8	UBC835	300 - 620	11	90,9	4,86	9,71	0,39
9	UBC842	180 - 1300	6	83,3	4,14	8,29	0,47
10	UBC845	150 - 1100	9	77,8	3,90	7,62	0,32
Tổng số		92	-	53,19	99,62	4,08	
Trung bình/mỗi		9,2	80,4	5,32	9,96	0,41	

Bảng 4. Hệ số tương đồng trong số 21 nguồn gen sâm cau (SC1 đến SC21)

	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC6	SC7	SC8	SC9	SC10	SC11	SC12	SC13	SC14	SC15	SC16	SC17	SC18	SC19	SC20	SC21
SC1	1.00																				
SC2	0.66	1.00																			
SC3	0.67	0.73	1.00																		
SC4	0.59	0.67	0.74	1.00																	
SC5	0.69	0.65	0.68	0.62	1.00																
SC6	0.68	0.62	0.63	0.59	0.63	1.00															
SC7	0.64	0.66	0.75	0.71	0.65	0.68	1.00														
SC8	0.61	0.75	0.68	0.70	0.60	0.63	0.75	1.00													
SC9	0.67	0.63	0.70	0.68	0.76	0.67	0.75	0.78	1.00												
SC10	0.65	0.69	0.70	0.68	0.62	0.69	0.65	0.72	0.72	1.00											
SC11	0.62	0.58	0.59	0.53	0.59	0.60	0.64	0.51	0.61	0.57	1.00										
SC12	0.57	0.59	0.56	0.58	0.56	0.59	0.69	0.54	0.58	0.60	0.71	1.00									
SC13	0.51	0.45	0.42	0.42	0.50	0.49	0.41	0.42	0.44	0.48	0.45	0.50	1.00								
SC14	0.50	0.52	0.49	0.49	0.57	0.52	0.52	0.53	0.51	0.53	0.44	0.57	0.75	1.00							
SC15	0.49	0.57	0.50	0.56	0.56	0.61	0.49	0.50	0.54	0.56	0.49	0.58	0.66	0.73	1.00						
SC16	0.52	0.58	0.53	0.57	0.53	0.52	0.52	0.51	0.47	0.55	0.52	0.61	0.75	0.72	0.73	1.00					
SC17	0.55	0.47	0.42	0.50	0.50	0.47	0.45	0.44	0.44	0.46	0.39	0.46	0.58	0.61	0.58	0.51	1.00				
SC18	0.46	0.42	0.47	0.49	0.45	0.54	0.44	0.45	0.47	0.45	0.44	0.47	0.65	0.64	0.73	0.60	0.61	1.00			
SC19	0.50	0.46	0.49	0.51	0.47	0.48	0.40	0.49	0.45	0.47	0.34	0.41	0.61	0.60	0.63	0.50	0.67	0.78	1.00		
SC20	0.51	0.53	0.54	0.62	0.52	0.55	0.51	0.58	0.50	0.58	0.47	0.54	0.56	0.69	0.54	0.69	0.62	0.57	0.63	1.00	
SC21	0.56	0.52	0.61	0.51	0.55	0.48	0.54	0.53	0.53	0.57	0.56	0.51	0.67	0.64	0.55	0.62	0.59	0.62	0.68	0.67	1.00



Hình 3. Sơ đồ cây quan hệ di truyền trong số 21 nguồn gen sâm cau (SC1 đến SC21)

4. KẾT LUẬN

Đa dạng di truyền trong số 21 nguồn gen cây sâm cau thu thập từ 15 tỉnh, thành trong nước đã được đánh giá, sử dụng 10 môi ISSR. Tổng cộng 92 băng DNA có kích thước từ 150 bp - 1300 bp đã được tạo ra. Trung bình thu được 9,2 băng/môi. Tỷ lệ băng đa hình chiếm 80,4%. Hệ số tương đồng di truyền trong số 21 nguồn gen dao động từ 0,34-0,78. Chỉ số PIC dao động từ 0,26-0,83, trung bình là 0,41. Chỉ số sai khác giữa các cặp môi là 9,96. Quan hệ di truyền trong số 21 nguồn gen được chia làm 2 nhóm lớn: Nhóm thứ nhất gồm các mẫu SC1, SC6, SC5, SC2, SC8, SC9, SC10, SC3, SC7, SC4, SC11, SC12; nhóm thứ 2 gồm các mẫu SC13, SC16, SC14, SC15, SC20, SC21, SC17, SC18, SC19. Không có sự tương quan di truyền giữa các chỉ thị ISSR với các mẫu thu thập từ các địa phương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrahari AK, Panda SK, Meher A, Padhan AR and Khaliquzzama M (2010). Phytochemical Screening of *Curculigo Orchiooides* Gaertn. Root tubers, *J. Chem. Pharm. Res.*, 2010, 2(2): 107-111.

2. Ajit M (2012). A review on phytochemical and ethnopharmacological activities of *Curculigo orchiooides*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39:(3-4):1-10.

3. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

4. Brintha S, Rajesh S, Renuka R, Santhanakrishnan VP and Gnanam R (2017). Phytochemical analysis and bioactivity prediction of compounds in methanolic extracts of *Curculigo orchiooides* Gaertn., Santhanakrishnan VP and Gnanam R. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4): 192-197.

5. Chauhan NS, Sharma V, Thakur M, Dixit VK (2010). *Curculigo orchiooides*: the black gold with numerous health benefits. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 8(7):613-623.

6. Doyle JJ and Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.

7. Guo D-y, Ma Y-y, Tang L, Chen Y-z, Qiang L (2009). Genetic diversity of *Radix Angelicae Dahuricae* germplasmic resource based on ISSR analysis. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 40(10):1627-1630.

8. Li L-Y, Chen DX, Zhong G-Y, Li Q-S (2012). Analysis on genetic diversity of *Curculigo orchiooides* from different habitats by ISSR. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 43(5): 967-971.

9. Meia Z, Hang C, Khana A, Zhu Y, Taniaa M, Luo P, Fu J (2015). Efficiency of improved RAPD and ISSR markers in assessing genetic diversity and relationships in *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels varieties of China, *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(2): 96-102.
10. Mehta J and Nama KS (2014). A Review on Ethnomedicines of *Curculigo orchioides* Gaertn (Kali Musli): Black Gold, *Int. J. Phar. & Biomed. Rese.* 2014, 1 (1): 12-16.
11. Yousefiazarkhanian M, Asghari A, Ahmadi J, Asghari B, Jafari AA (2016). Genetic Diversity of Salvia Species Assessed by ISSR and RAPD Markers. *Not Bot Horti Agrobo*, 44(2):431-436.
12. Weir BS (1996). Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF GERMPLASMS OF *Curculigo orchioides* USING ISSR MARKER

Nguyen Van Khiem, Duong Thi Ngoc Anh, Nguyen Xuan Canh

Summary

In the present study, genetic diversity of germplasm of *Curculigo orchioides* Gaertn was evaluated using ISSR marker. Total of 21 germplasms collected from 15 provinces, cities in Vietnam. Ten primers were used in the PCR reactions, producing 92 bands, sizing 150 bp – 1300 bp. An average of 9.2 bands/primer was obtained. The rate of polymorphic band was 80.4%. The coefficient of genetic similarity between 21 germplasms ranged from 0.34 to 0.78. PIC index was ranged from 0.26-0.83, an average of 0.41. The genetic relationships among the 21 germplasms were divided into two groups: The first group includes SC1, SC6, SC5, SC2, SC8, SC9, SC10, SC3, SC7, SC4, SC11, SC12; The second group includes SC13, SC16, SC14, SC15, SC20, SC21, SC17, SC18, SC19.

Keywords: Genetic diversity, *Curculigo orchioides*, similarity coefficient, ISSR.

Người phản biện: PGS.TS. Lã Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 12/10/2020

Ngày thông qua phản biện: 12/11/2020

Ngày duyệt đăng: 19/11/2020